



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biochimie et Biologie cellulaire et
Moléculaire

قسم : البيوكيمياء و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : biochimie appliquée

Intitulé :

Galatella linosyris Extraction et étude théorique

Présenté et soutenu par :

Le : 24/09/2020

- ❖ BOUAKRIF Nourhene Kaouther
- ❖ KIMOUCHE Roumaissa

Jury d'évaluation :

- **Président** : Mr BOUANIMBA Nour (MCA- UFM Constantine).
- **Rapporteur** : Mr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine).
- **Examineurs** : Mr BENSOUICI chawki (MRB- CRBT Constantine).

Année universitaire
2019 – 2020

Remerciements

Pour commencer, je remercie dieu, le grand miséricordieux, de m'avoir donné le courage, la force et la patience, et de m'avoir guidé vers le droit chemin durant mes années d'études.

Le travail faisant l'objet de ce mémoire a été réalisé au Centre de Recherche de la Biotechnologie (CRBT), sous les orientations de Monsieur KITOUNI RACHID, à qui j'exprime mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance de nous avoir guidé, l'inlassable soutien qu'il nous a accordé, la facilité de travail qu'il nous a procuré et les précieux conseils qu'il nous a prodigué tout au long de notre travail.

Mes remerciements s'adressent également au monsieur le docteur Bensouici Chawki, directeur de recherche au Centre de recherche en biotechnologie CRBt, Constantine, pour son accueil et son aide afin de réaliser notre travail.

Mes remerciements vont également à monsieur BOUANIMBA Nour et monsieur Bensouici chawki, pour l'honneur qu'ils faites en acceptant d'examiner notre soutenance de mémoire de Master.

J'exprime mes sincères remerciements à tous les professeurs du département sciences de la nature et de la vie de l'université frères Mentouri constantine.

Je tiens enfin à exprimer toute ma gratitude à ma famille dont le soutien a été essentiel tout au long de mes études, en particulièrement mes chers parents, mes frères et ma cousine Meroua

Dédicace

A mes chers parents Athmane et Miroud Zohra qui m'ont toujours encouragé tout au long de ma vie et qui m'ont consacré tous leur temps, patience et conseils surtout dans les moments difficiles, que Dieu les protège.

A mes chers frères Oussama, Ayoub, Haider et ma sœur Chahrazed pour leur aide et leur soutien moral.

A ma chère grande mère Akila aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour toi, je te remercie pour le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que tu m'a porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

A mon très cher oncle Salim qui a été toujours présent à mon côté pour ses bons conseils. Votre affection et votre soutien m'a été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle.

A tous mes collègues de la promotion de la biochimie appliquée merci pour les bons moments qu'on a passés ensemble, de votre soutien et de votre serviabilité.

A Mon binôme Nourhene kaouther, j'ai partagé avec elle les joies et les difficultés relatives au suivi de notre formation.

A mes meilleurs amies : Dallel, Romaiissa, Rania, Jihene et Bouchra merci d'être toujours près de moi avec lesquelles je partage mes sourires.

ROUMEISSA

Dédicace

A mes chers parents Amel et Riad

Je vous dois ce que je suis aujourd'hui grâce à votre patience et vos innombrables sacrifices. Que ce modeste travail, soit pour vous une petite compensation et reconnaissance envers ce que vous avez fait d'incroyable pour moi. Que le grand miséricordieux vous préserve et vous procure santé et longue vie afin que je puisse à mon tour vous combler de joie et de bonheur.

A mes chers frères Chouaib, Chahine et Aymen pour leur appui et leur encouragement, que le bon dieu les garde pour moi.

A ma très chère grand-mère Ghania qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, que le bon dieu la garde pour moi

A mes très chères tantes qui m'ont toujours soutenu : Chourouk, Sandra, Saoussen, Naouel, Linda.

A mes tantes : Wided, Hiba, Souad.

A mes chers oncles : Samir, Skander

A mes chères cousines : Amani, Lina, Amira, Yassmine, Raouene, Sabrina, Sara et à ma très chère Meroua qui est toujours là pour moi

A tous mes cousins et cousines

A mes amies d'enfance : Nesserine, Moufida, Batoul, Nourhene, Racha

A mon binôme Roumeissa, avec qui j'ai partagé des moments agréables

Merci

Nourhene Kaouther

Liste des abréviations

- ❖ % : Pourcentage.
- ❖ °C : Degré Celsius.
- ❖ µg N/l : Microgramme Nutriments par litre.
- ❖ µL : Microlitre.
- ❖ µm : Micromètre.
- ❖ ¹O₂ : Oxygène singulet.
- ❖ 8-OH-dG : 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine.
- ❖ ABTS : Acide 2,2'-Azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.
- ❖ AChE : Acétylcholinestérase.
- ❖ ADN : Acide désoxyribonucléique.
- ❖ AGP : Angiosperm phylogeny group.
- ❖ AGPI : Acides gras poly-insaturés.
- ❖ AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.
- ❖ ANS : Anthocyanidine synthase.
- ❖ ATP : Adénosine triphosphate.
- ❖ CHI : Chalcone isomérase.
- ❖ CHS : Chalcone synthase.
- ❖ Cl⁻ : Ions chlorure.
- ❖ Cm : Centimètre.
- ❖ CMB : Concentration minimale bactéricide.
- ❖ CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.
- ❖ CS : Chalcone synthase.
- ❖ Cu : Cuivre.
- ❖ Cu⁺²-Nc : Complexe cuivre- néocuproïne.
- ❖ CUPRAC : Cupric ion Reducing Antioxydant Capacity.
- ❖ DFR : Dihydroflavonol réductase.
- ❖ DID : Diabète insulino-dépendant.
- ❖ Dm : Décimètre.
- ❖ DNID : Diabète non insulino-dépendant.

- ❖ **DPPH** : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl.
- ❖ **DTNB** : 5,5'-Dithiobisnitrobenzoate.
- ❖ **EDTA** : Ethylènediaminetétraacétique.
- ❖ **ERA** : Espèces réactives de l'azote.
- ❖ **ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.
- ❖ **F3H** : Flavanone-3-hydroxylase.
- ❖ **Fe²⁺** : Fer ferreux.
- ❖ **Fe³⁺** : Fer ferrique.
- ❖ **FeCl₃** : Chlorure ferrique.
- ❖ **FLS** : Flavonol synthase.
- ❖ **FNR** : Flavanone réductase.
- ❖ **FS** : Flavone synthase.
- ❖ **g/L** : Gramme par litre.
- ❖ **g/ml** : Gramme par millilitre.
- ❖ **GC/MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
- ❖ **GPx** : Glutathion peroxydase.
- ❖ **GSH** : Glutathion réduit.
- ❖ **GSSG** : Glutathion oxydée.
- ❖ **GT** : Glucosyl transférase.
- ❖ **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène.
- ❖ **HIV** : Virus de l'immunodéficience humaine.
- ❖ **IC₅₀** : Concentration d'inhibition de 50%.
- ❖ **IFS** : Isoflavone synthase.
- ❖ **K₃Fe(CN)₆** : Ferricyanure de potassium.
- ❖ **LDL** : Low density lipoprotein.
- ❖ **Lux** : L'unité du flux lumineux.
- ❖ **M** : Mètre.
- ❖ **Mm** : Millimètre.
- ❖ **mM** : Millimole.
- ❖ **mmol/L** : Millimole par litre.
- ❖ **Mol⁻¹.L.s⁻¹** : Mole⁻¹.Litre.seconde⁻¹.
- ❖ **Na⁺** : Ions sodium.
- ❖ **NaCl** : Chlorure de sodium.
- ❖ **NADPH** : Nicotine adénine dinucléotide phosphate.

