



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE FRERES MENTOURI. CONSTANTINE 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biochimie et biologie cellulaire et moléculaire

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

Filière : sciences biologiques

Spécialité : biochimie appliquée

Thème

**Etude phytochimique et évaluation *in vitro* des activités
antioxydantes et enzymatique des extraits d'une plante
médicinale « *Paronychia argentea.L* »**

Présenté et soutenu par :

Benfalami Racha & Mouarsia Somia

Le : 16 /07/2019

Membres du jury

Présidente de jury : **Dr. HALMI Sihem** Maitre de conférences classe B-UFM Constantine 1

Rapporteur : **Dr. MADI Aicha** Maitre de conférences classe B-UFM Constantine 1

Examineur : **Dr. BENSOUICI Chawki** Maitre de recherche classe B, CRBT Constantine.

Année universitaire

2018/2019

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir donné la patience, la force et la volonté durant ces longues années d'études.

*Nous tenons à remercier notre encadreur **Dr.MADI Aicha**, Maître conférences classe B pour avoir dirigé ce travail et accepté de nous Encadrer et ses orientations durant toute la période du travail.*

*Qu'il nous soit ainsi permis de remercier très sincèrement **Dr. HALMI Sihem**, Maître de conférences classe B, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le Jury de ce mémoire.*

*Nous remercions également **Dr. Bensouici Chawki**, Maître de recherche classe B, d'avoir accepté d'examiner notre travail et qui nous ouvert les portes de son laboratoire durant notre stage et pour son suivi et son soutien au cour de ce stage.*

*Nos vifs remerciements vont au **Dr.Abdessemmed Alaa**, responsable du laboratoire d'analyses et control qualités qui nous ouvert les portes de son laboratoire durant notre stage.*

Nous remercions aussi tout le personnel rencontré au niveau du laboratoire de biochimie et CRBT pour leur gentillesse et leur disponibilité et à tous les étudiants de Graduation

« Master 2 » spécialité Biochimie appliquée.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Dieu tout puissant merci d'être toujours auprès de moi.

A ma **maman** qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études et durant toute ma vie.

A mon très cher **père** pour être le bon exemple de père par son soutien, ces encouragements et aides des mes premiers pas d'étude jusqu'à ce jour.

A mon cher frère **Walid** et sa femme **Wided** pour tous les sacrifices et les efforts qu'ils ont fait pour moi.

A mon cher fiancé **Ismail** qui m'a toujours poussé et aidé dans mes études et toute sa famille.

A mes meilleurs sœurs **Samah, Zahra** et leurs enfants. A ma chère collègue **Racha** et sa famille.

A tous mes amies sur tout **Wahiba, Iinda, Khawla, Loubna, Meriem, Karima, Romaissa** et ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.



Soumia

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Dieu tout puissant merci d'être toujours auprès de moi.

À mes très chers parents,

A celle qui est sacrifiée pour mes éducations, qui est ma source de confiance et qui fait tout pour ma réussite **ma chère mère : Saliha.**

Mon Cher Père Mokhter,

Qui peut être fier et trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie.

À Mon Mari Ibrahim,

Cher mari j'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience et à ta confiance avec moi que ce travail a pu voir le jour.

À ma très chère jumelle Rania,

Ce qui était à côté de moi dans les moindres détails de ma vie.

A ma belle Sœur Lyna,

Pour son aide dans les moments difficiles.

A ma petite Sœur Sirine, que dieu la garde.

À ma deuxième mère Hakima.

À mes chères cousines : **Djana** et sa mère, **IKrem, Yousra.**

À toute ma famille **Benfalami**, la famille **Sandeli** et la famille **Messiad.**

À mon cher binôme **Somia**, qui est partagée avec moi les moments difficiles.

À tous mes amis surtout : **Mouna, Wahiba, Linda, Loubna, Khawla, Meriem, Karima** et ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.



Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Structure des squelettes des polyphénols..... | 10 |
| Tableau 2 : Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme | 15 |
| Tableau 3 : Différents types des espèces réactives | 16 |
| Tableau 4 : Rendement d'extraction et les caractères de chaque extrait..... | 36 |
| Tableau 5 : Résultats de criblage phytochimique dans les fleurs de <i>Paronychia argentea.L...</i> | 37 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : <i>Paronychia argentea.L</i> | 3 |
| Figure 2 : Feuilles et les fleurs de <i>Paronychia argentea.L</i> | 4 |
| Figure 3 : Fleurs de <i>Paronychia argentea.L</i> | 4 |
| Figure 4 : Rôle central de la voie de l'acide shikimique dans la synthèse de différents métabolites primaires et secondaires..... | 8 |
| Figure 5 : Voie acétate-malonate..... | 9 |
| Figure 6 : Synthèse de polycéto-acides | 9 |
| Figure 7 : Structure de base des flavonoïdes | 11 |
| Figure 8 : Structures des différentes classes des flavonoïdes | 12 |
| Figure 9 : Squelette de base des flavonoïdes..... | 12 |
| Figure 10 : Biosynthèse des flavonoïdes | 14 |
| Figure 11 : Acide ascorbique..... | 20 |
| Figure 12 : Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique | 20 |
| Figure 13 : Sites d'action des nutriments et des enzymes antioxydantes | 21 |
| Figure 14 : <i>Paronychia argentea.L</i> prises en période de floraison (février 2019)..... | 24 |
| Figure 15 : Préparation de l'extrait méthanolique par macération et ultrason..... | 26 |
| Figure 16 : Différentes étapes d'extraction liquide – liquide..... | 27 |
| Figure 17 : Mécanisme d'action de DPPH..... | 31 |
| Figure 18 : Réaction du CUPRAC..... | 31 |
| Figure 19 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman's (AChE)..... | 34 |
| Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols..... | 40 |
| Figure 21 : Teneur en polyphénols des différents extraits..... | 40 |
| Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la quercétine Chaque point représente la moyenne \pm SD (n=3)..... | 41 |
| Figure 23 : Teneurs des flavonoïdes..... | 42 |
| Figure 24 : Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH par différents extraits..... | 43 |
| Figure 25 : Valeurs des IC50 exprimés en $\mu\text{g}/\text{ml}$ des extraits étudiés..... | 44 |
| Figure 26 : Courbes des absorbances en fonction des concentrations (CUPRAC)..... | 45 |

| | |
|---|----|
| Figure 27 : Valeurs des $A_{0.5}$ exprimés en $\mu\text{g}/\text{ml}$ des différents extraits | 46 |
| Figure 28 : Courbe des absorbances en fonction des concentrations (PR)..... | 47 |
| Figure 29 : $A_{0.5}$ des extraits et des standards..... | 47 |
| Figure 30 : Courbe de pourcentage d'inhibition de l'ABTS par les différents extraits..... | 48 |
| Figure 31 : Valeurs d' IC_{50} des extraits de <i>Paronychia argentea.L.</i> | 49 |
| Figure 32 : Courbe de pourcentage d'inhibition du test GOR par différents extraits..... | 50 |
| Figure 33 : Valeurs d' IC_{50} des extraits de <i>Paronychia argentea.L.</i> | 50 |
| Figure 34 : Courbe d'absorbance en fonction des concentrations des standards et les extraits du test Phenanthroline..... | 51 |
| Figure 35 : Différentes valeurs des $A_{0.5}$ de l'activité Phenanthroline..... | 52 |
| Figure 36 : Courbe de pourcentage d'inhibition de DMSO alcalin par les différents extraits..... | 53 |
| Figure 37 : Valeurs d' IC_{50} des extraits de <i>Paronychia argentea.L.</i> | 53 |
| Figure 38 : Pourcentage d'inhibition des extraits par l'enzyme AChE dans les différents concentrations..... | 54 |
| Figure 39 : IC_{50} des différents extraits et de standard..... | 55 |
| Figure 40 : Histogramme de comparaison de la puissance antioxydant..... | 56 |

Liste des abréviations

| | |
|---|--|
| % : pourcentage | EMé : Extrait méthanolique |
| µl : Microlitre | Fe²⁺ : anion de fer |
| A : Absorbance | FeCl₂ : chlorure de fer |
| A_{0,5} : la concentration à l'absorbance 0,5 | FCR : Réactif folin- ciocalteu |
| ABTS : 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) | H₂O : Eau |
| AChE : acétylcholinestérase | H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène |
| ACNH₄ : Acetate d'ammonium | H⁺ : anion d'hydrogène |
| Al³⁺ : anion d'aluminium | HCl : chlorure d'hydrogène |
| Al(NO₃)₃ : nitrate d'aluminium | IC₅₀ : Concentration d'inhibition à 50% |
| BHA : Butyl-hydroxy-anisole | K₃Fe(CN)₆ : ferricyanure de potassium |
| BHT : Butyl-hydroxy-toluène | KOH : hydroxyde de potassium |
| CH₃COOK : acétate de potassium | K₂S₂O₈ : persulfate de potassium |
| C₇H₆O₅ : acide gallique | M : masse en gramme de la poudre de drogue |
| C₁₅H₁₀O₇ : quercetine | m : masse en gramme de l'extrait sec |
| CuCl₂ : chlorure de cuivre | mg : Milligramme |
| C₁₇H₂₁NO₃ : galantamine | MeOH : Méthanol |
| C₂H₅OH : L'éthanol | nm : Nanomètre |
| C₂H₇NO₂ : acetate d'ammonium | NaOH : Hydroxyde de sodium |
| C₁₂H₈N₂ : phénantroline | Na₂CO₃ : Carbonate de sodium |
| C₁₄H₁₂N₂ : néocuproïne | NaHCO₃ : bicarbonate de sodium |
| DMSO : Diméthylsulfoxyde | NBT : Nitrobleutétrazolium |
| DPPH : 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl | NC : néocuproïne |
| EAG/g d'extrait : Equivalent d'Acide Gallique par gramme d'extrait | NH₄AC : acétate d'ammonium |
| EQ/g d'extrait : Equivalent de quercetine par gramme d'extrait | O²⁻ : Anion superoxyde |
| EAc : Extrait de fraction d'acétate d'éthyl | OH. : Radical hydroxyle |
| EAq : Extrait de la phase aqueux | PR : Pouvoir réducteur |
| EBu : Extrait de n-butanolique | R² : coefficient de corrélation linéaire |
| ECh : Extrait chloroformique | Rd : rendement |
| EEth : extrait de fraction d'éther de pétrol | RL : Radicaux Libres |
| g : Gramme | ROOH : Hydroperoxyde |
| | SOD : Superoxyde dismutase |
| | Sm : solution mère |
| | TCA : Acide trichloroacétique |

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Partie1 : Revue bibliographique

Chapitre 1 : Description botanique de la plante *Paronychia argentea. L*

| | |
|---|---|
| 1. Description botanique | 3 |
| 2. Dénomination de <i>Paronychia argentea.L</i> | 5 |
| 3. Classification et caractère botaniques..... | 5 |
| 4. Origine et air de répartition | 5 |
| 5. Composition et propriétés biologiques | 6 |
| 6. Propriétés biologiques et pharmacologiques..... | 6 |
| 7. Usage traditionnelle | 6 |

Chapitre 2 : Métabolites secondaire chez les plantes

| | |
|--|----|
| 1. Composés phénoliques..... | 7 |
| 1.1. Définition..... | 7 |
| 1.2. Biosynthèse des composés phénoliques..... | 7 |
| 1.3. Classification des composés phénoliques..... | 9 |
| 1.4. Rôle et intérêt des composés phénoliques..... | 15 |

Chapitre 3 : Activités biologiques des plantes médicinales

| | |
|---|----|
| 1. Stress oxydant | 16 |
| 1.1. Origine du stress oxydatif | 16 |
| 1.2. Radicaux libres dans le système biologique | 16 |
| 1.3. Différents types des radicaux libres | 16 |
| 1.3.1. Espèces réactives de l'oxygène (ROS) | 17 |
| 1.3.2. Espèces réactives de l'azote (RNS)..... | 17 |

| | |
|---|----|
| 1.4. Origine de production des radicaux libres | 17 |
| 1.5. Rôle pathologique des radicaux libres | 18 |
| 2. Antioxydants | 18 |
| 2.1. Généralité..... | 18 |
| 2.2. Modes d'action des antioxydants | 18 |
| 2.2.1. Antioxydants enzymatiques..... | 18 |
| 2.2.2. Les antioxydants non enzymatiques..... | 19 |
| 2.3. Différentes localisations cellulaires des antioxydants | 21 |
| 3. L'activité enzymatique | 22 |
| 3.1. Maladie d'Alzheimer | 22 |
| 3.2. Cibles thérapeutique de l'Alzheimer | 22 |
| 3.3. Acétylcholinestérase cible de traitement | 22 |

Partie2 : partie pratique

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

I. Matériel

| | |
|--|----|
| 1. Matériel végétale..... | 24 |
| 2. Réactifs chimiques et solvants..... | 24 |
| 3. Appareils utilisés | 24 |

II. Méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Préparation des extraits végétal..... | 25 |
| 1.1. Extraction solide-liquide | 25 |
| 1.2. Extraction liquide – liquide..... | 26 |
| 2. Rendement d'extraction | 27 |
| 3. Screening phytochimique | 28 |
| 4. Analyse quantitative des composées phénoliques..... | 29 |
| 4.1. Dosage de polyphénols totaux..... | 29 |
| 4.2. Dosage de Flavonoïdes..... | 30 |
| 5. Activités biologiques in vitro..... | 30 |
| 5.1. Activités antioxydantes | 30 |
| 5.1.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH..... | 30 |
| 5.1.2. Capacité de réduire l'ion cuprique (CUPRAC)..... | 31 |
| 5.1.3. Capacité de réduire l'ion ferrique (pouvoir réducteur)..... | 32 |

| | |
|---|----|
| 5.1.4. Capacité piégeage du radical-cation ABTS ^{•+} | 32 |
| 5.1.5. Activité de radical Galvinoxyl (GOR)..... | 32 |
| 5.1.6. ACTIVIT2 DE Phenontroline | 33 |
| 5.1.7. Test de l'activité scavenger du radical O ₂ ^{•-} (DMSO alcalin)..... | 33 |
| 5.2. Activités enzymatiques | 34 |
| 5.2.1. Activité Anti-Alzheimer (<i>anti acétylcholinestérase</i>)..... | 34 |

Chapitre 2 : Résultats et Discussion

| | |
|---|----|
| 1. Rendement d'extraction..... | 36 |
| 2. Screening phytochimique..... | 36 |
| 3. Analyse quantitative des composées phénoliques..... | 39 |
| 3.1. Dosage des polyphénols totaux..... | 39 |
| 3.2. Dosage des Flavonoïdes..... | 41 |
| 4. Activités biologiques..... | 43 |
| 4.1. Activités antioxydantes | 43 |
| 4.1.1. Test de l'activité scavenger du radical DPPH..... | 43 |
| 4.1.2. Capacité de réduire l'ion cuprique (CUPRAC)..... | 45 |
| 4.1.3. Capacité de réduire l'ion ferrique (pouvoir réducteur)..... | 46 |
| 4.1.4. Capacité piégeage du radical-cation ABTS ^{•+} | 48 |
| 4.1.5. Activité de radical Galvinoxyl (GOR)..... | 50 |
| 4.1.6. Activité de Phenanthroline | 51 |
| 4.1.7. Test de l'activité scavenger du radical O ₂ ^{•-} (DMSO alcalin)..... | 52 |
| 4.2. Activités enzymatiques | 54 |
| 4.2.1. Activité Anti-Alzheimer (<i>anti acétylcholinestérase</i>)..... | 54 |
| Conclusion | 57 |
| Annexe | 58 |
| Références bibliographiques | 63 |
| Résumé | 74 |

Introduction

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S); la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (**Adjanohoun et al., 1979**).

Actuellement, un grand intérêt est porté à l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales dans le cadre des soins de santé. Toutefois, cette utilisation demeure informelle en Algérie pour deux raisons. La première a trait à l'absence d'un cadre juridico-réglementaire encadrant utilisation des plantes médicinales traditionnelle et la phytothérapie. La seconde raison est l'absence d'éléments scientifiques validant l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales traditionnelles (**Madi., 2018**).

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche, dont le but principal est d'étudier les activités antioxydantes et enzymatiques des différents extraits des fleurs du *Paronychia argentea.L* qui est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter les calculs rénaux, le diabète, les maladies cardiovasculaires et l'urolithiase (**Mohammedi., 2013**) (**Zama et al., 2007**).

Peu d'études scientifiques ont été réalisées sur cette espèce et en particulier la partie aérienne. Cette dernière a fait l'objet de quelques explorations, où la présence des flavonoïdes et polyphénols en quantité très importante était validés. Sur le volet pharmacologique, des activités antioxydantes, antitumorales (**Bouanani., 2010**) et antimicrobiennes (**Mohammedi., 2013**) ont été mises en évidence.

Le but ultime de cette étude est d'approfondir les connaissances chimiques et pharmacologiques sur cette plante importante. Deux objectifs spécifiques sont fixés :

- Caractérisation phytochimique qualitative des différents groupes chimiques présents dans les fleurs de *Paronychia argentea.L*.
- Quantification des polyphénols et des flavonoïdes totaux des six extraits (EMé, EEth, ECh, EAc, EAq et EBu).
- Evaluation de l'activité antioxydante et leur activité enzymatique.

Notre travail sera présenté comme suit :

La première partie concerne la recherche bibliographique, réunit en trois chapitres distincts :

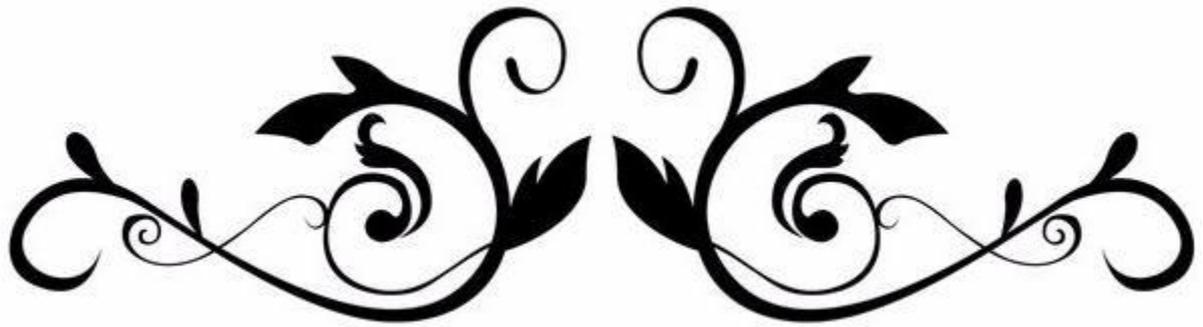
- ✓ Le 1^{er} chapitre : consacré aux aspects botaniques et l'étude chimique antérieure, incluant une présentation de la famille caryophyllacée, les propriétés biologiques de

genre *Paronychia argentea.L*, puis les principaux travaux phytochimiques sur ce genre et ses usages en médecine traditionnels.

- ✓ Le 2^{ème} chapitre : présentera les métabolites secondaires (les composés phénoliques), leur définition, leur classification et leur biosynthèse ainsi que leur intérêt thérapeutique.
- ✓ Le 3^{ème} chapitre : représentera le stress oxydant, les différents systèmes antioxydants, la maladie d'Alzheimer et une présentation générale de quelques tests de la capacité antioxydante et enzymatique (acétylcholine estérase)

La deuxième partie évoque nos travaux personnels menés en deux chapitres

- ✓ Chapitre 1 : consacré à la présentation des matériels et méthodes d'extraction des parties aériennes de *Paronychia argentea.L*, l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et enzymatique de cette espèce.
- ✓ Chapitre 2 : s'intéresse à la présentation et discussion de nos résultats obtenus de cette étude phytochimique et biologique.



*Partie 1. : Revue
Bibliographique*



Chapitre 1.

Description botanique de la plante

Paronychia argentea. L

L'espèce *Paronychia argentea*.L appartenant à la famille des *Caryophyllaceae*. Cette famille est importante avec 87 genres et environ 2300 espèces présentant une large répartition, cependant surtout caractéristiques des régions tempérées et chaudes de l'hémisphère nord. (Botineau, 2010; Perrier De La Bathie et al., 1950).

1. Description botanique

Paronychia argentea.L est une plante vivace (Sait et al., 2015) herbacée de 20 à 30cm d'hauteur, à souche épaisse, à tiges longue et couchées-étalées, à feuilles opposées, ovales-lancéolées, brièvement ciliées, presque glabres. (figure1) (Hippolyte Coste., 2011).



Figure 1 : *Paronychia argentea*.L

Elle est constituée des feuilles jusqu'à 5 mm de long et 2 mm de large, ne sont pas poilues, elles sont lancéolées linéaires et parfois ovales avec des pointes aiguës. Les lobes du calice sont de forme oblongue avec des marges membraneuses à capuchon et se terminant par une arrête aiguës à la pointe (figure 2) (Hamdan et Afifi., 2004, Afifi et al., 2005).



Figure 2 : Feuilles et fleurs de *Paronychia argentea.L*

Ses fleurs sont entourées de bractées argentées à 5 sépales verts qui se terminent par une pointe, elles n'ont pas de pétales et possèdent 5 étamines. Elles sont disposées en bouquets tout le long de la plante (**figure 3**) (Lamarck et al., 1805, Beloued., 2001) .

Son fruit est un utricule ovoïde (**Beloued, 2001**).



Figure 3 : Fleurs de *Paronychia argentea.L*

2. Dénomination de *Paronychia argentea.L*

Elle a été décrite en 1805 par Jean-Baptiste Pierre Antoine de Monet de Lamarck (Adjaj., 2016). D'après Mohammedi (2013) la plante est appelée :

- **En français** : Paronyque argenté, Thé Algérien, Thé arabe.
- **En anglais** : Silvery, Whittle-Wart, Mountain-knot-grass, Algerian Tea .
- **En arabe** : فئات الحجر, كسارة لاجر (Mohammedi., 2013), بساط الملوك, فرش ندة (Boudjelal et al., 2013) .

3. Classification et caractère botaniques

Selon l'étude faite par Adjajdj Moufida en 2016, l'identité taxonomique du *Paronychia argentea.L* est la suivante :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Embranchement : Phanerogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotyledons

Ordre : Caryophyllales

Famille : Caryophyllaceae

Genre : *Paronychia*

Espèces : *Paronychia argentea.L*

4. Origine et air de répartition

Paronychia vient du mot grec para, « près » et onux, « ongle » car la forme du calice de la plante est semblable à un ongle (Ait Abdeslam et Ait Atmane., 2013). Le nom *argentea* est dérivé du nom latin : argenteus ou argentum = d'argent « couleur argenté » (Servais et Seba., 2014).

C'est une espèce répandue dans le monde (dans les zones tempérées de tous les continents), spécifiquement dans la région méditerranéenne, Roussillon, Languedoc, Provence, Corse, Europe méridionale, Asie occidentale et l'Afrique septentrionale. Elle est largement distribuée à l'est de l'Algérie, on la rencontre dans les pâturages, les lieux arides, les plaines et les montagnes (Beloued., 2001, Zama et al., 2007). Le temps de floraison est de Janvier à Avril (Mohammedi., 2013).

5. Composition moléculaire

L'analyse phytochimique de la partie aérienne de cette espèce a révélé la présence de plusieurs composés qui sont les flavonoïdes, les polyphénols à teneur plus élevée et les terpénoïdes (**Al-Bakri et Afifi., 2007**) et d'après **Mohammedi (2013)**, la phytochimie qualitative montre la présence des tannins, des glycosides cardiotoniques, des stérols et des huiles volatiles ; par contre les alcaloïdes et les composés cyanogènes sont absents.

D'après **Alessandra et al en 2008**, le résultat d'une étude chimique sur la partie aérienne confirme l'isolation et la caractérisation de deux nouveau oléane saponine et une flavonol glycoside et six flavonoïdes connues.

6. propriétés biologiques et pharmacologiques

La plante possède une activité antioxydante et une activité immunomodulateur par l'activation des macrophages et la prolifération des lymphocytes sanguins périphériques (**Zama et al., 2005**).

Les extraits chloroformique de *Paronychia argentea.L* présentent une bonne activité antimicrobienne contre les souches : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Morganella morganii*. Les feuilles et fleurs sont utilisées pour traiter les calculs rénaux, le diabète et les maladies cardiovasculaires (**Mohammedi., 2013**) et elle est aussi utilisée comme agent antistress (**Zama et al., 2007**).

L'effet des extraits (aqueuse et butanolique) a pu être empêchant la conservation en calcul urinaire par la réduction de la nécrose rénale et empêchent ainsi la conservation en cristal et améliorer l'activité antitumorale (**Bouanani., 2010**). Cette herbe possède une activité anti hypertensive (**Cario et vallés, 2012**)

7. Usage traditionnelle

Chaque culture a des antécédents d'utilisation des plantes médicinales pour guérir les maux; toutes les études sur *Paronychia argentea* montrent que la partie aérienne est la partie utilisée en médecine traditionnelle (**Abu irmaileh et al., 2003; Zama et al., 2007 ; Abou Elkhair et al., 2010 ; Cario et Vallès, 2012**).

En Algérie, cette plante est utilisée pour traiter plusieurs troubles telles que les infections respiratoires, les douleurs abdominales et les maladies rénales (**Abu irmaileh et al., 2003; Bouanani et al., 2010**).

Au Portugal, elle est utilisée comme un analgésique en ulcère de l'estomac, l'anorexie et la flatulence (**Ferreira et al., 2006**). Les espagnoles l'utilisent pour traiter les troubles digestifs, l'eczéma et comme agent fébrifuge (**Santaya et al., 2005**).

Chapitre 2.

Métabolites secondaires chez les plantes

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques synthétisés par les végétaux à partir des métabolites primaires (acides aminés, hydrates de carbone) par diverses voies (Makhloufi., 2013).

Ils sont répartis en trois grandes familles chez les végétaux, sur la base de leurs voies de biosynthèse: les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (Krief., 2003) .

1. Composés phénoliques

1.1 Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les composés phénoliques les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Boizot et al., 2006).

1.2 Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques: voie de l'acide shikimique et la voie d'acétate – malonate.

