



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département: de la Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire
Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Filière: Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

**Evaluation *In vitro* de certaines activités biologiques des
extraits bruts de la plante *Polycarpon polycarpoïdes*.**

Présenté et soutenu par : Mlle CHERIBET ASMA

Date : 08/07/2021

Mlle ARIOUA MADIHA

Devant le Jury d'évaluation :

Président	Mr BENSEGUENI Abderrahmane	Professeur	Univ. de Constantine 1
Rapporteur	Melle GALI Lynda	MRB	CRBt
Co-encadreur	Mme RAMLI Imen	MAA	Univ. de Constantine 1
Examineur	Mme NOUI Amira	MRB	CRBt

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Tout d'abord, nos remerciements les plus sincères s'adressent à ALLAH, le tout-puissant, qui a fait de nous ce que nous sommes aujourd'hui et nous a donné le courage et la santé pour achever ce travail.

*Nous exprimons toutes nos gratitude à notre encadreur Mme **GALI Lynda**, Maître de recherche classe B au centre de recherche en biotechnologie (CRBt), Constantine, pour les orientations, les encouragements et les fructueux conseils dans la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions très sincèrement Mr **BENSEGUENI Abderrahmane**, professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie d'avoir présidé le jury de notre soutenance, ainsi que ^{Mme} **NOUI Amira** d'avoir examiné notre travail.*

*Nous voudrions également remercier notre Co-encadreur ^{Mme} **RAMLI Imen**, Maître assistant classe A de l'université de Constantine 1 d'avoir co-encadrer le présent travail.*

Nous remercions aussi toutes les personnes (ingénieurs et stagiaires) du laboratoire Contrôle de qualité et analyses -CRBt pour leur assistance et aide pour l'accomplissement de ce modeste travail.

Au final, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Dédicaces

Ce travail, et bien au-delà, je le dédie à :

*Ma mère **Massika**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon père **Toufik**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*Mes très chers frères : **Lotfi et Oussama***

*Mes amis d'enfance : **Malak et lina.***

*Ma chère copine : **Meissa.***

*Mon binôme **Asma** que j'ai eu le plaisir de connaître.*

ymar.enarzohg.

Tous mes proches, mes amis, mes camarades de promotion.

ARIOUA MADIHA

Dédicaces

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous mes parents **Mourad** et **Dahbia**, vous m'avez donné la meilleure éducation, vous m'avez toujours encouragé et motivé dans mes études. Ce travail est le fruit de vos sacrifices.*

*À mes frères : **Ala Eddine** et **Med Lamin** et **Salah** pour leurs encouragements.*

*À mes sœurs : **Chaima** et **Rahma** pour leur soutien durant mon parcours universitaire plus particulièrement durant la réalisation de ce mémoire, et ma petite **Nibras**. "A "*

*À mes très chères copines, amis, cousines, camarades, et Mon binôme **Madiha**.*

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mes pensées et mon affection fraternelles

*À toute ma grete famille **Cheribet**.*

Cheribet Asma

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
I. Introduction.....	01
<u>1^{ere} partie : Synthèse bibliographique</u>	
<i>Chapitre I. Polycarpon polycarpoïdes</i>	
I.1. Caryophyllacées.....	02
I.2. <i>Polycarpon polycarpoïdes</i> (Biv.) Fiori subsp. <i>Catalaunicum</i> O. Bolòs & Vigo.....	02
I.2.1. Description botanique.....	02
I.2.2. Taxonomie.....	02
I.2.3. Habitat et distribution géographique.....	03
I.2.4. Composition chimique.....	03
I.3.5. Effets pharmacologiques et utilisations traditionnelles.....	04
<i>Chapitre II. Substances bioactives d'origine végétale</i>	
II.1. Généralités.....	05
II.2. Principales classes de substances bioactives d'origine végétale.....	05
II.2.1. Polyphénols.....	05
II 2.1.1. Définition.....	05
II.2.1.2. Classification des polyphénols.....	06
II.2.1.2.1. Acides phénoliques.....	06
II.2.1.2.2. Flavonoïde.....	06
II.2.1.2.3. Tannins.....	07
II.2.2. Les saponines.....	08
II. 3. Effets pharmacologiques des métabolites secondaires.....	08
II.3.1. Effet antioxydant.....	08
II.3.1.1. Radicaux libres et antioxydants.....	08
II.3.1.1.1. Radicaux libres : définition et effets néfastes.....	08
II.3.1.1.2. Antioxydants.....	10
II.3.1.2. Substances d'origine végétale avec un effet antioxydant.....	11
II.3.2. Inhibition des enzymes.....	12
II.3.2.1. Alpha amylase.....	12

II.3.2.2. Uréase.....	13
II.3.2.3. Acétylcholinestérase	13

2^{eme} partie : Partie experimental

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	15
I.2. Appareillage et produits chimiques	15
I.2.1. Appareillage	15
I.2.2. Produits chimiques et enzymes	15
I.3. Préparation des extraits bruts.....	16
I.4. Dosage colorimétrique des polyphénols.....	19
I.4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	19
I.4.2. Dosage des flavonoïdes	19
I.4.3. Dosage des tannins.....	20
I.5. Evaluation de l'activité antioxydants	20
I.5.1. Piégeage du radical DPPH.....	21
I.5.2. Piégeage du radical ABTS.....	22
I.5.3. Pouvoir réducteur.....	23
I.5.4. Test CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity)	24
I.5.5. Test au phénanthroline	24
I.6. Inhibition des enzymes.....	25
I.6.1. Inhibition de l' α -amylase.....	25
I.6.2. Inhibition de l'uréase.....	26
I.6.3. Inhibition de l'acétylcholinestérase	26
I.7. Analyse statistique.....	27

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction	28
II.2. Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes	29
II.3. Activité antioxydante.....	31
II.3.1. Activité anti-radicalaire	32
II.3.2. Réduction des ions fer et cuivre.....	34
III. Inhibition enzymatique.....	38
Conclusion générale et perspectives.....	40
Références bibliographiques	

Liste des figures

Figure 1: Photographie de <i>Polycarpon polycarpoïdes</i>	03
Figure 2: Structure de base des polyphénols.....	05
Figure 3 : Structure de l'acide hydroxy-benzoïque (a) et de l'acide hydroxy-cinnamique (b)....	06
Figure 4: Structure générale des flavonoïdes et celle des principaux sous-groupes de flavonoïdes.....	07
Figure 5: Structure générale des tanins condensés (a) et hydrolysables (b).....	07
Figure 6 : Structure générale des saponines.....	08
Figure 7: Notion de l'équilibre oxydants/antioxydants dans les systèmes biologiques (a), induction du stress oxydant et son implication dans le développement des maladies chroniques (b)	11
Figure 8 : Principe de la transmission cholinergique.....	14
Figure 9 : Aspect de la poudre de la partie aérienne de <i>Polycarpon polycarpoïde</i> après broyage	15
Figure 10 : Evaporateur rotatif utilisé pour l'élimination du solvant d'extraction.....	17
Figure 11 : Protocole de préparation des extraits de <i>Polycarpon polycarpoïdes</i>	18
Figure 12 : Préparation des dilutions et mode opératoire sur une microplaque 96 puits.....	21
Figure 13 : Structure chimique de l'ABTS sous sa forme réduite et radicalaire	23
Figure 14 : Réaction d'Ellman.....	27
Figure15 : Aspect des solutions obtenues avec les différents solvants après filtration	28
Figure16 : Rendement d'extraction utilisant différents solvants.....	29
Figure17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	29
Figure18 : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits. Les résultats sont exprimés en termes de μg équivalent acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg).....	30
Figure 19 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.....	30
Figure 20: Teneurs en flavonoïdes des différents extraits. Les résultats sont exprimés en termes de μg équivalent quercétine par mg d'extrait (μg EQ/mg)	31
Figure 21 : Activité antiradicalaire des extraits de <i>Polycarpon polycarpoïdes</i> (a) et les stétards (b) contre le DPPH à différentes concentrations.....	32
Figure 22 : Pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les différents extraits de <i>Polycarpon polycarpoïdes</i>	33
Figure 23 : Pouvoir réducteur des extraits de <i>Polycarpon polycarpoïdes</i> (a) et des stétards (b)	35
Figure 24 : Réduction des ions du fer par les extraits de <i>Polycarpon polycarpoïdes</i> (a) et des stétards (b) déterminée par la méthode phénanthroline.....	36

Figure 25 : Capacité des extraits de Polycarpon polycarpoïdes (a) et des stetards (b) à réduire les ions de cuivre, évaluée par le test CUPRAC.....	37
Figure 26 : Aspect des plaques correspondants aux tests d'inhibition des enzymes acétylcholinestérase et uréase. L'absence de l'activité est observée par la persistance de la couleur jaune ou bleue en présence des différentes concentrations des extraits	38
Figure 27 : Inhibition de l' α -amylase par les extraits de Polycarpon polycarpoïdes et le stetard acarbose à différentes concentrations.....	39

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux espèces réactives avec leur structure chimique.....	09
Tableau 2 : Liste des principaux produits chimiques utilisés dans la partie expérimentale.....	16
Tableau 3 : Enzymes utilisées dans la partie expérimentale.....	16
Tableau 4 : Valeurs CI_{50} obtenues dans l'inhibition du DPPH et l'ABTS.....	34

Liste des abréviations

ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

CI₅₀: Concentration inhibition à 50 %

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxidant Capacity

EAG : Équivalent de l'acide gallique

EQ : Équivalent de la quercétine.

FCR : Folin-Ciocalteu.

% : Pourcentage

µl : microlitre

Abs : Absorbance

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

m: masse

mg : milligramme

min : minute

ml : millilitre

UV : ultra-violet

µg : microgramme

ACh : Acétylcholine

AChE : Acétylcholinestérase

Introduction générale

Partout dans le monde, l'être humain a su tirer de son environnement des remèdes à des maladies diverses via les expériences cumulées au fil des années. Dans les grandes civilisations qui ont marqué l'humanité, se trouve une bonne partie de l'histoire de l'utilisation des plantes en tant que remède (**Elhaci, 2015**). Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Les plantes synthétisent un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Les molécules d'intérêt thérapeutique sont généralement issues du métabolisme secondaire de ces plantes et sont classifiées en trois grandes classes incluant les polyphénols, les alcaloïdes, et les composés terpéniques (**Bahorun et al., 1996** **Boudjouref, 2011**).

La famille des Caryophyllacées, avec plus de 2600 espèces peut constituer une source importante de plantes pouvant être de bons candidats dans la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques. Les plantes appartenant à cette famille produisent une variété de métabolites secondaires principalement les saponines, les flavonoïdes, stérols, alcaloïdes, lignanes et autres présentant des effets bénéfiques pour la santé (**Jakimiuk et al., 2021**). Les études ethno-pharmacologiques indiquent que les plantes de la famille possèdent des propriétés anticancéreuses, antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydantes et anti-inflammatoires (**Chetra et Rawat, 2015**). Néanmoins, certaines espèces restent non-étudiées comme l'espèce *Polycarpon polycarpoïdes* dont les études pharmacologiques et phytochimiques sont très rares.

Dans ce contexte, s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'évaluer certaines activités biologiques des extraits bruts de la plante *Polycarpon polycarpoïdes* pour évaluer la possibilité de son utilisation en tant que source de substances bioactives. De ce fait les points suivants sont étudiés :

1-Réaliser une extraction avec des solvants de différentes polarités.

2-Quantification des principales classes de composés phénoliques à savoir les polyphénols totaux, les flavonoïdes, et les tannins condensés.

3-Evaluation des activités antioxydante, et l'effet inhibiteur des enzymes acétylcholinestérase, uréase, et α -amylase.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I :
Polycarpon
polycarpoides

I.1. Caryophyllacées

La famille des caryophyllacées représente une des familles angiospermes dicotylédones avec 85 genres et 2630 espèces. Les plantes de cette famille sont essentiellement distribuées dans l'hémisphère nord et plus spécifiquement dans la région méditerranéenne et sont généralement des herbes, des arbustes, et des fois des petits arbres annuelles ou vivaces (**Chetra et Rawat, 2015**). Le genre *Polycarpon* compte parmi les espèces de cette famille qui inclut environ 16 espèces qui poussent dans les régions tièdes et tempérées (**Iamónico et Domina, 2015**).

I.2. *Polycarpon polycarpoïdes* (Biv.) Fiori subsp. *Catalaunicum* O. Bolòs & Vigo

I.2.1. Description botanique

Polycarpon polycarpoïdes est une plante vivace de 10 à 30 cm, glauque, à souche dure et épaisse avec des caractéristiques suivantes selon **Telabotanica (2011)** :

- Feuilles larges, ovales, charnues, toutes opposées
- Stipules et bractées grises, lancéolées, très petites
- Fleurs peu nombreuses, en cymes un peu lâches, non argentées
- Sépales ovales-obtus, mutiques
- Pétales entiers
- Tiges basses

I.2.2. Taxonomie

Règne : Plantae

Sous-règne : Viridiplantae

Division : Tracheophyta

Sous-division : Spermatophytina

Classe : Magnoliopsida

Superordre : Caryophyllanae

Ordre : Caryophyllales

Famille : Caryophyllaceae

Genre : Polycarpon

Espèce : *Polycarpon polycarpoïdes*

I.2.3. Habitat et distribution géographique

La plante pousse généralement dans les rochers maritimes des régions chaudes, à forte humidité et luminosité. De ce fait, elle est rencontrée dans plusieurs pays de la méditerranée comme l'Espagne, l'Italie, Baléares, et l'Algérie.

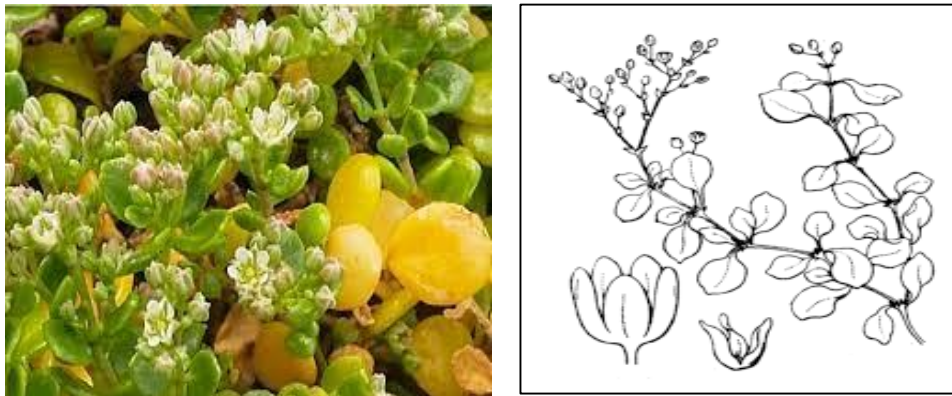


Figure 1. Photographie de *Polycarpon polycarpoïdes*.

I.2. 4. Composition chimique

La famille des Caryophyllacées est principalement connue pour sa composition en saponines. En effet, plusieurs études ont été vouées à l'identification des saponines à partir des espèces de cette famille. Parmi les saponines identifiées de cette famille, on trouve la gypsogénine, l'acide gypsogénique ou l'acide quillaique sont les plus répétés avec des taux de distribution entre les espèces de 46%, 31 %, et 33 %, respectivement. Par contre, le genre Polycarpon a une tendance d'accumuler plutôt d'autres saponines comme les dérivées de la saikogénine et d'hopane (**Böttger et Melzig, 2011**). A côté des saponines, plusieurs autres métabolites secondaires ont été identifiés dans différentes espèces comme les flavonoïdes et des composés terpéniques comme le thymol et l'eugénol (**Chetra et Rawat, 2015**). Un nombre de flavonoïdes incluant la lutéoline, des flavones, des C-glycosyl flavones, la vicénine-2, iso-

quercétine, genisteine, et l'apigénine, l'acide vanillique, etc. ont été identifiés dans l'espèce *Stellaria media* (L.) Vill (**Oladeji et Oyebamiji, 2020**).

La composition chimique de l'espèce *Polycarpon polycarpoides* a été examinée auparavant par des tests phytochimiques préliminaires (réaction d'un réactif spécifique avec un groupe particulier de composés) qui ont montré la présence de saponines, alcaloïdes, et des anthocyanes (**Beladji et Berkane, 2018**).

I.3. 5. Effets pharmacologiques et utilisations traditionnelles

Les espèces de la famille des Caryophyllacées ont été rapportées d'exercer de nombreux effets pharmacologiques exercées par des extraits ou des molécules isolées. L'effet anticancéreux contre différents cancers est de loin le plus étudié dans plusieurs espèces. D'autres actions pharmacologiques comme les effets anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, et antioxydants ont été également rapportés (**Nono et al., 2014 ; Chetra et Rawat, 2015**).