- ❖ **nm** : Nanomètre.
- ❖ **NO[•]** : Monoxyde d'azote radicalaire.
- ❖ **NOO[•]** : Radical nitrite.
- ❖ **O₂** : L'oxygène.
- ❖ **O₂⁻** : Anions superoxydes.
- ❖ **OH** : Radical hydroxyl.
- ❖ **OONO⁻** : Peroxynitrite.
- ❖ **PAL** : Phénylalanine ammonia lyase.
- ❖ **PBS** : Tampon phosphate salin.
- ❖ **PH** : Potentiel hydrogène.
- ❖ **PMSR** : Peptide méthionine sulfoxyde réductase.
- ❖ **pNPG** : p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside.
- ❖ **RL** : Radicaux libres.
- ❖ **RMN** : Résonance magnétique nucléaire.
- ❖ **RNS** : Reactive nitrogen species.
- ❖ **ROO[•]** : Radical peroxy.
- ❖ **ROS** : Reactive oxygen species.
- ❖ **SOD** : Superoxyde dismutase.
- ❖ **T** : Température.
- ❖ **TCA** : Acide trichloroacétique.
- ❖ **TrxR** : Thiorédoxine réductase.
- ❖ **UV** : Ultra-violet.
- ❖ **XOR** : Xanthine oxydoréductase.
- ❖ **Zn** : Zinc.
- ❖ **$\mu\text{g/mL}$** : Microgramme par litre.

Liste des figures

Chapitre I : Famille des Astéracées

Figure I.1 : Répartition de la famille des Astéracées dans le monde [6].	3
Figure I.2 : Le Genre Sénéçons, <i>Senecio</i> .	4
Figure I.3 : Le Genre Vernonia, <i>Vernonia</i> .	4
Figure I.4 : Le Genre Cousinias, <i>Cousinia</i> .	4
Figure I.5 : Le Genre Eupatoires, <i>Eupatorium</i> .	4
Figure I.6 : Types de fleurs des Astéracées [12].	5
Figure I.7 : Les différentes fleurs de la famille des Astéracées.	5
Figure I.8 : Type de fruits de la Famille des Astéracées [8].	6
Figure I.9 : Différents types de tiges [18].	7
Figure I.10 : Caractéristique climatique de la famille des Astéracées [21].	8
Figure I.11 : Caractéristique du sol de la famille des Astéracées [21].	9
Figure I.12 : <i>Aster Amellus</i> est l'espèce type du genre, elle conserve son nom [28].	12
Figure I.13 : Fleures de la plante <i>Galatella Linosyris</i> . (application PlantNet)	13
Figure I.14 : Fruit de la plante <i>Galatella Linosyris</i> [31].	13
Figure I.15 : Tige feuillée de la plante <i>Galatella Linosyris</i> . (application PlantNet)	14
Figure I.16 : Plante <i>Galatella Linosyris</i> .	14
Figure I.17 : Caractéristiques climatique de <i>Galatella Linosyris</i> [30].	15
Figure I.18 : Caractéristique du sol de <i>Galatella Linosyris</i> [30].	16
Figure I.19 : Structure des composants présents dans l'huile essentielle de <i>G. linosyris</i> .	19

Chapitre II : Métabolites secondaires

Figure II.1 : Relations entre métabolites primaires et secondaires [2].	21
Figure II.2 : Le rôle central de la voie de l'acide shikimique dans la synthèse de différents métabolites primaires et secondaires [6].	23
Figure II.3 : Structure d'unité de base des polyphénols [9].	24
Figure II.4 : Structure de groupement phénol [12].	26
Figure II.5 : Structures de l'acide cinnamique et de l'acide benzoïque [16].	26
Figure II.6 : Structure de base des flavonoïdes [20].	28
Figure II.7 : Squelette de base des flavonoïdes.	29
Figure II.8 : Biosynthèse des Flavonoïdes	31
Figure II.9 : Les principales classes des flavonoïdes.	32
Figure II.10 : Structures de la génistéine et de la daïdzéine.	33
Figure II.11 : Structure de la phloridzine et de la aureuzidine.	34
Figure II.12 : Structure de quelques anthocyanes et leur identification dans la nature [35].	35
Figure II.13 : Quelques motifs quinoniques.	36
Figure II.14 : Structure générale de lignanes.	37
Figure II.15 : Structures chimiques de Sécoisolaricirésinol et de Matairésinol [38].	37
Figure II.16 : Structures chimiques des monolignols.	38
Figure II.17 : Structure chimique de lignine [38].	38
Figure II.18 : Structure générale des stilbènes.	39
Figure II.19 : Structure chimique de base des coumarines.	40
Figure II.20 : Structure chimique de tanin condensé et hydrolysable [47].	41
Figure II.21 : Structure chimique de l'acide gallique et l'acide élлагique.	42
Figure II.22 : Structure de quelques tannins hydrolysables.	42

Figure II.23 : Structure de flavan 3- ol et flavan 3,4 -diol [38].	43
Figure II.24 : Structure chimique de mescaline.	46
Figure II.25 : Structure de quelques monoterpènes [76].	48
Figure II.26 : Structure chimique du phytol [82].	49
Figure II.27 : Structure chimique de Crispene C [83].	49
Figure II.28 : Structure chimique de Taxol [84].	49
Figure II.29 : Structure chimique de Phorbol [85].	49
Figure II.30 : Structures chimique de 2,3-époxy-squalène et de squalène [87].	50
Figure II.31 : Structure de quelques triterpènes. [96] [97].	50
Figure II.32 : Noyau perhydrocyclopentanophénanthrène.	51
Figure II.33 : Structures chimiques d'un triterpène tétracyclique et de stéroïde [5].	51

Chapitre III : Stress oxydatif

Figure III.1 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants [4].	54
Figure III.2 : Représentation schématique d'une partie de la chaîne respiratoire [11].	56
Figure III.3 : Les cibles des ERO et ERA.	59
Figure III.4 : Organes cibles du stress oxydatif.	60
Figure III.5 : Production d'anion superoxyde dans la chaîne respiratoire mitochondriale.	63
Figure III.6 : Oxydations successives de la XOR.	63
Figure III.7 : Production d'anion superoxyde par les cytochromes P450.	64
Figure III.8 : Les principales réactions de détoxification [41].	67
Figure III.9 : Répartition des principales défenses antioxydants dans la cellule.	72
Figure III.10 : Structure chimique de manguiférine.	73

Chapitre IV : Section expérimentale

Figure IV.1 : L'espèce <i>Galatella Linosyris</i> .	75
Figure IV.2 : Macération des parties aériennes.	78
Figure IV.3 : Réalisation de la filtration.	78
Figure IV.4 : Filtrat obtenu.	79
Figure IV.5 : Evaporation de l'extrait hydrométhanolique.	79
Figure IV.6 : Extrait brut obtenu.	80
Figure IV.7 : Les étapes d'extraction des métabolites secondaires.	80
Figure IV.8 : Extraction liquide-liquide par le Chloroforme.	82
Figure IV.9 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.	83
Figure IV.10 : Protocole d'extraction de la plante <i>Galatella linosyris</i> .	85
Figure IV.11 : La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH* [6].	86
Figure IV.12 : Formation et piégeage du radical ABTS* ⁺ par un antioxydant donneur de H* [8]	88
Figure IV.13 : Réduction du complexe chromogène Cu ²⁺ _Nc.	90
Figure IV.14 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman's [20].	91

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Les genres les plus importants.....	4
Tableau I.2 : Les compositions chimiques de quelques espèces de la famille d'Astéracées..	11
Tableau I.3 : Classification botanique de Galatella Linosyris [34].....	18

Chapitre II : Métabolites secondaires

Tableau II.1 : Les principales classes de composés phénoliques [10].	25
Tableau II.2 : Les dérivés de l'acide benzoïque [10].	27
Tableau II.3 : Les principaux acides hydroxycinnamiques [20].	28
Tableau II.4 : Différentes structures chimiques des coumarines [42].....	40
Tableau II.5 : Classification des terpénoïdes.....	47

Chapitre III : Stress oxydatif

Tableau III.1 : Les principales espèces réactivées de l'oxygène.....	57
Tableau III.2 : Principales sources des ROS [30].	62

Chapitre IV : Section expérimentale

Tableau IV.1 : Matériels de laboratoire.....	76
---	----

Table des matières

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I : Famille des Astéracées

I.	La famille Astéracées	3
1.	Généralités.....	3
2.	Description botanique de la famille Astéracées	4
2.1.	Appareil reproducteur	4
2.2.	Appareil végétatif	6
3.	Position systématique de la famille Astéracées	7
4.	Classification des Astéracées	7
5.	Caractères écologiques de la famille Astéracées	8
6.	Les composés chimiques de quelques espèces de la famille des Astéracées	11
7.	Les Astéracées dans la médecine traditionnelle	12
II.	Présentation du genre <i>Galatella</i>	12
III.	Description botanique de <i>Galatella linosyris</i>	13
1.	Synonymes	14
2.	Origines et répartition de <i>Galatella linosyris</i>	14
3.	Caractères écologiques de <i>Galatella linosyris</i>	15
4.	Classification botanique de <i>Galatella linosyris</i>	18
5.	Composition chimique de <i>Galatella linosyris</i>	18

Références bibliographiques

Chapitre II : Métabolites Secondaires

I.	Généralités	20
II.	Classification des métabolites secondaires	21
1.	Composés phénoliques	21
1.1.	Origines biosynthétiques	22
1.1.1.	Voie du shikimate	22

1.1.2. Voie d'acétate/malonate	23
1.2. Structures et classifications des polyphénols	24
1.3. Principaux groupes des polyphénols	26
1.3.1. Phénols simples	26
1.3.2. Acides phénoliques	26
1.3.3. Flavonoïdes	28
1.3.3.1. Rôles des flavonoïdes	29
1.3.3.2. Biosynthèse des flavonoïdes	29
1.3.3.3. Structures chimiques et classification des flavonoïdes	32
1.3.3.4. Aspects thérapeutiques des flavonoïdes	35
1.3.4. Quinones	36
1.3.5. Lignanes	36
1.3.6. Lignines	37
1.3.7. Stilbènes	39
1.3.8. Coumarines	39
1.3.9. Tannins	40
2. Propriétés des composés phénoliques	43
2.1. Propriétés physico-chimiques	43
2.2. Propriétés biologiques	43
2.2.1. Activité anti-inflammatoire	44
2.2.2. Activité antibactérienne	44
2.2.3. Activité anticancéreuse	44
2.2.4. Activité antioxydante	44
3. Les alcaloïdes	45
3.1. Les alcaloïdes vrais.....	45
3.2. Les pseudo alcaloïdes	45
3.3. Les proto-alcaloïdes	45
4. Les huiles essentielles	46
4.1. Composition chimique des huiles essentielles	46
5. Terpénoïdes	46
5.1. Hémiterpènes	47
5.2. Monoterpènes	47
5.3. Diterpènes	49
5.4. Triterpènes	51
III. Activités biologiques de quelques métabolites secondaires	53

Références bibliographiques

Chapitre III : Stress oxydatif

I.	Stress oxydatif	54
II.	Radicaux libres	55
1.	Espèces réactives d'oxygène	57
2.	Rôles biologiques des ERO	58
3.	Les cibles des ERO et ERA	59
3.1.	L'acide désoxyribonucléique ADN	60
3.2.	Les protéines	60
3.3.	Les lipides membranaires	61
3.4.	Les lipoprotéines	61
4.	Les principales sources des radicaux libres	61
4.1.	Sources exogènes	62
4.2.	Sources endogènes	62
III.	Les défenses cellulaires antioxydantes	66
1.	Les antioxydants	66
2.	Les sources des antioxydants	67
2.1.	Sources endogènes	67
2.1.1.	Systèmes de défenses enzymatiques	67
2.1.2.	Systèmes de défenses non enzymatiques	68
2.2.	Sources exogènes	69
2.2.1.	Sources alimentaires	69
2.2.2.	Les oligoéléments	71
2.2.3.	Antioxydants naturels	72
2.2.4.	Médicaments	73
IV.	Stress oxydatif et vieillissement	74

Références bibliographiques

Chapitre IV : section expérimentale

I.	But de travail	75
II.	Critères de choix de notre matériel végétal	75
III.	Travail expérimental	75
1.	Matériel végétal	75
2.	Récolte de la plante du genre <i>Galatella linosyris</i>	76

3. Réactifs chimiques	76
4. Matériel de laboratoire	76
5. Préparation de matériel végétal	76
5.1. Méthode d'extraction	76
5.1.1. Séchage et broyage	77
6. Extraction des métabolites secondaires par macération	77
7. Evaporation	79
8. Préparation des extraits par décantation	81
8.1. Principe de la décantation	81
8.2. Protocol de la décantation	81
8.3. Evaporation	84
9. Les activités biologiques	86
9.1. Evaluation de l'activité antioxydante	86
9.1.1. Détermination de l'activité anti-radicalaire par piégeage du DPPH	86
9.1.2. Détermination de l'activité anti-radicalaire par piégeage de l'ABTS.....	87
9.1.3. La chélation du fer ferreux	88
9.1.4. Pouvoir réducteur	89
9.1.5. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC	89
9.1.6. Test du piégeage du peroxyde d'hydrogène	90
9.1.7. Chélation des ions métalliques	90
9.2. Evaluation de l'activité anti-acétylcholinestérase (anti-AChE)	91
9.3. Evaluation de l'activité antibactérienne	92
9.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	93
9.5. Evaluation de l'activité anti-diabétique	94

Références bibliographiques

Conclusion générale

Résumé

Abstract

Introduction

Depuis plusieurs années, les plantes médicinales jouent un rôle important dans le domaine de la médecine et de la pharmacologie. Aujourd'hui, pour la population mondiale, on estime qu'environ 80% de la médication repose sur des préparations botaniques [1].

Les plantes alimentaires ou médicinales représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet, les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches *in vivo* et *in vitro*, notamment dans la prospection de nouveaux constituants naturels tels que des composés phénoliques, pouvant être utilisés comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti radicalaires [2].

Il a été estimé qu'environ 120 composés actifs, dérivés de plantes, sont utilisés en médecine, comprenant environ 25% de médicaments prescrits dans le monde. En outre, et sur le total de 252 médicaments de la liste des médicaments essentiels de l'OMS, 11% sont exclusivement d'origine végétale [3].

De part, sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats, favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien compte d'importantes ressources végétales, réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, et le Sahara. Ces ressources naturelles sont importantes pour l'économie algérienne et le maintien de l'équilibre écologique de la région [4]. Cette richesse floristique est estimée à environ 4000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont plus de 300 plantes sont endémiques. Ce potentiel de variété de plantes médicinales fait que l'étude de la flore algérienne présente un intérêt scientifique important, dans le domaine de la phytochimie et la phytothérapie [5]. D'autre part, la richesse de notre pays aux espèces de la famille d'Astéracées, connus pour leurs vertus médicinales, cosmétiques et autres, ainsi que leur importante richesse en métabolites secondaires, nous a encouragées à nous intéresser à une plante appartenant à cette famille, qui est *Galatella linosyris*.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressées, dans ce travail, à l'étude phytochimique, l'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux suivi de l'identification et la quantification des composés phénoliques, et à évaluer les différentes activités biologiques.

Notre travail est réparti en 4 chapitres :

Chapitre I : Comprend une synthèse bibliographique sur la description botanique de la famille Asteracées, ses utilisations dans la médecine traditionnelle, ses caractéristiques écologiques, la composition chimiques de quelques espèces appartenant à cette famille, présentation du genre *Galatella* et la description botanique de *Galatella linosyris*.

Chapitre II : Concerne les métabolites secondaires, leur définition, leurs classifications, leurs structures, leurs biosynthèses, ainsi que leurs intérêts thérapeutiques.

Chapitre III : Concerne le stress oxydatif, les différentes sources des radicaux libres et des ERO ainsi que leurs cibles biologiques, mécanisme de défense contre le stress oxydatif et les différentes sources des antioxydants.

Chapitre IV : Section expérimentale divisée en deux parties :

- Extraction des métabolites secondaires des parties aériennes de *Galatella linosyris*, en utilisant trois solvants d'extraction, selon l'ordre croissant de polarité (chloroforme, acétate d'éthyle, *n*-butanol).
- L'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux, suivi de l'identification et la quantification des composés phénoliques et l'évaluation de différentes activités biologiques.

Mais malheureusement nous n'avons pas pu achever notre travail à cause de la conjoncture vécue par l'humanité, en l'occurrence COVID-19

Chapitre I

Famille des Astéracées

De tous les temps, les plantes ont occupé une place prépondérante dans la vie de l'homme. Toutes les civilisations connues ont utilisé les plantes soit sauvages soit cultivées pour se nourrir, se défendre, se vêtir ou se soigner. Ces utilisations se sont diversifiées au fil des temps pour s'adapter aux besoins.

I. La famille Astéracées

1. Généralités

La famille des Astéracées aussi appelée « famille de l'Aster » ou « Composées » [6], Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur [7], cette famille a pour nom scientifique ASTERACEAE Martinov (1820) ou encore COMPOSITAE Giseke (1972). C'est la plus large famille de Spermatophytes mais également l'une des plus évoluées. Elle contient 1 530 genres et plus de 23 000 espèces, Les plantes de la famille des Astéracées se rencontrent sur toute la surface de la terre (**Figure I.1**), c'est une famille cosmopolite avec une diversification plus importante au niveau des régions sèches, comme par exemple, dans le bassin méditerranéen, le sud de l'Afrique, le Mexique et l'Amérique du Sud ainsi qu'au sud-ouest des Etats-Unis [6]. En Algérie elle renferme 408 espèces réparties en 109 genres [8].

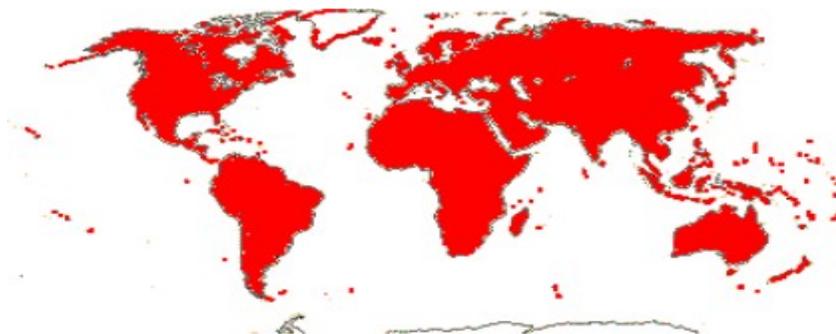


Figure I.1 : Répartition de la famille des Astéracées dans le monde [6].

Tableau I.1 : Les genres les plus importants.

<p>Séneçons, Senecio avec 1 500 espèces.</p>	<p>Vernonias, Vernonia avec 1000 espèces.</p>	<p>Cousinias, Cousinia avec 600 espèces.</p>	<p>Eupatoires, Eupatorium avec 600 espèces.</p>
			
<p>Figure 02 : Le Genre Séneçons, Senecio.</p>	<p>Figure 03 : Le Genre Vernonias, Vernonia.</p>	<p>Figure 04 : Le Genre Cousinias, Cousinia.</p>	<p>Figure 05 : Le Genre Eupatoires, Eupatoriu.</p>

2. Description botanique de la famille d'Astéracées

2.1. Appareil reproducteur

L'appareil reproducteur est « constitué par une ou plusieurs fleurs dont la fonction sera de produire de nouvelles graines qui assureront la dissémination de l'espèce, l'appareil reproducteur apparaît dans le dernier temps de la vie des angiospermes.» [9]. L'appareil reproducteur est représenté par l'inflorescence des plantes, les fleurs ainsi que les graines et les fruits. Il y a trois caractéristiques particulières liées à la famille des Astéracées :

- Leur inflorescence en capitule.
- Leurs anthères soudées entre elles, d'où la dénomination de synanthérées.
- Leur fruit qui est un akène surmonté d'un Pappus [10].

2.1.1. L'inflorescence

Des Astéracées est le capitule. On peut diviser les capitules des Astéracées en trois groupes [11] :

- **Les liguliflores** (chicorée, pissenlit, laitue etc.), où le capitule est composé uniquement de fleurs ligulées (parfois appelées demi-fleurons).
- **Les tubuliflores** (chardon, cirse, centaurée etc.), dont le capitule n'est composé que de fleurs régulières, tubulées (ou fleurs tubulaires parfois appelées fleurons).
- **Les radiés**, aux fleurs périphériques ligulées entourant un disque de fleurs tubulées (marguerite, aster, séneçon etc.) (**Figure I.6**).

2.1.2. Les fleurs

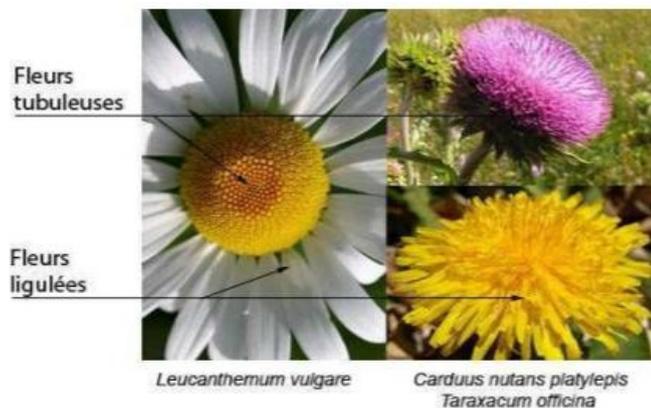


Figure I.6 : Types de fleurs des Astéracées [12].

Généralement hermaphrodites, parfois unisexuées, les périphériques souvent stériles (**Figure I.7**) [12].



Figure I.7 : Les différentes fleurs de la famille des Astéracées.

2.1.3. Les fruits

Sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent [13] (**Figure I.8**).

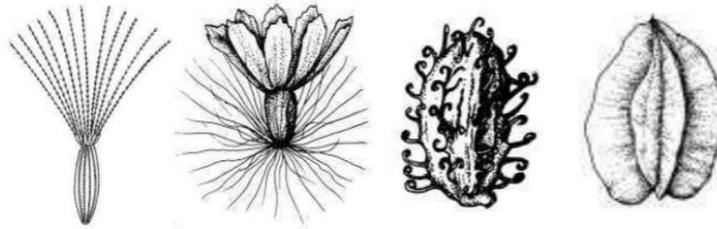


Figure I.8 : Type de fruits de la Famille des Astéracées [8].

2.1.4. Les graines

Sont ex albuminées [14]. L'ovaire infère est composé de deux carpelles. Il est uniloculaire et uniovulé. L'ovule est anatrophe et unitéguminé. Le style est entier dans les fleurs staminées ; dans celles pistillées et staminopistillées, il est bifide [15].

2.2. Appareil végétatif

2.2.1. Les feuilles

Sont le plus souvent alternées. Elles peuvent aussi être opposées ou réunies en rosette principale [16].

2.2.2. Système racinaire

Est une racine pivotante (dicotylédones) à ramifications peu nombreuses. (dicotylédones) à ramifications peu nombreuses.

2.2.3. La tige

Épaisse, ronde (quelques fois anguleuse), pouvant présenter des poils, de taille très variable, pouvant contenir une sève élaborée laiteuse (latex), quelques fois comestible [17]. Il existe plusieurs types de tiges, tel que le montre l'image (**Figure I.9**).

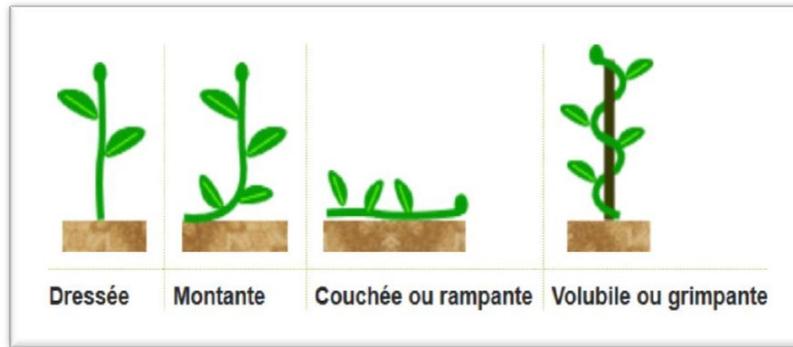


Figure I.9 : Différents types de tiges [18].

3. Position systématique de la famille des Astéracées

En note deux types de classification de la famille des Astéracées classique et génétique (AGP).

La classification classique est représentée comme suit : [16]

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta (Plantes vasculaires)
Embranchement	Phanerogamae (Phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotyledones)
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Astéracées (Composées)

4. Classification des Astéracées

On distingue quatre sous familles : [19]

- ❖ Tubuliflores ou carduacées.
- ❖ Liguliflores ou chicoracées.
- ❖ Labiactiflores.
- ❖ Radiées ou corymbifère.

5. Caractères écologiques de la famille des Astéracées

La famille des Astéracées généralement présente dans les régions tropicales, subtropicales et semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées, elle est adaptée à tous les écosystèmes. Et aussi un autre hôte pour les virus végétaux [20].

- **L'habitat**

Pelouses rocailleuses, vires rocheuses, prairies de fauche (plus rarement), inégalement réparti, préfère les massifs calcaires de haute altitude (**Figure I.10**).

- **L'altitude**

Moyenne et haute montagne (**Figure I.11**).

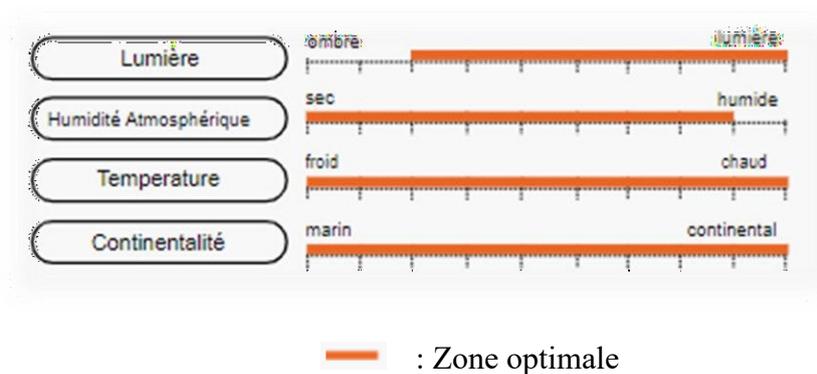


Figure I.10 : Caractéristique climatique de la famille des Astéracées [21].

La légende

Lumière

1 : Hypersciaphiles (10 lux); **2** : persciaphiles (50 lux); **3** : sciaphiles (100 lux); **4** : hémisciaphiles (1000 lux); **5** : hélioclines à sciaclines (5 000 lux); **6** : hémihéliophiles (10 000 lux); **7** : héliophiles (50 000 lux); **8** : perhéliophiles (75 000 lux); **9** : hyperhéliophiles (100 000 lux).

Humidité atmosphérique

1 : Aéroxérophiles (10%); **2** : Intermédiaires (20%); **3** : Aéromésoxérophiles (30%); **4** : Intermédiaires (40%); **5** : Aéromésohydriques (50%); **6** : Intermédiaires (60%); **7** : Aéromésohygrophiles (70%); **8** : Intermédiaires (80%); **9** : Aérohydrophiles (90%).

Température

1 : Alpines à nivales, altiméditerranéennes ($T \approx 0^\circ\text{C}$); **2** : Subalpines, oroméditerranéennes ($T \approx 5^\circ\text{C}$); **3** : Montagnardes ($T \approx 7^\circ\text{C}$); **4** : Collinéennes, planitiales psychrophiles (psychro-atlantiques, psychrocentro-européennes) ($T \approx 9^\circ\text{C}$); **5** : Planitiales à montagnardes ($T \approx 7-10^\circ\text{C}$); **6** : Planitiales thermophiles (thermo-atlantiques, thermocentro-européennes) et sub- à supraméditerranéennes ($T \approx 12^\circ\text{C}$); **7** : Euryméditerranéennes, méditerranéo-atlantiques ($T \approx 13^\circ\text{C}$); **8** : Mésoméditerranéennes ($T \approx 15^\circ\text{C}$); **9** : Thermoméditerranéennes à subdésertiques (inframéditerranéennes) ($T \approx 18^\circ\text{C}$).

Continentalité

1 : Marines à maritimes ($AT \approx 8^\circ\text{C}$); **2** : Hyperocéaniques ($AT \approx 10^\circ\text{C}$); **3** : Océaniques ($AT \approx 17^\circ\text{C}$); **4** : Subocéaniques ($AT \approx 19^\circ\text{C}$); **5** : Intermédiaires ($AT \approx 21^\circ\text{C}$); **6** : Précontinentales ($AT \approx 23^\circ\text{C}$); **7** : Subcontinentales ($AT \approx 25^\circ\text{C}$); **8** : Continentales ($AT \approx 30^\circ\text{C}$); **9** : Hypercontinentales ($AT \approx 40^\circ\text{C}$).

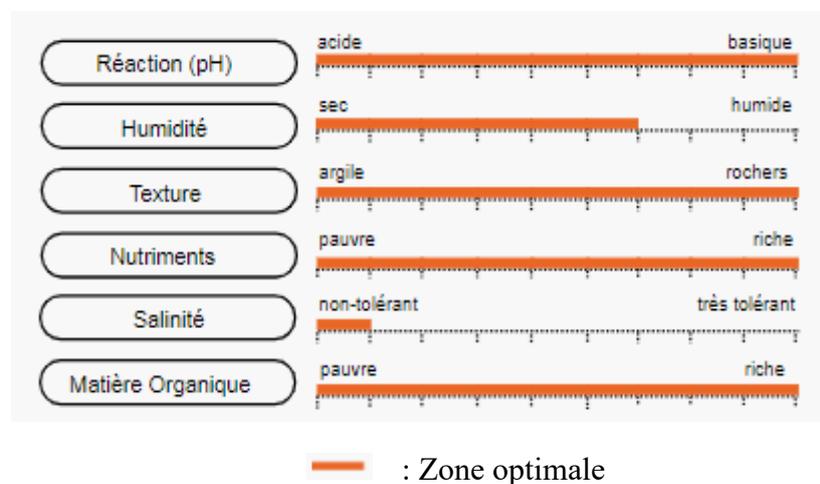


Figure I.11 : Caractéristique du sol de la famille des Astéracées [21].

La légende

Réaction PH

1 : Hyperacidophiles ($3,0 < \text{pH} < 4,0$); **2** : Peracidophiles ($4,0 < \text{pH} < 4,5$); **3** : Acidophiles ($4,5 < \text{pH} < 5,0$); **4** : Acidoclines ($5,0 < \text{pH} < 5,5$); **5** : Neutroclines ($5,5 < \text{pH} < 6,5$); **6** : Basoclines ($6,5 < \text{pH} < 7,0$); **7** : Basophiles ($7,0 < \text{pH} < 7,5$); **8** : Perbasophiles ($7,5 < \text{pH} < 8,0$); **9** : Hyperbasophiles ($8,0 < \text{pH} < 9,0$).

Humidité

1 : Hyperxérophiles (sclérophiles, ligneuses microphylls, réviscentes); **2** : Perxérophiles (caulocrassulescentes subaphyls, coussinets); **3** : Xérophiles (velues, aiguillonnées, cuticule épaisse); **4** : Mésoxérophiles; **5** : Mésohydriques (jamais inondé, feuilles malacophyls); **6** : Mésohygroclines, mésohygrophiles; **7** : Hygrophiles (durée d'inondation en quelques semaines); **8** : Hydrophiles (durée d'inondation en plusieurs mois); **9** : Amphibies saisonnières (hélrophytes exondés une partie minoritaire de l'année); **10** : Amphibies permanentes (hélrophytes semi-émergés à base toujours noyée); **11** : Aquatiques superficielles (0-50 cm) ou flottantes **12** : Aquatiques profondes (1-3 m) ou intra-aquatiques.

Texture

1 : Argile; **2** : Intermédiaire; **3** : Limon; **4** : Sable fin; **5** : Sable grossier; **6** : Gravier; **7** : Galets; rocailles **8** : Blocs, dalles, replats rocheux; **9** : Fissures verticales des parois.

Nutriments

1 : Hyperoligotrophiles ($\approx 100 \mu\text{g N/l}$); **2** : Peroligotrophiles ($\approx 200 \mu\text{g N/l}$); **3** : Oligotrophiles ($\approx 300 \mu\text{g N/l}$); **4** : Méso-oligotrophiles ($\approx 400 \mu\text{g N/l}$); **5** : Mésotrophiles ($\approx 500 \mu\text{g N/l}$); **6** : Méso-eutrophiles ($\approx 750 \mu\text{g N/l}$); **7** : Eutrophiles ($\approx 1000 \mu\text{g N/l}$); **8** : Pereutrophiles ($\approx 1250 \mu\text{g N/l}$); **9** : Hypereutrophiles ($\approx 1500 \mu\text{g N/l}$).

Salinité

0 : Ne supportant pas le sel; **1** : Hyperoligohalines, $[0-0,1\% \text{Cl}^-]$; **2** : Peroligohalines, $[0,1-0,3\% \text{Cl}^-]$; **3** : Oligohalines, $[0,3-0,5\% \text{Cl}^-]$; **4** : Meso-oligohalines, $[0,5-0,7\% \text{Cl}^-]$; **5** : Mesohalines, $[0,7-0,9\% \text{Cl}^-]$; **6** : Meso-euhalines, $[0,9-1,2\% \text{Cl}^-]$; **7** : Euhalines, $[1,2-1,6\% \text{Cl}^-]$; **8** : Polyhalines, $[1,6-2,3\% \text{Cl}^-]$; **9** : Hyperhalines, $[>2,3\% \text{Cl}^-]$.

Matière organique

1 : Lithosol, peyrosol, régosol; 2 : Mull carbonaté; 3 : Mull actif; 4 : Mull acide; 5 : Moder; 6 : Mor, hydromor, xéromor; 7 : Ranker, tangel; 8 : Anmoor, gyttja; 9 : Tourbe.

6. Les composés chimiques de quelques espèces de la famille des Astéracées

Les résultats de l'analyse phytochimique notamment sur les fruits, les feuilles, les parties aériennes et les racines de quelques espèces de la famille d'Astéracées ont montré la présence du groupe de composés chimiques en quantités différentes. Plusieurs grands groupes de composés chimiques sont caractérisés. Il s'agit des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes, des terpènes, des saponosides, des huiles essentielles... (**Tableau I.2**).

Tableau I.2 : Les compositions chimiques de quelques espèces de la famille d'Astéracées.

Noms scientifiques	Molécules extraites	Références
<i>Anacyclus clavatus</i> <i>Anacyclus pyrethrum</i> <i>Anacyclus valentinus</i> <i>Artemisia campestris</i> <i>Artemisia herba alba</i> <i>Chrysanthemum macrocarpum</i>	Flavonoïdes	[22]
<i>Achillea millefolium</i> <i>Anacyclus cyrtolepidioides</i>	Coumarines	[23]
<i>Anacyclus cyrtolepidioides</i>	Monoterpènes, 26 composés Sesqui-terpéniques, Huiles essentielles	[22]
<i>Anacyclus radiatus</i>	Flavonoïdes, Triterpènes, Coumarines, Stéroïdes	[24]

7. Les Astéracées dans la médecine traditionnelle

Les plantes de cette famille ont des utilisations importantes dans la médecine traditionnelle. comme par exemple : Les préparations de drogue riche en flavanoïdes. *Helichrysum arenarium* a été employé comme remède des infections hépatiques [25].

L'artichaut (*Cynara scolymus*) est également apprécié pour sa grande réputation dans la médecine populaire, la propriété de protection du foie est attribuée aux extraits des feuilles de cette plante, aussi *Ambrosia maritima* a un effet mortel sur les escargots, elle aussi est utilisée comme antispasmodique, diurétique pour favoriser l'élimination du calcul rénal, pour le contrôle du Bilharziose [26] , *Xanthium spinosum*, utilisée pour le traitement du diabète, la fièvre intermittente, la rage, elle est aussi utilisée comme stimulant de la sécrétion de la salive et de l'urine [27]

C'est un genre de plantes vivaces herbacées d'Europe et d'Asie qui compte 40 à 50 espèces. Pouvant atteindre une hauteur de 0,5 à 1 m, elles ont des tiges et des feuilles finement pubescentes. Les feuilles mesurent 1,5-6 x 1-6 mm, avec des points glandulaires et sont nettement 1 nervetées (bien que les feuilles inférieures soient parfois 3 nervetées).

II. Présentation de genre *Galatella*

Les capitules sont maintenus en rangées corymbiformes de 1 à 4 par branche courte, chacune avec 3 à 10 fleurs lavande à rayons violets de 10 x 1 mm, stériles avec des styles avortés ou absents. Les bractées involuquées sont en 3-4 séries imbriquées ; les externes, ovatalanceolées, sont trois fois plus longues que les internes, linéaires-lanceolées, et toutes sont triangulaires, aiguës, ciliées vers l'apex et avec des margelles membraneuses. Les akènes sont cylindriques à obconiques, strigiformes, et présentent une ou deux côtes par côté. Le pappus est constitué d'une ou deux rangées de poils en forme de barbillons [28].



Figure I.12 : Aster Amellus est l'espèce type du genre, elle conserve son nom [28].

III. Description botanique de *Galatella Linosyris*

Galatella linosyris (L.) Rchb. f. (Bas. *Chrysocoma linosyris* L. ; Syn. *Aster linosyris* (L.) Bernh. ; *Linosyris vulgaris* Cass. Ex DC ; *Crinitaria linosyris* (L.) Less. ; *Crinitina linosyris* (L.) Soják), c'est une plante hémicryptophyte, membre de la famille des Astéracées (Compositae) [24], c'est une herbe vivace et une souche un peu ligneuse à longues fibres, elle est entièrement glabre avec une tige de 3-7 dm, simple, dressée, grêle, feuilles très nombreuses et très rapprochées, éparses, étroitement linéaires, et un involucre à folioles lâches, les intérieures oblongues, les extérieures linéaires, aiguës, leurs akènes velus, relativement gros (3mm) égalant la longueur des soies roussâtres, des capitules en corymbe terminal feuille, pédicelles grêles, garnis de bractéoles, avec des fleurs d'un beau jaune à corolle profondément quinquéfide [25] (Figure I.13/ I.14/ I.15/ I.16).



Figure I.13 : Fleures de la plante *Galatella Linosyris*. (application PlantNet)



Figure I.14 : Fruit de la plante *Galatella Linosyris* [31].



Figure I.15 : Tige feuillée de la plante *Galatella Linosyris*. (application PlantNet)



Figure I.16 : Plante *Galatella Linosyris*.

1. Les Synonymes

Il existe un autre nom vernaculaire que le nom scientifique de *Galatella Linosyris*, qui est *Aster à feuilles d'Osyris*, *Aster linosyris*. Cette plante fleurit dans la période d'août à octobre [32], Pour cette dernière il existe de différents synonymes dans différentes régions :

Aster à feuilles d'Osyris ; *Chrysocoma tenuifolia* Salisb ; *Linosyris à feuilles de Lin* ; *Crinitaria linosyris* (L.) ; *Less; Aster linosyris* (L.) Bernh ; *Crinitina linosyris* (L.) Soják ; *Aster savii* Arcang ; *Chrysocoma inaequata* Kit. Ex Jáv ; *Chrysocoma linosyris* L ; *Linosyris vulgaris* var. *minor* Rouy [33].

2. Origine et répartition de *Galatella Linosyris*

Ce genre est distribué depuis le centre, le sud et l'est de l'Europe jusqu'au sud de la Scandinavie au nord, s'étendant localement vers le nord jusqu'en Angleterre, et également en Russie centrale [29].

3. Caractères écologiques de *Galatella Linosyris*

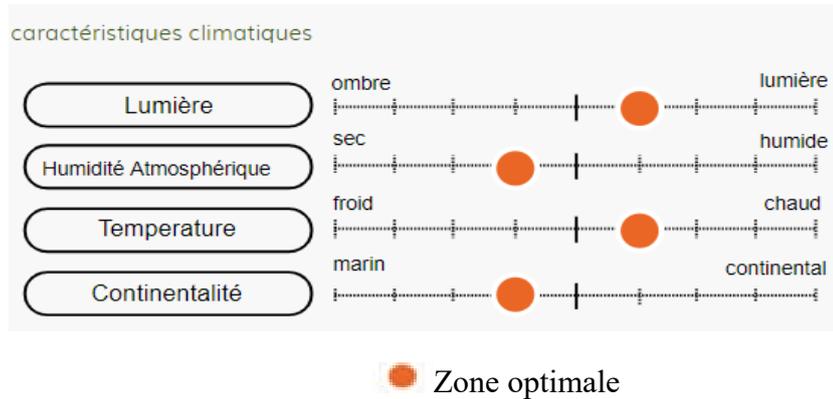


Figure I.17 : Caractéristiques climatique de *Galatella Linosyris* [30].

La légende

Lumière

1 : Hypersciaphiles (10 lux); **2** : Persciaphiles (50 lux); **3** : Sciaphiles (100 lux); **4** : Hémisciaphiles (1000 lux); **5** : Hélio-clines à sciaclines (5 000 lux); **6** : Hémihéliophiles (10 000 lux); **7** : Héliophiles (50 000 lux); **8** : Perhéliophiles (75 000 lux); **9** : Hyperhéliophiles (100 000 lux).

Humidité atmosphérique

1 : Aéroxérophiles (10%); **2** : Intermédiaires (20%); **3** : Aéromésoxérophiles (30%); **4** : Intermédiaires (40%); **5** : Aéromésohydriques (50%); **6** : Intermédiaires (60%); **7** : Aéromésohygrophiles (70%); **8** : Intermédiaires (80%); **9** : Aérohydrophiles (90%).

Température

1 : Alpines à nivales, altiméditerranéennes ($T \approx 0^\circ\text{C}$); **2** : Subalpines, oroméditerranéennes ($T \approx 5^\circ\text{C}$); **3** : Montagnardes ($T \approx 7^\circ\text{C}$); **4** : Collinéennes, planitiales psychrophiles (psychro-atlantiques, psychrocentro-européennes) ($T \approx 9^\circ\text{C}$); **5** : Planitiales à montagnardes ($T \approx 7-10^\circ\text{C}$); **6** : Planitiales thermophiles (thermo-atlantiques, thermocentro-européennes) et sub- à supraméditerranéennes ($T \approx 12^\circ\text{C}$); **7** : Euryméditerranéennes, méditerranéo-atlantiques ($T \approx 13^\circ\text{C}$); **8** : Mésoméditerranéennes ($T \approx 15^\circ\text{C}$); **9** : Thermoméditerranéennes à subdésertiques (inframéditerranéennes) ($T \approx 18^\circ\text{C}$).

Continentalité

1 : Marines à maritimes (AT≈8°C); **2** : Hyperocéaniques (AT≈10°C); **3** : Océaniques (AT≈17°C); **4** : Subocéaniques (AT≈19°C); **5** : Intermédiaires (AT≈21°C); **6** : Précontinentales (AT≈23°C); **7** : Subcontinentales (AT≈25°C); **8** : Continentales (AT≈30°C); **9** : Hypercontinentales (AT≈40°C).

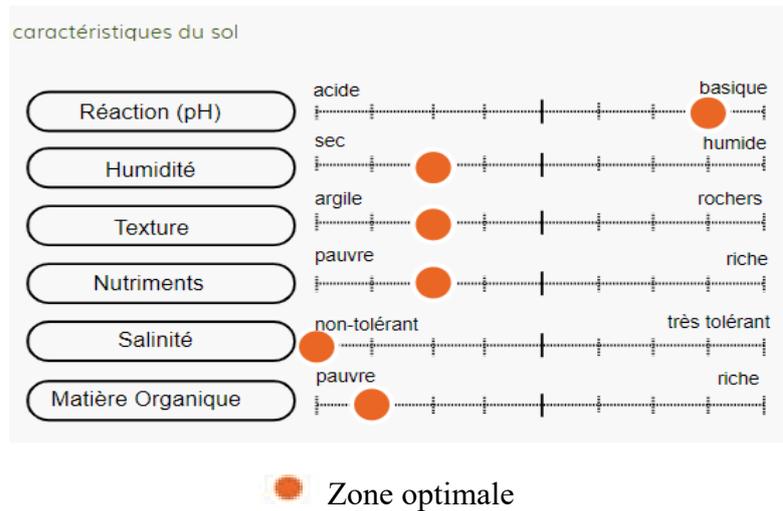


Figure I.18 : Caractéristique du sol de *Galatella Linosyris* [30].

La légende**Réaction PH**

1 : Hyperacidophiles (3,0 < pH < 4,0); **2** : Peracidophiles (4,0 < pH < 4,5); **3** : Acidophiles (4,5 < pH < 5,0); **4** : Acidoclines (5,0 < pH < 5,5); **5** : Neutroclines (5,5 < pH < 6,5); **6** : Basoclines (6,5 < pH < 7,0); **7** : Basophiles (7,0 < pH < 7,5); **8** : Perbasophiles (7,5 < pH < 8,0); **9** : Hyperbasophiles (8,0 < pH < 9,0).

Humidité

1 : Hyperxérophiles (sclérophiles, ligneuses microphylles, révisiscentes); **2** : perxérophiles (caulocrassulescentessubaphylles, coussinets); **3** : xérophiles (velues, aiguillonnées, cuticule épaisse); **4** : mésoxérophiles; **5** : mésohydriques (jamais inondé, feuilles malacophylles); **6** : mésohygroclines, mésohygrophiles; **7** : hygrophiles (durée d'inondation en quelques semaines); **8** : hydrophiles (durée d'inondation en plusieurs mois); **9** : amphibies saisonnières (hélrophytes exondés une partie minoritaire de l'année); **10** : amphibies permanentes (hélrophytes semi-émergés à base

toujours noyée); **11** : aquatiques superficielles (0-50 cm) ou flottantes; **12** : aquatiques profondes (1-3 m) ou intra-aquatiques

Texture

1 : Argile; **2** : Intermédiaire; **3** : Limon; **4** : Sable fin; **5** : Sable grossier; **6** : Gravier; **7** : Galets, rocailles; **8** : Blocs, dalles, replats rocheux; **9** : Fissures verticales des parois.

Nutriments

1 : Hyperoligotrophiles ($\approx 100 \mu\text{g N/l}$); **2** : Peroligotrophiles ($\approx 200 \mu\text{g N/l}$); **3** : Oligotrophiles ($\approx 300 \mu\text{g N/l}$); **4** : Méso-oligotrophiles ($\approx 400 \mu\text{g N/l}$); **5** : Mésotrophiles ($\approx 500 \mu\text{g N/l}$); **6** : Méso-eutrophiles ($\approx 750 \mu\text{g N/l}$); **7** : Eutrophiles ($\approx 1000 \mu\text{g N/l}$); **8** : Pereutrophiles ($\approx 1250 \mu\text{g N/l}$); **9** : Hypereutrophiles ($\approx 1500 \mu\text{g N/l}$).

Salinité

0 : Ne supportant pas le sel; **1** : Hyperoligohalines, [0-0,1% Cl-]; **2** : Peroligohalines, [0,1-0,3% Cl-]; **3** : Oligohalines, [0,3-0,5% Cl-]; **4** : Meso-oligohalines, [0,5-0,7% Cl-]; **5** : Mesohalines, [0,7-0,9% Cl-]; **6** : Meso-euhalines, [0,9-1,2% Cl-]; **7** : Euhalines, [1,2-1,6% Cl-]; **8** : Polyhalines, [1,6-2,3% Cl-]; **9** : Hyperhalines, [$>2,3\%$ Cl-].

Matière organique

1 : Lithosol, peyrosol, régosol; **2** : Mull carbonaté; **3** : Mull actif; **4** : Mull acide; **5** : Moder; **6** : Mor, hydromor, xéromor; **7** : Ranker, tangel; **8** : Anmoor, gyttja; **9** : Tourbe.

4. Classification botanique *Galatella linosyris*

Tableau I.3 : Classification botanique de *Galatella Linosyris* [34].

Règne	Nom scientifique
Cladus	Plantae
Cladus	Plasmodesmophytes
Cladus	Embryophytes
Cladus	Stomatophytes
Cladus	Hemitracheophytes
Cladus	Tracheophytes
Cladus	Euphyllophytes
Cladus	Spermatophytes
Cladus	Angiospermes
Cladus	Eudicotyledones
Cladus	Dicotyledones Vraies Superieures
Cladus	Asteridees
Cladus	Campanulidees
Ordre	Asterales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Galatella</i>
Espèce	<u><i>Galatella Linosyris</i></u>

5. Composition chimique de *Galatella Linosyris*

Une étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Galatella Linosyris* est présentée. L'analyse chimique (GC/MS, RMN) a montré que le sabinène (40 %), le bêta-pinène (35,5 %), l'alpha-pinène (4,5 %), le limonène (4 %), le gamma-muuroène (4 %) et le (E)-caryophyllène (3,3 %) étaient les composants dominants de cette huile. L'huile essentielle de *G. linosyris* a montré une meilleure activité antibactérienne contre certaines des bactéries testées que l'activité antifongique [29] (**Figure I.19**).

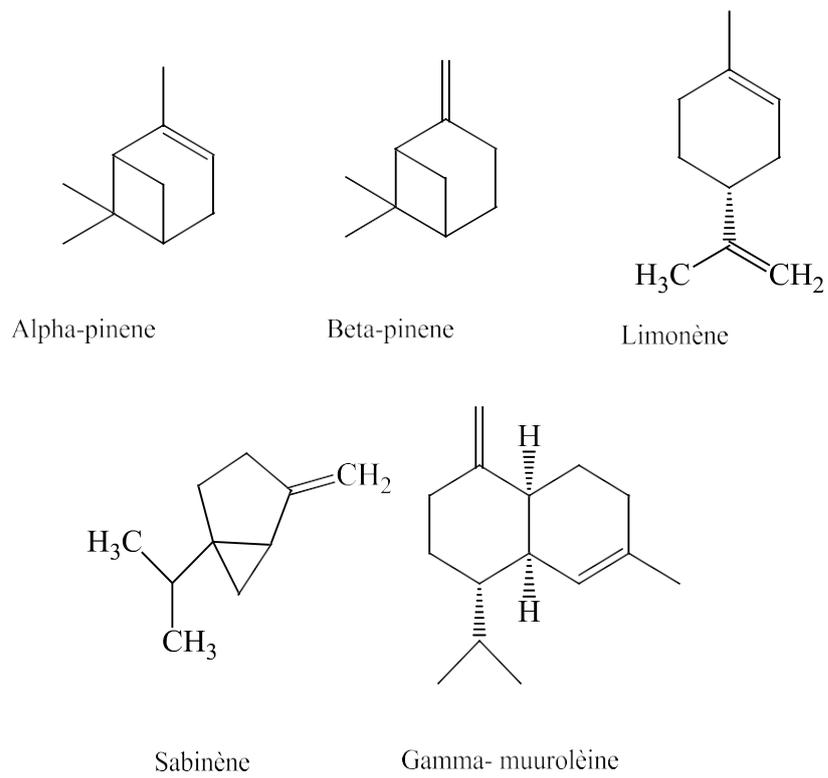


Figure I.19 : Structure des composants présents dans l'huile essentielle de *G. linosyris*.

Références bibliographiques

- [1] « Asteraceae - hortical ». https://hortical.com/spip.php?mot648&debut_mots_freres=25 (consulté le juin 09, 2020).
- [2] P. Hanelt, R. Buttner, et R. Mansfeld, « Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops (except Ornamentals). », *Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops (except Ornamentals)*, 2001.
- [3] P. Quézel, *Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen*, vol. 117. Ibis Press Paris, 2000.
- [4] A. Marouf, « Dictionnaire de botanique », 2000.
- [5] F. Elisa, « Les Astéracées : description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxiques », p. 136, 2018.
- [6] B. Boullard, *Dictionnaire de botanique*. Ellipses, 1988.
- [7] N. Boutaghane, « Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae) », 2013.
- [8] N. Yacine, S. Madani, et Z. Abdelghani, « Aperçu ethnobotanique et chimique des Astéracées », p. 58.
- [9] B. Harkati, « Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae », 2011.
- [10] P. Quezel et S. Santa, « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales », 1963.
- [11] N. Mezache, « Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille