

COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE D'UN ARBUSTE DES ZONES ARIDES : *PERIPLOCA ANGUSTIFOLIA* LABILL (APOCYNACEES)

Fairouz DGHIM^{a,b*}, Sami ZOUARI^a, Mekki BOUKHRIS^a, Mohamed NEFFATI^a

^{a)} Laboratoire d'Ecologie pastorale, Institut des Régions Arides de Médenine, 4119 Médenine, Tunisie

^{b)} Laboratoire d'Ecophysiologie Végétale, Faculté des Sciences de Sfax, BP 802, 3018 Sfax, Tunisie

(Reçu le 8 Avril 2013, accepté le 21 Mai 2014)

RESUME : *Periploca angustifolia* est un arbuste autochtone largement distribué dans les zones méditerranéennes. Les usages écologique, pastoral et médicinaux de cette espèce nous ont incités à réaliser un screening phytochimique de plusieurs métabolites secondaires et des dosages biochimiques, ainsi qu'à l'étude de l'activité anti-radicalaire de trois organes (jeunes pousses, écorces des racines et semences). L'étude qualitative, réalisée par un screening chimique, a révélé la présence de plusieurs métabolites secondaires. Les analyses quantitatives (dosage des minéraux, protéines, matière grasse et métabolites secondaires) montrent que les pousses tendres et l'écorce des racines sont, respectivement, une source de protéines (5,204 mg.g⁻¹MS) et de matière grasse (5,2 mg.g⁻¹MS). Les dosages des métabolites secondaires ont montré que les pousses tendres de *P. angustifolia* ont des teneurs significativement plus élevées ($P < 0,05$), en polyphénols totaux et caroténoïdes que les deux autres organes étudiés (écorce des racines et semences). Par contre, les semences sont très riches en tanins et anthocyanines. La teneur en flavonoïdes, n'est pas significativement différente ($P > 0,05$) entre les différents organes étudiés. Afin de déterminer l'effet des métabolites secondaires (tanins, polyphénols totaux, flavonoïdes et anthocyanes) sur l'activité anti-radicalaire, une corrélation a été réalisée. Cette corrélation est de type logarithmique dont le coefficient de corrélation (R^2) varie en fonction du composé étudié. Elle est très élevée ($R^2 = 0,939$) pour les tanins. Donc, c'est ce composé, qui est responsable de l'activité anti-radicalaire de *P. angustifolia*.

Mots clés : Apocynacées, *Periploca angustifolia*; composition chimique; activité anti-radicalaire, tanins.

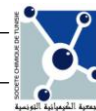
ABSTRACT: *Periploca angustifolia* is a native shrub of Mediterranean regions. Multiple uses (ecological, pastoral and medicinal) of this species incited us to make a chemical phytoscreening of many secondary metabolites and biochemical analysis as well the anti-radical activity of three organs (twigs, root barks and seeds). The qualitative study revealed the presence of several secondary metabolites. Quantitative analysis shows that twigs and root barks are, respectively, a source of protein (5.204 mg.g⁻¹DM) and fatty matter (5.2 mg.g⁻¹DM). Secondary metabolites assays have shown that twigs of *P. angustifolia* have levels significantly ($P < 0.05$) higher on total polyphenols and carotenoids, than the other two studied parts (root barks and seeds). On the other hand, seeds are very rich in tannins and anthocyanins. The flavonoid content is not significantly different ($P > 0.05$) between the different studied parts (twigs, root barks and seeds). To determine the effect of secondary metabolites (tannins, total polyphenols, flavonoids and anthocyanins) on anti-radical activity, a correlation was performed. This correlation is a logarithmic type of which the correlation coefficient (R^2) varies depending on the compound. The correlation is very high ($R^2 = 0.939$) for tannins. So what is, this compound, which is responsible for the anti-radical activity of *Periploca angustifolia*.

Keywords: Apocynaceae, *Periploca angustifolia*, chemical composition, antiradical activity, tannins

1. INTRODUCTION

Les arbustes fourragers des zones arides en Afrique du Nord représentent une source fondamentale pour la nutrition des bétails. La connaissance de la composition chimique des arbustes et d'autres plantes dans les parcours s'avère importante pour la valorisation de ces espèces dans les zones arides. *Periploca angustifolia* est une espèce autochtone des zones arides, qui appartient à la famille des Asclépiadacées selon la classification de Cronquist et à la famille des Apocynacées

* Correspondant, email: fairouz_dghim@yahoo.fr



selon la classification APG III. Les espèces de cette famille sont souvent des lianes ; elles sont répandues en Afrique, Europe et en Asie. Les synonymes de cette espèce sont :

Periploca laevigata var. *angustifolia* (Labill.) Fiori

Periploca laevigata f. *angustifolia* (Labill.) Ross

Periploca laevigata subsp. *angustifolia* (Labill.) Markgr.

Periploca laevigata auct. Non Ait (synonyme hétérotypique)

Dans le bassin méditerranéen, *Periploca angustifolia* est une espèce autochtone, spontanée en Espagne, Maroc, Algérie, Sicile, Tunisie, Malte, Libye, Egypte, l'île de Carpathos, Liban et Syrie [1]. En Tunisie, elle est présente sur une vaste étendue depuis le djebel Ichkeul au Nord jusqu'aux limites sahariennes au Sud [2]. *Periploca angustifolia* est connue par une grande amplitude écologique ; elle est répandue depuis le bioclimat subhumide jusqu'au saharien dans les variantes chaude à tempérée [3]. Elle colonise essentiellement les substrats caillouteux, souvent en situation de pente, ainsi que certains lambeaux de croûte calcaire [4].

Il s'agit d'une espèce à usage multiple, qui présente un intérêt pastoral, anti-érosif et médicinal [4]. Des feuilles de cette espèce, on prépare une décoction très sucrée comme le thé. On a noté que l'infusion des racines est réputée pour posséder une activité hypotensive. En plus, la résine qui exsude de la racine est utilisée comme masticatoire. Lorsqu'elle est brûlée, la résine exsude une odeur agréable [3].