A. Voie de l'acide shikimique

La voie du shikimate spécifique des bactéries et des plantes, assure la biosynthèse des acides aminés aromatiques : la tyrosine, le tryptophane et la phénylalanine. Ces acides aminés essentiels à la synthèse protéique sont aussi les précurseurs chez les plantes des voies de biosynthèse de nombreux métabolites secondaires indoliques ou aromatiques. La voie du shikimate démarre par la condensation du phosphoénolpyruvate et de l'érythrose-4- phosphate (deux composés issus du métabolisme primaire) en shikimate. Une succession d'étapes enzymatiques permet de produire le chorismate à partir duquel seront synthétisés, via 3 voies différentes, les 3 acides aminés aromatiques. Le tryptophane est le précurseur de nombreux composés (alcaloïdes ; indoliques, camalexine...) alors que la tyrosine est à la base de la synthèse de certains alcaloïdes et que la phénylalanine est le substrat de la première enzyme de la voie des phénylpropanoïdes (figure 4) (Hu et al., 2009).

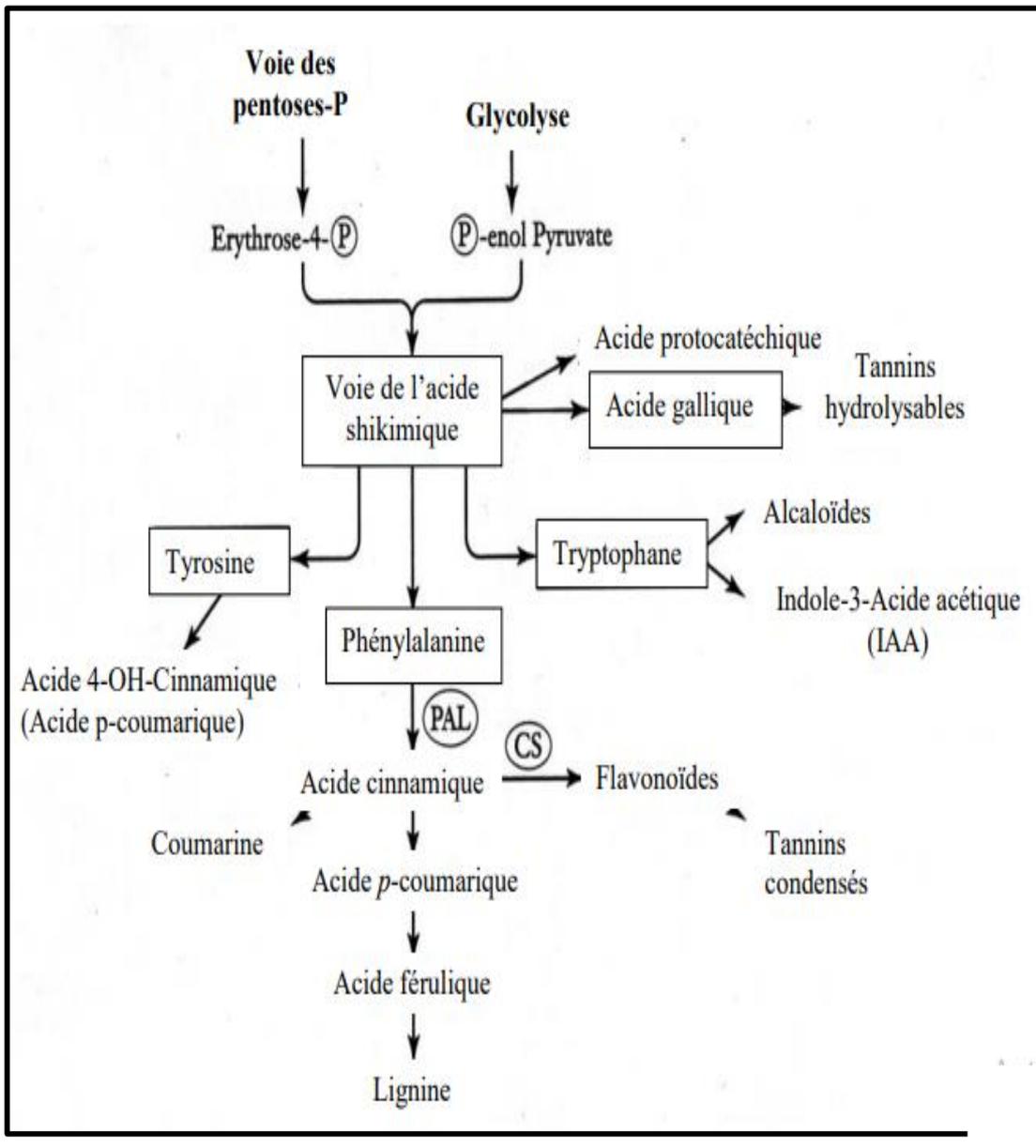


Figure 4. Le rôle central de la voie de l'acide shikimique dans la synthèse de différents métabolites primaires et secondaires (Hu et al., 2009).

*PAL = phénylalanine ammonia lyase.

*CS= chalcone synthase

B. Voie de l'acétate - malonate

Consiste à réaliser un ensemble de noyaux aromatiques par cyclisation de chaînes polycétoniques, elles mêmes obtenues par condensation de groupements acétate (figure 5) (Guignard., 1996).

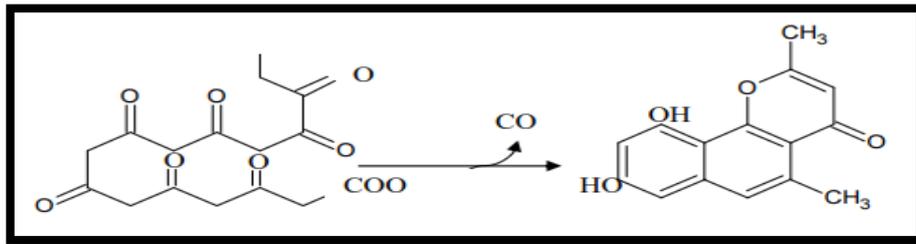


Figure 5 : Voie acétate-malonate.

Chez les végétaux supérieurs, cette voie des polyacétates concerne un petit nombre de composés. Cette seconde voie intervient pour réaliser un second noyau benzénique pour de nombreux composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie du shikimate : ce sont les composés mixtes dont les représentants les plus importants sont les flavonoïdes.

C'est la malonyl-CoA qui fournit par décarboxylation des unités en C2 pour allonger le complexe acyl-CoA. Ainsi, les deux voies responsable de la biosynthèse des composés phénoliques se rejoignent (figure 6) (Richter., 1993, Guignard., 2000, Guignard., 1996).

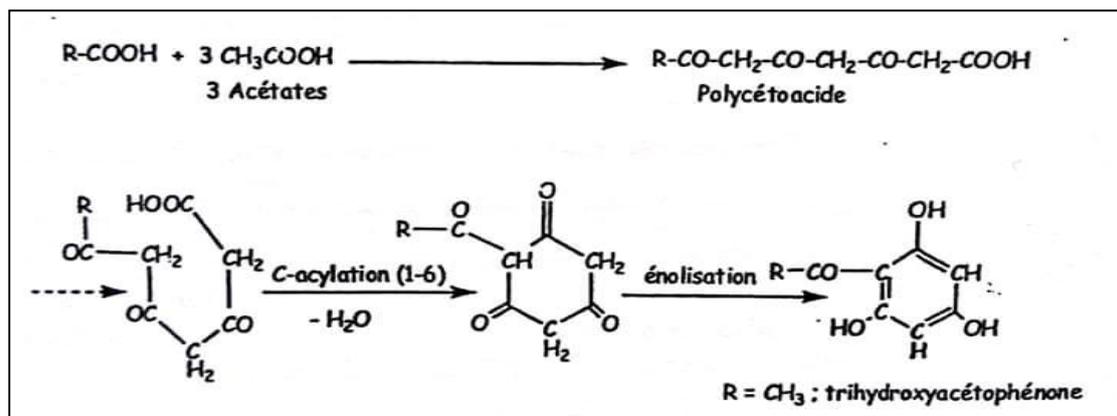
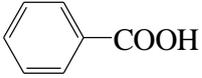
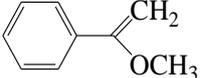
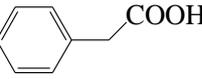
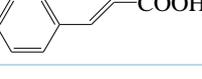
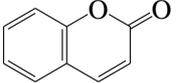
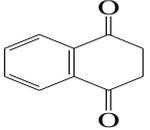
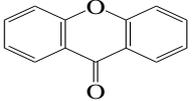
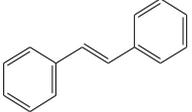
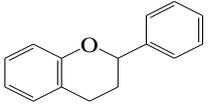


Figure 6 : Synthèse de polycéto-acides (Merghem., 2009)

1.3 Classification des composés phénoliques

Il existe environ 8000 composés phénoliques, allant de molécules à bas poids moléculaire à d'autres hautement polymérisés. Ils peuvent être liés à un ou plusieurs résidus sucrés ou ils peuvent être liés avec d'autres composés chimiques, tel que les acides carboxyliques, les amines ou les lipides (Tableau1) (Mratin et Andriantsitohaina., 2002).

Tableau 1 : Structure des squelettes des polyphénols (Crozier et al., 2006).

| Nbre de carbone | Squelette | Classification | Exemple | Structure de base |
|-----------------|-----------|--------------------------|-------------------------------|---|
| 7 | C6-C1 | Acides phénols | Acide gallique |  |
| 8 | C6-C2 | Acétophénonnes | Gallacetophénone |  |
| 8 | C6-C2 | Acides phénylacétique | Acide p-hydroxyphénylacétique |  |
| 9 | C6-C3 | Acides hydroxycinnamique | Acide p-Coumarique |  |
| 9 | C6-C3 | Coumarines | Esculetin |  |
| 10 | C6-C4 | Naphtoquinones | Juglone |  |
| 13 | C6-C1-C5 | Xanthonnes | Mangiférine |  |
| 14 | C6-C2-C6 | Stilbènes | Resérvatol |  |
| 15 | C6-C3-C6 | Flavonoïdes | Naringénine |  |

A. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement distribués dans les fruits, les tiges et les feuilles des légumes (Andrade et al., 1997). Ils sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires. Les acides phénoliques sont divisés en deux classes : les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque et les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.

✓ **Acide phénols dérivés d'acide benzoïque :**

Ils dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque (acide gallique), ils ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Brianceau., 2015).

✓ **Acide phénols dérivés d'acide cinnamique (Brianceau 2015) :**

Acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique. Ils ont une structure générale de base de type (C6-C3) et ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques (Brianceau., 2015).

B. Flavonoïdes

a. Définition

Le nom flavonoïde proviendrait du terme Latin flavus ; (flavus=jaune) (Malešev et Kuntić., 2007). Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées chez les plantes (Medić-Šarić et al., 2004). A l'exception des chalcones, quelques-uns sont bien connus comme étant de très forts antioxydants *in vitro* grâce à leur activité de captée des radicaux libres et chélation des ions métalliques (Kaur et Kapoor., 2002). Ils peuvent être présents dans toutes les parties des plantes (Rice-Evans et al., 1997), ou ils sont responsables de la couleur de ces derniers (Ferrerres et al., 1993). La structure de ces composés sont caractérisés par la présence de deux cycles benzoïques (A et B) et d'un hétérocycle oxygéné(C) (Figure 7) (El Kabouss et al., 2011 ; Carvalho et al., 2013).

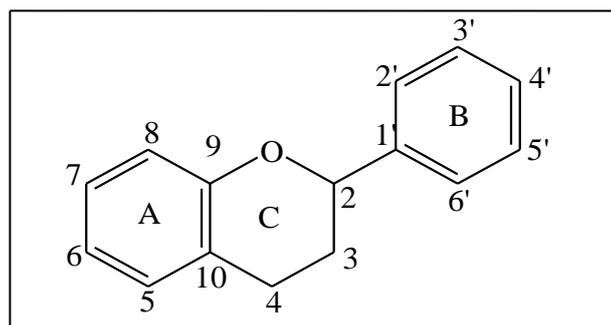


Figure 7 : structure de base des flavonoïdes (Oroian et Escriche., 2015).

b. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs sous-groupes qui sont principalement indiqués soit par: hydroxylation, O-méthylation, C-méthylation, isoprénylation, ou substitution de méthylènedioxy (Oroian et Escriche., 2015). Les sous-classes les plus

représentatives des flavonoïdes sont: les flavones, les flavanones, les flavonols; les anthocyanidines et les isoflavones (**Figure 8**) (Ziberna *et al.*, 2014).

| Classes | Structures | Molécules | Sources alimentaires majeures |
|-------------|------------|--|--|
| Flavonols | | Quercétines, kaempférol, myricétine. | Oignons, épinards, brocolis, tomates, thé, vin rouge |
| Flavones | | Apigénine, lutéoline | Céréales, plantes aromatiques, tisanes |
| Flavanones | | Hespérétine, naringénine, ériodictyol | Agrumes |
| Isoflavones | | Daidzéine, génistéine | Soja, légumineuses |
| Flavanols | | Monomères : Catéchines, gallocatéchine Polymères : proanthocyanidines | Cacao, thé ; pomme, fruits |
| Anthocyanes | | Cyanidine, pélargonidine, malvidine, delphinidine | Baies, fruits rouge, vin rouge |

Figure 8: Structures des différentes classes des flavonoïdes (Oroian et Escrich 2015).

c. Biosynthèse des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes possèdent un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Crozier., 2006).

Leur biosynthèse (**Figure 10**) se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6' tétrahydroxychalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone (1) : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)-flavanone-3- hydroxylase pour donner la formation de la flavone (2) : apigénine ou le dihydroflavonol (3) : (2R, 3R)-dihydrokaempférol, respectivement.

Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol (4) : kaempférol ou en flavan-3,4-diol (5) : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7) (**Figure 10**). Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées.

Le pélargonidol (7), sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8) : pélargonidol-3-glucoside (**Figure 10**). Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire.

A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone.

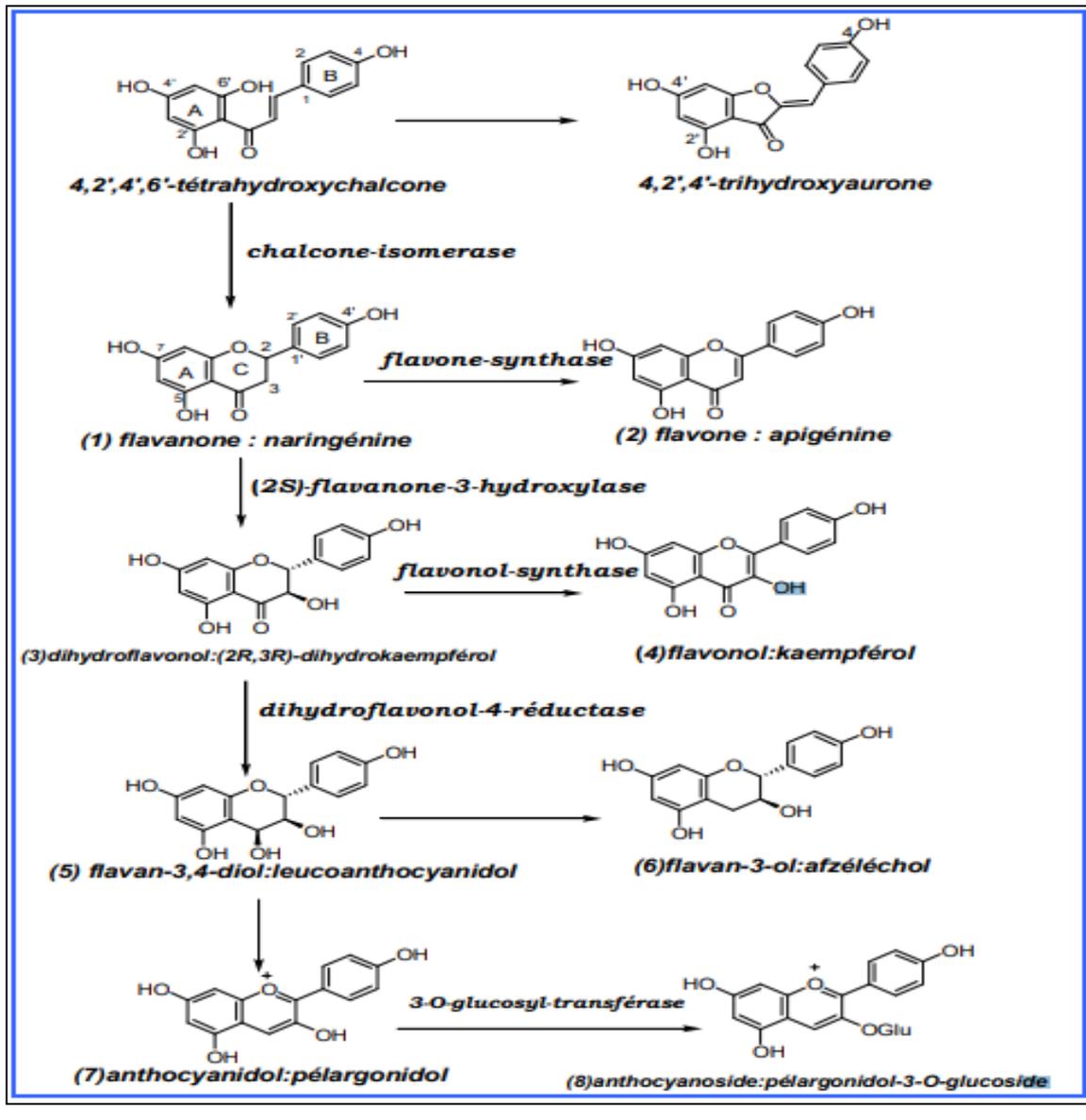


Figure 10 : La biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton., 1999).

C. Tanins

Ce sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, qui correspondent en deux classes: les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

➤ Tannins hydrolysables

Ce sont des hétéro-polymères dont l'hydrolyse chimique ou enzymatique libère autre molécule de glucose, de l'acide gallique « cas de gallotannins » (Merghem., 2009).

➤ Tannins condensées (Tannins vrais ou tannoïdes)

Ils résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavane-3-ol « catéchines » ou flavane 3 – 4 diols « leuco – anthocyanidines ». Les liaisons formées sont de type carbone-

carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables. Les tannins condensés sont également appelés proanthocyanidines ; en effet leur oxydation en milieu alcool-acide à chaud entraîne la formation de pigment anthocyaniques tels que cyanidine et delphinidine. C'est certainement ce type de molécules qui est dotée de propriétés remarquables chez les plantes qui en sont pourvues (Merghem., 2009).

1.4 Rôle et intérêt des composés phénoliques

- Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques) dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique.
- Ils possèdent plusieurs propriétés biologiques dans l'organisme sont citées dans le (Tableau2).

Tableau 2: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme (Muanda., 2010).

| Polyphénols | Activités biologiques |
|--|---|
| Acides phénols (cinnamiques et benzoïques) | Antibactériennes, antiulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydants |
| Flavonoïdes | Antitumorales, antiparasitaires, vaso, dilatoires, antibactériennes, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, antithrombotique, antiallergique |
| Tannins | Antioxydantes |
| Saponines | Antitumorale, anticancérigène,... |
| Phytostérols | Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons |

Chapitre 3.

Activités biologiques des plantes médicinales

1. Stress oxydant

Stress oxydant est une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxique, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (Favier., 2003).

1.1. Origine du stress oxydatif

On distingue deux types de production des radicaux libres: production endogène et production exogène (Bendif., 2017).

- ✓ **Production endogène** : des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Aurousseau., 2002) . des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées (Milan., 2004, Van Antwerpen., 2006).
- ✓ **Production exogène** : d'exposition à des agressions de l'environnement, comme, la pollution, les UV et le rayonnement... (Tamer., 2003).

1.2. Radicaux libres dans le système biologique

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomes ou molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés (électron célibataire). La tendance des électrons non appariés à interagir avec les autres molécules ou atomes voisins pour former des liaisons covalentes procure aux radicaux libres une très grande instabilité (Cheesman *et al.* , 1993) .

A des concentrations physiologiques, les radicaux libres jouent des rôles dans la signalisation, la migration et la différenciation cellulaire mais à des concentrations plus élevées, qu'ils induisent la mort cellulaire et l'apoptose (Salido et Rosado., 2009; Ziech et al., 2010).

1.3. Différents types des radicaux libres

Les différents types des radicaux libres sont résumés dans le (tableau 3)

Tableau 3 : Différents types des espèces réactives (Gutowski et Kowalczyk., 2013).

| Espèce radicalaires | | Espèce non radicalaires | |
|---------------------|----------------|-------------------------|----------------|
| Nom | Symbole | Nom | Symbole |
| Anio superoxyde | $O_2^{\cdot-}$ | Acide hypochlorique | HOCl |
| Monoxyde d'azote | NO^{\cdot} | Oxygène singulet | O_2 |
| Radical alkoxyde | RO^{\cdot} | Pyroxyde d'hydrogène | H_2O_2 |
| Radical hydroxyle | OH^{\cdot} | Peroxyde organique | ROOH |
| Radical peroxyde | ROO^{\cdot} | peroxynitrite | $ONOO^{\cdot}$ |

1.3.1. Espèces réactives de l'oxygène (ROS)

L'oxygène (O₂) est un élément essentiel pour des processus de la vie en aérobose. Cependant, environ 5 % ou plus de l'O₂ inhalé est converti en espèces réactives de l'oxygène (ROS). Il sont des médiateurs importants de la signalisation pendant divers processus biologique (Zhou et al., 2013).

1.3.2. Espèces réactives de l'azote (RNS)

RNS est produit de manière endogène à partir de L'arginine, de l'oxygène et du NADPH (Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) par plusieurs enzymes d'oxyde nitrique synthase (NOS) en réponse à un certain nombre de stimulus physiologiques. Le NO[•] est une espèce très réactives, il est impliqué dans le règlement d'un certain nombre de fonctions : la tension artérielle, phagocytes et l'activité antimicrobienne, homéostasie endothéliale et neuronale, adhérence de plaquette et de leucocyte et l'induction de l'apoptose (Marco., 2013).

1.4. Origine de production des radicaux libres

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène (Gauche et Hausswirth., 2006). On distingue deux types de production des radicaux libres: production endogène et production exogène (Bendif., 2017).

- ✓ **Production endogène** : des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Aurousseau., 2002). des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées (Milan., 2004, Van Antwerpen., 2006). du système xanthine déshydrogénase/ oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion (Li et al., 2002, Valko et al., 2004, Valko et al., 2006).
- ✓ **Production exogène** : d'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement (Tamer., 2003).

1.5. Rôle pathologique des radicaux libres

Les espèces activées de l'oxygène de part leur structure électronique instable peuvent attaquer les composants cellulaires et les molécules biologiques (protéines, les lipides, glucides et l'ADN) sont sujettes à l'attaque radicalaire, provoquant ainsi un dysfonctionnement dans les activités vitales des cellules à l'origine du développement de diverses pathologies (Mohammedi Z., 2013).

2. Antioxydants

2.1. Généralité

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable et capable de retenir ou inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles (Cano et al., 2007) .

2.2. Modes d'action des antioxydants

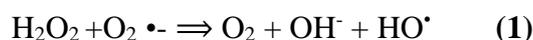
Le mode d'action d'un antioxydant peut comprendre le piégeage direct des ERO, l'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production d'ERO (Halliwell., 1996). Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydant dont les mécanismes d'action sont différents:

2.2.1. Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques représentent la composante la plus importante des systèmes de défenses cellulaires contre les attaques oxydatives.

2.2.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

La Superoxyde dismutase (SOD) réagit contre les produits toxiques de métabolisme cellulaire et catalyse la dismutation d' $O_2^{\cdot -}$ en H_2O_2 (Equation (1)) (Papa et al., 2014). Cette enzyme associée à des cofacteurs métallique: ions de cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD) c'est une forme cytosolique et nucléaire, manganèse (Mn-SOD) c'est une forme mitochondriale et une forme extracellulaire (EC-SOD) (Peng et al., 2014) .



2.2.1.2. Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme qui catalyse la transformation d' H_2O_2 en H_2O et oxygène moléculaire (**Equation (2)**) (**Bonnefont et Collin., 2010**). Il se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules (**Tokarz et al., 2014**) .



2.2.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation d' H_2O_2 en H_2O et O_2 et la réduction de divers hydroperoxydes lipidiques. Lors de cette réaction (**Equation 3**), deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion disulfure (GSSG) (**Jacquot., 2013**). Le GSSG ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) utilisant le NADPH comme donneur d'électron (Equation 4) (**Foyer et al., 2008 , Lonn et al., 2012**) . Ces deux enzymes sont localisés dans le cytosol et dans les mitochondries (**Sorg., 2004**) .



2.2.2. Antioxydants non enzymatiques

2.2.2.1. Système antioxydants endogènes

Ces systèmes antioxydants incluent la bilirubine, l'acide urique et de nombreux thiols dont la majoritaire est le glutathion (GSH).

Le GSH joue son rôle d'antioxydant en tant que substrat d'enzymes antioxydant tel que les glutathion peroxydase (GPx). En effet, le glutathion prévient l'oxydation des groupements thiols par le biais de son pouvoir réducteur. Il peut également chélater les ions cuivreux Cu^+ et limiter ainsi leur participation à la réaction de Fenton. IL est directement impliqué dans la réparation des atteintes oxydatives de l'ADN (**Théron et Denis., 2005**) .

2.2.2.2. Systèmes antioxydants exogènes

A. Vitamines

Parmi lesquelles :

- **Vitamine C (Vit C) (figure 11)** : est un puissant réducteur qui joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (**figure 12**) (**Mohammedi., 213**) et empêche l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) produites par divers systèmes générateurs des ROS (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase) (**Limbach et**

Guilland, 2007). La Vit C est localisé dans le cytosol et le fluide extracellulaire, elle capte directement l'O₂⁻ et l'OH⁻ (Comhair et Erzurum., 2002, Peng et al., 2014) .

