



N° d'ordre :

N° de série :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

*Université Echahid Hamma Lakhdar-EL OUED*

كلية العلوم الطبيعية والحياة

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

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

*Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire*

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences  
biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

### THEME

**Etude phytochimique de l'extrait des tanins à  
partir de *Pergularia tomentosa* L. issue de région  
d'El-Oued**

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> DADDA Maroua.

M<sup>elle</sup> GHRAB Nadjoua.

M<sup>elle</sup> HAMMOUYA Oumeïma.

Devant le jury composé de :

Présidente Mme MEHELLOU Zineb M.A.A Université d'El Oued.

Examinatrice Mme OTMANI Hadjer M.C.B Université d'El Oued.

Promoteur Mr TLILI Mohammed Laid M.C.B Université d'El Oued.

Année universitaire : 2021/2022



## ***Remerciements***

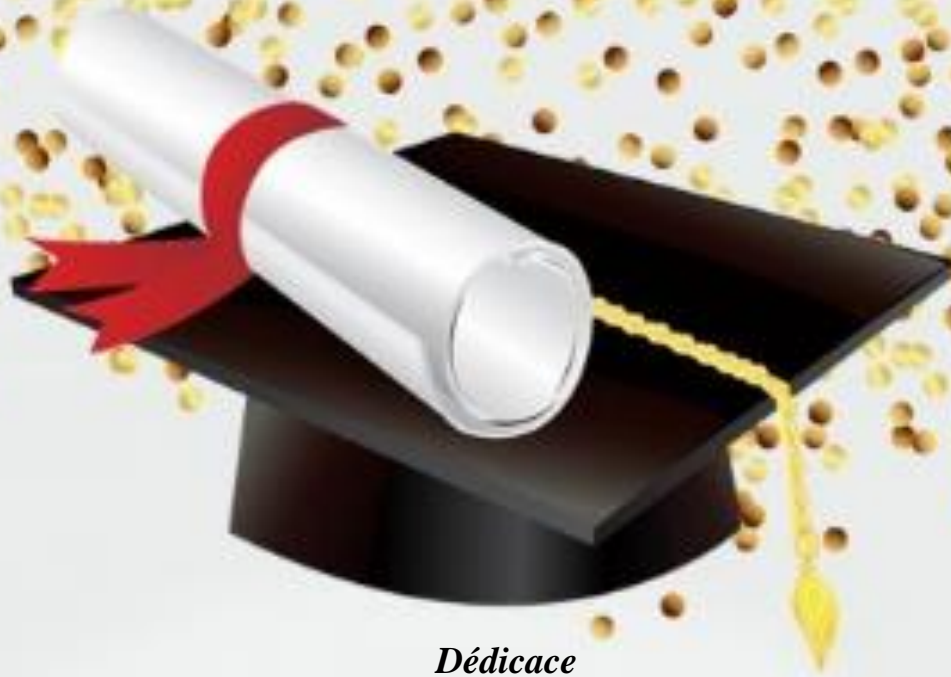
*Alhamdo li allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la connaissance et qui nous a aidé à compléter cette recherche modeste.*

*Ce mémoire a été réalisé sous l'encadrement du Mr. **TLILI Mohammed Laid**, Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour m'avoir encadré et veillé au bon déroulement de ce travail. Merci d'avoir toujours été disponible et pour m'avoir guidé par vos conseils et orientations.*

*Merci infiniment pour les nombreuses heures investies dans la correction du présent manuscrit.*

*Que Mesdames et Messieurs les membres de jury trouvent ici l'expression de mon profond respect et de mes remerciements les plus sincères pour l'intérêt qu'ils portent pour juger ce modeste travail, en l'occurrence : Nous tenons également à remercier tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie de Université Echahid Hamma Lakhdar -EL OUED, spécialement les enseignants qui ont contribué à notre formation en Biochimie. Nos remerciements vont également à tous les membres des Laboratoires du Notre faculté.*

*Très grande merci à tous les étudiants de notre promotion Biochimie 2022.*



### *Dédicace*

*C'est avec un grand honneur je dédie ce modeste travail aux personnes chères à mon cœur qui m'ont encouragé moi depuis la première année d'études jusqu'à ce moment où je suis arrivé pour présenter mon mémoire de fin d'études.*

*Mes chers parents;*

*A ma très chère mère Rachida;*

*Au plus grand exemple de force et de volonté, qui n'a pas cessé de m'encourager et prier pour moi. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon père Brahim;*

*Il n'y a rien qui puisse exprimer la gratitude en moi pour tout ce que vous m'avez donné, non seulement dans mes études, mais dans toute ma vie. Ce travail est fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*Mon fiancé, mon meilleur supporter Ayoub Baatout.*

*À tous mes proches, mes camarades de promotion, Biochimie 2022.*

*Maroua*



### *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à ma très chère mère la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.*

*A mon cher père qui a toujours été mon appui moral et qui n'a jamais cessé de m'encourager et de m'aider dans ma vie et surtout dans mes études.*

*A ceux qui m'ont donné joie, bonheur et aide;*

*A Mes très chers frères: Akram, Amine, Kheir et Ramy.*

*A Mes chers tante: Nouara.*

*A mon binôme : Oumeima.*

*A mon cher professeur: Nadia.*

*A mes chères amies: Ikram, Narimane, Nada.*

*A ceux qui m'ont encouragé.*

*Nadjoua*





### *Dédicace*

*Je dédie ce travail à l'âme de mon père, que Dieu lui pardonne et entrez-le paradis le plus élevé. Parce que il était le grâce du Père. Comme j'aimerais que mon père soit avec moi maintenant, mais c'est la volonté de Dieu, et je ne s'y oppose pas.*

*Je dédie ce travail à ma chère mère qui m'a soutenu et accompagné ses prières pour moi tout au long de mon parcours universitaire. Que Dieu prolonge elle vie et lui accorde santé.*

*A mes chers mes frères, Abdelaziz, Belkacem, Ayoub, et mes sœurs, Mahbouba, Sarah et Marwa, je leur dis que je vous aime tant.*

*A ma grande famille, Hmmouya, et en plus ma chère grand-mère, Dhawadia, que Dieu prolonge sa vie.*

*A mes chers amis, Nadjoua, Ikram, Nariman et Nada, je dis merci pour votre amour et votre soutien pour moi à tout moment la bénédiction des amis, que dieu vous protège.*

*J'exprime également mes sincères remerciements et ma gratitude à mon professeur, Mme Nadia, que Dieu prolonge sa vie.*

*Pour tous ceux qui m'ont soutenu et aidé, même d'un mot, de près ou de loin, à améliorer mon humeur, que ce soit ma famille ou mes amis.*

*Merci beaucoup.*

*Oumeima*

## Liste des figures

<b>N°</b>	<b>Titre des figures</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Distribution géographique <i>P.tomentosa</i>	4
<b>02</b>	Tige de <i>P.tomentosa</i>	4
<b>03</b>	Feuilles de <i>P.tomentosa</i>	5
<b>04</b>	Fleurs de <i>P.tomentosa</i>	5
<b>05</b>	Fruits de <i>P.tomentosa</i>	6
<b>06</b>	Graines de <i>P.tomentosa</i>	6
<b>07</b>	Structure générale des tanins hydrolysables	13
<b>08</b>	Structure générale des tanins condensés	14
<b>09</b>	Poudre de feuilles <i>Pergularia tomentosa</i>	20
<b>10</b>	Ampoule à décantation	21
<b>11</b>	Spectrophotomètre	22
<b>12</b>	Protocole de préparation d'extrait des tanins par macération	24
<b>13</b>	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH	27
<b>14</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux	30
<b>15</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux	31
<b>16</b>	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés	32
<b>17</b>	Résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH	33

## Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
01	Classification de <i>Pergularia tomentosa</i>	3
02	Composition en métabolites primaires des différentes parties de <i>P.tomentosa</i>	7
03	Composition en métabolites secondaires des différentes parties de <i>P.tomentosa</i>	8
04	Composition minérale de <i>P.tomentosa</i>	8

## SOMMAIRE

<b>Remerciements</b>
<b>Dédicaces</b>
<b>Liste des Figures</b>
<b>Liste des tableaux</b>
<b>Introduction</b>

### Première Partie : Synthèse Bibliographique

#### Chapitre 01: Généralités sur la plante *Pergularia tomentosa*

I. Classification botanique.....	3
II. Origine et distribution géographique de <i>Pergularia tomentosa</i> .....	3
III. Description morphologique .....	4
a. Tige.....	4
b. Feuilles .....	5
c. Fleurs .....	5
d. Fruits.....	6
e. Graines.....	6
IV. Composition chimique.....	7
a. Métabolites primaires.....	7
b. Métabolites secondaires.....	7
c. Composition minérale.....	8
V. Usage traditionnel de <i>P.tomentosa</i> .....	8
VI. Activités biologiques et thérapeutiques du <i>P.tomentosa</i> .....	9
a. Activité molluscicide.....	9
b. Activité anti oxydante.....	10
c. Activité cytotoxique.....	10
d. Activité anti-microbiennes.....	10
e. Activité Cardiotonique .....	10
f. Anti-dermatophytique.....	10

#### Chapitre 02: Généralités sur les tanins

I. Définition des tanins.....	11
II. Propriétés naturel des tanins .....	11
III. Sources végétales des tanins .....	12
IV. Structure chimique des tanins.....	12
V. Types des tanins .....	12



a.	Tanins hydrolysables.....	13
b.	Tanins condensés.....	13
VI.	Méthodes d'extraction des tanins.....	14
a.	Méthode de macération.....	14
b.	Méthode de décoction.....	15
c.	Méthode par ultrasons.....	15
VII.	Méthodes de dosage des tanins.....	16
a.	Dosage par Spectrophotomètre (UV).....	16
b.	Dosage des tanins hydrolysables (Mole et Waterman).....	17
c.	Dosage des tanins condensés.....	17
d.	Dosage des tanins totaux.....	17
VIII.	Activités biologiques des tanins.....	18
a.	Activité anti-oxydantes.....	18
b.	Activités antimicrobiennes.....	19
c.	Activité antivirale.....	19
d.	Activité antifongique.....	19

## Deuxième Partie : Etude expérimentale

### Chapitre 01: Matériel et méthodes

I.	Matériel .....	20
I .1.	Matériel végétal.....	20
I.2.	Produits chimiques.....	20
I .3.	Verrerie de laboratoire.....	21
I .4.	Appareils.....	21
II.	Méthodes.....	22
II.1.	Extraction des tanins totaux par macération .....	22
•	Macération.....	22
•	Filtration.....	22
•	Séparation.....	23
•	Evaporation.....	23
•	Détermination du rendement.....	25
II.2.	Dosage de teneur totale en polyphénols.....	25
a.	Principe.....	25
b.	Mode opératoire.....	25
II .3.	Dosage de teneur totale en flavonoïdes.....	26

a. Principe.....	26
b. Mode opératoire.....	26
II .4. Dosage des tanins condensés.....	26
a. Principe.....	26
b. Mode opératoire.....	27
II.5. Activité antioxydant (test DPPH).....	27
a. Principe de test DPPH.....	27
b. Mode opératoire.....	28
c. Expression des résultats.....	28
<b>Chapitre 02 : Résultats et discussion</b>	
I. Rendement d'extraction des tanins totaux.....	29
II. Teneur total de polyphénol.....	29
III. Teneur totale en flavonoïdes .....	31
IV. Teneur les tanins condensés.....	32
V. Evaluation l'activité anti-oxydante .....	33
Conclusion.....	35
Références bibliographiques.....	37
Résumé	

# **Introduction**

La phytothérapie est la plus ancienne forme de médecine connue de l'humanité. C'était le pilier de nombreuses civilisations anciennes et toujours la forme de médecine la plus pratiquée dans le monde aujourd'hui (**Al-Snafi, 2018**). Selon l'organisation mondiale de la santé, environ plus de 80% de la population mondiale, y compris les pays développés, dépendent encore de l'utilisation de plantes médicinales pour leurs soins de santé primaires (**Ekor, 2014**).

Depuis quelques temps, nous observons un réel engouement des français pour le retour aux médecines douces, naturelles. En effet, de plus en plus de personnes se tournent vers les plantes pour soulager leurs maux du quotidien. Pourtant ces plantes sont utilisées depuis des siècles par nos ancêtres, et elles sont même à l'origine des débuts de la médecine en Europe (**Gurib-Fakim, 2006**).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires (**Boudjouref, 2011**), ces dernières, en particulier, sont doués de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, expliquant ainsi leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (**Bruneton, 2009**).

Dans notre étude, nous nous intéresserons à une plante médicinale dont le nom scientifique est *Pergularia tomentosa* L., nous étudierons l'un des métabolites secondaires qu'il contient, qui est les tanins en termes d'activités utilisées, en particulier l'activité antioxydante, l'organisme humain subit un phénomène d'oxydation ce qui engendre une surproduction des espèces réactives de l'oxygène ERO, parmi lesquels des radicaux libres, responsable à l'établissement d'un stress oxydatif. Ce dernier est la cause de dommages dans les molécules biologiques (ADN, protéines, glucoses et lipides), d'où l'apparition de plusieurs maladies, telles que le cancer et l'athérosclérose (**Evans, 1999 et Favier, 2003**). Afin de lutter contre ces radicaux nocifs, l'organisme humain utilise des systèmes de défense antioxydants endogènes (superoxyde dismutase et catalase...etc.) et exogènes apportés par l'alimentation (**Pham-Huy et al., 2008**).

Bref, l'objet du sujet de notre mémoire a été entrepris afin de réaliser une étude phytochimique, ainsi que d'évaluer l'activité anti-oxydante et la quantité de polyphénols, de

flavonoïdes et de tanins condensé de extrait de tanins des feuilles de *Pergularia tomentosa* c'est-à-dire évaluer l'intérêt de *Pergularia tomentosa* quant à son utilisation en phytothérapie.

Pour atteindre cet objectif, nous avons divisé notre étude en 4 chapitres, les deux premiers chapitres sont des synthèses bibliographiques :

- **Chapitre 01:** Généralités sur *Pergularia tomentosa*.
- **Chapitre 02:** Généralités sur les tanins.

Quant aux deux derniers chapitres, ils sont une partie expérimentale. Et une conclusion générale ponctue notre thèse.