Les travaux menés à l'Institut des Régions Arides qui s'intéressent à l'étude des caractéristiques morphologiques, biologiques et écologiques de *P. angustifolia* [5], ont été suivis par une investigation du système racinaire de cette espèce, cultivée dans des rhizotrons, et comparé à celui de *Rhus tripartitum*. Il a été démontré, à travers cette étude, que le développement racinaire des deux espèces a été rapide, dès les premiers mois suivant leur germination (au mois de novembre), même si la croissance du système racinaire de *Periploca angustifolia* a été négativement influencée par les basses températures hivernales. Un tel comportement, dans les conditions naturelles, constitue l'une de leurs caractéristiques adaptatives aux conditions d'aridité climatique [6]. Des travaux antérieurs concernant la composition chimique de *P. angustifolia* ont montré que cette espèce est riche en stéroïdes [3]. D'autres études ont montré que la teneur en tanins de *P. angustifolia* augmente sous l'effet d'un pâturage intense [7].

De nombreux composés chimiques ont été isolés et identifiés à partir de cette espèce, tels que α - β -amyrin, lupeol et β -sitosterol [8]. Trois triterpènes ont été également identifiés dans les écorces des racines, dont les structures ont été établies par leurs dérivés acétylés et méthylés en utilisant différentes techniques spectroscopiques [9]. Quelques dérivés de l'acide oléanolique et d'autres composés naturels issus des extraits triterpéniques préparés à partir des écorces des racines montrent une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* [10]. En ce qui concerne l'activité antioxydante des écorces des racines de *P. angustifolia*, plusieurs extraits organiques ont été testés [11]. Il s'est avéré que l'extrait méthanolique, avec des teneurs élevées en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes, présente l'activité antioxydante la plus élevée, que les autres extraits organiques.

L'objectif de ce travail est de déterminer la composition chimique et l'activité antioxydante de trois organes (pousses tendres, semences et racines) de *P. angustifolia*.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Les échantillons de *P. angustifolia* ont été collectés auprès du Jardin Botanique du Laboratoire d'Ecologie Pastorale à l'Institut des Régions Arides de Médenine en Tunisie (10°64'E, 33°49'N). Les pousses tendres (tiges et feuilles) et les écorces des racines ont été collectées au stade floraison en mars 2009, alors que les semences matures ont été récoltées au mois d'Août 2009. Tous les organes ont été séchés à

l'ombre et à l'abri de l'humidité, puis ont été broyés afin d'avoir une poudre fine qui a servi à réaliser les diverses analyses.

2.2. Screening phytochimique

Certaines familles chimiques ont été identifiées par des réactions colorées ou par chromatographie surcouche mince (CCM). En effet, les tanins et les anthraquinones ont été testés suivant le protocole de Rizk [12]. La détection des anthracénosides libres a été réalisée par la réaction de Bornträger. Sice test est négatif, on teste la présence des O-Hétérosides, qui est révélée par l'apparition d'une coloration rougeâtre et si la réaction est encore négative, on teste la présence des O-Hétérosides à génines réduits et les C-Hétérosides. La présence de mucilage et des anthocyanes a été confirmée, aussi, selon le protocole de Mouelet [13]. La présence des alcaloïdes sera révélée par l'apparition d'un précipité en présence du réactif de Mayer [14]. L'identification des quinones libres se fait par l'apparition d'une coloration jaunâtre après l'ajout de quelques gouttes d'hydroxyde de sodium (10%) à l'extrait de l'éther de pétrole, filtré et concentré par évaporation sous vide [15].

La présence des acides aminés et des dérivés phénoliques a été détectée en se basant sur les travaux de Moysse [16] : des acides aminés ont été détectés par l'apparition d'une coloration rouge, après l'ajout de la ninhydrine à une infusion du matériel végétal en poudre. Les dérivés phénoliques ont été déterminés par l'ajout de quelques gouttes de FeCl₃ (5%) à l'extrait décocté du matériel végétal. Les flavanes et les proanthocyanidols ont été détectés suivant la méthode de Senhaji *et al.* [17].

La caractérisation des coumarines et des terpénoides a été faite par chromatographie sur couche mince : les coumarines ont été testées sur l'extrait chloroformique, en utilisant un mélange toluène/acétate d'éthyle (90:10) comme éluant [15] alors que l'identification des terpénoides a été faite selon la méthodologie de Kaul et Vats [18], en utilisant le benzène comme éluant. La présence de ces composés a été détectée sous lumière UV (366 nm). La valeur du rapport frontal (*R_f*) a été calculée suivant la formule suivante : $R_f = d/D$; avec D : distance parcourue par le solvant entre la ligne de base et le front du solvant et d : distance parcourue par une tâche entre la ligne de base et sa position au moment de la révélation.

2.3. Analyse quantitative

Toutes les analyses effectuées ont été effectuées sur trois répétitions de chaque échantillon d'organe étudié (pousses tendres, écorces des racines et semences).

2.3.1. Dosage biochimique

Pour les trois organes étudiés de *P. angustifolia*, les teneurs en matières minérales (MM), en matière organique (MO), en certains minéraux (Na⁺, K⁺), en protéines totales (PT) et en matière grasse (MG) ont été évalués.

En effet, la matière minérale ou cendre est obtenue après la calcination complète dans un four à moufle à 550°C, pendant 6h qui produit des cendres après la disparition de la matière organique. Le taux de matière minérale (MM) a été calculé comme suit : $MM (\%) = (P_3 - P_0) * 100 / (P_2 - P_0)$; avec : - P₀ : poids (g) de creuset vide ; P₂ : poids (g) de l'échantillon après séchage à l'étuve à 105°C ; P₃ : poids (g) de l'échantillon après incinération dans le four à 550°C.

Les protéines ont été extraites à partir du matériel végétal selon le protocole de [19] et dosées selon la méthode de [20] en utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme étalon. Les extraits ont été préparés comme suit : 10 mL de tampon d'extraction Tris-HCl (1M, pH_{8,8}) ont été ajoutés à 1g de matière sèche (pousses tendres, écorces des racines et semences) ; le mélange a été soumis à une agitation pendant 2h30mn à 4°C. Une centrifugation à 12000rpm pendant 15mn à 4°C a été effectuée et le surnageant a été récupéré. L'absorbance a été lue à 595nm.

La matière grasse a été extraite par Soxhlet à partir de 5g d'échantillon réduit en poudre. L'échantillon subit une extraction durant 8h avec de l'éther de pétrole, puis, le solvant a été éliminé par évaporation sous vide. Le résidu obtenu a été séché dans une étuve à 103°C pendant 1h30min suivi d'une incubation dans le dessiccateur pendant 45mn. La teneur en matière grasse a été déterminée à partir de la formule suivante : $MG\% = ((m_2 - m_1) / m) * 100$ avec : m : masse en g de la prise d'essai, m₁ : masse en g du ballon vide et m₂ : masse en g du ballon contenant de la matière grasse.

2.3.2. Composition en métabolites secondaires

La teneur en tanins condensés a été mesurée en utilisant le test modifié de la vanilline décrit par Bradford [20]. 3mL d'une solution de vanilline (4%) et 1,5mL de H₂SO₄ concentré ont été ajoutés à 50μL d'extrait d'échantillon convenablement dilué. Le mélange a été laissé au repos pendant 15min, et l'absorbance a été mesurée à 500 nm, par un Spectrophotomètre UV-visible (Jenway 6405), où le méthanol a été utilisé comme blanc. La quantité en tanins condensés a été exprimée en mg équivalent de catéchine par gramme de matière sèche, mgEC.g⁻¹ MS).

Les polyphénols totaux ont été déterminés à partir de l'extrait méthanolique des trois organes. L'extraction et le dosage ont été faits par le réactif de Folin-Ciocalteu suivant le protocole de Dewanto [22]. L'absorbance a été mesurée à 760nm. La gamme étalon est préparée avec l'acide gallique aux concentrations de 50, 100, 200, 400 et 500mg.l⁻¹. Les teneurs sont exprimées en mg d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg AG.g⁻¹MS).

Les flavonoïdes totaux ont été mesurés suivant la méthode de Hariri *et al.* [23]. 1g de matériel végétal broyé est mis en présence de 100mL de méthanol 80%. Après agitation et sonication, 2 mL de l'extrait sont mélangés à 100μL de réactif de Neu. L'absorption a été déterminée à 404nm et comparée à celle du quercétol standard (0,05mg.ml⁻¹) traité avec la même quantité de réactif. Le pourcentage des flavonoïdes totaux est calculé en équivalent quercétol selon la formule suivante [15]: Flavonoïdes (%) = (0,05*A_{ext}/A_q)*100/C_{ext}, avec : A_{ext} : absorption de l'extrait ; avec : A_q : Absorption du quercétol, C_{ext} : Concentration de l'extrait en matériel végétal soit 10mg.mL⁻¹.

La teneur en caroténoïdes a été déterminée selon le protocole de Gould *et al.* [24]. 1ml d'acétone 80% a été ajouté à 0,2g de matière sèche incubée pendant 24h à 4°C. Après centrifugation, l'absorbance du surnageant a été lu à 663, 647 et 470 nm. La concentration en caroténoïdes a été déterminée selon la formule de [24] :

$$\text{Caroténoïdes } (\mu\text{g.mL}^{-1}) = 5 * A_{470} + 2,846 * A_{663} + 14,876 * A_{647}$$

Les anthocyanes totaux ont été évalués en utilisant le protocole de Reay *et al.* [26] : A 1g de matériel végétal en poudre, on ajoute 12 mL HCl 1%. Incuber pendant 48h à 3-5°C avec agitation, centrifuger, puis filtrer le surnageant obtenu et mesurer l'absorbance à 530nm et à 657nm. La teneur en anthocyanes sera déterminée selon la formule suivante [27] : A = A₅₃₀ - (A₆₅₇/3) exprimé en μg.mL⁻¹.

2.4. Activité anti-radicalaire

Une prise d'essai de 1ml de l'extrait méthanolique des trois organes à différentes concentrations (10, 20, 30, 40 et 50μg.ml⁻¹) est mise en présence de 250μl d'une solution de DPPH (0,2mM dans le méthanol). Le mélange est placé pendant 30mn à l'obscurité. La mesure de l'absorbance est effectuée à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible [28], contre un témoin (solution de DPPH). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange selon la formule : PI = (DO_{témoin} - DO_{extrait} / DO_{témoin}) * 100. Avec : PI : Pourcentage d'inhibition, DO_{témoin} : absorbance de la solution de DPPH et DO_{extrait} : absorbance du mélange : extrait méthanolique + PDDH. L'étude de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50% d'inhibition (CI₅₀), la valeur de CI₅₀ la plus faible correspond à l'activité d'extrait la plus élevée.

2.5. Analyse statistique

Les données ont été soumises à une analyse statistique en utilisant le programme SPSS 12.0. Toutes les valeurs des composés biochimiques et les métabolites secondaires sont les moyennes ± EC de trois expériences. L'analyse unidirectionnelle de la variance (ANOVA), suivi par le test de Duncan, a été utilisé et les différences entre les moyennes individuelles ont été considérées comme significatives à P < 0, 05.

3. RESULTATS

3.1. Screening phytochimique

Les familles chimiques identifiées par le screening phytochimique préliminaire des trois organes (Pousses tendres, semences et écorce des racines) de *P. angustifolia*, sont présentées dans le tableau I. Ce tableau, montre une abondance des anthocyanes, proanthocyanidoles, saponosides et quinones libres pour les trois organes étudiés. Par contre, les tests de mucilage, anthraquinones,

dérivés anthracéniques libres ont montré des résultats négatifs pour les trois organes. Les semences sont les plus riches en tanins catéchiques et ils sont considérés comme les seuls, par rapport aux autres organes, contenant des alcaloïdes. Les acides aminés et les dérivés phénoliques sont présents uniquement dans les pousses tendres qui sont plus riches en flavanes par rapport aux deux autres organes. Les C-hétérosides n'ont été révélées que dans l'écorce des racines. La recherche des coumarines a été réalisée dans l'extrait chloroformique des semences, des pousses tendres et l'écorce des racines de *P. angustifolia*.

Tableau I. Caractérisation des groupes chimiques présents dans les extraits des pousses tendres, semences et écorces des racines de *P. angustifolia*.