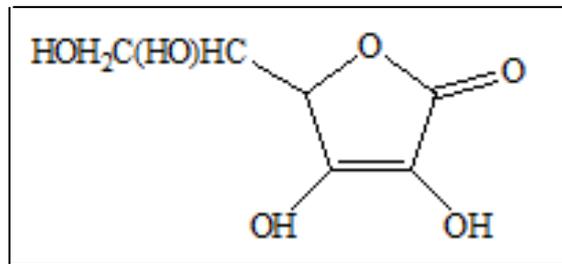


Figure 11 : L'acide ascorbique.

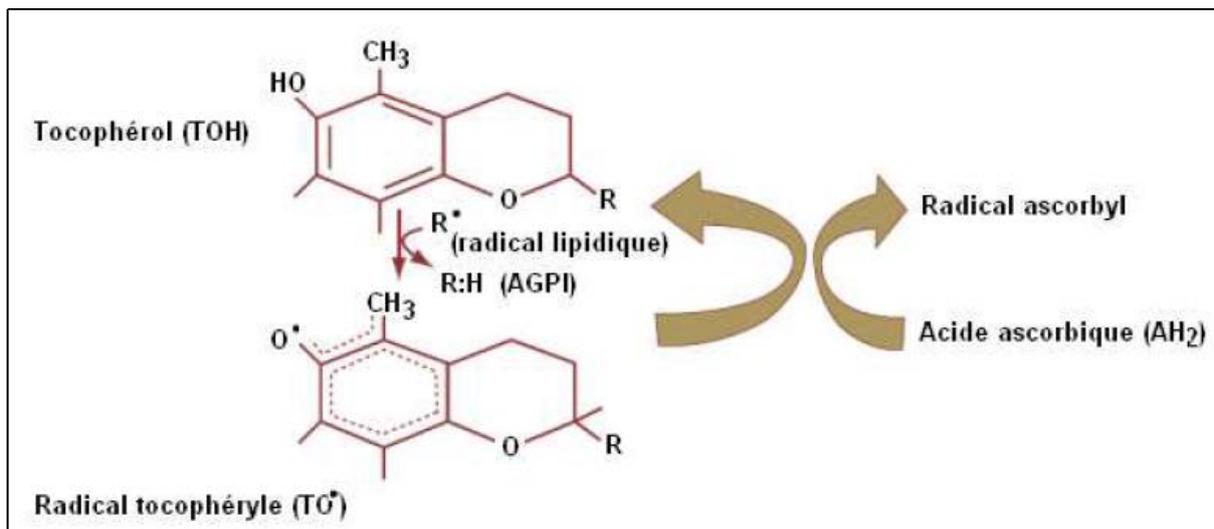


Figure 12 : Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique (Mohammedi., 2013) .

- **Vitamine E ou tocophérol** : Les quatre isomères de tocophérol, α , β , γ et δ , ont une activité antioxydante variable (Limbach et Guilland., 2007). Mais la forme la plus active c'est α , elle est liposoluble et se fixe à la membrane cellulaire et inhibe la chaîne des réactions de peroxydation des lipides en capturant un radical lipidique peroxyde (LOO[•]).

Elle devient à son tour un radical moins actif que le LOO[•] et pourra alors être pris en charge par une autre molécule antioxydante (Evans., 2000). Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Ahmet., 2003) .

B. Composés phénoliques

En particulier les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes. Leur capacité antioxydantes réside dans leurs faculté à « terminer » les chaine radicalaires par des mécanismes de transfert d'électron, de proton, la chélater des ions des métaux de transition et aussi capable de catalyser la peroxydation lipidique (Leopoldini et al., 2011) .

2.3. Différentes localisations cellulaires des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en molécules liposolubles ou hydrosolubles selon leurs caractéristiques physico-chimiques, ils auront une localisation cellulaire préférentielle (**Figure 12**), les membranes cellulaires pour les substances liposolubles et le cytosol et/ou le milieu extracellulaire pour les substances hydrosolubles (**Pastre, 2005**).

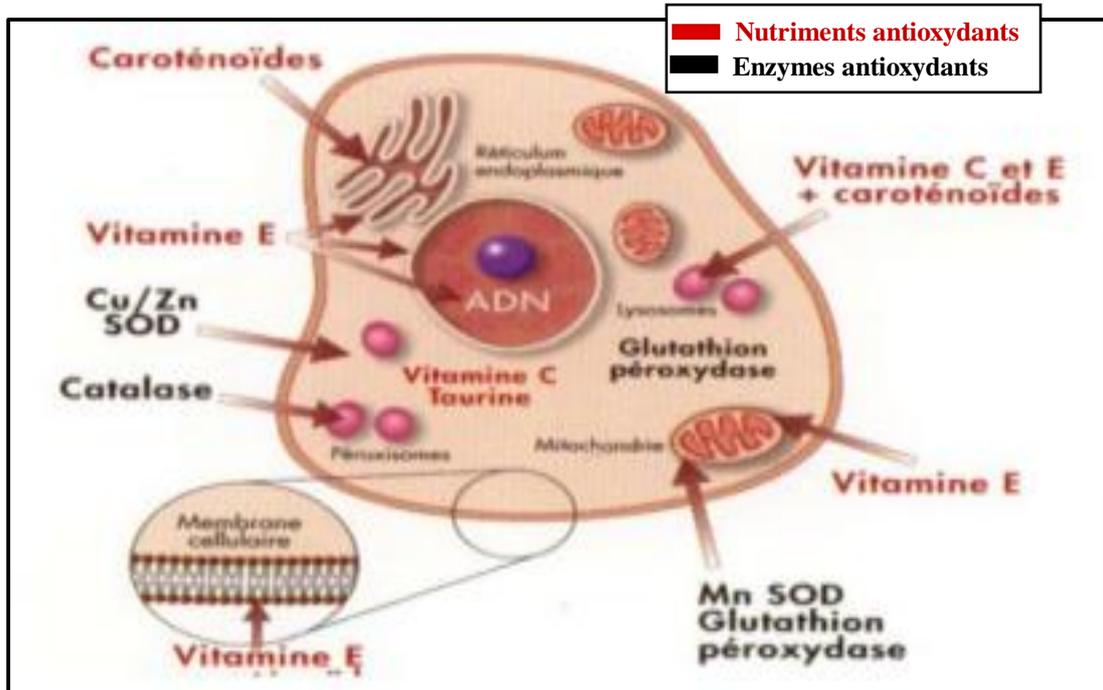


Figure 13 : Sites d'action des nutriments et des enzymes antioxydantes (**Pastre., 2005**).

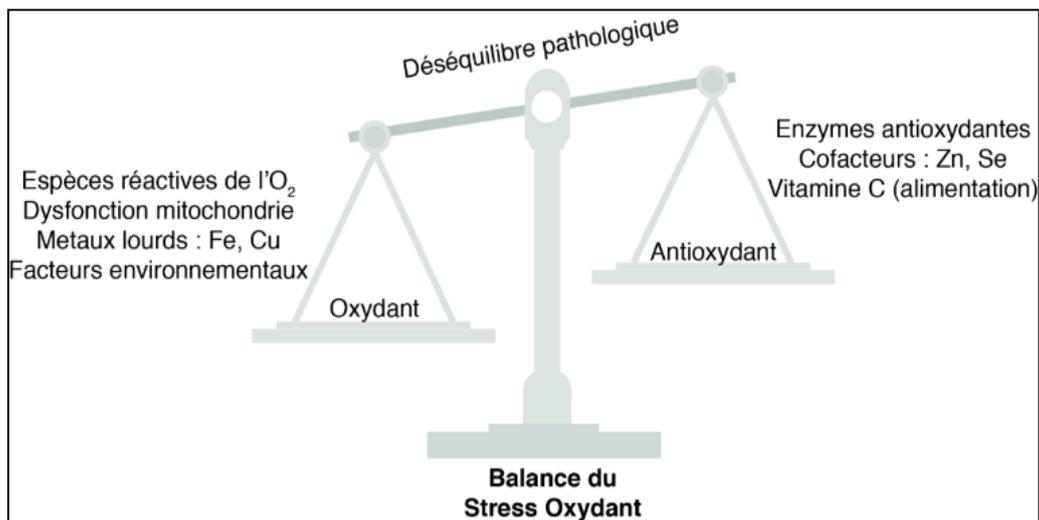


Figure 14 : Balance radicaux libres/ antioxydants

3. Activité enzymatique

3.1. Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neuro-dégénérative progressive et irréversible du système nerveux centrale. Elle va détruire petit à petit les neurones de l'hippocampe qui gèrent la mémoire, puis ceux qui sont impliqués dans toutes les autres fonctions cognitives (le langage, l'émotion, le raisonnement, l'intelligence...) (**Delacourte., 2005**).

Cette pathologie dont l'étiologie n'est toujours pas connue, est caractérisé par des lésions histopathologiques bien précises qui sont les plaques séniles (dus à l'accumulation du peptide β -amyloïde) et les dégénérescences neurofibrillaires (dus à l'hyperphosphorylation de la protéine tau) et qui sont associées à une perte neuronale avec atrophie corticale. Ces lésions touchent principalement les voies cholinergiques ce qui va entraîner une diminution de l'acétylcholine. ce dernier est un neurotransmetteur qui joue un rôle important dans le système nerveux central, où il est impliqué dans la mémoire et l'apprentissage. La MA survient tardivement dans la vie, à l'exception de rares cas d'apparition précoce dus à la présence de mutations génétiques familiales. (**Derouesné et Selmés., 2005**).

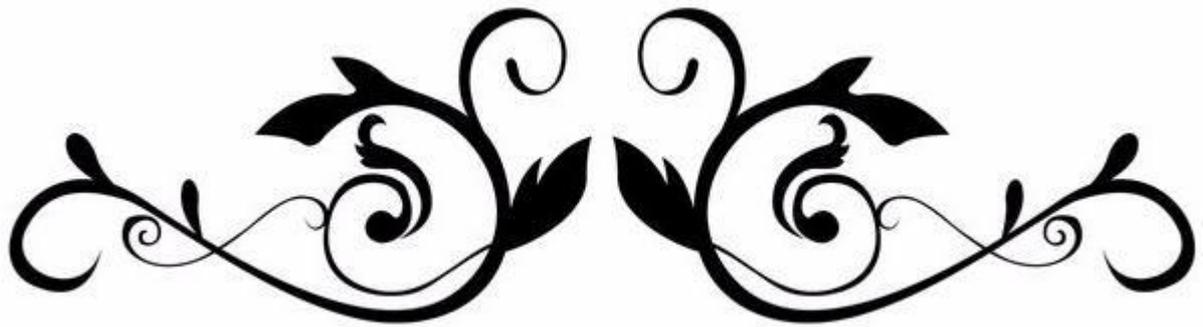
3.2. Cibles thérapeutique de l'Alzheimer

Les traitements spécifiques prescrits à ce jour dans le cadre de la maladie d'Alzheimer sont des traitements symptomatiques qui ciblent directement l'acétylcholinestérase et le récepteur de glutamate (NMDA).

3.3. Acétylcholinestérase cible de traitement

L'acétylcholinestérase (AChE) : une protéine exprimée dans le système nerveux et sanguin des eucaryotes appartient à une famille d'enzyme qui catalyse l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) en choline et en acide acétique, située principalement dans la fente synaptique.

Le principal rôle biologique de l'acétylcholinestérase est la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques centrales et périphériques, afin de permettre aux neurones cholinergiques de revenir à l'état de repos après leur activation par des influx nerveux (**Anglaiset Webster.,2011**). Chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, la concentration d'acétylcholine est diminuée, ce qui explique les troubles cognitifs observés. La solution pour augmenter le taux d'acétylcholine au niveau synaptique consiste alors à diminuer sa dégradation, ceci en inhibant l'action de l'acétylcholinestérase (**Nourhashémi., 2006**).



Partie 2

Partie pratique



Chapitre 1.

Matériel & Méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire d'analyses et control qualités physicochimiques et laboratoire d'analyses biochimiques dans le Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) puis laboratoire de biochimie dans l'université des Frères Mentouri, Constantine 1, Algérie.

I. Matériel

1. Matériel végétale

Nous avons utilisés la partie aérienne (fleurs) de *Paronychia argentea.L* qu'a été récolté au stade de floraison (Février 2019) de la région montagneuse Terfana de l'agglomération El-Hambli (Constantine) (**figure 14**) sécher à température ambiante dans un endroit sec pendant quelque jours jusqu'au moment de préparation des extraits.



Figure 14 : *Paronychia argentea.L* prises en période de floraison (Février 2019).

* (A) la partie aérienne

* (B) la plante entière

* (C) les fleurs après le séchage.

2. Réactifs chimiques et solvants

Dans cette étude nous avons utilisée : méthanol, éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol comme solvant et les réactifs chimiques : $K_2S_2O_8$, ABTS, C_2H_5OH , α -Tocophérol, DPPH, BHA, BHT, $C_{15}H_{10}O_5$, $C_2H_7NO_2$, Neocupronine, Galvinoxyle, $C_{12}H_8N_2$, $FeCl_3$, TCA, $K_3Fe(CN)_6$, phosphate buffer, Eau distillée, DMSO, NBT, NaOH, $Al(NO_3)_3$, CH_3COOK , FCR, Na_2CO_3 , $C_7H_6O_5$, $CuCl_2$, Na_2HPO_4 , $NaHCO_3$, NaOH, ACI , AChE, $C_{17}H_{21}NO_3$,

3. Appareils utilisés

Bain ultrasonique – Evaporateur rotatif de type Buchi R-200 – Ultrason de type Vibra Cell – Micropipette – Balance de précision – Lecteur de microplaque - Bain marie – Etuve.

II. Méthodes

1. Préparation des extraits végétal

Dans notre étude, l'extraction est effectuée par deux méthodes: l'extraction solide - liquide et l'extraction liquide – liquide.

1.1. Extraction solide-liquide

Cette technique est effectuée par deux méthodes :

a) Extraction par macération (EAM)

La macération est une technique d'extraction la plus simple, elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation qui permet d'extraire certains espèces chimiques d'intérêt.

b) Extraction par ultrasons (EAU)

EAU est une technique peu onéreuse, utilisable avec n'importe quel type de solvant et simple à mettre en place. En effet, l'extraction peut être réalisée de manière très simple en utilisant un bain à ultra-sons, ce qui par-ailleurs permet d'effectuer plusieurs extractions simultanément ou via une sonde ultrasonore combinée à un agitateur (VINATORU et al., 1997).

➤ Protocol d'extraction solide-liquide

On met 150g de poudre végétale avec 1.5 L de système solvant (70% méthanol et 30% eau distillée) puis on le met dans ultrason (VIBRO-CELL) pendant 1h. Ensuite on laisse cette solution en macération pendant 24 h à température ambiante. Après filtration, Chaque étape d'extraction est refaire trois fois avec renouvellement du solvant.

A la fin de l'extraction, l'extrait hydro-méthanolique (EHMet) a été concentré sous vide au l'évaporateur rotatif (BÜCHI) à la température 40°C, Puis cette extrait a été séché à l'air libre dans des boites de pétrie. L'extrait réalisé est ensuite stocké à température -4°C jusqu'à leur utilisation (Figure 15).

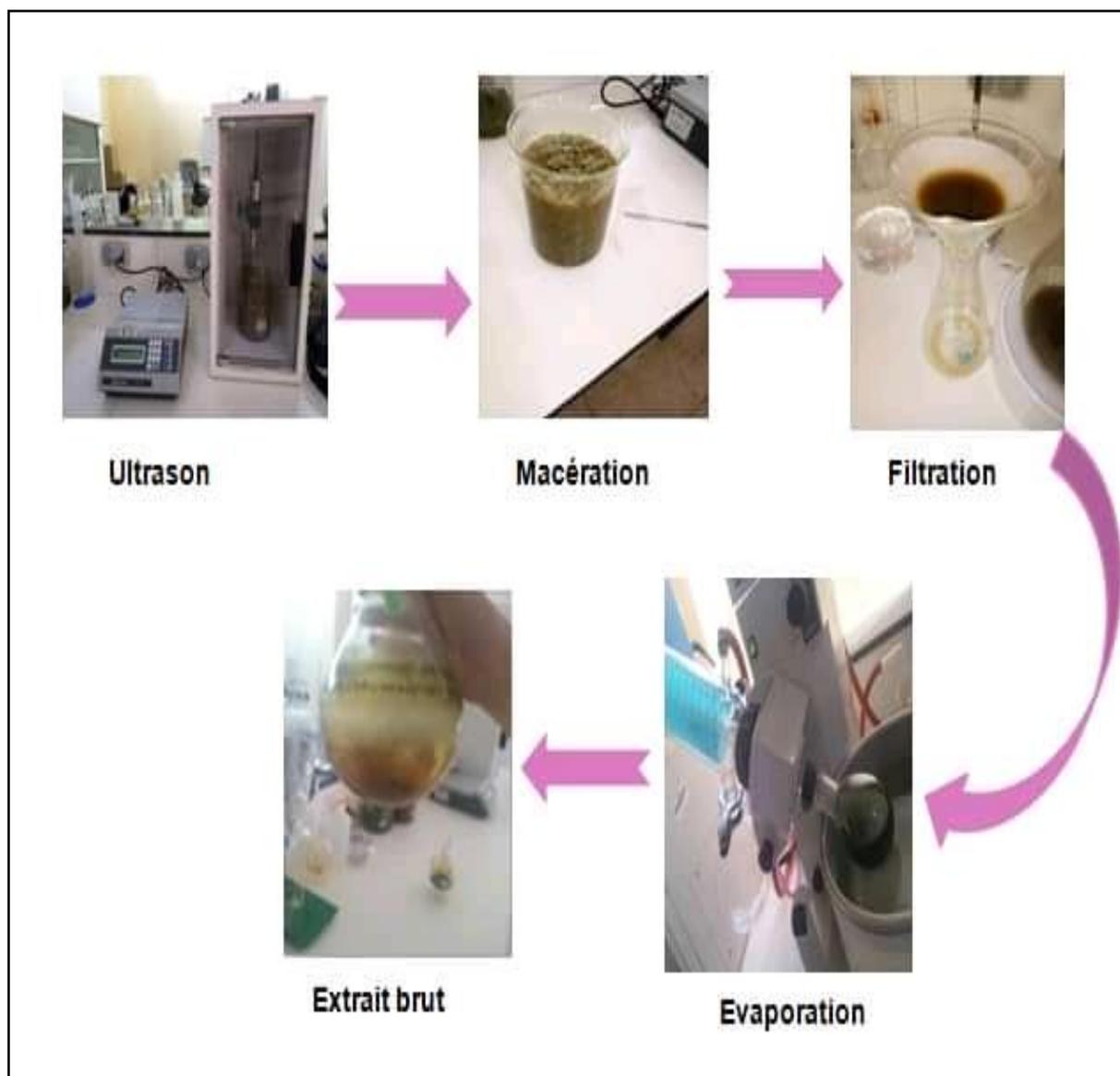


Figure 15 : Préparation de l'extrait méthanolique par macération et ultrason.

1.2. Extraction liquide-liquide

L'extrait méthanolique obtenu par l'extraction solide – liquide est soumis à une deuxième extraction de type liquide - liquide à fin de pouvoir séparer les métabolites secondaires selon leurs polarités. Dans ce cas, nous avons utilisé: l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol, toutes les étapes d'extraction sont résumées dans la (**figure 16**).

Après, cette étape on a obtenu respectivement des fractions à différentes polarités (EEth, ECh, EAc, EBu, EAq et EMé) (**figure 16**).

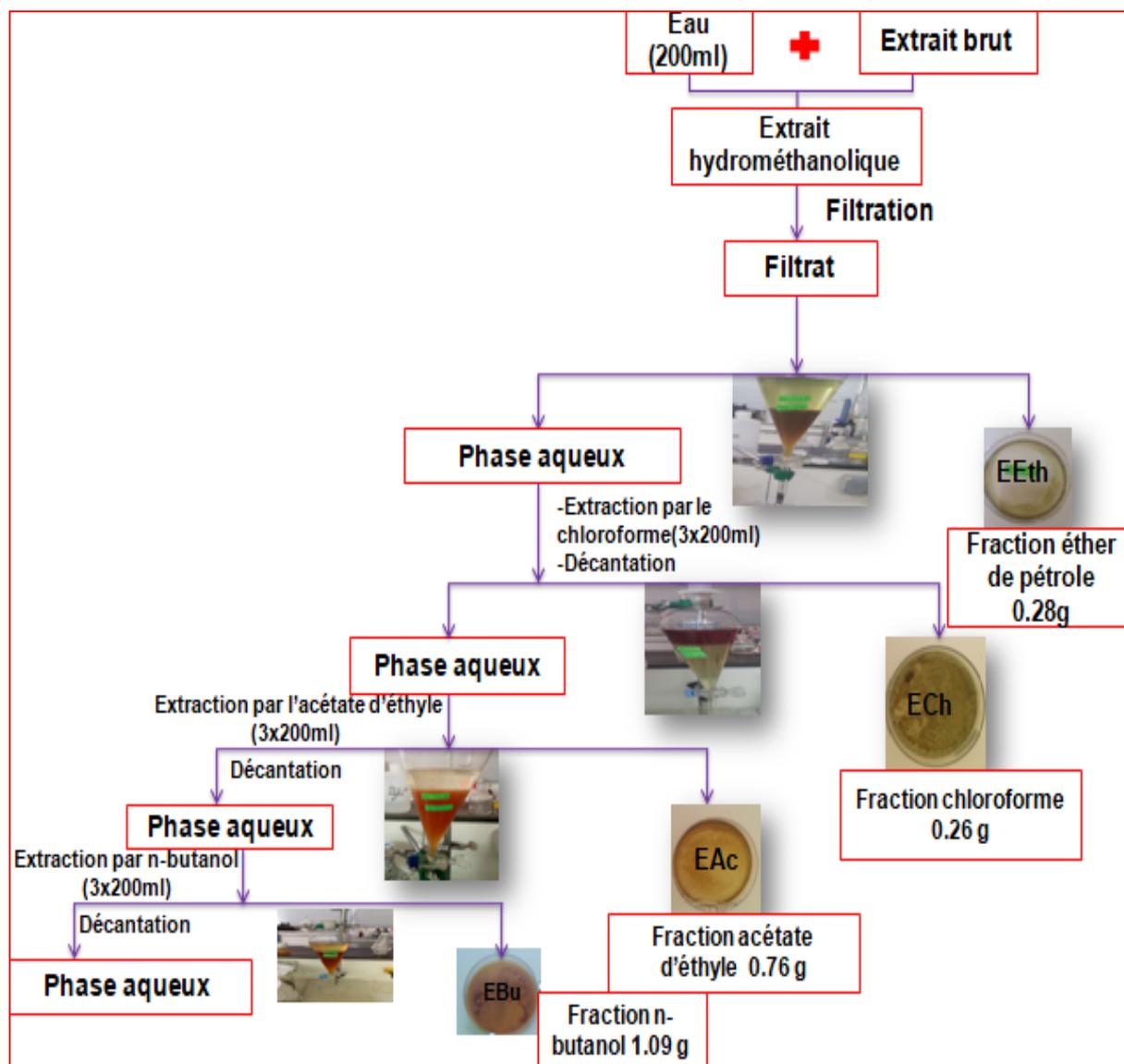


Figure 16 : Différentes étapes d'extraction liquide – liquide.

2. Rendement d'extraction

Le rendement est la quantité d'extrait obtenu à partir de la poudre végétale. Il est exprimé en pourcentage ou en unité. En pratique, il est déterminé par le rapport du poids de l'extrait sec après évaporation sur le poids de la poudre de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction, multiplié par 100. Ceci traduit par la formule suivante:

$$\text{Rd} = (m \times 100) / M$$

(**Rd**: rendement d'extraction en pourcentage, **m**: masse en gramme de l'extrait sec, **M**: masse en gramme de la poudre de drogue) (Gnahoué et al.,2015).

3. Screening phytochimique

Ce sont des analyses qualitatives qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal et elles sont des réactions physicochimiques qui permettent de définir la présence ou non des métabolites secondaires.

3.1. Alcaloïdes

Test d'alcaloïde ou test de Mayer : l'extrait est repris dans quelques ml d'HCL 50%. La formation d'un précipité jaune, après l'ajout de quelques gouttes du réactifs de Mayer, témoigne la présence d'alcaloïdes, ce test est fondé sur la capacité qu'on les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds (Dohou et al., 2003).

3.2. Tanins condensés

Un aliquote d'extrait repris dans 2ml d'eau distillée et ajouter quelques gouttes d'HCl concentré, le tout est chauffé au bain marie bouillant. La formation d'un précipité rouge indique un test positif (Yves-Alain et al., 2007).

3.3. Stéroïdes

Les stéroïdes sont mis en évidence par dissoudre chaque extrait dans 1 ml de chloroforme et ajouter 1 ml d'acide sulfurique concentré. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couche supérieure de couleur rouge (Trease & Evans., 1978).

3.4. Quinones libres

On mélange 2 ml d'extrait avec quelques gouttes de NaOH (1/10). L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Najja et al., 2011).

3.5. Flavonoïdes

La présence ou l'absence des flavonoïdes dans un extrait peut être mise en évidence par un test simple et rapide. On met quelques gouttes de HCl concentré (2N) et 0.5 g de Mg dans 5 ml de l'extrait et laisse agir 3 min. La coloration rose-rouge ou jaune, après 3 min d'incubation à température ambiante, indique la présence des flavonoïdes (Karumi et al., 2004).

3.6. Flavonoïdes glycosides

On mélange 2 ml de l'extrait dilué dans le méthanol avec 1 ml d'hydroxyde de potassium (KOH) à 1%. L'apparition d'une couleur jaune, révèle la présence des flavonoïdes glycosides (Iqbal et al., 2011).

3.7. Sucres réducteurs

5 ml de liqueur de Fehling est ajouté à 5 ml de l'extrait. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (Yves Alain et al., 2007).

3.8. Saponines

La détection des saponines est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 1 ml de l'extrait. Par la suite, cette solution est fortement agitée. Après 15 min de repos, la détection des saponines se traduit par la persistance d'une mousse d'eau moins 1 cm après les 15 min (Dohou et al., 2003, Koffiet et al., 2009).

3.9. Anthocyanines

On mélange 5ml d'extrait avec 4ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH₄OH) concentré (30%). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanines (Bidie et al., 2011).