**Partie I.**

**Synthèse**

**bibliographique**

**Chapitre 01:**

**Généralités sur la plante**

*Pergularia tomentosa*

La plante *Pergularia tomentosa* L. appartient à la famille des Asclepiadaceae. La famille de l'asclépiade (Asclépiadacée) comporte environ 200 genres et 2500 espèces, herbacées ou buissonnantes propres aux régions tempérées et subtropicales (François, 2008).

### I. Classification botanique

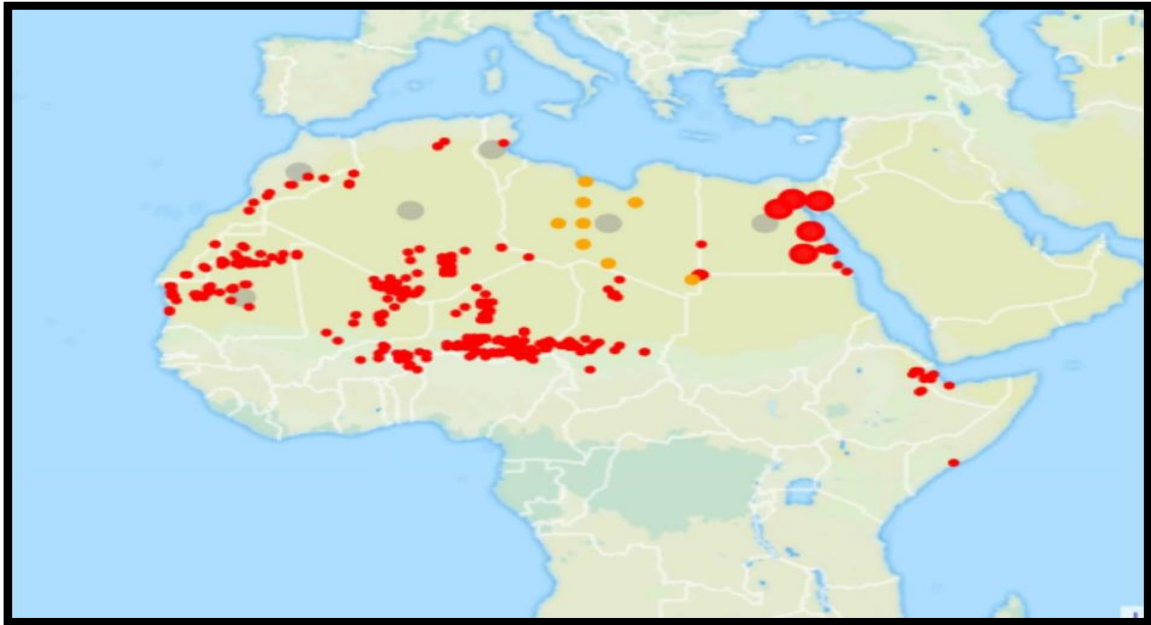
La classification de *Pergularia tomentosa* est représentée dans (Tableau 1).

**Tableau n°1 : Classification de *Pergularia tomentosa* (Amani et Barmo, 2010)**

Taxonomie	Description
Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophyte
Classe	Dicotylédones ou magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Gentianale
Famille	Asclépiadacées
Genres	<i>Pergularia</i>
Espèce	<i>Pergularia tomentosa</i> L.

### II. Origine et distribution géographique de *Pergularia tomentosa*

*P.tomentosa* est une plante herbacée ou semi-ligneuse, spontanée et xérophyte. Elle pousse sur les sols généralement sableux. Comme l'explique la **figure 01**, *P.tomentosa* largement réparti dans le désert du Sahara jusqu'aux déserts du sud (plus commune dans le Sahara algérien) (Bouhamadi, 2012) et de l'est de l'Iran, à l'Afghanistan et au Pakistan, en passant par la Corne de l'Afrique, le Sinaï (Egypte), la Jordanie et la péninsule Arabique (Baissa et Guettiani, 2020).



**Figure 01** : Distribution géographique *P.tomentosa* (A.N.R.H., 2004)

### III. Description morphologique

C'est une plante herbacée ou semi-ligneuse, arbrisseau vivace pouvant dépasser 1m de hauteur. Les jeunes rameaux volubiles s'enroulent fréquemment autour des plus anciens lui donnant un aspect touffu, contenant (Royer, 2013).

- a. **Tige** : Comme l'explique la **figure 02**, tige couverte de courts poils verdâtres, grimpante ou volubile, tomenteuse à l'état jeune (Tili, 2016);



**Figure 02** : Tige de *P. tomentosa* (Al-Mekhlafi et Masoud, 2017)



- b. **Feuilles** : Comme l'explique la **figure 03**, les feuilles sont simples, pétiolées, ovales, orbiculaires, cordées à la base et apicules, elles sont tomenteuses sur les deux faces au stade jeune et glabres au stade adulte, d'environ 5 cm de diamètre mais souvent plus petites (**Baaisa et Guettiani, 2020**);



**Figure 03** : Feuilles de *P.tomentosa* (**Al-Mekhlafi et Masoud, 2017**)

- c. **Fleurs** : Comme l'explique **la figure 04**, ses fleurs sont souvent blanches pourpres et odoriférantes avec une corolle tubulaire blanche ou pourpre qui mesure 8 mm de long (**Schmelzer et Gurib- fakim, 2013**);



**Figure 04** : Fleurs de *P.tomentosa* (**Al-Mekhlafi et Masoud, 2017**)

- d. **Fruits** : Comme l'explique la **Figure 05**, les fruits sont des follicules groupés par paire, sont fusiformes 7 cm de long (Amani et Barmo, 2010), divergents et couverts de rugosités. Ils sont pubescents et crochus à leur sommet et s'ouvrent par une fente longitudinale par où s'échappent les graines (Schmelzer et Gurib-fakim, 2013). La floraison commence en printemps (Chehema, 2006);



**Figure 05** : Fruits de *P.tomentosa* (Al-Mekhlafi et Masoud, 2017)

- e. **Graines** : Comme l'explique la **figure 06**, Les graines sont ovoïdes, aplaties, de 7-9 mm environ 6 mm, bords pales, à poils courts denses, munies d'une touffe de poils à une extrémité, d'environ 3 cm de long (Tili, 2016).



**Figure 06** : Graines de *P.tomentosa* (Al-Mekhlafi et Masoud, 2017)

#### IV. Composition chimique

L'étude phytochimique permet la détection des classes de composés existants dans les différents organes de la plante (racine, tige, pulpe, feuille, noyau). Les substances actives des plantes médicinales sont de deux types: métabolites primaires et secondaires (Royer, 2013). En effet, huit composés ont été isolés et identifiés à partir de la plante entière de cette plante, dont le 3-acétyltaraxastérol, 3-taraxastérol, 16α-hydroxytaraxastérol-3-acétate, α-amyrine, acide 3-épi-micromérique, acide oléique, (9Z, 12Z) acide octadécadiénoïque et (9Z, 12Z) glucoside d'acide octadécadiénoïque (Baïssa et Guettiani, 2020).

##### a. Métabolites primaires

Comme l'explique le **tableau 02**, Le métabolisme primaire regroupe toutes les voies de synthèse de composés indispensables à la croissance et au développement de la plante. Les métabolites primaires qui en proviennent ont donc un rôle clé et bien établi chez tous les végétaux (les glucides, les lipides, les protéines) (Royer, 2013).

**Tableau 02** : Composition en métabolites primaires des différentes parties de *P.tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007)

Organe végétal	Lipides (%)	Protéines (%)	Glucides(%)
<b>Feuilles</b>	6,83±0,76	6,39±0,17	53,27±1,75
<b>Tiges</b>	2,17±0,76	4,74±0,14	56,92±1,27
<b>Racines</b>	2,76±0,29	3,53±0,48	61,31±2,84

##### b. Métabolites secondaires

Comme l'explique le **tableau 03**, *P.tomentosa* est connue par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols: flavonoïdes, tanins, glycosides cardiaques, les glycosides cyanogènes, des saponines, des flavonoïdes, des tanins, qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance de la plante (Chehema, 2006).

Les métabolites secondaires interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement (soutien, protection contre les UV, défense, mise en place de symbiose, attraction d'insectes utiles pour la pollinisation) (Chehema, 2006).

**Tableau 03** : Composition en métabolites secondaires des différentes parties de *P.tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007)

Organe végétal	Métabolites secondaires
<b>Feuilles</b>	Alcaloïdes , glycosides cardiaques , glycosides cyanogènes
<b>Tiges</b>	Saponines , flavonoïdes , tanins, glycosides cyanogènes
<b>Racines</b>	Glycosides cardiaques , saponines, tanins.

### c. Composition minérale

Comme l'explique le **tableau 04**, la composition minérale de la plante montre la présence d'une grande quantité de phosphore et de potassium dans la racine et la tige. Des teneurs importantes de sodium, de magnésium et de calcium sont révélés dans les extraits des feuilles. Le magnésium est un micronutriment antioxydant et sa présence peut stimuler le système immunitaire (Bessei et Boughezala, 2019).

D'autre part, l'analyse par l'absorption atomique des fruits a montré la présence de potassium  $K^+$  et calcium  $Ca^{2+}$  en forte concentration (384,8 et 477,6 ppm respectivement). La présence importante de ces éléments peut contribuer à la toxicité de cette plante (Chehma, 2006).

**Tableau 04** : Composition minérale de *P.tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007)

Organe végétal	Phosphore (ppm)	Potassium (ppm)	Sodium (ppm)	Magnésium (ppm)	Calcium (%)
<b>Feuilles</b>	1,85±0,05	2,97±0,210	4,13±0,31	0,32±0,06	0,25±0,010
<b>Tiges</b>	7,07±0,06	215,0±10,00	2,03±0,15	0,15±0,030	0,16±0,01
<b>Racines</b>	8,13±0,06	167,30±5,03	2,33±0,15	0,25±0,008	0,08±0,003

### V. Usage traditionnel de *P. tomentosa*

Utilisations en médecine traditionnelle :

- L'extrait de lait des feuilles de *Pergularia tomentosa* a été utilisé dans le traitement des maladies de la peau, telles que la teigne de la tête, en Egypte (Kemassi *et al.*, 2014);
- Cette plante est utilisée comme laxatif, dépilatoire, vermifuge, cataplasme, abortif et pour les maladies de la peau (Kemassi *et al.*, 2014);

- Au Maroc, les feuilles sont appliquées en cataplasme sur les morsures de serpents et de scorpions et le latex est appliqué en externe sur les furoncles et abcès matures et pour extraire les épines de la peau (**Belloum et Nani, 2020**);
- Au Maroc et dans d'autres pays le latex est utilisé comme cosmétique dépilatoire (**Belloum et Nani, 2020**);
- Le latex des tiges est utilisé sur la mamelle de la vache pour augmenter la production laitière(**Kemassi et al., 2014**);
- De plus, il était utilisé comme vermifuge, pour les tumeurs, les verrues et les maladies de la peau au Yémen (**Cherif ; Kemassib et al., 2016**);
- La décoction de feuilles, tiges et racines est utilisée pour le traitement de la constipation, des hémorroïdes, de l'asthme, de la bronchite et de la tuberculose(**Cherif; Kemassib et al., 2016**);
- En Côte d'Ivoire, la plante broyée aux piments est utilisée contre la dysenterie et comme vermifuge, le jus des feuilles utilisé comme collyre et nasal pour les maux de tête (**Ould El Hadj et al., 2003**);
- En Algérie les feuilles et les fleurs sont utilisées pour traiter les angines(**Ould El Hadj et al., 2003**), teigne, et comme un agent hypoglycémiant et anthelminthique (**Cherif; Kemassib et al., 2016**);
- Cette plante est utilisée pour le tannage, écrasée et étalée sur la peau (**Al-Mekhlafi et Masoud, 2017**);
- L'augmentation de potassium alimentaire diminue la pression artérielle chez l'homme et réduit le risque d'accident vasculaire cérébral. Ainsi, le maintien d'un apport élevé en potassium peut être atteint en consommant les tiges et les racines de *P.tomentosa* (**Al-Mekhlafi et Masoud, 2017**).

## VI. Activités biologiques et thérapeutiques du *P. tomentosa*

### a. Activité molluscicide

Activité molluscicide de deux cardénolides extraite à partir de *P.tomentosa*, a été évaluée par rapport à l'escargot terrestre *Monacha obstructa* (Férussac) (**Hussein et al., 1999**), la valeur de DL50 après 24 h de traitement était de 60,9 µg / escargot. Ces résultats expliquent l'utilisations possibles de cette plante contenant des cardioïdes, comme molluscicide (**Bouhmama, 2013**).

**b. Activité anti-oxydante**

Les extraits méthanoliques et aqueux contenant de nombreux flavonoïdes exercent une activité antioxydante sur les radicaux DPPH, les radicaux peroxydes, les radicaux hydroxyles et le peroxyde d'hydrogène. La méthode de piégeage de radical DPPH a été utilisée pour détecter l'activité oxydante des racines, tiges, feuilles et extraits de fruits de *Pergularia tomentosa*. L'activité antioxydante la plus puissante a été détectée dans les extraits des feuilles et de fruits (**Cherif, 2020**).

**c. Activité cytotoxique**

Huit glycosides cardénolides ont été isolés à partir des racines de *Pergularia tomentosa* L. ( 6'-hydroxycalactin, 6'-hydroxy-16R-acetoxycalactin, 16Rhydroxycalactin, 3'-O-R-D-glucopyranosylcalactin, 12-dehydroxyghalakinoside, 6dehydroxyghalakinoside, ghalakinoside et calactin) pour étudier l'activité potentielle contre les cancers, ces composés testés *in vitro* ont montré l'inhibition de croissance de cellule de différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines, et pour leur capacité à inhiber la Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup>-ATPase. Les résultats obtenus suggèrent que les caractéristiques structurales des cardénolides étudiés ont des propriétés spécifiques cytotoxiques (**Piacente et Masullo, 2009**).

**d. Activité anti-microbiennes**

Les extraits de *P.tomentosa* inhibe les champignons comme : *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*, le mécanisme d'action des extraits de *P.tomenlosa* contre les pathogènes fongiques peut être due à l'inhibition de la paroi des cellules fongique (**Hassan et Umar, 2007**).

**e. Activité Cardiotonique**

Les extraits de cette plante ont montré cardiotonique activité. Hifnawy et Coll ont rapporté que ghalakinoside a montré une augmentation de la force de contraction myocardique et la fréquence cardiaque a été affectée à des doses très élevées (**Bouhmama, 2013**).

