

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم MASTER 2

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne :
Asteriscus graveolens (Asteraceae).

Présenté par : BELOUAHAD Sabrine
BENSAMMAR Chaima

Le 15/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : ACHOUB Hanane (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 : BOUKHALFA Hayat (Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 2 : BENSALD Sara Ouissem (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).



Remerciement

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Docteur **ACHOUB Hanane** Maitre de conférences à l'université des frères Mentouri Constantine 1, qui nous dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans elle ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre recherche : Madame BOUKHALFA professeur à l'université de Constantine qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

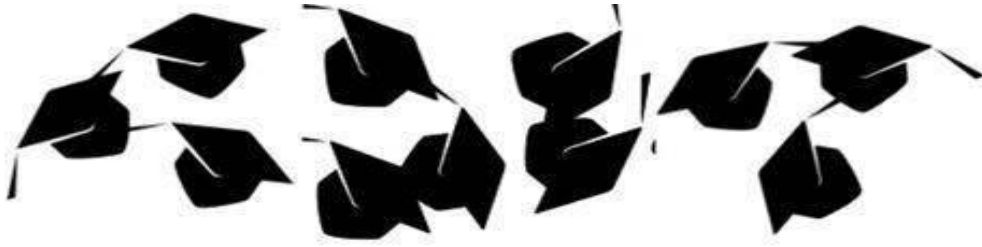
Madame **BENSAID Sara Ouissem** qui ont bien voulu examiner ce travail.

Nos sincère remerciements vont aussi aux **Pr. Seghiri Ramdane** pour nous avoir accueillis dans l' unité de recherche **VARENBIOMOL** durant la réalisation de ce travail et nous avoir permis de murer ce travail dans les bonnes conditions.

Nous tenons à remercier très chaleureusement la doctorante **ayda** à l'université des frères Mentouri, pour son aide précieuse

Nos vifs remerciements s'adressent également, à Docteur **BOUTAOUI Nassima**, Maitre de conférences à l'Université Mohamed Seddik Ben Yahia – Jijel pour la réalisation des essais biologiques.

Nous souhaiterons également remercier nos professeurs de la faculté des sciences de la nature et de la vie pendant les cinq années du notre parcours .



Dédicace

*C'est avec une profonde gratitude et de sincères mots, que je dédie ce modeste travail A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas, ma mère **WASSILA** qui m'apporte son appui durant toutes mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*Le bonheur de ma vie mon cher père **DJAMEL** qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études pour son sacrifice
ses conseils de ses encouragements*

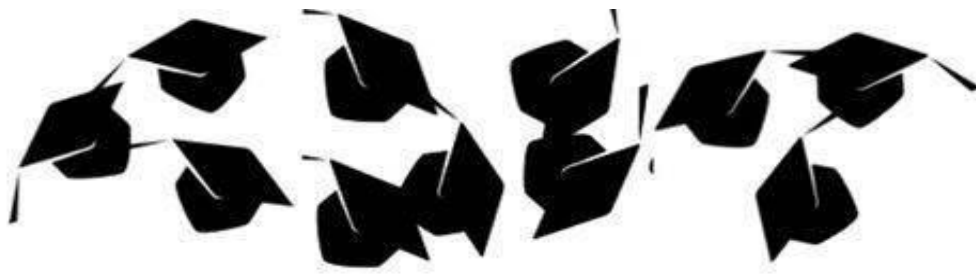
*À mes sœurs bien-aimées **SAOUSSEN, ARIDJE** pour tout le soutien, l'amour,
leur présence dans ma vie*

A tous mes amies tous en son nom

Les mots ne peuvent résumer ma reconnaissance et mon amour à vos égards, et sans ma belle-famille, je ne serai jamais ici et je n'arriverai pas à ce point, et de mon profond cœur que je vous donne toute mon appréciation et ma gratitude

CHAIMA





Dédicace

*Cet humble travail est dédié avec un grand amour,
sincérité et de fierté à ma chère mère **LINDA***

*Aucune dédicace ne serait exprimée mon respect, mon amour éternel
et ma considération pour les sacrifices que*

*tu es consenti pour mon instruction et mon bien être. Je te remercie
pour tout le soutien et l'amour que tu me rapportes depuis
mon enfance. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices
que tu as déployés pour mon éducation et ma formation.*

*Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous
procurer une longue vie.*

*À mon cher père **AMEUR** qui m'a toujours poussé
et motivé dans mes études.*

*A mes très chères soeurs **YASMINE, AYA**
pour l'encouragement permanent
et leur soutien morale.*

*À tous ceux qui m'ont soutenu pendant toute la période de
recherche.*

*A ma binôme **ChAIMA**, pour tous les bons moments qu'on a passé
ensemble, pour les efforts qui nous ont permis de réaliser
ce travail.*

SABRINE



Sommaire :

Introduction.....	1
Références.....	3

Chapitre I : Rappel Bibliographique

I.1. Présentation de La famille des Asteraceae	4
I.1.1.Généralités sur la famille des Asteraceae.....	4
I.1.2.Distribution géographique.....	4
I.1.3.Distribution botanique.....	5
I.1.4.Interet économique et usage thérapeutique des Asteraceae.....	6
I.2.Description botanique du genre Asteriscus.....	6
I.2.1.Séstatistique.....	7
I.2.2.Métabolites secondaires du genre Asteriscus.....	7
I.2.3.Utilisation et activités biologiques.....	7
I.3.Les Métabolites secondaires.....	8
I.3.1.Classifications des métabolites secondaires.....	8
I.3.1.1. Les composés phénoliques.....	8
I.3.1.2.Les flavonoides.....	9
I.3.1.3.Les saponosides.....	10
I.3.1.4.Les tanins.....	11
I.3.1.5.Les alcaloides.....	12
I.3.1.5.Les tarpènes.....	12
I.3.1.6.Les stéroles.....	13
I.3.1.7.Les anthraquinone.....	13

I.4. Le système oxydant.....	14
I.4.1. Le stress oxydatif.....	14
I.4.2. Radicaux libres.....	14
1.4.2.2. Nature des radicaux libres.....	14
1.4.2.3 Génération des radicaux libres.....	15
I.4.3. Antioxydants.....	15
1.4.3.1. Définition des antioxydants.....	15
1.4.3.2. Classification des antioxydants.....	16
Références.....	17

Chapitre II: Matériel et Méthodes

II.1. Etude phytochimique de l'espèce <i>Asteriscus graveolens</i>	23
II.1.2. Noms Vernaculaires.....	23
II.1.3. Synonymes.....	23
II.1.4. Répartition géographique.....	24
II.1.5. la systématique.....	24
II.1.6. Protocole expérimental.....	25
II.1.6.1. Récolte de la matière végétale.....	25
II.1.6.2. Extraction de la matière végétale.....	25
II.1.7. Etude des extraits.....	28
II.1.7.1 Chromatographie sur couche mince (TLC).....	28
II.1.7.2. Screening chimique.....	28
A) Test des flavonoïdes.....	29
B) Test des saponosides.....	29

C)Test des sucres.....	29
D)Test des tanins.....	29
E)Test des alcaloides.....	30
F)Test des terpènes.....	30
G)Test des stérols.....	30
H)Test des anthraquinones.....	30
I)Test des protéines.....	30
II.2. Etude biologique.....	31
II.2.1. Dosage des polyphenols totaux.....	31
II.2.2. Dosage des flavonoides totaux.....	32
II.2.3. Evaluation de l'activité anti-oxydante.....	33
II.2.3. 1. Test de réduction du radical DPPH.....	33
II.2.3.2. Test de réduction du radical ABTS.....	34
II.3. Etude de l'Activité antifongique.....	34
II.3.1 Préparation du milieu PDA.....	34
II.3.2. Procédure.....	35
Le protocole	35
Références..	36

Chapitre III: Resultat et discussion

III.1. Screening chimique.....	39
III.2. Résultats de la Chromatographie sur couche mince (CCM).....	41
III.3. Résultats des dosages des polyphenols et des flavonoïdes.....	42
III.3.1. Résultats de dosage des polyphenols.....	42

III.3.2. Résultats de dosage des Flavonoïdes.....	44
III.3.3. Activité antioxydante des extraits d' <i>Asteriscus graveolens</i>	46
III.3.3.1. Activité anti radicalaire DPPH.....	46
III.3.3.2. Test de réduction du radical ABTS.....	49
III.3.4. Activité antifongique des extraits d' <i>Asteriscus graveolens</i>	50
Référence.....	52
Conclusion.....	54
Résumé	

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2-Azinibis-3-éthylBenzoThiazoline-6-Sulfonique

AcOEt : acétate d'éthyle

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

BuOH : butanol

CCM : Chromatographie sur couche mince

CHCl₃ : Chloroforme

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

ERO: Espèces réactives oxygénées

EX : Extraits

HO[•] : Radical hydroxyle

I% : Pourcentage d'inhibiton

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

g: gramme

MeOH : méthanol

Min : minute

mM : milli Molaire

µg /ml : Microgramme par millilitre

UV : Ultra-violet

Liste des figures:

Figure I.1.	Répartition de la famille des Asteraceae dans le monde	4
Figure I.2.	Le capitule chez les Astéracées	5
Figure I.3.	Squelette de base des polyphénols	8
Figure I.4.	Structure de base des flavonoïdes	9
Figure I.5.	Structures chimiques typiques des tanins	11
Figure I.6.	Quelque structures d' alcaloïdes	12
Figure I.7.	La structure de base des terpènes (isoprène)	13
Figure I.8.	Numérotation du squelette carboné des stérols selon I.U.P.C	13
Figure I.9.	Déséquilibre Antioxydant /Oxydant (Morena et al., 2002)	14
Figure II.1	<i>Asteriscus graveolens</i> (Forsk.) Dc	23
Figure II.2	Répartition géographique d' <i>Asteriscus graveolens</i> (Forsk.) Dc	24
Figure II.3	les étapes d'extraction	25
Figure II.4	Chromatographie sur couche mince	28
Figure II.5	Mécanisme réactionnel du DPPH avec l'antioxydant	33
Figure II.6	préparation du Milieu PDA	34
Figure III.1	Plaque CCM de l'extrait AcOEt et <i>n</i> -butanol éluée dans le système CHCl ₃ /CH ₃ OH	41
Figure III.2	La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	42
Figure III.3	Histogramme représente la quantité en (µg) des polyphénols dans les deux extraits acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol	43
Figure III.4	La courbe d'étalonnage de la quercétine	45
Figure III.5	Histogramme représente la quantité en (µg) des flavonoïdes dans les deux extraits acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol.	45

Figure III.6	Pourcentage d'inhibition du radicale DPPH en fonction de la concentration des extraits.	47
Figure III.7	Les valeurs des IC ₅₀ de l'acide ascorbique et des différents extraits en µg /ml	48
Figure III.8	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration des échantillons	49
Figure III.9	Les valeurs des IC ₅₀ de l'acide ascorbique et des différents extraits en µg /ml	50
Figure III.10	Activité antifongique des extraits n-BuOH, AcOEt de L'espèce <i>Asteriscus graveolens</i> respectivement	51

Liste des tableaux

Tableau I.1	Classification systématique d' <i>Asteriscus</i>	7
Tableau I.2	Les différentes classes des flavonoïdes	10
Tableau II.1	Rendements des extraits	26
Tableau III. 1	Les résultats du screening chimique d' <i>Asteriscus graveolens</i>	39
Tableau III. 2	Les valeurs d'absorbance de l'acide gallique	42
Tableau III. 3	Teneur en composés phénoliques	43
Tableau III. 4	Les Valeurs d'absorbance de la quercétine	44
Tableau III. 5	la teneur en composés flavonoïdes	45
Tableau III. 6	Pourcentage d'inhibition de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH	46
Tableau III. 7	Pourcentage d'inhibition de l'activité anti-radicalaire par le test ABTS	49
Tableau III. 8	Résultats d'activité antifongique	50

Introduction générale

Introduction :

La phytothérapie ou l'art de soigner par les plantes est utilisée depuis la nuit des temps par l'être humain. Toutes les civilisations connues ont utilisé les plantes pour se nourrir, se défendre, se vêtir ou se soigner. Ces plantes ont joué un rôle particulier dans les anciennes civilisations par leur vertu thérapeutique d'une part, et d'autre part, par leur utilisation en agriculture, cosmétique, ...etc. L'utilisation de la médecine traditionnelle ne se limite pas aux seuls pays en développement, même dans les pays industrialisés l'application de thérapies alternatives a considérablement augmenté durant ces dernières décennies [1,2].

Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle. En 2004, près de 75% de la population africaine a eu recours aux plantes pour se soigner et n'a pas accès aux médicaments dits modernes, par ailleurs l'industrie pharmaceutique elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites [3].

De nos jours, les produits naturels sont une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies. La valorisation de ces ressources naturelles est devenue une préoccupation principale pour connaître le mode d'action, les principes actifs, et les effets secondaires de la phytothérapie sur la santé humaine [4]. L'évaluation des propriétés antimicrobienne et anti-oxydante des plantes, notamment celles non connues et utilisées dans la médecine populaire est très importante car ces espèces représentent une éventuelle source de composés bioactifs [5].

L'Algérie, en raison de son climat diversifié (méditerranée, semi - aride et saharien) et la nature de ses sols, possède une flore particulièrement riche et variée en plantes aromatiques, médicinales, toxiques et condimentaires, dont la plupart existe à l'état spontané. Cette flore avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15 % d'endémiques [6]. Dans ce lot de plantes la famille des astéracées (composées) est largement distribuée dans le règne végétal, est connue pour sa richesse en métabolites secondaires biologiquement actifs comme les flavonoïdes, sesquiterpènes et triterpénoïdes. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail ayant comme objectif l'investigation phytochimique et biologique de l'espèce *Asteriscus graveolens* (Forsk) dc.

Notre travail décrit dans ce manuscrit est divisé en trois parties :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur la famille Asteraceae, leur répartition géographique, usages traditionnels et à une étude bibliographique sur le genre auquel elle appartient, du point de vue composition en métabolites secondaires et activités biologiques.
- Le deuxième chapitre concerne l'étude phytochimique de l'espèce *Asteriscus graveolens* (Forsk.) dc. Ce chapitre, présente les procédures relatives à l'extraction, suivi d'un screening chimique à travers lequel une recherche qualitative a été effectuée, ainsi que les protocoles suivis de détermination des activités biologiques expérimentées, à savoir, l'activité antioxydante ,antifongique et la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits.
- L'interprétation et la discussion des résultats phytochimiques et biologiques réalisés seront exposées dans le troisième chapitre.
- Le manuscrit se termine par une conclusion générale.

Références

- [1] Iris F-F B, Wachtel-Galor S.2011. Herbal medicine – Biomolecular and clinical aspects. 2e edition, CRC Press, Taylor and Francis Group, 1-10.
- [2] Richard L N , Stussman B J. 2009. Costs of Complementary and Alternative Medicine (CAM) and Frequency of Visits to CAM Practitioners: United States, 2007. National Health Statistics Reports. 18, 15.
- [3] Hostettmann, K., Potterat, O., Wolfender, J. L., 1998. The potential of higher plants as a source of new drugs. *Chimia*. 52, 10-17.
- [4] Benarba B, Belabid L, Righi K.2015. A,amine Bekkar.Hamimed. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of ethnopharmacology*, 175, 626-637.
- [5] Jamous R, Zaitou S, Husein A.2015. I,Qasem. Screening for biological activities of medicinal plants used in traditional arabic palestinian herbal medicine. *European Journal of Medicinal Plants*, 9(1), 1-13.
- [6] Quezel P, Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In : CNRS (Ed.), Vol. 1 -2. Paris.

Chapitre I

Rappel Bibliographique

I.1. Présentation de la famille des Asteraceae :

I.1.1. Généralités sur la famille des Asteraceae :

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur ; son nom scientifique : Asteraceae a été introduit par Martynov en 1820. Le nom Compositae revient à Giseke dès 1792[1]. C'est la famille la plus importante des Angiospermes, avec 25 000 espèces réparties en 1600 genres [2]. Le sol algérien compte environ 109 genres et plus de 408 espèces de cette famille [3].

La famille Asteraceae est la plus vaste du groupe des dicotylédones. Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, *etc.*) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, *etc.*).

En effet, il a été rapporté que les fleurs et les feuilles de ces plantes possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires [4]. De ce fait, de nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle.