4. Analyse quantitative des composées phénoliques

4.1. Dosage de polyphénols totaux

Cette méthode est basée sur les réactions d'oxydoréductions, le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) de couleur jaune, est utilisé comme oxydant. Lors de l'oxydation des polyphénols, le Folin est réduit en un mélange bleu d'oxyde de tungstène et de molybdène et ça en présence de carbonate de sodium. L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux des polyphénols présents dans les extraits (Ribereau-Gayon., 1968).

➤ Protocole

Un volume de 20 µl d'extrait de plante (Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de Méthanol) avec 100µl de FCR dilué (1 :10) et 75 µl de carbonate de sodium. Le mélange a été incubé à température ambiante à l'obscurité pendant 2h et l'absorbance est lue à 765 nm par un lecteur des microplaques. Un blanc d'échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol). L'acide gallique est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait) (Muller et al., 2010).

4.2. Dosage de Flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement OH libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium (AlCl_3) un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} , la coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Ribereau Gayon., 1968**).

➤ Protocole

La teneur en flavonoïde des extraits a été déterminée selon la méthode de **Topçu et al** en **2007**. Un volume de 50 μl d'extrait sont ajoutés à un mélange de 130 μl méthanol + 10 μl de la solution 1 (potassium acétate (CH_3COOK)) + 10 μl de solution 2 (nitrate d'aluminium) + ce mélange est incubé durant 40 min, l'absorbance est mesurée à 415 nm par un lecteur des microplaques. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine ou de rutine par grammes d'extrait (mg EQ / g).

*(S₁) : 9.80 g de CH_3COOK 1 M dans 100 ml d'eau distillé.

*(S₂) : Une masse de 1 milligramme d'extrait de plante est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution.

5. Activités biologiques

5.1. Activités antioxydantes

L'évaluation de l'activité antioxydante d'un produit peut se réaliser selon plusieurs méthodes. Au cours de cette étude nous avons choisi les tests suivants :

5.1.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH

Le test DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle) a été utilisé par **Blois** en **1958**, ce test consiste en la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire DPPH (radical chromogène stable avec une profondeur couleur violet) en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire DPPH-H (**Figure 17**). En effet, la présence des radicaux DPPH-H donne une coloration jaune à la solution (**Zhong., 2015**).

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de radical DPPH} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs Extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

La valeur d'IC 50 a été déduite à partir des résultats obtenus, dont 50% des radicaux libres ont été piégés. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte capacité à neutraliser le radical libre DPPH.

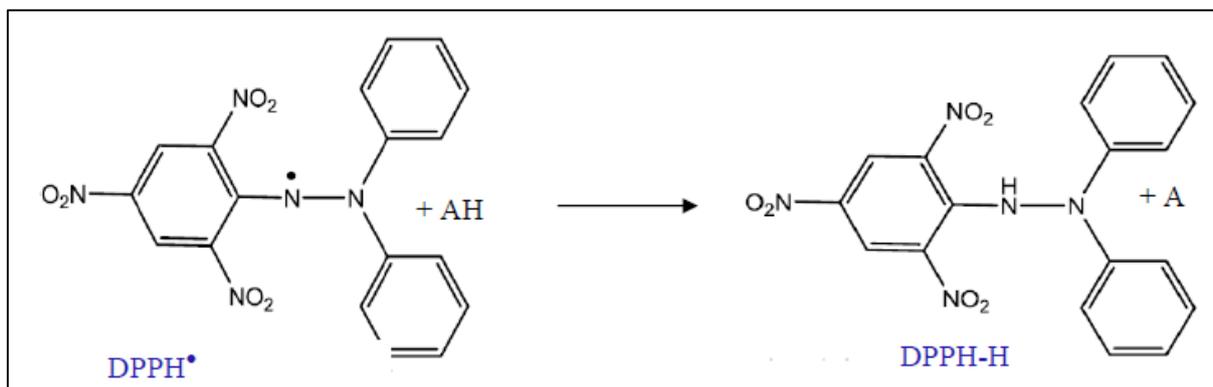


Figure 17 : Mécanisme d'action de DPPH.

➤ Protocole

L'activité antioxydant des extraits (méthanolique, éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol) étaient évalués en prenant 40µl de chaque extrait + 160µl de DPPH. Toutes les expériences ont été répétées 3 fois dans une microplaque de 96 puits. L'absorbance a été mesurée par un lecteur des microplaques à 517 nm après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante.

5.1.2. Capacité de réduire l'ion cuprique (CUPRAC)

Test de la capacité antioxydant par réduction de cuivre (CUPRAC) est basée sur le suivie de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproïne (Nc), cuivre (Cu^{2+}) [$\text{Nc}_2\text{-Cu}^{2+}$] (Figure 18). En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne est réduit (Apak et al., 2004).

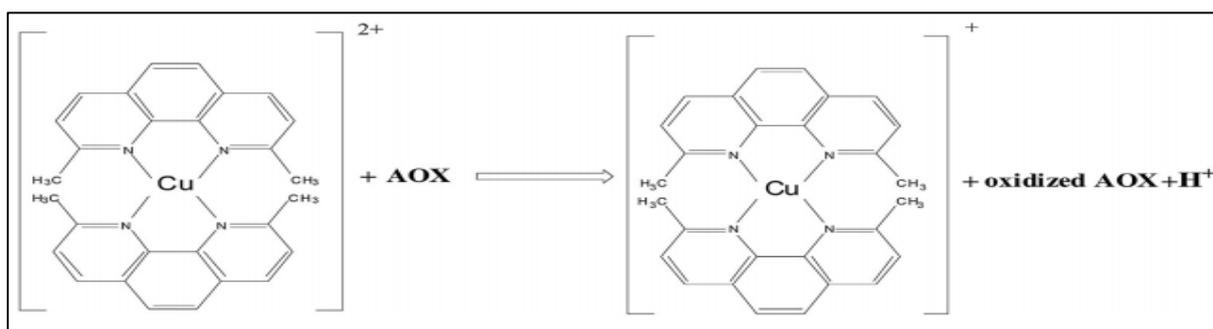


Figure18 : Réaction du CUPRAC

➤ Protocole

cette méthode était évaluée en prenant 40 µl extrait + 60 µl (S1) + 50 µl (S3) +50 µl (S2) + attendre 1 heure + lecture des absorbances à 450nm (Apak et al., 2004).

*(S1): 1,927 g Acetate d'ammonium (ACNH_4) + 25 ml (H_2O) formation d'une solution transparent (PH=7.0).

*(S2): 0,042625 g chlorure de cuivre (Cu Cl₂, 2H₂O) + 25 ml (H₂O) formation d'une solution bleu.

*(S3): 0,039 g (Neocupronin) + 25 ml (EtOH)

5.1.3. Capacité de réduire l'ion ferrique (pouvoir réducteur)

Le pouvoir réducteur du fer à la présence des antioxydants dans les extraits provoque la réduction de fer (Fe³⁺) complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, (Fe²⁺) peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert et l'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel (Oyaizu., 1986).

➤ Protocole

Dans une microplaque contenant 10 µl de solution d'échantillon à différentes concentrations, + 40 µl phosphate buffer (pH 6.6)+ 50 µl potassium ferricyanide (K₃Fe(CN)₆) (1%) + incubé a 50°C pendant 20min +50 µl tri-chloroaceticacid (TCA) (10%) + 40 µl H₂O + 10 µl ferricchloride (FeCl₃) (0.1%) +lecture à 700 nm.

5.1.4. Capacité piégeage du radical-cation ABTS^{•+}

L'activité antiradicalaire des extraits est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical ABTS^{•+}. Ce radical cationique est oxydée en présence de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) pour donner une solution colorée en vert-bleue (Prouillac, 2006). En présence d'un antioxydant entraine la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité antioxydant des composés testés, du temps et de la concentration (Re et al., 1999).

Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} :

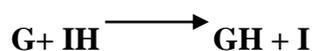
$$\% \text{ d'inhibition du radical ABTS} = ((\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Extrait}) / \text{Abs Contrôle}) \times 100$$

➤ Protocole

160 µl (ABTS^{•+}) + 40 µl (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm (Re et al., 1999).

5.1.5. Activité de radical Galvinoxyl (GOR)

Galvinoxyl est un radical phénoxy stable ayant un pic d'absorption élevé à 428 nm. En présence des composés phénoliques ou d'autres antioxydants, il est réduit par transfert d'électron ou d'atome d'hydrogène en phénol incolore à la place de la couleur jaune (Shi H et al., 2001), comme indiqué dans la réaction :



Où : **G** (représente le galvinoxyl); **GH** : (galvinoxyle réduit); **IH** : (donneur d'hydrogène piègeur de radicaux libres) et **I** : (radical correspondant de **IH**).

Nous pouvons déterminer la quantité d'hydrogène actif dans la réaction avec galvinoxyl par la diminution de l'absorbance de galvinox.

Le pourcentage d'inhibition du radical Galvinoxyl est estimé selon l'équation suivante:

$$\% \text{ d'inhibition du Galvinoxyl} = ((\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Extrait}) / \text{Abs Contrôle}) \times 100$$

➤ Protocole

40 µl (extrait) + 160 µl (0,1mM Galvinoxyl) (4 mg dans 100 ml MeOH) + incubation 120 mn + lecture 428 nm (Shi H et al., 2001).

5.1.6. Activité de Phénantroline

La méthode phénanthroline était basée sur la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} par un antioxydant. L'ion Fe^{2+} formé a ensuite réagi avec l'ortho-phénanthroline pour former un complexe rouge-orang (Yefrida et al., 2018).

➤ Protocole

Le test de Phénanthroline est déterminée par la méthode de (Szydłowska et al., 2008) avec des volumes ajustés pour une manipulation sur microplaque de 96 puits. Pour cela, On met 10 µl d'extrait + 50 µl FeCl_3 (0.2%) + 30 µl Phénanthroline (0.5%) + 110µl MeOH+ incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C + lecture à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard.

5.1.7. Test de l'activité scavenger du radical $\text{O}_2^{\cdot-}$ (DMSO alcalin)

Dans ce procédé, le radical superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) est engendré par l'addition d'hydroxyde de sodium (NaOH) à l'air saturé de DMSO. Le superoxyde généré reste stable en solution est réduit tétrazolium nitrobleu (NBT) de couleur jaune en formazan de couleur pourpre Ainsi, un composé antioxydant capable de capturer l'anion superoxyde empêchera la formation du bleu de formazan et la solution restera jaune (Rao et Kunchandy., 1990).

Contrairement aux tests précédents (ABTS, DPPH), le pourcentage d'inhibition du radical superoxyde est calculé selon cette formule :

$$\% \text{ d'inhibition du DMSO alcalin} = [(\text{Abs Extrait} - \text{Abs Contrôle}) / \text{Abs Extrait}] \times 100$$

➤ **Protocole**

L'activité Superoxyde DMSO alcalin est déterminée par la méthode établie par (Rao et Kunchandy., 1990). On mélange 40 µl extrait + 130 µl DMSO alcalin + 30 µl NBT + lecture à 560 nm (Rao et Kunchandy., 1990).

5.2. Activités enzymatiques

5.2.1. Activité Anti-Alzheimer (anti acétylcholinestérase)

L'acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme responsable d'hydrolyse le substrat d'acétylcholine (ATCI) en acide acétique et thiocholine qui réagi avec DTNB pour donné des produit de réaction coloré en jaune, les inhibiteurs de cette enzyme sont utilisés pour diminuer la métabolisation d'ATCI et diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante:

$$\% \text{ d'inhibition d'AChE} = ((\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Extrait}) / \text{Abs Contrôle}) \times 100$$

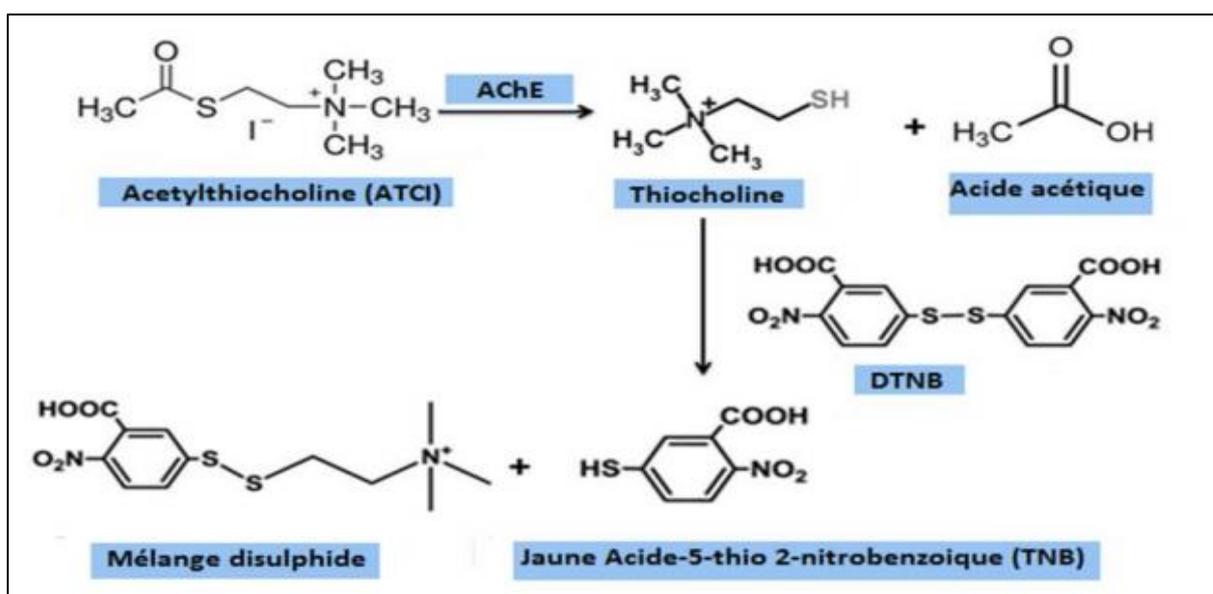


Figure 19 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman (AChE).

➤ **Protocole**

Cette méthode est déterminée par la méthode d'Ellman en 1961 (Figure19), avec une modification légère de la méthode spectrophotométrique.

On met 150 µl de tampon phosphate de sodium (100Mm, pH 8,0) + 10 µl des solutions des échantillons et un volume de 20 µl l'AChE a été mélangé et incubé pendant 15 min à 25 °C + 10 µl de DTNB (0,5 mM), la réaction a été initiée par l'addition de 20 µl l'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM), la première lecture pour 0 min la deuxième lecture après 15 min d'incubation à un longueur d'onde 412 nm (Ellman., 1961).

*L'iodure d'acétylthiocholine a été employé comme substrat.

*Le DTNB [5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)] a été utilisé pour la mesure de l'activité du cholinestérase.

*L'éthanol a été utilisé comme solvant pour dissoudre les composés d'essai et les contrôles.

Chapitre 2.

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction ont été calculés pour les 6 fractions (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Rendement d'extraction et les caractères de chaque extrait

| Extraits | Masse (g) | Aspect | Couleur | Rendement % |
|-------------|-----------|---------------|-----------------|-------------|
| EEth | 0.28 | Pâte collante | Vert Foncé | 0.187 |
| ECh | 0.26 | Pâteux | Vert clair | 0.173 |
| EAc | 0.76 | Pâteux | Marron | 0.507 |
| EBu | 1.09 | Pâte solide | Marron jaunâtre | 0.727 |
| EAq | 1.9 | Pâte collante | Marron | 1.267 |
| EMé | 1.36 | Pâteux | Marron | 0.907 |

Les résultats obtenus montrent une variabilité des rendements entre les six extraits. L'EAq représente le rendement le plus élevé 1.267 %, suivi par l'EMé, l'EBu et l'EAc qui ont les valeurs de 0.907 % ; 0.727 % ; 0.507 % respectivement.

Alors que l'EEth et l'ECh possèdent les rendements les plus bas 0.187 % ; 0.173 % respectivement.

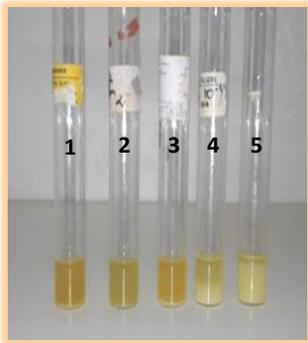
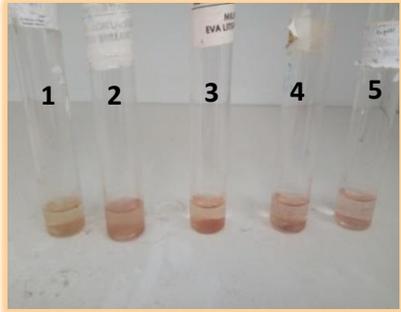
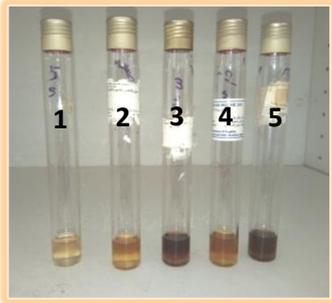
Par comparaison, nos résultats de l'EAq et l'EMé sont très faible par rapport aux résultats d'étude de **Mohammedi** en **2013**, cette variabilité revient à des différents facteurs tels que la quantité de la matière sèche utilisée dans l'extraction et la méthode d'extraction, alors que le rendement d'ECh et l'EAc trouvé par **Adjaj** dans leur étude en **2016** avec des valeurs : 0.212 %, 0.786 % successivement qui sont très proches à nos résultats.

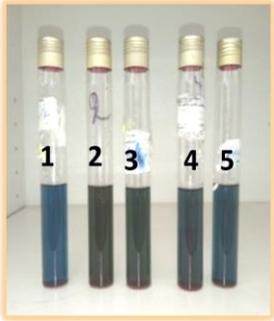
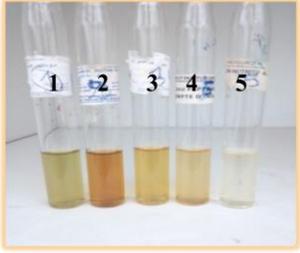
2. Screening phytochimique

Le screening est un analyse qualitative permet de mettre en évidence la présence de quelque métabolite secondaire au niveau des tissus végétaux *Paronychia argentea.L.*

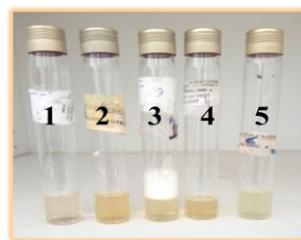
Les résultats obtenus sont présentés dans le (**tableau 5**) En fonction de la coloration du milieu et de l'intensité du précipité.

Tableau 5 : Résultats de criblage phytochimique dans les fleurs de *Paronychia argentea*.L.

| Métabolites secondaires | + ou - | | Témoins | Résultats | interprétations |
|-------------------------|--------|-----|---|--|---|
| Alcaloïdes | 1 | + |  |  | Apparition d'un précipité jaune en présence important dans les tubes 4 et 5 |
| | 2 | + | | | |
| | 3 | ++ | | | |
| | 4 | +++ | | | |
| | 5 | +++ | | | |
| Tanins condensés | 1 | + |  |  | Formation d'un précipité rouge dans tous les tubes sur tout le tube 3 |
| | 2 | ++ | | | |
| | 3 | +++ | | | |
| | 4 | ++ | | | |
| | 5 | + | | | |
| Stéroïdes | 1 | - |  |  | Apparition d'une couche supérieure de couleur rouge dans les tubes 3 et 5 |
| | 2 | - | | | |
| | 3 | + | | | |
| | 4 | - | | | |
| | 5 | ++ | | | |
| Quinones libres | 1 | - |  |  | Pas d'une coloration jaune, rouge et violet dans tous les tubes |
| | 2 | - | | | |
| | 3 | - | | | |
| | 4 | - | | | |
| | 5 | - | | | |

| | | | | | |
|-------------------------------|---|-----|---|--|--|
| Flavonoïdes | 1 | - |  |  | Apparition d'une coloration rose rouge au niveau des tubes 2, 3 et 4 |
| | 2 | +++ | | | |
| | 3 | ++ | | | |
| | 4 | ++ | | | |
| | 5 | - | | | |
| Flavonoïdes glycosides | 1 | ++ |  |  | Apparition d'une coloration jaune dans la plus part des tubes |
| | 2 | - | | | |
| | 3 | +++ | | | |
| | 4 | +++ | | | |
| | 5 | +++ | | | |
| Sucres réducteurs | 1 | +++ |  |  | Formation d'un précipité rouge dans tout les tubes |
| | 2 | +++ | | | |
| | 3 | +++ | | | |
| | 4 | +++ | | | |
| | 5 | +++ | | | |
| Anthocyanines | 1 | - |  |  | Aucun changement de couleur |
| | 2 | - | | | |
| | 3 | - | | | |
| | 4 | - | | | |
| | 5 | - | | | |

| | | | |
|-----------|---|-----|---|
| Saponines | 1 | - | Formation d'une mousse dans un seul tube (tube 3) |
| | 2 | - | |
| | 3 | +++ | |
| | 4 | - | |
| | 5 | - | |



*(1: ECh; 2: EAc; 3: EBU; 4: EMé; 5: EAQ)

*Les résultats phytochimiques sont classés comme suite :

- (+++) : Réaction fortement positive.
- (++) : Réaction moyennement positive.
- (+) : Réaction faiblement positive.
- (-) : Réaction négative

Les résultats des tests de la caractérisation chimique (**tableau 5**), montrent que cette plante contient :

Les alcaloïdes, les tanins condensés et les sucres réducteurs qui sont observés dans tous les extraits avec des intensités différentes ; les EBU, EMé et EAQ ont enregistré les meilleurs résultats. Les tests phytochimiques réalisés par **Al-Bakri et Afifi** en **2007** et **Mohammedi** en **2013** ont montré également que les extraits méthanolique, acétate d'éthyle, butanolique et aqueux des parties aériennes de *Paronychia argentea.L* contiennent des flavonoïdes, des polyphénols, des Terpénoïdes, des stéroïdes, Glycosides cardiotoniques, des Stéroïls et triterpènes.

On remarque aussi la présence des stéroïdes, des flavonoïdes glycosides et des saponines dans la plus part des extraits et la quantité la plus élevée s'apparaît dans l'EBU.

D'autre part l'absence totale des quinones libres et des Anthocyanines a été révélé dans tous les extraits de cette plante.

La richesse de ces extraits en composés chimiques actifs pourrait expliquer leurs utilisations traditionnelles.

3. Analyse quantitative des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénols totaux

L'estimation du contenu en polyphénols totaux des différentes fractions de *Paronychia argentea.L* a été faite par rapport à l'acide gallique. La courbe d'étalonnage est illustrée dans la **figure 20**, et la teneur en phénols totaux est exprimée en mg équivalent acide gallique

(EAG) par g d'extrait. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de $y = 0.003x + 0.104$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,997$.

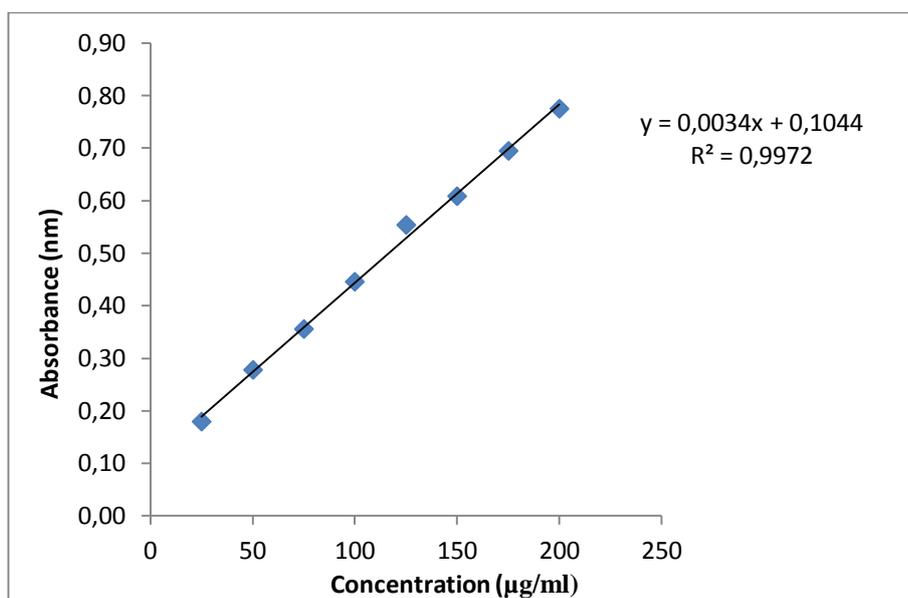


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

Les résultats de teneur en polyphénols sont illustrés graphiquement dans la **figure 21**.

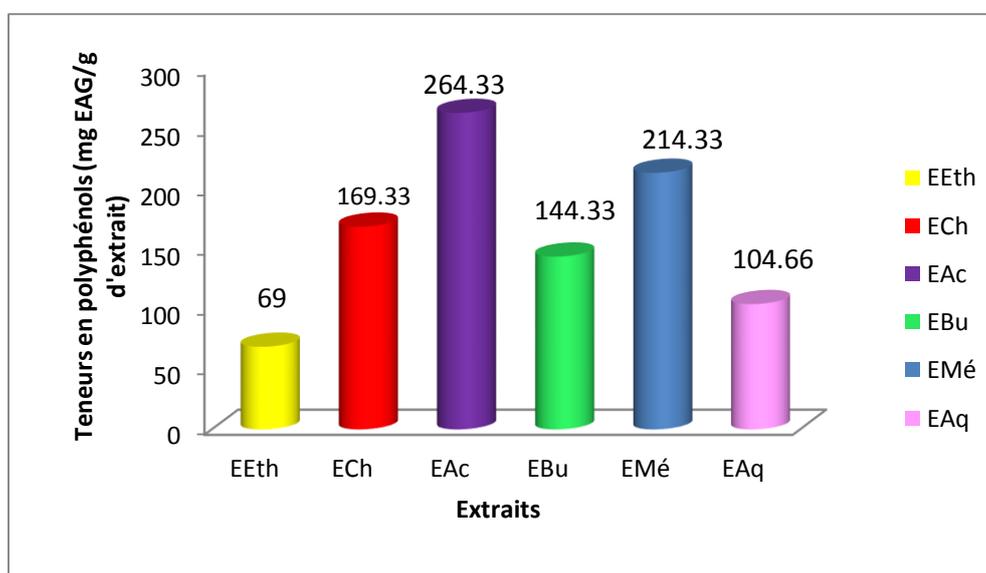


Figure 21 : Teneur en polyphénols des différents extraits.