**f. Anti-dermatophytique**

La présence des tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, glycosides, saponinglycosides, cardiacglycosides, anthraquinones et stéroïdes dans composition de *P.tomentosa* peut être responsable de l'activité antidermatophytique présentées par les plantes contre la plupart des dermatophytes testés (**Al-Mekhlafi et Masoud, 2017**); (**Shinkafi, 2013**).

# **Chapitre 02:**

## **Généralités sur les tanins**

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaire » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (Tyler *et al.*, 1981 ; Bruneton, 1993 et Guignard, 1996).

Dans ce chapitre, nous concentrerons sur l'un de ces métabolites, qui est : Tanins. Les tanins représentent un des quatre groupes de métabolites secondaires des plantes supérieures avec les saponines, les huiles essentielles et les alcaloïdes (Bruneton, 1999).

### I. Définition des tanins

Les tanins sont un nom général pour les composés phénoliques polymérisés, d'origine végétale et non azotée qu'on trouve dans de nombreux végétaux (Macheix *et al.*, 2005), capables de tanner le cuir ou de précipiter les protéines et la gélatine dans les solutions, et cet effet est connu sous le nom d'astringent ou de tanins (Berthod *et al.*, 1999). Les tanins sont également connus sous le nom d'astringents et constituent un groupe de composés chimiques complexes largement répandus dans les plantes. Chaque famille de plantes contient des composés de tanins et on les trouve en abondance dans le règne végétal (Peronny, 2005).

Les tanins sont des composés de poids élevé allant de 500 à 3000 daltons (Bruneton, 1999). Ils proviennent de différentes sources végétales et se trouvent dans différentes parties de la plante telles que l'écorce, les fruits non mûrs, les feuilles, les racines et les tiges (Khanbabe, 2001).

### II. Propriétés naturel des tanins

Les propriétés naturelles les plus importantes des tanins peuvent être résumées comme suit :

- ✓ Substances amorphes se dissolvent dans l'eau, formant une émulsion acide au goût astringent (Boukriji, 2014), soluble dans les alcools et l'acétone, mais insoluble dans les solvants organiques. Sa solubilité varie avec le degré de polymérisation (Ferrad, 2011);
- ✓ Capacité de précipiter les protéines (gélatine et albumine) et les alcaloïdes dans leurs solutions (Brillourt *et al.*, 2013), et ce mécanisme se produit lors du tannage du cuir,



où les protéines qui composent le cuir se déposent et deviennent non dégradables par voie enzymatique (**Swein et Smit, 1962**);

- ✓ Capacité de précipiter certains pigments (**Okuda et Ito, 2011**);
- ✓ Tanins absorbent l'oxygène de l'atmosphère et deviennent noirs (**Ferrad, 2011**);
- ✓ Tanins peuvent également former des complexes avec d'autres polymères naturels tels que les acides nucléiques et les polysaccharides (**Sahraoui, 2005**);
- ✓ Tanins se forment avec des métaux lourds (**Jacqueline, 1978**), notamment des sels de fer, et des sédiments de couleur très foncée : noir, marron et bleu foncé (**Zhu et al., 1992**);
- ✓ Partie des formulations de préservation du bois (**Zhu et al., 1992**);
- ✓ Tanins sont des inhibiteurs enzymatiques: Inhibition de la 5-lipooxygénase, l'enzyme de conversion de l'angiotensine, protéines kinase C (**Luthar, 1992**);
- ✓ Tanins exercent, vis-à-vis de certains champignons, de bactéries et de virus, une action antibiotique (**Downey, 2010**).

### III. Sources végétales des tanins

Les tanins sont particulièrement riches chez les conifères, les Fagaceae, les Rosaceae (**Ghestem et al., 2001**). On les trouve dans de nombreuses plantes utilisées dans l'alimentation, notamment les céréales et les légumineuses (orge, haricots secs, petits pois, caroube) (**Peronny, 2005**).

### IV. Structure chimique des tanins

Les tanins on trouve dans les plantes sous la forme d'un mélange de substances phénoliques difficiles à séparer ou à obtenir à l'état pur et lorsqu'il est séparé, on l'appelle l'extrait de tanin (**Rira, 2019**). Ils forment une vaste famille de molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés (**Rhazi, 2015**). Les tanins se trouvent dans la nature sous forme libre et les autres sous forme d'esters de sucres ou sous forme de glycosides et lorsqu'ils sont décomposés ils produisent des phénols tels que le pyrogallol ou le catéchol (**Bouhmama, 2013**).

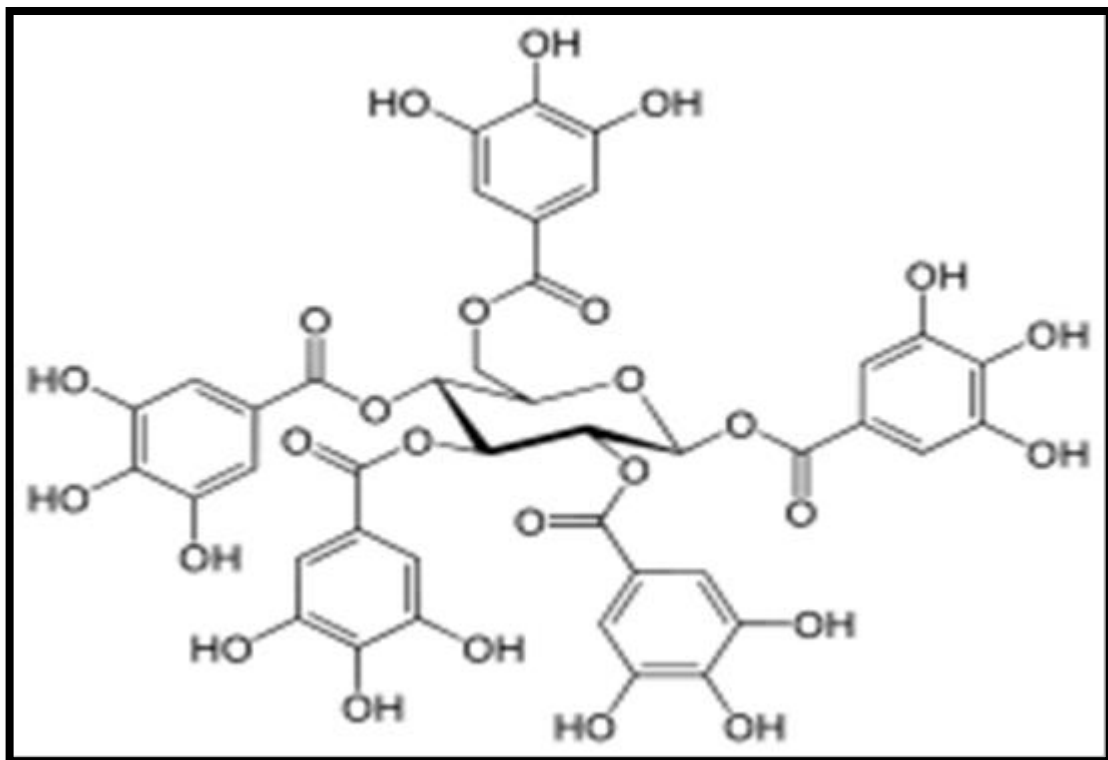
### V. Types des tanins

Du point de vue de la structure chimique, on distingue aujourd'hui plusieurs catégories de tanins, les tanins hydrolysables et les tanins condensés étant les principales catégories. Il y a aussi les caffetanins, les labiataetanins et les phlorotanins qui se réfèrent à la famille des tanins (**Rira, 2019**). Les deux premières classes sont connues et intensivement étudiées alors que les travaux de recherche concernant les autres catégories sont relativement récents. Dans

ce qui suit, nous ne détaillerons que les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Rhazi, 2015).

#### a. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont constitués de molécules phénoliques simples. Ce sont des esters d'acide gallique et de ses dimères (acide digallique, acide ellagique) et de monosaccharides, le plus souvent le glucose (Bruneton, 1999). On trouve ce tanin principalement chez certaines dicotylédones et dans les jeunes feuilles d'arbre. Sa toxicité diminue grandement avec la maturité de la feuille (Martin, 2015). Les tanins hydrolysables, comme leur nom l'indique, sont caractérisés par le fait qu'ils s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase) en pyrogallol (Rhazi, 2015). Les tanins hydrolysables sont caractéristiques des Angiospermes dicotylédones (surtout Rosidae, Dilenidae, Hamamelidae). Au niveau cellulaire, les tanins hydrolysables sont majoritairement présents dans les parois et les espaces intracellulaires. Les tanins hydrolysables sont souvent répertoriés en 3 trois sous-classes: Tanins galliques ou gallotanins, Tanins ellagiques ou ellagitanins, Tanins complexes (Figure 07) (Rira, 2019).



**Figure 07:** Structure générale des tanins hydrolysables (Hagerman, 2010)

#### b. Tanins condensés

Contrairement aux tanins hydrolysables, les tanins condensés sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader poids

moléculaire plus élevé (Rhazi, 2015), issus de la polymérisation d'unités sont oligomères de flavane-3-ols (des anthocyanidines) et des flavane-3,4-diols (des leucoanthocyanidines), dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères, qui sont hydroxylés en position 3 (Hadjali, 2017). Cette condensation leur confère une structure voisine à celle des flavonoïdes. La variation structurelle des tanins condensés est due aux différentes unités, aux positions, orientations et types des liaisons inter flavonoïdes. Les unités flavan-3-ols les plus courantes trouvées dans les tanins condensés comprennent la catéchine, l'epicatéchine, la gallocatéchine et l'épigallocatéchine (Soizic, 2010). Ce sont les tanins plus répandus chez les plantes. On les trouve chez des familles botaniques distinctes telles que les angiospermes et les gymnospermes. On les trouve également chez certaines plantes ligneuses, comme le noisetier, le chêne et le châtaignier, chez des plantes fourragères et dans certains sous-produits alimentaires (Figure 08) (Martin, 2015).

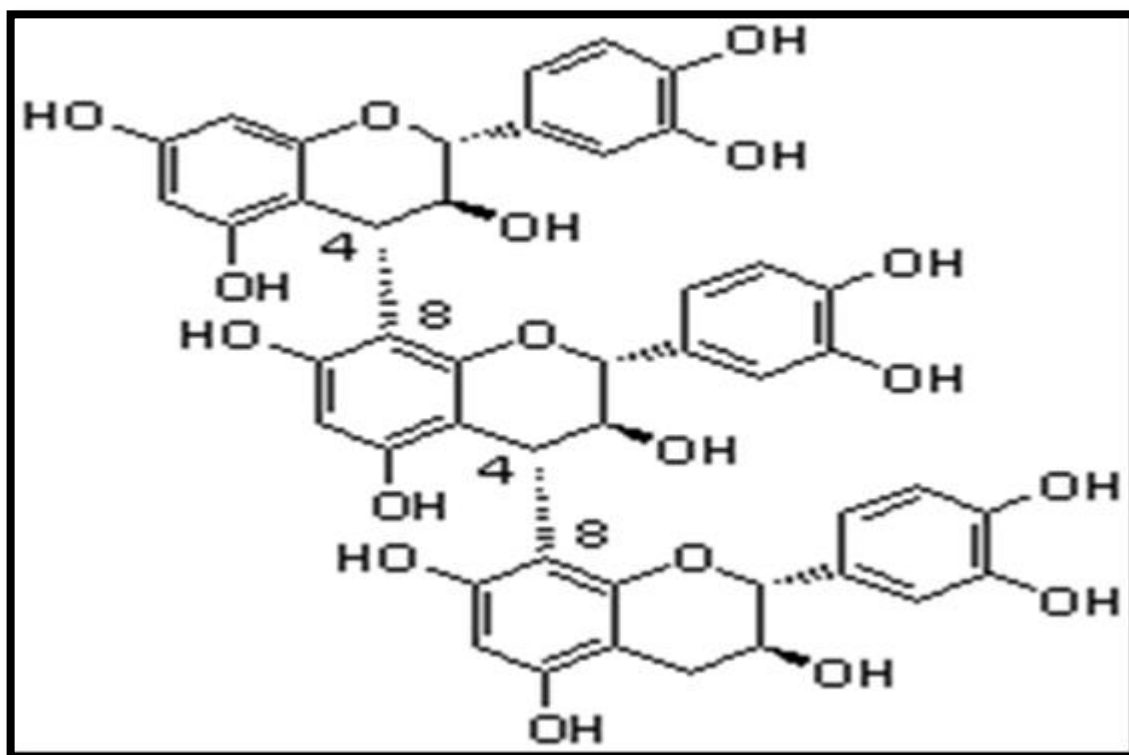


Figure 08: Structure générale des tanins condensés (Hagerman, 2010)

## VI. Méthodes d'extraction des tanins

Il existe de nombreuses techniques qui nous permettent d'extraire les tanins, dont les plus importantes sont les suivantes :

### a. Méthode de macération

La macération est l'une des techniques utilisées pour l'extraction des tanins des plantes médicinales. Où elle présente l'intérêt d'être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais d'autre part, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h) et elle est très peu sélective (Lehout

et Laib, 2015). La macération est la technique d'extraction la plus simple selon (Djahra, 2013). Où :

- ✓ Macérer 50g de drogue séchée pendant 24 heures sans interrompre l'agitation magnétique dans un mélange d'éthanol et d'eau bouillante (200/500 ml);
- ✓ Après filtration, la liqueur obtenue est épuisée dans une ampoule à décantation, plusieurs fois successivement par (4 × 20 ml) du chloroforme;
- ✓ Le résidu obtenu après l'évaporation de la phase organique est pesé et repris par 10 ml de méthanol à 1 % ;
- ✓ L'évaporation de la phase organique sous pression réduite a donné un résidu qui est ensuite repris par 5 ml d'éthanol à 1 %.

#### **b. Méthode de décoction**

La décoction est similaire à la méthode de macération. La méthode nécessite un matériel simple et bon marché ; il convient à toutes les échelles de production. Cependant, la méthode consomme plus d'énergie que la macération, et elle n'est pas adaptée à l'extraction de tanins sensibles à la chaleur selon (Konkon *et al.*, 2006).