Plusieurs utilisations traditionnelles ont été rapportées pour les espèces de cette famille quoique la plupart d'entre elles soit cultivées en tant que plantes ornementales. Des applications comme antidiurétique, contre la fièvre, le rhumatisme, la toux, les ulcères, les calculs urinaires, traitement des maladies gastro-intestinales et urinaires, des hémorroïdes, ou comme appétissant et beaucoup d'autres utilisations ont été décrites dans la littérature (**Chetra et Rawat, 2015**). Néanmoins les effets pharmacologiques ainsi que les utilisations médicinales du genre *Polycarpon* et en particulier l'espèce *Polycarpon polycarpoides* sont très rares. Uniquement l'utilisation traditionnelle de l'espèce *Polycarpon prostratum* (Forssk.) Ashers & Schweinf comme traitement contre la fièvre paludique a été rapportée (**Majumdar et Datta, 2007**).

Chapitre II
Substances bioactives
d'origine végétale

II.1. Généralités

Les plantes sont capables de synthétiser à côté des métabolites dits primaires comme les protéines, les glucides, et les acides nucléiques d'autres composés dits secondaires. Ces molécules ont attiré un grand intérêt de la part des chercheurs et industriels grâce à leurs effets biologiques qui peuvent être exploitées dans les domaines pharmaceutiques et alimentaires. Les métabolites secondaires ont plusieurs rôles dans les plantes comme l'adaptation aux conditions du milieu (température, salinité), la défense contre les bactéries, champignons, et les animaux, la protection contre les ultraviolets (UV), et interviennent dans la coloration de certains organes de plante (fleurs et fruits) et par conséquent favorisent la pollinisation par l'attraction des pollinisateurs. Au contraire aux métabolites primaires qui sont présents dans toutes les plantes, le type des métabolites secondaires diffère d'une espèce à l'autre et leur répartition au sein de la même plante est gouvernée par la fonction qu'ils assurent. Dans ce travail, les classes de polyphénols et de saponines sont décrites comme les métabolites caractéristiques de la famille des caryophyllacées (Wink, 2010 ; Pagare *et al.*, 2015).

II.2. Principales classes de substances bioactives d'origine végétale

II.2.1. Polyphénols

II.2.1.1. Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés largement présents dans le règne végétal. Ils sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique à 6 atomes de carbone, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide (Figure 2). Les plus représentés sont les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignines, et les stilbènes (Stanley *et al.*, 2003).

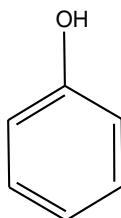


Figure 2. Structure de base des polyphénols

II.2.1.2. Classification des polyphénols

II.2.1.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone (**Singleton et al., 1978**). Les acides phénoliques sont à leur tour divisés en deux principaux groupes selon leur structure en acides phénoliques dérivant de l'acide benzoïque et ceux dérivant de l'acide hydroxy-cinnamique (figure 3). Les acides hydroxy benzoïques présentent une structure en C6-C1, composés d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone (**Chira et al., 2008**). Les exemples les plus connus sont l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique, et l'acide gallique (**Ribereau, 1968**). L'acide hydroxycinnamique est un composé C6-C3 produit par une désamination de la phénylalanine catalysée par la phénylalanine ammonia-lyase, l'acide paracoumarique (*p*-coumarique) est alors produit par l'hydroxylation de l'acide cinnamique (**Ribereau, 1968**).

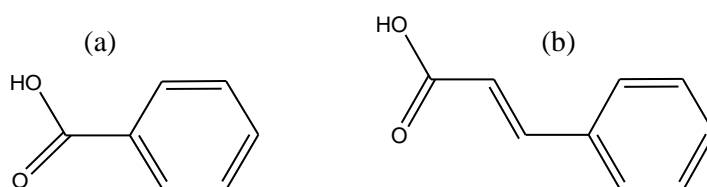
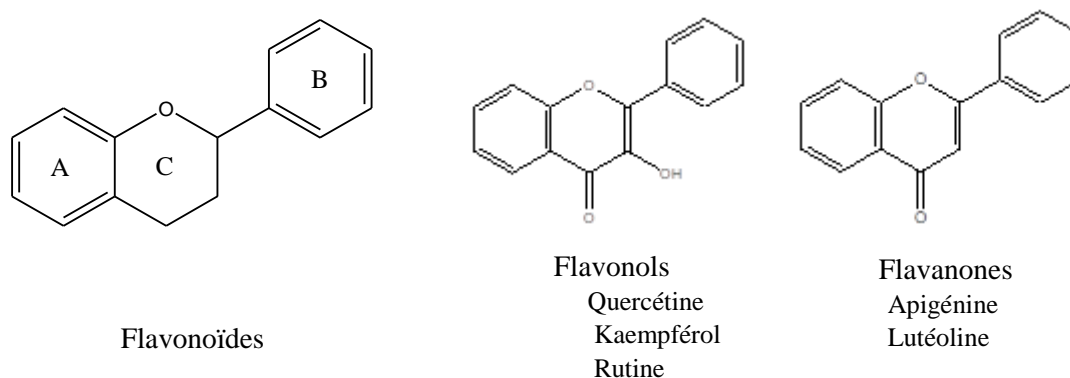


Figure 3. Structure de l'acide hydroxy-benzoïque (a) et de l'acide hydroxy-cinnamique (b).

II.2.1.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une sous classe de polyphénols largement distribuées dans le règne végétal. On compte presque 6000 composés appartenant à cette classe qui sont répertoriés dans plusieurs groupes dont les flavonols, flavanols, flavones, flavanones, anthocyanines. Ces composés sont en partie responsable de la couleur de différents organes des plantes et jouent un rôle primordial dans la protection contre les rayons UV et dans la pollinisation des plantes (**Ghedira, 2005**).



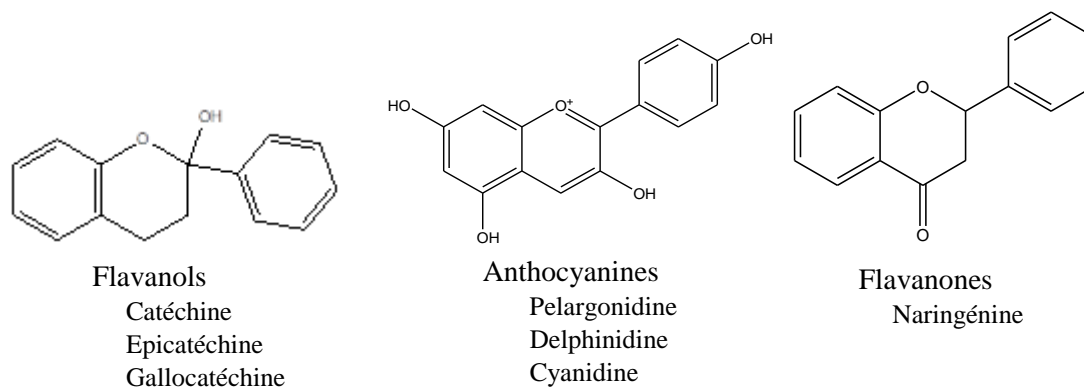


Figure 4. Structure générale des flavonoïdes et celle des principaux sous-groupes de flavonoïdes

II.2.1.2.3. Tannins

Les tannins sont des composés organiques complexes qui sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles. Leur nom vient de leur application dans le tannage des peaux d'animaux grâce à leur propriété astringente due à la formation de complexes avec des protéines (**Dangles et al., 1992**). Ces composés sont solubles dans l'eau et présentent poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (**Bruneton, 1999**). Selon leurs structures et leurs propriétés, les tannins peuvent être divisés en deux catégories. La première catégorie est représentée par les tannins hydrolysables qui renferment les gallo-tannins et ellagitannins qui par hydrolyse donnent l'acide gallique ou l'acide ellagique, respectivement (**Bruneton, 1993 ; Hopkins, 2003**) (**Bruneton, 2009**). La deuxième catégorie sont les tannins condensés ou appelés également catéchines ou pro-anthocyanidines qui sont formés par la condensation des molécules de flavan-3-ol (**Bruneton, 2009**) (figure 5).

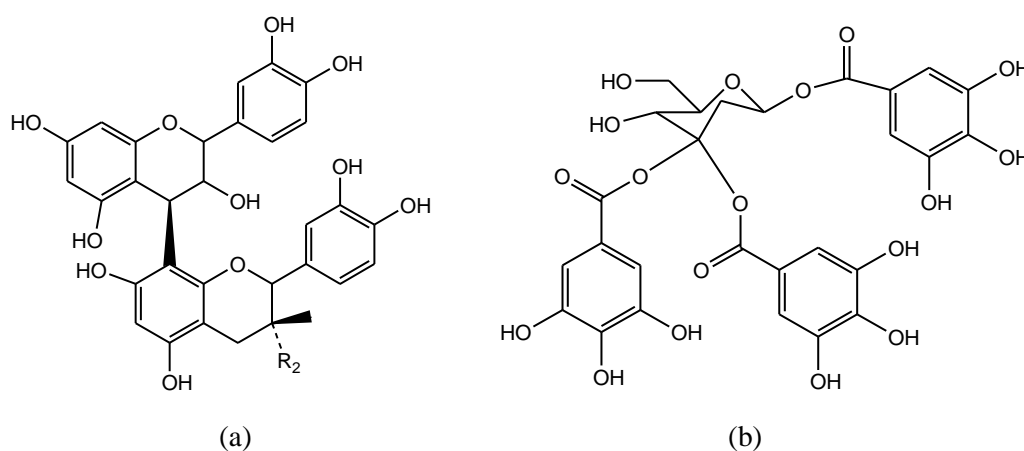


Figure 5. Structure générale des tanins condensés (a) et hydrolysables (b).

II .2.2. Saponines

Le mot saponine est dérivé du mot latin *sapo* due à leurs fortes propriétés de formation de mousse en solution aqueuse semblable à celle du savon (**Hart et al., 2008**), sont un groupe de glycosides végétaux naturels. La présence de saponines a été rapportée dans plus de 100 familles de plantes parmi lesquelles au moins 150 sortes de saponines naturelles se sont avérées posséder des propriétés anticancéreuses significatives. Il existe plus de 11 classes distinctes de saponines, notamment les dammaranes, les tirucallanes, les lupanes, les hopanes, les oléananes, les taraxastéranes, les ursanes, les cycloartanes, les lanostanes, les cucurbitanes et les stéroïdes. En raison de la grande variabilité de leurs structures, les saponines présentent toujours des effets anti-tumorigènes à travers des variétés de voies antitumorales (**Man et al., 2010**). La figure suivante montre la structure générale des saponines.

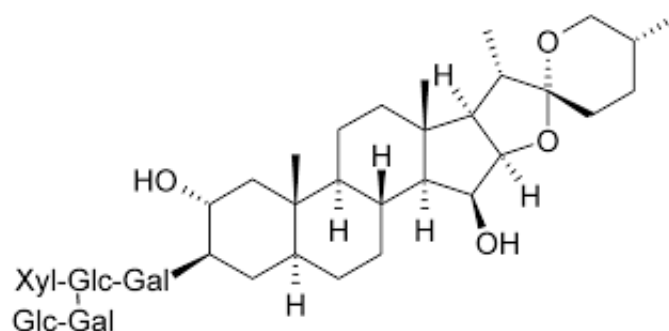


Figure 6. Structure générale des saponines

II. 3. Effets pharmacologiques des métabolites secondaires

II.3.1. Effet antioxydants

II.3.1.1. Radicaux libres et antioxydants

II.3.1.1.1. Radicaux libres : définition et effets néfastes

Les radicaux libres sont des entités chimiques (Espèces, atomes, molécules ou des fragments moléculaires) possédant un électron (ou plus) non apparié « Célibataire » sur la couche périphérique du squelette moléculaire. Ces espèces ont donc tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner la stabilité, déstabilisant ainsi d'autres molécules (**Bendif, 2017**). Un radical libre est le plus souvent instable, donc réactif et sa durée de vie est très courte (de l'ordre d'une micro à nanoseconde) (**Bouguerne, 2012**).

L'organisme des êtres vivants aérobiques produisent un gret nombre de molécules radicalaires ou non radicalaires mais réactives qui interviennent dans les processus physiologiques tels que la transmission du signal, défense contre les corps étrangers et durant la respiration mitochondriale. Les principales espèces radicalaires sont l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) issu de la réduction d'une molécule d'oxygène et joue un rôle en tant que facteur oxydant dans de nombreuses réactions, le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), un radical très réactif vis-à-vis des qui peut régir avec les composés cellulaires comme les protéines, glucides, et acides nucléiques (ADN et ARN) provoquant une oxydation, le radical peroxyde (ROO^{\bullet}), l'oxyde nitrique (NO) ; etc. d'autres espèces sont réactives mais se trouve sous forme non radicalaire qui peuvent donner naissance à d'autres radicaux libres comme le peroxyde d'hydrogène, oxygène singulet, ozone (O_3), et les hydro-peroxydes organiques (ROOH) (Liou et Storz, 2010). Les principaux espèces réactives de nature radicalaire et non-radicalaire sont rapportées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Principaux espèces réactives avec leur structure chimique (Haton, 2005).

	Structure chimique
Radicaux libres	
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}
Radical hydro-peroxyde	HOO^{\bullet}
Radical peroxyde	ROO^{\bullet}
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}
Peroxynitrite	$ONOO^{\bullet}$
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2

Une surproduction des radicaux libres qui dépasse la capacité du système antioxydants à les neutraliser peut conduire à un déséquilibre du redox cellulaire conduisant à ce que on appelle stress oxydatif qui est à l'origine des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Harris, 2002). Le code génétique situé à l'intérieur des cellules sous forme d'ADN est aussi menacé. Les radicaux libres endommagent notre programme génétique ce qui peut à terme provoquer une mutation et la formation de cellules cancéreuses. Les attaques répétées des radicaux libres sur nos organes sont à l'origine de nombreuses maladies chroniques tels que les maladies cardiovasculaires, inflammatoires (rhumatisme, arthrites),

neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, Parkinson), cancers, diabète, etc. (**Uttara et al., 2009**).

II.3.1.1.2. Antioxydants

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 un équilibre entre de la rédox cellulaire en neutralisant l'excès des radicaux libres (**Mohammedi, 2013**). Ces molécules sont soit elles sont produites naturellement par le corps ou bien apportées par l'alimentation (**Halliwell et Gutteridge, 2008**). Les antioxydants peuvent alors par leur action retarder significativement l'oxydation d'un autre composé via plusieurs mécanismes d'action comme par la chélation des ions de transition (fer et cuivre), par la neutralisation des radicaux libres, ou par la régénération d'une molécule antioxydante. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs origines en deux classes les antioxydants enzymatiques (Superoxyde dismutase (SOD) qui intervient dans la neutralisation les anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire, la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR)) (**Lehucher-Michel, 2001; Mirończuk-Chodakowska et al., 2018**) et des antioxydants non-enzymatiques représentés par l'acide urique, bilirubine, glutathionne (GSH), et plusieurs protéines sériques (céruleoplasmine, ferritine, transferrine et albumine) qui fixent les métaux de transition (fer, cuivre, etc) empêchant ainsi la génération des radicaux libres (**Pincemail et al., 2002; Tapia-Hernández et al., 2018**). Des antioxydants comme les vitamines (E et C), les polyphénols, et les caroténoïdes peuvent être apportés par l'alimentation (**Bendif, 2017**).

La figure 7 montre l'équilibre entre le système antioxydants endogène, les antioxydants exogènes et les différents radicaux libres produits par l'organisme durant son fonctionnement normal. Des facteurs externes tels que l'exposition aux rayons UV, aux polluants, et la consommation du tabac peuvent aussi stimuler la production des radicaux libres dans l'organisme. Une surproduction des espèces réactives peut induire l'oxydation des molécules biologiques essentiellement l'ET, des lipides et protéines qui est à l'origine de différentes maladies chroniques.