Les principes amers (sesquiterpènes lactones), les corps insaturés, les flavonoïdes, les coumarines, les polyphénols, les terpènes..., principaux constituants chimiques des Astéracées expliquent la diversité de leurs activités pharmacologiques [5].

I.1.2. Distribution géographique :

Les Astéracées connaissent une distribution géographique mondiale. Elles poussent dans presque tous les types d'habitats, à l'exception de l'Antarctique [6] Elles s'acclimatent bien aux régions tropicales et subtropicales semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Elles sont en revanche, peu présentes dans la forêt tropicale [7].

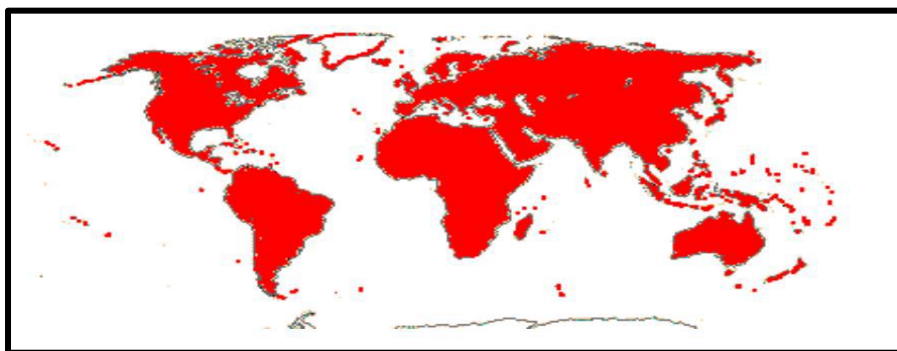


Figure I.1 : Répartition de la famille des Asteraceae dans le monde [7]

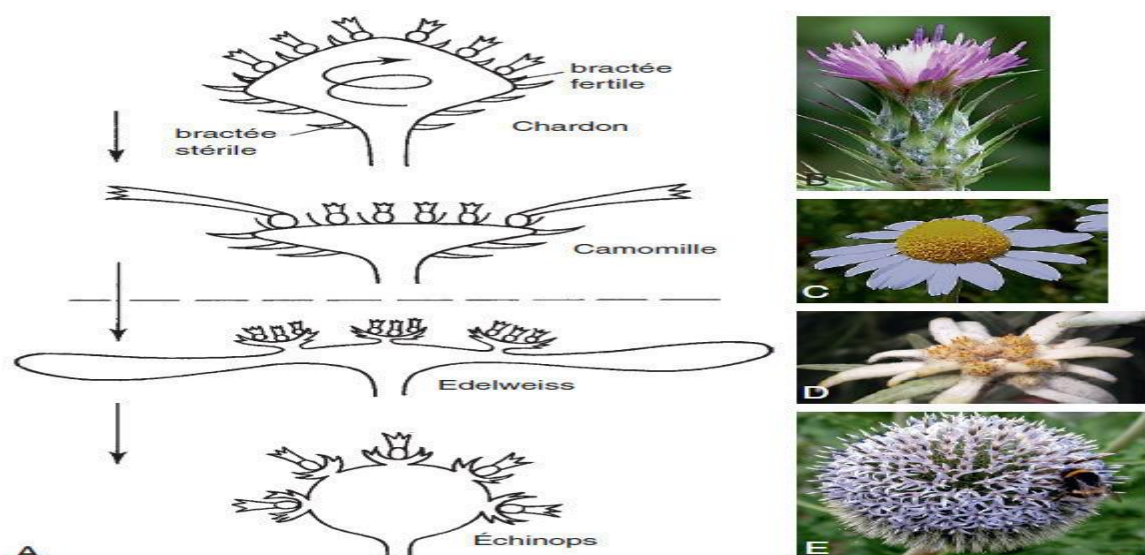
I.1.3. Description botanique :

Les Asteraceae ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les uns à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collecte est appelé un involucre [8].

La fleur des astéracées est très particulière: les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situés des «brosses à pollen». La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut penser qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété.

Les Astéracées sont caractérisées par l'inflorescence en capitule. Un capitule comprend un réceptacle commun, plat le plus souvent, sur lequel sont insérées de la base au sommet, en ordre spiralé : d'abord des bractées stériles vertes (parfois écailleuses, à crochets ou épineuses) formant un involucre, ensuite des petites bractées fertiles non vertes ou paillettes, axillant chacune une fleur. L'ensemble forme une fleur composée, ce qui justifie l'emploi du mot "Composées" pour désigner cette famille [9,10].

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée *Pappus* qui favorise la dispersion des grains par le vent [11].



A : schémas traduisant l'évolution. B : Chardon. C : Camomille. D : Edelweiss. E : Echinops.

Figure I.2 :Le capitule chez les Astéracées

I.1.4. Intérêt économique et usage thérapeutique des Asteraceae :**➤ Intérêt économique :**

La plupart des espèces d'Asteraceae sont ornementales comme les plantes, les dahlias, les chrysanthèmes, les gerberas

Autres espèces oléagineuses appartenant à la famille des Asteraceae comme le carthame des teinturiers ou le safran des teinturiers (*Carthamus tinctorius*), le tournesol *Helianthus annuus*), dont l'huile végétale extraite est à usage alimentaire, énergétique ou industriel [12 , 13].

Cette famille regroupe également un grand nombre de plantes adventices (mauvaises herbes) (chardons, par exemple) qui causent des pertes économiques pour de nombreuses cultures [14].

➤ Intérêt thérapeutique :

La famille des Astéraceae fournit des espèces très importantes d'un point de vue thérapeutique, ce qui n'est pas surprenant étant donné le nombre de genres qu'elle contient. De nombreuses espèces sont utilisées en médecine traditionnelle et sont associées à un panel d'activités thérapeutiques aussi large que la diversité de cette famille.

Les propriétés biologiques attribuées aux Asteraceae sont très nombreuses, notamment des propriétés antitumorale, cytotoxique, immunosuppressive, antioxydante, antiacétylcholinestérase, antimicrobienne, antivirale, antifongique, leishmanicide, trypanocide, antipaludique, hépatoprotective, cytotoxique, larvicide, antiulcéreuse, antiinflammatoire, antinociceptive, antitussive, expectorante, antidiabétique et hémolytique. Cette liste est loin d'être exhaustive [15-17] .

Les espèces d'Astéraceae sont également très allergènes causant des dermatites de contact. Ces manifestations peuvent apparaître par contact direct avec la plante ou bien par disséminations de certaines parties sèches de la plante, des poils sécréteurs, ou même du pollen ; mais aussi au contact des cosmétiques ou produits formulés à partir d'extraits de plante [18].

I.2. Description botanique du genre *Asteriscus* :

Le genre botanique méditerranéen *Asteriscus* appartient à la famille des Asteraceae, les fleurs (ou fleurons) sont groupées sur un capitule entouré d'un involucre de bractées. Elles sont de couleur jaune, les périphériques ligulés, celles du disque central tubulées. Les feuilles, simples, sont alternes, plus ou moins lancéolées. Les bractées, semblables aux feuilles supérieures, se terminent par une pointe ou par une épine .

Syn=*Bubonium*=*Buphthalmum*=*Nauplius*=*Odontospermum*[19,20]

I.2.1. Systématique :

Tableau I.1 : Classification systématique d'*Asteriscus*

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta (Plantes vasculaires)
Embranchement	Phanerogamae (Phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotyledones)
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae (Compositae)
Genre	<i>Asteriscus</i>

I. 2. 2. Métabolites secondaires du genre *Asteriscus* :

Les études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces du genre *Asteriscus* révèlent une grande richesse de ces dernières en métabolites secondaires possédant une diversité structurale. Les substances dominantes sont les flavonoïdes [21-24] et les sesquiterpènes [25-32].

I.2.3. Utilisations et activités biologiques :

La recherche bibliographique menée sur les espèces du genre *Asteriscus* montre qu'elles ont des propriétés thérapeutiques intéressantes et sont utilisées en médecine traditionnelle pour guérir diverses maladies. *Asteriscus graveolens* a été utilisée dans la médecine traditionnelle au Sahara pour traiter la fièvre, les douleurs céphaliques, la bronchite, le traitement des troubles gastro-intestinaux, la sinusite, le traitement de stérilité chez les femmes et comme anti-inflammatoire [33,34].

Le genre *Asteriscus* présente un grand intérêt thérapeutique, notamment comme source naturelle de sesquiterpènes lactones et flavonoïdes qui sont les constituants majoritaires de ce genre. Beaucoup d'espèces de ce genre ont fait l'objet de nombreux travaux scientifiques mettant en évidence des activités variées, on peut citer comme exemple: activité antifongique, antibactérienne [35], anti-oxydante [36 -38], anti-inflammatoire [22] et cytotoxique [28 ;31].

I. 3. Les métabolites secondaires :

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. Ce concept est historiquement attribué à Kossel [39], qui l'introduisit par opposition à celui de métabolites primaires. Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblées en superfamilles chimiques telles que les polyphénols, les terpènes, les stérols et les alcaloïdes, etc...

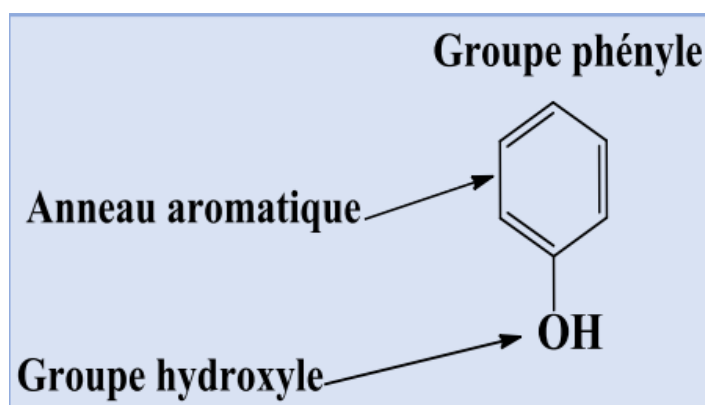
Pour ce qui concerne leurs fonctions chez les plantes, les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores) et abiotiques (UV, température).

D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale [40].

I.3.1. Classification des métabolites secondaires :

I.3.1.1. Composés phénoliques :

Les composés phénoliques naturels comptent plus de 8000 substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, directement lié à une ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus substituants (figure.I.3). Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate [41]. Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux [42].



+Figure I.3 : Squelette de base des polyphénols

I.3.1.2. Les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents [43]. Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 [44] (Figure I.4).

En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes: anthocyanidines, flavonol, isoflavonol, flavone, isoflavone, flavane, isoflavane, flavanol, isoflavanol, flavanone, isoflavanones et aurone.

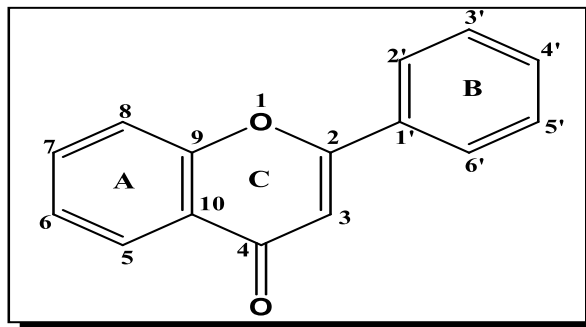


Figure I.4 : Structure de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits [45] et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation [46,47]. De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-tumorale [48], anti carcinogène [49], anti-inflammatoire [50], antivirale [51], antiallergique [52], anti hépatotoxique [53].

Les différentes classes sont citées dans le tableau I.2 :

Tableau I.2 : Les différentes classes des flavonoïdes

Classes	Structures chimiques	R ₁	R ₂	R ₃	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

I.3.1.3. Les saponosides :

Les saponines sont des molécules naturellement produites par les plantes, elles sont structurellement composées d'un squelette porteur d'un ou de plusieurs unités de sucres. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives car ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes.

Selon la nature de la génine, aussi appelée la partie aglycone, ces saponines sont classées en deux groupes: génine st ro idique et génine triterpénique [54]. Ils sont également classées sur la base du nombre de chaînes osidiques. Pour cette raison, nous pouvons distinguer [55] :

- Les saponines monodesmosidiques: avec une seule chaîne oligosaccharidique généralement liée à la position C-3 de la génine.
- Les saponines bidesmosidiques: qui possèdent deux chaînes oligosaccharidiques liées principalement aux positions C-3 et C-28 de la génine pour les triterpènes, et aux C-3 et C-26 pour les st ro ides.

Les saponines constituent une importante classe de métabolites secondaires d'origine végétale et animale, de masse moléculaire entre 600 à 2000 Daltons et de structure complexe [56].

I.3.1.4. Les tanins :

Les tanins sont définis comme étant des composés phénoliques de poids moléculaires élevés. Ces composés se situent dans les feuilles, les écorces, les racines, le bois, les fruits et essentiellement dans les tissus de vacuoles [57].

Ils permettent de stopper l'hémorragie et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour leurs effets antidiarrhéiques, antiseptiques, anti-inflammatoire et aussi pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou des brulures[58].

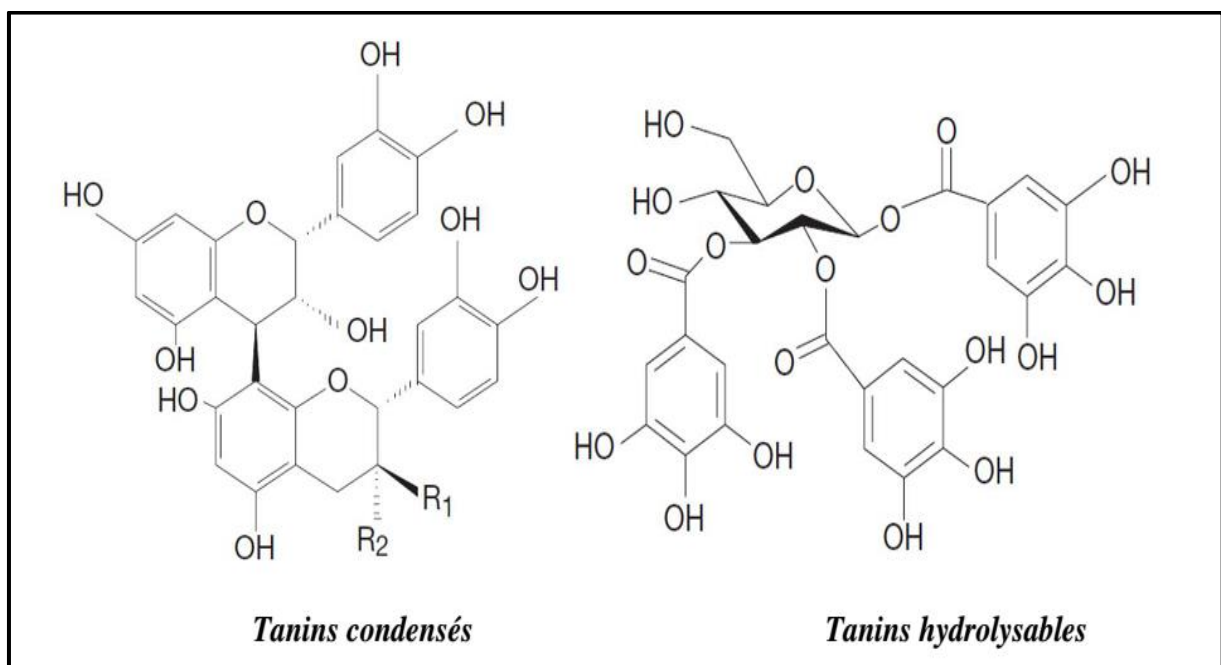


Figure I.5 : Structures chimiques typiques des tanins.

I.3.1.5. Les alcaloïdes :

Ce sont des substances organiques, azotées, qui sont dérivés à partir d'acides aminés comme la tyrosine, la lysine, le tryptophane et l'acide aspartique. Ils jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les herbivores et les insectes.

Au niveau cellulaire, l'action des alcaloïdes est assez variable, certains affectent le système nerveux, certains affectent la synthèse des protéines, d'autres affectent le transport membranaire et les activités enzymatiques [59].