- ✓ Le mélange est chauffé en continu à 100°C pendant la décoction. La cinétique de réaction due à la chaleur est plus forte que la méthode de macération ;
- ✓ Pour extraire les tanins condensés, la décoction est plus efficace que la macération. Dans ces méthodes, la concentration en tanin condensé dépend de la polarité du solvant d'extraction ;
- ✓ Le mélange est ensuite refroidi à température ambiante et le filtrat est collecté. L'eau est un bon solvant pour l'extraction des tanins condensés par décoction et macération ;
- ✓ En plus de la pression de diffusion et de la pression d'osmose, les tanins sont également séparés de la matière par l'énergie apportée par l'énergie thermique du solvant et l'affinité du solvant. L'énergie thermique du solvant sépare les tanins des cellules par action sur les liaisons entre les tanins et les cellules. L'affinité du solvant entrera en compétition et tirera les tanins de la matière.

#### **c. Méthode par ultrasons**

La méthode des ultrasons est une méthode de macération assistée par ultrasons couramment utilisée pour l'extraction de tanins de plantes, de microalgues et d'algues, par exemple, les tanins condensés et les tanins hydrolysables. Dans la méthode, la puissance ultrasonore, la température et la durée des ultrasons sont les facteurs qui influencent fortement le rendement d'extraction du tanin. Les tanins obtenus par la méthode de macération assistée

par ultrasons sont 17,6% plus élevés que les méthodes traditionnelles selon (**Wang et Weller, 2006**).

- ✓ Cette technique présente l'intérêt de faire des extractions à température ambiante, 20-25°C et pour des durées très courtes de 3-30 min, ce qui permet de préserver les composés thermolabiles (acide gras, polyphénols), des colorants, des antioxydants, des arômes ou aussi des caroténoïdes ;
- ✓ Elle est utilisée pour extraire les polyphénols présents dans les écorces certaines espèces végétales ;
- ✓ Son principe consiste à la destruction des parois cellulaires par des fréquences d'ultrasons, ce qui permet une meilleure pénétration du solvant au cœur de la matière, et par conséquent un meilleur rendement d'extraction. Les fréquences utilisées sont généralement supérieures à 20 kHz ;
- ✓ En milieu liquide, les ultrasons provoquent des cycles d'expansion et de compression des cellules formant ainsi des bulles. Le développement excessif des bulles microscopiques à proximité des parois cellulaires, entraîne une élévation de température et de pression, ce qui provoque l'explosion des bulles et la destruction des parois cellulaires.

## VII. Méthodes de dosage des tanins

Il existe également de nombreuses techniques de dosage, dont les plus importantes sont les suivantes :

### a. Dosage par Spectrophotomètre (UV)

Dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin-ciocalteu : Le contenu des composés phénoliques de notre extrait est estimé par la méthode de Folin-ciocalteu (**Wood et al., 2002**).

- ✓ 1ml d'extrait de l'échantillon ;
- ✓ 5ml du réactif de Folin-ciocalteu (dilué dix fois) ;
- ✓ 4ml d'une solution de bicarbonate de sodium (0.7M) ;
- ✓ Agiter vigoureusement et puis incubé pendant 2heures à une température ambiante ;
- ✓ Lire l'absorbance à 765 La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0-200 ug/ml) et exprimée en milligramme équivalents d'acide gallique par gramme du poids d'extrait (mg EQ/g E).

**b. Dosage des tanins hydrolysables (Mole et Waterman)**

Cette méthode est basée sur une réaction avec le chlorure Ferrique, le mélange de l'extrait tannique avec le réactif chlorure ferrique provoque la coloration rouge violet du complexe d'où la formation des ions selon (Mole et Waterman, 1987).

- ✓ Le dosage des tannins hydrolysables est réalisé selon le protocole de Mole et Waterman;
- ✓ 0,2 g de chaque organe broyé ont été macérés 18 h dans 10 ml de méthanol 80 %, le mélange a été filtré en utilisant un papier Whatman N°1;
- ✓ 1 ml du filtrat a été additionné à 3,5 ml d'une solution préparée à base de trichlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) 0,01M dans l'acide chlorhydrique (HCl) 0,001 M. Après 15 secondes, l'absorbance du mélange a été lue à 660 nm;
- ✓ Les tanins hydrolysables ont été exprimés par la formule suivante :  $TH (\%) = (A \times M \times V) / E \text{ mole} \times P$ ;
- ✓ Les résultats ainsi représentés sous forme de pourcentage (%), sont convertis en gramme par gramme de matière sèche.

**c. Dosage des tanins condensés**

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des TCs et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline selon (Schofield *et al.*, 2001).

- ✓ Un volume de 50 µl de chaque extrait a été ajouté à 1500µl de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné ;
- ✓ Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min ;
- ✓ L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 µg/ml préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

**d. Dosage des tanins totaux**

Les tanins totaux (TT) ont été estimés indirectement après avoir été absorbés par la polyvinylpyrrolidone insoluble (PVP) (Faustin, 2019). Ses étapes peuvent être résumées comme suit :

- ✓ Une solution comprenant 100 mg de PVP, 1,0 ml d'eau distillée et 1,0 ml de l'extrait a été constituée;
- ✓ L'ensemble a été vortexé puis gardé à 4 °C pendant 15 min;
- ✓ Il a été par la suite centrifugé pendant 10 min et le surnageant a été ensuite recueilli;

- ✓ La teneur en polyphénols totaux (ne contenant pas les tanins) a été déterminée sur 50µL de ce surnageant;
- ✓ La concentration des TT a été déterminée comme la différence en PT avant et après le traitement avec la PVP insoluble.

### VIII. Activités biologiques des tanins

Les tanins peuvent former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines. Par voie interne, elles exercent un effet anti-diarrhéique, par voie externe, elles imperméabilisent les couches les plus externes de la peau (brûlure, exéma). Ils ont des grandes capacités anti-oxydantes dues à leurs noyaux phénol (**Bruneton, 1993**), Ils sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (**Perret, 2001**). Les tanins ont une action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux; cette propriété explique leur emploi dans les hémorroïdes et les blessures superficielles (**Atefeibu, 2002**). Nous énumérons les activités les plus importantes comme suit :

#### a. Activité anti-oxydantes

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non c toxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (**Jarrige et al., 1995**).

Il a été rapporté que les polyphénols alimentaires (comme les tanins) possèdent une puissante activité anti-oxydante, représentée dans leurs capacités à neutraliser les radicaux libres et leurs capacités à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production des ERO. Les polyphénols sont également contribués par leurs pouvoir antioxydant dans l'inhibition des enzymes productrices des espèces réactives de l'oxygène (telles que : la xanthine oxydase et le NADPH oxydase), ainsi que l'induction des enzymes antioxydants qui éliminent ces espèces réactives (telles que: le superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase) (**Bouhali et Bouguerne, 2020**).

De plus, il est considéré que les tanins ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation, et aussi les tanins ne fonctionnent pas uniquement comme antioxydants primaires (c'est-à-dire qu'ils donnent des atomes d'hydrogène ou des électrons), ils fonctionnent également comme antioxydants secondaires (**Boudjellal, 2009**).

**b. Activités antimicrobiennes**

De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries. Les tanins comme bactériostatique (sur différentes bactéries ; *Bacillus anthracis*, *B.subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium bolulinum*) ou bactéricide sur plusieurs souches bactériennes. L'acide tannique a inhibé la croissance des bactéries des aliments et des bactéries intestinales humaines (**Mekhoukhe, 2008**).

**c. Activité antivirale**

L'activité antivirale des tanins est due à la fixation des molécules des tanins à l'enveloppe protéiques du virus ou la membrane de la cellule hôte et par conséquent l'inhibition de l'adsorption et la pénétration virale; cependant, dans certains cas la fixation cause seulement des changements mineurs à la surface virale, la pénétration reste mais l'enlèvement de l'enveloppe virale est inhibé. Plusieurs types de virus sont inactivés par les tanins, le virus Herpès simplex (HSV-1, HSV-2) est inhibé par les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bouhali et Bouguerne, 2020**).

**d. Activité antifongique**

L'activité antifongique des tanins a été démontré notamment contre les souches fongiques : (*Aspergillus niger*, *Penicillium species*, *Colletotrichum graminicola*) (**Jarrige et al., 1995**).



**Partie II.**

**Partie expérimentale**

**Chapitre 01:**

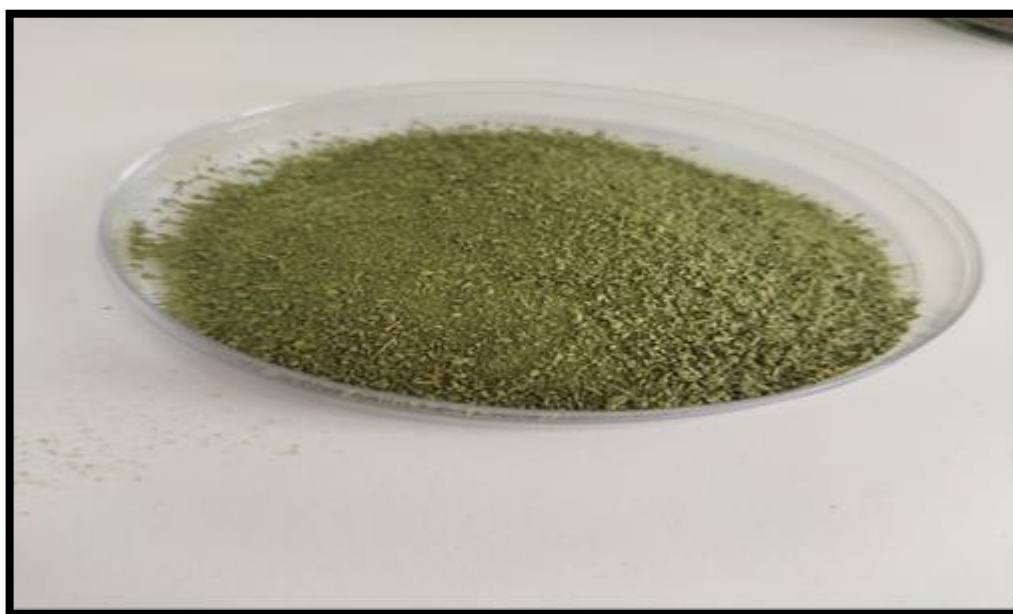
**Matériel et méthodes**

Dans ce chapitre expérimentale, nous commençons l'objectif de notre mémoire, qui est l'extraction des tanins totaux de feuilles de *Pergularia tomentosa* broyées, où nous avons utilisé la méthode de macération, Après extraction de l'extrait de tanins totaux nous avons dosé les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins condensés et nous avons conclu nos travaux de laboratoire en étudiant l'activité anti-oxydante de notre extrait en utilisant le test DPPH.

## I. Matériel

### I.1. Matériel végétal

La reconnaissance botanique de la plante a été faite par Monsieur Eddoud Amar du département des sciences biologiques de l'université Kasdi Merbah de Ouargla. Le matériel végétal utilisé correspond à des feuilles de l'espèce *Pergularia tomentosa* L. La récolte s'est effectuée en mars 2020 au niveau de la localité de Méguibra (wilaya d'Eloued). Le séchage s'est fait à la température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éviter la dégradation des principes actifs et le développement des moisissures (Catier et Roux, 2007). Après séchage, les feuilles de la plante ont été broyées et stockées soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses (Figure 09).



**Figure 09:** Poudre de feuilles *Pergularia tomentosa*

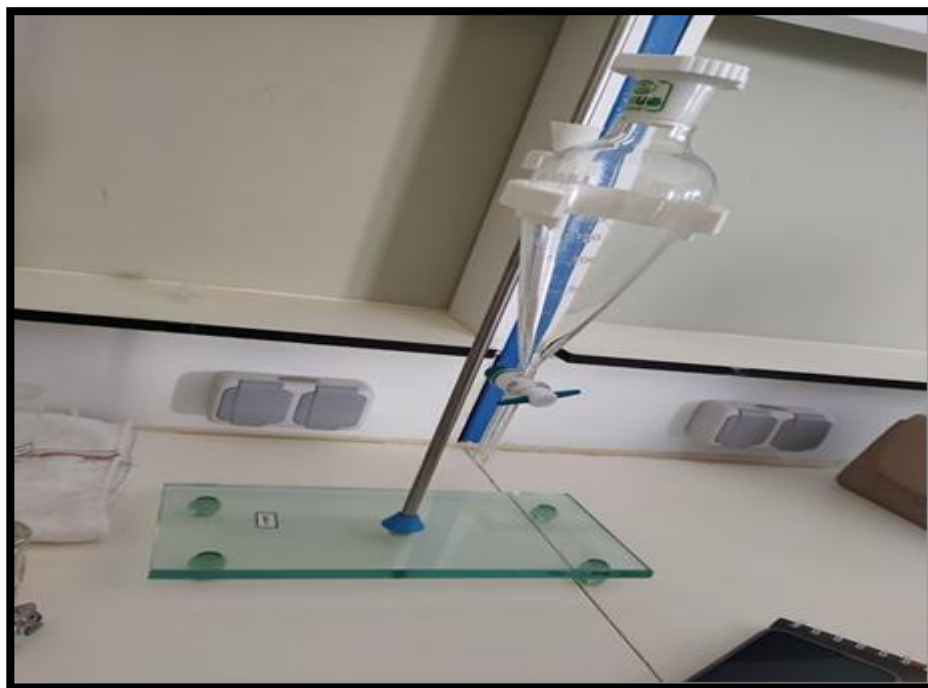
### I.2. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans notre travail de laboratoire peuvent être clarifiés comme suit : éthanol, chloroforme, acide gallique, réactif Folin-Ciocalteu, bicarbonate

sodium, réactif vanilline, catéchine, acide sulfurique, méthanol, réactif  $AlCl_3$ , quercétine, acide ascorbique et réactif DPPH.

### **I .3. Verrerie de laboratoire**

La verrerie de laboratoire la plus importante utilisée dans notre travail appliqué est la suivante : Entonnoir Verre, Bêchers, Ampoule à décantation (**Figure10**), Éprouvette graduée, tubes à essai.



**Figure10:** Ampoule à décantation

### **I .4. Appareils**

Les appareils utilisés dans notre travail de laboratoire peuvent être clarifiés comme suit: Etuve, Rota-vapeur, Hotplate stirrer, Spectrophotomètre (**jenway USA**) (**Figure11**), Balance analytique et Bain-marie.



**Figure11:** Spectrophotomètre (jenway USA)

## II. Méthodes

### II.1. Extraction des tanins totaux par macération

La macération est l'une des techniques utilisées pour l'extraction des tanins des plantes médicinales, où consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide (**Benabdallah, 2016**). La macération est la technique d'extraction la plus simple où elle peut se résumer en 4 étapes Macération, Filtration, Séparation et Evaporation selon **Djahra, (2013)**.

#### ✚ Macération

Peser 10 g de feuilles de *Pergularia tomentosa* broyées, puis macérer dans un mélange composé de 80 ml d'éthanol et de 20 ml d'eau chaude (quantité totale 100 ml) dans un bécher de laboratoire. Agiter, couvrir d'une papier d'aluminium et conserver à l'abri de la lumière pendant 24 heures.

#### ✚ Filtration

Dans l'étape suivante, après 24 heures, nous filtrons le mélange à l'aide de papier filtre et utilisons un entonnoir, puis commençons le processus de filtration jusqu'à ce que tout le liquide sorte du mélange et les résidus sont élimination avec le papier filtre.

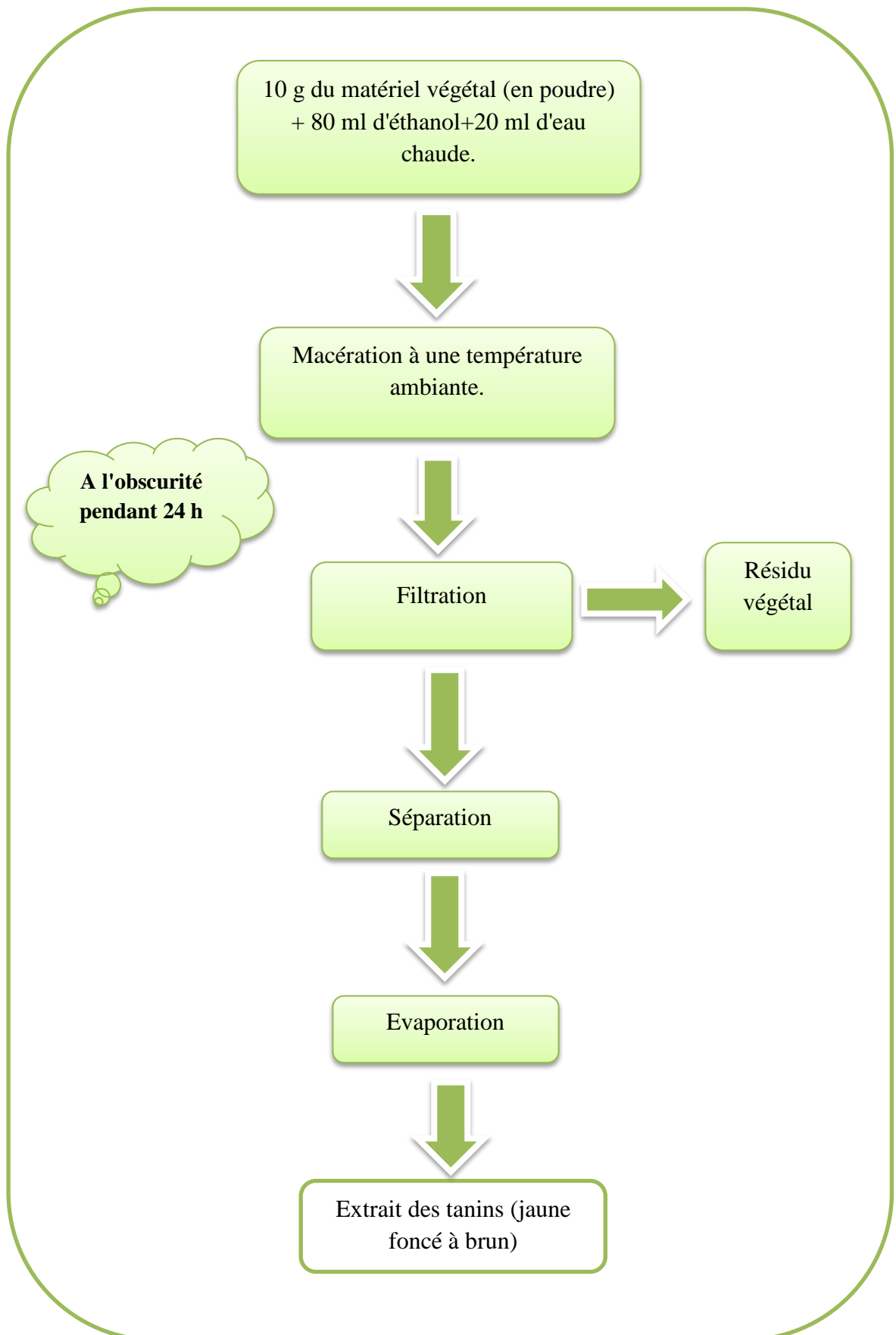
### **Séparation**

Nous mettons le reste du mélange dans une ampoule à décantation, plusieurs fois successivement ( $4 \times 20$  ml) ajouter du chloroforme, à chaque fois on ouvre robinet jusqu'à obtenir finalement 60 ml de chloroforme (qui porte les tanins).

### **Evaporation**

On met 60 ml de chloroforme dans l'appareil rota-évaporation en gardant un peu de chloroforme liquide à la fin.

- Pour expliquer plus brièvement la méthode d'extraction par macération, nous avons créé le schéma de protocole suivant (**Figure12**).



**Figure 12 :** Protocole de préparation d'extrait des tanins par macération

### ✚ Détermination du rendement

Afin de peeling le matériel à obtenir, on apporte une boîte de Pétri (verre) et on la pèse, puis on ajoute le reste de l'extrait et on le met un certain temps dans le tuve jusqu'à ce que le reste s'évapore, puis on pèse à nouveau la boîte de Pétri dans l'ordre pour calculer le rendement. On retranche le poids de la boîte de Petri vide du poids de la boîte de Petri après l'avoir retirée du tuve. On divise par le poids de la plante utilisée 10 g.

$$\text{Rendement (\%)} = [ (P1-P2) / P3 ] 100$$

- **P1:** Poids de la boîte de Petri après l'avoir retirée du tuve.
- **P2:** Poids de la boîte de Petri vide.
- **P3:** Poids de la plante utilisée 10g.

## II.2. Dosage de teneur totale en polyphénols

### a. Principe

La teneur en composés phénoliques de notre extrait a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Wood et al., 2002**). Le dosage des phénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 par Singleton et Rossi. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

### b. Mode opératoire

- Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 0.2 ml de chaque extrait a été ajouté avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 0.8 ml d'une solution de bicarbonate de sodium;
- Les tubes sont agités et conservés pendant 2 heures à une température ambiante;
- L'absorbance est lue à 765 nm, une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0.1 à 1 mg/ml).

### II .3. Dosage de teneur totale en flavonoïdes

#### a. Principe

La teneur en flavonoïdes de notre échantillon a été déterminée à l'aide de la méthode spectrophotométrique avec une modification mineure (**Djeridane et al., 2006**). La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Le chlorure d'aluminium forme des complexes acides labiles avec les groupes orthodihydroxyl dans le cycle A ou B de flavonoïdes (**Meraghni et al., 2018**).

#### b. Mode opératoire

- L'échantillon contenait 1 ml de solution de méthanol de l'extrait à la concentration de 1 mg/ml et 1 ml de solution d' $\text{AlCl}_3$  à 2 % dissous dans du méthanol;
- Les échantillons ont été incubés pendant une heure à température ambiante. Les échantillons ont été incubés pendant 1 h à température ambiante (TA). L'absorbance a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à  $\lambda_{\text{max}} = 415 \text{ nm}$ ;
- La même procédure a été répétée pour la solution standard de quercétine et le graphique d'étalonnage a été interprété;
- Sur la base de l'absorbance mesurée, la concentration de flavonoïdes a été lue (mg/mL) sur la ligne d'étalonnage, puis la teneur en flavonoïdes de chaque échantillon a été exprimée en terme d'équivalent de quercétine (mg de QAE/g d'échantillon).

### II .4. Dosage des tanins condensés

#### a. Principe

Nous avons adopté la méthode de la vanilline avec l'acide sulfurique. Cette méthode est basée sur l'interaction de la vanilline avec le groupe flavonoïde terminal des TC et la formation de complexes rouges, ce qui s'explique par la propriété des tanins à se convertir en anthocyanidines rouges par interaction avec la vanilline (**Schofield et al., 2001**).



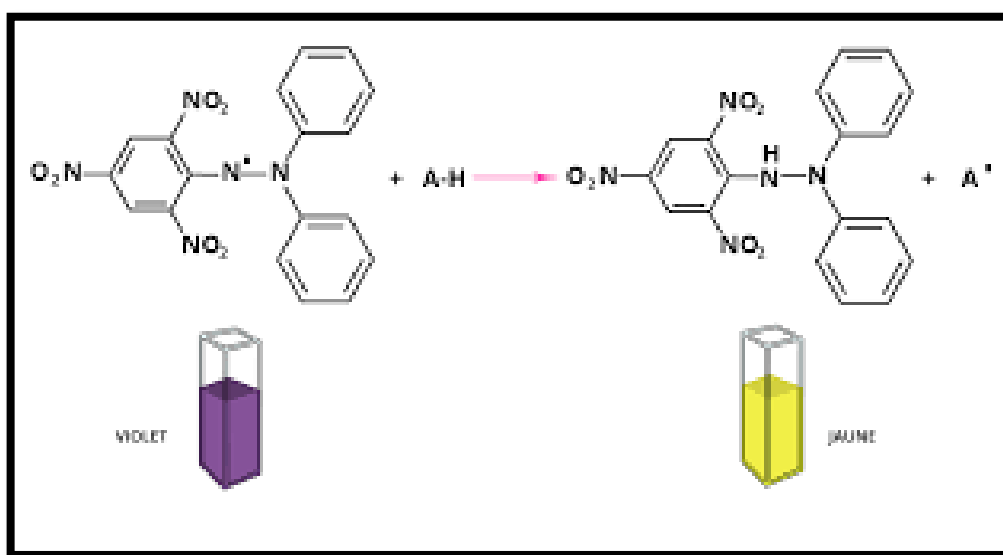
### b. Mode opératoire

- Nous préparons 3 mg d'extrait d'échantillon avec 3 ml de solution d'éthanol ;
- Nous préparons 1 mg de vanilline avec 100 ml d'acide sulfurique et agitons vigoureusement;
- Nous préparons 5 tubes numérotés comme suit, tubes 1,2,3,4 et tube5 contient 5 mg de catéchine avec 5 ml de solution d'éthanol. On prélève avec une pipette graduée 1,5 ml, 1,5 ml, 0,5 ml, 0,2 ml du tube T5 et on ajoute par la même pipette 0,5, 1, 1,5, 1,8, et on obtient ainsi quatre tubes de volumes égaux (2 ml) et de concentrations différentes. A chacun des quatre tubes, on ajoute 0,5 ml de solution de vanilline et 0,5 ml d'extrait ;
- Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 minutes;
- L'absorbance est mesurée à 550 nm contre le vide.

## II.5. Activité antioxydant (test DPPH)

### a. Principe de test DPPH

L'activité anti-radicalaire est mesurée par la dégradation du DPPH: 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl, qui est un radical synthétique présentant une intense coloration violette. La couche électronique de ce radical est saturée en contact d'antioxydants, ce qui explique la disparition de sa coloration. Cette décoloration explique le pouvoir de l'extrait de la plante à piéger ce radical, qu'on peut détecter par un spectrophotomètre-UV. L'estimation de cette activité anti-radicalaire est mesurée selon la méthode de **Bouhamdi, (2012) (Figure 13)**.



**Figure 13:** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH (Fettah, 2019)

**b. Mode opératoire**

- Une solution éthanolique de DPPH<sup>•</sup> a été préparée en dissolvant 4 mg de ce produit dans 100 ml de méthanol ;
- Ensuite, à 50 µl d'extrait à une concentration donnée sont ajoutés 1950 µl de la solution DPPH<sup>•</sup> ;
- Les extraits ainsi que la référence (acide ascorbique) sont testés à différentes concentrations (0.1 - 0.25 - 0.5 - 0.75 - 1 - mg/ml) ;
- Lire l'absorbance à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité.

**c. Expression des résultats**

L'activité anti-oxydants liée à l'effet de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire\%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

L'étude de la variation de l'activité anti-radicalaire en fonction de la concentration des extraits, permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50), une faible valeur de la IC50 correspondant à une grande efficacité de l'extrait.

# **Chapitre 02:**

## **Résultats et discussion**

### I. Rendement d'extraction des tanins totaux

Après l'extraction les tanins totaux par la méthode de macération, où nous mélanger feuilles de la plante *Pergularia tomentosa* broyées avec l'éthanol pendant 24 heures, nous avons ensuite effectué la séparation de cette solution par ampoule à décantation, en obtenu un rendement (extrait de tanins) sous forme pate (jaune foncé à brun) égal 124 mg c'est-à-dire 1.24 % du poids des feuilles broyées que nous avons utilisé (10g).

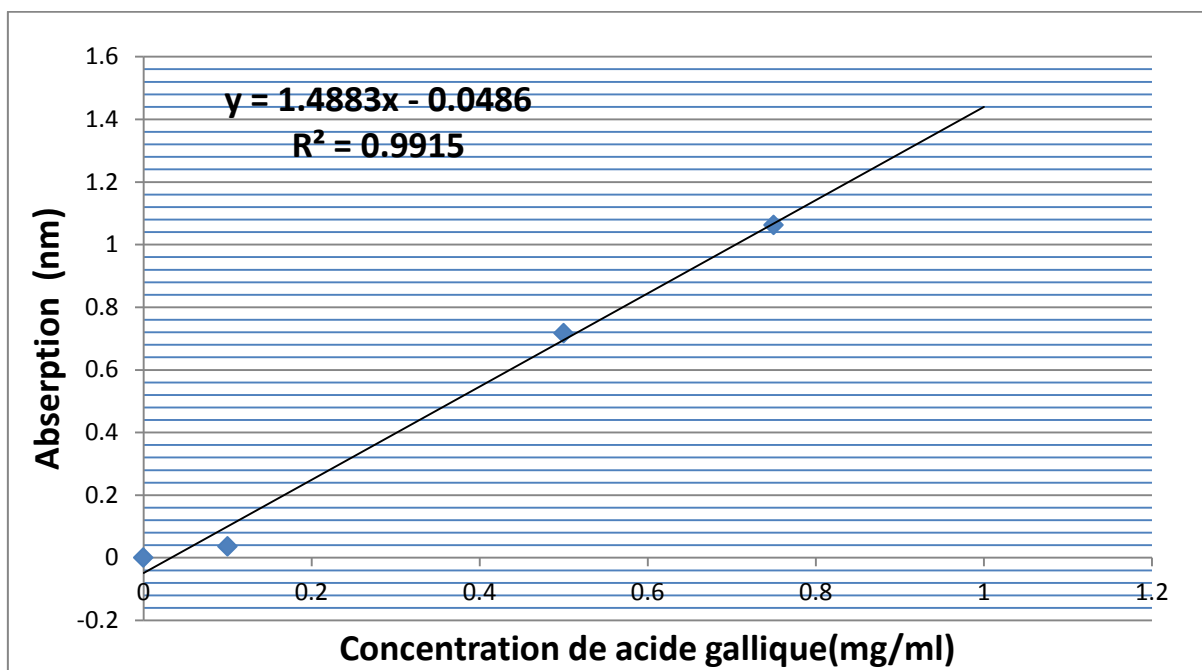
$$\text{Rendement (\%)} = (12.505 - 12.381) / 10 \cdot 100$$

Selon **Baissa et Guettiani, (2020)**, le rendement d'extrait de la partie aérienne de la plante *Pergularia tomentosa* est 8.6%, cette valeur est supérieure à notre rendement d'extrait des tanins. D'autre point de vue selon **Belloum et Nani, (2019)** le rendement de l'extrait éthanolique de racines séchées de *Pergularia tomentosa* à donner un résultat 9,78 %. Ce résultat est plus élevé par rapport notre rendement (l'extrait des tanins).

Les rendements varient d'une partie de la plante à une autre et d'une méthode d'extraction à une autre, Cette différence est expliquée par l'utilisation d'ampoule à décantation, et cette étape, peuvent conduire à une réduction significative de rendement. Il y a également une autre raison qui pourrait avoir un impact sur le rendement d'extraction, c'est le temps d'extraction qui diffère d'une méthode a une autre. Un certain degré de température peut inactiver les composés bioactifs et diminuer leur rendement d'extraction dans le solvant utilisé (**Lahmar et al., 2017**).

### II. Teneur total de polyphénol

La teneur en polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de **Wood et al., (2002)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E). Cette teneur est calculée en utilisant l'équation de la régression linéaire d'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode **Figure 14**.



**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

À partir de la courbe d'étalonnage de **Figure 14**, la concentration des polyphénols totaux de l'extrait de tanins de *Pergularia tomentosa* par macération est égale  $18.79 \pm 0.16$  mg EAG/g E.

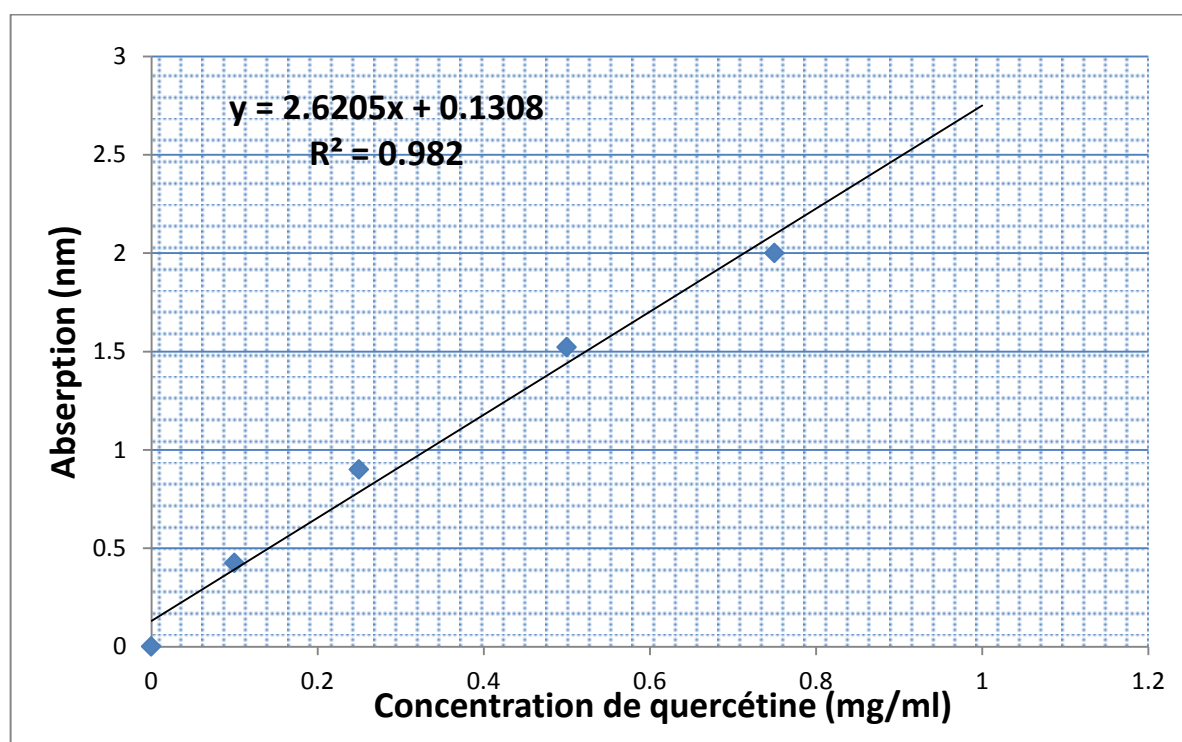
Les résultats de dosage de polyphénols montrent que l'extrait des tanins est riche en polyphénols ( $18.79 \pm 0.16$  mg EAG/g E). Cette résultat est inférieur de celle publié par **Saidi, (2019)** sur l'extrait méthanolique des graines *Gleditsia triacanthos* (Fabaceae) avec le taux de  $23.700 \pm 0.919$  mgEAG/gE. Par contre nos résultats sont relativement similaire à la teneur en polyphénols des travaux de **Tlili et al., (2021)**, sur l'extrait éthanolique des feuilles de *P. tomentosa* ( $17,65 \pm 0,3$ mg EAG/g E).

Les teneurs en polyphénols totaux varient qualitativement et quantitativement dans la même plante ainsi d'une plante à une autre, cela peut être expliquée par l'origine de la plante et la méthode d'extraction, par la polarité des solvants d'extraction. Elle dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (le climat, la période de récolte et les conditions de stockage), aussi dépendent à l'organe analysé, et les conditions d'échantillonnage (**Schlesier et al., 2002**), les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, et également la dégradation de quelques composés phénoliques dans une température trop élevée. Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention à la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long, ce qui peut mener à l'inverse des résultats escomptés (teneurs très basses) (**Park et Cha, 2003**).

Dans la même étude par **Tlili et al., (2021)**, d'autres solvants ont été utilisés dans le processus d'extraction par macération, ce qui a affecté le taux de polyphénols obtenu dans les résultats où lors de l'utilisation de chacun des solvants suivants, les résultats étaient les suivants : (À l'éther de pétrole:  $20,51 \pm 0,37$  mgEAG/g E; A l'acétate d'éthyle:  $27,26 \pm 0,097$  mgEAG/gE et butanolique mgEAG/g E  $33,91 \pm 0,11$  mgEAG/g E). Cela indique que le choix du système de solvant d'extraction est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux (**Tirichine, 2010**).

### III. Teneur totale en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) (**Djeridane et al., 2006**). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 415 nm. La courbe d'étalonnage de quercétine représentés dans **Figure 15**, ayant l'équation:



**Figure 15:** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux

À partir de la courbe d'étalonnage de quercétine **Figure 15**, les résultats de la teneur en flavonoïde des feuilles du *Pergularia tomentosa* (l'extrait des tanins) montrent que les flavonoïdes à savoir une moyenne de  $1.724 \pm 0.276$  mg EQ /g E.

Les résultats de dosage de flavonoïdes montrent que l'extrait des tanins est possédé une quantité considérée en flavonoïdes ( $1.724 \pm 0.276$  mg EQ /g E). Cette quantité est inférieure à celle de la plante *Pergularia tomentosa* daemia ( $4.65$  mg EQ/g E) par **Karthishwaran et Mirunalini, (2012)**.

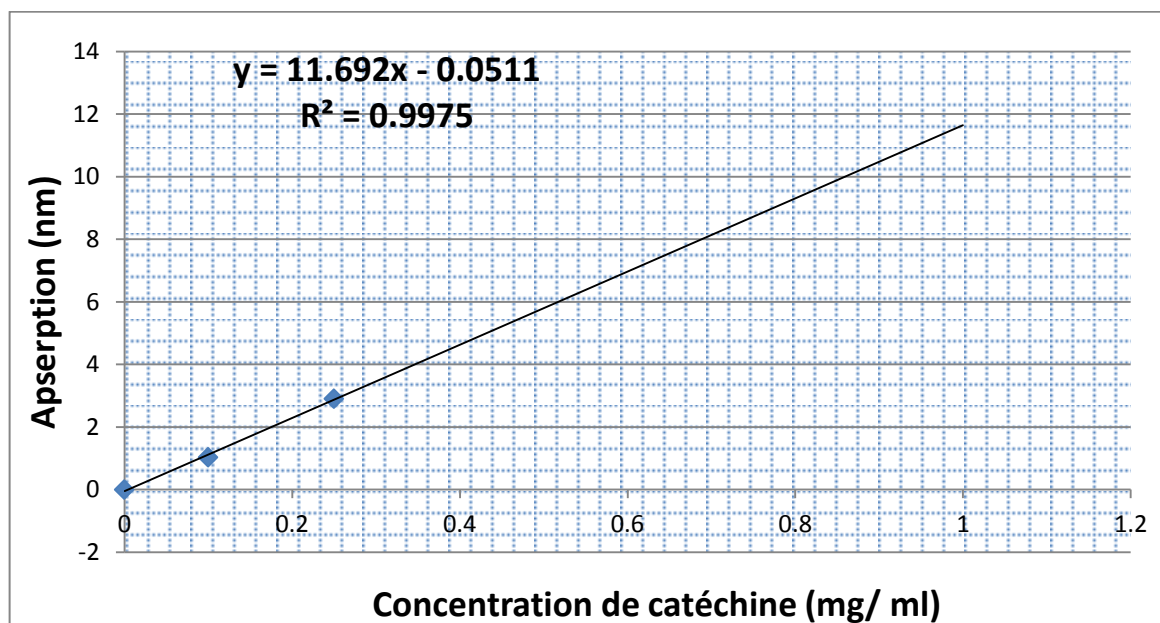
Cette différence peut s'expliquer d'après **Lu et al., (2006)**; **Vanamala et al., (2006)** et **Klimczak et al., (2007)**, par la variabilité des teneurs en flavonoïdes dans l'organe de la plante où est influencée par plusieurs facteurs dont l'origine génétique, le degré de maturation et le mode de conservation.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante est liée à la solubilité qui dépend non seulement de la polarité du solvant d'extraction mais aussi du nombre et de la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire et de la glycosylation (**Mohammedi et Atik, 2011**; **Iloki-Assanga et al., 2015**).

Dans notre cas, nous peut expliquons également la faiblesse de notre résultat par la méthode d'extraction, où nous avons utilisé ampoule à décantation, nous nous sommes débarrassés d'une grande quantité de l'extrait et conservé l'extrait de tanins (cible d'extraction).

#### IV. Teneur les tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode de la vanilline avec l'acide sulfurique (**Schofield et al., 2001**). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 550 nm. La courbe d'étalonnage de catéchine représentés dans **Figure 16**, ayant l'équation:



**Figure 16** : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

À partir de la courbe d'étalonnage de catéchine **Figure 16**, les feuilles du *Pergularia tomentosa* (l'extrait des tanins) possède une quantité remarquable de tanins condensés d'ordre de  $6.95 \pm 0.11$  mg ECT /g E.

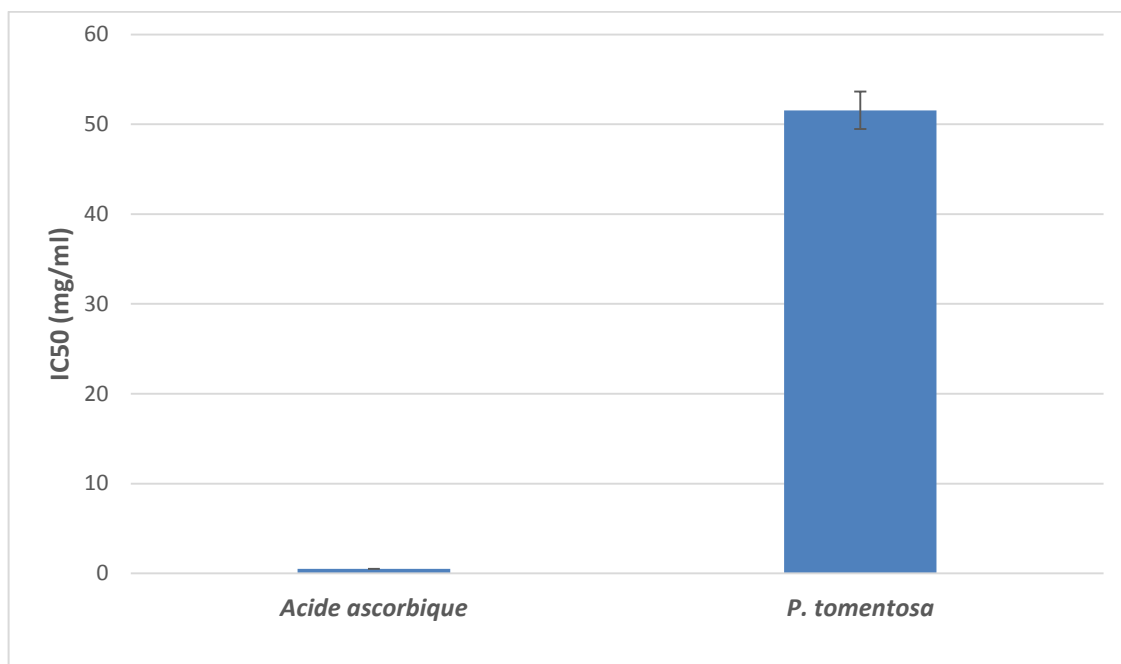
A partir de **Tlili, (2016)** les feuilles de *P. tomentosa* montrent que cet extrait est relativement riche en tanins condensés, avec un taux de  $61,06 \pm 0,22$  mg ECT/g E, ce qui est une valeur supérieure à celle de notre extrait.

La variation de taux de tanins pourrait être due aux conditions environnementales (**Fahmi et al., 2013**), Ainsi que dépend à la dégradabilité, est susceptible d'être influencé par le mode de culture, le stade phénologique (avec le temps, les plantes ont tendance à durcir par lignification et leur valeur nutritive décline), la nature du sol (les sols arides sont sablonneux, infertiles et pauvres en éléments nutritifs), le climat au moment du prélèvement (température et pluviométrie), de même que par la constitution de l'échantillon (proportion, tiges, feuilles et fleurs). Le traitement de ces prélèvements en vue de l'expérimentation (mode de séchage, de broyage et de stockage) est aussi susceptible de faire varier les résultats (**Rira, 2006**).

## V. Evaluation l'activité anti-oxydante

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de notre extrait, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl) (**Hanato et al., 1988**) comme un radical relativement stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm. La capacité anti-oxydante de l'extrait de la plante étudiée a été déterminée et comparées aux activités des composés des étalons l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus pour le test de DPPH, exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50 % des radicaux (IC50), sont présentés dans **Figure 17**. A des fins comparatives, un antioxydant standard sont utilisés (l'acide ascorbique).



**Figure 17** : Résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH



L'acide ascorbique a montré une forte activité anti-radicalaire avec des IC50 de l'ordre de  $0.5 \pm 0.075$  mg/ml, et l'activité antioxydants de notre extrait avec IC50 de l'ordre de  $51.555 \pm 2.977$  mg/ml cette pouvoir est faible par rapport l'activité d'acide ascorbique.

D'après **Tlili, (2016)** l'extrait éthanolique de feuille de *P. tomentosa* possède un IC50 de l'ordre de  $9,81 \pm 0,06$  mg/ml., cette valeur est relativement inférieur par rapport à notre résultat, donc notre extrait montré une activité antioxydant plus faible par rapport cette valeur.

La quantité des composés bioactifs de la même plante dépend de plusieurs facteurs parmi eux le facteur de la région géographique qui, associée aux conditions climatiques comme la température et l'altitude, influent sur la composition chimique des constituants actifs et sur la capacité antioxydant des plantes (**khadri et al., 2008; Tlili, 2015**).

D'après **Benlagha et Khelil, (2019)** l'extrait éthanolique des feuilles d'*Olea europaea* (Oleaceae) possède un IC50 de l'ordre de 189.2 µg/ml. Cette valeur est relativement inférieur par rapport à notre résultat. On peut suggérer que le pouvoir antioxydant observé est dû à la différence dans la constitution chimique de cette plante, elle-même variable en fonction des conditions du biotope (**khadri et al., 2008; Tlili, 2015**). La valeur d'IC50 est due à la présence des flavonoïdes, Ces derniers possèdent des propriétés antioxydants puissantes. Le nombre et/ou la position des groupes hydroxyle sur les noyaux de ces molécules, les substitutions sur les cycles B et A avec la présence de la double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo sur le cycle C renforcent l'activité antioxydant des flavonoïdes (**Cai et al., 2006**). Cette différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs influencés on peut citer diverses régions de la plante étudiée, différent entre les espèces des plantes végétale (**Tlili, 2015**), de l'organe végétal à tester, le période de récolte (**Bettaieb et al., 2017**) et les conditions expérimentales différent solvants (**Benhammou et al., 2009**).

# Conclusion

Grâce au développement et aux progrès scientifiques dans divers domaines, l'homme a pu progressivement se passer des plantes médicinales en traitement et les remplacer par des médicaments et des préparations chimiques. On s'attendait à ce que la maladie régresse et la contrôle, mais ce qui s'est passé est le contraire. Là où l'homme connaissait des maladies qui n'existaient pas auparavant, et des maladies chroniques sont apparues, ce qui a poussé les scientifiques à se tourner vers l'étude des plantes médicinales pour développer des médicaments sans utiliser de matériel industriel et nous a fait en particulier nous tourner vers l'étude d'une de ces plantes médicinales, *Pergularia tomentosa* L. les travaux en cours visent à mener une étude phytochimique en recherchant l'une des molécules biologiques actives, qui est les tanins.

Nous sommes partis au début de notre travail au laboratoire par extraire les tanins des feuilles broyées de *Pergularia tomentosa* L. puis nous avons estimé la quantité de certains métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés) et conclu notre travail en évaluant le pouvoir antioxydant. Les résultats obtenus peuvent être listés comme suit :

- Les feuilles de *Pergularia tomentosa* ont donné un rendement d'extraction (trempage dans l'éthanol et séparation dans le chloroforme) égale 1,24 % (124 mg).
- L'étude de la quantité de polyphénols dans l'extrait des tanins des feuilles de *Pergularia tomentosa* a donné une bonne quantité de polyphénols égale à  $18,79 \pm 0,16$  mg EAG/g E.
- La quantité de flavonoïdes dans notre extrait est quelque peu faible avec un résultat égale  $1,724 \pm 0,276$  mg EQ /g E.
- L'étude de la teneur en tanins condensés a donné un résultat moyen égale  $6,95 \pm 0,11$  mg ECT /g E.
- L'activité antioxydant de l'extrait des tanins de *Pergularia tomentosa* est bonne avec un résultat d'IC50 d'ordre de  $51,555 \pm 2,977$  mg/ml.

Sur la base de ces résultats, nous concluons que *Pergularia tomentosa* est très importante en phytothérapie, car elle possède une bonne quantité de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins condensés, c'est-à-dire *Pergularia tomentosa* (extrait de tanins) est riche en polyphénols en général, qui est l'un des métabolites secondaires les plus importants qui portent plusieurs activités anti-maladie, et la preuve en est le résultat du test DPPH, qui a montré que l'extrait de tanins a une bonne activité antioxydante.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constitue qu'une petite partie de la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives, nous envisageons comme perspective d'utiliser des méthodes modernes pour l'extraction des principes actifs, et de valoriser leur présence par des techniques précises comme la CPGSM, la RMN et l'HPLC.

# **Références bibliographiques**

1. **A.N.R.H.**, 2004. L'atlas pratique de l'Algérie. Edition populaire de l'armée (EPA), 566-567.
2. **Al-Mekhlafi N A., Masoud A.**, 2017. Phytochemical and pharmacological activities of *Pergularia tomentosa* L., Indo american journal of pharmaceutical sciences, 4(11),4558-4565.
3. **Al-Snafi A.E.**, 2018. Pharmacological importance of Haplophyllum species grown in Iraq- A review, Journal of Pharmacy 8(5):54-62.
4. **Amani A., Barmo S.**, 2010. Contribution à l'état des connaissances de quelques plantes envahissantes au Niger, Programme des Nations Unies pour le Développement, 40 p.
5. **Atefeibu E.S.I.**, 2002. Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii, Thèse de Doctorat, Université cheikh Anta Diop de Dakar,33p.
6. **Atmani D., Chaher N., Atmani D., Berboucha M., Debbache N., Boudaoud H.**, 2009. Flavonoids in human health: from structure to biological activity. Current Nutrition & Food Science, 5(4), 237p.
7. **BAAISSA S., Guettianif Z.**, 2020. Contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante in vivo de différents extraits de la plante médicinale *Pergularia tomentosa* L., Université Mohamed Khider de Biskra , 40p.
8. **Barmo S., Amanai A.**, 2010. Contribution à l'état des connaissances de quelques plantes envahissantes au Niger, République du niger, Cabinet du premier ministre, 40p.
9. **Barrosoa M.R., Barros L., Dueñas M., Carvalho A.M., Santos-Buelga C., Fernandes I.P., Barreiro M.F., Ferreira I.C.F.R.**, 2014. Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum Stoechas* (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications : Chemical characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer. Ind. Crops Prod. 53 ; 336p.
10. **Békro Y.A., Janat A., Békro M., Boua B.B., Trabi F.H., Éhilé E.**, 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de caesalpinia benthamiana (baill) herend et zarucchi (caesalpinaceae), Sciences & nature. vol 4 n° 2, 225p.
11. **Belloum N., Nani N.**, 2020. Contribution à l'étude phytochimique de racine de *Pergularia tomentosa* L. dans la région d'El Oued. Université Echahid Hamma Lakhdar ELOUED, 60p.
12. **Benabdallah H.**, 2016. Polycopié du Cours: Techniques d'extraction, de purification et de conservation, Master I: Analyses biochimiques, Université Ferhat Abbas de Sétif, 13p.

13. **Benyahia H.**, 2017. Etude phytochimique et dosage de quelques composés phénoliques des fruits d'*Elettaria cardamomum* et évaluation de son activité antioxydante, Mémoire de Master En Biologie, Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen, 1- 40
14. **Berthod A., Biillardello B., Geoffroy S.**, 1999. Polyphenol in counterwrrrent vbromatography. An exemple of large scale separation 1. Analisis. EDP. Sciences. Wiley.VCH. 27: 750-757
15. **Boizot N, Charpentier J.P.**, 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiens, prairiaux et aquatiques, INRA, 82p.
16. **Boudjlal K.**, 2009. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia* L., Thèse de magister, Université El hadj lakhdare batna, 55p.
17. **Boudjouref M.**, 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie, Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
18. **Bouhali M., Bouguerne S.**, 2020, Activité antioxydante des polyphénols du fruit de *Phoenix dactylifera* L., Thèse de master, Université Mohammed-Seddik Ben yahia-Jijel, 61p.
19. **Bouhamdi, A.**, 2012. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des feuilles de *Pergularia tomentosa* L. de la région d'Adrar. Mémoire de Master en Biochimie appliqué. Université Abou-Bekr Belkaid. Tlemcen, 62p.
20. **Bouhmama M.**, 2015. Contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien des extraits de feuilles de *Pergularia tomentosa* L., Thèsr de master de la région d'Adrar. Université de Tlemcen-Faculté des sciences de la nature et de la vie, terre et univers - Département de biologie, 19p
21. **Boukri N.H.**, 2014. Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout.,Thème Master Academique, Université Kasdi Merbah Ouargla, 99 p.
22. **Brillouet J.M., Romieu C., Schoefs B., Solymosi K., Cheynier V., Fulcrand H., Verdeil J.L., Conejero G.**, 2013. Annals of botany , 112 ( 6 ) : 1003-1014 .
23. **Bruneton J.**, 1993. Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 2eme edition tec et doc. Paris, 210- 338p.
24. **Bruneton J.**, 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale. 4éme Edition Lavoisier. Paris, 1234p.

25. **Cai Y.Z., Sun M., Xing J., Luo Q., Corke H.,** 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci* 78, 18p.
26. **Calliste C.A., Trouillas P., Allais D.P., Simon A., Duroux J.L.,** 2001. Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7), 3321–3327.
27. **Catier O., Roux D.,** 2007. Botanique. Pharmacognosie. Phytothérapie: Cahiers du préparateur en pharmacie. 3ème ed. France: Wolters Kluwer.144p.
28. **Chehma A.,** 2006. Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Laboratoire de protection des écosystèmes en zone arides et semi arides, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 140 p.
29. **Cherif R.,** 16/01/2020. Etude comparative des activités biologiques des extraits aqueux de deux plantes spontanées récoltées au Sahara Algérien, THÈSE Doctorat, Université de Ghardaïa,157p
30. **Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R., Larondelle Y.,** 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Journal of Separation and Purification Technology*, 55, pp: 217-225.
31. **Cowan M.M.,** 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
32. **Djahra A.B.,** 2013. Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.), DOI: 10.1007/s10298-013-0819- 1, Annaba 23000, Algérie , pp : 348-352.
33. **Djefjel H.L.,** 2017. Contribution à l'étude phytochimique de quelques métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes) du calice de carlina acaulis de la région de Tlemcen, Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen, diplôme de Master en Biologie, pp :1-45.
34. **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N.,** 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, pp :654-660.
35. **Downey M.O., Hanlin R.L.,** 2010. Comparison of Ethanol and Acetone Mixtures for Extraction of Condensed Tannin from Grape Skin, *S.Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 31, No. 2, 154-159.



36. **Drużyńska B., Stepniewska A., Wolosiak R.,** 2007. The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 6, 27-36.
37. **Ekor M.,** 2014. The growing use of herbal medicines : issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety, *Frontiers in Pharmacology* 4(177), 1-10.  
extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université de Liège, 104p.
38. **Fahmi F., Tahrouch S., Hatimi A.,** 2013. Geoclimatic influences on flavonoids contents of the leaves of the argan tree Influences géoclimatiques sur la composition en flavonoïdes des feuilles de *l'arganier Argania spinosa*. *J. Mater. Environ. Sci.* 4(6), 881-886.
39. **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C.,** 2008. Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331; 372-379.
40. **Faustin P.K.,** 2019. Composition en polyphénols totaux et en tanins des feuilles de neuf variétés de *Cajanus cajan* (L.) Millsp. au cours du premier cycle de croissance et en fonction du mode d'exploitation. *International, Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2): 882-898.
41. **Favier A.,** 2003. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *L'actualité Chimique* , 108- 115.
42. **Ferradjia A.,** 2011. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus.*, Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de magister., Université Ferhat Abbas. Setif. 90p.
43. **Fettah A.,** 2019. Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium Polium* L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat en Chimie. Université Mohamed Khider Biskra, 87p.
44. **François R.,** 2008. Dictionnaire encyclopédique des sciences de la nature et de la biodiversité. Edition Dunod, Paris, 726p.
45. **Gagandeep M., Kalidhar S.B.,** 2006. Chemical constituents of *Crataevanurvala* (Buchham) leaves. *In. J. Ph. Sc*, 68; 804-806.
46. **Gangoue P.J.,** 200. Caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université de Liège, 104p.

47. **Gee J.M., Johnson I.T.**, 2001. Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*. 8,1-182.
48. **Ghestem A., Segun E., Paris M., Orecchioni A.M.**, 2001. Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris ,273p
49. **Guignard J.L.**, 1996. Biochimie végétale. Masson, Paris, 255 p.
50. **Gurib-Fakim A.**, 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. Vol. (27); 1-93.
51. **Hagerman A.E.**, 2002. Chemistry Condensed tannin accumulation and composition in skin of shiraz and cabernet sauvignon grapes during berry development *American Journal of Enology and Viticulture*. 60 (1), 13-23.
52. **Hamed A.I., Plaza A., Balestrieri M.L., Mahalel U.A., Springuel I.V., Oleszek W., Pizza C., Piacente S.**, 2006. Cardenolide glycosides from *P.tomentosa* and their proapoptotic activity in Kaposi's sarcoma cells, *Journal of Natural Products*, 69, 1319-1322.
53. **Hassan S., Umar R., Ladan M.J., Myemike P., Wasagu R.S.U., Lawal M., Ebbo A.A.**, 2007. Nutritive Value. Phytochemical and Antifungal Properties of *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae). *International Journal of Pharmacology*. 3: 334–340.
54. **Hussein H.I., Al-Rajhi D.H., El-Shahawi F.I., Hashed S.M.**, 1999. Molluscicidal Activity of *Pergularia tomentosa* (L.), Methomyl and Methiocarb. Against Land Snails, *International Journal of Pest Management*. 45; 211–213.
55. **Jacqueline D.**, 1978. Les tanins dans les bois tropicaux,182, P:37-54.
56. **Jarrige R.Y., Ruckebusch C., Demarquilly M.H., Farce M.H., Journet M.**, 1995. « Nutrition des ruminants domestique: ingestion et digestion », Éditions INRA, 925p
57. **kada S.**, 2018. Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif, 172p
58. **Kemassi A., Darem S., Cherif R., Boual Z., Sadine S. E., Aggoune M.S., Ould EL Hadj Khelil A., Ould Elhadj M.D.**, 2014. Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien), *Journal of Advanced Research In Science and Technology* 1(1):1-5.
59. **Khadri A., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiiti S., Araujo M.E.M.**, 2008. Antioxidant and antiacetyl cholinesterase activities of essential oils from

- Cymbopogon Schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC–massspectrometry and <sup>13</sup>C NMR. Food Chemistry, 109: 630–637.
60. **Konkon N.G., Simaga D., Adjoungova A.**, 2006. Etude phytochimique de mitragyna inermis (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetiqu, Pharm Méd Trad Afr. Vol. 14 , pp 73-80.
61. **Krieff S.**, 2003. Métabolites secondaires des plantes et compartiment animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (pan troglodytes schweinfurthii) en ouganda activités biologique et étude chimique de plantes consommées, Thèse de Doctorat, Muséum national d'histoire naturelle Ouganda, 346p
62. **Lacampagne S.**, 2010 . Localisation et caractérisation des tannins dans la pellicule du raisin: etude de l'impact de l'organisation physico-chimique des parois cellulaires sur la composante tannique, la qualité du fruit et la typicité des raisins de Bordeaux (Doctoral dissertation), Université de Bordeaux, 1-239.
63. **Lehout R., Laib M.**, 2003. Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso, Thèse de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, 52p.
64. **Liu F., Liaos Zou Y., Xiao G.**, 2014. Antioxidant activity of Phellinus igniarius extracts. The FASEB Journal. 28(1), 830-32.
65. **Luthar Z.**, 1992. Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seed (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum* 12: 36 - 42.
66. **Macheix J., Fleuriet A., Jay-Allemand C.**, 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PUR Presses polytechniques.200p.
67. **Mekhoukhe A.**, 2008. Etude de certaines activités biologiques des composés phénoliques extraits de cinq plantes médicinales de la région de Bejaia. Université Abderahmane Mira de Bejaia. 36p.
68. **Mole S., Waterman P.G.**, 1987. Tonic acid proteolic enzymes: enzyme inhibition substrat derivation. Photochemistry. 26, 99-102.
69. **Naas Z.N.**, 2009. Contribution à l'étude phytochimique de la plante *Tetraclinis articulata* Activité biologique et biochimique de la plante, Université d'oranfaculte des sciennces departement de chimie, Diplôme de MAGISTER, 1-96.
70. **Nazck M., Shahidi F.**, 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. J Chromatogram A. 1054(1-2), 95-111.

- 71. Nazck M., Shahidi F.,** 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Bio medical Analysis*, 41; 1523-1542.
- 72. Okuda T., Ito H.,** 2011. Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins(Review). *Molecules* , 16; doi:10.3390 /molecules, 2191-2217.
- 73. Ouldelhadj M.D., Hadj- mahammed M., Zabeirou H., Chehma A.,** 2003. Importance des plantes spontanées médicinales dans la pharmacopée traditionnelle de la region d'OURGLA (Sahara septentrional est algerien). *Sciences et Technologie* 20:73-78.
- 74. Park H.J., Cha H.C.,** 2003. Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society*. 7; 327-330.
- 75. Peronny S.,** 2005. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta), Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco-Ethologie, 151 p
- 76. Perret C.,** 2001. Analyse de tannins inhibiteurs de la stilbene oxydase produite pour *Botrytis cinerea* Pers: Fr, Thèse de doctorat, Université de Neuchâtel Faculté des Sciences, 173p
- 77. Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C.,** 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health, *International Journal of Biomedical Science* 4(2), pp: 89-96.
- 78. Piacente S., Masullo M.** 2009. Cardenolides from *Pergularia tomentos* Er display cytotoxic activity resulting from their potent inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. *JNat prod.* 1087-1091.
- 79. Ranalli A., Contento S., Lucera L., Febo M., Marc D., Marchegiani D., Fonzo V.,** 2006. Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 434-440.
- 80. Richardin P., Capderou C., Flieder F., Bonnassies S., Raison D.,** 1988. Analyse de Quelques Tannins Végétaux Utilisés pour la Fabrication des Cuirs. Les documents graphiques et photographiques: analyse et conservation: travaux du Centre de Recherches sur la Conservation des Documents Graphiques, 151-82.
- 81. Rira M.,** 2006. Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Mémoire de Magister en : biochimie et microbiologie appliquées. Université Mentouri, Constantine, 87p.
- 82. Rira M.,** 2019. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical, Thèse de

- Doctorat, École Doctorale des Sciences de la vie et la Santé -Agronomie- Environnement. 216p.
- 83. Royer M.**, 2013. Etude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs, thèse de doctorat, Université de Lorraine.183p.
- 84. Sahraoui W.**, 2005. Laboratoire de pharmacognosie, 8p.
- 85. Schlesier K., Harwat M., B.hm V., Bitsch R.**, 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, *Free Radical Res*, 36(2); 177–87.
- 86. Schmelzer G. H., Gurib F.A.**, 2013. Ressources végétales de l’Afrique tropicale plante médicinales: 2eme édition, Fondation PROTA, Wageningen, Pays- Bas, 11 (2), pp. 224-226.
- 87. Schofield P., Mbugua D.M., Pell A.N.**, 2001. Analysis of condensed tannins: à review. *Anim. Feed Sci. Technol*, 91, 21-40.
- 88. Shinkafi S.A.**, 2013. Antidermatophytic activities. phytochemical screening and Chromatographic studies of *Pergularia tomentosa* L, an *Mitracarpusscaber* Zucc. (Leaves) Used in the Treatment of Dermatophytoses, *International Research Journal of Microbiology*.Vol, 4(1); 29-37.
- 89. Smith E.C., Swein T.**, 1962. Flavonoid compounds. In: *Comparative Biochemistry*. Eds. H. S.Mason, A.M. Florkin, Academic Press New York (USA), pp. 755–809.
- 90. Tahouo S.F.**, 2016. Procédures d’extraction globale des composés phytochimiques pour l’évaluation analytique des médianement à base de plantes. Ministère de l’enseignement supérieur et de la recherche scientifique, 38p.
- 91. Talbi M.**, 2015. Dosage des polyphénols de la plante *d’Artemisia Campestri* L. par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l’activité biologique, Thèse de magister Université d’Oran 01 Ahmed Benbella,70p.
- 92. Tirichine H.S.**, 2010. Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud-Est algérien. Thèse de Magister en Biologie. Université d’Oranes-Es Senia, Oran Algérie, 88p.
- 93. Tlili M.L.**, 2016. Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Mémoire de magister en biologie. Université Kasdi Merbah. Ouargla, 98p.

94. **Tlili M.L., Hammudi R., Dehak K., Hadj-Mahammed M.**, 2021. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobiennes des extraits de feuilles de *Pergularia tomentosa* issue d'el oued (Algerie), Journal of Revue des BioRessources, 10 ( 2),12p.
95. **Tyler V.E., Brady L.R., Robbers J.E.**, 1881. Pharmacognosy. Lea & Febiger, Philadelphia, 520 p.
96. **Wang L., Weller C.L.**, 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science and Technology. 17, 300-312.
97. **Wood J.E., Senthilmohana S.T., Peskinb A.**, 2002. Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. Food Chemistry, 77(2): 155–16
98. **Yap C.F., Ho C.W., Wan-Aida W.M., Chan S.W., Lee C.Y., Leong Y.S.**, 2009. Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues. Sains Malaysiana, 38(4); 511-520.
99. **Ya-Qin M., Xing-Qian Y., Zhong-Xiang F., Jian-Chu C., Gui-Hua X., Dong-Hong L.**, 2008. Phenolic Compounds and Antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Peels. *J. Agric. Food Chem.*, 56(14) ; 5682-5690.

- 100.شمسة ب. (2015-05-30) - دراسة مقارنة للمردودية و النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات *Zygophyllum album* L، جامعة الشهيد حما لخضر الوادي. مذكرة ماستر. الصفحات : 87 ص.
- 101.هادي ج.م. ،2006. إستخلاص البروانثوسيانيدينات وتنقيتها جزئياً من بذور العنب *Phoenix dactylifera* التمر ونوى *Vitis vinifera* ودراسة بعض من فعاليتها الحيوية، جامعة كربلاء، شهادة ماجستير ، ص ص 1-6.

## Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Dans ce contexte nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de tanins préparé à partir des feuilles du *Pergularia tomentosa* broyées, cet extrait a été obtenu par macération dans un solvant polaire: l'éthanol et après séparation dans chloroforme par ampoule à décantation. Le rendement respectif est de 1,24%.

L'analyse quantitative d'extrait de tanins confirmée a révélé la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes et tanins condensés dans l'extrait de tanins, ceci est confirmé par dosage des composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés dont les valeurs sont : pour les composés phénoliques égale ( $18.79 \pm 0.16$  mg EAG/g d'extrait); les flavonoïdes ( $1.724 \pm 0.276$  mg EQ /g d'extrait) et tanins condensés ( $6.95 \pm 0.11$  mg ECT /g. d'extrait) dans l'extrait de tanins. L'activité antioxydante a été établie par la méthode de DPPH *in vitro*, les résultats obtenus démontrent la présence des principes actifs antioxydants dans l'extrait avec un IC50 d'ordre de  $51.555 \pm 2.977$  mg/ml.

Sur la base de ces résultats, nous concluons que *Pergularia tomentosa* est très importante en phytothérapie, car elle possède une bonne quantité de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins condensés, c'est-à-dire *Pergularia tomentosa* (extrait de tanins) est riche en polyphénols en général, qui est l'un des métabolites secondaires les plus importants qui portent plusieurs activités anti-maladie, et la preuve en est le résultat du test DPPH, qui a montré que l'extrait de tanins a une bonne activité antioxydante.

**Mots clés:** *Pergularia tomentosa*, Polyphénols, Flavonoïdes, Tanins condensés, Activité antioxydante.



## المخلص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيًا. في هذا السياق حاولنا تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص التانين المحضر من الأوراق المطحونة من نبتة *Pergularia tomentosa*، حيث تم الحصول على هذا المستخلص بالنقع في مذيب قطبي: الإيثانول وبعدها الفصل في مذيب الكلوروفورم بواسطة قمع فصل. حصلنا على مردودية تساوي 1.24٪.

أكد التحليل الكمي لمستخلص التانين أو العفص على وجود مركبات الفينول والفلافونويد والعضص المكثف في مستخلص التانين، وكانت النتائج كالتالي: المركبات الفينولية ( $18.79 \pm 0.16$  مليجرام مكافئ من حمض الغاليك / جرام من المستخلص)؛ مركبات الفلافونويد ( $1.724 \pm 0.276$  مليجرام مكافئ من الكرسيتين / جرام من المستخلص) والعضص المكثف ( $6.95 \pm 0.11$  مليجرام مكافئ من الكاتشين / جرام من المستخلص). بالإضافة الى ذلك تم تحديد وجود نشاط مضاد للأكسدة بواسطة اختبار DPPH، حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود مكونات نشطة مضادة للأكسدة في المستخلص مع تركيز  $IC_{50}$  بحوالي  $2.977 \pm 51.555$  مليجرام / مليلتر.

بناءً على هذه النتائج نستنتج أن *Pergularia tomentosa* يمكن استخدامه في طب الأعشاب لعلاج العديد من الأمراض مثل الإجهاد التأكسدي، حيث يحتوي على كمية جيدة من البوليفينول، الفلافونويد والعضص المكثف، أي *Pergularia tomentosa* (مستخلص التانين) غني بالبوليفينول بشكل عام، وهو أحد أهم المستقبلات الثانوية التي تمتلك العديد من الأنشطة المضادة للأمراض، والدليل على ذلك نتيجة اختبار DPPH والذي أظهر أن مستخلص التانين له نشاط جيد كمضاد للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:** *Pergularia tomentosa*، البوليفينول، الفلافونويد، التانينات المكثفة، النشاط المضاد للأكسدة.

## Abstract

Natural plant extracts contain a variety of biologically active molecules. In this context we tried to evaluate the antioxidant activity of the tannin extract prepared from the crushed leaves of *Pergularia tomentosa*, this extract was obtained by maceration in a polar solvent: ethanol and after separation in chloroform by separatory funnel. The respective yield is 1.24%.

The quantitative analysis of tannin extract confirm revealed the presence of phenolic compounds, flavonoids and condensed tannins in the tannin extract, this is confirmed by assaying the phenolic compounds, flavonoids and condensed tannins whose values are: for phenolic compounds equal ( $18.79 \pm 0.16$  mg EAG/g of extract); flavonoids ( $1.724 \pm 0.276$  mg EQ / g of extract) and condensed tannins ( $6.95 \pm 0.11$  mg ECT / g of extract) in the tannin extract. The antioxidant activity was established by the in vitro DPPH method, the results obtained demonstrate the presence of antioxidant active ingredients in the extract with an IC50 of around  $51.555 \pm 2.977$  mg/ml.

Based on these results, we conclude that *Pergularia tomentosa* is very important in herbal medicine because it has a good amount of polyphenols, flavonoids and condensed tannins, *Pergularia tomentosa* (tannin extract) is rich in polyphenols in general, which is one of the most important secondary metabolites which bears several anti-disease activities, and the proof of this is the result of DPPH test, which showed that the tannin extract has good antioxidant activity.

**Key words:** *Pergularia tomentosa*, Polyphenols, Flavonoids, Condensed tannins, Antioxidant activity.