Antioxydants endogènes**Enzymes:** SOD, CAT, GPx, GR**Antioxydants non enzymatiques:**

Protéines fixatrice des métaux de transition (ferritine , transferrine , ceruloplasmine , etc), bilirubine , acide urique , glutathione (GSH)

Antioxydants exogènes

Vitamines (C, E, et A)

Polyphénols

Caroténoïdes (lycopène , carotène)

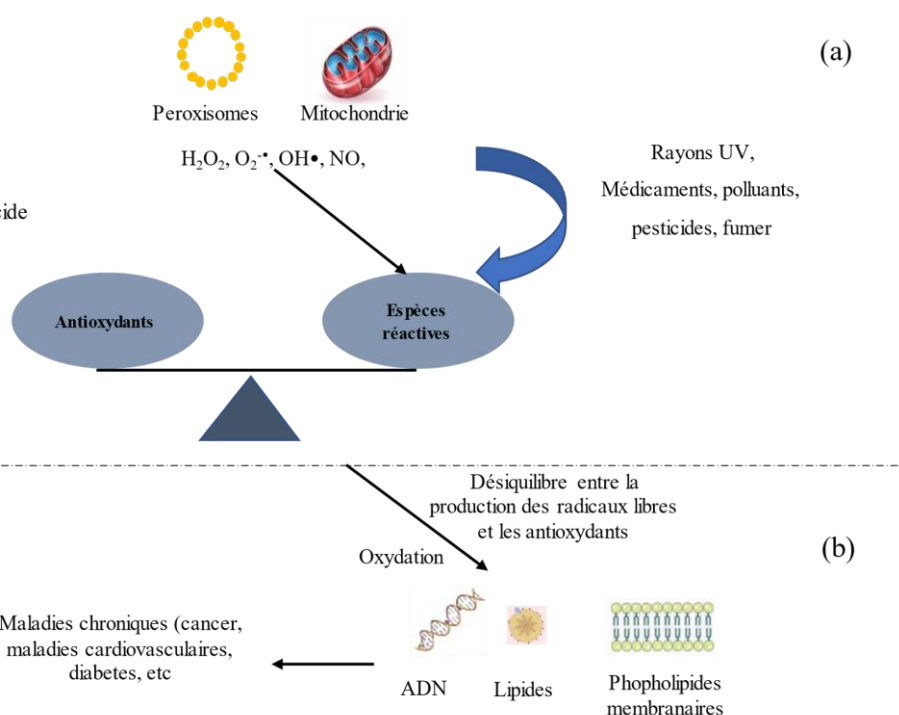


Figure 7. Notion de l'équilibre oxydants/antioxydants dans les systèmes biologiques (a), induction du stress oxydant et son implication dans le développement des maladies chroniques (b).

II.3.1.2. Substances d'origine végétale avec un effet antioxydant

Plusieurs molécules dérivant des plantes ont été rapportées d'avoir un effet antioxydants. Parmi les celles-ci, les polyphénols constituent les antioxydants naturels les plus puissants. Les propriétés antioxydants des polyphénols est de loin la plus étudiée vue leur structure phénoliques permettant le transfert d'atome d'hydrogène ou d'électrons à une molécule radicalaire. Cette propriété est considérée à l'origine des effets thérapeutiques de ces composés étant donné le rôle primordial du stress oxydant dans l'étiologie de nombreuses maladies (**Han et al., 2007**). Les caroténoïdes (terpènes) comme le β -carotène, lycopène, lutéine, etc. qui sont présents dans de nombreux fruits et légumes sont également doués par une forte activité antioxydante. De plus, plusieurs monoterpènes, sesquiterpènes, et diterpènes ont été rapportés d'avoir un effet antioxydants et peuvent ainsi être considérés comme des antioxydants naturels prometteurs (**Graßmann, 2005**).

II.3.2. Inhibition des enzymes

L'une des mécanismes thérapeutiques des substances médicamenteuses est leur action inhibitrice de l'activité des enzymes impliquées dans des réactions biologiques. Ainsi, les enzymes constituent une importante cible pour les substances actives.

II.3.2.1. Alpha amylase

L' α -amylase (EC 3.2.1.1) représente l'enzyme amylolytique la plus connue. Elle catalyse l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glucosidiques dans l'amidon et les α -glucanes apparentés produisant des produits de faible poids moléculaire comme les dextrans et des sucres simples (**Janecek et al., 2014**). L'action de cette enzyme permet l'absorption des glucides alimentaires après leur conversion en monosaccharides. En cas du diabète de type 2 caractérisé par une sécrétion insuffisante de l'insuline et la résistance des tissus cibles (le foie, les muscles) à l'action de l'insuline, le taux du glucose dans le sang (glycémie) reste élevé ce qui pourra à long terme produire des lésions au niveau des autres organes. De ce fait, éviter l'hyperglycémie après les repas (hyperglycémie postprétial) semble une stratégie attractive dans le traitement du diabète type 2. L' α -amylase peut alors considérée comme une intéressante cible pour des molécules destinées à traiter cette maladie en inhibant la dégradation des polysaccharides de provenance alimentaire empêchant ainsi leur absorption au niveau de l'intestin (**Sales et al., 2012**).

Des inhibiteurs de glucosidases (α -glucosidase et α -amylase) comme l'acarbose, ont été utilisés depuis longtemps pour améliorer l'état de santé des patients atteints du diabète type 2. Néanmoins, leur utilisation est suivie par des effets secondaires comme les ballonnements et des diarrhées. De ce fait, l'intérêt aux inhibiteurs d'origine naturelle s'est intensifié dans le but de développer des médicaments plus efficaces avec moins d'effets indésirables (**Kumar et al., 2011 ; Saha et al., 2012**). De nombreuses études ont montré l'efficacité des extraits de plantes à inhiber l' α -amylase qui ont exercé un effet plus prononcé que le stéatid acarbose. Différentes substances synthétisées par les plantes appartenant à différents groupes chimiques incluant des alcaloïdes, des terpenoïdes, des guanidines, etc. ont été rapportées avoir un effet inhibiteur de l'enzyme α -amylase (**Sales et al., 2012**). La capacité des triterpenoïdes et des saponines isolées à partir de différentes plantes a été démontré par plusieurs recherches (**Teng et al., 2018**). A côté de ces composés, les polyphénols en particulier les flavonoïdes présents dans l'alimentation ou dans des plantes médicinales peuvent exercer une forte activité inhibitrice contre l' α -amylase pancréatique et salivaire intervenant ainsi dans la régulation du

taux de la glycémie des patients. Les Flavonols, les catéchines, et les anthocyanines sont les actifs contre l' α -amylase dont l'effet inhibiteur de ces composés est fonction de leur structure chimique (Zhu et al., 2020).

II.3.2.2. Uréase

L'uréase (EC 3.5.1.5) est une enzyme qui intervient dans la conversion de l'urée en ammoniac synthétisée par un nombre de bactéries, champignons, et plantes. Cette enzyme est considérée comme un facteur de pathogénicité de la bactérie *Helicobacter pylori* la majeure cause des ulcères gastriques et des autres troubles urinaires comme les calculs urinaires. En effet, la production de l'ammoniac au niveau de l'estomac où la bactérie se développe dans le mucus, permet l'augmentation du pH du milieu favorisant ainsi la survie et le développement de la bactérie (Mobley et Foxall, 1991). En plus de son rôle dans la pathogénicité de l'*Helicobacter pylori*, l'uréase constitue aussi un problème dans le domaine d'agriculture. La transformation de l'urée fournit comme engrais pour les plantes en ammoniac qui se perd dans l'atmosphère, peut avoir de graves conséquences sur l'environnement et la production agricole, premièrement par la privation des plantes en azote et deuxièmement par la toxicité des fortes concentrations d'ammoniac accumulées dans l'air (Upadhyay, 2012). Par conséquent, l'inhibition de cette enzyme peut constituer à la fois un intérêt dans le domaine médical et également dans le domaine agricole. Les plantes peuvent constituer une source importante de molécules inhibitrices de l'uréase. Plusieurs terpènes (monoterpènes, diterpènes, et triterpènes), des polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, coumarines), et certains alcaloïdes isolés de plantes se sont révélés des inhibiteurs potentiels de l'uréase (Hassan et Žemlička, 2016).

II.3.2.3. Acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase (acétylcholine acétylhydrolase, EC 3.1.1.7, AChE) est une enzyme qui est impliqué dans la transmission du signal au niveau des neurones par son action hydrolytique sur le neurotransmetteur acétylcholine (ACh) au niveau des synapses après son action sur les récepteurs postsynaptiques. Cette action permet l'arrêt de la transmission du signal, un mécanisme impliqué dans la régulation de la transmission neuronale comme montre dans la figure 8 (Mukherjee et al., 2007).

Dans la maladie d'Alzheimer, le taux du neurotransmetteur ACh connaît une diminution très remarquable due principalement à la mort des neurones productrices de ce neurotransmetteur (neurone cholinergiques) provoquée par plusieurs facteurs comme le stress oxydatif,

accumulation du peptide β -amyloïde, etc. cette diminution anormale de l'ACh est à l'origine des symptômes caractéristiques de la maladie d'Alzheimer comme la perte progressive de la mémoire, les troubles comportementaux, linguistiques, et autres troubles (**Uriarte-Pueyo et Calvo, 2011**). Ainsi, l'une des stratégies proposées pour traiter la maladie d'Alzheimer, est d'augmenter la concentration de l'ACh dans la fente des synapses par l'inhibition de sa dégradation par l'AChE. En effet, les inhibiteurs de cette enzyme constituent le seul traitement approuvé et plusieurs molécules comme la galantamine, la tacrine, la rivastigmine, et le donepezil sont utilisés pour améliorer les symptômes des patients avec cette maladie (traitement palliatif) (**Racchi et al., 2004**). Néanmoins, un gret effort a été dévoué pour la recherche de nouvelles molécules plus particulièrement d'origine naturelle exerçant un effet inhibiteur sur l'AChE comme alternatifs pour les médicaments actuellement utilisés. Parmi les composés dérivants des plantes, les alcaloïdes constituent les composés les plus actifs dans l'inhibition de l'AChE (**Murray et al., 2013**). Les monoterpènes constituant les huiles essentielles comme le géraniol, limonène, et l' α -caryophyllène ont montré un effet inhibiteur contre l'AChE mais faible (**Mukherjee et al., 2007**). En plus de ces composés, certains flavonoïdes ont été rapporté d'avoir un effet inhibiteur de l'AChE (**Uriarte-Pueyo et Calvo, 2011**).

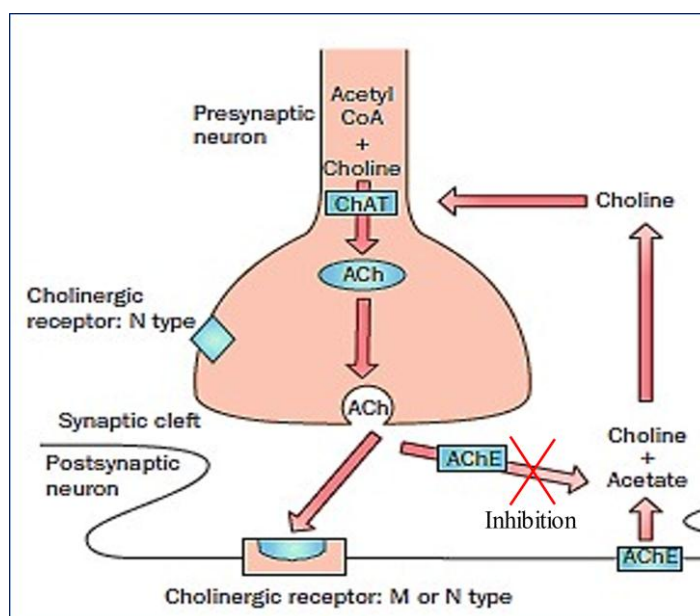


Figure 8. Principe de la transmission cholinergique.

Partie Expérimentale

Matériels et Méthodes

I.1. Matériel végétal

La partie aérienne de la plante (feuilles, fleurs et tiges) est récolté à Annaba en Décembre 2017. Les échantillons sont nettoyés, et séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière. Par la suite la plante a été broyée finement et conservée dans un endroit sec (figure 9).



Figure 9. Aspect de la poudre de la partie aérienne de *Polycarpon polycarpoïde* après broyage.

I.2. Appareillage et produits chimiques

I.2.1. Appareillage

Evaporateur rotatif (BUCHI, R215, Switzerland)

Balance analytique ABJ 320-4NM KERN

Agitateur magnétique MSH - 20D WISD

Vortex ZX3 VELP SCIENTIFICA

Bain Ultrason, Elma S70H, Elmasonic, Elma Schmidbauer GmbH, Germany

Lecteur microplaque (Perkin Elmer Enspire, Singapore).

I.2.2. Produits chimiques et enzymes

Les principaux produits chimiques, réactifs, solvants utilisés dans la partie expérimentale sont listés dans le tableau 2. Les enzymes utilisées sont rapportées dans le tableau 3.

Tableau 2 : Liste des principaux produits chimiques utilisés dans la partie expérimentale

Produit	Formule chimique
<i>Ethyle d'acétate</i>	C ₄ H ₈ O ₂
<i>Méthanol</i>	CH ₃ OH
<i>Ether de pétrole</i>	C ₆ H ₁₄
<i>Folin-Ciocalteu</i>	/
<i>Carbonate de sodium</i>	Na ₂ CO ₃
<i>1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)</i>	/
<i>Acétate d'ammonium</i>	ACNH ₄
<i>Acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)</i>	/
<i>Ferrocyanure de Potassium</i>	K ₃ Fe(CN) ₆
<i>Chlorure d'aluminium</i>	AlCl ₃ (H ₂ O) ₆
<i>Phénanthroline</i>	C ₁₂ H ₈ N ₂
<i>Néocuproïne</i>	C ₁₄ H ₁₂ N ₂
<i>Trolox</i>	C ₁₄ H ₁₈ O ₄
<i>Acide ascorbique</i>	C ₆ H ₈ O ₆
<i>Urée</i>	CH ₄ N ₂ O
<i>Phénol</i>	C ₆ H ₅ OH
<i>Hypochlorite de Sodium</i>	NaOCL
<i>Nitroprusside de Sodium</i>	Na ₂ [Fe (CN) ₅ NO]
<i>Acide 5,50 dithiobis [2-nitrobenzoïque] (DTNB)</i>	C ₁₄ H ₈ N ₂ O ₈ S ₂
<i>Acétylthiocholine iodide</i>	C ₇ H ₁₆ INOS

Tableau 3 : Enzymes utilisées dans la partie expérimentale

Enzyme	Source	Activity
<i>Alpha-amylase</i>	<i>Aspergillus Oryzae</i>	≥ 150 U/protéine
<i>Uréase</i>	<i>Canavalia ensiformis</i> (Haricot sabre)	≥ 5 U/mg solide
<i>Acétylcholinestérase</i>	Anguille électrique	Type VI-S, <1000 U/mg de solide

I.3. Préparation des extraits bruts

I.3.1. Principe

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules chimiques contenant dans de plante *Polycarpon polycarpoïdes*, en utilisant des solvants de différentes polarités qui permettent l'extraction différents composés selon leur solubilité. La méthode utilisée est la macération qui une méthode d'extraction solide-liquide qui consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles (Leybros et Fremeaux, 1990).

I.3.2. Procédure

Une quantité de 25 g de matériel végétal (poudre) est macérée dans 100 ml de différents solvants (Ether de pétrole, éthyle acétate, méthanol, et méthanol : Eau 1 :1, (v : v). Le mélange est laissé agiter pendant 2 h à température ambiante. Une filtration de la solution est ensuite effectuée sur papier filtre Whatman. Le filtrat est récupéré dans un erlenmeyer, têtis que le marc de la poudre a été extraite deux fois de plus suivant les mêmes étapes pour avoir un maximum d'extraction. A la fin de l'extraction, les filtrats des trois extractions ont été rassemblés et sont subis à l'élimination des solvants utilisant un évaporateur rotatif. Cette dernière forme un système constitué d'une pompe à pression et un bain marie permettant le contrôle de la pression, et la température, respectivement, et un système de refroidissement pour condenser le solvant évaporé qui sera récupéré dans un ballon de récupération comme montré dans la figure 10. L'élimination des solvants a été réalisée à température faible (40 °C) et à pression réduite permettant ainsi la préservation des constituants de la dégradation thermique. Les résidus ainsi obtenus sont récupérés, pesés, et stockés à 4 °C. Les différentes étapes d'extraction sont présentés dans la figure 11.



Figure 10 . Evaporateur rotatif utilisé pour l'élimination du solvant d'extraction.

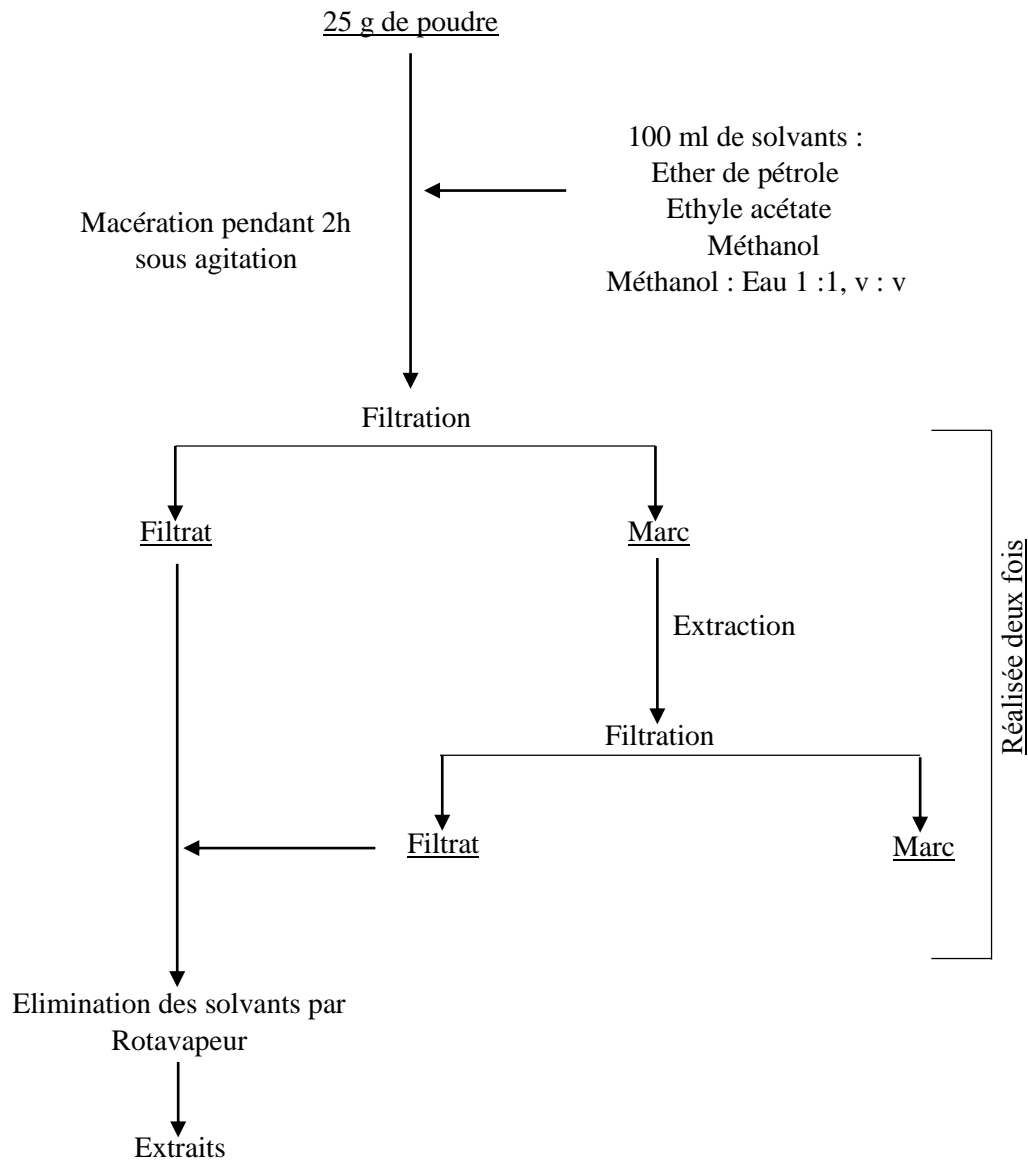


Figure 11 . Protocole de préparation des extraits de *Polycarpon polycarpoïdes*

I.3.4. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (Me / M) \times 100$$

(%) : Rendement d'extraction exprimé en %.

Me : Masse de l'extrait sec résultant en g

M : Masse du matériel végétal (poudre) en g utilisée pour l'extraction.

I.4. Dosage colorimétrique des polyphénols

I.4.1. Dosage des polyphénols totaux

I.4.1.1. Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui sera réduit, en milieu alcalin par les polyphénols, donnant un mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm (**Sango, 2006**).

I.4.1.2. Mode opératoire

La méthode utilisée pour la détermination des polyphénols est celle rapportée par **Müller et al., (2010)**. Un volume de 20 μ L de chaque extrait (1 mg/ml) a été transféré dans une microplaque de 96 puits. Ensuite, 100 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu, et 75 μ L de carbonate de sodium (7,5 %) ont été ajoutés. Après 2 heures d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été déterminée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre utilisant un lecteur microplaque. Les teneurs en polyphénols sont déterminés à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique et sont exprimés en μ g équivalent acide gallique par mg d'extrait (μ g EAG/mg).

I.4.2. Dosage des flavonoïdes

I.4.2.1. Principe

Les teneurs des flavonoïdes ont été mesurés par une méthode utilisant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). 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 (**Lagnika, 2005**).

I.4.2.2. Mode opératoire :

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits de *Polycarpon polycarpoïdes* est réalisé par la méthode de **Khlifi et al., (2013)** avec modifications. Un volume de 100 µl de chaque extrait est mélangé dans une microplaque de 96 puits avec 100 µl de chlorure d'aluminium (2 % dans le méthanol). L'absorbance est mesurée à 415 nm, après incubation à température ambiante pendant 15 min. Les concentrations en flavonoïdes sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage tracée utilisant la quercétine comme standard. Les résultats sont rapportés en termes de µg équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg EQ/mg).

I.4.3. Dosage des tannins

I.4.3.1. Principe :

La détermination de la concentration des tannins condensés dans les extraits est basée sur la formation d'un complexe rose-rouge entre les flavanols libérés sous l'action de l'HCl avec la vanilline dont l'absorbance est mesurée à 500 nm (**Broadhurst et Jones, 1978**).

I.4.3.2. Mode opératoire

La quantification des tannins condensés dans les extraits est réalisée par la méthode sur microplaque rapportée par **Saci et al., (2020)**. Un volume de 25 µl de chaque extrait a été mélangé avec 150 µl de vanilline (4% préparé dans le méthanol) et 75 µl d'acide chlorhydrique (HCl, 30 %). Le mélange est ensuite incubé pendant 15 min et l'absorbance est mesurée à 500 nm.

I.5. Evaluation de l'activité antioxydants

L'évaluation de l'activité antioxydants est effectuée sur une microplaque 96 puits utilisant différentes concentrations d'échantillon. Pour cela, une série de 7 dilutions a été réalisée dans des eppendorfs par transfert d'un volume de 500 µl de chaque concentration dans un eppendorf contenant 500 µl du méthanol comme montré dans la figure 12. La concentration initiale est fixée à 4 mg/ml.

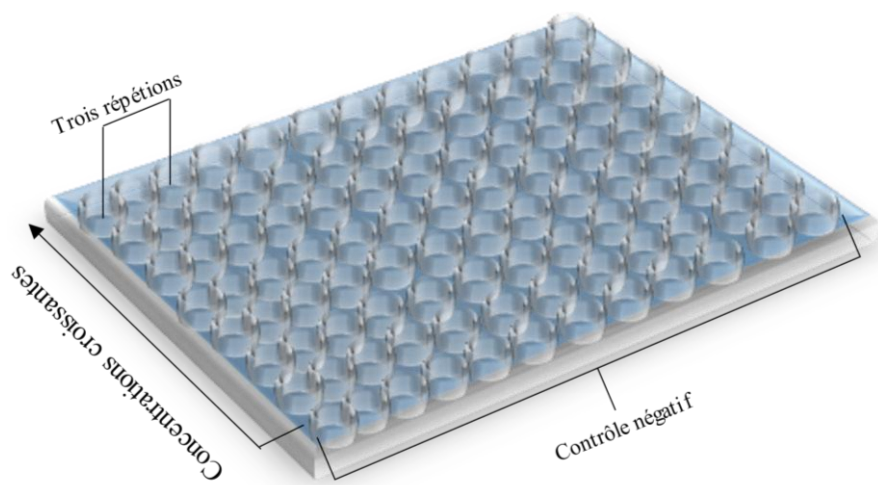
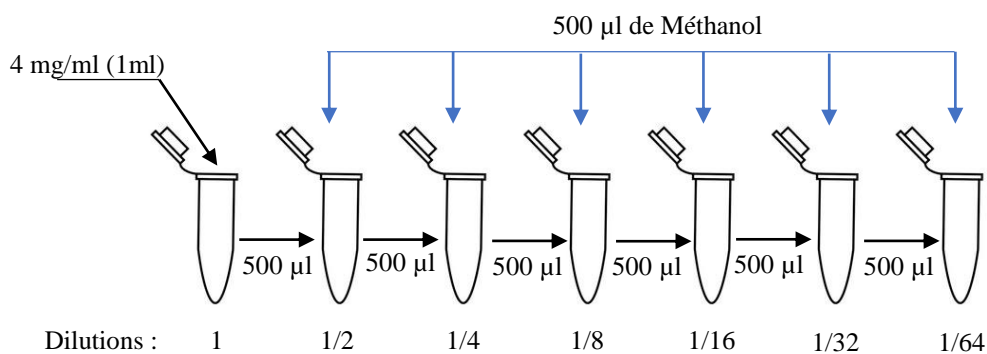


Figure 12. Préparation des dilutions et mode opératoire sur une microplaque 96 puits.

I.5.1. Piégeage du radical DPPH

I.5.1.1. Principe

La méthode de DPPH est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène ou d'électrons (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire, le DPPH-H. La solution initiale de DPPH (forme radicalaire) possède une couleur violette avec un maximum d'absorbance à 517 nm. La réduction de cette solution entraîne la transformation de la couleur violette en couleur jaune. L'absorbance de la couleur violette restante après réduction est ainsi mesurée à 517 nm. Plus la perte de la couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort (Belmokhtar, 2015).

I.5.1.2. Protocole

La mesure de l'activité anti-radicalaire utilisant le radical DPPH est réalisée par la méthode de **Blois (1985)**. Brièvement, 160 µl d'une solution de DPPH (1 mM, préparé dans le méthanol) est ajouté à 40 µl de chaque extrait à différentes concentrations. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé, en mélangeant 40µl de méthanol avec 160µl de la solution méthanolique de DPPH. Après 30min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517nm. Le trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme des stérards (contrôles positifs). La capacité antioxydant de nos échantillons a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• calculée par l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle} \times 100 \quad (1)$$

A échantillon : Absorbance de l'échantillon.

A contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

I.5.2. Piégeage du radical ABTS

I.5.2.1. Principe

L'ABTS^{•+} forme également un radical libre relativement stable. Dans cette méthode, une solution du cation ABTS^{•+} de couleur bleue est préparée au préalable par la réaction de l'ABTS (forme réduite) avec le persulfate de sodium (oxydant) pendant 16h. La réduction de l'ABTS^{•+} par l'addition d'un antioxydant entraîne la décoloration de la solution bleue dont l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 734 nm. La figure 13 montre la forme radicalaire (bleue) et la forme réduite (incolore) de l'ABTS (**Schaich et Xie, 2015**).

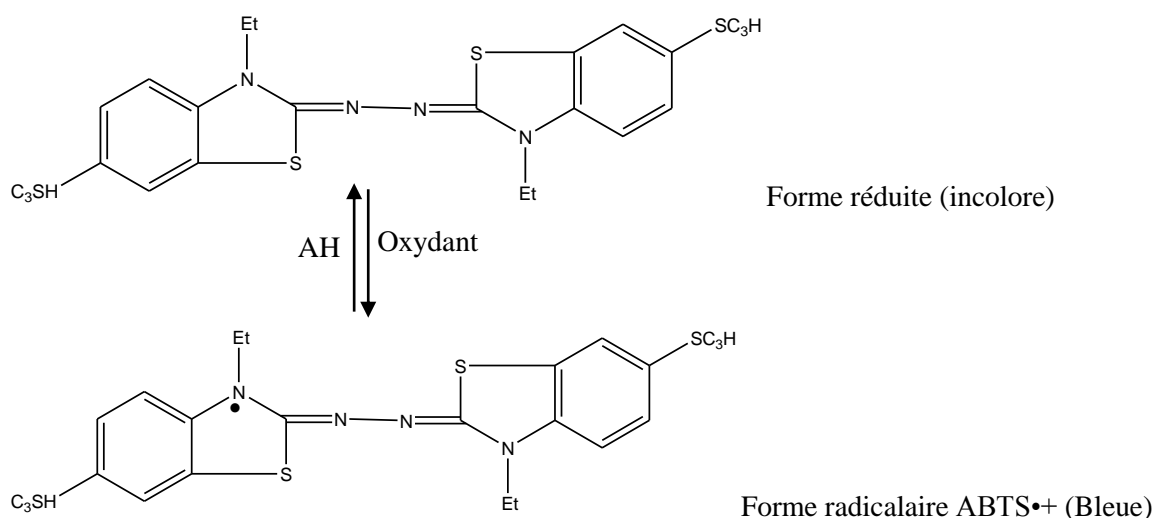


Figure 13. Structure chimique de l'ABTS sous sa forme réduite et radicalaire (*Schaich et Xie, 2015*).

I.5.2.2. Mode opératoire

La méthode rapportée par **Re et al., (1999)** est utilisée pour déterminer la capacité des extraits de *Polycarpon polycarpoides* à réduire le radical ABTS. La solution de l'ABTS^{•+} est préparée en faisant réagir 2 mM de l'ABTS avec 2.45 mM de persulfate de sodium (v : v) pendant 16h. l'absorbance de la solution concentrée ainsi obtenue est ajustée à 0.7 à la longueur d'onde 734 nm. Par suite, 40 µl de chaque extrait à différentes concentrations et 160 µl de la solution ABTS^{•+} sont mélangés dans une microplaque. Après 10 min de réaction à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorbance est effectuée à 734 nm. Les pourcentages d'inhibition sont calculés par l'équation (1) précédente. Les résultats sont comparés aux stendars trolox et acide ascorbique.

I.5.3. Pouvoir réducteur de fer

I.5.3.1. Principe

La méthode de pouvoir réducteur est utilisée pour mesurer la capacité réductrice des ions de fer. Dans cette méthode, le fer ferrique complexé au ferrocyanure ($\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6$) est réduit en fer ferreux ($\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6$) présentant une couleur bleu-verte avec un maximum d'absorption à 700 nm (**Hsu et al., 2006 ;Bijoyet al., 2008**).

I.5.3.2. Mode opératoire

La détermination du pouvoir réducteur est réalisée selon la méthode développée par **Oyaizu (1986)**. Un volume de 10 µl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 40 µl d'une solution de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6), et 50 µl d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé à 50°C pendant 20 min. A la fin de l'incubation, 50 µl d'acide trichloracétique à 10%, 40 µl d'eau distillée, et 10 µl d'une solution $FeCl_3$ (0,1%) sont ajoutés et l'absorbance est immédiatement lue à 700 nm. Les résultats sont exprimés en termes d'absorbances. La concentration donnant une absorbance de 0,5 est déterminée à partir de la courbe de régression tracée par les absorbances des différentes concentrations. Le trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme des références positives.

I.5.4. Test CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity)

I.5.4.1. Principe

Le test CUPRAC mesure la capacité de réduire les ions cuivre présents dans le complexe néocuproïne-cuivre (II). Ce dernier est formé grâce à la capacité chélatrice du néocuproïne des ions Cu^{2+} fournis par le chlorure de cuivre ($CuCl_2$). La réduction de Cu^{2+} en Cu^{1+} par la présence d'un antioxydant conduit au développement d'une couleur jaune-orange présentant un maximum d'absorbance à la longueur d'onde de 450 nm et dont l'intensité est proportionnelle au niveau de la réduction **Apak et al., (2004)**.

I.5.4.2. Mode opératoire

Le test CUPRAC est effectuée par la méthode décrite par **Apak et al., (2004)**. Dans une microplaque à 96 puits, 40 µl extrait, et 60 µl Acétate d'ammonium (1 M), 50 µl de néocuproïne (7,5 mM), et 50 µl de chlorure de cuivre (10 mM) sont mélangés. Le mélange est incubé pendant 1h du temps, et la lecture est effectuée à 450nm.

I.5.5. Test au phénanthroline

I.5.5.1. Principe

La méthode est basée sur la réduction des ions de fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe 1, 10-phenanthroline-Fe (III) par les antioxydants vers le fer ferreux pour donner le complexe phénanthroline-Fe (II) de couleur rouge dont l'absorbance est mesurée à 510 nm (**Szydłowska-Czerniaka, 2008**).

I.5.5.2. Mode opératoire

La méthode de **Szydłowska-Czerniaka (2008)** est utilisée pour mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique dans le complexe phénanthroline-Fe (III). Dans une microplaque 96 puits, 10 µl d'extrait, 50 µl FeCl₃, (0,2%), 30 µl phénanthroline (0,5%), et 110 µl méthanol sont mélangés. La réaction est laissée pour 20 min à température ambiante et l'absorbance est ensuite mesurée à 510 nm. Les résultats sont rapportés sous forme d'absorbances. Le trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme stendars.

I.6. Inhibition des enzymes

I.6.1. Inhibition de l'α-amylase

I.6.1.2. Principe

L'α-amylase dégrade l'amidon en composés moins complexes qui ne peuvent pas réagir avec l'iode. L'inhibition de l'α-amylase par un inhibiteur entraîne l'accumulation de l'amidon qui réagit par suite avec l'iode pour donner un complexe bleu-noir dont l'absorbance est mesurée à 630 nm.

I.6.1.2. Mode opératoire

La détermination de l'activité inhibitrice de l'α-amylase est réalisée selon la méthode de **Zengin et al., (2014)** avec des modifications. Dans une microplaque, 25 µl de chaque extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 50 µl de la solution d'α amylase (1 U/ml dans le tampon phosphate, 100 mM, pH, 6,9, 6 mM NaCl). Le mélange est incubé pendant 10 min à 37 °C puis 50 µl d'amidon 0.1% est ajouté. Une deuxième incubation pendant 10 min à 37 °C est effectuée et la réaction est stoppée par l'ajout de 25µl HCl (1M), et l'amidon est révélée par 100 µl IKI. La lecture est effectuée à 630 nm contre un contrôle négatif contenant tous les réactifs sans les extraits. Un autre contrôle qui consiste à réagir la solution d'amidon utilisée avec l'iode est aussi effectuée. Parallèlement, des blancs extrait ne contenant pas la solution enzymatique à différentes concentrations sont performés. Les pourcentages d'inhibition sont calculés utilisant la formule ci-dessous :

$$\text{Inhibition (\%)} = 1 - [(A_c - A_e) - (A_s - A_b)] / (A_c - A_e)$$

A_c=Absorbance des blancs extrait (tous les réactifs sans la solution enzymatique)

A_e=Absorbance du contrôle négatif sans inhibiteur (tous les réactifs sans extrait)

A_s=Absorbance de la réaction contenant tous les réactifs

A_b=Absorbance de la réaction maximale entre l'amidon et l'iode (Amidon + IKI).

I.6.2. Inhibition de l'uréase

I.6.2.1. Principe

L'uréase catalyse la dégradation de l'urée en ammoniac qui est quantifié par le phénol-hypochlorite en milieu alcalin (**Nabati et al., 2012**).

I.6.2.2. Mode opératoire

La capacité des extraits de *Polycarpon polycarpoïdes* à inhiber l'uréase est évaluée par la méthode décrite par **Nabati et al., (2012)** avec des modifications. Un volume de 10 µl des extraits est mélangé avec 25 µl de l'uréase (1 mg/ml dans le tampon phosphate 100 mM, pH 8,2) et 50 µl urée (30 mM). Le mélange est incubé pendant 15 min à 37 °C et la quantité de l'ammoniac produite est déterminé par l'ajout de 45 µl du réactif phénol (0.4 g phénol et 2 mg nitroprusside de sodium dans 40 ml d'eau distillée) et 70 µl du réactif basique (0,3 g NaOH et 0,5 ml d'hypochlorite dans 60 ml eau distillée) dont l'absorbance est mesurée à 630 nm. Les pourcentages d'inhibition de l'uréase sont déterminés par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_C - A_E) / A_C * 100 \quad (2)$$

Où :

A_C : est l'absorbance du contrôle négatif (sans extrait)

A_E : est l'absorbance de la réaction en présence de l'extrait.

I.6.3. Inhibition de l'acétylcholinestérase

I.6.3.1. Principe

La réaction est basée sur la dégradation de l'acétylthiocholine par l'acétylcholinestérase avec la libération de l'acétate et la thiocholine qui réagit avec le 5,5'- dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un complexe jaune montrant une absorbance à 412 nm comme montré dans la figure 14 (**Ellman et al., 1961**).

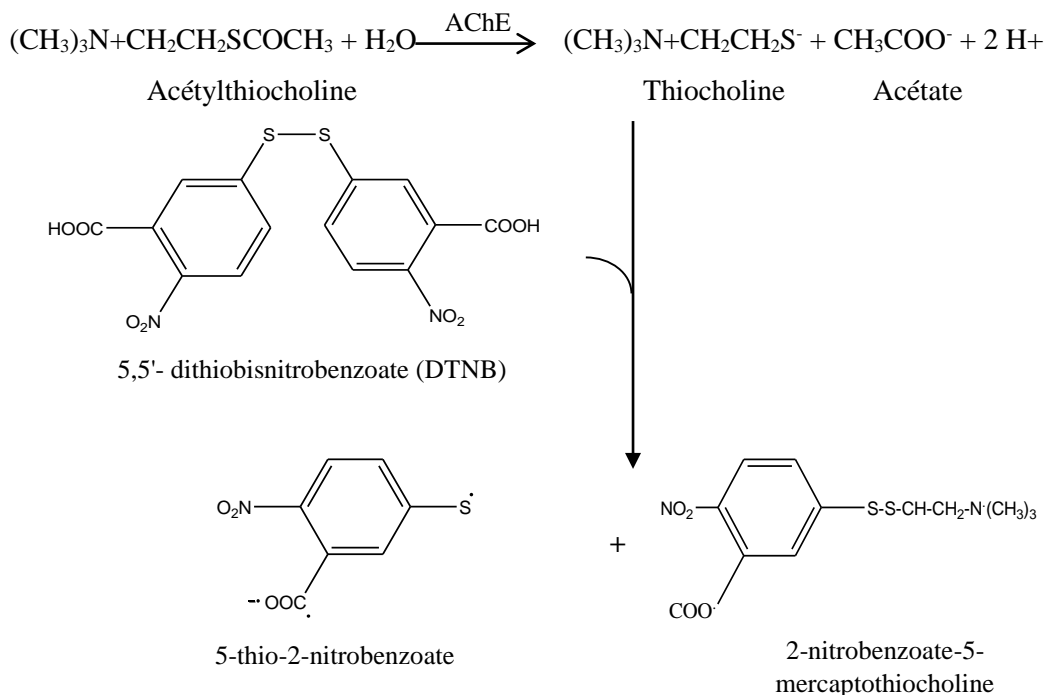


Figure 14 . Réaction d'Ellman

I.6.3.2. Mode opératoire

Dans une microplaque à 96 puits, 150 µl de tampon phosphate de sodium (100 mM, pH 8) et 10 µl des extraits à différentes concentrations et 20 µl de l'enzyme acétylcholinestérase ($5.32 \cdot 10^{-3}$ U) sont mélangés. Après une incubation de 15 min à 25°C, 10 µl de DTNB (0.5mM) et 10 µl d'acétylthiocholine iodide (0.71 mM) sont ajoutés. L'absorbance de la couleur jaune ainsi formée est immédiatement mesurée à 412 (t= 0min) et après 15 min. Les résultats sont exprimés en termes de pourcentages d'inhibition déterminés utilisant la formule (2) précédente après soustraction des absorbances à t=0 min.

I.7. Analyse statistique

Les résultats sont rapportés sous forme de moyenne \pm écart type de trois mesures. Les échantillons sont analysés par ANOVA (analyse de la variance) effectué sur logiciel GraphPad version 5 (GraphPad Software Inc, California, USA) pour déterminer la différence entre eux ($p < 0.05$). Les valeurs CI_{50} sont déterminées sur EXCEL utilisant les courbes de régression.

Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction

Dans le présent travail, une extraction par macération a été réalisée utilisant plusieurs solvants de différentes polarités. Cette extraction permet de récupérer les différents composés de *Polycarpon polycarpoïdes* en se basant sur la solubilité de chaque type de composés. Les aspects des solutions obtenues après extraction sont montrés dans la figure (15).

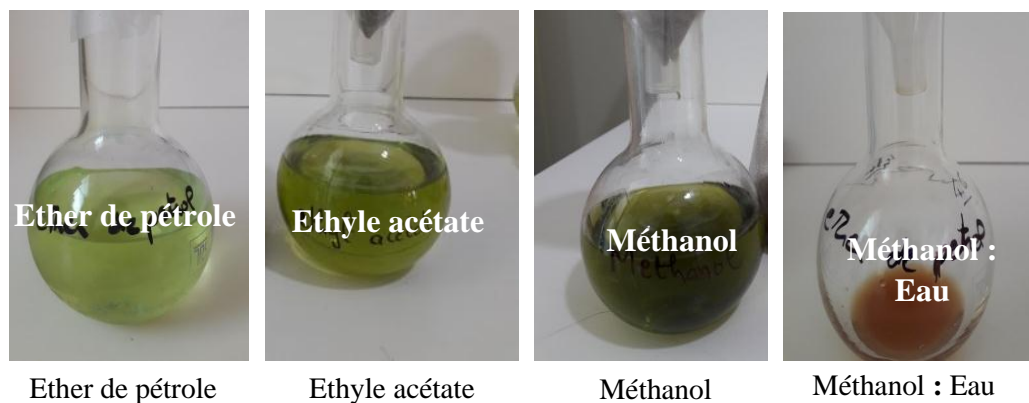


Figure 15. Aspect des solutions obtenues avec les différents solvants après filtration.

Le rendement d'extraction obtenu pour chaque solvant a été calculé et les valeurs sont rapportées dans l'histogramme de la figure (16). D'après les résultats, on constate que le rendement d'extraction augmente avec la polarité du solvant utilisé. Ainsi, l'extrait méthanol : eau 1 :1 a donné le rendement le plus élevé avec une valeur de 45,64 %, suivi par l'extrait méthanolique (4.84%) et l'extrait éthyle d'acétate (4.16%), et enfin l'extrait éther de pétrole qui présente un faible rendement (1.64%).

On peut déduire à partir de ces résultats que *Polycarpon polycarpoïdes* est riche en composés polaires généralement présentés par les polysaccharides ou des composés glycosylés comme les saponines qui présentent les composés caractéristiques de la famille des caryophyllacées.

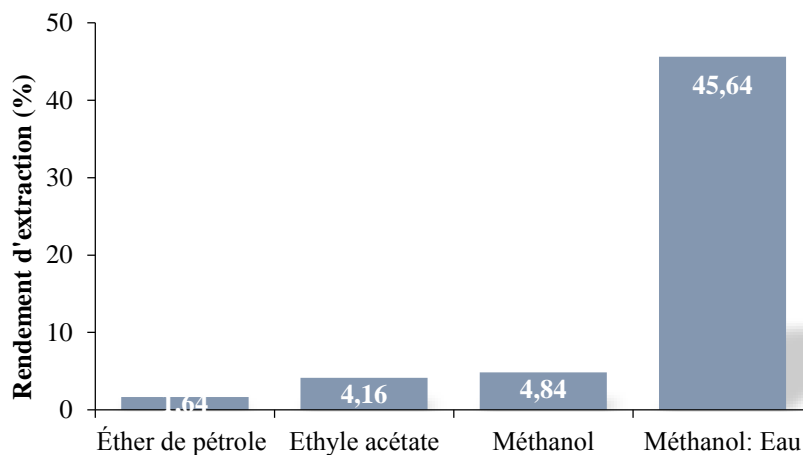


Figure 16. Rendement d'extraction utilisant différents solvants.

II.2. Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont déterminés par des méthodes colorimétriques. Les concentrations en polyphénols totaux sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (figure 17). Les différentes teneurs des extraits sont représentés dans la figure 18.

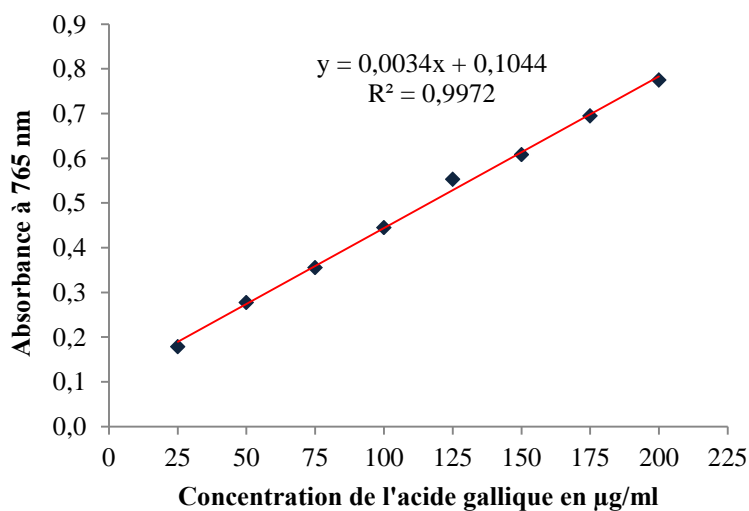


Figure 17 . Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les valeurs en polyphénols totaux les plus élevées sont $108,12 \pm 8,15$ et $101,84 \pm 2,21$ $\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait correspondant aux extraits éthyle acétate et méthanol, respectivement qui ne présentent pas une différence significative ($p > 0,05$), suivis par les extraits méthanol ; eau $43,12 \pm 1,02$ $\mu\text{g EAG}/\text{ml}$ et éther de pétrole qui a donné la teneur la plus faible ($14,39 \pm 3,40$ $\mu\text{g EAG}/\text{ml}$ d'extrait). Cette différence des teneurs entre les extraits pourrait être expliquée par le fait que les composés phénoliques sont particulièrement solubles dans solvants organiques polaires comme le méthanol, éthanol, acétone, éthyle acétate (Ghedadba *et al.*, 2014).

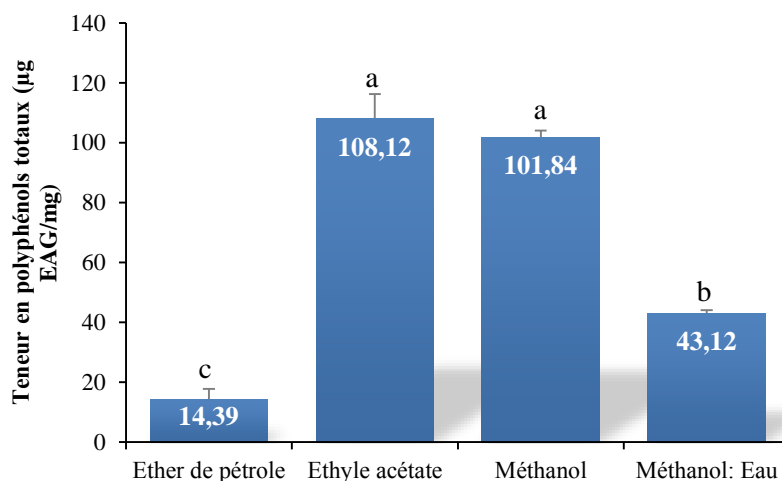


Figure 18. Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits. Les résultats sont exprimés en termes de μg équivalent acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$). Les colonnes portant des lettres différentes sont significativement différentes (Tukey test, $p < 0,05$).

Les teneurs en flavonoïdes sont déterminées à partir de la courbe de régression tracée par la quercétine (figure 19) et les différents résultats sont représentés dans la figure (20).

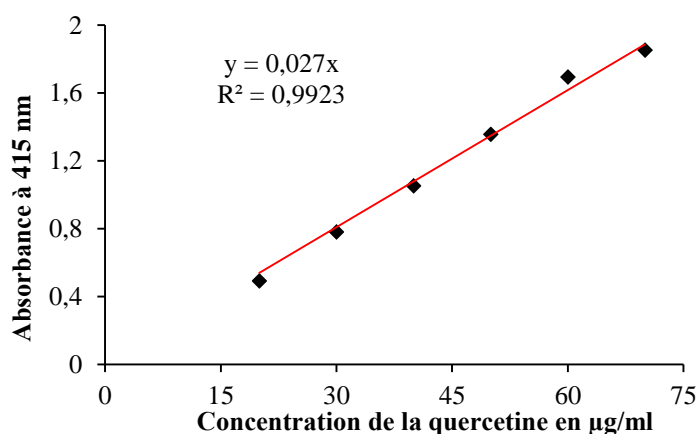


Figure 19. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

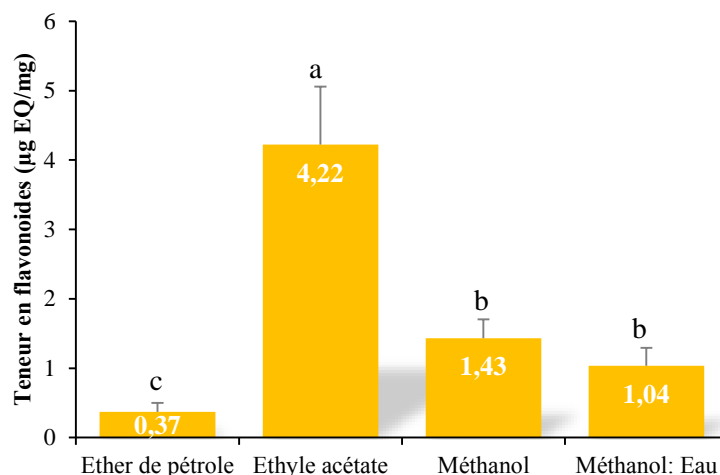


Figure 20. Teneurs en flavonoïdes des différents extraits. Les résultats sont exprimés en termes de μg équivalent quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$). Les colonnes portant des lettres différentes sont significativement différentes (Tukey test, $p < 0.05$).