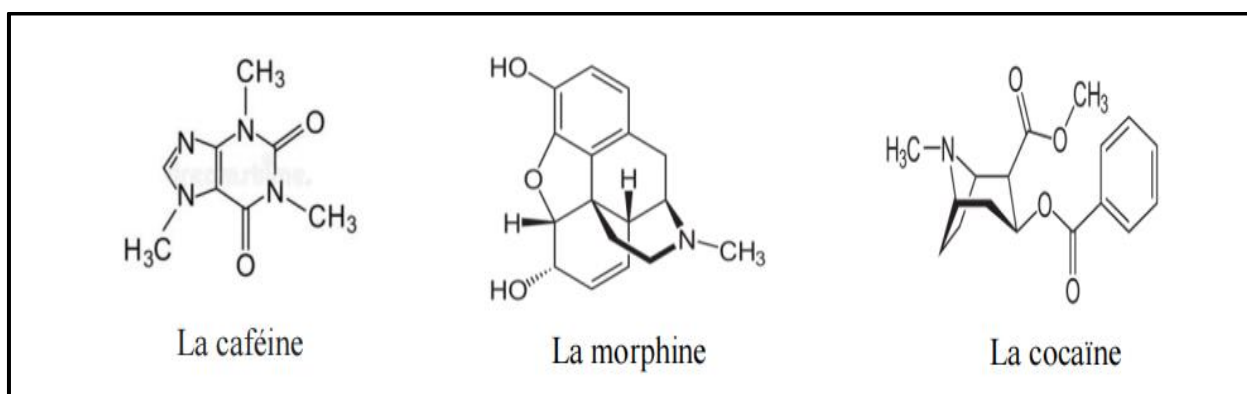


Figure I.6 : Quelques structures d'alcaloïdes

I.3.1.6. Les Terpènes :

Les terpènes (= Terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. Ils sont d'origine végétale et constituent la source odoriférante des plantes, cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15 et 20 atomes de carbone.

Du point de vue structural, les terpènes constituent une grande famille de composés pré-nologiques, c'est-à-dire d'homologues à enchaînement isoprénique [60]. Ces substances organiques font partie des métabolites secondaires, les plus répandus dans la nature [61]. En effet, plus de 36.000 structures différentes ont été identifiées [62]. La dénomination des différentes classes de molécules terpéniques repose sur le nombre de motifs isoprènes constituant leur squelette. Ainsi on rencontre : monoterpène à 10 atomes de carbone, sesquiterpène à 15 atomes de carbone, diterpène à 20 atomes de carbone, tri-, tétra- à 30, 40 atomes de carbone etc.

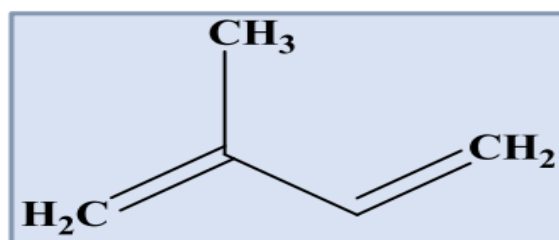


Figure I.7 : La structure de base des terpènes (isoprène)

I.3.1.7. Les stérols :

Un stérol est un lipide possédant un noyau de stérane dont le carbone 3 est porteur d'un groupe hydroxyle [63]. Les stérols sont des composants essentiels produits par les animaux et les plantes. L'anneau stérol est commun à tous les stérols; les différences sont dans la chaîne latérale. Le cholestérol est exclusivement un stérol animal. Plus de 40 stérols végétaux (ou phytostérols) ont été identifiés mais le β -sitostérol (en particulier), le campestérol et le stigmastérol sont les plus abondants [64].

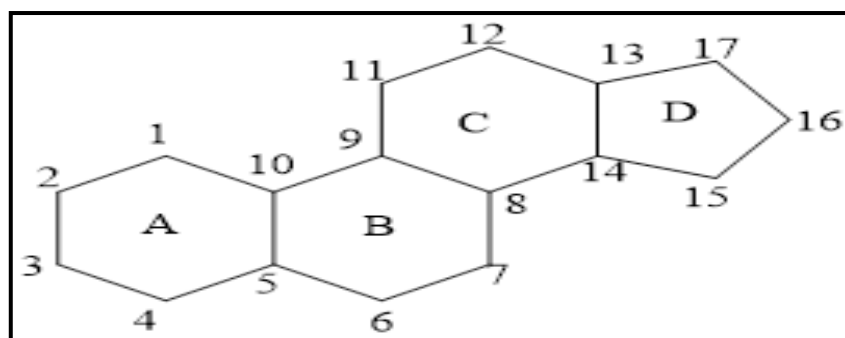


Figure I.8 : Numérotation du squelette carboné des stérols selon I.U.P.C

I.3.1.8. Les anthraquinones :

Les anthraquinones sont des hydrocarbures aromatiques polycycliques qui se trouvent dans la nature, chez certains animaux et plantes. L'anthraquinone est un dérivé de l'anthracène que la médecine utilise pour ses effets laxatifs dans le traitement des troubles gastrointestinaux [65].

I.4. Le système oxydant :

I.4.1. Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro oxydants et les antioxydants en faveur des premiers [66] , ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense [67].

Lors d'un stress oxydant, les ERO non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent les macromolécules par une oxydation directement à leur contact contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'ADN [68].

Le stress oxydatif est l'un des principaux facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. Au niveau cellulaire , il se produit en raison de la libération de radicaux libres par les muscles lisses endothéliaux et les cellules vasculaires et c'est l'un des principaux facteurs pathogènes dans le développement des maladies cardiovasculaires .



Figure I.9 : Déséquilibre Antioxydant [68].

I.4.2. Radicaux libres :

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs est souvent appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) [69].

I.4.2.2. Nature des radicaux libres :

Les espèces réactives d'oxygène (ERO) et les espèces réactives d'azote (ERA) comportent :

- **Des espèces radicalaire** : comme le radical super oxyde ($O_2^{\bullet -}$), hydroxyle (OH^{\bullet}), peroxyde (RO_2^{\bullet}), hydro peroxydyle (HO_2^{\bullet}), alkoxyde (RO^{\bullet}), peroxyde (ROO^{\bullet}), oxyde nitrique (NO^{\bullet}), dioxyde de nitrogène (NO_2^{\bullet}) et le peroxyde d'hydrogène (LOO^{\bullet})

- **Des espèces non radicalaires** : appeler aussi oxydants comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'acide hypochlorique (HOCl), l'ozone (O₃), l'oxygène singlet (¹O₂), peroxy-nitrate (ONOO⁻), l'acide nitrique (HNO₂), trioxyde de di azote (N₂O₃), peroxyde lipidique (LOOH) [70].

I.4.2.3 Génération des radicaux libres :

Les radicaux libres peuvent être formés à partir de substances endogène et exogène. Différentes sources de radicaux libres sont citées comme suit :

- ✚ Les neutrophiles et les macrophages durant l'inflammation
- ✚ Les rayons UV, les rayons X, les radiations gamma et les micro-ondes
- ✚ Durant les réactions de transport d'électrons dans les mitochondries
- ✚ Le cytochrome oxydase mitochondriale, la xanthine oxydase, et par la peroxydation lipidique ;
- ✚ Le métabolisme de l'acide arachidonique, ... etc .
- ✚ L'interaction avec les produits chimiques, les échappements d'automobiles et la Fumée de cigarette ;
- ✚ La carbonisation de la matière organique pendant la cuisson, les feux de forêt et les activités volcaniques ;
- ✚ Les effluents industriels, les produits chimiques en excès, la consommation des produits alcooliques et certains médicaments, certains pesticides et herbicides, certains ions métalliques, toxines fongiques et xénobiotiques [71-73].

I.4.3. Antioxydants :

I.4.3.1. Définition des antioxydants :

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive [74].

I.4.3.2. Classification des antioxydants :

Deux ensembles de défenses antioxydantes protègent les systèmes biologiques de l'effet toxique des ERO, l'un basé sur des antioxydants non enzymatiques, et l'autre sur des enzymes.

A. Systèmes antioxydants non-enzymatiques : Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène ; le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. Les trois enzymes sont présentes dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie. Ces enzymes jouent un rôle très important dans le maintien de la santé.

B. Systèmes antioxydants enzymatiques :

❖ **Systèmes antioxydants endogènes:**

synthétisés de manière intracellulaire incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est le glutathion, largement présent sous forme réduite, qui est capable de réagir in vitro, avec les radicaux OH^\bullet , RO_2^\bullet , RO^\bullet ...etc. [75].

❖ **Systèmes antioxydants exogènes :**

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs.

Parmi les antioxydants naturels de faible poids moléculaire, on peut citer les plus connus et les plus importants ci-dessous :

- ✚ Acide ascorbique (vitamine C).
- ✚ Tocophérols (dont la vitamine E).
- ✚ Caroténoïdes.
- ✚ Les polyphénols [76].

Références

- [1] Crète P. 1965. Précis de botanique. Masson, Paris, édition 2 ; 429.
- [2] Heywood VH . 2007. Flowring plant families of the world. Entareo. Canada.
- [3] Quezel P et Santa S .1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S.Paris.
- [4] Matsuda H, Morikawa T, Toguchida I, Harima S, oshikawa MY .2002. Chemical and Pharmaceutical Bulletin .50 : 972.
- [5] Sarembaud A, Poitevin B.1996. Médicament à usage homéopathique.Ed. Masson. 256 p. Paris.
- [6] Funk, VA, Susanna A, Stuessy TF, & Robinson, HE .2009. Classification of Compositae. In: Funk VA, Susanna A, Stuessy TF, Bayer RJ. Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae. International Association for Plant Taxonomy, Vienna, 171–189.
- [7]Guignard, JL .1994. Abrégé botanique, 9éme édition ; 203-204.
- [8] Barkley T M, Brouillet L. & Strother J.L .2006 .Flora of North America Asteraceae. 19.3-69.
- [9] Dupont F, Pguignard J.2007. Botanique systématique moléculaire. 14éme édition. 248.
- [10] Boullard B.1997. Dictionnaire : Plantes et champignons.202.
- [11] Usher G.1966.A dictionary of botany, including terms used in biochemistry, soil science, and statistics. Constable & Co Ltd, London.
- [12] Li T-C, Mündel H-H. 1996. International Plant Genetic Resources Institute, Safflower *Carthamus Tinctorius* L. Rome, Italy: IPGRI.
- [13] Ekin Z. 2005. Resurgence of safflower (*Carthamus tinctorius* L) Utilisation : a global view. Journal of Agronomy. 4 (2) : 83-87.
- [14] Heywood V-H. 1985. Las plantas con flores. Ed. Reverté. España. P : 329.
- [15] Zheng X, Wang W, Piao H, Xu W, Shi H, Zhao C. 2013. The Genus *Gnaphalium* L. (Compositae) : Phytochemical and Pharmacological Characteristics journal molecules. 18 : 8298-8318.
- [16] Wang G, Qin J, Cheng X, Shen Y, Shan L, Jin H, Zhang W.2014. Inula sesquiterpenoids: structural diversity, cytotoxicity and anti-tumor activity. Shanghai Jiao Tong University, School of Pharmacy, Shanghai, China. 23(3) : 317-345.
- [17] Hussain H, Al-Harrasi A, Abbasa G, Ur Rehmana N, Mabood F, Ahmed I, Saleem M, Ree T, GreenfIR, Anwar S, Badshah A, Shahh A, Ali I.2013. The Genus *Pluchea* :

Phytochemistry, Traditional Uses, and Biological Activities. Chemistry & Biodiversity –Vol. 10. P : 1944-1971.

[18] Jack A-R, Norris PL, F-J, Storrs F-J. 2013. Allergic contact dermatitis to plant extracts in cosmetics. Seminars in cutaneous medicine and surgery, 32 : 140-46.

[19] Wiklund A. 1985. The genus *Asteriscus* (Asteraceae-Inuleae). Nordic 1. Bot. 5: 299-314.

[20] Greuter W.1997. *Asteriscus*, sink Nauplius (Compositae). Flora. Mediterranea.7: 41-48.

[21] Ahmed AA, Ishak MS, Micheal HN, El-Ansari MA, El-Sissi HI. 1991 . Flavonoids of *Asteriscus graveolens*. J Nat Prod. 54:1092–1093.

[22] Ezzat MI, Ezzat SM, El Deeb KS, El Fishawy AM, El-Toumy SA. 2016. A new acylated flavonol from the aerial parts of *Asteriscus maritimus* (L.) Less (Asteraceae). Natural Product Research, 2: 1 -9.

[23] Alilou H, Bencharki B, Idrissi Hassani LM, Barka N. 2014. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens subsp. odorus*. Revue Afrique Science. 10 (3) : 316-328.

[24] Daroui-Mokaddema H, Kabouche A, Boutaghane N, Calliste C, Duroux J, Kabouche Z.2017. Antioxidant Flavonoids from *Asteriscus maritimus* .Natural Product Communications Vol. 12 (0)

[25] El-Dahmy S, Jakupovic J, Bohlmann F, Sarg TM .1985. New humulene derivatives from *asteriscus graveolens*. Tetrahedron. 41:309–316.

[26] San Feliciano A, Barrero AF, Medarde M. del Corral JM, Ledesma E, Sanchez Ferrando F. 1982. Asteriscunolide A: Humulanolide from *Asteriscus aquaticus*. Tetrahedron Letters .23:3097-3100.

[27] San Feliciano A, Barrero AF, Medarde M, del Corral JM, Aizpiri AA, Sánchez Ferrando F. 1984. Asteriscunolides A, B, C and D, the first humulanolides; two pairs of conformationally stable stereoisomers. Tetrahedron. 40:873–878.

[28] San Feliciano A, Medarde M, Miguel del Corral JM, Aramburu A, Gordaliza M, Barrero AF. 1989. Aquatolide. A new type of humulane-related sesquiterpene lactone. Tetrahedron Lett. 30:2851–2854.

[29] Rauter AP, Branco I, Bermejo J, González AG, Garcia-Grávalos MD, Feliciano AS. 2001 . Bioactive humulene derivatives from *Asteriscus vogelii*. Phytochemistry. 56 :167–171.

- [30] Jakupovic J, Lehmann L, Bohlmann F, Hogdson AA. 1987. Nerolidol derivatives from *Asteriscus sericeus*. *Phytochemistry*. 26:2854–2855.
- [31] Triana J, Eiroa JL, Morales M, J. Pérez FJ, Brouard I, Quintana J, Estévez MR, Estévez F, Léon F. 2016. Sesquiterpenoids Isolated from Two Species of the *Asteriscus* Alliance. *J Nat Prod*. 79:1292–1297.
- [32] Ahmed AA. 1992. Farnesol and thymol derivatives from *Asteriscus pygmaeus*. *J Nat Prod*. 55:824–827.
- [33] Bellakhdar J, Baayaoui A, Kazdari A, Marechal J. 1987. Herboristes et médecine traditionnelle à Tissint, oasis présaharien du Sud Marocain (province de Tata). *Al Biruniya*. 3 : 7-50.
- [34] Cheriti A. 2000. Plantes Médicinales de la Région de Bechar, Sud Ouest Algérie: Etude Ethnopharmacologique. Rapport CRSTRA: Algérie
- [35] Medimagh S, Daami-Remadi M, Jabnoun-Khiareddine H, Ben Jannet, Hamza MA. 2012. Chemical composition, Antimicrobial and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from the Tunisian *Asteriscus maritimus* (L.) Less. *Mediterr.J.Chem*. 2:459-470.
- [36] Alilou H, Asdadi A, Idrissi Hassani LM, González-Mas MC, Blázquez MA, Akssira M. 2014. Antifungal and Antioxidant Activity of *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* Essential Oil. *Journal of Natural Sciences Research*. 4:1-10
- [37] Haddouchi F, Chaouche T, Halla N. 2016. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*. 1-9
- [38] Djeridane A, Yousfi M, Brunel JM, Stocker P. 2010. Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol*. 48:2599–606.
- [39] Newman D et J, Craggs M. *Natural Products as Sources of New Drugs Over The 30 years from 1981 To 2010*. 2012. p 311-335.
- [40] Breitmaier E, Terpan, Wilev-VCH, verlag Gmbh & Co, Weihen. 2006.
- [41] Martin S, Andriantsitohaina R. 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie*. 51, 304-315.