Les extraits des fleurs de *Paronychia argentea.L* possède une teneur plus élevée en polyphénols totaux et varie pour chaque extrait.

Par ailleurs, l'EAc enregistre la teneur le plus élevée en polyphénols totaux de 264.33 ± 0.01 mg EAG/g d'extrait suivis par l'EMé qui donne une teneur proche à celle d'EAc avec

214.33±0.01 mg EAG/g d'extrait, puis les extraits ECh, EBU, EAQ et l'EEth (169.33±0.008 mg EAG/g d'extrait ; 144.33±0.008 mg EAG/g d'extrait ; 104.66± 0.012 mg EAG/g d'extrait et 69± 0.011 mg EAG/g d'extrait) respectivement.

Nos résultats sont en accord avec les résultats de **Adjajd** en **2016** (Taux en polyphénols : 217.463±0.87mg EAG/g d'extrait Méthanolique, 211.444±0.778 mg EAG/g d'extrait Chloroformique et 225.796±0.796 mg EAG/g d'extrait d'acétate d'éthyle) et un peu proche avec le travail de **Tawaha et al** en **2007** d'extrait aqueux et méthanolique.

3.2. Dosage de Flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes dans chaque extrait a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (**Figure 22**) et exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par grammes d'extrait (mg EQ / g).

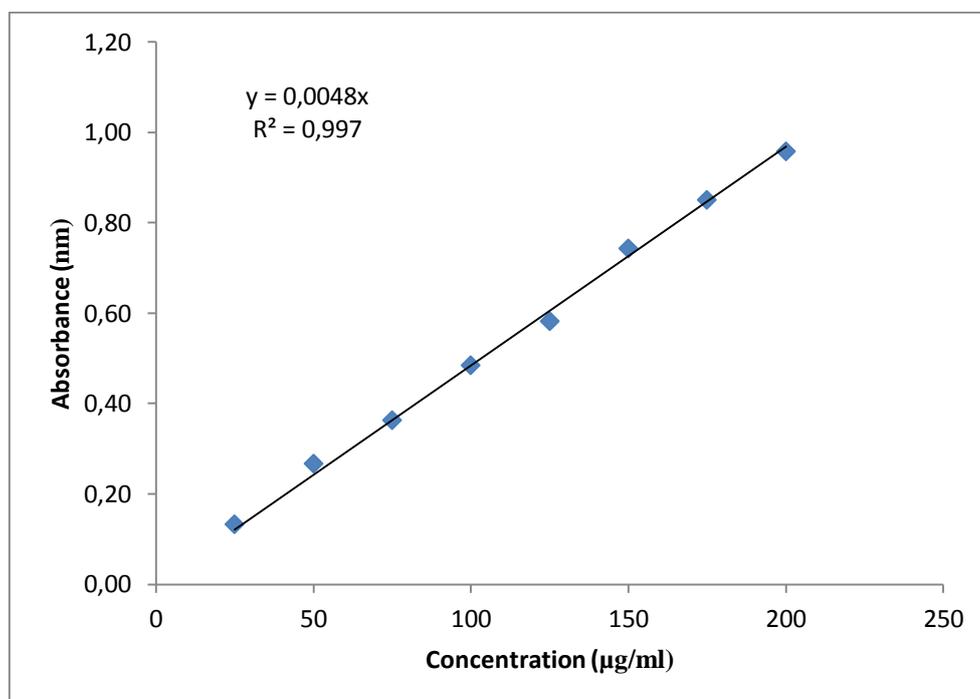


Figure22: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Les résultats de teneur en flavonoïdes des différents extraits sont illustrés graphiquement dans la **figure 23**

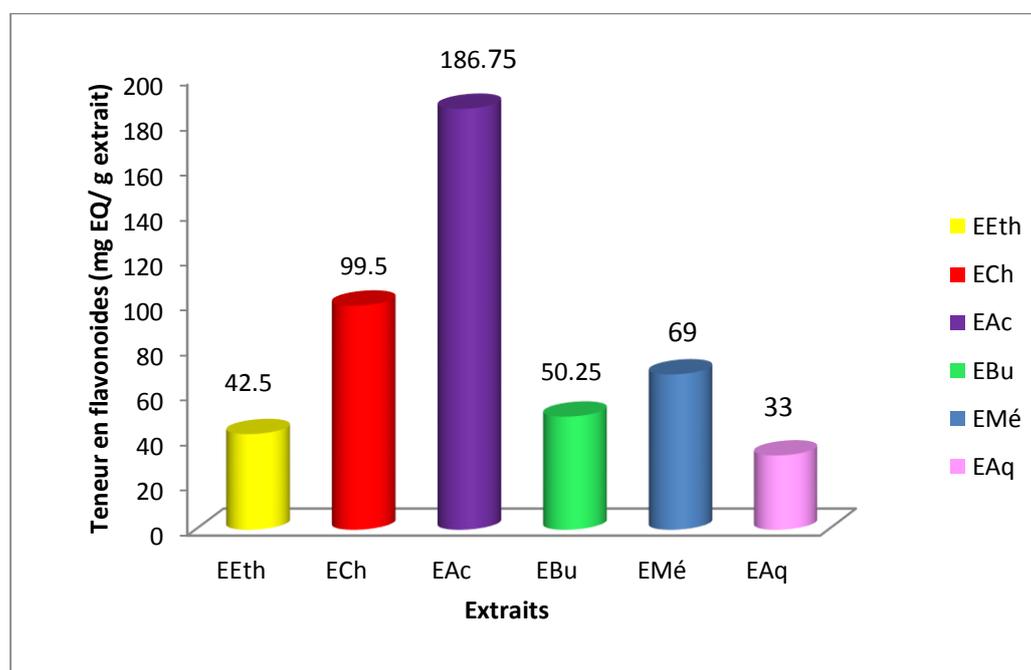


Figure 23 : Teneur des flavonoïdes.

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux indiquent que l'EAc est plus riche en flavonoïdes avec un teneur 186.75 ± 0.024 mg EQ/g d'extrait puis l'ECh avec une teneur de 99.5 ± 0.01 mg EQ/g d'extrait, alors que l'EMé, l'EBu, l'EEth et l'EAq (69 ± 0.005 mg EQ/g d'extrait, 50.25 ± 0.006 mg EQ/g d'extrait, 42.5 ± 0.001 mg EQ/g d'extrait, 33 ± 0.009 mg EQ/g d'extrait) respectivement contiennent presque la moitié de quantité des flavonoïdes qui sont trouvés dans l'EAc.

L'étude d'**Adjaj** en **2016** estime que les flavonoïdes totaux dans l'EAc sont très proches à notre teneur (194.193 ± 8.622 mg EQ/g d'extrait), par contre l'ECh et l'EMé sont estimée à 38.621 mg EQ/g d'extrait et 13.349 mg EQ/g d'extrait respectivement sont très faibles par rapport à nos résultats.

D'autre part, **Mohammedi** en **2013** rapporte que l'estimation des flavonoïdes totaux dans l'EAc (21.90 ± 2.059 mg EQ/g d'extrait), l'EBu (35.61 ± 2.91 mg EQ/g d'extrait) et l'EAq (1.24 ± 0.28 mg EQ/g d'extrait) des fleurs de la plante sont très faibles par rapport aux nos résultats.

4. Activités biologiques

4.1. Activités antioxydantes

4.1.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition de chaque extrait et des standards en fonction de leurs concentrations (les standards utilisés sont BHA et BHT).

L'activité antioxydante est exprimée en IC_{50} (IC_{50} est un paramètre qui définit la concentration efficace d'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH*).

Les valeurs des IC_{50} représentées en $\mu\text{g/ml}$ et calculées graphiquement à partir des droites de régression obtenus, plus la valeur de l' IC_{50} est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant (**Figure 24**).

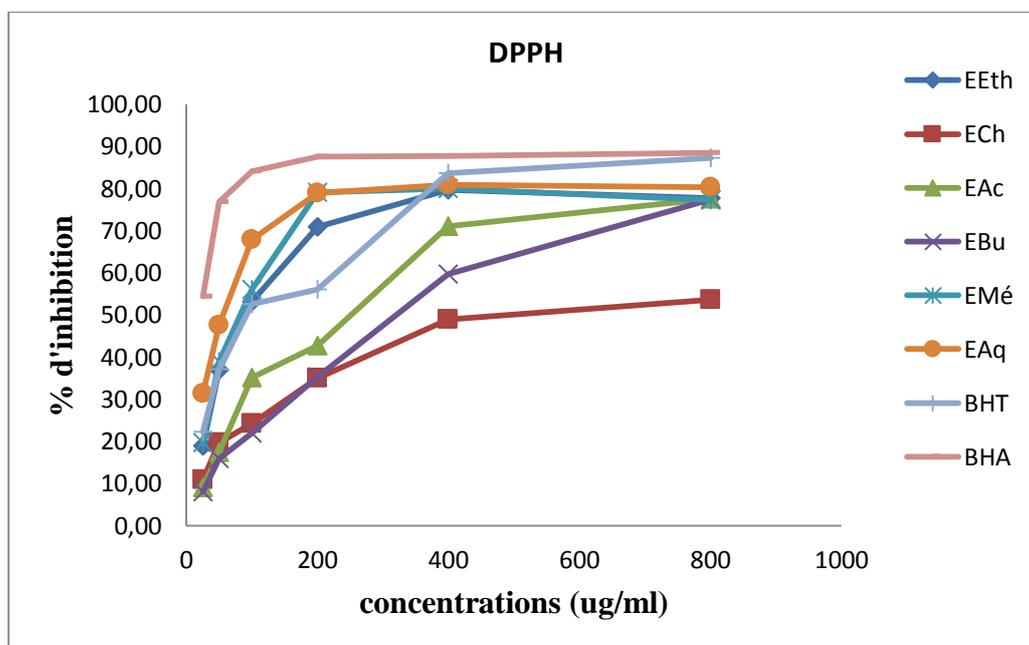


Figure 24 : Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH par différents extraits.

Les valeurs des IC_{50} de chaque extrait ainsi que celle de BHT et BHA sont classés sous forme d'histogramme (**Figure 25**).

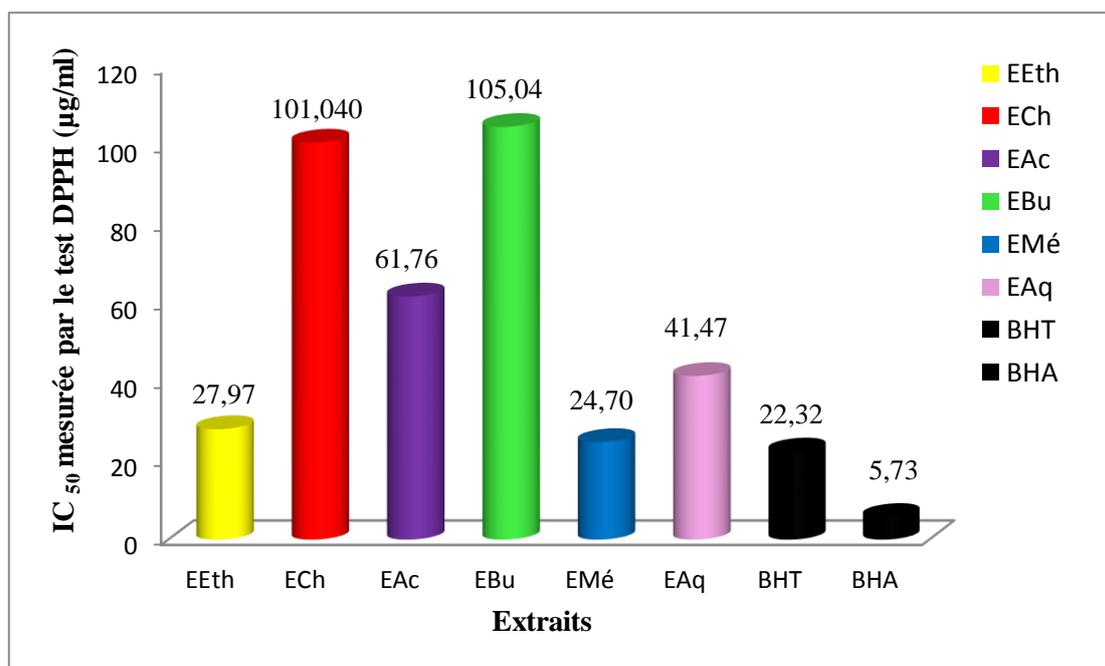


Figure 25 : Valeurs des IC₅₀ des différents extraits.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration d'échantillon jusqu'à réduction totale de DPPH et on révèle que l'EMé, EEth et l'EAq possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante vis-à-vis à la concentration jusqu'à la saturation (réduction total des DPPH).

D'après les résultats obtenus par la **figure 25**, les extraits EMé et EEth possèdent les fractions les plus actives avec IC₅₀ de $24.70 \pm 0.006 \mu\text{g}/\text{ml}$ et $27.974 \pm 0.023 \mu\text{g}/\text{ml}$ puis l'EAq, l'EAc, l'ECh et l'EBu avec des IC₅₀ de $41.47 \pm 0.011 \mu\text{g}/\text{ml}$, $61.76 \pm 0.038 \mu\text{g}/\text{ml}$, $101.04 \pm 0.014 \mu\text{g}/\text{ml}$ et $105.04 \pm 0.062 \mu\text{g}/\text{ml}$ respectivement.

Par comparaison des IC₅₀ avec les standards, on trouve que l'EMé, l'EEth possèdent des caractéristiques antioxydantes actives par contre les autres extraits sont moins actives. Par exemple l'EMé et l'EEth représentent des IC₅₀ proche à celle de BHT (IC₅₀= $22.32 \pm 1.19 \mu\text{g}/\text{ml}$) et deux fois inférieure à celle du BHA (IC₅₀= $5.73 \pm 0.41 \mu\text{g}/\text{ml}$) alors que l'EAq est 2 fois moins élevé par rapport au BHA et 1 fois inférieure à celle du BHT.

L'extrait qui présente une forte activité antioxydante possède une teneur élève en polyphénols. Les résultats précédent indique que l'extrait EMé et l'extrait EEth sont principalement responsable de l'effet scavenger des radicaux libres donc la teneur en polyphénols élevé dans ces 2 derniers.

Par comparaison, les résultats du DPPH de notre extrait EMé, ECh et l'EAc sont supérieure à celle de (ADJAJ., 2016) (IC₅₀= $18 \mu\text{g}/\text{ml}$, IC₅₀= $52 \mu\text{g}/\text{ml}$ et IC₅₀= $5 \mu\text{g}/\text{ml}$).

Par ailleurs, l'activité antioxydant d'extrait EAq de **Gonçalves et ses collaborateurs en 2012** ont trouvé un IC_{50} de 39.84 $\mu\text{g/ml}$ qui est très proche à nos résultats.

4.1.2. Capacité de réduire l'ion cuprique (CUPRAC)

L'activité réductrice a été étudiée par une méthode impliquant un réactif beaucoup plus stable et facilement accessible (le complexe $[\text{Cu}^{2+}\text{-Nc}]$). Ce test peut indirectement mais efficacement refléter le pouvoir antioxydant total de l'échantillon (**Apak et al., 2013**).

Les standards utilisés sont BHA et BHT et les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition de chaque extrait et des standards en fonction de leurs concentrations (**Figure 26**).

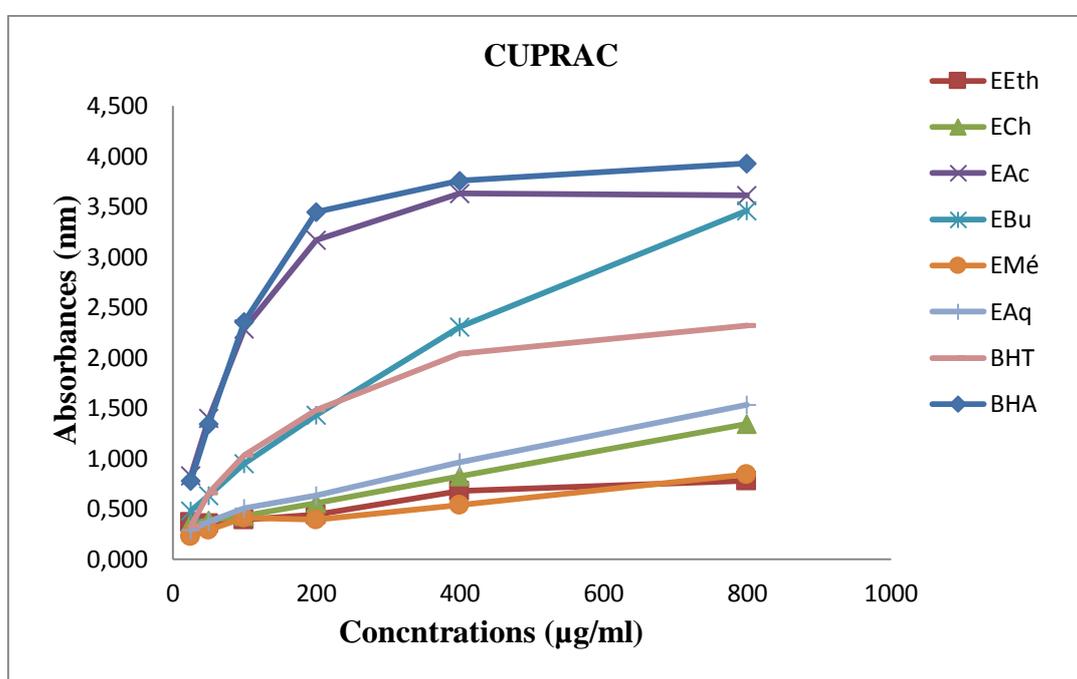


Figure 26 : Courbe des absorbances en fonction des concentrations.

Les valeurs d' IC_{50} de chaque extrait ainsi que celle de BHT et BHA sont classés sous forme d'histogramme (**Figure 27**).

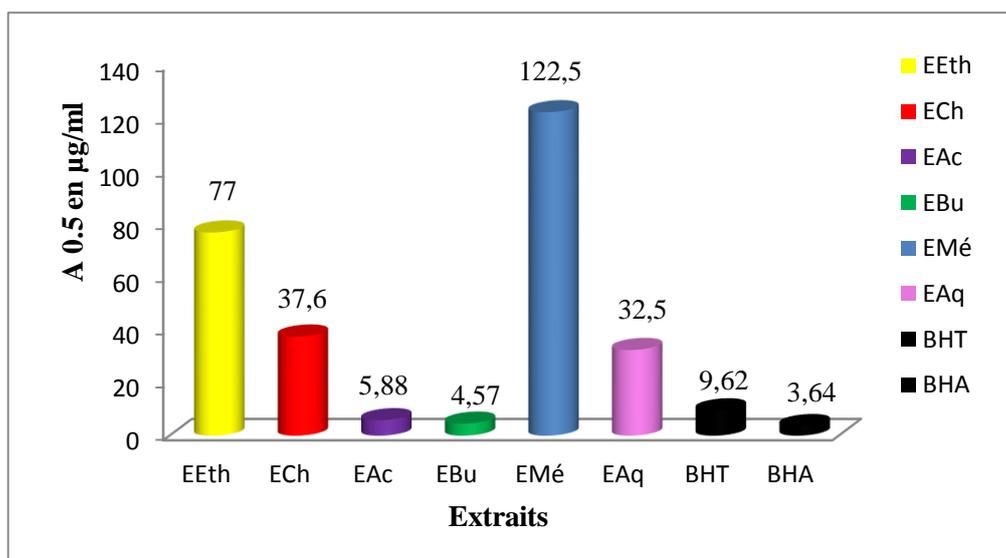


Figure 27 : Valeurs des A_{0.5} exprimés en µg/ ml des différents extraits.

La figure 26 montre que les fractions EBU et EAc ont une meilleure activité proche à celle des standards (BHA, BHT).

D'après **la figure 27**, La meilleure activité a été obtenue dans l'EBU à 4.57 ± 0.168 µg/ml et l'EAc à 5.88 ± 0.285 µg/ml, puis l'EAQ et l'ECh à 32.5 ± 0.030 µg/ml et 37.6 ± 0.041 µg/ml, en revanche la plus basse capacité a été représentée par EEth et EMé avec une $A_{0.5} = 77 \pm 0.034$ µg/ml et 122.5 ± 0.038 µg/ml.

L'EBU et EAc ont manifesté les meilleures activités à celle aux standards BHA et BHT qui ont été estimés à 3.64 ± 0.19 µg/ml et 9.62 ± 0.87 µg/ml. Alors que, les extraits EAQ, ECh, EEth et EMé sont inférieurs à ceux des deux standards (BHA et BHT).

4.1.3. Capacité de réduire l'ion ferrique (pouvoir réducteur)

Le pouvoir antioxydant réducteur est la capacité d'un extrait à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Les valeurs des absorbances à 700nm des extraits sont illustrées dans le graphique de **figure 28**, et les concentrations réductrices ($A_{0.5}$) à 700 nm des extraits et du standard sont présentées graphiquement dans la **figure 29**. Les standards utilisés dans ce test sont l'acide ascorbique, l'acide tannique et α -tocophérol.

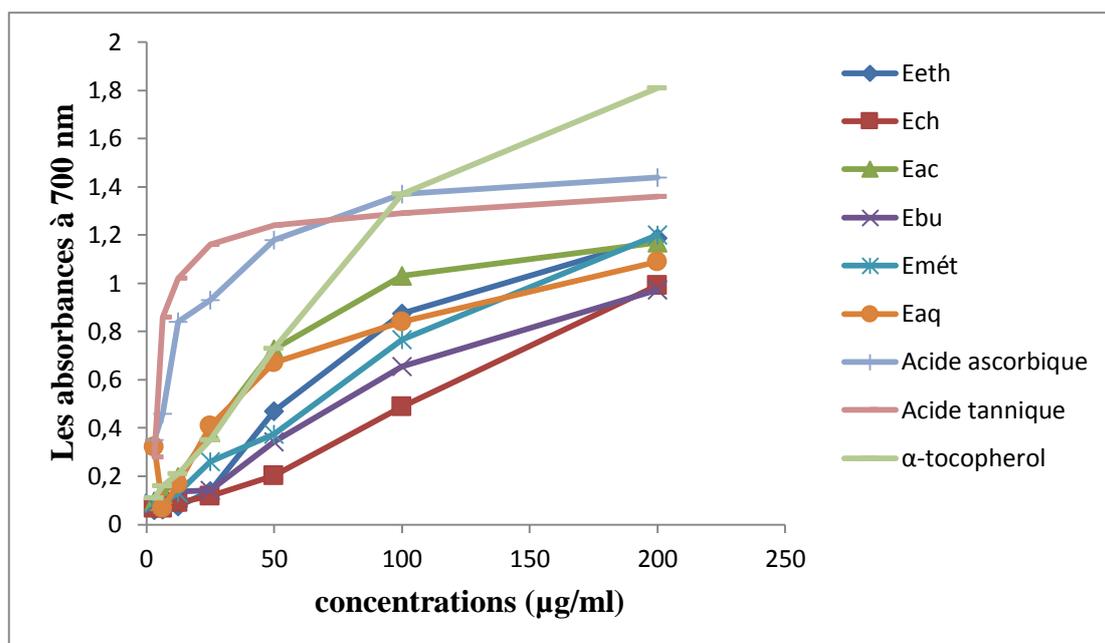


Figure 28 : Courbe des absorbances en fonction des concentrations (PR).

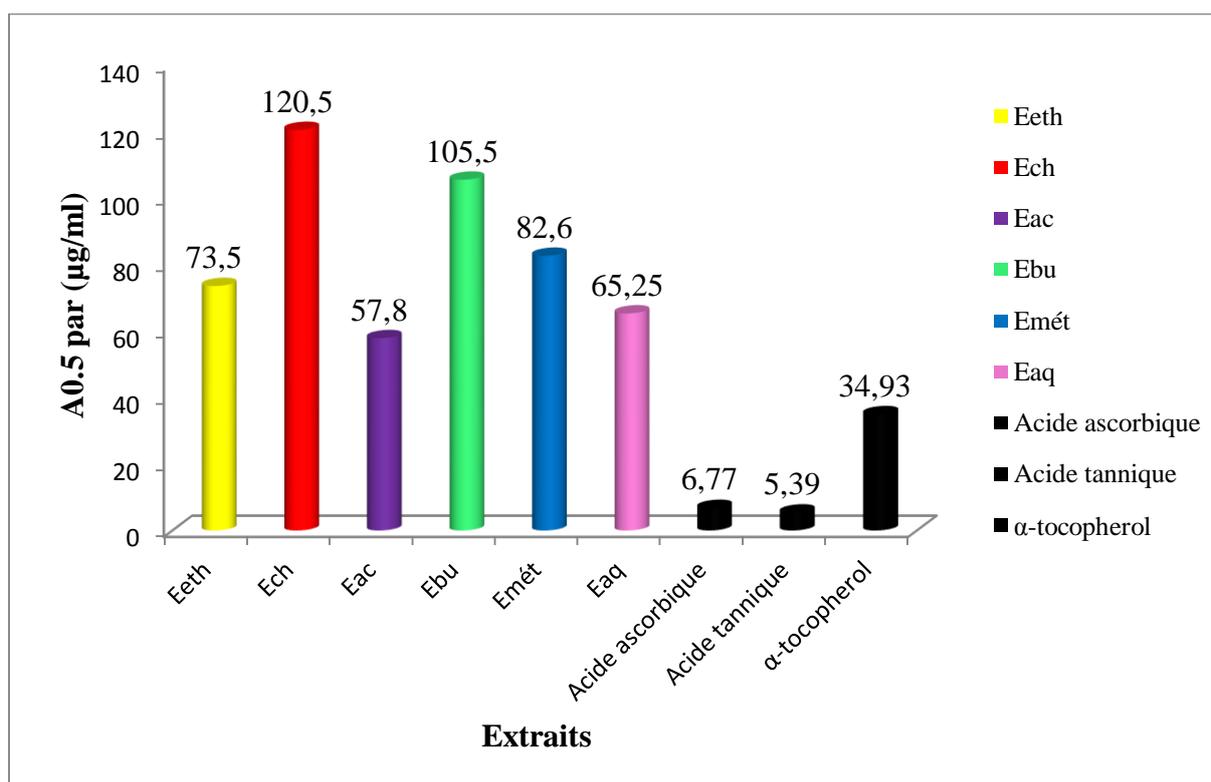


Figure 29: A_{0.5} des extraits et des standards

La figure 28 représente que les valeurs d'inhibition des extraits augmentent avec l'accroissement de la concentration

La forte activité a été obtenue dans l'EAq à $283 \pm 0.103 \mu\text{g/ml}$ suivi par l'EAc à $350 \pm 0.078 \mu\text{g/ml}$, tandis que l'EMé, EBU, EEth et ECh ($A_{0.5} = 432 \pm 0.024 \mu\text{g/ml}$, $438 \pm 0.042 \mu\text{g/ml}$, $441 \pm 0.077 \mu\text{g/ml}$ et $482 \pm 0.028 \mu\text{g/ml}$) sont proches entre elles.

Comparativement aux standards tous les extraits testés ont une activité antioxydante inférieure (5 fois) aux 3 standards.

Par contre les résultats menés par **Mohamdi en 2013** et **sait et al en 2015** qui ont trouvé que la partie aérienne de cette plante possède une activité antioxydante forte sur tous les extraits éthanolique et méthanolique et aqueux. Cela remonte aux concentrations ou les quantités des extraits utilisés dans leurs travaux.

4.1.4. Capacité piégeage du radical-cation ABTS^{•+}

Dans cette étude, nous avons estimé l'activité antioxydante des différents extraits (EEth, ECh, EAc, EBU, EMé et EAq) de *Paronychia argentea.L* en utilisant la méthode basée sur la capacité d'une substance à piéger le radical ABTS^{•+} par rapport à des antioxydants standards (BHA et BHT). Les résultats obtenus de ce test, nous ont permis de tracer le graphe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque échantillon (**Figure 30**) et l'histogramme représente l'IC₅₀ de chaque extrait (**Figure 31**).

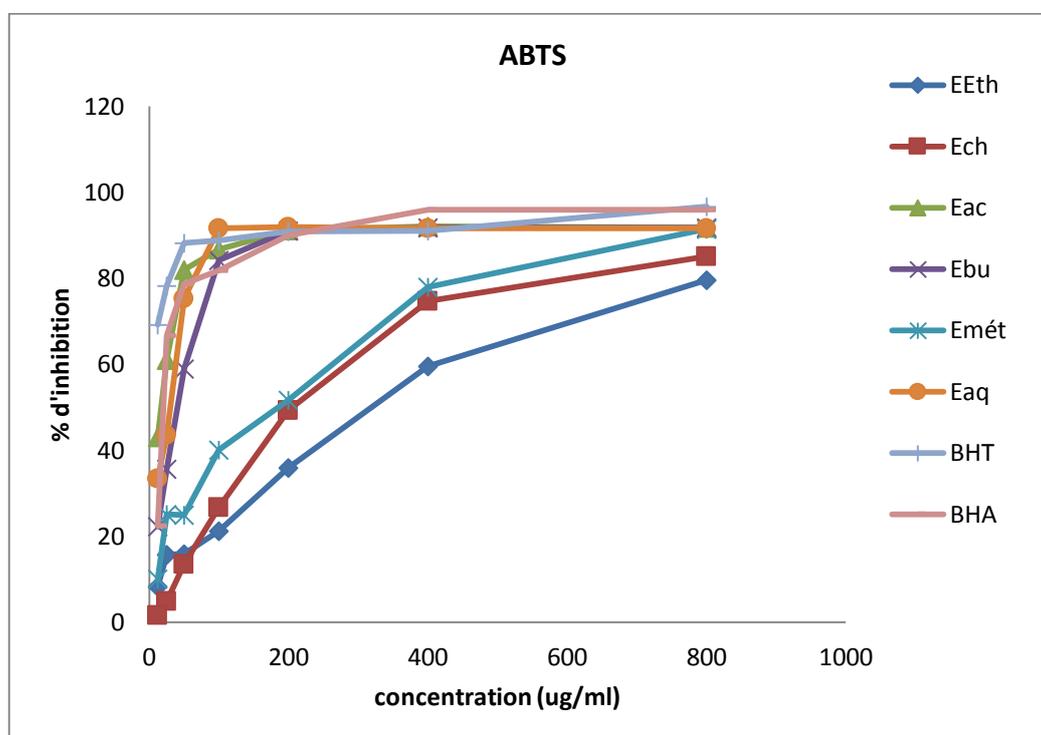


Figure 30: Courbe de pourcentage d'inhibition de l'ABTS par les différents extraits.

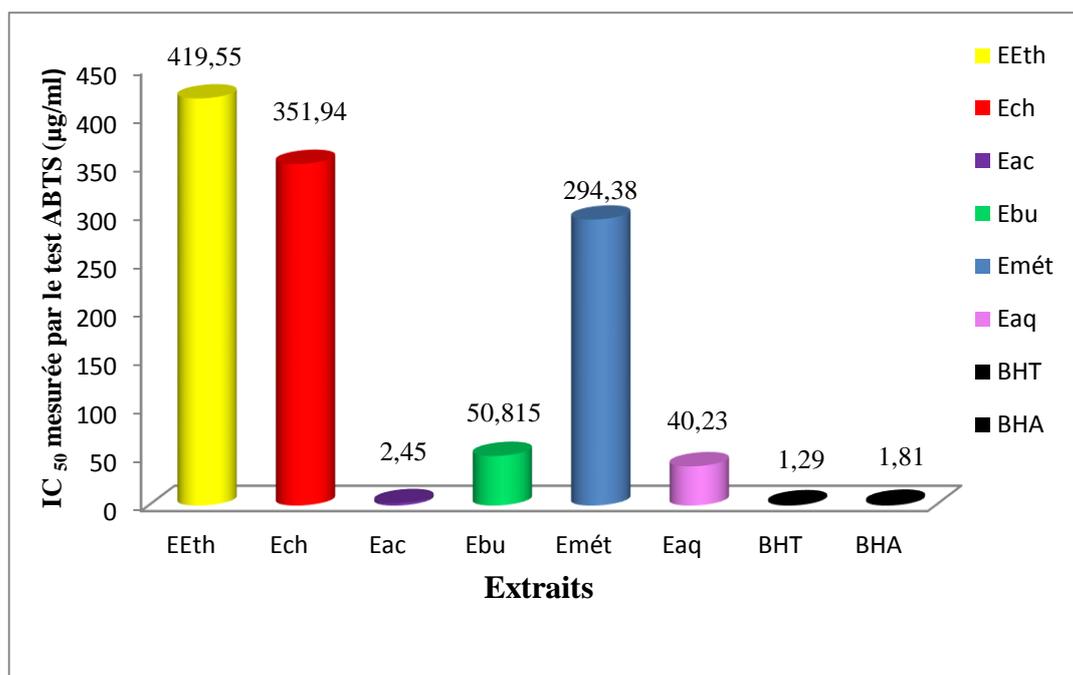


Figure 31 : Valeurs d'IC₅₀ des extraits de *Paronychia argentea.L*

D'après les résultats du pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ obtenues par les extraits de *Paronychia argentea.L* (**Figure 30**), les fractions EAq, EAc et EBU ont montré des meilleures activités antiradicalaires par rapport aux standards BHA et BHT.

L'histogramme illustré ci dessus (**Figure 31**) représente les IC₅₀ des extraits (EEth, Ech, EAc, EBU, EMé et EAq) et des standards montre que EAc possède un potentiel de piégeage du radical ABTS⁺ le plus important qui est estimé par une IC₅₀ (2.45µg/ml), presque comparable de l'activité antioxydante du BHA et BHT (1.81± 0.10µg/ml, 1.29± 0.30 µg/ml). Alors que les valeurs des IC₅₀ des extraits EBU et EAq (50.817± 0.011µg/ml et 40.23± 0.030 µg/ml) respectivement ont enregistré une activité faible par rapport au BHA et BHT.

Tandis que, les extraits (EEth, Ech, EMé) présentent les plus faibles capacités avec des IC₅₀ de 419.551± 0.011 µg/ml, 351.94± 0.050 µg/ml, 294.38± 0.041 µg/ml par rapport à celles des standards.

Les résultats obtenus montrent que les extraits ont des différentes capacités à piéger le radical ABTS⁺.

Ceci est confirmé par l'étude réalisée par (**Ait abdeslam et Ait Atmane., 2013**) et (**Tawaha et al., 2007**) qui ont montré que le potentiel de piégeage de radical ABTS⁺ par l'extrait méthanolique de *Paronychia argentea.L* a une faible à très faible activité celle (IC₅₀ de 201.25± 0.1µg/ml et 79± 5 µg/ml).

4.1.5. Activité de radical Galvinoxyl (GOR)

Les résultats obtenus par le test GOR, nous ont permis de tracer le graphe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque extrait.

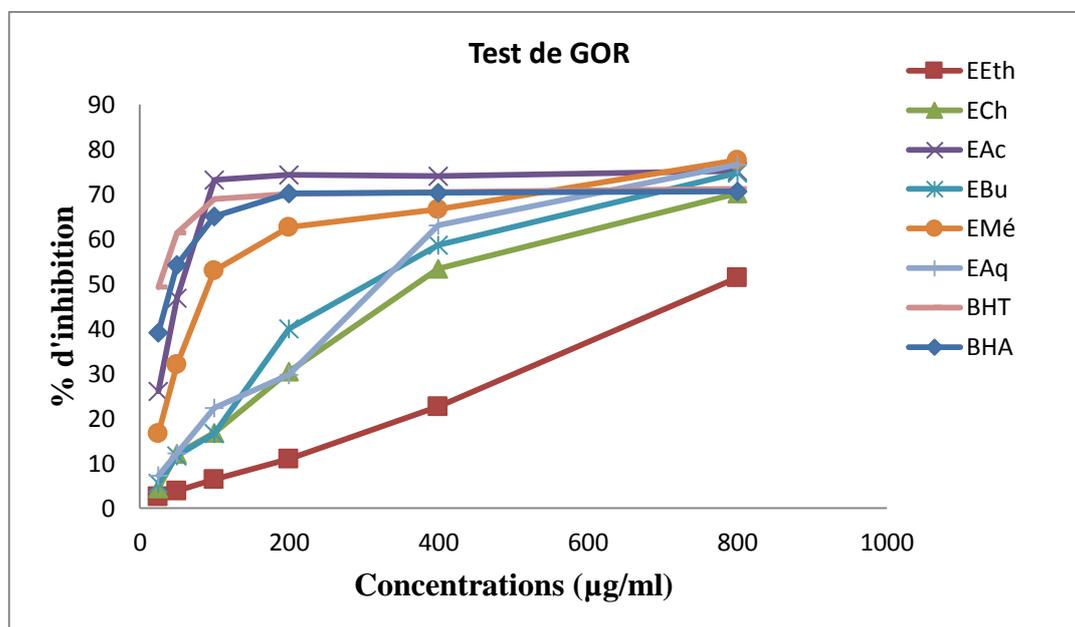


Figure 32: Courbe de pourcentage d'inhibition du test GOR par différents extraits.

La figure 32 peut expliquer que les fractions EAc et EMé ont une forte activité par rapport au BHA et BHT.

La figure 33 présente les valeurs (IC_{50}) du pouvoir antioxydant (IC_{50}) des 6 extraits et 2 standards qui sont BHA et BHT, calculés graphiquement par les régressions linéaire de graphe tracé.

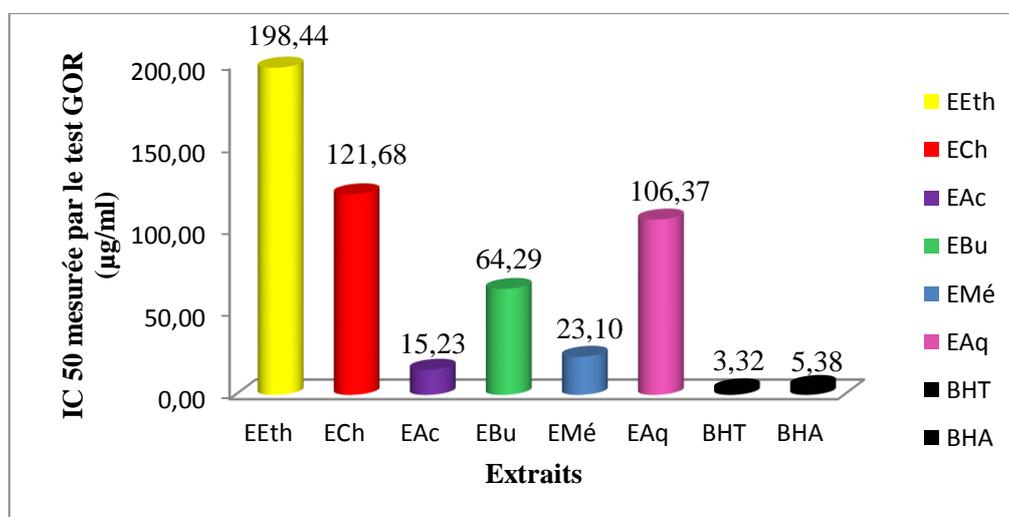


Figure 33 : Valeurs d' IC_{50} des extraits de *Paronychia argentea.L.*

La figure 32 peut expliquer que les fractions EAc et EMé ont une forte activité proche à celle des standards (BHA, BHT).

D'après la figure 33, Les meilleures activités ont été obtenue dans EAc ($IC_{50}= 15.23\pm 0.044 \mu\text{g/ml}$) et EMé ($IC_{50}= 23.10\pm 0.034 \mu\text{g/ml}$), puis l'EBu ($IC_{50}= 64.29\pm 0.164 \mu\text{g/ml}$), suivi par l'EAq, ECh et EEth ($IC_{50}= 106.37\pm 0.063 \mu\text{g/ml}$, $121.68\pm 0.063 \mu\text{g/ml}$, $198.44\pm 0.083 063 \mu\text{g/ml}$).

L'EAc et EMé ont signifié les résultats les plus proches à celle aux standards BHT et BHA qui ont estimés à $3.32\pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ et $5.38 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$. Alors que, l'EBu, EAq, ECh et EEth sont moins inférieure à celle aux deux standards avec des activités insignifiantes.

4.1.6. Activité de Phenanthroline

Ce test est basé sur la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} ion par un antioxydant. La figure 34 représente la courbe d'absorbance en fonction des concentrations des standards et les extraits.

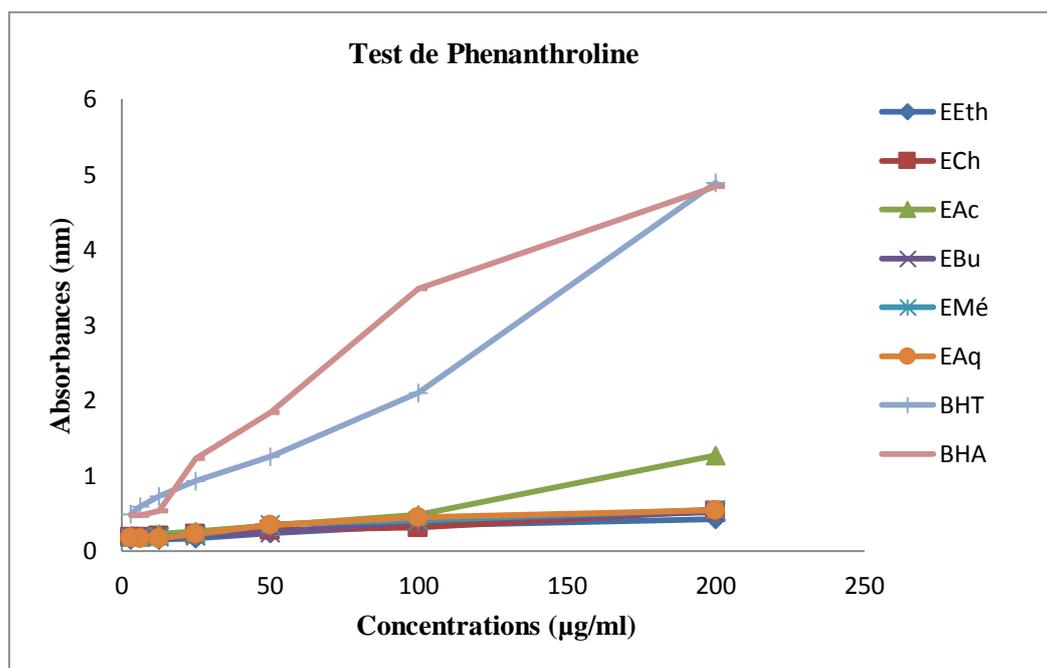


Figure 34 : Courbe d'absorbance en fonction des concentrations des standards et les extraits du test Phenanthroline.

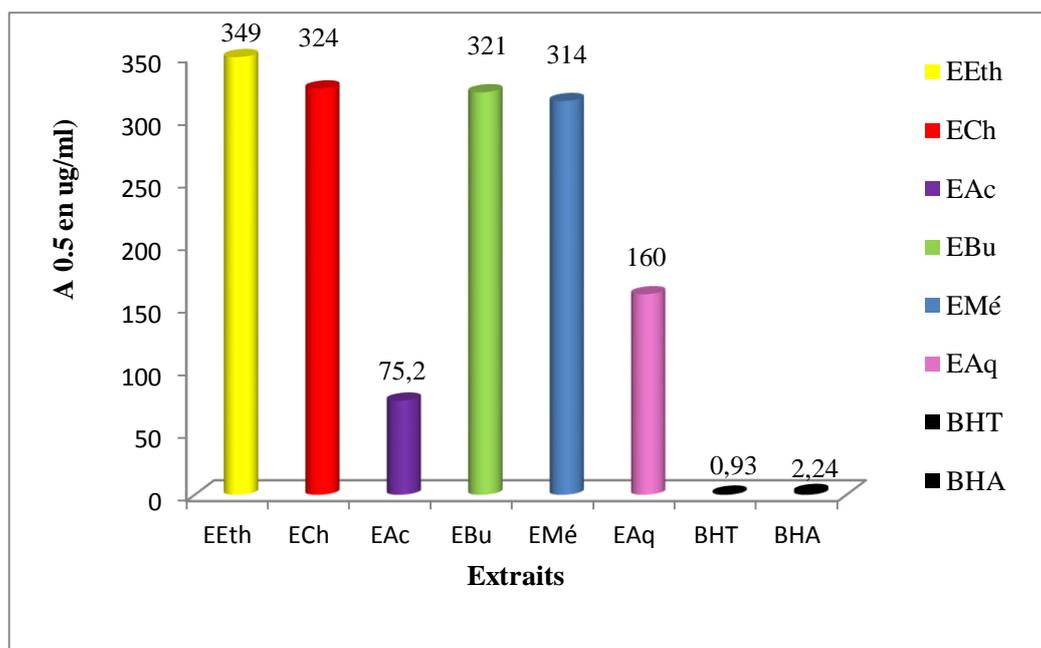


Figure 35 : Différentes valeurs des A_{0.5} de l'activité Phenanthroline.

Les résultats obtenus (**figure 34**) ont montré que tous les extraits présentent une activité faible de réduction de fer ferrique dose dépendante à la concentration par comparaison aux BHA et BHT.

D'après **la figure 35**, La forte activité a été obtenue dans l'EAc à $75.2 \pm 0.011 \mu\text{g/ml}$ suivi par l'EAq à $160 \pm 0.026 \mu\text{g/ml}$, tandis que l'EMé, EBU, ECh et EEth ($A_{0.5} = 314 \pm 0.007 \mu\text{g/ml}$, $321 \pm 0.006 \mu\text{g/ml}$, $324 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$, $349 \pm 0.047 \mu\text{g/ml}$) sont proches entre elles.

Les extraits testés ont une activité antioxydante inférieure (3 fois) aux BHT et BHA ($A_{0.5} = 0.93 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$ et $2.24 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$). Ces résultats sont comparables au test de pouvoir réducteur.

4.1.7. Test de piégeage du radical superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ par la méthode DMSO

Alcalin

L'activité piégeant des radicaux superoxydes a été déterminée par la méthode DMSO alcalin. La diminution de l'absorbance à 560 nm avec des antioxydants indique la consommation de superoxyde généré. Les deux standards utilisés sont l'acide tannique et le α -tocophérol.

Les résultats de cette activité sont représentés dans les **figures 36 et 37**, qui représentent le pourcentage d'inhibition de DMSO alcalin en fonction de la concentration des extraits de *Paronychia argentea.L.*, et les IC₅₀ des extraits et des standards qui correspondent au 50% d'inhibition des radicaux superoxydes.

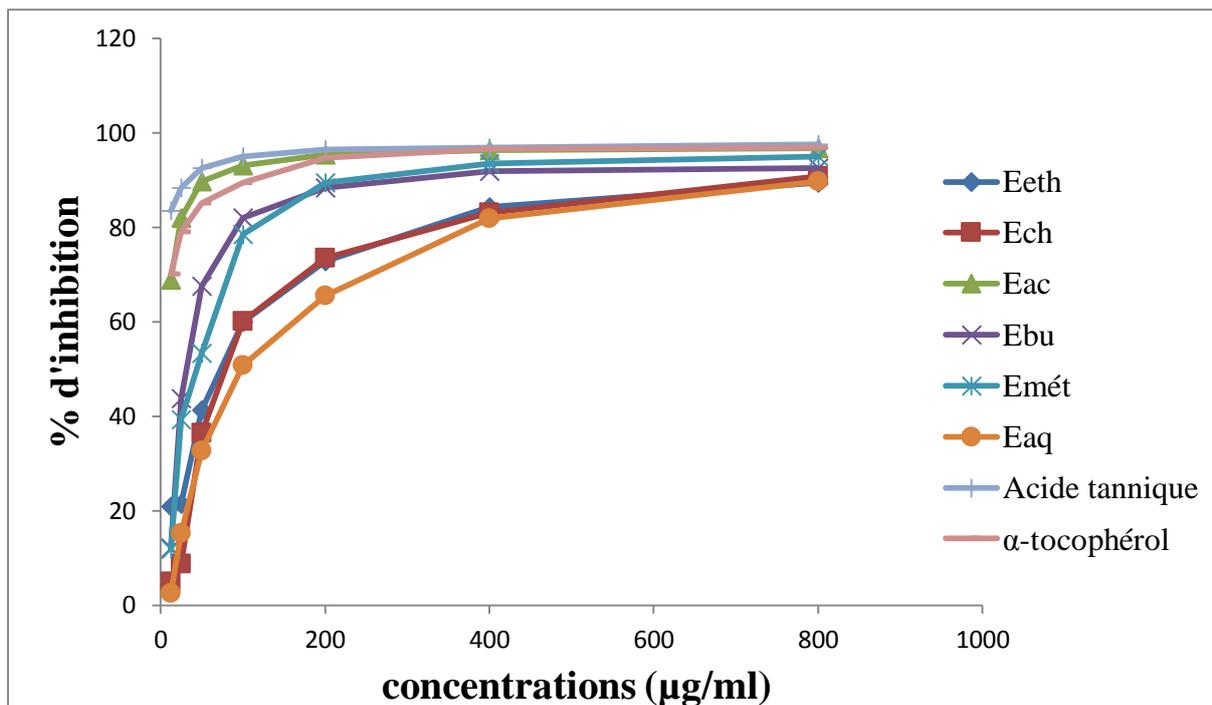


Figure 36: Courbe de pourcentage d'inhibition de DMSO alcalin par les différents échantillons.

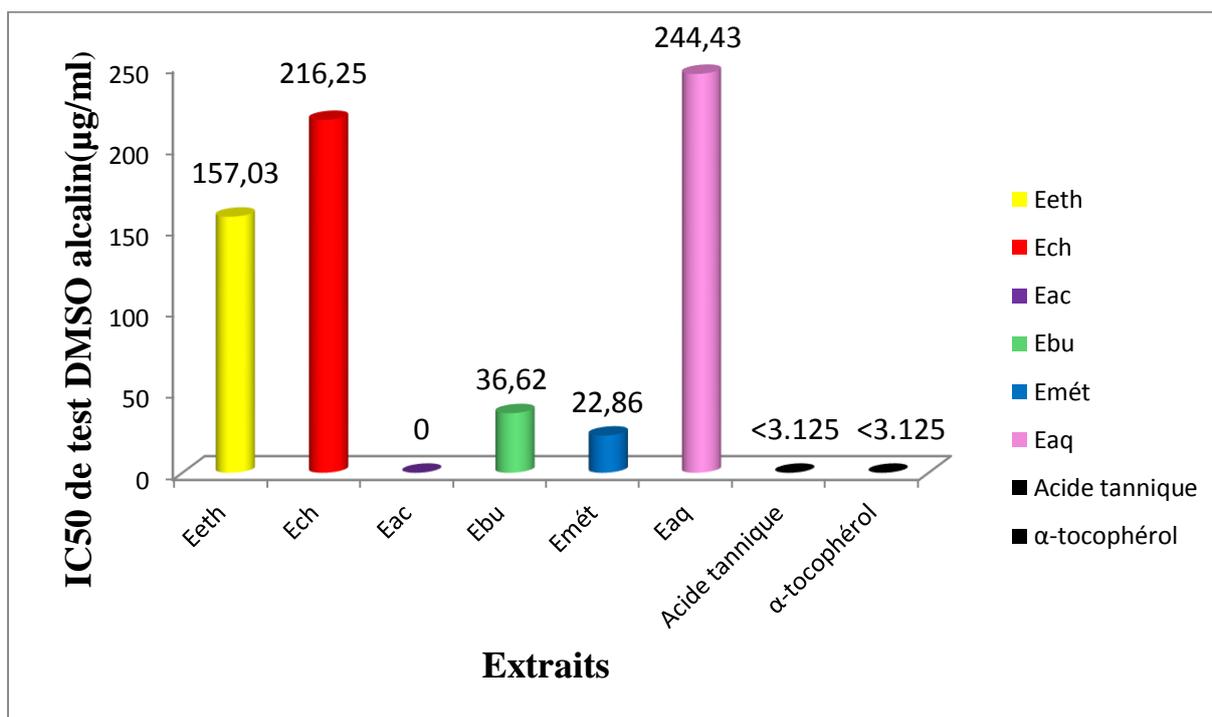


Figure 37: Valeurs des IC₅₀ des extraits de *Paronychia argentea.L* du test DMSO alcalin.

A partir de la figure 36, nous observons que l'inhibition du radical superoxyde est proportionnelle à la concentration des fractions.

D'après la figure 37, on constate que l'Eac possède une meilleure potentielle de piégeage du radical superoxyde avec un IC₅₀ = 0.12±0.065 µg/ml par rapport aux 2 standards (l'acide

tannique et le α -tocophérol). Alors que les extraits EMé et EBU ($IC_{50} = 0.22 \pm 0.160 \mu\text{g/ml}$ et $IC_{50} = 36.62 \pm 0.027 \mu\text{g/ml}$) ont des résultats proche à celle aux l'acide tannique et le α -tocophérol. D'autre part, les extraits EEth ECh et EAQ (IC_{50} égale à $157.03 \pm 0.014 \mu\text{g/ml}$, $216.25 \pm 0.020 \mu\text{g/ml}$ et $244.43 \pm 0.126 \mu\text{g/ml}$) sont moins actifs à celle aux 2 standards. Les résultats d' IC_{50} montrent clairement que la propriété antioxydant différent dans chaque extrait.

4.2. Activités enzymatiques

4.2.1. Anti-Alzheimer (anti acétylcholinestérase)

Les résultats d'étude de la cinétique d'acétylcholinestérase en présence d'une concentration de 4mg/ml des extraits (EEth ; ECh ; EAc ; EBU ; EMé et l'EAQ) en différent dilution de plante *Paronychia argentea.L* montrent des comportements cinétiques différents selon les extraits utilisés. Les pourcentages d'inhibition d'enzyme acétylcholinestérase par les différents extraits montrent que tous les fractions ont une faible activité par rapport au standard, qui est le Galanthamine (**Figure 38**).

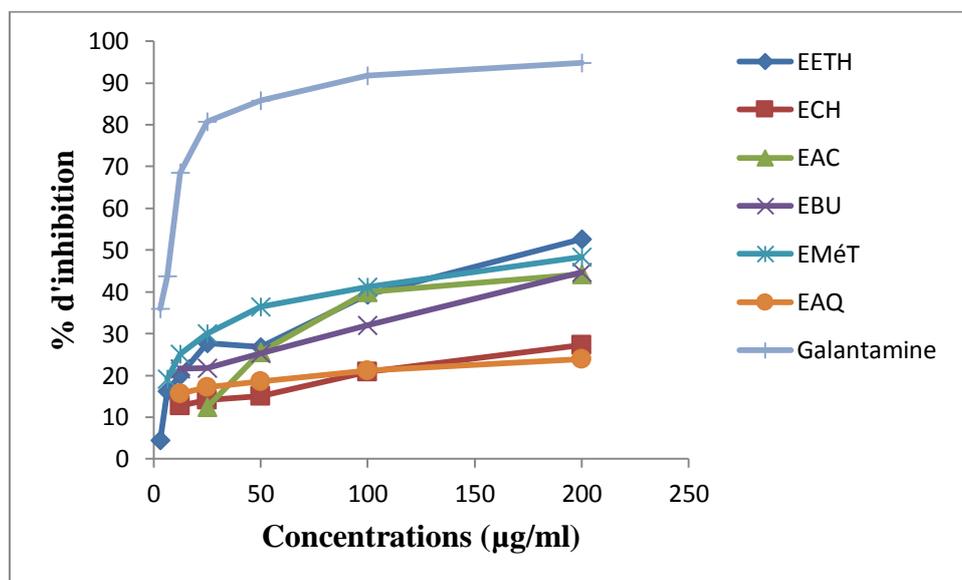


Figure 38 : pourcentage d'inhibition des extraits par l'enzyme AChE dans les différentes concentrations.

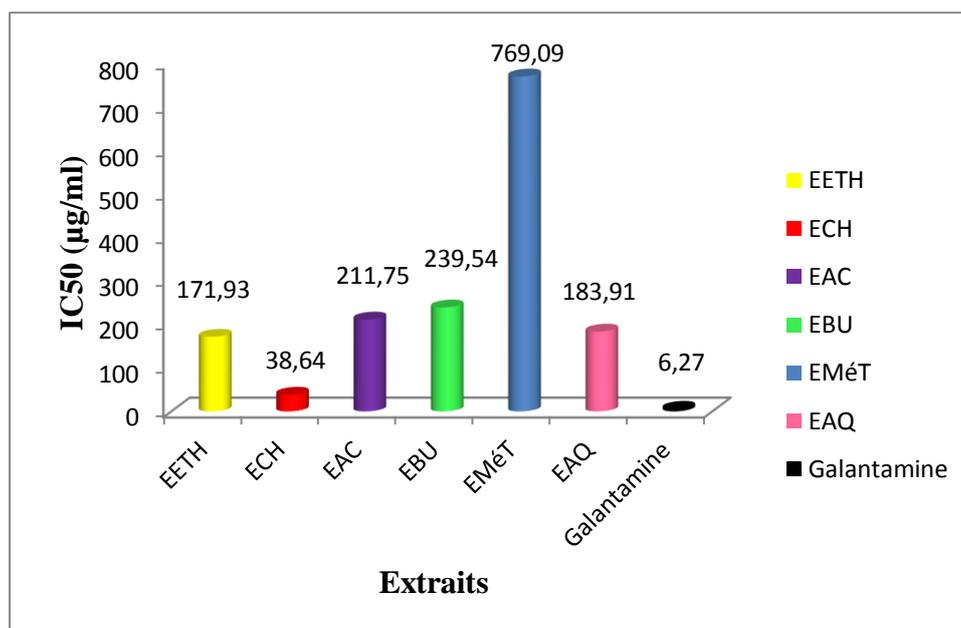


Figure 39 : IC₅₀ des différents extraits et de standard

L'ECh (IC₅₀ = 38.64±0.123µg/ml) a présenté une activité inhibitrice contre l'AChE, plus élevé que celle aux autre extraits. Par contre l'EEth, EAq, EAc et EBU (IC₅₀ = 171.93 ± 0.06 µg/ ml, 183.91±0.037 µg/ ml, 211.75 ±0.064 µg/ ml et 239.54 ±0.133 µg/ ml) ont montré une activité modérée contre l'AChE. Cependant l'EMé (IC₅₀ = 769.09± 0.093 µg/ ml) a faiblement inhibé l'activité de l'AChE.

Par comparaison, l'ECh a montré une activité contre l'AChE par rapport au standard galantamine (IC₅₀= 6.27± 1.15 µg/ ml). Par contre les autres extraits ont une activité faible contre l'AChE par rapport au standard.

Des travaux similaires (**Ferreira. 2006**) sur l'extrait éthanolique a confirmé nos résultats que *Paronychia argentéa*. L possède un pouvoir inhibiteur d'AChE avec un pourcentage allant de 26,1 %, 7,8 % et 48,7% dans les concentrations de 5 mg/ ml, 1 mg/ ml et 0,5 mg/ ml respectivement.

En résumé, la comparaison de la capacité antioxydante (**Figure 40**) des différents échantillons, testés par les 7 activités (DPPH, CUPRAC, Pouvoir réducteur, ABTS, GOR, Phenontroline et DMSO alcalin), a pu montrer que les fractions EAc, EBU et l'EMé étaient les fractions les plus actives dans la plus part des tests, suivies par les fractions EEth, ECh, EAq qui ont une activité antioxydante faible à très faible pour les tests utilisés. Cella reviendrait peut-être aux interactions intermoléculaires des différentes fractions susceptibles de réduire l'effet antioxydant total et la quantité des polyphénols de chaque extrait. Ce constat été confirmé par les résultats précédents du dosage des polyphénols et des flavonoïdes qui ont

montrés que l'EAc contient une teneur élevée en flavonoïdes et polyphénols, suivi par EMé et ECh, puis les extraits EBu, EEth et EAq qui ont des teneurs plus au moins faibles par rapport aux autres extraits.

Par conséquent, on peut déduire que l'activité antioxydante est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes (Mariod et al, 2009 ; Locatelli et al, 2010).

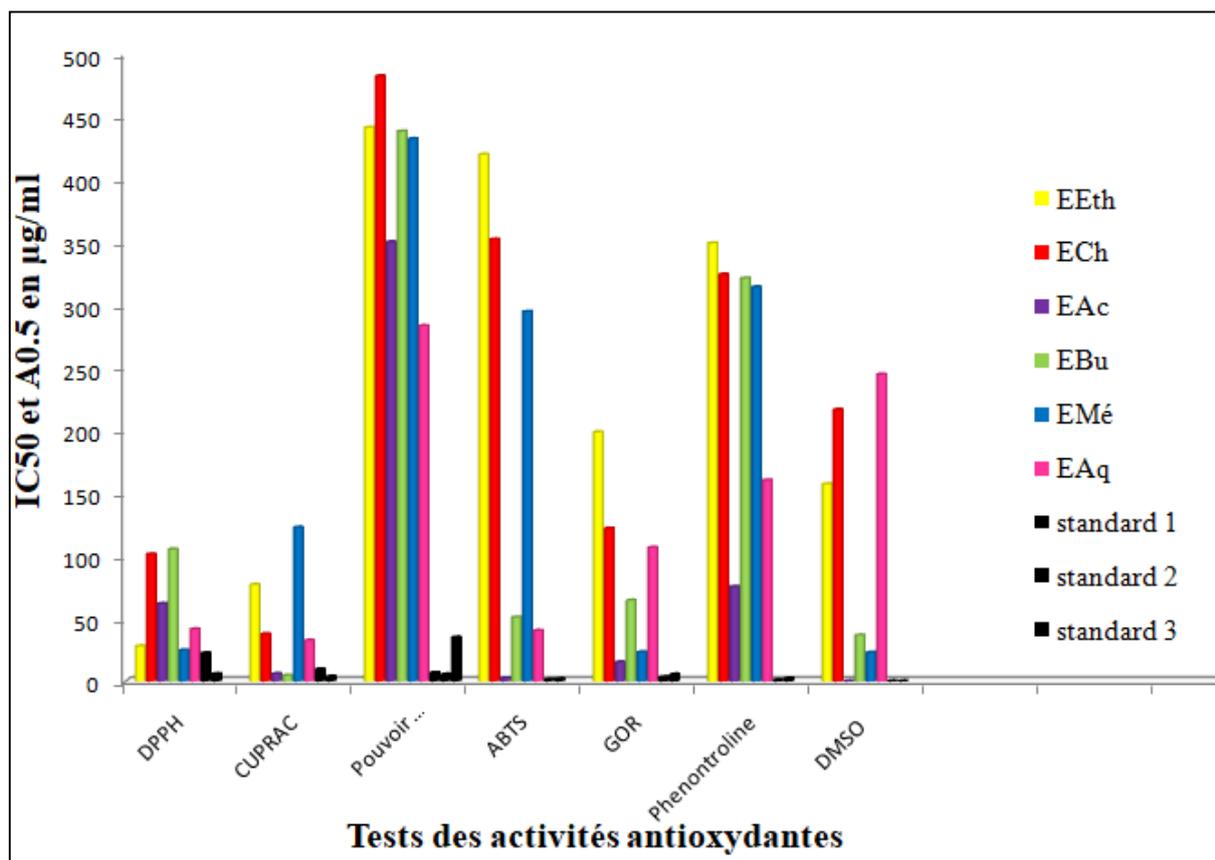
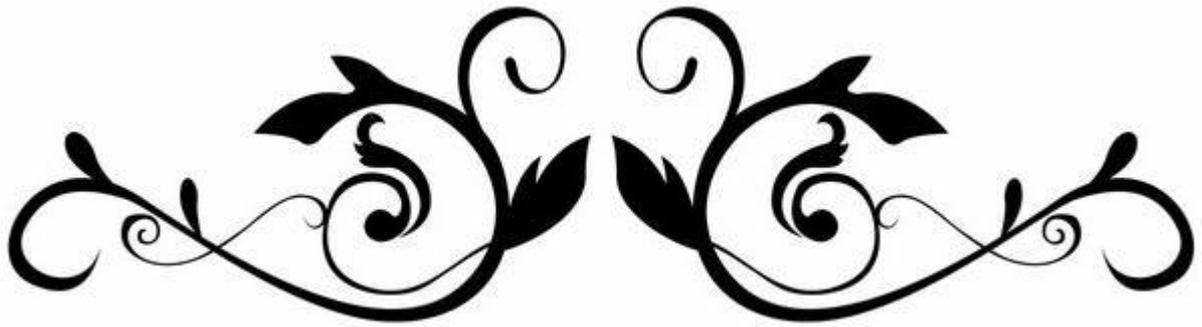


Figure 40 : Histogramme de comparaison de la puissance antioxydante.



Conclusion



La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, une plante *Paronychia argentea.L* a fait l'objet d'une étude phytochimique et d'une évaluation de ses potentiels antioxydants.

L'extraction solide-liquide et liquide-liquide de la partie aérienne de *Paronychia argentea.L* par différents solvants a permis d'obtenir une bonne teneur en composés phénoliques et flavonoïdes qui diffère d'un extrait à un autre.

Ce travail a commencé par un criblage phytochimique qui a révélé la présence des flavonoïdes, alcaloïdes, tanins condensés, flavonoïdes glycosides, sucres réducteurs et les saponines. Ces constituants possèdent plusieurs activités biologiques.

L'estimation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les extraits analysés montrent qu'ils sont riches par ces métabolites. La teneur la plus élevée en polyphénols et flavonoïdes et celle de l'extrait EAc qui est égale à 264.33mg EAG/g et 186.75 mg EQ/g respectivement, par contre les teneurs les plus basses sont 69mg EAG/g d'extrait EEth des polyphénols et 33mg EQ/g d'extrait EAq pour les flavonoïdes.

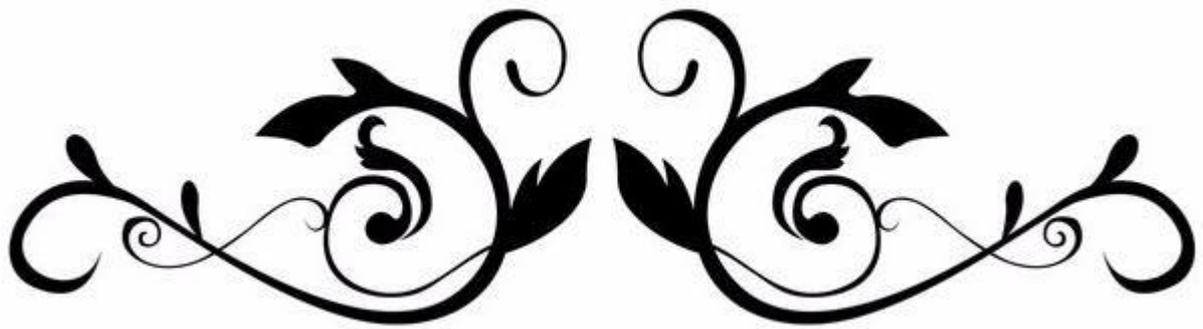
L'activité antioxydante *in vitro* est aussi étudiée avec sept méthodes (Test de l'activité scavenger du radical libre DPPH', ABTS, CUPRAC, Pouvoir réducteur, GOR, Phenanthroline, DMSO alcalin) par contre l'activité enzymatique était testée par la méthode d'inhibition d'ACHé.

Nos extraits ont révélé une meilleure activité antioxydante dans les tests CUPRAC, DPPH et GOR puis ABTS, DMSO, Pouvoir réducteur et Phenanthroline. Parmi les fractions testées ; EAc, EBu et l'EMé étaient les fractions les plus actives dans la plus part des tests avec une activité enzymatique modérée.

Cependant et malgré l'importance des résultats obtenus, différents axes de recherche peuvent être proposés:

- ✓ Développer le spectre des activités biologiques ciblées, en incluant les activités anti-inflammatoires, insecticides et autres.
- ✓ Quantifier et caractériser les métabolites secondaires de cette plante par des méthodes plus performantes.
- ✓ Evaluation *in vivo* des activités biologiques (antioxydante, analgésique, cicatrisante) et du potentiel toxique (toxicité aigue, cytotoxicités).

En fin, la biodiversité des plantes médicinales traditionnelles constitue un réservoir assez important de métabolites secondaires pour la recherche dans le futur.



References

Bibliographiques



Références bibliographiques

-A-

- Abou Elkhair, E. ., Fadde, H. ., Abou Mohsen, U. 2010.** Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Some Medicinal Plants from GAZA Strip-Palestine. Journal of Al Azhar University-Gaza (ICBAS Special Issue), 12 : 45-54.
- Abu-Irmaileh, B.E., Afifi, U.F. 2003.** Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs . Journal of Ethnopharmacology, 89: 193–197.
- Adjanooum J.E., Aké Assi, L., Floret, J.J., Guinko, S., Koumaré, M., Ahyi, A., Raynal, J. 1979.** Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et florestiques au Mali. ACCT, Paris. P 291
- Adjadj, M. 2016.** “Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale *Paronychia argentea* L.” Université Ferhat Abbas Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. département de biochimie. p121.
- Ahamet, S. 2003 .** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae). Thèse Pharmacie, Bamako; P 117
- Ait Abdeslam, K et Ait Atmane, S. 2013.** “Etude comparative de l’extraction assistée par micro-ondes et extraction conventionnelle : Effet sur les antioxydants de *Paronychia argentea*,” Abderrahmane Mira, département de Biologie Physico-chimique, Bejaia, p.41.
- Al-Bakri, A.G., Afifi, F.U. 2007.** Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. Journal of Microbiological Methods 68, 19-25.
- Amezouar, F. W., Badri, M., Hsaine, N., Bourhim, and H. Fougrach. 2013.** “Évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de *Erica arborea* L. du Maroc,” Pathol. Biol., vol. 61, no. 6, p. 254–258.
- Anderson, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T. 1996.** Advances in development of pharmaceutical antioxidants. Adv. Drug. Res, 28 : 65-180.
- Anglais Brett, A., Webster Andrew, A. 2011.** Chapter 132 – Acetylcholinesterase and its Inhibitors. Primer on the Autonomic Nervous System (Third Edition). 631-633
- Aruoma, O.I. 2003.** Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in food plants. Mut. Res, 9(20): 523 - 524.
- Apak, R., Güçlü, K., Özurek, M., et Karademir, S. 2004.** Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion

Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(26): 7970-7981.

Aurousseau, B. 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA Prod. Anim, 15 (1): 67-82.

-B-

Beecher, G.R., Khachik, F. 1992. Qualitative Relationship of Dietary and Plasma Carotenoids in Human Beings. Beyond Deficiency: New Views on the Function and Health Effects of Vitamins. Academy of Sciences, New York.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A., Del Rio, J.A. 1997. Uses and properties of Citrus flavonoids. J. Agric. Food Chem. 45 : 4505–4515.

Bendif, H. 2017. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse de sciences biologiques. Département des sciences naturelles, école normale supérieure de Kouba, Alger.

Berreghioua, Abdelaziz. 2016. investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*.

Bensouici, Chawki. 2015. Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sedum* (Crassulaceae). Doctorat en Sciences en Chimie organique 77-78-109.

Bidié A, Guessan BB, Yapo AF, Guessan JD et Djaman AJ, 2011. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences et Nature, 8 (1):1-11

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.

Bonnefont-Rousselot, D et Collin, F. 2010. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. Toxicology, 278; 55-67.

Botineau, M. 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec & Doc (Eds.), Lavoisier.

Bouanani, S., Henchiri, C., Migianu-Griffoni, E., Aouf, N., Lecouvey, M. 2010. Pharmacological and toxicological effects of *Paronychia argentea* in experimental calcium oxalate nephrolithiasis in rats. Journal of Ethnopharmacology, 129: 38–45

Boudjelal, A., HENCHIRI, C., SARI, M., SARRI, D., HENDEL, N., BENKHALED, A., RUBERTO, G. 2013. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology* 148, 395-402.

Brianceau, S. N. 2015. Vers une amélioration quantitative et qualitative de l'extraction des composés phénoliques du marc de raisin rouge à l'aide d'électrotechnologies, Compiègne.

Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, p 1120.

-C-

Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S., Vasson, M. P., Hasselmann, M., Leverve, X. 2007. Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Paris : Springer-Verlag.

Cardey, B. 2007. Etude théoriques des mécanismes d'oxydation de thiols en milieu d'intérêt biologique. Thèse de Doctorat. Besançon : Université de Franche-Comté.

Carmona, M.D., Llorach, R., Obon, C., Rivera, D. 2005. Zahraa', a Unani multicomponent herbal tea widely consumed in Syria: components of drug mixtures and alleged medicinal properties. *Journal of Ethnopharmacology*. 102: 344–350.

Carvalho, O., Botelho, C., Ferreira, C., Ferreira, H., Santos, M., Diaz, M., Oliveira, T., Soares-Martins, J., Almeida, M et Júnior, A. S. 2013. "In vitro inhibition of canine distemper virus by flavonoids and phenolic acids: implications of structural differences for antiviral design." *Research in veterinary science*, 95(2), 717-724.

Carrió, E., Vallès, J. 2012. Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). *Journal of Ethnopharmacology*, 141:1021–1040.

Comhair, S.A.A., Erzurum, S.C. 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *American Journal Physiology Lung Cell. Molecular Physiology*, 283; 246-255.

Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.

-D-

Dacosta, Y. 2003. Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. p 317.

Daum-Badouard, C. 2006 . Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM /SM dans des milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de Doctorat. Grenoble : Université Joseph-Fourier.

Delacourte, A. 2005. Modélisation de la maladie d'Alzheimer : un parcours semé d'embûches. *Psychol NeuroPsychiatr*. 3,(4). 261-270 .

Derouesné Christian, Selmès Jacques, 2005. La maladie d'Alzheimer:Comportement et humeur. John Libbey Eurotext. Paris. p 283.

Diallo, A. 2005. Etude de la photochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). Thèse de Doctorat en Pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Bamako, Mali.

Dohou, N., Yamni, K., Gmira, N., Idrissi Hassani, L.M. 2003. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine *Thymelaealythroïdes*, Bull. Soc. Bordeaux. p142, 61-78.

Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82; 47-95.

Důračková, Z. 2008. Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In: *Mitochondrial medicine*. Springer Science and Business Media, p19-54.

-E-

El-Agamey, A., Lowe, G.M., McGarvey, D.J., Mortensen, V., Phillip, D.M., Truscott, T.G. 2004. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, *Arch. Biochem. Biophys.*, 430 (1): 37-48.

El Kabouss, A., Charrouf, Z., Oumzil, H., Faid, M., Lamnaouer, D., Miyata, Y et Miyahara, K. 2011. "Caractérisation des flavonoïdes des feuilles d'Arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels, Sapotaceae) et étude de leur activité antimicrobienne." *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 21(3), 157-162

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherston, R. M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88-95.

Evans, W.J. 2000. Vitamin E, vitamin C and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72; 647-652.

-F-

Favier, A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, p108-115.

Ferreira, A., Proenc, C., Serralheiro, M.L.M., Araújo, M.E.M. 2006. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, 108 : 31q-37

Ferreres, F., García- Viguera, C., Tomás- Lorente, F., and Tomás- Barberán, F. A. 1993. "Hesperetin: A marker of the floral origin of citrus honey." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(1), 121-123.

Foyer, C.H., Trebst, A., et Noctor, G. 2008. Signaling and integration of defense functions of tocopherol, ascorbate and glutathione. In: *photoprotection, photoinhibition, gene regulation and environment*. Springer Science Business Media, p 241-268.

-G-

- Gnahoué, G. 2015.** “Etude botanique , screening phytochimique et activité anticandidosique in vitro de *pyncanthus angolensis* (welw .) warb .,” vol. 11, no. 36, p 241–252,
- Gonçalves, S., Gomes, D., Costa, P., Romano, A. 2013.** The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plants. *Industrial Crops and Products* 43, 465-471.
- Grossberg, T., George, 2003.** Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: getting on and staying on. *Curr. Ther. Res.* 64,(4). 216-235.
- Guignard, J-L. 2000.** Biochimie végétale. Edition Dunod, Paris. p 274.
- Guignard, J.-L. 1996.** Biochimie végétale. Masson, Paris, p 255.
- Gutowski, M., et Kowalczyk, S. 2013.** A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *ACTA biochimica polonica*, 60(1); 1-16.

-H-

- Halliwell, B. 1996.** Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Research* 25, 1-32.
- Hamdan, I.I., Afifi, F.U. 2004.** Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 93, 117-121.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. 2004.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. 2002.** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139: 1–21.
- Hu, P., Meng, Y., and Wise, R.P. 2009.** Functional Contribution of Chorismate Synthase, Anthranilate Synthase, and Chorismate Mutase to Penetration Resistance in Barley–Powdery Mildew Interactions. *Mol. Plant Microbe Int.* 22(3):311-320.
- Huang, H.Y., Appel, L.J., Croft, K. D., Miller, E.R., Mori, T.A., Puddey, I.B. 2002.** affects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: results of a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, vol.76, n°3, p 549-555.

-I-

- Iqbal,H .,Moneeb,Ur., Khattak,R ; Riazulla,H .,Zia, M .,Khan,K., Khan, F.A ., Ullah, Z et Sajjad, H. 2011 :** Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of *Khyberpakhtunkhwa* Pakistan African .*Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 5(6), p 746-750.

-J-

Jacquot, J.P., Dietz, K.J., Rouhier, N., Meux, E., Lallement, P.A., Selles, B et Hecker, A. 2013. Redox regulation in plants: glutathione and “redoxin” related families. In: Oxidative stress and redox regulation. Springer Science Business Media Dordrecht, p 213-291.

-K-

Karumi, Y., Onyeyili, P.A., Oyugbuaja, V.O. (2004). Identification of active principals of *M. Balsamia* (Balsam Apple) leaf extract. *Journal of Medicinal Science*, 4(3), 179-182.

Kaur, C., and Kapoor, H. C. 2002. "Anti- oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables." *International Journal of Food Science & Technology*, 37(2),153-161.

Koffi, N., Beugré, K., Guédé, N.Z., Dossahoua, T., Laurent, A. 2009.Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire), *Sciences & Nature* Vol.6 N°1:1 – 15

Krief, S. 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. *Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdely, C. 2007.Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch*, 45: 244-249.

-L-

Lamarck, J.B., De Candolle, A.P. 1805. Flore Française: ou descriptions succinctes de toutes les plantes qui croissent naturellement en France, disposées selon une nouvelle methode d’analyse et precedées par un exposé des principes élémentaires de la botanique : Dersay 3 /3 : 404-405.

Leong, LP., Shui, G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76: 69-75.

Li, C.Y., Jackson, R.M. 2002. Reactive species mechanisms of cellular hypoxiareoxygenation injury. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol*, 282: C227–C241.

Limbach, S., et Guillard, J.C. 2007.Vitamines. Dans: *Traité de nutrition artificielle de l’adulte*. 2 eme éd, France, Springer- Verlag, p 127-143.

Liu, D., Vorobiev, E., Savoie, R., Lanoisellé, L.J. 2011.Intensification of polyphenols extraction from grape seeds by high voltage electrical discharges and extract concentration by dead-end ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 81: 134–140.

Lonn, M.E., Dennis, J.M., Stocker, R. 2012. Actions of ‘antioxidants’ in the protection against atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 53; 863-884.

Luthar, Z. 1992. Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum*, 12: 36 - 42.

-M-

Makhloufi, A. 2013. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.

Malešev, D., and Kuntić, V. 2007. "Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions." *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10), 921-939.

Marc, T., Gerard, W., Denis, L. 2001. Classification des anti-inflammatoires in *Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4 eme Edition. 426 P. 39.*

Marco, F. 2013. Oxidative stress and HPV Carcinogenesis. *Viruses*, 5; 708-731.

Mariod, A. A., Ahmed, Y. M., Matthaus, B., Khaleel, G., Siddig, A., Gabra, A. M., Siddig, Ibrahim, Abdelwahab, 2009. A comparative study of the properties of six Sudanese cucurbit seeds and seed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86 (12): 1181-1188

Martin, S., Andriantsitohaina, R. 2002. Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphénols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*.51, 304-315.

McCord, JM., Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase, an enzymic function for erythrocyte. *J Biol Chem*; 44:6049-55

Medić-Šarić, M., Jasprica, I., Mornar, A., Smolčić-Bubalo, A., et Golja, P. 2004. "Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acids in propolis by twodimensional thin layer chromatography." *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 17(100), 459-463.

Merghem, R. 2009. Livre éléments de biochimie végétale. Université Constantine. Page 122-123.

Merksamer, P.I., Liu, Y., He, W., Hirschey, M.D., Chen, D et Verdin, E. 2013. The sirtuins, oxidative stress and aging: an emerging link. *Aging*, 5 (3); 144-150.

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839.

Milane, H. 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en Sciences
Domaine : Pharmacochimie, Université Louis Pasteur Strasbourg I.

Mohammedi, Zohra .2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques des quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie.université Abou Bakr Belkaid. Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université de Tlemcen, Algérie.p 160.

Muanda François Nsemi. 2010. "Identification de Polyphénols, Évaluation de Leur Activité AntioxydFrançois Nsemi MUANDA ante et Étude de Leurs Propriétés Biologiques." Thèse de Docotorat.

Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT - Food Science and Technology, 43: 992–999.

-N-

Nathalie Boizot, Jean-Paul Charpentier. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.

Najjaa, N., Zouari, S., Arnault, I., Auger, J., Emna, A., Neffati, M. 2011.
Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*
Alliumroseum L.et *Allium ampeloprasum* L, Acta Bot. Gallica, 158(1), 111-123.

Nijveldt, R. J., Nood, E., Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Norren, K., Leeuwen, P. 2001.
Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. Am. J. Clin Nutr, 74 : 418–425.

Nourhashémi, F. 2006.Actualités et perspectives thérapeutiques de la maladie d'Alzheimer. La Revue de Médecine Interne. 27,(8). 585-587.

-O-

Ocana, E.M., Fernandez, I., Pastor, J. 1997. Fruit and seed morphology in paronychia Miller from south-west Spain . Lagasalia, 19 (1-2): 521-528.

Oroian, M., Escriche, I. 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. Food Research International 74, 10-36.

Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine.Japanese Journal of Nutrition, 44, 307–315.

-P-

Pastre, J.O.C. 2005. Interer de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire, université de toulouse3, p 116.

Papa, L., Manfredi, G et Germain, D. 2014. SOD1, an unexpected novel target for cancer therapy. *Genes and Cancer*, 5 (1-2); 15-21.

Peng, C., Wang, X., Chen, J., Jiao, R., Wang, L., Li, Y.M., Zuo, Y., Liu, Y., Lei, L., Ma, K.Y., Huang, Y., and Chen, Z.Y. 2014. Antioxidants biology of ageing and role of dietary. *BioMed Research International*, ID 831841; 1-13.

Prouillac, C. 2006. Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III.

-R-

Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S et Dhama, K. 2014. Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*, V2014 ; 1-14.

Rao, E., Kunchandy, M. N. A. 1990. "Oxygen radical scavenging activity of curcumin," *Int. J. Pharm.*, vol. 58, p 237–240.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.

Rebereau-Gayon, p. 1968. Notion générale sur les composés phénoliques. In : les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, 1-40.

Rice-Evans, C., Miller, N et Paganga, G. 1997. "Antioxidant properties of phenolic compounds." *Trends in plant science*, 2(4), 152-159.

Richter, G., 1993. Métabolisme des végétaux : Physiologie et biochimie. Edition Presses Polytechniques et Universitaires Romandes : 318-338.

-S-

Sait, S., Hamri-Zeghichi, S., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K., Rigou, P., Brighenti, V., Prencipe, F.P., Benvenuti, S., Pellati, F. 2015. HPLC-UV/DAD and ESI-MSn analysis of flavonoids and antioxidant activity of an Algerian medicinal plant: *Paronychia argentea* Lam. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 111, 231-240.

Salido, M., and Rosado, J.A. 2009. Apoptosis: involvement of oxidative stress and intracellular Ca^{2+} homeostasis. *Springer Science and Business Media*, p 1-17.

Santayana, M.P., Blanco, E., Morales, R. 2005. Plants known as tèn in Spain: An ethnopharmacobotanical review. *Journal of Ethnopharmacology*, 98 : 1–19.

Shi, H., Noguchi, N., Niki, E. 2001. Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods Enzymol*; 335:157-66.

Singleton, V., ET Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phénolics with phosphomotungstic acid reagent. *Am J Enol Viticulture*, 16: 144-158

Sorg, O. 2004. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*, 327; 649-662.

Suyani, H.A., Alif, M., Efdi et H., Aziz, 2018. “Modification of Phenanthroline Method to determine Antioxidant Content in Tropical Fruits Methanolic Extract,” no. April,

-T-

Tamer Fouad, M.D. 2003. Free radicals, Types, sources and damaging reactions, *Internal Medicine Articles*. (<http://www.doctorslounge.com/primary/articles/>).

Tanumihardjo, S.A. 2013. Carotenoids and Human Health. Humana Press, Springer. USA.

Tavakoli, J., et Pazhouhanmehr, S. 2010. Fatty acid composition of oils from fruits of three Pistacia species growing in Iran. *Chem Nat Compd*, 46 (4): 623-624.

Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., et Mohammad, M. 2007. “Food Chemistry Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species,” vol. 104, p 1372–1378.

Topçu, G., Ay A., Bilici, A., Sarkürkcü, C., Öztürk, M et Ulubelen, A. 2007. A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. *Food Chemistry* 103: 816–822.

Trease, E.G., Evans, W.C. (1978). *Pharmacognosy*. 11th Edition, Balliere Tindall. London, 115-222.

-V-

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem*, 266: 37–56.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interact*, 160: 1–40.

Van Acker, S., van Balen, G.P., van den Berg, D.J., van der Vijgh, W.J.F. 1996. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56 : 935– 943.

Van Antwerpen, P. 2006. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myeloperoxydase / peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles.

Van sant, G. 2004. Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone. 301.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L et Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4113-4117.

Vinatoru, M., Toma, M., Radu, O., Filip, P.I. 1997- The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry*. T. J. Vol. 4(2): 135-139.

-W-

Walker, J.E.M., Saraste, M.J., Runswick, and N.J.Gay. 1982. Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo J*, 1 (8) : 945-51.

-Y-

Yan, L.J. 2014. Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerances. *Redox Biology*, 2; 165-169.

Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. 2004. Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.*, 59 : 113-122.

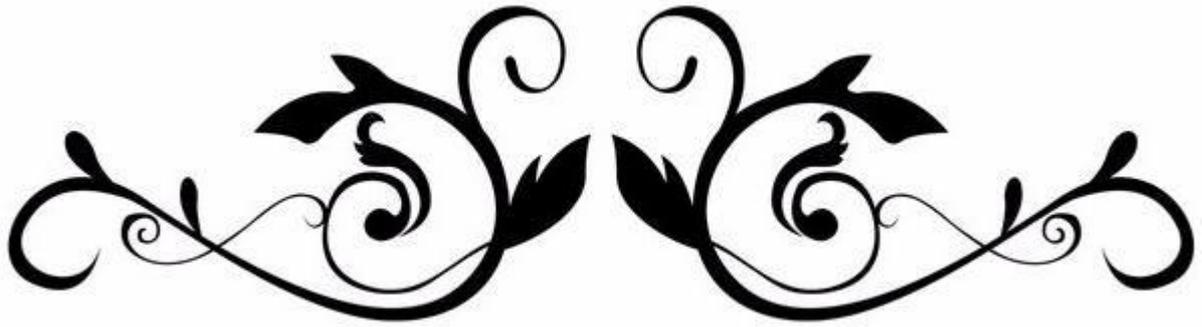
Yves-Alain, B., Janat, A., Mamyrbekova, B., Boua, B., Fézan, H., Trabi, Ehouan, E. 2007. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. and Zarucchi (Caesalpinaceae), *Sciences & Nature* Vol. 4 N°2 : 217 – 225.

-Z-

Zama, D., Meraihi, Z., Tebibel, S., Benayssa, W., Benayache, F., Benayache, S., Vlietinck, A. 2007. Chloropyrifos-induced oxidative stress and tissue damage in the liver, kidney, brain and fetus in pregnant rats: the protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L. *Indian Journal of Pharmacology*, 39: 145–150.

Ziberna, L., Fornasaro, S., Čvorović, J., Tramer, F., Passamonti, S. 2014. Bioavailability of flavonoids: The role of cell membrane transporters. *Polyphenols in Human Health and Disease* 1, 489-511.

Zhou, Y., Yan, H., Guo, M., Zhu, J., Xiao, Q et Zhang, L. 2013. Reactive oxygen species in vascular formation and development. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013V; 1-14.



Annexe



Annexe

Annexe 1 : Préparation des réactifs de screening phytochimique

➤ **Préparation de réactif Mayer :**

10 g de KI (iodure de potassium) + 2.70 g de HgCl₂ (chlorure de mercure) + 20 ml de l'eau distillé)

➤ **Préparation de NaOH :**

1N → 40 g → 1000 ml (eau distillée).

1N → 2 g → 50 ml.

0.1 N → 0.2 g → 50 ml.

➤ **Préparation de Feheling :**

• **Solution A :**

Dans un erlenmeyer de 250 ml : dissoudre 7 g de sulfate de cuivre penta hydraté dans 100 ml de l'eau distillé.

• **Solution B :**

Dans un erlenmeyer de 250 ml : dissoudre 34.6 g de tartrate double de sodium et de potassium et 10 g d'hydroxyde de Sodium dans 100 ml de l'eau.

➤ **Préparation de tampon phosphate :**

• **Solution1 :**

7.1g(Na₂HPO₄) 250ml (eau distillé).

• **Solution2 :**

7.8 g(NaH₂PO₄·2H₂O) 250ml (eau distillé).

• **Solution 3 (0.2M, pH6.6) = 37.5ml (solution1) + 62.5ml (solution2)**

➤ **Préparation solution de chlorure ferrique (FeCl₃ à 1%) :**

Dissoudre 1 g chlorure ferrique dans 100 ml d'eau distillée.

➤ **Préparation de Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5% :**

7,5 gramme de Na₂CO₃ et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

Annexe 2 : réactifs de dosage

➤ **Préparation FCR :** est constitué par un mélange d'acide phosphotungastique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀)

➤ **Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10foi :**

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

➤ **Préparation de Gamme d'étalonnage d'acide gallique :**

Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissout dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S₁ (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite:

25µg/ml → 25µl de S₁+ 175µl de MeOH

50 µg /ml → 50µl de S₁+ 150µl de MeOH

75µg/ml → 75µl de S₁+ 125µl de MeOH

100µg/ml → 100µl de S₁+ 100µ de MeOH

125µg /ml → 125µl de S₁+ 75µl de MeOH

150µg /ml → 150µl de S₁+ 50µl de MeOH

175 µg /ml → 175µl de S₁+ 25µl de MeOH

200µg /ml → 200µl de S₁

20µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque + 100µl FCR (1 :10) + 75µl de Na₂CO₃ (7,5%)+ incubation 2h + lecture à 765nm.

➤ **Préparation de Nitrate d'aluminium (Al(NO₃)₃, 9H₂O) 10% :**

On pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

➤ **Préparation de la gamme d'étalon de la Quercetin :**

On prend 1 mg de la Quercetin et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml S_m.

Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

Quercetin(25) → 25µl S_m+ 175 µl MeOH

Quercetin(50) → 50µl S_m+ 150µl MeOH

Quercetin (75)→ 75 µl S_m + 125µ MeOH

Quercetin(100) → 100µl S_m+ 100µl MeOH

Quercetin (125) → 125 µl Sm + 75µl MeOH

Quercetin(150) → 150µl Sm + 50µl MeOH

Quercétine (175) → 175µl Sm + 25µl MeOH

Quercetin(200) → 200µl Sm + 0 MeOH

50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 µl (MeOH) +10 µl (S₁)(CH₃COOK) + 10 µl (Al(NO₃)₂, 9H₂O) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm.

Annexe 3 : préparation des solutions et réactifs des activités biologiques

➤ Préparation de la DPPH :

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

➤ Préparation de K₃Fe(CN)₆ :

1 g de K₃Fe(CN)₆ dans 100 ml H₂O.

➤ Préparation d'Acide trichloracétique (TCA) à (10 %) :

1 g de TCA dans 10 ml H₂O.

➤ Préparation de ferricchloride (FeCl₃:0.1%) :

0,1 g de FeCl₃ dans 100 ml H₂O.

➤ Préparation de ABTS⁺ :

19,2 mg (7 mM)ABTS + 5 ml H₂O + 3,3 mg (2.45 mM)(K₂S₂O₈) +5 ml H₂O+ attendre 16 heure à l'abri de la lumière

➤ Préparation de Ferricchloride (FeCl₃) (0.2%)

0.02g de FeCl₃ dans 10ml de H₂O

➤ Préparation de Phenanthroline (0.5%)

0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH

➤ préparation de DMSO alcalin

20 mg de NaOH est dissoute dans 1 ml de H₂O et compléter par le DMSO à 100 ml

➤ préparation de NBT

10 mg de NBT dans 10 ml de l'eau distillé.

Annexe 4 : IC₅₀ et A_{0,5} ± l'écartype des différentes activités

- **IC₅₀ d'activité DPPH :**

| Extrais | EEth | ECh | EAc | EBu | EMé | EAq | BHT | BHA |
|-------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------|---------------|
| IC ₅₀ ± l'écartype | 27,97± 0,023 | 101,04± 0,014 | 61,76± 0,038 | 105,04± 0,062 | 24,47± 0,006 | 41,47± 0,011 | 22.32± 1.19 | 5.73± 0.41 |

- **A_{0,5} d'activité CUPRAC :**

| Extrais | EEth | ECh | EAc | EBu | EMé | EAq | BHT | BHA |
|-------------------------------|--------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|------------|---------------|---------------|
| A _{0,5} ± l'écartype | 77± 0,034 | 37,6± 0,041 | 5,88± 0,285 | 4,57± 0,168 | 122,5± 0,038 | 32,5± 0,03 | 9.62± 0.87 | 3.64± 0.19 |

- **A_{0,5} d'activité PR :**

| Extrais | Eeth | Ech | Eac | Ebu | Emét | Eaq | Acide ascorbique | Acide tannique | α-tocopherol |
|-------------------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|--------------|
| A _{0,5} ± l'écartype | 73.5± 0,077 | 120.5± 0,028 | 57.8± 0,078 | 105.5± 0,042 | 82.6± 0,024 | 65.25± 0,103 | 6,77± 1,15 | 5,39± 0,91 | 34,93± 2,38 |

- **IC₅₀ d'activité ABTS :**

| Extrais | EEth | Ech | Eac | Ebu | Emét | Eaq | BHT | BHA |
|-------------------------------|------------------|------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|---------------|---------------|
| IC ₅₀ ± l'écartype | 419,55± 0,011 | 351,94± 0,015 | 2,45± 0,009 | 50,817± 0,011 | 294,38± 0,041 | 40,23± 0,030 | 1,29± 0,30 | 1,81± 0,10 |

- **IC₅₀ d'activité GOR :**

| Extrais | EEth | ECh | EAc | EBu | EMé | EAq | BHT | BHA |
|-------------------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|---------------|----------------|
| IC ₅₀ ± l'écartype | 198,44± 0,083 | 121,68± 0,076 | 15,23± 0,044 | 64,29± 0,164 | 23,10± 0,034 | 106,37± 0,063 | 3.32± 0,18 | 5.38 ± 0,06 |

- **A_{0,5} d'activité Phenontroline :**

| Extrais | EEth | ECh | EAc | EBu | EMé | EAq | BHT | BHA |
|-------------------------------|---------------|--------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| A _{0,5} ± l'écartype | 349± 0,047 | 324± 0,01 | 75,2± 0,011 | 321± 0,006 | 314± 0,007 | 160± 0,026 | 0,93± 0,07 | 2,24± 0,17 |

- **IC₅₀ d'activité DMSO alcalin :**

| Extrais | EETH | ECh | EAc | EBu | EMé | EAq | Acide tannique | α-tocophérol |
|---------|------|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|--------------|
| | | | | | | | | |

| | | | | | | | | |
|-------------------------|---------|---------|-------|--------|--------|---------|---------|--------------|
| IC₅₀± | 157,03± | 216,25± | 0,12± | 36,62± | 22,86± | 244,43± | <3,125± | <3,125± 1,24 |
| l'écartype | 0,014 | 0,020 | 0,065 | 0,027 | 0,160 | 0,126 | 0,65 | |

• **IC₅₀ d'activité AChE :**

| Extrais | EETH | ECh | EAc | EBu | EMé | EAq | Galantamine |
|-------------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|--------------------|
| IC₅₀± | 171,93± | 38,64± | 211,75± | 239,54± | 769,09± | 183,91± | 6,27± 1,15 |
| l'écartype | 0,06 | 0,123 | 0,064 | 0,133 | 0,093 | 0,037 | |

Résumé

Paronychia argentea.L est une plante médicinale appartenant à la famille des *Caryophyllaceae* utilisée pour ses diverses propriétés thérapeutiques.

Ce travail porte sur une étude phytochimique qui révèle la présence des alcaloïdes, des tanins condensés, des sucres réducteurs, des stéroïdes, des flavonoïdes glycosides et des saponines des six extraits (EEth, ECh, EAq, EBU, EMé et EAq) qui sont préparés par une extraction hydro-alcoolique et fractionnement avec des solvants à polarités croissantes de la partie aérienne de *Paronychia argentea.L*

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont montré que cette plante est riche en polyphénols surtout les extraits (EAc, l'ECh et l'EMé) à teneurs de 264, 33 mg EAG/ g d'extrait, 169,33 mg EAG/g d'extrait et 214.33mg EAG/g d'extrait respectivement, aussi la teneur en flavonoïdes avec des valeurs 186,75 mg EQ/g d'extrait et 99.5 mg EQ/g d'extrait pour les extraits EAc et ECh respectivement.

L'étude de l'activité antioxydante par les sept méthodes (DPPH, ABTS, CUPRAC, Pouvoir réducteur, GOR, Phenanthroline, DMSO alcalin) a révélé une bonne activité antioxydante et a montré que les fractions EAc, EBU et l'EMé étaient les plus actives dans la plus part des tests. Une méthode a été utilisée pour l'évaluation de l'activité enzymatique AChE, qui a montré une activité modérée.

Mots clés :

Paronychia argentea.L, activité antioxydante; activité enzymatique, Polyphénols, Flavonoïdes.

Abstract

Paronychia argentea.L is a medicinal plant belonging to the family Caryophyllaceae used for several therapeutic properties.

This work focuses on a phytochemical study that reveals the presence of alkaloids, condensed tannins, reducing sugars, steroids, flavonoids glycosides and saponins from the six extracts (EEth, ECh, EAq, EBU, EMé and EAq) that are prepared by hydro-alcoholic extraction and fractionation with solvents with increasing polarities of the aerial part of *Paronychia argentea.L*.

The determination of total polyphenols and flavonoids has shown that this plant is rich in polyphenols, especially the extracts (EAc, ECh and EMé) at levels of 264, 33 mg EAG / g extract, 169.33 mg EAG / g extract and 214.33mg EAG / g extract respectively, while flavonoid content with contents 186.75 mg EQ / g extract and 99.5 mg EQ / g extract for EAc and ECh extracts respectively.

The study of the antioxidant activity by the seven methods (test of the scavenger activity of the free radical DPPH', ABTS, CUPRAC, Reducing power, GOR, Phenanthroline, alkaline DMSO) revealed a better antioxidant activity and they showed that EAc, EBU and EMé were the most active fractions in most tests. One method was used for evaluation of enzymatic activity: AChE showed a low activity.

Keywords:

Paronychia argentea.L; antioxidant activity; enzymatic activity, Polyphenols, Flavonoids.

الملخص

Paronychia argentea.L هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة *Caryophyllaceae* المستخدمة في العديد من الخصائص العلاجية.

يركز هذا العمل على دراسة كيميائية نباتية تكشف عن وجود sucres ; tanins condensés ; alcaloïdes saponines و flavonoïdes glycosides stéroïdes ; réducteurs من المستخلصات الستة (ECh و EEth و EAq و EBu و EMé و EAq) التي تم تحضيرها عن طريق الاستخلاصها وفصلها بالمذيبات ذات الأقطاب المتزايدة للجزء الجوي من *Paronychia argentea.L*

أظهر تحديد عديد الفينول والفلافونويد أن هذا النبات غني بعديدات الفينول ، خاصة المستخلصات (ECh ، EAc) و EMé بمستويات 264.33 مغ مكافئ الغاليك / غ ، 169.33 مغ مكافئ الغاليك / غ و 214.33 مغ مكافئ الغاليك / غ على التوالي ، بينما محتوى الفلافونويد كان كالاتي 186.75 مغ مكافئ qeurcetine / غ للمستخلص EAc و 99.5 مغ مكافئ qeurcetine / غ للمستخلص ECh.

كشفت دراسة نشاط مضادات الأكسدة من خلال الطرق السبعة (DPPH ، ABTS ، CUPRAC ، PR ، GOR ، Phenanthroline ، DMSO) عن نشاط جيد وقوي في معظم الاختبارات لهذه المستخلصات EA ، EBu و EMé. اما النتائج المتعلقة لتقييم النشاط الأنزيمي نشاطاً ضعيفاً نوعاً ما.

الكلمات المفتاحية

Paronychia argentea.L؛ النشاط المضاد للأكسدة، النشاط الأنزيمي ، متعدد الفينول، الفلافونويدات.

Année universitaire : 2018 – 2019

Présenté par : BENFALAMI RACHA

Date de soutenance : 16/07/2019

MOUARSIA SOMIA

Etude phytochimique et évaluation in vitro des activités antioxydantes et enzymatiques des extraits d'une plante médicinale *Paronychia argentea.L*

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en biochimie appliqué.

Résumé :

Paronychia argentea.L est une plante médicinale appartenant à la famille des *Caryophyllaceae* utilisée pour ses diverses propriétés thérapeutiques.

Ce travail porte sur une étude phytochimique qui révèle la présence des alcaloïdes, des tanins condensés, des sucres réducteurs, des stéroïdes, des flavonoïdes glycosides et des saponines des six extraits (EEth, ECh, EAq, EBU, EMé et EAq) qui sont préparés par une extraction hydro-alcoolique et fractionnement avec des solvants à polarités croissantes de la partie aérienne de *Paronychia argentea.L*

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont montré que cette plante est riche en polyphénols surtout les extraits (EAc, l'ECh et l'EMé) à teneurs de 264, 33 mg EAG/ g d'extrait, 169,33 mg EAG/g d'extrait et 214.33mg EAG/g d'extrait respectivement, aussi la teneur en flavonoïdes avec des valeurs 186,75 mg EQ/g d'extrait et 99.5 mg EQ/g d'extrait pour les extraits EAc et ECh respectivement.

L'étude de l'activité antioxydante par les sept méthodes (DPPH, ABTS, CUPRAC, Pouvoir réducteur, GOR, Phenanthroline, DMSO alcalin) a révélé une bonne activité antioxydante et a montré que les fractions EAc, EBU et l'EMé étaient les plus actives dans la plus part des tests. Une méthode a été utilisée pour l'évaluation de l'activité enzymatique AChE, qui a montré une activité modérée.

Mots clés : *Paronychia argentea.L* ; activité antioxydante; activité enzymatique, Polyphénols, Flavonoïdes.

Laboratoire de recherche : CRBT et laboratoire de Biochimie (université Constantine 1)

Jury d'évaluation

Président du jury : Dr. HALMI Sihem (Maitre de conférences classe B-UFM Constantine 1).

Rapporteur : Dr. MADI Aicha (Maitre de conférences classe B-UFM Constantine 1).

Examineur: Dr.BENSOUICI Chawki (Maitre de recherche classe B, CRBT Constantine).