Selon les résultats, on constate que *Polycarpon polycarpoïdes* est une plante très pauvre en flavonoïdes. La teneur la plus élevée est obtenue avec l'extrait éthyle acétate avec une valeur de $4,22 \pm 0,83 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, suivi par les extraits méthanol et méthanol : eau ($1,43 \pm 0,27$ et $1,04 \pm 0,26 \mu\text{g EQ/mg}$, respectivement). L'extrait éther de pétrole contient la teneur la plus faible qui est de $0,37 \pm 0,13 \mu\text{g/mg}$ d'extrait. La répartition des flavonoïdes entre les solvants dépend fortement de leur solubilité qui est déterminée par leur degré de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et triglycosylés) (Kholkhal, 2014).

Le dosage des tannins condensés a donné une réaction négative indiquant l'absence de ces composés ou leur présence en quantités très faibles (traces).

II.3. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de *Polycarpon polycarpoïdes* a été déterminée par plusieurs méthodes complémentaires. En effet, l'utilisation des différentes méthodes pour l'évaluation de l'activité antioxydante est considérée comme nécessaire étant pour prendre en considération les différents mécanismes d'action des antioxydants (neutralisation des radicaux, fixation des métaux de transition comme le fer, le cuivre, ou la génération des antioxydants oxydés) présents dans les extraits (Li et al., 2008).

II. 3. 1. Activité anti-radicalaire

La capacité des extraits à neutraliser les radicaux libres a été évaluée utilisant les deux radicaux libres DPPH et ABTS.

L'activité scavenger des extraits de *Polycarpon polycarpoïdes* contre le radical DPPH est présentée sous forme de pourcentages d'inhibition à différentes concentrations comme montré dans la (figure 21 a). On constate que le pourcentage d'inhibition est dose-dépendante ; plus on augmente la concentration, le pourcentage d'inhibition augmente.

Les extraits méthanol et éthyle acétate ont eu les pourcentages d'inhibition les plus forts ($82,75 \pm 2,63$ et $81,82 \pm 0,41$ %, respectivement à la concentration $800 \mu\text{g/ml}$), par contre l'extrait de l'éther de pétrole a montré l'effet le plus faible ($21,10 \pm 2,10$ % à $800 \mu\text{g/ml}$). Néanmoins, en comparant les extraits aux stéarés, le trolox et l'acide ascorbique ont exercé une très forte inhibition du radical à de très faibles concentrations ($0,78$ - $50 \mu\text{g/ml}$) (figure 21 b).

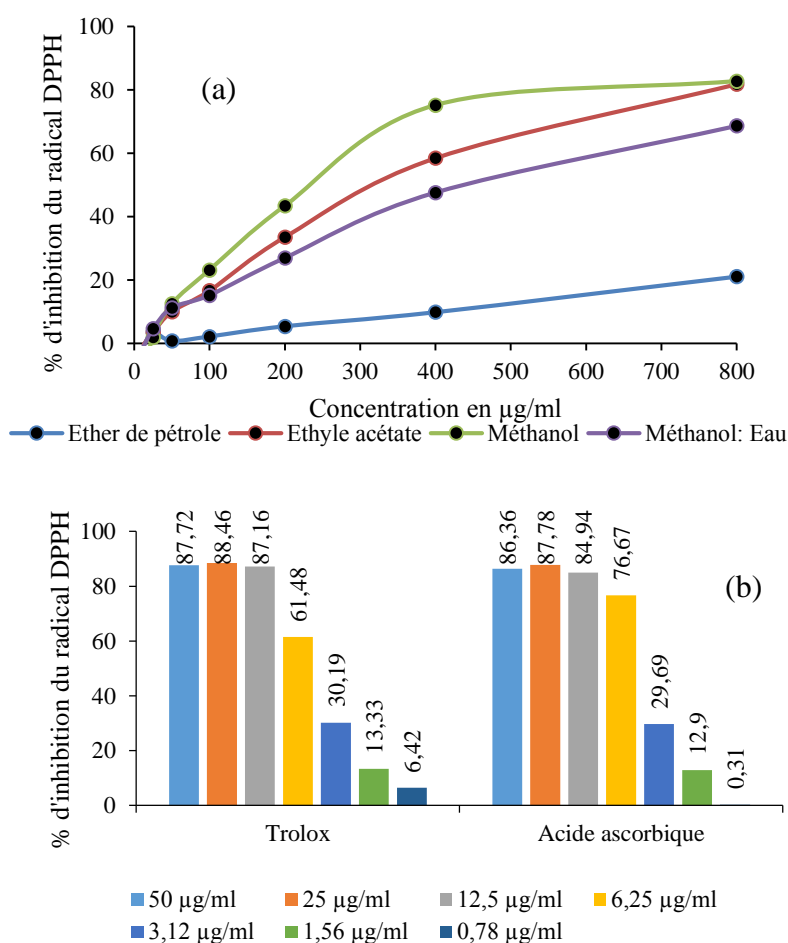


Figure 21. Activité antiradicalaire des extraits de *Polycarpon polycarpoïdes* (a) et les stéarés (b) contre le DPPH à différentes concentrations.

Les extraits ont également montré un effet remarquable contre le radical ABTS dont le pourcentage d'inhibition augmente avec la concentration de l'extrait (figure 22 a). Les extraits méthanol, éthyle acétate et méthanol : eau, ont exercé l'effet le plus fort avec des pourcentages d'inhibition de $93,40 \pm 0,83$, $91,57 \pm 0,89$, et $91,26 \pm 1,68$ % à $800 \mu\text{g/ml}$. Comme dans le DPPH, l'extrait de l'éther de pétrole a donné l'effet le plus faible ($31,99 \pm 3,96$ % à $800 \mu\text{g/ml}$). Les stératards (figure 22 b) montrent toujours des inhibitions fortes à de faibles concentrations.

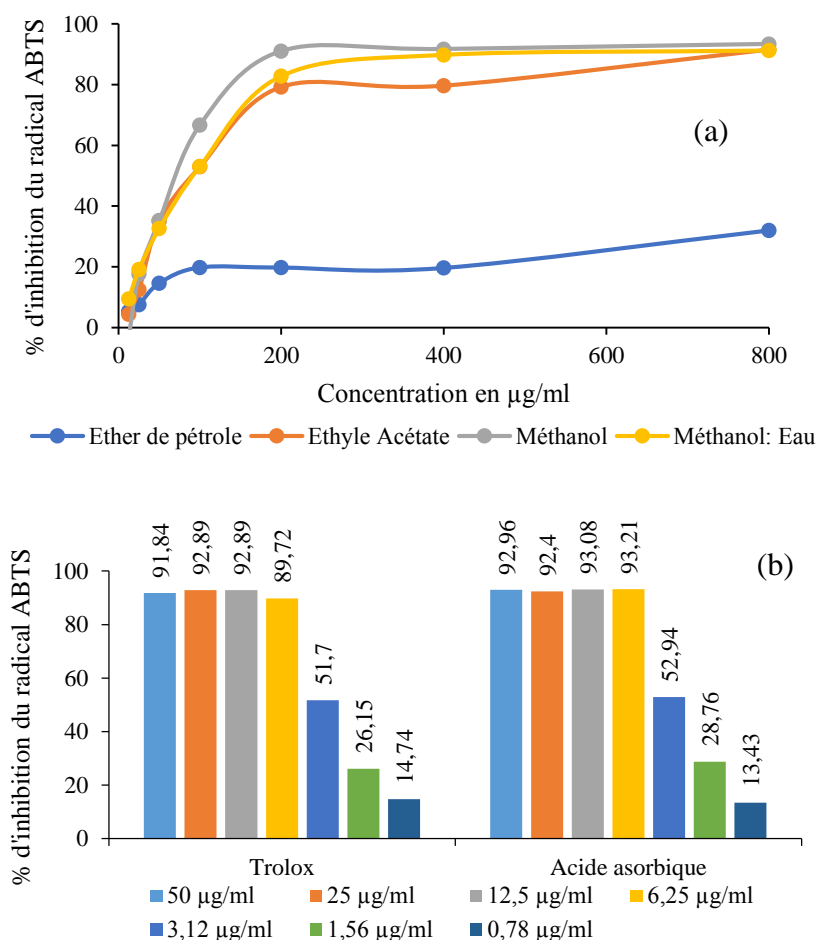


Figure 22 . Pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les différents extraits de *Polycarpon polycarpoïdes*.

Les résultats d'inhibition des radicaux DPPH et ABTS sont aussi affirmés par le calcul des valeurs CI_{50} qui représentent les concentrations des extraits qui inhibent 50% du radical. Le tableau 4 montre les valeurs CI_{50} des différents extraits obtenus avec le radical DPPH et ABTS. Les extraits méthanol et éthyle acétate ont donné les valeurs CI_{50} les plus faibles par rapport aux autres extraits contre le radical DPPH, qui dénote leur effet important. De plus, les valeurs CI_{50} les plus faibles contre le radical ABTS sont observées avec les extraits méthanol, éthyle acétate, et méthanol : eau.

Tableau 4 : Valeurs CI_{50} obtenues dans l'inhibition du DPPH et l'ABTS.

	DPPH	ABTS
<i>Ether de pétrole</i>	>800	>800
<i>Ethyle acétate</i>	333,76±1,08 ^c	90,51±2,82 ^c
<i>Méthanol</i>	249,46±11,22 ^b	73,86±1,89 ^b
<i>Méthanol : eau</i>	500,06±3,19 ^d	92,15±1,99 ^c
<i>Trolox</i>	5.12±0.21 ^a	3.21±0.06 ^a
<i>Acide ascorbique</i>	4.39±0.01 ^a	3.04±0.05 ^a

Les résultats sont statistiquement analysés et les valeurs portant des lettres différentes présentent une différence significative entre elles ($p < 0,05$).

La forte activité des extraits éthyle acétate et méthanolique pourrait être expliqué par leurs teneurs élevés en polyphénols par rapport à l'extrait éther de pétrole qui a eu les teneurs les plus faibles. En effet, plusieurs études ont montré que les polyphénols sont les composés responsables de l'activité antioxydante des extraits due à leur structure portant des groupements hydroxyle

II.3.2. Réduction des ions fer et cuivre

La capacité des extraits de *P. polycarpoïdes* à réduire des ions comme le fer et le cuivre est également déterminé.

Premièrement, la réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) déterminé par le test pouvoir réducteur basé sur la réduction des ions Fe^{3+} du ferricyanure en Fe^{2+} pour donner le ferrocyanure avec l'apparition d'une couleur bleu-verte dont l'intensité dépend du taux de la réduction. Les résultats sont rapportés sous forme d'absorbances à différentes concentrations comme montré

dans la (figure 23a). On constate que la réduction est fonction de la concentration des échantillons et que tous les échantillons ont des absorbances maximales $<0,5$.

En comparant entre les extraits, l'extrait méthanolique exerçait la capacité la plus forte une absorbance de $0,32 \pm 0,01$ à $200 \mu\text{g/ml}$, suivi par les extraits méthanol : eau et éthyle acétate (absorbances = $0,27 \pm 0,14$, et $0,2 \pm 0,0$, respectivement à $200 \mu\text{g/ml}$), par contre l'extrait éther de pétrole a donné l'absorbance la plus faible ($0,11 \pm 0,01$ à $200 \mu\text{g/ml}$).

Les résultats de la réduction des ions Fe^{3+} sont comparés à ceux des stéards trolox et acide ascorbique qui ont montré une forte réduction des ces ions à de très faibles concentrations ($0,09$ - $6,25 \mu\text{g/ml}$) (figure 23b).

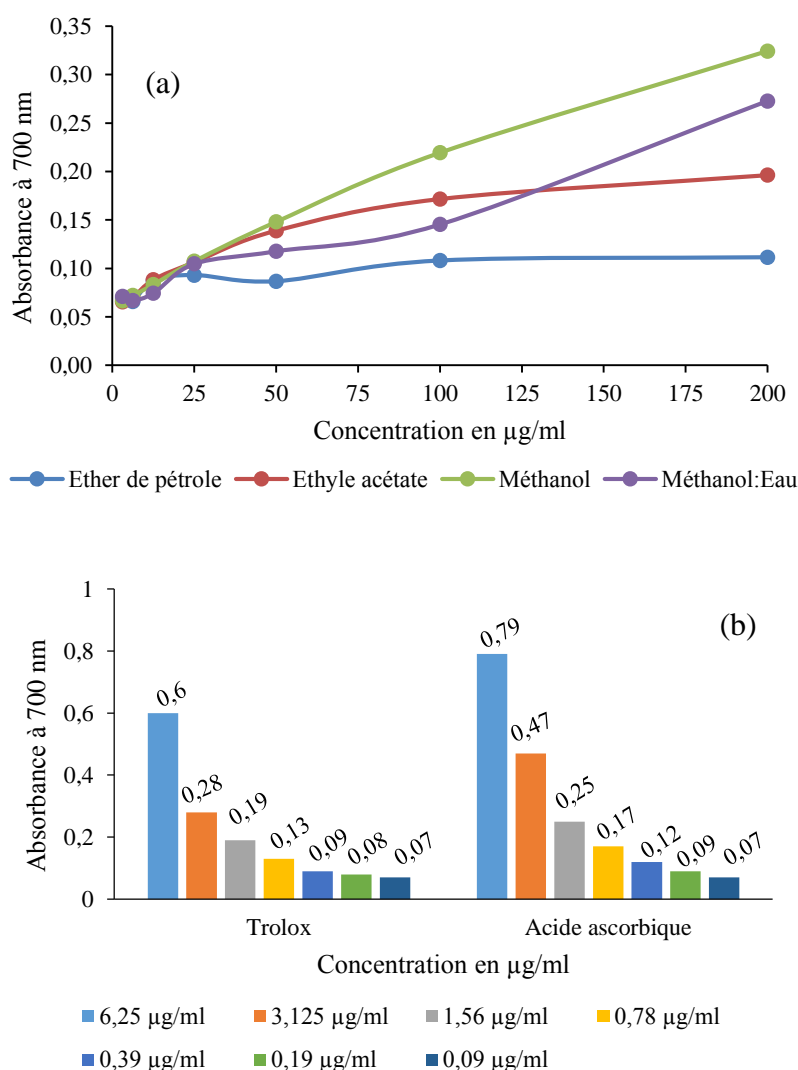


Figure 23. Pouvoir réducteur des extraits de *Polycarpon polycarpoides* (a) et des stéards (b).

La réduction des ions Fe^{3+} est également évaluée par le test au phénanthroline. Dans ce test les ions Fe^{3+} associés au phénanthroline vont être réduits par les extraits en fer ferreux donnant un complexe Fe^{2+} -phénanthroline de couleur rouge dont l'intensité est mesurée à 510 nm. Selon la (figure 24a), la capacité des extraits à réduire les ions Fe^{3+} peut être classé selon l'ordre suivant à la concentration maximale (200 $\mu\text{g/ml}$) : méthanol : eau, éthyle acétate, méthanol, et éther de pétrole avec des absorbances de $0,65 \pm 0,02$, $0,58 \pm 0,03$, $0,50 \pm 0,00$, et $0,35 \pm 0,04$, respectivement.

Les stéarides trolox et acide ascorbique utilisés à de faibles concentrations (0,09- 6,25 $\mu\text{g/ml}$) (figure 24b) ont montré une très forte capacité à réduire les ions Fe^{3+} quoique l'acide ascorbique est le plus puissant (absorbances= 0,56 et 0,8 $\mu\text{g/ml}$, respectivement à 6,25 $\mu\text{g/ml}$).

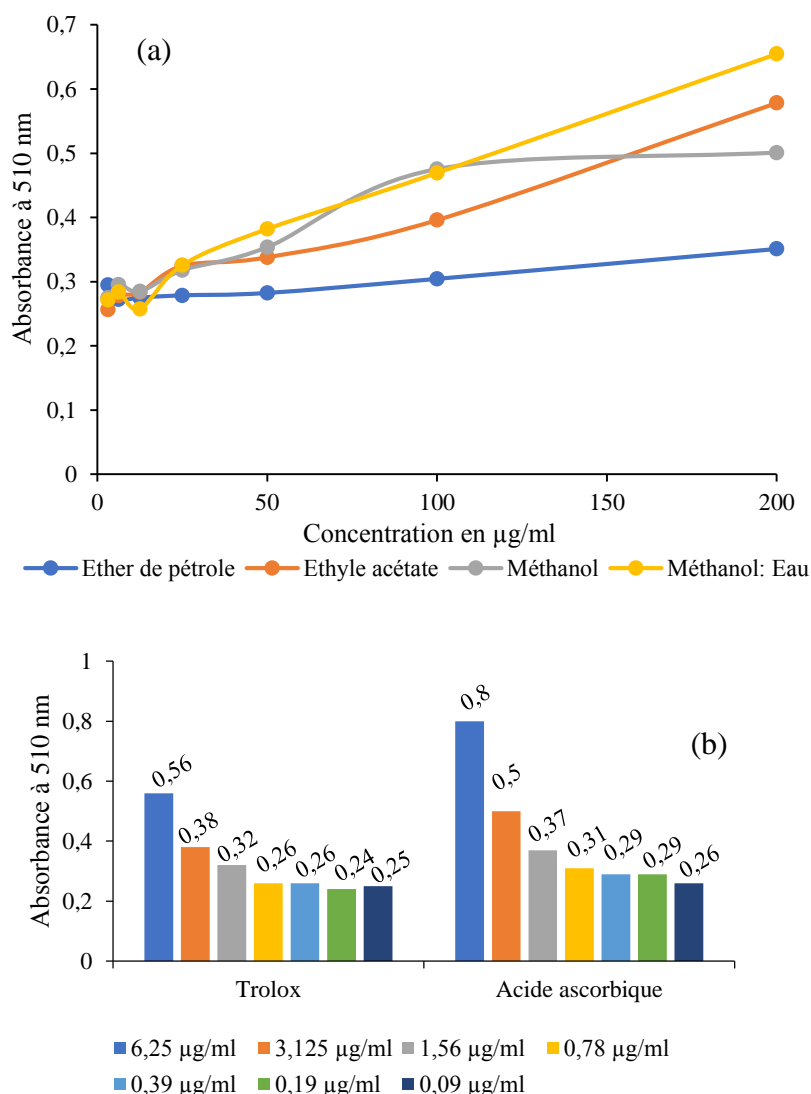


Figure 24. Réduction des ions du fer par les extraits de *Polycarpon polycarpoides* (a) et des stéarides (b) déterminée par la méthode phénanthroline.

Enfin, les extraits et les stériles sont testés pour leur capacité à réduire les ions cuivre (Cu^{2+}) par le test CUPRAC. Les résultats sont exprimés en termes d'absorbances présentés dans la (figure 25). L'éthyle acétate montre l'effet réducteur le plus fort avec une absorbance maximale à 800 $\mu\text{g/ml}$ de $1,85 \pm 0,09$, suivi par les extraits méthanol et éther de pétrole. Par contre, l'extrait méthanol : eau s'est révélé le plus faible avec une absorbance de $0,88 \pm 0,03$ à 800 $\mu\text{g/ml}$.

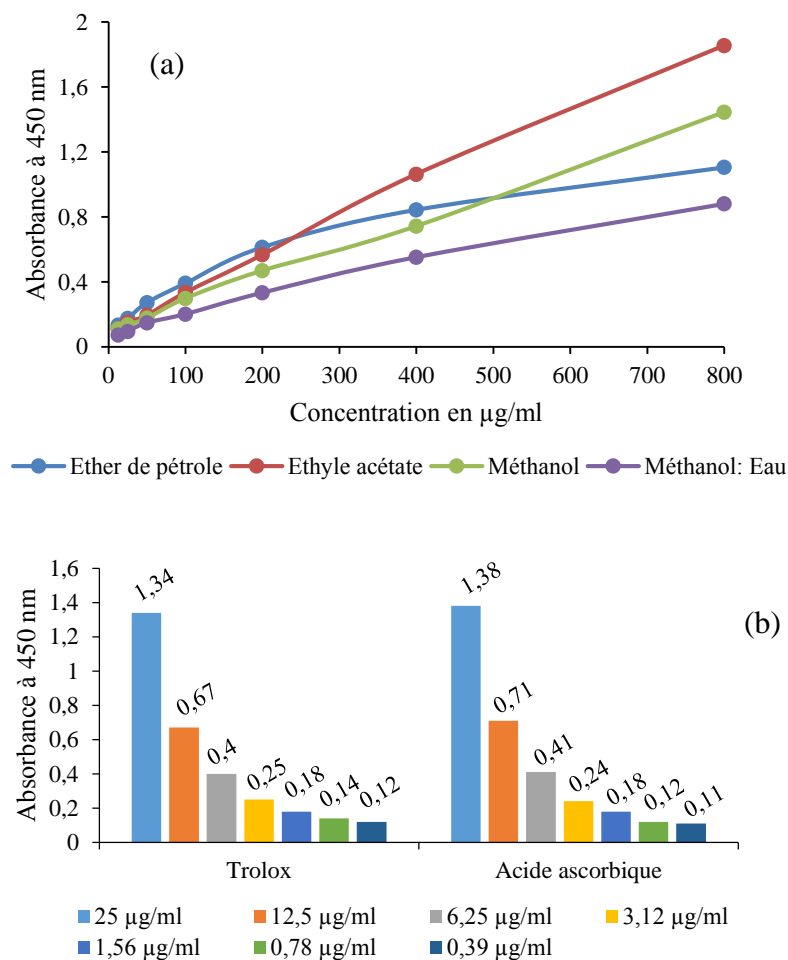


Figure 25. Capacité des extraits de *Polycarpon polycarpoïdes* (a) et des stériles (b) à réduire les ions de cuivre, évaluée par le test CUPRAC.

D'une manière générale, les extraits éthyle acétate, méthanol et méthanol : eau se sont révélés les plus puissants dans la réduction du fer et du cuivre ce qui pourrait être expliqué par le fait que ces extraits ont eu les teneurs les plus élevées en polyphénols.

III. Inhibition enzymatique

Dans la présente étude, l'activité inhibitrice des extraits de *Polycarpon polycarpoides* est évaluée contre trois enzymes dont l'alpha amylase, l'uréase et l'acétylcholinestérase. Les extraits étaient inactifs contre l'uréase et l'acétylcholinestérase comme montrés dans la figure suivante :

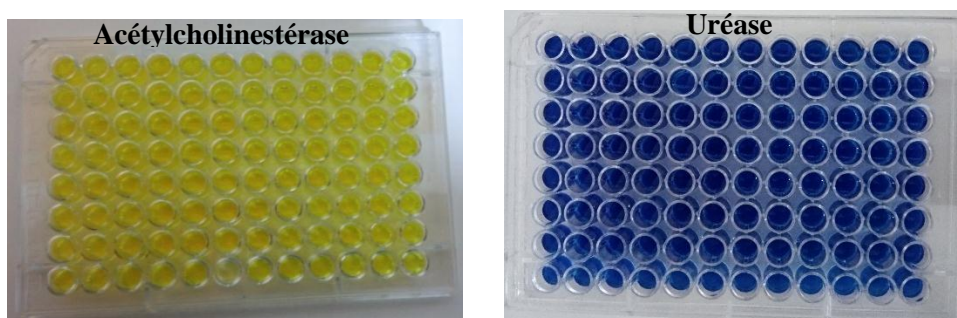


Figure 26. Aspect des plaques correspondants aux tests d'inhibition des enzymes acétylcholinestérase et uréase. L'absence de l'activité est observée par la persistance de la couleur jaune ou bleue en présence des différentes concentrations des extraits.

Par contre, les extraits ont montré un effet inhibiteur intéressant contre l'alpha-amylase comme montré dans la (figure 27), D'après les résultats, le taux d'inhibition décroît avec la polarité des solvants. Ainsi, le pourcentage d'inhibition le plus élevé est observé pour l'extrait éther de pétrole avec un pourcentage d'inhibition égale à $48,19 \pm 2,99$ % à la concentration $200 \mu\text{g/ml}$ proche de celle exercé par le stéarid acarbose ($53,05 \pm 1,59$ % à la même concentration) qui ne présentent pas une différence significative ($p > 0,05$).

Les extraits éthyle acétate, méthanol, et méthanol : eau ont eu des effets inférieurs à celui de l'acarbose avec des pourcentages d'inhibition de $38,89 \pm 0,82$, $31,74 \pm 2,27$, et $15,31 \pm 2,75$ %, respectivement.

Ces observations pourraient être expliquées par le fait que les substances hydrophobes ont un effet inhibiteur plus important que les substances hydrophiles expliquant la forte activité de l'extrait éther de pétrole.

Une étude réalisée par **Patra et al., (2020)** sur l'extrait méthanolique de *Drymaria cordata* (famille des caryophyllacées) a rapporté que l'extrait méthanolique de cette plante a un effet

important dans l'inhibition de l' α -amylase avec une valeur CI_{50} de $85.32 \pm 5.11 \mu\text{g/ml}$. L'analyse phytochimique a révélé la présence des triterpénoïdes, des stéroïdes, des alcaloïdes, et des flavonoïdes dans l'extrait qui peuvent contribuer à l'activité de l'extrait.

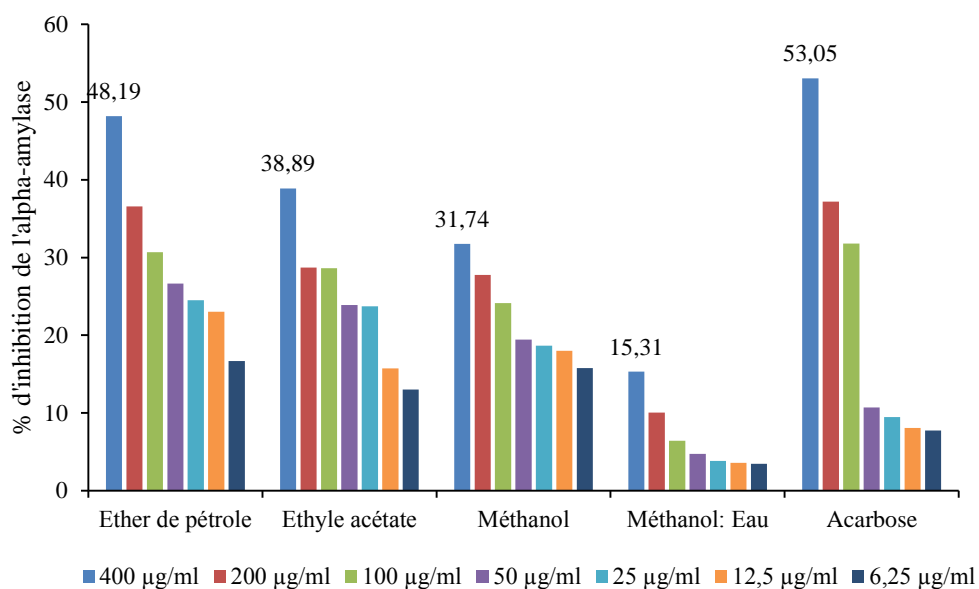


Figure 27. Inhibition de l' α -amylase par les extraits de *Polycarpon polycarpoides* et le stéarid acarbose à différentes concentrations.

Conclusion générale
et perspectives

Le présent travail a porté sur l'étude de certaines activités biologiques dont l'activité antioxydante, anti-diabétique, anti-Alzheimer, et anti-uréase des extraits brutes préparés à partir des parties aériennes de l'espèce *Polycarpon polycarpoides* (famille Caryophyllacée).

A l'issu des résultats de la quantification des polyphénols, la plante pourrait être considérée comme avoir de faibles teneurs en polyphénols totaux et pauvres en flavonoïdes. La plante est probablement riche en saponines qui sont les composés caractéristiques de la famille de la plante vu le rendement élevé pour l'extrait méthanol : eau (45,64 %) qui contient les substances les plus hydrophiles (polysaccharides, composés glycosylés, etc.).

L'étude des propriétés pharmacologiques des extraits, a révélé une activité antioxydante moyenne. Plus particulièrement les extraits riches en polyphénols sont les plus forts indiquant que les polyphénols sont responsables de cette activité. D'autre part, La plante a été démontrée être inactive contre l'uréase et l'acétylcholinestérase, mais elle a exercé un effet remarquable contre l' α -amylase. Cet effet pourrait être exploité dans le traitement du diabète type 2.

En conséquence, des essais complémentaires sont nécessaires pour compléter les travaux de cette présente étude à mentionner :

- Détermination de la composition des extraits de la plante par des méthodes chromatographiques pour identifier les composés actifs de la plante comme par exemple ceux responsables de l'inhibition de l' α -amylase.
- Effet inhibiteur de la plante contre l' α -amylase est insuffisant pour conclure son utilisation comme anti-diabétique. Pour cela, l'étude de l'inhibition de l' α -glucosidase est nécessaire étant donné que les médicaments hyperglycémiques visent spécifiquement à inhiber cette enzyme.
- Etude d'autres activités biologiques, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* (activité antibactérienne, anti inflammatoire, anticancéreuse, etc.), tout en évaluant son pouvoir toxique.

Références
bibliographiques

- Apak, R., Guclü, K., Ozyurek, M., & Karademir, S. E. (2004).** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols et vitamins C et E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural et Food Chemistry*, 52, 7970–7981.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C., Pinkas M., (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn freshplant organs et pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*. Vol. (46):1086-1089.
- Beladji, R, Berkane, A (2018).** Etude phytochimique et Evaluation des activités biologiques du *Polycarpon polycarpoides*, 67p.
- Bendif H. (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques lamiaceae : *Ajuga iva* (L.) schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* (boiss. & reut.) greuter & burdet et *Rosmarinus eriocalyx* jord & fourr. Thèse de doctorat, Ecole normale supérieure de kouba-Alger, 154 p.
- Böttger, S., & Melzig, M. F. (2011).** Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae et Illecebraceae family. *Phytochemistry Letters*, 4(2), 59-68.
- Boudjouref M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienned'extraits d'Artemisia campestris L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. La Voisier TEC et DOC, Paris. 2ème édition, pp. 268-277.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3èmeédition, Paris: Tec & Doc Lavoisier, pp. 207-211.
- Bruneton J. 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition, Lavoisier Tec et Doc, Paris, pp. 1240.
- Chetra, S., & Rawat, D. S. (2015).** Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: a review of ethno-medicinal uses et pharmacological properties. *Integrative Medicine Research*, 4(3), 123-131.
- Chira K., Suh J.-H., Saucier C., Teissédre P-L. (2008).** Université Victor-Segalen, Bordeaux-Ii, Faculté D'oenologie – Umr 1219 – Isvv, Laboratoire De Chimie Appliquée, 351, Cours De La Libération, F-33405 Talence Cedex, France.
- Colovic, M. B., Krstic, D. Z., Lazarevic-Pasti, T. D., Bondzic, A. M., & Vasic, V. M. (2013).** Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology et toxicology. *Current neuropharmacology*, 11(3), 315-335.
- Dangles O., Stoeckel C., Wiget MC., Brouillard R. (1992).** Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation et inclusion. *Tetrahedron Lett.* 33: 5227-30.
- El-Haci. I. A. (2015).** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques du sud de l'Algérie : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. Et Dur., *Anabasis aretioides* Moq. Et Coss. Et *Limoniatrum feei* (Girard) Batt. Thèse de doctorat, Université abou-bekr-belkaid tlemcen, 188p.

- Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Grassmann, J. (2005).** Terpenoids as plant antioxidants. *Vitamins & Hormones*, 72, 505-535.
- Halliwell B., J. M. C. Gutteridge. (2008).** *Free Radicals in Biology et Medicine*. Fourth Edition. Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015): Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique, 44-61 p.
- Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007).** Dietary polyphenols et their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9), 950-988.
- Harris, A.L. (2002).** Hypoxia a key regulatory factor in tumor growth. *Nature Reviews Cancer*. Vol 2(1), pp. 38-47.
- Hart K.J., Yáñez-Ruizd R., Duvals M., Mcewann R., Newboldc J., (2008).** Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal feed science et technology*. Vol. (147) : 8–35.
- Haton C., (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp. 43.
- Hopkins W G. 2003.** *Physiologie végétale*. Traduction de la 2ème édition, par Serge Rambour Révision scientifique de Charles-Marie Evrard, Américain, pp. 267-283
- Hsu, B., Coupar, I. M., & Ng, K. (2006).** Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaene thebaica*. *Food chemistry*, 98(2), 317-328.
- Iamónico, D., & Domina, G. (2015).** Nomenclatural notes on the Polycarpon tetraphyllum aggregate (Caryophyllaceae). *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 149(4), 720-727.
- Jakimiuk, K., Wink, M., & Tomczyk, M. (2021).** Flavonoids of the Caryophyllaceae. *Phytochemistry Reviews*, 1-40.
- Janeček, Svensson, B., & MacGregor, EA. (2014).** α -Amylase : une spécificité enzymatique trouvée dans diverses familles de glycoside hydrolases. *Sciences de la vie cellulaire et moléculaire*, 71 (7), 1149-1170.
- Khelifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., & Bouajila, J. (2013).** Composition et anti-oxydant, anti-cancer et anti-inflammatoire activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. et *Peganum harmala* L. *Food et chemical toxicology*, 55, 202-208.
- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., Prakash, O. (2011).** α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*. 5(9): 19-29.
- Lagnika, L. (2005),** "*Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises*" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, page :249.
- Li, H. B., Wong, C. C., Cheng, K. W., & Chen, F. (2008).** Antioxidant properties in vitro et total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science et Technology*, 41(3), 385-390.
- Liou, G. Y., & Storz, P. (2010).** Reactive oxygen species in cancer. *Free radical research*, 44(5), 479-496.

- Majumdar, K., & Datta, B. K. (2007).** A study on ethnomedicinal usage of plants among the folklore herbalists et Tripuri medical practitioners: Part-II.
- Man, S., Gao, W., Zhang, Y., Huang, L., & Liu, C. (2010).** Chemical study et medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia*, 81(7), 703-714.
- Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018).** Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68-78.
- Mobley, H. L. T., Hu, L. T., & Foxall, P. A. (1991).** Helicobacter pylori urease: properties et role in pathogenesis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 26(sup187), 39-46.
- Mohammedi Z. 2013.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat, Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, 169 p.
- Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., & Houghton, P. J. (2007).** Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14(4), 289-300.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010).** Antioxidant capacity et related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science et Technology*, 43(6), 992-999.
- Nabati, F., Mojab, F., Habibi-Rezaei, M., Bagherzadeh, K., Amanlou, M., & Yousefi, B. (2012).** Large scale screening of commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease activity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 1-9.
- Nono, N. R., Nzowa, K. L., Barboni, L., & Tapondjou, A. L. (2014).** *Drymaria cordata* (Linn.) Willd (Caryophyllaceae): Ethnobotany, Pharmacology et Phytochemistry. *Advances in Biological Chemistry*, 2014.
- Oladeji, O. S., & Oyebamiji, A. K. (2020).** *Stellaria media* (L.) Vill.-A plant with immense therapeutic potentials: phytochemistry et pharmacology. *Heliyon*, 6(6), e04150.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.
- Racchi, M., Mazzucchelli, M., Porrello, E., Lanni, C., & Govoni, S. (2004).** Acetylcholinesterase inhibitors: novel activities of old molecules. *Pharmacological research*, 50(4), 441-451.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26, 1231-1237
- Saci, F., Louaileche, H., Gali, L., & Bensouici, C. (2020).** Changes in anticholinesterase, antioxidant activities et related bioactive compounds of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) during ripening stages. *Journal of Food Measurement et Characterization*, 14(2), 937-945.
- Saha, S., Verma, R., (2012).** Inhibitory potential of traditional herbs on a-amylase activity. *Pharm Biol.* 50 (3): 326-33.

- Sales, P. M., Souza, P.M., Simioni, L. A., Magalhães, P.D.O., Damaris, S., (2012).** α amylase Inhibitors: A review of raw material et isolated compounds from plant source. *Pharmaceut Sci.* 15(1): 142-183.
- Sanago, R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle , Univ. Bamako Mali, vol.53
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015).** Hurdles et pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, et ORAC assays. *Journal of functional foods*, 14, 111-125.
- Singleton V L., Timberlake C F., Lea A G H. (1978).** The Phenolic Cinnamates Of Grapes Et Wine, *Journal Of Sciences Et Food Agriculture.* 29, 403-410.
- Wainapel Stanley, F , & Fast, A. (2003).** Antioxidants et the Free Radical the ory of Degenerative Alternative Medicine et Rehabilitation,266.
- Tapia-Hernández, J. A., Rodríguez-Felix, F., Juárez-Onofre, J. E., Ruiz-Cruz, S., Robles-García, M. A., Borboa-Flores, J., ... & Del-Toro-Sánchez, C. L. (2018).** Zein-polysaccharide nanoparticles as matrices for antioxidant compounds: A strategy for prevention of chronic degenerative diseases. *Food Research International*, 111, 451-471.
- Teng, H., Yuan, B., Gothai, S., Arulselvan, P., Song, X., & Chen, L. (2018).** Dietary triterpenes in the treatment of type 2 diabetes: to date. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 34-44.
- Upadhyay, L. S. B. (2012).** Urease inhibitors: A review. *Indian Journal of Biotechnology*, 11,381-388.
- Uriarte-Pueyo, I., & I Calvo, M. (2011).** Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*, 18(34), 5289-5302.
- Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., & Mahajan, R. T. (2009).** Oxidative stress et neurodegenerative diseases: a review of upstream et downstream antioxidant therapeutic options. *Current neuropharmacology*, 7(1), 65-74.
- Wink, M. (2010).** Introduction: biochemistry, physiology et ecological functions of secondary metabolites. *Annual plant reviews: Biochemistry of plant secondary metabolism*, 40: 1-19.
- Zengin, G., Sarikurku, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014).** A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey et its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases et type II diabetes. *Industrial Crops et Products*, 53, 244-251.
- Zhu, J., Chen, C., Zhang, B., & Huang, Q. (2020).** The inhibitory effects of flavonoids on α -amylase et α -glucosidase. *Critical reviews in food science et nutrition*, 60(4), 695-708.

Annexe :
Préparation des solutions
Et profil des microplaques des activités
biologiques

I. Préparation des solutions

I.1. Préparation de la solution DPPH

La préparation de la DPPH est effectuée par la dissolution de 6 mg du radical DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol. L'absorbance est ensuite ajustée à 0,5-0,7 avec du méthanol.

I.2. Préparation du radical ABTS⁺

La solution concentrée de l'ABTS⁺ est réalisée en mélangeant une solution de 7 mM (19,2 mg dans 5 ml) de l'ABTS (forme non radicalaire) avec un volume égal d'une solution aqueuse de 2.45 mM (3,3 mg dans 5ml d'eau distillée) de persulfate de potassium (K₂S₂O₈). Le mélange est ensuite laissé réagir pendant 16h à température ambiante avant l'utilisation.

I.3. Pouvoir réducteur

-Préparation de tampon phosphate 0,2 M, pH=6,6 :

Na₂HPO₄ : 8.51 g/300 ml d'eau distillé.

H₂NaPO₄, 2H₂O : 9.36g/300eau distillé.

} On mélange les deux solutions de façon à obtenir une solution tampon de PH à 6.6.

-Préparation de l'acide trichloracétique (1%)

1 g de l'acide trichloracétique dessous dans 100 ml d'H₂O

-Solution ferricyanure de potassium 1%

Dissoudre 1 g de K₃Fe (CN)₆ dans un volume de 100 ml d'eau distillée.

-Solution de chlorure ferrique à 0,1%

Dissoudre 0,1 g de FeCl₃ dans un volume de 100ml d'eau distillée.

1.4. Test au phénanthroline

-Préparation de phénanthroline (0,5%)

Dissoudre 0,05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH

-Préparation de FeCl₃ (0,2%)

Dissoudre 0,02g de FeCl₃ dans 10ml de H₂O

1.5. Test CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity)

• Acétate d'ammonium (ACNH₄) : dissoudre 1,927 g dans 25 ml d'eau distillée

• Cu Cl₂, 2H₂O : une quantité de 0,042625 g est dissoute dans 25 ml d'eau distillée

- Néocuproïne : une quantité de 0,039 g est dissoute dans 25 ml de méthanol

I.6. Solutions de l'activité inhibitrice de l'uréase

-Préparation du réactif phénol

0.4g phénol et 2 mg nitroprusside de sodium dessous dans 40 ml d'eau distillée.

-Préparation du réactif basique

0.3 g NaOH et 0.5 ml d'hypochlorite de sodium (NaOCl) sont dessous dans 60 ml d'eau distillée.

-Préparation de l'urée (30 mM), Masse molaire = 60.06g/mol

0.1 g dessous dans 60ml eau distillée.

-Préparation de l'uréase

2 mg dessous dans 2ml de tampon phosphate (100 mM, pH 8,2

I.7. Inhibition de l'acétylcholinestérase

-5,5'-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid) (DTNB) 0,5 mM

16 mg DTNB dessous dans 8 ml pH 8 auquel 7,5 mg NaHCO₃ sont ajoutés

-Acetylthiocholine iodide (0,71 mM)

16 mg acetylthiocholine + 4 ml H₂O+ 4 ml Tampon (PH =8)

1. 8 . Inhibition de l' α -amylase

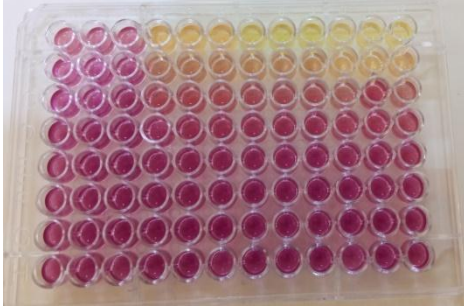
- **Amidon 0.1%** : 0,1 g de l'amidon est dissout dans 100 ml d'eau distillée puis chauffé à la microonde durant une minute pour obtenir une solution homogène.

- **Solution IKI** : Dissoudre 3g de KI dans 100 ml d'eau distillée. Ajouter 127 mg d'iode (5mM) puis agiter jusqu'à dissolution complète de la solution.

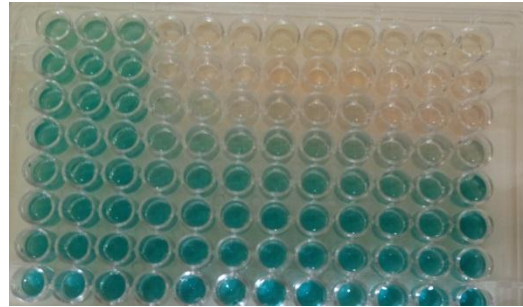
- **Acide hypochlorique (1M)** : un volume de 4,17 ml d'HCl pur est ajouté doucement à un volume de 45.83 ml d'eau distillée.

- **Tampon phosphate à 6 mM de NaCl**: Une quantité de 35.1 mg de NaCl est additionné à 100 ml de tampon phosphate pH 6,6.

II. Profil des microplaques des activités biologiques



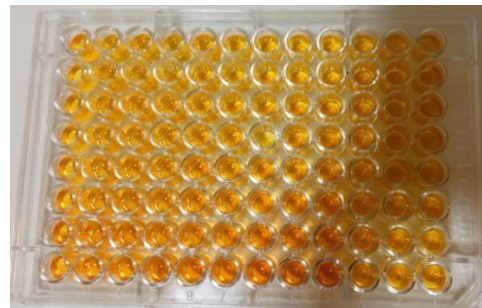
DPPH



ABTS



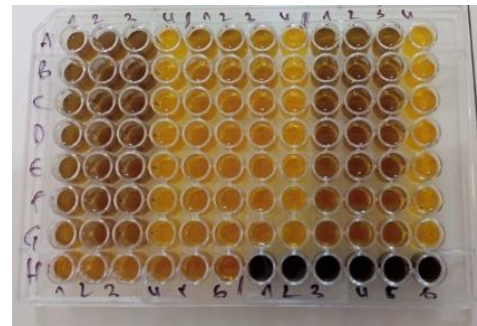
Pouvoir réducteur



Test au phénanthroline



CUPRAC



Alpha-amylase

Résumés

Résumé : L'objectif du présent travail est d'étudier les propriétés pharmacologiques de la plante *Polycarpon polycarpoïdes* et la possibilité de l'utiliser comme une source de substances bioactives. Pour cela, l'activité antioxydante est évaluée utilisant cinq différentes méthodes (DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, CUPRAC, et le test au phénanthroline). De plus, l'effet inhibiteur des extraits bruts contre les enzymes acétylcholinestérase, uréase, et α -amylase a été également évalué.

Les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées ont été observées dans les extraits éthyle acétate et méthanol ($8,15 \pm 108,12$ et $101,84 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$, respectivement). Des teneurs très faibles en flavonoïdes ont été obtenues dont la plus haute valeur était de $4,22 \pm 0,83 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait obtenu avec l'extrait éthyle acétate.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante a montré que les extraits éthyle acétate et méthanol ont exercé les effets les plus puissants dans presque tous les tests utilisés et cela est lié à leur teneur en polyphénols. Tous les extraits ont été inactifs contre l'uréase et l'acétylcholinestérase, par contre ils ont montré un effet remarquable contre l' α -amylase dont l'extrait éther de pétrole était le plus actif avec un pourcentage d'inhibition de $48,19 \pm 2,99 \%$ à $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ comparable à celle de l'acarbose ($53,05 \pm 1,59 \%$ à la même concentration).

A l'issue des différents résultats, la plante *Polycarpon polycarpoïdes* pourrait être valorisée pour son effet inhibiteur de l'alpha-amylase. Néanmoins, d'autres effets biologiques doivent être déterminés pour décider sa possible utilisation comme source de substances bioactives.

Mots clés : *Polycarpon polycarpoïdes*, polyphénols, flavonoïdes, DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, CUPRAC, phénanthroline, acétylcholinestérase, uréase, α -amylase.

Abstract: The objective of the present work is to study the pharmacological properties of the plant *Polycarpon polycarpoides* et the possibility of using it as a source of bioactive substances. For this, antioxidant activity is assessed using five different methods (DPPH, ABTS, reducing power, CUPRAC, et the phenanthroline test). In addition, the inhibitory effect of the crude extracts against the enzymes acetylcholinesterase, urease, et α -amylase was also evaluated.

The highest total phenolic contents were observed in the ethyl acetate et methanol extracts (108.12 ± 8.15 et $101.84 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$, respectively). Very low levels of flavonoids were obtained, the highest value of which was $4.22 \pm 0.83 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ of extract obtained with ethyl acetate extract.

The results of the antioxidant activity evaluation showed that the ethyl acetate et methanol extracts exerted the strongest effects in almost all of the tests used et this was related to their polyphenol content. All the extracts were inactive against urease et acetylcholinesterase, on the other het they showed a remarkable effect against α -amylase, of which the petroleum ether extract was the most active with a percentage of inhibition of $48,19 \pm 2.99\%$ at $400 \mu\text{g/ml}$ comparable to that of acarbose ($53.05 \pm 1.59 \%$ at the same concentration).

Following the various results, the plant *Polycarpon polycarpoides* could be valued for its alpha-amylase inhibitory effect. However, other biological effects must be determined to decide on its possible use as a source of bioactive compounds.

The key words : *Polycarpon polycarpoides*, total phenolic, flavonoids, DPPH, ABTS, reducing power, CUPRAC, phenanthroline, acetylcholinesterase, urease, alpha-amylase.

ملخص: الهدف من هذا العمل هو دراسة الخصائص الدوائية لنبات *Polycarpon polycarpoides* وإمكانية استخدامه كمصدر للمواد الحيوية النشطة. ولهذا السبب، يتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام خمسة أساليب مختلفة (DPPH ، ABTS ، pouvoir réducteur ، CUPRAC ، phénanthroline). وبالإضافة إلى ذلك، تم أيضا تقييم الأثر المثبط ضد إنزيمات الأسيتيل كولين استيراز واليوريزاز وألفا أميلاز. أعلى مستويات البوليفينولات وجدت في مستخلصات أسيتات الإيثيل والميثانول (8.15 ± 108.12 و 101.84 مكافئ حمض الفاليك \مغ على التوالي). وقد تم الحصول على مستويات منخفضة جدا من الفلافونويدات تبلغ قيمتها الأعلى 4.22 ± 0.83 مكافئ كرسيتين \مغ في مستخلص أسيتات الإيثيل.

وأظهرت نتائج تقييم نشاط مضادات الأكسدة أن مستخلصات أسيتات الإيثيل والميثانول كانت لها أقوى الآثار في جميع الاختبارات المستخدمة تقريبا، وهذا يتعلق بمحتوياتها من مركبات متعددة الفينول وكانت كل المستخلصات غير نشطة ضد اليوريزاز والأسيتيل كولين استيراز، ومن ناحية أخرى أظهرت تأثيراً ملحوظاً ضد ألفا أميلاز حيث أن مستخلص الإثير النفطي هو الأكثر نشاطاً مع نسبة مثبطة $48,19 \pm 2,99$ % في التركيز 400 ميكروغرام/مل تشبه نسبة الاكاربوز ($53,05 \pm 1,59$ % في نفس التركيز).

من خلال النتائج المختلفة، يمكن تقييم نبات *Polycarpon polycarpoides* لتأثيره المثبط لألفا أميلاز غير أنه يلزم تحديد آثار بيولوجية أخرى لتحديد إمكانية استخدامه كمصدر للمواد النشطة بيولوجيا.

الكلمات الاستدلالية: *Polycarpon polycarpoides* ، البوليفينولات، الفلافونويدات، DPPH ، ABTS ، pouvoir réducteur ، CUPRAC ، phénanthroline ، الأسيتيل كولين استيراز، اليوريزاز، ألفا أميلاز.