- [42] Macheix J J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques. .
- [43] Bruneton J. 2009. Pharmacognosie-Photochimie, plante médicinales .4ème édition. Paris : Edition Tec & Doc .Edition médicales inter nationales . 1292.
- [44] Heller W, Forkmann G .1986. 1993. The flavonoids. Advances in research since In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London. 399-425.
- [45] Goto T, Kondo T. 1991. Structure and molecular stacking of anthocyanins Flower color variation. *Angewandte Chemie*. 30: 17-33.
- [46] Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2:152.
- [47] Van dBR, Haenen G, Van dBH, Van dVW, Bast A. 2000. The predictive value of antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chemistry*. 70: 391-395.
- [48] Stavric B, Matul TI.1992. Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health, Lipid soluble and antioxidants. *Biochemistry and clinical applications*. 274-294.
- [49] Das H C, Wang J H, Lien E J. 1994. Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis. *Progress in Drug Research*. 42 :133–136.
- [50] Bidet D, Gaignault JC, Girard P, Trotin F. 1987. Inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique : du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique : Les flavonoïdes. *L'actualité chimique*. 89 – 97 .
- [51] Amaral AC F, Kuster RM, Gonçalves JLS, Wigg M D.1999. Antiviral investigation on the flavonoids of *Chamaesyce thymifolia*. *Fitoterapia*. 70: 293-295.
- [52] Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AnA, Capasso F. 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Review life sciences*. 65 : 337-353.
- [53] Wagner H, Wierer M, Bauer R..1986. In vitro Hemmung der ProstaglandinBiosynthese durch etherische Öle und phenolische Verbindungen. *Planta Medica*. 52(3):184-187.
- [54] Vincken J.-P, Heng L. De Groot, A., Gruppen, H. 2007. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68:275–297.
- [55] Hostettmann K, Marston A. 2005. Saponins. Chemistry and pharmacology of natural products. Cambridge University Press, Cambridge, isbn-10: 0521020174.

- [56] Sparg S G, Light M E , Van Staden J .2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 219–243.
- [57] Hassanpour S, Maheri-Sis N, Eshratkhah B, & Mehmandar F.2011. “Plants and Secondary Metabolites (Tannins): A Review», *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, Vol. 1 (1): 47–53.
- [58] Ndibualonji BBV, Pemba MG, Maryabo KG , & Kaputo M .2016.Évaluation de la valeur nutritive et recherche des substances bioactives des feuilles de deux variétés de patate douce consommées à Lubumbashi (RDC). *Journal of Applied Biosciences*, 102, 9771–9776.
- [59] Ejaz A, Arshad M , Khan M.Z , Muhammad ShoaibAmjad , HumaMehreenSadaf, IqraRiaz., Sidra Sabir , Nabila Ahmad and Sabaoon .2017. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life.
- [60] Donald JC, Gearge SH.1968. « Chimie organique », 2 Edition,Gautier Villars.
- [61] Bouvier F, Rahier A, Camara B.2005.Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. *Progress in lipid research* .44: 357-429.
- [62] Hill R A.2002.dictionnaire of natural products on CD-ROM, Ed. Version 1 0 :2. Chapman & Hall,CRC,New ond.
- [63] Kone K.P.F.O.2018.Application des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l’identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et anti hypertensives de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de doctorat .24p
- [64] Law M.2000. «Plant sterol and stanol margarines and health».
- [65] RizkA.M.Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterpia* . 1982. 35-42
- [66] Pincemail, J, Meurisse, M, Limet, R, & Defraign, J. O. (1999). L’évaluation du stress oxydatif d’un individu : une réalité pour le médecin. *Vaissaux, Cœur, Poumons*, 4, 1 – 7.
- [67] Morena M, Martin-mateo M, Cristol JP, Canoud B.2002. Stress oxydant,hémo incompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23 (5), 201 – 208.
- [68] Favier A.2003. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et experimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L’actualité chimique*. 108-115.

- [69]Koechlin-Ramonatxo, C.2006. Oxygène, stress oxydant et supplémentation antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans la maladie respiratoire. *Nutrition Clinique & Métabolisme*, 20, 165 – 177.
- [70]Pham-Huy LA, He H & Pham-Huy C. 2008. Free radicals,antioxidants in disease and health, *International Journal of Biomedical Science*, 4 : 89-96.
- [71]Bagchi K & Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. 1998. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 4 : 350-360.
- [72]Nagendrappa CG. 2005. An appreciation of free radical chemistry. Free radicals in diseases and health, *Resonance*, 10 :65-73.
- [73]Valko M., Rhodes CJ, Moncola J, Izakovic M & Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160 : 1–40.
- [74] Shimizu, H, Kiyohara, Y, Kato, I, Kitazono, T, Tanizaki, Y, Kubo, M, Ueno, H, Ibayashi, S, Fujishima, M, Iida, M.2003. Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population the Hisayama study. *Stroke*. 35, 2072-2077.
- [75] Pisoschi, A. M, Pop, A.2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 97, 55-74.
- [76] McCall, M. R, Frei, B.1999 Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans. *Free Radical Biology and Medicine*. 26, 1034-1053.

Chapitre II
Matériel et méthodes

II.1. Etude phytochimique de l'espèce *Asteriscus graveolens* :

II. 1. 1. Description botanique :

Asteriscus graveolens (Forsk .) Dc. est un sous-arbrisseau de 20-50 cm, à écorce crevassée et blanche dans les parties âgées. Rameaux très étalés naissant peu au-dessous des capitules. (figure II.1). Les capitules médiocres à ligules à peine plus longues que les fleurons. Involucre à bractées externes linéaires-aiguës, les intérieures oblongues.

Feuilles : les feuilles sont verte pale étroites et profondément découpées très velues.

Fleurs : Les fleurs grands capitules jaunes; écailles du réceptacle allongées et dures, dépassant longuement les achaines, ceux-ci en cône renversé, arqués, velus, à quatre côtes très saillantes, tronqués au sommet et à aigrette remplacée par une couronne de quatre écailles membraneuses déchiquetées. [1-3].



Figure II.1 : *Asteriscus graveolens* (Forsk.) Dc

II.1.2. Noms Vernaculaires :

Negued, Tamayout, tafss

II.1.3. Synonymes :

Bubonium graveolens (Forsk .)

Bupthalmum graveolens Forsk.)

Nauplius graveolens (Forssk.) [1, 4,5].

II. 1. 4. Répartition géographique:

C'est une plante saharienne-sindienne diffusée dans tout le nord-africain, le Sahara central et septentrional, en Egypte et dans le désert des régions asiatique. Très commune dans le Sahara algérien, dans le Hoggar, situé dans la province de Tamanrasset (sud de l'Algérie), l'espèce est fréquente dans les savanes désertiques, limoneux sablonneux et caillouteux oueds et aussi sur les montagnes rocheuses jusqu'à 2800 mètres d'altitude [6,7].

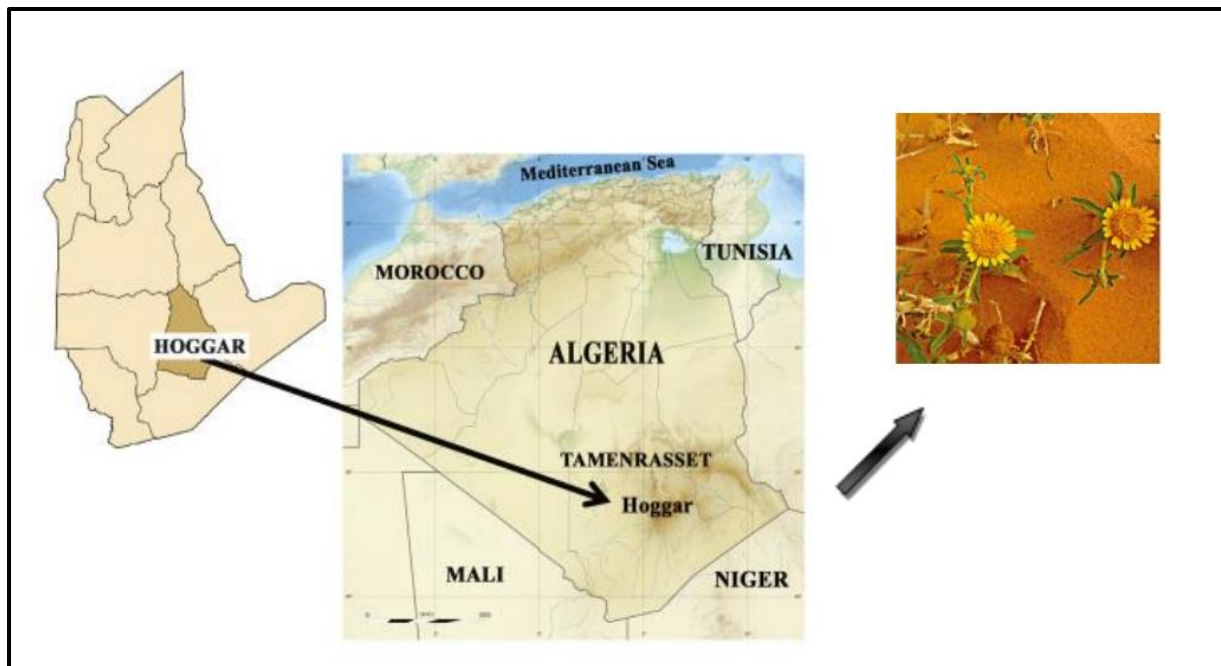


Figure II.2: Répartition géographique d'*Asteriscus graveolens* (Forsk.) Dc

II.1.5.la systématique :

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Astériidae
Ordre	Astérales
Famille	Astéraceae
Sous famille	Asteroideae
Genre	<i>Asteriscus</i>
Espèce	<i>Asteriscus graveolens</i>

II.1.6. Protocole expérimental :**II.1.6.1. Récolte de la matière végétale :**

La plante a été récoltée de la région de Biskra , L'espèce a été séchée dans un endroit sec et aéré, à l'abri des rayons solaires les parties aériennes broyées (feuilles et fleurs) sont pesées (m=500g).

II.1.6.2. Extraction de la matière végétale :

Le matériel végétal de masse 500g, subit une macération dans un mélange hydroalcoolique (Ethanol/Eau ; 80 : 20 ; v/v) pendant 48 heures à température ambiante. Le premier extrait récupéré est concentré sous pression réduite à une température modérée (environ 35 °C). La macération est répétée 4 fois avec renouvellement du solvant et dure dans chaque cas de 48 heures. Les quatre extraits hydroalcooliques récupérés sont réunis et concentrés. A la solution obtenue, on ajoute de l'eau distillée (à raison de 400 ml d'eau distillée pour 1kg de matière sèche). La solution ainsi obtenue est laissée au repos à froid pendant une nuit pour décantation. Cette dernière permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable, etc....

Après filtration on obtient une solution aqueuse. Cette phase aqueuse subit une extraction de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, puis le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. Les extraits obtenus sont évaporés à secs puis pesés.



Figure II.3: les étapes d'extraction.

Les quatre phases organiques ainsi obtenues sont concentrées à sec sous pression réduite donnant les extraits correspondants dont les masses et les rendements évalués par rapport au poids du matériel végétal sec sont reportés dans le tableau II.1 .

Tableau II.1. : Rendements des extraits.

<i>Matériel végétal</i>	<i>Extrait</i>	<i>Masse (g)</i>	<i>Rendement (‰)</i>
500g	Ethér de pétrole	0.1	0.02
	Chloroforme	1.2	0.24
	Acétate d'éthyle	2.3	0.46
	<i>n</i> -butanol	4	0.8

Les différentes étapes de cette extraction sont récapitulées dans le schéma II.1.

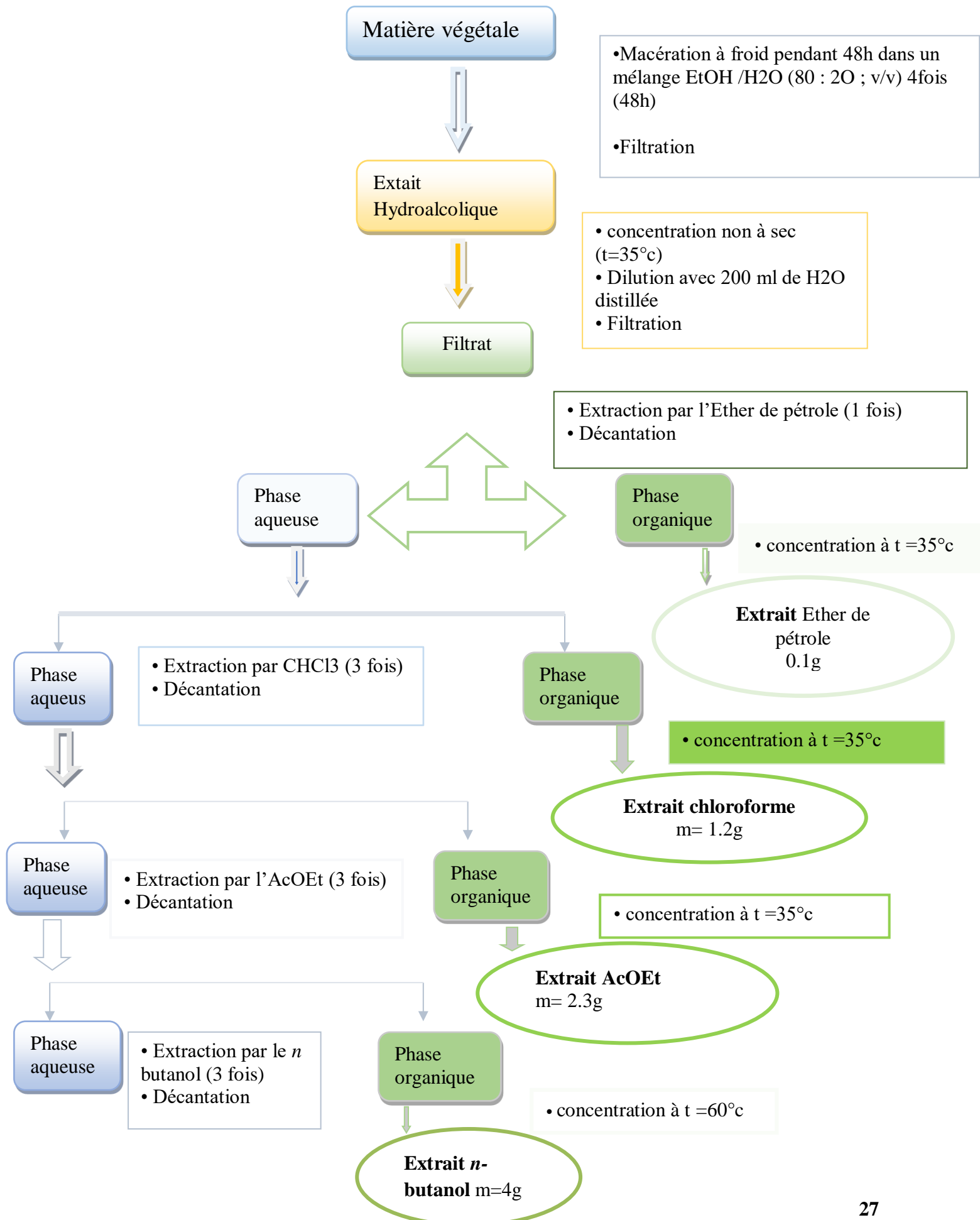


Schéma II.1: Protocole d'extraction d'*Asteriscus graveolens* (Forsk.) DC

II.1.7. Etude des extraits :

II.1.7.1 Chromatographie sur couche mince (TLC) :

Une plaque de chromatographie sur couche mince (TLC, CCM en français) se compose d'un support, en aluminium ou en verre, sur lequel a été étendue une fine couche d'un milieu désorption (ex. la silice) comme phase stationnaire. Ces plaques sont plongées dans une phase mobile (éluant). Cette dernière est généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants, adapté au type de séparation recherché. Les composés déposés à environ 1 cm du bas de la plaque sont alors humectés et dissous par la phase mobile qui progresse par capillarité le long de la phase stationnaire [8].

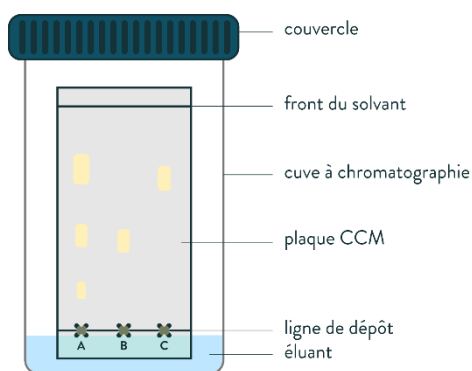


Figure II.4: Chromatographie sur couche mince.

Nous avons procédé à des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice déposée sur une feuille d'aluminium des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol, la meilleure séparation a été obtenue avec le système de solvant $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ dans les proportions (9:1)..

II.1.7.2. Screening chimique :

Le screening phytochimique est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence des composés chimiques qui se trouvent dans un produit végétal donné. Ces composés sont divisés entre métabolites primaires et secondaires. La présence de ces derniers est testée par la formation d'un précipité et/ou changement de coloration du milieu en utilisant des réactions en solution à l'aide de réactifs spécifiques. Le but final de l'étude des plantes médicinales est souvent d'isoler un ou plusieurs constituants responsables de l'activité de la plante. De ce point de vue, les techniques générales de screening chimique peuvent être d'un grand secours. Ces techniques permettent de déceler, la présence des produits appartenant à des classes de

composés physiologiquement actifs ; notamment les huiles essentielles, les stérols et triterpènes, les caroténoïdes, les alcaloïdes, les coumarines, les flavones aglycones, les stéroïdes, les anthracénosides, les flavones glycosides, les tannins, les amines oxydées et les saponosides. Le nombre de ces classes est important et il ne peut être vérifié la présence de chacune qu'avec le screening chimique [9].

A) Test des flavonoïdes :**➤ Test de Shinoda:**

Une petite quantité de l'extrait a été dissoute dans 5 ml d'éthanol à 95%(v/v) puis traitée avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique HCl concentré et 0.5g de copeau de magnésium. L'apparition d'une couleur rose ou magenta en 1 ou 2 min indique la présence des flavonoïdes [10].

B) Test des saponosides :**➤ Test à la mousse :**

On a dissout quelques milligrammes de chaque extrait dans 1 ml d'eau et quelques milligrammes de bicarbonate de sodium placés dans un tube à essai, on a agité vigoureusement, on a laissé reposer le tube pendant 10 minutes, la persistance de mousse après 10 minutes indique la présence des saponosides.

C) Test des sucres :

D'une manière générale, le terme sucre est souvent utilisé pour désigner les glucides ; par exemple, le glucose est qualifié de « sucre simple » et l'amidon de « sucre complexe » [11].

Dans un tube à essai, on a ajouté 1 ml du réactif de Fehling à 1 ml de l'extrait dissout dans 1 ml de Méthanol. On a incubé le mélange pendant 8 minutes dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres.

D) Test des tanins :

On a ajouté à 1 ml de chaque filtrat, quelque goutte de solution de FeCl₃ diluée à 5% dans l'éthanol 90%. L'apparition d'une coloration verte indique la présence des tanins.

E) Test des alcaloïdes :**➤ Test de Wagner :**

Avant de faire le test de Wagner le filtrat a été préparé par l'ajout de quelque mg de chaque extrait dans 5 ml de HCl (1.5%), ensuite filtrer, ces filtrats sont utilisés pour détecter la présence des alcaloïdes. 1,7 g d'iode avec 2 g d'iodure de potassium sont dissous dans 5ml d'eau et complétés avec l'eau jusqu'à l'obtention de 100 ml de solution. Le réactif de Wagner est ensuite ajouté au filtrat de test. L'apparition d'un précipité brun indique la présence d'alcaloïdes [12].

F)Test des terpènes :

La mise en évidence des terpènes est fondée selon la réaction de Lieberman-Burchard. On a additionné à chaque extrait 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme, après dissolution, on a transféré les solutions dans des tubes à essai auxquels on a ajouté 1 ml d'acide sulfurique concentré. La réaction est effectuée à froid. La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, avec coloration de la couche du surnageant de vert ou de violet, traduit la présence des terpènes [13].

G)Test des stérols :**➤ Test de Salkowski:**

La détection des stérols est fondée selon la réaction de Salkowski, Quelque mg de l'extrait est mis dans 2 ml de chloroforme, ensuite on ajoute 2 ml d'H₂SO₄ concentré dans le tube à essai. On le secoue et on le laisse quelques minutes L'apparition de la couleur rouge dans la couche chloroforme indique la présence des stérols [14].

H)Test des anthraquinones :

On a dissout quelques milligrammes de chaque extrait dans 1 ml du mélange éther de pétrole/chloroforme (1:1, v/v). On a traité la solution obtenue avec 1 ml de soude NaOH (10%). L'apparition de la couleur rouge indique la présence des anthraquinones [15].

I)Test des protéines :**➤ Test de Biuret**

On a mis quelques mg d'extrait dans l'eau et on a ajouté 1ml de sulfate de cuivre (CuSO₄) 4%, si la couleur violet claire à rose apparait cela indique la présence de protéine [16].

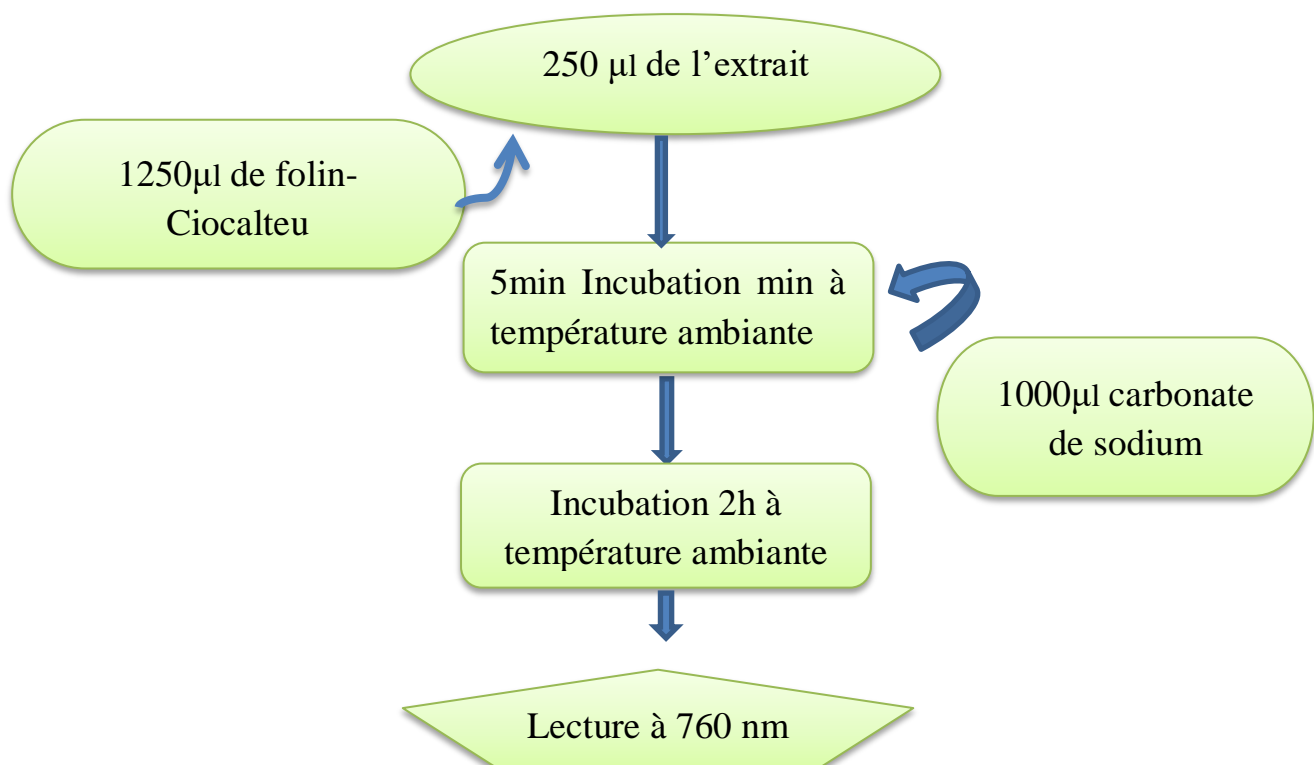
II.2. Etude biologique :

II.2.1. Dosage des polyphénols totaux :

La teneur en composés phénoliques des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol d'*Asteriscus graveolens* a été déterminé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Singleton *et al* [17] où le réactif se réduit dans un milieu alcalin en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques contenus dans l'échantillon analysé.

Deux cent cinquante μ de l'extrait (1mg/ml) a été mélangé avec 1250 μ de réactif de Folin-Ciocalteu . Après cinq min , 1000 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3) sont additionnés ; Le mélange a été agité, l'absorbance a été mesurée à 760 nm après 2h d'incubation à température ambiante. L'acide gallique (5 - 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée.

Tous les tests ont été effectués en triplicats et la concentration en contenu phénolique a été calculée et exprimée en μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (GAE $\mu\text{g} / \text{mg}$ d'extrait) .

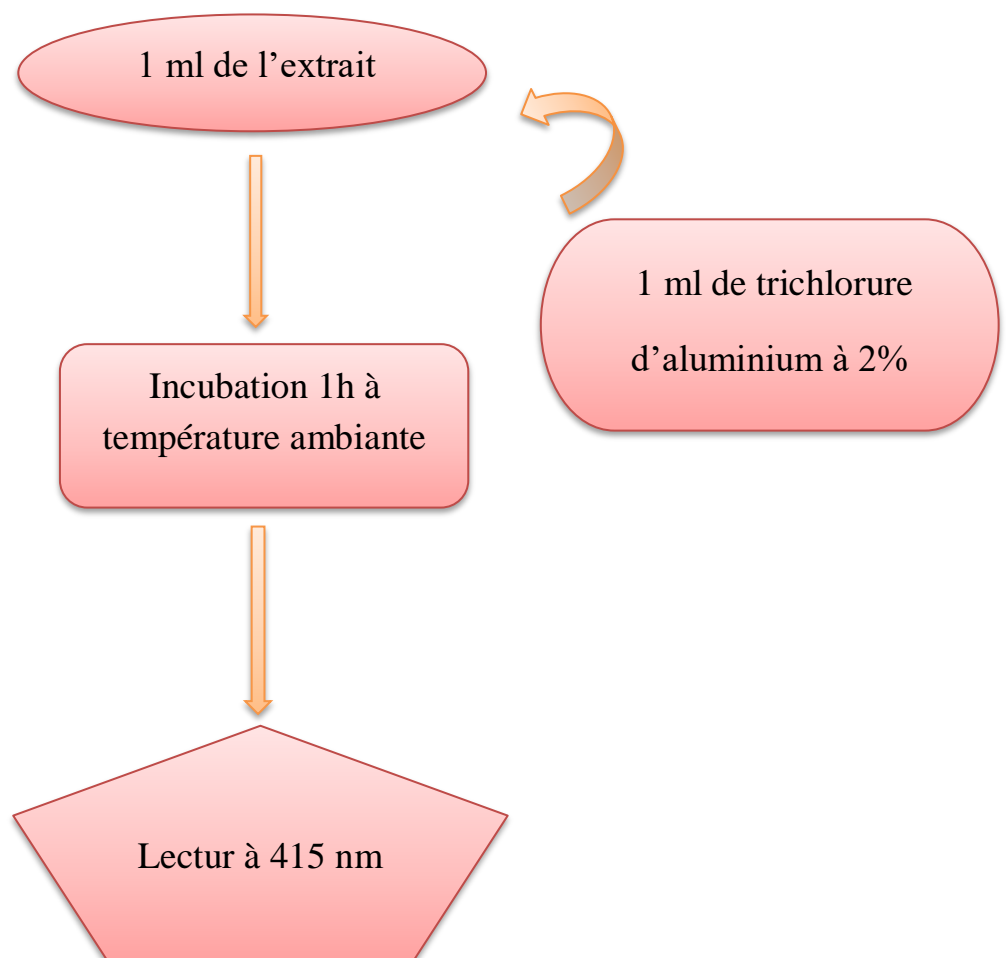


Shéma II.2 : Shéma récapitulatif du dosage des polyphénols totaux

II.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

La détermination des flavonoïdes totaux des extraits acétate d'éthyle et n-butanol d'*Asteriscus graveolens* a été estimée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes [18].

Pour un volume de 1 ml d'échantillon on ajoute 1 ml de la solution méthanolique d' AlCl_3 (2%). Après 1 heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 415nm. Le contenu flavonoïdes totaux a été calculé en μg d'équivalent de quercétine (QE) par mg d'extrait .



Shéma II.3 : Shéma récapitulatif du dosage des flavonoïdes totaux

II.2.3. Evaluation de l'activité anti-oxydante :

II.2.3. 1. Test de réduction du radical DPPH :

Durant cette étude, l'effet anti radicalaire de ces extraits est évalué in vitro par la méthode de DPPH (2,2 diphényl-2-picryl-hydrazyle) décrite par Ohinishi [19].

La solution du DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) est solubilisée dans le méthanol absolu pour en obtenir une solution de 0.2 mM. Dans des tubes secs, des volumes de 1 ml de chaque solution méthanolique de notre échantillon à différentes concentrations (1000 - 500 - 250 - 125 - 62.5 - 31.25 $\mu\text{g/ml}$) sont ajoutés à 1 ml de la solution méthanolique du DPPH. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 1 ml de méthanol avec 1ml de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante, la lecture de l'absorbance est réalisée contre un blanc pour chaque concentration à 517 nm par un spectrophotomètre UV-Visible.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 3 fois. L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage suivant la relation ci-après :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Abs blanc} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs blanc}} \times 100$$

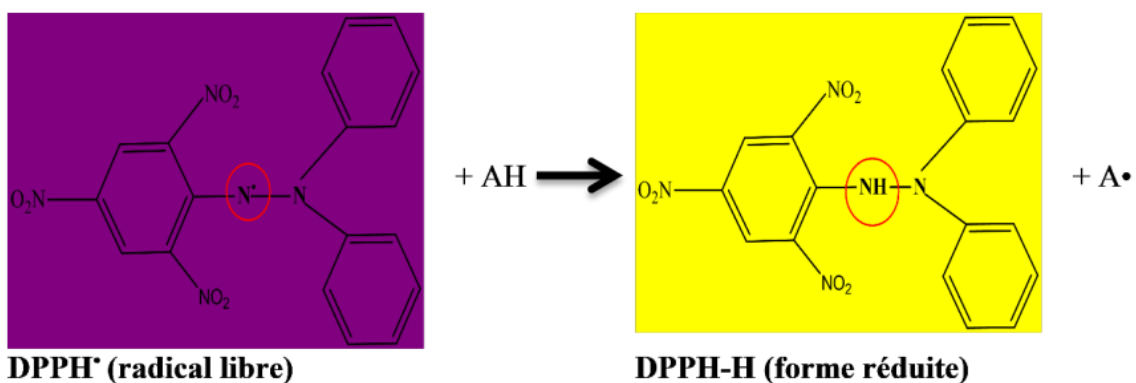


Figure II.5: Mécanisme réactionnel du DPPH avec l'antioxydant

II.2.3.2. Test de réduction du radical ABTS :

L'activité anti-radicalaire est également évaluée par le test de décoloration du radical cation ABTS^{•+} selon la technique utilisée par Khan et al . L'ABTS est dissous dans l'eau distillée à une concentration de 7 mM. La solution du radical cation ABTS^{•+} est obtenue en incubant pendant 12 à 16 h à l'obscurité et à la température ambiante un mélange à volumes égaux de la solution mère d'ABTS avec une solution de persulfate de potassium à 2.45 mM. La solution ABTS^{•+} est diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de 0.700 ± 0.02 à 734 nm avant l'utilisation. Ensuite, 0.9 ml de la solution d'ABTS^{•+} est mélangé avec 100 µl des extraits testés ou de la référence (acide ascorbique) à différentes concentrations (1000 -500 - 250 - 125 - 62.5 - 31.25 µg/ml). Les absorbances sont mesurées à 734 nm après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à la température ambiante. Trois essais sont effectués pour chaque concentration d'extrait testé et les résultats exprimés en Pourcentage d'Inhibition comme précédemment décrits pour le test DPPH [20].

II.3. Etude de l'Activité antifongique :

L'activité antifongique a été réalisée au sein du centre de recherche de biotechnologie au niveau du laboratoire de mycologie sous la direction de Dr. Ali Debbi.

II.3.1 Préparation du milieu PDA:

C'est le milieu de culture le plus largement utilisé pour cultiver des mycètes qui attaquent les plantes vivantes ou la matière organique végétale en décomposition , l'infusion de pomme de terre est préparée en faisant bouillir dans l'eau 200 g de pomme de terre tranchées pendant 20 minutes puis en laissant décanter le bouillon obtenu après l'avoir filtré . Le volume de 1000 ml est complété par l'eau distillée, puis 20 g de dextrose sont ajoutés et 16,5 g d'agar en poudre avant une stérilisation par autoclave à une température de 120°C et une pression de 1 bar pendant 2 min [21].

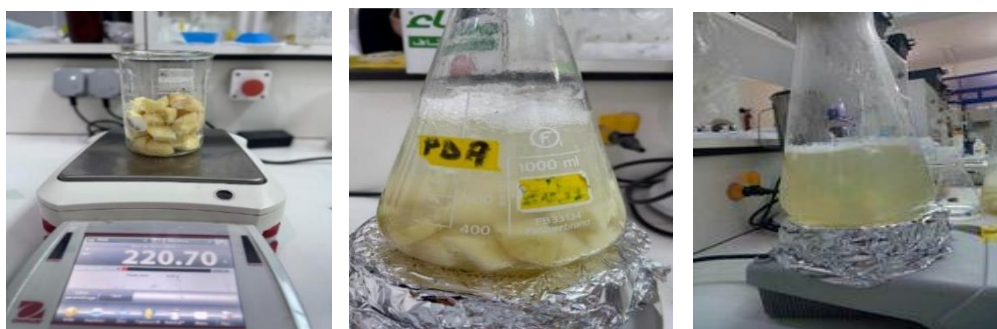


Figure II.6 : préparation du Milieu PDA

II.3.2. Procédure :

Trois champignons phytopathogènes, à savoir : *Fusarium oxysporum f. sp lycopersici* (FOL), souche 4287, *Botrytis cinerea* et *Alternaria* sp, seront testés pour la toxicité des champignons en évaluant l'inhibition de la croissance mycélienne des agents phytopathogènes .

L'activité inhibitrice des différents composés, sur la croissance mycélienne des trois agents phytopathogènes, est déterminée en mesurant la croissance radiale du champignon sur milieu PDA (pomme de terre, dextrose, agar), contenant le complexe à tester.

Ainsi, un volume de 1 ml de solution de DMSO contenant 5 mg du produit lyophilisé a été ajouté à 100 ml de milieu PDA à 60°C. Préalablement stérilisé puis distribué dans 4 boîtes de Pétri. De même, 1 ml de DMSO a été ajouté à 100 ml de milieu PDA et a été considéré comme un témoin positif. Le témoin négatif contient le milieu PDA sans aucun autre produit[22].

Expérimentalement, un disque de 5 mm de diamètre est prélevé sur une jeune culture fongique et se dépose de manière aseptique au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA et le produit à tester. L'expérience est répliquée 4 fois pour chaque traitement. Après 6 jours d'incubation à 25°C, la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène est mesurée à l'échelle millimétrique. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance de chaque champignon par chaque produit par rapport au diamètre moyen des colonies de chaque champignon cultivé dans le milieu témoin. Ainsi, l'activité d'inhibition a été exprimée en pourcentage et calculée selon la formule :

$$I = (C - T / C) \times 100$$

Où I = taux d'inhibition en %

C = croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA avec DMSO (témoin)

T = croissance radiale, en mm, de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant le complexe à tester.

Pour identifier la concentration inhibitrice la plus faible, l'essai a été répété avec 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml et 0,312 mg/ml de solvant au lieu de 5 mg/ml de solvant. Si le

même résultat a été obtenu, cela signifie que la concentration seuil d'efficacité peut être inférieure.

Références

- [1] Quezel P, et Santa, S.1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II.C.N.R.S.Paris.
- [2] Benabid A. 2000.Flore et ecosystems du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité. Paris : Edition Ibis Press 159-161.
- [3] Ozenda P. 2004. Flore et Végétation du Sahara. 3ème édition. Edition CNRS. Paris.
- [4] Greuter W.1997.Save *Asteriscus*, sink *Nauplius* (Compositae).Flora. Mediterranea.7: 41-48.
- [5] Wiklund A. 1985. The genus *Asteriscus* (*Asteraceae-Inuleae*).Nordic 1. Bot. 5: 299-314.
- [6] Sahki A , Sahki- Boutamine R. 2004. Le Hoggar- promenade botanique. Atelier Ésope. Lyon. P : 233-234.
- [7] Chaib F, Allali H , Bennaceur M , Flamini G. 2017 . Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from the Aerial Parts of *Asteriscus graveolens* (Forssk.) Less. And *Pulicaria incisa* (LAM.) DC : Two *Asteraceae* Herbs Growing Wild in the Hogga. *Chem Biodiversity*. P : 01-07.
- [8] Thompson, Davide, M .1988 .Monographies de botanique systématique. 1- 142.
- [9] Franzyk H , Jensen SR, Rasmussen JH. 1998. EUR J Orge.Chem.Synthesis of Antirrhinolide,a New Lactone from Antirrhinum Majuseur.J.Org.Chem. 3652370.
- [10] Harborne J. B , Baxter H et Chichester W. 1999.The handbook of natural flavonoids phytochemical analysis.
- [11] Signe M .1998. Frederiksen. Synthesis of Antirrhinolide ,a New Lactone from Antirrhinum MajusHenrikkFranzyk. Denmark : The Technical University of Denmark.
- [12] BrunetonJ . 2009 . Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales, Lavoisier (4ème ED).
- [13] CreteP . 1965. Précis de botanique, Masson (4ème Éd),Paris, 429.
- [14] Bruneton .1993.J. Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales, Lavoisier (2ème Éd) - Londres-New York, 625-642.
- [15] RizkA M .1982.Constituents of plants growing in Qatar, Fitoterpia, 35-42 .
- [16] A.GORNALL,C.BARDAWILL et M.DAVID,«Determination of serum protéins

by means of biuret reaction,»J. Biol. Chem., vol. 177(2), pp.751-766,1949!;

[17] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM.1999.Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in enzymology .299:152-178.

[18] Bahorun T, Grinier B, Trotin F, Brunet G, Pin T, Luncky M, Vasseur J Cazin, M Cazin , C Pinkas M. 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations.Arzneimittelforschung, 46,1086-1089.

[19] Ohinishi M , Morishita H, Iwahashi H, Toda S, Shirataki Y, Kimura M, Kido R .1994. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis. Phytochemistry, 36, 579-583.

[20] Harrouche K, Lahouel A, Belghobsi M, Pirotte B, Khelili S Synthesis .2019. characterization and investigation of the antioxidant activity of some 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides bearing sulfonylthioureas moieties. Canadian Journal of Chemistry, 1- 47.

[21] Dennis C et Webstert J .1971. Propriétés antagonistes des groupes d'espèces de Trichoderma III. Interaction hyphale. Trans. Br , mycol , Soc . 57 (3) : 363-369 .

[22] Song W , Zhou L , Yang C , Cao X , Zhang L et Liu X. 2004 . Fusariose de la tomate et son contrôle chimique. stratégies dans un système hydroponique. Culture . Protéger . 23, 243-247

Chapitre III

Résultats et discussions

III.1. Screening chimique :

Le screening chimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires dans notre espèce étudiée. La détection de ces derniers est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de coloration.

Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires, nous avons élaboré des tests physico-chimiques qualitatifs spécifiques fondés sur des réactions de coloration et de précipitation sur les deux extraits (acétate d'éthyle et *n*-butanol) de la plante *Asteriscus graveolens*. Les résultats rassemblés dans le tableau sont obtenus après la réalisation des tests phytochimique des extraits, selon les protocoles cités dans la partie précédente.

Les résultats obtenus sont évalués comme suit :


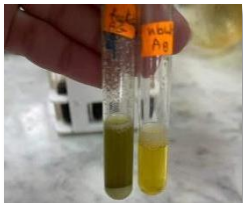

+++ : Fortement positif.


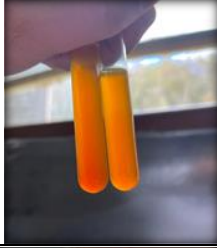


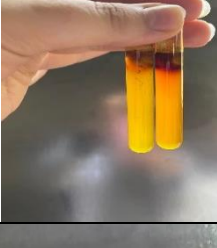

++ : Moyennement positif.

+ : faiblement positif.

- : négatif.

Tableau III. 1 : Les résultats du screening chimique d'*Asteriscus graveolens*

	<i>n</i> - butanol	Acétate d'éthyle	
Flavonoïdes	+++	+++	
Saponosides	+++	++	
Sucres	-	-	

Tanins	-	+	
Alcaloïdes	-	-	
Terpènes	+	+	
Stérols	+++	++	
Anthraquinones	+	+	
Protéines	-	-	

D'après les résultats obtenus, on constate que les extraits de la plante étudiée diffèrent dans leurs constituants chimiques.

Le screening phytochimique des deux extraits de la plante révèle la présence des saponosides, Anthraquinones, flavonoïdes, stérols et terpènes. Tandis que les tanins se présentent uniquement dans l'extrait d'Acétate d'éthyle. Une absence totale des protéines, sucres et des alcaloïdes dans les deux extraits.

Ces résultats montrent que la plante possède une variété de groupes chimiques. Or, il est connu que la majorité de ces groupes possèdent des activités biologiques diverses. Il s'agit notamment du groupe de composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes qui sont connus pour leurs activités anti-inflammatoires, antioxydante et antiallergiques [1].

Les anthraquinones ont des propriétés laxatives [2]. Vu leur existence dans les deux extraits, la consommation de ce dernier peut avoir la capacité de traitement des troubles gastro-intestinaux.

Les tanins qui sont utilisés pour leurs effets antidiarrhéiques [3], antiseptiques et antioxydants [4].

III.2. Résultats de la Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Après le développement du chromatogramme et après que le front du solvant d'éluion ait atteint la ligne supérieure, la plaque a été retirée, séchée, révélée et examinée sous une lampe UV à 365nm et 254nm afin d'avoir une idée globale des métabolites présents dans des extraits. Le révélateur utilisé est préparé à partir de :

- 0.5ml d'ansaldehyde
- 10ml d'acides acétique
- 5ml d'acides sulfurique concentré
- 85ml de méthanol

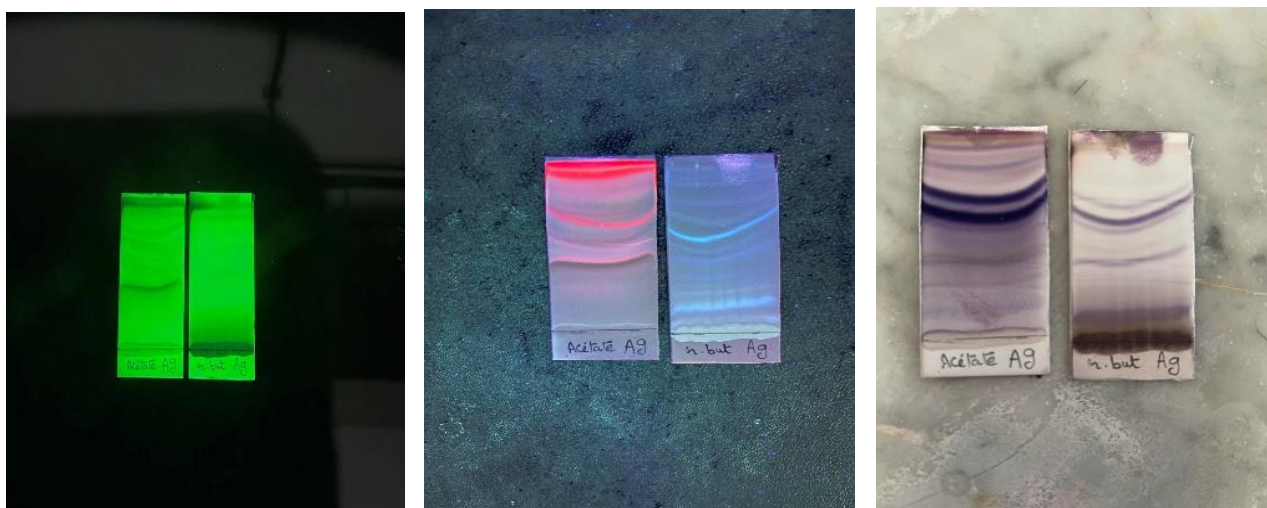


Figure III.1 : Plaque CCM de l'extrait AcOEt et *n*-butanol éluée dans le système $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (9 : 1).

Selon la figure III.1, on peut constater que l'extrait Acétate d'éthyle contient des spots plus élevés que l'extrait *n*-butanol.

III.3. Résultats des dosages des polyphénols et des flavonoïdes :

III.3.1. Résultats de dosage des polyphénols :

Le taux des polyphénols totaux présent dans les deux extraits a été déterminé par spectrophotométrie UV/Vis, La courbe d'étalonnage établie à l'aide de différentes concentrations de l'acide gallique à partir d'une solution mère, a permis d'estimer la teneur en composés phénolique de l'extrait. La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique est exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{gEAG}/\text{mg}$ d'extrait) en utilisant l'équation [5] :

$$Y=0.0095x+0.1036$$

Avec un coefficient de détermination $R^2 = 0.9987$. Les résultats sont illustrés ci-dessous: Les valeurs d'absorbance d'acide gallique sont reportées dans le tableau suivant:

Tableau III .2 : Les valeurs d'absorbance de l'acide gallique

Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	5	10	25	50	100	150	200	300
L'absorbance (nm)	0.163 2	0.191	0.3599	05118	1.0821	1.5845	1.9905	2.9512

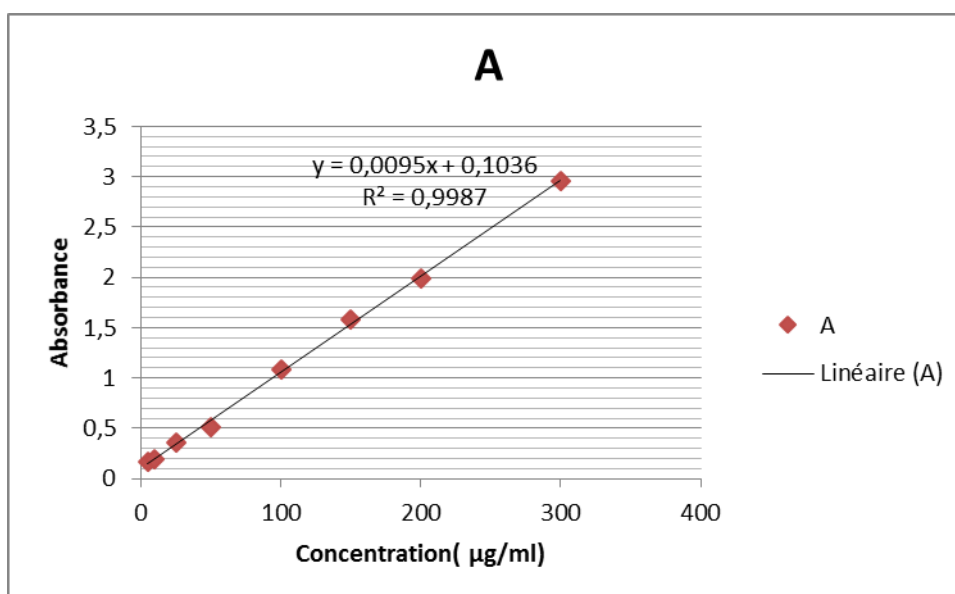


Figure III.2: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les extraits obtenus de notre plante sont soumis au dosage des polyphénols, Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau III.3: Teneur en composés phénoliques

Extraits	Acétate d'éthyle	<i>n</i> -butanol
Teneurs des composés phénoliques ($\mu\text{gEAG}/\text{mg}$)	209,20 \pm 0,375	190,89 \pm 0,559

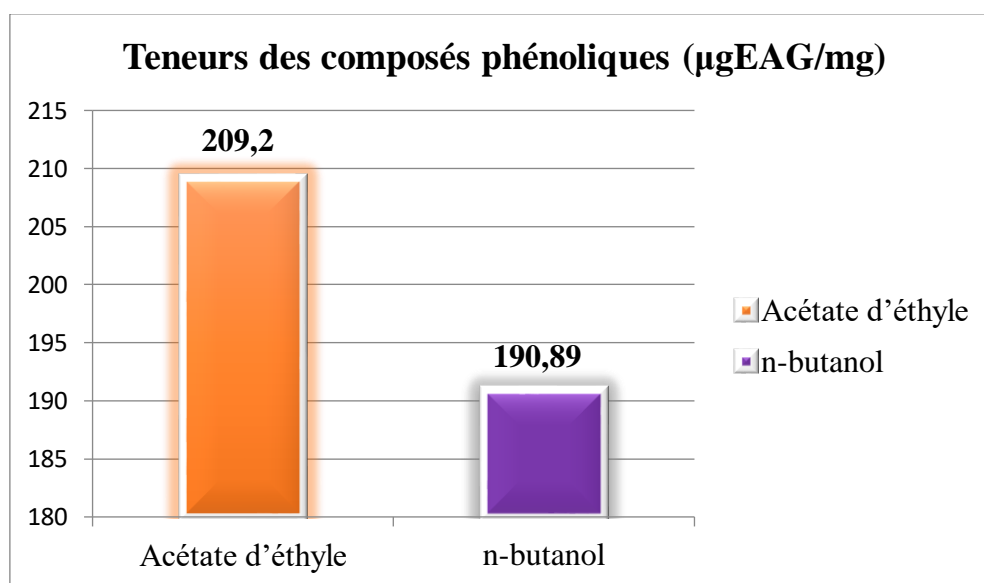


Figure III.3: Histogramme représente la quantité en (μg) des polyphénols dans les deux extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol.

D'après les résultats présentés dans l'histogramme on peut constater que les extraits de la plante étudiés, sont riches en polyphénols mais avec des quantités différentes. La figure III.3 montre que l'extrait acétate d'éthyle possède la plus haute teneur en polyphénols (209,20 \pm 0,375 $\mu\text{g EGA}/\text{mg}$ d'extrait), suivi par l'extrait *n*-butanol (190,89 \pm 0,559 $\mu\text{g EGA}/\text{mg}$ d'extrait).

Les teneurs des polyphénols totaux déterminées ne sont pas des mesures absolues des quantités des phénols du matériel de départ, elles sont en fait, basées sur la capacité réductrice relative à une capacité réductrice équivalente à l'acide gallique (EAG). Les valeurs obtenues par la méthode colorimétrique fournissent des informations directes sur la quantité des groupes phénolique antioxydant de l'extrait qui dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ces derniers [6].

Le profil polyphénolique des extraits de plantes peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels la variété, le climat, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante [7]. la température et le solvant d'extraction [8].

Cependant, le contenu phénolique dans les deux extraits de la plante dépend également du type d'extrait, c'est à dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. La solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus en utilisant les solvants polaires pour l'extraction. Selon De Maraco et al 2013, l'acétate d'éthyle est utilisé pour l'extraction des formes aglycones ou mono O-glycosides et partiellement di-o-glycosides, tandis que le n-butanol est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes di-o-glycosides et triglycosides et C glycosides

III.3.2. Résultats de dosage des Flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), La spectrophotométrie a permis de quantifier les flavonoïdes dans les deux extraits de la plante étudiée la teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en microgramme équivalent de la quercétine par mg d'extrait ($\mu gQ/mg$ d'extrait). La formule de la régression linéaire de cette courbe [9]

$$y = 0.0206x + 0.0458$$

Avec un coefficient de détermination $R^2=0,9965$, Les résultats obtenus sont illustrés ci-dessous: Les valeurs d'absorbance de quercétine sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau III.4. Les valeurs d'absorbance de la quercétine

Concentration ($\mu g/ml$)	5	10	25	50	100	150
L'absorbance (nm)	0,1023	1,2154	1,5841	2,1084	2,2139	3,0487

La courbe d'étalonnage suivante montre les absorbances de la quercétine en fonction de leurs concentrations :

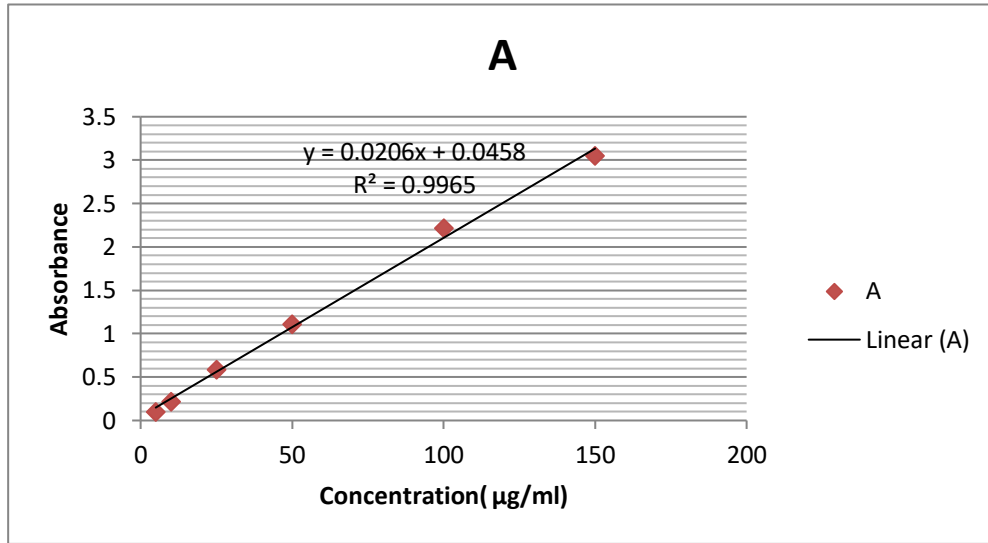


Figure III.4 : La courbe d'étalonnage de la quercétine

Les extraits obtenus de notre plante sont soumis au dosage des polyphénols, Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau III.5 : la teneur en composés flavonoïdes

Extraits	Acétate d'éthyle	n-butanol
Teneurs des composés flavonoïdes (µgEAG/m g)	115,33 ± 0,327	120,93 ± 0,202

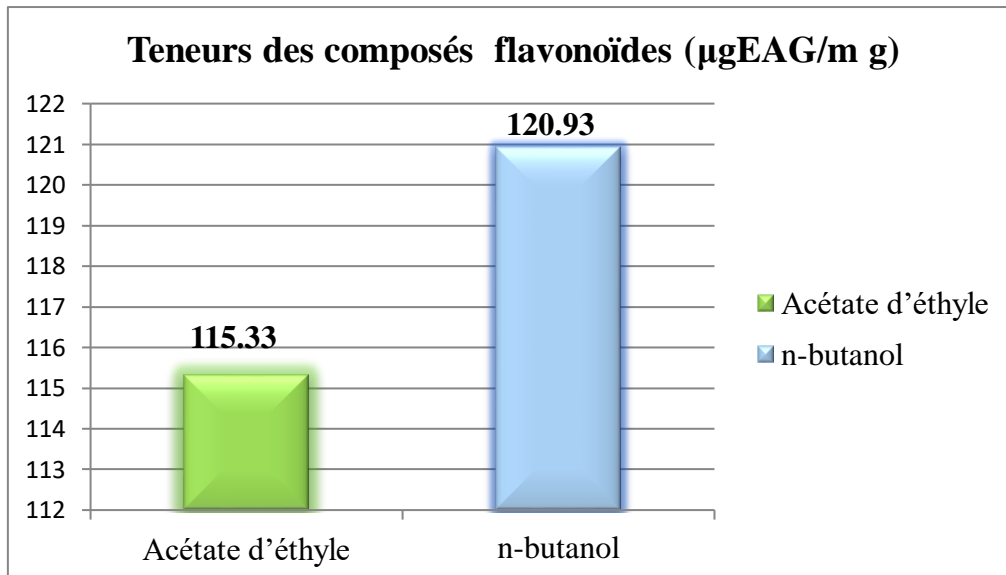


Figure III.5: Histogramme représente la quantité en (µg) des flavonoïdes dans les deux extraits acétate d'éthyle et n-butanol.

La (figure III.5) montre que l'extrait *n*-butanol possède la plus haute teneur en flavonoïdes ($120,93 \pm 0,202$, $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait) suivie par l'extrait acétate d'éthyle ($115,33 \pm 0,327$ $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait). Ces résultats confirment la richesse de la plante étudiée en flavonoïdes [10]. La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la même plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait. Le type de standard utilisé (quercétine, rutine) peut aussi changer les résultats [11].

III.3.3. Activité antioxydante des extraits d'*Asteriscus graveolens* :

Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol d'*Asteriscus graveolens*.

III.3.3.1. Activité anti radicalaire DPPH :

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée [12]. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires, ceci est expliqué par l'augmentation du pourcentage d'inhibition. L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction de la concentration des différents extraits utilisés et du témoin l'acide ascorbique (antioxydant de référence).

Les résultats sont exprimés dans le tableau suivant (nt= non traité) :

Tableau III.1: Pourcentage d'inhibition de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH.

Concentrations $\mu\text{g/ml}$	acide ascorbique %	extrait acétate d'éthyle %	extrait <i>n</i> _butanol %
7,81	40,91	nt	nt
15,62	60,69	nt	nt
31,25	82,3	40,35	45,83
62,5	89,56	45,91	44,28
125	89,45	59,40	54,16
250	89,75	71,07	58,69
500	90,06	77,02	73,45
1000	90,24	79,88	79,04

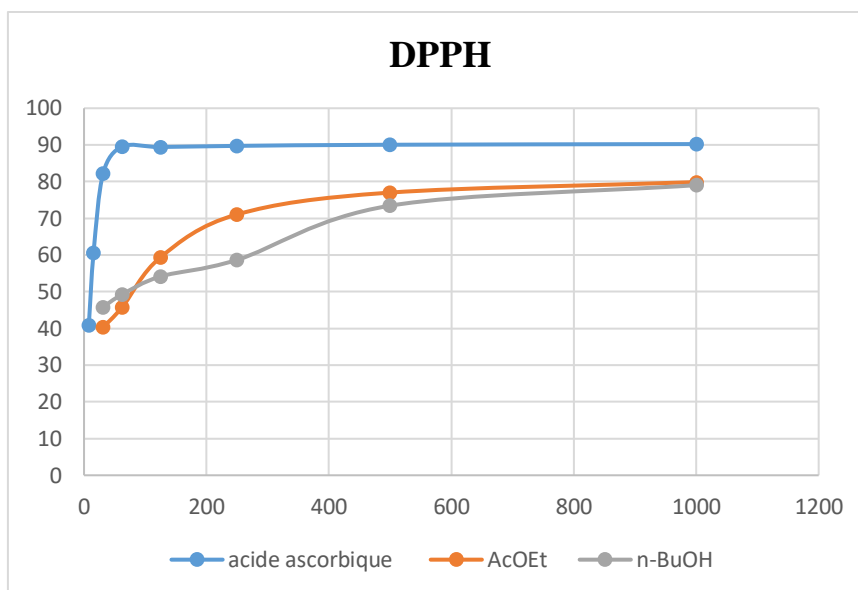


Figure III.6 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits.

D'après les résultats obtenus, on remarque que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard (l'acide ascorbique), ou pour les différents extraits testés. Nos résultats ont révélé que l'acide ascorbique montre un effet antioxydant très important et atteint un effet maximal de 90,24% à 1000 µg/ml, ce qui représente le pourcentage le plus élevé par rapport aux extraits étudiés. A la même concentration, le pourcentage d'inhibition de la réduction de DPPH des deux extraits *n*-BuOH et AcOEt sont atteints : 79,88 ; 79,04 % respectivement. Ces pourcentages correspondent à une inhibition totale du DPPH reflétée par la décoloration complète du DPPH du violet en jaune pâle.

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC_{50} , qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du radical DPPH (couleur jaune). Plus la valeur de IC_{50} est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Nous avons déterminés pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH ou IC_{50} . À partir des équations des régressions linéaires des graphes. Les valeurs sont représentées dans la Figure III.7

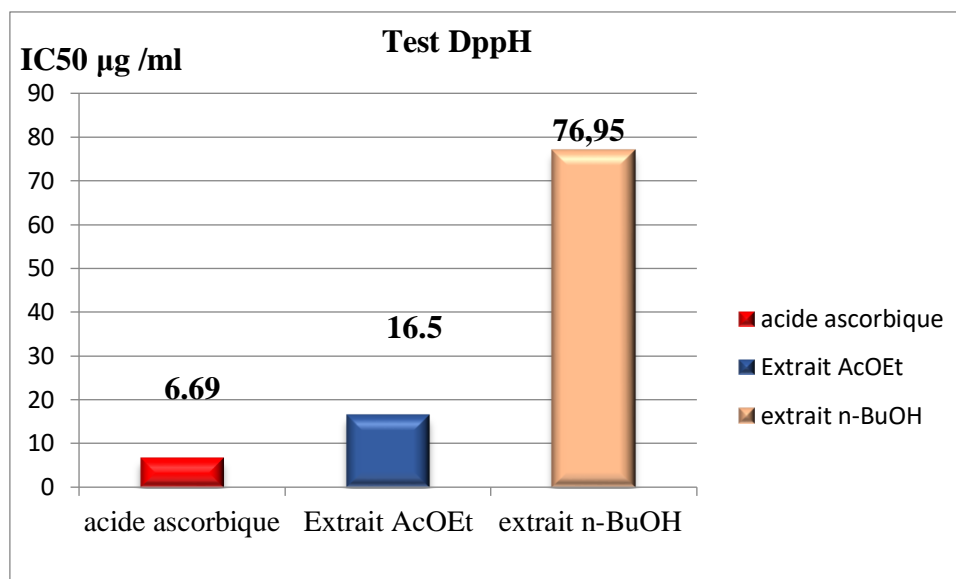


Figure III.7 : Les valeurs des IC₅₀ de l'acide ascorbique et des différents extraits en µg /ml.

L'antioxydant standard l'acide ascorbique a montré une activité antioxydante très puissante avec une IC₅₀ de l'ordre de 6.69 µg /ml.

D'après les résultats présentés dans la figure les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *Asteriscus graveolens* ont montré une forte capacité à piéger le radical libre DPPH avec des valeurs IC₅₀ variantes. L'extrait acétate d'éthyle est le plus active avec une IC₅₀ de 16,5 µg/ml suivi par l'extrait *n*-butanol (IC₅₀= 76,95 µg/ ml) par apport au témoin positif qui est l'acide ascorbique (IC₅₀= 6,69 µg/ ml).

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène [13]. Les polyphénols contenus dans nos extraits sont probablement responsables de l'activité antioxydante.

III.3.3.2. Test de réduction du radical ABTS :

Le piégeage du radical ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour l'évaluation du pouvoir antioxydant. Il est basé sur la neutralisation d'un radical-cation résultant de l'oxydation du chromophore synthétique l'acide 2,2-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS⁺) [14].

Les résultats sont exprimés dans le tableau suivant :

Tableau III.2 : Pourcentage d'inhibition de l'activité anti-radicalaire par le test ABTS.

Concentrations µg/ml	acide ascorbique %	extrait AcOEt%	extrait <i>n</i> -BuOH %
31,25	43,55	43,08	41,18
62,5	65,28	46,27	49,15
125	83,13	56,44	54,74
250	88,64	64,74	66,61
500	89,15	82,20	73,89
1000	89,83	84,23	74,74

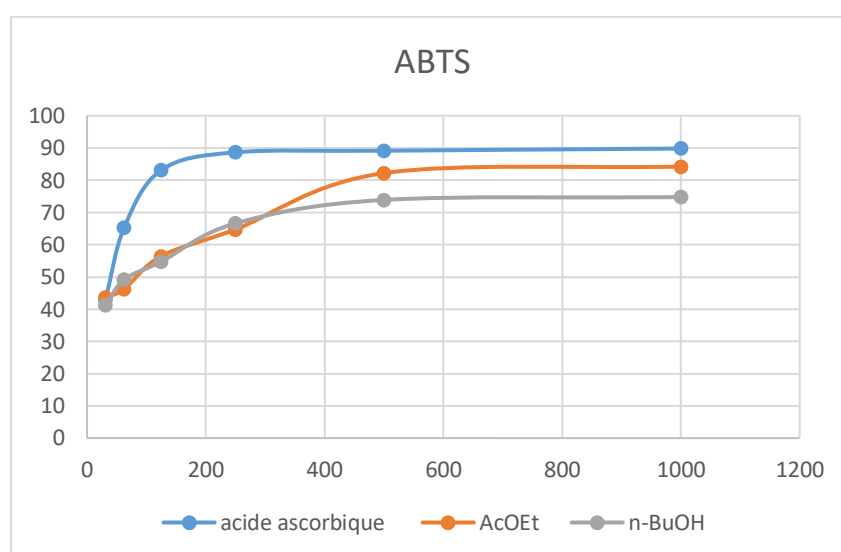


Figure III.8 : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration des échantillons.

D'après les résultats obtenus il semble que les pourcentages d'inhibition de l'acide ascorbique et des extraits étudiés sont proportionnelle avec la concentration, ceci confirme l'existence d'une activité anti oxydante pour les échantillons testés.

On a remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les extraits était inférieur à celui de standard pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 1000 µg/ml, l'acide ascorbique a révélé un pourcentage d'inhibition de la réduction du radical ABTS de 89.83%. A la même concentration, les pourcentages d'inhibition des extraits AcOEt et *n*-BuOH sont 84,23 et 74,73 respectivement.

Pour une meilleure comparaison entre les deux extraits et la substance de référence acide ascorbique, les IC_{50} sont calculées. Les IC_{50} obtenues sont présentées dans la figure III.9.

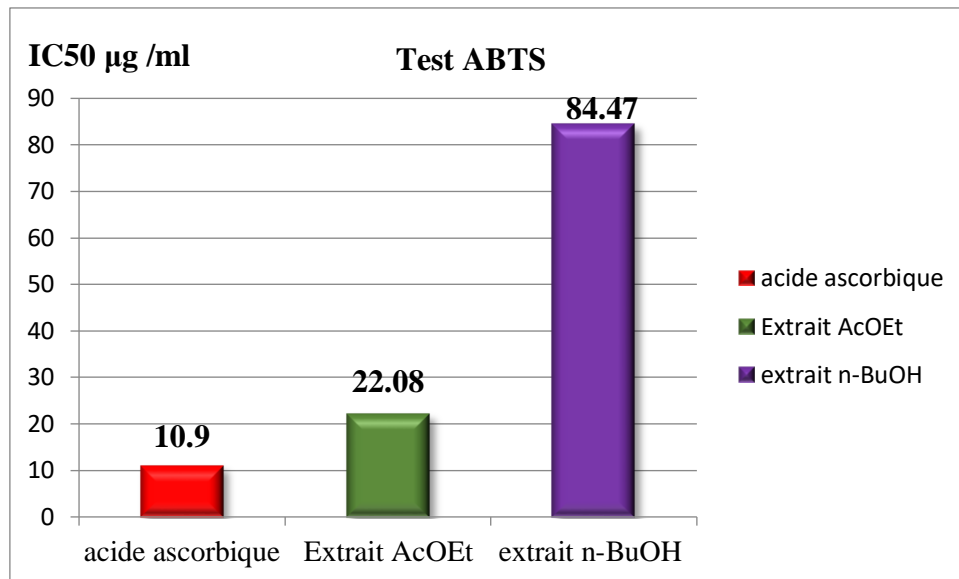


Figure III.9 : Les valeurs des IC₅₀ de l’acide ascorbique et des différents extraits en µg /ml.

Pour le test ABTS, l’extrait acétate d’éthyle révèle un pouvoir antiradicalaire plus important que l’extrait *n*-butanol avec IC₅₀ = 22,08 et 84,47 µg/ ml respectivement.

Cette bonne activité anti-oxydante de l’espèce étudiée est expliquée par la richesse de cette plante en composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes qui sont des composants antioxydants puissants

III.3.4.Activité antifongique des extraits d’*Asteriscus graveolens* :

Les zones d’inhibition observées autour des disques imprégnés des différents extraits étudiée après 6 jours d’incubation à 25°C sont présentées sur les figures III.10.

Le tableau rapporte les résultats du pouvoir antifongique des différents extraits vis-à-vis de la souche fongique par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Tableau III.8:Résultats d'activité antifongique

Souches fongique testées	D (mm)					
	Extrait acétate d’éthyle			Extrait <i>n</i> -butanol		
Concentrations µg/ml	1000	500	250	1000	500	250

la croissance radiale (T) de l'agent phytopathogène	5,2	5,875	6,15	4,08	5,025	5,3
INH % = $(c-t/c) \times 100$	19,38	8,91	4,65	36,74	22,09	18

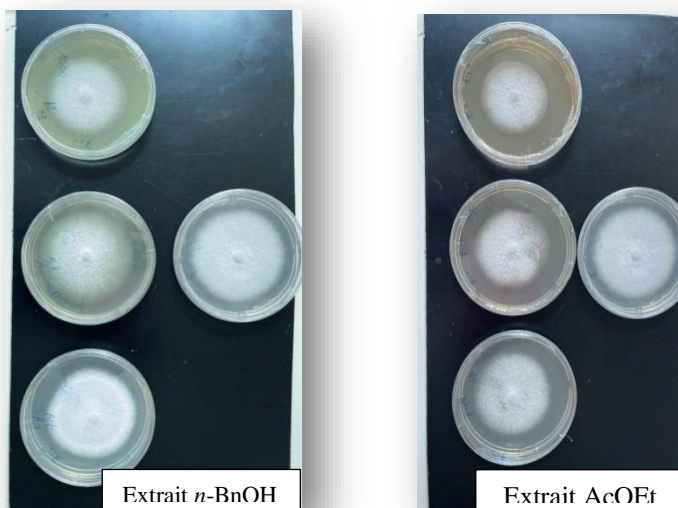


Figure III.10 : Activité antifongique des extraits n-BuOH, AcOEt de L'espèce *Asteriscus graveolens* respectivement.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait butanolique a produit des zones d'inhibitions plus grandes que l'autre extrait acétate d'éthyle. On peut expliquer ces résultats par la différence de composition entre les deux extraits. Le *n*-butanol permettant une meilleure extraction de composés polaires ; Ce qui indique que l'activité antifongique dépend aussi de plusieurs facteurs tels que le type du solvant utilisé pour l'extraction.

Références

- [1] Kilani S, Ammar R. B, Bouhlel I, Abdelwahed A, Hayder N, Mahmoud A, Chekir-Ghedira, L. 2005. Investigation of extracts from (Tunisian) *Cyperus rotundus* as antimutagens and radical scavengers. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20(3), 478-484
- [2] Boukeset G J. 2016. Van de venter M. In vitro modulation of the innate immune response and phagocytosis by three hypoxis spp. and their phytosterols, -*South Afr. J. Bot.*, vol. 102, 120-126
- [3] Mamadou A , Douma S, Inoussa MM, Moussa S, Mahamane A, Saadou M . 2020. Diversity, life forms, chorology and uses of spontaneous medicinal plants in Niamey and Tillabéri Regions, Niger Republic. *Journal of Applied Life Sciences International*, 1-17.
- [4] Jean-Antoine A . 2017. Consommation de tanins par le chevreuil et niveau d'infestation par des strongles gastro-intestinaux (Doctoral dissertation).
- [5] Lefahal M, Zaabat N, Ayad R, Makhloufi E.H, Djarri L, Benahmed M, Akkal S. 2018. In vitro assessment of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and photoprotective activities of crude methanolic extract of aerial parts of *Capnophyllum peregrinum* (L.) Lange (Apiaceae) growing in Algeria. *Medicines*, 5(2), 26.
- [6] Balasundram N, Sundram K, Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri industrial by-product : antioxidant activity, occurrence; and potential uses. *Food Chemistry*, 9, 191 – 120.
- [7] Ryan MT, Muller H, Pfanner N. 1999. Functional staging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *J Biol Chem* , 274 (29), 20619 – 20627.
- [8] Conde E, Cara C, Moure A, Ruiz E, Castro E, Dominguez, H. 2009. Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*, 114 (3), 806 – 812.
- [9] Lefahal M, Zaabat N, Ayad R, Makhloufi E.H, Djarri L, Benahmed M, Akkal S. 2018. In vitro assessment of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and photoprotective activities of crude methanolic extract of aerial parts of *Capnophyllum peregrinum* (L.) Lange (Apiaceae) growing in Algeria. *Medicines*, 5(2), 26.

- [10] Achoub H, Mencherini T, Esposito T, Luca R, Aquino R, Gazzo P, Zaiter L, Benayache F, Benayache S. 2019. New sesquiterpenes from *Asteriscus graveolens*. *Natural Product Research*. 35, 2190–2198.
- [11] Ghedadba N, Hambaba L, Ayachi A, Aberkane MC, Bousselsela H, Oueld Moukhtar SM. 2015. Polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé ex Coss. *Phytothérapie*. 13 : 2, 118-129.
- [12] Bortolomeazzi R, Sebastianutto N, Toniolo R, Pizzariello A. 2007. Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem*, 100, 481–489.
- [13] Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, (9), 14 – 19.
- [14] Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay - PubMed ». <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10381194/>.

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours une source inépuisable des molécules bioactives ayant montré leur efficacité dans le traitement de diverses maladies et restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale.

Le présent travail a été consacré à l'étude phytochimique et biologique de l'espèce végétale *Asteriscus graveolens* appartient à la famille Asteraceae connue pour sa richesse en divers métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique, ainsi que pour la bonne réputation de l'utilisation de cette plantes dans la médecine traditionnelle locale.

L'investigation phytochimique a débuté par la macération hydroalcolique des parties aériennes, suivie de l'extraction liquide-liquide par divers solvants à polarité croissante ont conduit à préparer plusieurs extraits organiques à savoir éther de pétrole, chloroforme acétate d'éthyle et *n*-butanol.

Le screening phytochimique effectué sur les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol a montré la richesse de cette plante en métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les stérols, les tanins, les saponosides et les terpènes.

La quantification des composés phénoliques et flavonoïdes totaux a été déterminés par les méthodes colorimétriques de Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement, les résultats ont révélé la présence des quantités importantes en polyphénols dans les deux extraits avec une teneur élevé dans l'extrait acétate d'éthyle. Pour ce qui est des flavonoïdes totaux, les résultats montrent que l'extrait *n*-butanol a représenté la teneur la plus élevée .

L'activité antioxydante des extraits AcOEt et *n*-BuOH de l'espèce *Asteriscus graveolens* a été évaluée par les méthodes du DPPH et ABTS. Les résultats ont montré que les extraits testés possèdent une bonne activité antioxydante grâce à sa composition riche en flavonoïdes et polyphénols, révélée par le dosage des flavonoïdes et des polyphénols totaux.

L'évaluation de l'activité antifongique des deux extraits nous a montré que l'extrait butanolique a produit des zones d'inhibitions plus grandes que l'extrait acétate d'éthyle.

Résumé :

Le présent travail a porté sur l'investigation phytochimique et biologique de l'espèce *Asteriscus graveolens* (Forsk.) dc. appartient à la famille Asteraceae. Cette dernière est connue pour sa richesse en divers métabolites secondaires possédant un grand intérêt thérapeutique. Un screening chimique effectué sur les extraits AcOEt et *n*-BuOH a révélé la présence de plusieurs groupements chimiques tels que les flavonoïdes, les stérols, les tanins, les saponosides et les terpènes.

La quantification des polyphénols et des flavonoïdes totaux des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol d'*Asteriscus graveolens* a été déterminées par des méthodes colorimétriques, Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats obtenus ont montré la richesse de cette plante en polyphénols et en flavonoïdes.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de l'ABTS, en utilisant l'acide ascorbique comme standard. Les résultats ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle présente l'effet le plus puissant par rapport à l'extrait *n*-butanol dans les deux méthodes testées avec des ($IC_{50}=16,5$ et $22,08$ $\mu\text{g/ml}$).

L'évaluation de l'activité antifongique des deux extraits nous a montré que l'extrait *n*-butanol a une meilleure capacité antifongique que l'extrait acétate d'éthyle.

Mots clés : *Asteriscus graveolens* (Forsk.) dc. Asteraceae, flavonoïdes, stérols, tanins, anthraquinones, activité antioxydante ,activité antifongique.

Abstract:

The present work focused on the phytochemical and biological investigation of the species *Asteriscus graveolens* (Forsk.) dc. belongs to the family Asteraceae. This last one is known for its richness in various secondary metabolites of great therapeutic interest. Chemical screening of AcOEt and *n*-BuOH extracts revealed the presence of several chemical groups such as flavonoids, sterols, tannins, saponosides and terpenes.

The quantification of polyphenols and total flavonoids in ethyl acetate and *n*-butanol extracts of *Asteriscus graveolens* was determined by colorimetric, Folin-Ciocalteu and aluminium trichloride methods respectively. The results showed that this plant is rich in polyphenols and flavonoids.

The antioxidant activity of the extracts was evaluated by the DPPH free radical scavenging method and that of ABTS, using ascorbic acid as the standard. The results showed that the ethyl acetate extract has the most powerful effect compared to the *n*-butanol extract in both methods tested with ($IC_{50}=16.5$ and $22.08 \mu\text{g/ml}$).

The evaluation of the antifungal activity of the two extracts showed that the *n*-butanol extract had a better antifungal capacity than the ethyl acetate extract.

Key words: *Asteriscus graveolens* (Forsk.) dc, Asteraceae, flavonoids, sterols, tannins, anthraquinones, terpenes, antioxidant activity, antibacterial activity, antifungal activity.

ملخص

ركز هذا العمل على على الدراسة الفيتو كيميائية والبيولوجية لنبته *Asteriscus gravolens* (Forsk.) dc . التي تنتمي إلى عائلة Asteraceae . حيث تعرف هاته الأخيرة بثرائها بمختلف انواع الايض الثانوي التي تعد مصدر للعلاج. كشف الفحص الكيميائي الذي تم إجراؤه على مستخلصي AcOEt و n-BuOH عن وجود عدة مجموعات كيميائية مثل الفلافونويدات ، الستيرويدات ، الثانينات، الأنثراكينون والتربينات.

تم تحديد كمية البوليفينول والفلافونويد الكلي لمستخلصات أسيتات الإيثيل و البوتانول لنبته *Asteriscus gravolens* بواسطة انطشق اللونية، Folin-Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها غنى هذا النبات بالبوليفينول والفلافونويد.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المستخلصات بطريقة إرجاع الجدر الحر DPPH و ABTS ، باستخدام حمض الأسكوربيك كمعيار. أظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل له التأثير الأقوى مقارنة بمستخلص ن-بيوتانول في الطريقتين المختبرتين بـ ($IC_{50} = 16.5$ و 22.08 ميكروغرام / مل).

أظهر تقييم النشاط المضاد للفطريات للمستخلصين أن مستخلص البوتانول له قدرة أفضل كمضاد للفطريات من مستخلص أسيتات الإيثيل.

الكلمات المفتاحية: *Asteriscus gravolens* (Forsk.) dc ، Asteraceae ، الفلافونويدات ، الستيرويدات ، الثانينات، الأنثراكينون ،التربينات، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للفطريات

<p align="center">Année universitaire : 2022-2023</p>	<p align="center">Présenté par : BELOUAHAD Sabrina BENSAMMAR Chaima</p>
<p align="center">Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne : <i>Asteriscus graveolens</i> (Asteraceae).</p>	
<p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en ..biochimie.....</p>	
<p>Résumé : Le présent travail a porté sur l'investigation phytochimique et biologique de l'espèce <i>Asteriscus graveolens</i> (Forsk.) dc. appartient à la famille Asteraceae. Cette dernière est connue pour sa richesse en divers métabolites secondaires possédant un grand intérêt thérapeutique. Un screening chimique effectué sur les extraits AcOEt et <i>n</i>-BuOH a révélé la présence de plusieurs groupements chimiques tels que les flavonoïdes, les stérols, les tanins, les saponosides et les terpènes. La quantification des polyphénols et des flavonoïdes totaux des extraits acétate d'éthyle et <i>n</i>-butanol d'<i>Asteriscus graveolens</i> a été déterminées par des méthodes colorimétriques, Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats obtenus ont montré la richesse de cette plante en polyphénols et en flavonoïdes. L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de l'ABTS, en utilisant l'acide ascorbique comme standard. Les résultats ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle présente l'effet le plus puissant par rapport à l'extrait <i>n</i>-butanol dans les deux méthodes testées avec des ($IC_{50}=16,5$ et $22,08 \mu\text{g/ml}$). L'évaluation de l'activité antifongique des deux extraits nous a montré que l'extrait <i>n</i>-butanol a une meilleure capacité antifongique que l'extrait acétate d'éthyle.</p>	
<p>Mots clés : <i>Asteriscus graveolens</i> (Forsk.) dc. Asteraceae, flavonoïdes, stérols, tanins, anthraquinones, activité antioxydante, activité antifongique.....</p>	
<p>Laboratoires de recherche : Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL) Université Frères Mentouri, Constantine 1.</p>	
<p>Encadreur : ACHOUB Hanane (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur 1 : BOUKHALFA Hayat (Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur 2 : BENSALIM Sara Ouissem (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	