Groupes chimiques	Extraits	Résultats des réactions		
		Pousses tendres	semences	Écorce des racines
Tanins condensés (catéchique)	Méthanolique	+++	+	++
Anthocyanes	Infusé	+++	+++	+++
Anthraquinones	Chloroformique	-	-	-
Quinones libres	Ether de pétrole	++	++	++
Alcaloïdes (Test de Mayer)	Méthanolique	-	+++	-
Proanthocyanidols	Infusé	+++	+++	+++
Flavanes	Extrait HCL	+++	++	+
Mucilage	Décocté	-	-	-
Dérivés anthracéniques libres	Chloroformique	-	-	-
O-Hétérosides	Décocté	-	-	-
O-Hétérosides à génines réduites	Décocté	+++	+	-
Dérivés anthracéniques combinés : C-Hétérosides	Décocté	+++	+	+++
Saponosides : indice de mousse	Décocté	> 100	> 100	> 100
Acides Aminés	Infusé	+++	-	-
Dérivés phénoliques	Décocté	+++	-	-

Précipité ou coloration : +++ : très abondant ; ++ : Moyen ; + : Faible ; - : non

La plaque de CCM de l'extrait chloroformique des pousses tendres, visualisés sous UV à 365nm et en utilisant comme éluant un mélange toluène/acétate d'éthyle (90:10), montre trois tâches rouges (R_f : 0,66, R_f : 0,75, R_f : 0,88), une verte (R_f : 0,62) et deux tâches violettes (R_f : 0,72, R_f : 0,82). Dans les mêmes conditions, la plaque de CCM de semences et l'écorce des racines montrent respectivement 3 tâches rouges (R_f : 0,1, R_f : 0,47, R_f : 0,61) et une verte (R_f : 0,52) pour le premier organe et une tâche rouge (R_f : 0,55), une tâche vert (R_f : 0,48) et une tâche pourpre (R_f : 0,1) pour l'autre.

Le test de caractérisation des terpénoïdes par CCM a été réalisé sur l'extrait hexanique des trois organes de *P. angustifolia*. Après la visualisation sous rayonnement UV 365nm, deux tâches : verte (R_f : 0,1) et rouge (R_f : 0,78), ont été révélées pour les semences et une seule tâche rouge (R_f : 0,75) pour les pousses tendres et une tâche verte que signifient ces couleurs (R_f : 0,11) pour l'écorce des racines.

3.2. Analyses biochimiques

Les analyses biochimiques (cendre, teneur en sodium et potassium, matière grasse et protéines brutes) des organes étudiés de *P. angustifolia* sont présentés dans le tableau II.

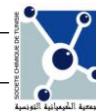


Tableau II. Composition physico-chimique des pousses tendres (PT), écorces des racines (ER) et semences (S) de *P. angustifolia*.

	Cendre (%)	Na ⁺ (mg.g ⁻¹ MS)	K ⁺ (mg.g ⁻¹ MS)	Protéines (mg.g ⁻¹ MS)	MG (mg.g ⁻¹ MS)
PT	8,2±1,57 ^a	0,342±0,81 ^a	2,180±0,11 ^b	5,207±0,38 ^a	2,5±0,11 ^a
ER	10±1,03 ^a	0,223±0,04 ^a	1,422±0,68 ^b	1,465±0,04 ^b	1±0,437 ^b
S	5,6±1,38 ^b	0,253±0,02 ^a	1,597±0,57 ^b	1,457±0,05 ^b	5,2±0,07 ^c

Les trois organes sont plus riches en K⁺ qu'en Na⁺ (tableau I). Il n'y a pas une différence significative ($P > 0,05$) en pourcentage de potassium et de sodium entre les trois organes (pousses tendres, semences et écorces des racines). Tous les organes contiennent, de façon significative ($P < 0,05$), la même quantité de K⁺ (2mg.g⁻¹MS) et Na⁺ (0,2mg.g⁻¹MS). La teneur la plus élevée en protéines a été trouvée dans les pousses tendres (5,204mg.g⁻¹MS), avec une différence significative ($P < 0,05$) par rapport aux autres organes (semences et écorces des racines). Il est évident que les graines soient plus riches, en matière grasse, que les autres organes (5,2mg.g⁻¹MS) car elles contiennent de l'albumine (forme de réserve).

3.3. Teneur en métabolites secondaires

Les données relatives à la composition en métabolites secondaires, des trois organes de *P. angustifolia*, sont résumées dans le tableau III.

Tableau III. Tanins condensés, polyphénols totaux, caroténoïdes, anthocyanines, flavonoïdes dans les pousses tendres (PT), écorces des racines (ER) et semences (S) de *P. angustifolia*.

	Tanins condensés (mg EC.g ⁻¹ MS) ⁽¹⁾	polyphénols totaux (mg EAG.g ⁻¹ MS) ⁽²⁾	caroténoïdes (mg.g ⁻¹ MS) ⁽³⁾	Anthocyanines (µg.g ⁻¹ MS) ⁽⁴⁾	flavonoïdes (µgEQ g ⁻¹ MS) ⁽⁵⁾
PT	15,53±2,62 ^a	15,719±0,89 ^a	1,216±0,09 ^a	12,226±2,26 ^a	5,170±0,22 ^a
ER	31,89±1,20 ^b	2,640±0,74 ^b	0,265±0,19 ^b	1,790±0,12 ^b	4,098±0,36 ^b
S	105,63±8,32 ^c	4,973±2,06 ^b	0,509±0,09 ^b	15,178±1,01 ^c	4,396±0,56 ^b

(1) mg EC. g⁻¹MS (%MS) : milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche.

(2) mg EAG.g⁻¹MS : milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche.

(3) mg.g⁻¹MS: milligramme par gramme de matière sèche.

(4) µg.g⁻¹MS: microgramme par gramme de matière sèche.

(5) µg EQ.g⁻¹MS: microgramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche.

Les tanins condensés (catéchiques) ont été révélés dans tous les organes étudiés avec une différence significative ($P < 0,05$), puisque les semences ont montré la plus grande quantité (105,63 gEC.100g⁻¹MS). L'extrait méthanolique des pousses tendres de *P. angustifolia* présente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux (15,719 mgEAG.g⁻¹MS) par rapport aux semences et aux écorces des racines (4,97 et 2,64 mgEAG.g⁻¹MS, respectivement). La teneur en caroténoïdes, dans les organes étudiés, variait de 0,26 à 1,2 mg.g⁻¹MS (Tableau III). Elle était plus élevée ($P < 0,05$) chez les pousses tendres que chez l'écorce des racines et les semences. Les anthocyanines ont été détectés dans tous les organes étudiés, avec une différence significative ($P < 0,05$) par rapport aux autres organes. La teneur en anthocyanines est plus élevée dans les pousses tendres (12,226 µg.g⁻¹MS) et inférieure dans l'écorce des racines (1,790 µg.g⁻¹MS). Le tableau III montre que les pousses tendres présentent la teneur la plus

élevée en flavonoïdes ($5,170 \mu\text{g EQ.g}^{-1}\text{MS}$), avec une différence significative ($P < 0,05$) par rapport aux semences et l'écorce des racines qui n'ont pas une différence significative ($P > 0,05$) entre eux ($\approx 4 \mu\text{gEQ.g}^{-1}\text{MS}$).

3.4. Activité anti radicalaire (DPPH)

L'activité anti-radicalaire (DPPH) mesure le pouvoir d'hydrogénation des antioxydants [29]. L'activité est mesurée par la diminution relative de l'absorbance de DPPH lors de sa réaction avec l'antioxydant ([30]; [31]). Cette activité augmente (allure sigmoïdale) avec la concentration de l'extrait (Figure 1).

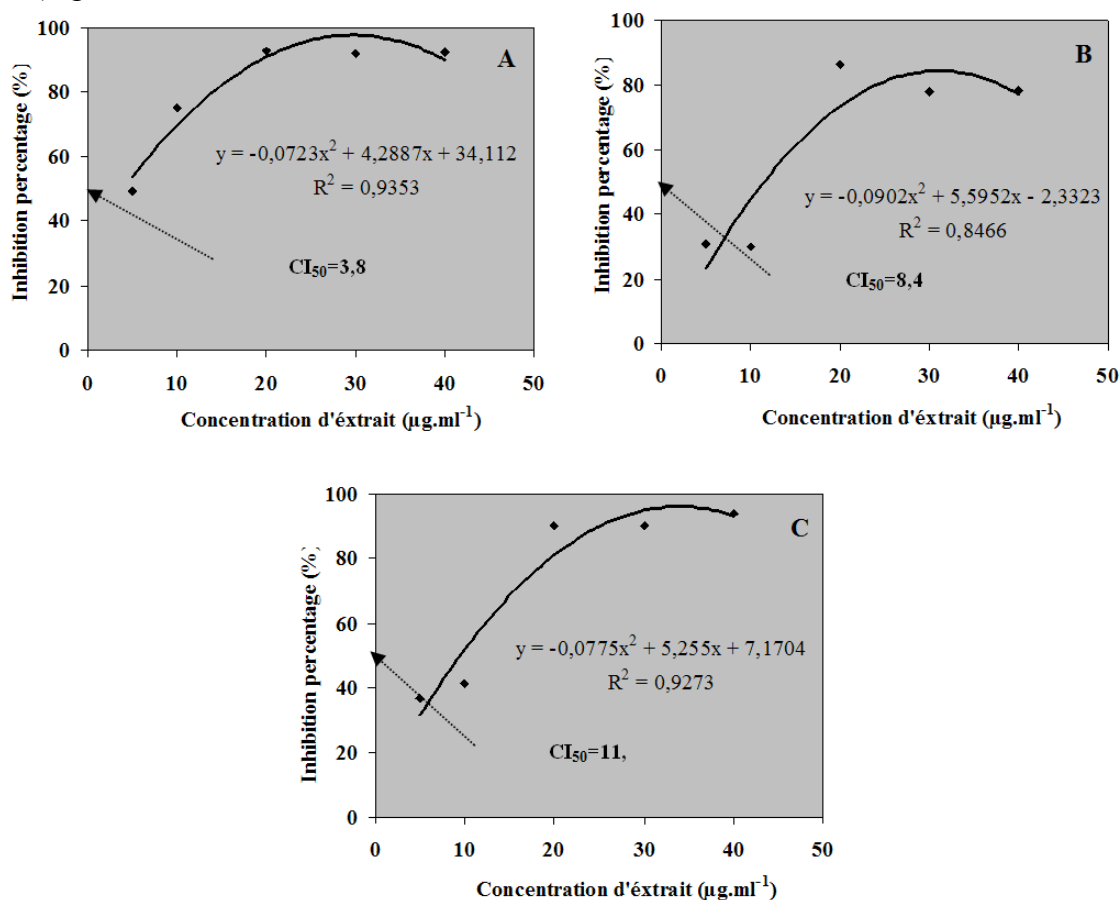


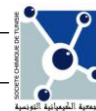
Figure 1. Variation du pourcentage d'inhibition (%) avec des concentrations croissantes ($0-50 \mu\text{g.ml}^{-1}$) d'extraits méthanoliques des pousses tendres (A), écorces des racines (B) et des semences (C) de *P. angustifolia*

Dans notre étude, la capacité des extraits des différentes parties de la plante à piéger DPPH a été évaluée sur les bases de la valeur de la concentration à 50% d'inhibition (CI_{50}), définis comme étant la concentration de matériel d'essai pour diminuer l'absorbance à 517nm (ou la concentration) de la solution de DPPH à la moitié de sa valeur initiale. D'ailleurs, l'activité antioxydante la plus importante a été enregistrée chez les pousses tendres ($3,88 \mu\text{g.ml}^{-1}$) avec une différence non significative ($P > 0,05$). Par contre, les écorces de racines, présentent l'activité la plus faible, avec une concentration d'inhibition à 50% (CI_{50}) la plus élevée ($CI_{50} = 11,4 \mu\text{g.ml}^{-1}$).

4. DISCUSSION

4.1. Screening phytochimique

Les pousses tendres de *P. angustifolia* sont pauvres en alcaloïdes, comparées à celles des autres espèces de la même famille (Apocynacées), comme *Cryptolepis obtusa* [32]. Les pousses



tendres de *P. angustifolia* sont plus riches en terpénoïdes que *Periploca calophylla* [33]. Cette famille a un rôle important dans la protection des plantes contre les animaux et l'agression des insectes [15].

4.2. Analyses biochimiques

En comparant les résultats obtenus, aux normes du Conseil National de Recherches de l'Académie Nationale des Sciences aux Etats-Unis concernant les besoins nutritionnels des moutons [34], les besoins minimums en Na^+ et K^+ sont évalués à $0,9 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$ et $5 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$ respectivement. D'après ces données, *P. angustifolia* est relativement déficiente en K^+ et Na^+ , comparée à d'autres espèces comme *Chamaecytisus palmensis*. Par contre, elle en est plus riche que d'autres espèces fourragères tels que *Acacia saligna* et *Avena sativa*[35]. A titre de comparaison, K^+ est l'élément prédominant dans les pousses tendres de *P. angustifolia*, avec une teneur plus élevée que celle de la même espèce collectée en provenance de la Libye ($1,52 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$). Tous les organes étudiés de *P. angustifolia* sont plus riches en K^+ que d'autres espèces fourragères, telles que *Acacia cyanophylla* ($1,51 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) et *Medicago sativa* ($1,67 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) [36], mais ils sont plus pauvres en K^+ que d'autres espèces comme *Atriplex halimus* ($5,87 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) [36] et *Acacia colei* ($9,34 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) [37]. Toutefois, la teneur en Na^+ de *P. angustifolia* ($0,34 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) est plus élevée par rapport à tous les arbustes cités ci-dessus [36].

La quantité des protéines brutes est relativement similaire à celle de la même espèce collectées en Libye ($6 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$), mais elle est plus faible que celle d'autres espèces fourragères, telles que *Medicago sativa* ($19,4 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$), *Rhus tripartitum* ($10,1 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) [36] et *Acacia cyanophylla* ($13,6 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) [37]. Les semences de *P. angustifolia* contiennent $1,457 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$ de protéines brutes. Cette teneur est plus faible que celle trouvée dans les semences d'autres arbres fourragers, tels que *Lonchocarpus capassa* ($54,2 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$), *Ziziphus mucronata* ($7,08 \text{ mg.g}^{-1}\text{DM}$), *Sclerocarya birrea* ($6,17 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$), *Acuminé kirkia* ($10,96 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) et *Rhus lancea* ($7,79 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) [39].

Les semences de *P. angustifolia* sont relativement riches en matière grasse par rapport aux semences de la même espèce en provenance de Libye ($0,034 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) [36] et à d'autres espèces fourragères, telles que : *Medicago sativa* ($0,029 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) *Acacia cyanophylla* ($0,04 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$), *Rhus tripartitum* ($0,041 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$). Mais cette teneur est plus faible que celle des semences d'*Acacia colei* ($0,234 \text{ mg.g}^{-1}\text{MS}$) [37]. Ce résultat a été confirmé par Falleh et al. [41], qui a démontré que *P. angustifolia* contient des stéroïdes, connus sous le nom d'agents cardiotoxiques.

4.3. Teneur en métabolites secondaires

Les semences de *P. angustifolia* ($105,63 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$) sont plus riches en tanins condensés que d'autres arbustes pastoraux, tels que *Sclerocarya birrea* ($26,2 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$), *Ziziphus mucronata* ($30,9 \text{ mgCE.g}^{-1}\text{MS}$), *Kirkia acuminata* ($31 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$), *Lonchocarpus capassa* ($42,6 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$) et *Rhus lancea* ($50,7 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$) [39]. Cette teneur en tanins est également plus élevée que celle des semences de certaines plantes médicinales, telles que *Cynara cardunculus* ($2 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$) [41]. Les pousses tendres de *P. angustifolia* sont plus pauvres en tanins que les autres organes étudiés (écorces des racines et semences), mais elles restent plus riches que d'autres espèces de la même famille, à savoir *Dregea volubilis* ($0,177 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$), *Gymnema inodorum* ($0,011 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$), *Marsdenia glabra* ($0,044 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$) et *Telosma minor* ($0,177 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$) [42]. Elles sont plus riches, également, que des espèces d'autres familles, telles que : *Cynara cardunculus* (Asteracées) : $1,96 \text{ mgCE.g}^{-1}\text{MS}$ et $1,28 \text{ mgEC.g}^{-1}\text{MS}$ dans les feuilles et les fleurs

respectivement) [41]. Cependant, les pousses tendres de *P. angustifolia*, bien qu'elles bien que n'existe pas en français. Phrase à revoir soient plus riches que les espèces ci-dessus, restent moins riches qu'*Acacia cyanophylla* (45 mgCE.g⁻¹MS) [38]. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude, sont similaires à ceux prouvés sur la même espèce et réalisés par [43], [44] et [7], qui ont conclu, qu'en dépit de sa forte teneur en tanins, *Periploca laevigata* reste une espèce fourragère importante surtout dans la saison sèche.

La teneur en polyphénols totaux différents varie en fonction de l'organe étudié [45]. Les pousses tendres de *P. angustifolia* sont, relativement, riches en polyphénols totaux comparativement à d'autres espèces de la même famille (Asclépiadacées) : *Dregea volubilis* (1 mg.g⁻¹MS), *Gymnema inodorum* (1,88 mg.g⁻¹MS), *Marsdenia glabra* (0,515 mg.g⁻¹MS) et *Telosma minor* (0,98 mg.g⁻¹MS) [42]. Elles sont aussi plus riches que des espèces d'autres familles ; Chu *et al.* ont trouvé une teneur de 6 mgEAG.g⁻¹MS dans différents espèces de Fabacées [46]. Zhou et Yu ont trouvé 13 et 10,6 mgEAG.g⁻¹MS dans les épinards et les brocolis [47], respectivement les teneurs sont également plus élevées que celle d'*Allium sativum* (2 mgEAG.g⁻¹MS) [48] et de *Cynara cardunculus* (12,55 mgEAG.g⁻¹MS) [49]. Les semences de *P. angustifolia* sont également plus riches que les semences de *Cynara cardunculus* (12,81 mg EAG.g⁻¹MS) [48]. La teneur en caroténoïdes, dans tous les organes étudiées, est inférieure à celle d'autres espèces de la famille des Apocynacées, tels que : *Dregea volubilis* (6,14 mg.g⁻¹MS), *Gymnema inodorum* (1,31 mg.g⁻¹MS), *Marsdenia glabra* (8,92 mg.g⁻¹DM) et *Telosma minor* (1,92 mg.g⁻¹MS) [42]. La teneur en flavonoïdes de l'écorce des racines de *P. angustifolia* est plus faible que celle trouvée dans la même espèce collectée à Regueb (Tunisie), avec une teneur de 410 µgEQ.g⁻¹MS [11].

4.4. Activité anti radicalaire (DPPH)

La concentration correspondant à 50% d'inhibition (IC₅₀) dans les pousses tendres de *P. angustifolia* et les semences des espèces étudiées est presque égale à celle trouvée dans les feuilles et les semences de *Cynara cardunculus* connu pour son activité antioxydante élevée (4 et 7 µg.ml⁻¹, respectivement) [48]. L'activité antioxydante de tous les organes étudiés de *P. angustifolia* est plus élevée que celle de deux espèces halophytes étudiées par Ksouri *et al.* [50], tels que *Mesembryanthemum crystallinum* (IC₅₀ = 160 µg.ml⁻¹) et *Mesembryanthemum edule* (IC₅₀ = 29,8 µg.ml⁻¹). Hajji *et al.* ont montré que l'activité antioxydante des écorces des racines est aussi moins efficace que celle de la même espèce provenant du Regueb (Tunisie) avec une CI₅₀ = 4 µg.ml⁻¹ [11].

4.5. Relation entre l'activité anti-radicalaire et la composition en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins et anthocyanines

La corrélation entre l'activité anti-radicalaire des trois organes de *P. angustifolia* et leurs teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins et anthocyanines n'ont pas été étudiés auparavant, elle est présentée par la Figure 2. Une corrélation logarithmique est apparue entre l'activité anti-radicalaire et ces métabolites dont le coefficient de corrélation (R²) varie en fonction du composé étudié. La corrélation entre la teneur en anthocyanes et l'activité anti-radicalaire est faible (R² = 0,0002) ; elle est plus au moins faible pour les flavonoïdes et les polyphénols totaux (R² ≥ 0,5) ; par contre, elle est très élevée (R² ≥ 0,9) pour les tanins. Donc, le tanin est le composé responsable de l'activité anti-radicalaire de *P. angustifolia*. Cette espèce, est un arbuste consommé par les ovins et les caprins ; c'est une espèce de pâturage importante pendant la saison sèche, en dépit de sa forte teneur en tannin [7].

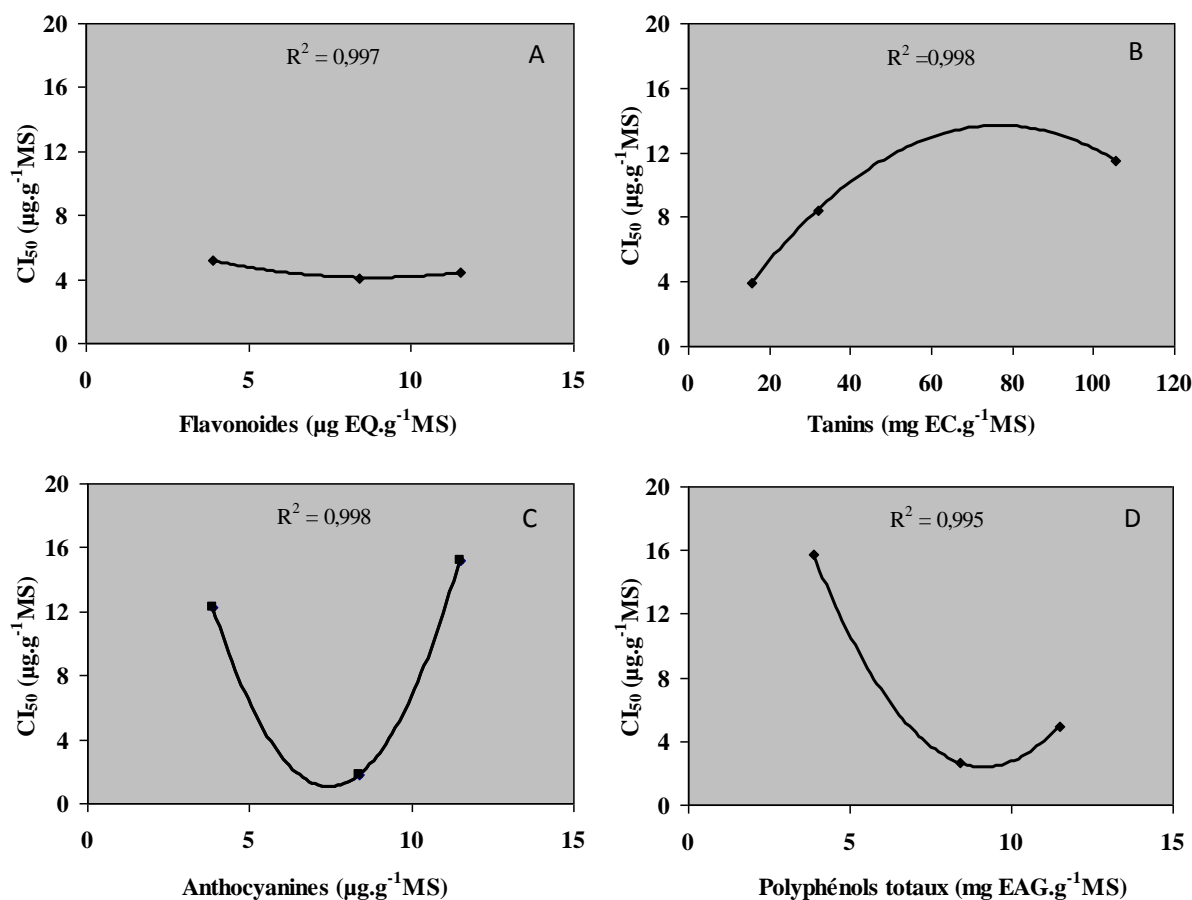


Figure 2. Variation de la concentration correspondant à 50% d'inhibition (IC₅₀) avec la teneur en Flavonoides (A), polyphénols totaux (B), Tanins (C) et Anthocyanines (D) d'extrait méthanolique des pousses tendres, écorces des racines et semences de *P. angustifolia*

Bibliographie

- [1] P. Quezel, S. Santa, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. CNRS, Paris, **1962**, tome 2, p. 170.
- [2] M. Chaieb, M. Boukhris, *Flore succincte et illustrée des zones arides et sahariennes de Tunisie*, Association pour la protection de la Nature et d'Environnement, Sfax, **1995**, Edition l'Or du Temps, p. 48.
- [3] E. LeFloc'h, *Contribution à une étude ethnobotanique de la flore Tunisienne*. Ouvrage publié par le Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, **1983**.
- [4] M. Neffati, *Caractérisation morpho biologique de certaines espèces végétales nord-africaines. Implication pour l'amélioration pastorale*. Thèse Doc. Uni. Gent, **1994**, p. 242.
- [5] A. Ferchichi, *Options Méditerranéennes*, **1990**, 113-116.
- [6] A. Yobi, M. Neffati, B. Henchi, *Sécheresse*, **2001**, 12, 50-245.
- [7] F.G. Barroso, T.F. Martinez, T. Paz, C.L. Alados, J. Escos, *Journal of Arid Environments*, **2003**, 53, 125-135.
- [8] M. Askri, Z. Mighri, A.M. Bui, B.C. Das, P.J. Hylands., *Journal of natural products*, **1989**, 52, 792-796.
- [9] F. Hichri, H. Ben Jannet, P.J.M. Abreu Z. Mighri, *Journal de la société Algérienne de chimie*, **2003a**, 13, 187-196.
- [10] F. Hichri, H. Ben Jannet, J. Cheriaa, S. Jegham, Z. Mighri, *C. R. Chimie*, **2003b**, 6, 473-483.
- [11] M. Hajji, O. Masmoudi, Y. Ellouz-Triki, R. Siala, N. Gharsallah, M. Nasri, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2009**, 89, 897-905.
- [12] A.M. Rizk, *Fitoterapia*, **1982**, 52, 35-42.
- [13] M. Mouelet, *Screening phytochimique de deux espèces de plantes : Crotalaria retusa L. (Papilionaceae) et Mitragyna ciliata Aubrev & Pellegr (Rubiaceae) récoltées au Gabon*. Thèse Doc. en pharmacie. Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie, **2004**, p. 88.
- [14] M. Debray, *Contribution à l'étude du genre Epinetrum de Côte d'Ivoire*. Mémoires de l'ORSTOM, Paris, **1970**, 18, 74.
- [15] N. Dohou, K. Yamin, S. Tahrou, H.L.M. Idrissi, A. Badoc, N. Gmira., *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **2003**, 142, 61-78.
- [16] H. Moyses, R. Paris, *Matière médicinale*, tome I ; 2^{ème} édition, Masson (Eds), Paris, **1965**, 200.

- [17] O. Senhaji, M. Faid, M. Elyachioui, M. Dehhaoui, *Journal de Mycologie Médicale*, **2005**, *15*, 220-229.
- [18] V.K. Kaul, S.K. Vats, *Biochemical Systematics and Ecology*, **1998**, *26*, 347-356.
- [19] Y. Zhang, K. Lewis, *FEMS Microbiology Letters*, **1997**, *149*, 59-64.
- [20] M. Bradford, *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248-254.
- [21] B. Sun, J.M. Richardo-Da-Silvia, I. Spranger, *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, *46*: 4267-4274.
- [22] V. Dewanto, X. Wu, K.K. Adom, R.H. Liu, *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*: 3010-3014.
- [23] E.B. Hariri, G. Sallé, C. Andary, *Protoplasma*, **1991**, *162*: 20-26.
- [24] K.S. Gould, K.R. Markham, R.H. Smith, J.J. Goris, *Journal of experimental botany*, **2000**, *51*, 1107-1115.
- [25] H.K. Lichtenthaler, U. Rinderle, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **1988**, *19*, 29-85.
- [26] P.F. Reay, R.H. Fletcher, V.J. Thomas, *J. Sci. Food Agric.*, **1998**, *76*, 63-71.
- [27] A.L. Mancinelli, H.Y. Chia-Ping, P. Lindquist, O.R. Anderson, I. Rabino, *Plant Physiol.*, **1975**, *55*: 251-257.
- [28] T. Hanato, H. Kagawa, T. Yasuhara, T. Okuda, *Chem. Pharm.*, **1988**, *36*, 1090-1097.
- [29] N. Singh, P.S. Rajini, *Food Chemistry*, **2004**, *85*, 611-616.
- [30] D.J. Huang, C.D. Lin, H.J. Chen, Y.H. Lin, *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, **2004**, *45*, 179-186.
- [31] M. Elmastas, I. Gulcin, O. Isildak, O.I. Kufrevioglu, K. Ibaoglu, H.Y. Aboul-Enein, *Journal of Iranian Chemical Society*, **2006**, *3*, 258-266.
- [32] Paulo, A., M.L. Jimeno, E.T. Gomes, P.J. Houghton, *Phytochemistry*, **2000**, *53*, 417-422.
- [33] O.P. Srivastava, A. Khare, M.P. Khare, *J. Nat. Prod.*, **1982**, *45*, 211.
- [34] NRC, *Nutrient Requirements of Sheep. National Research Council. National Academy of Sciences National Academies Press*, Washington DC, USA, **1985**.
- [35] M.B.P. Mahipala, G.L. Kumara Krebs, P. McCafferty, L.H.P. Gunaratne, *Anim. Feed Sci. Technol.*, **2009**, *153*, 203-215.
- [36] H.N. Le Houèrou, *Rangeland management in Northern Africa and the Near East: Evolution, trends and development outlook*, in: *Proceeding of the fourth international Rangelands Congress*. Montpellier, France, **1991**.
- [37] S.R.A. Adewusi, O.S. Falade, C. Harwood, *Food Chemistry*, **2003**, *80*, 187-195.
- [38] H. Ben Salem, A. Nefzaoui, L. Ben Salem, J.L. Tisserand, *Animal Feed Science Technology*, **1997**, *68*, 101-113.
- [39] A.A. Aganga, K.W. Mosase, *Animal Feed Science and Technology*, **2001**, *91*, 107-113.
- [40] M.M. Hakimi, 2004, *Traduction de la traite complète des deux arts en médecine vétérinaire: hippologie et hippiatric (Le Nacéri)*. Thèse Doc. Vétérinaire. Faculté de médecine de Creteil, **2004**, p. 228.
- [41] H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi, M. Boulaaba, C. Abdelly, *C.R. Biologies*, **2008**, *331*, 372-379.
- [42] A Chanwitheesuk, A. Teerawutgulrag, N. Rakariyatham, *Food Chemistry*, **2005**, *92*, 491-497.
- [43] F.G. Barroso, T.F. Martinez, *Sociedad Espanola de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, **1999**, 273-278.
- [44] T. Martinez, F.G. Barroso, *Sociedad Espanola de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, **1999**, 237-242.
- [45] P.G. Pietta, *J. Nat. Prod.*, **2000**, *63*, 1035-1042.
- [46] Y.F. Chu, J. Sun, X. Wu, R.H. Liu, *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 6910-6916.
- [47] K. Zhou, L. Yu, *Food Sci. Technol.*, **2006**, *39*, 1155-1162.
- [48] Y. Cai, Q. Luo, M. Sun, H. Corke, *Life Sciences*, **2004**, *74*, 2157-2184.
- [49] Falleh, H., R. Ksouri, and C. Abdelly, *Revue des Régions Arides*, **2006**, 341-344.
- [50] Ksouri, R., W. Megdiche, H. Falleh, N. Trabelsi, M. Boulaaba, A. Smaoui, C. Abdelly, *Compte Rendus Biologies*, **2008**, 865-873.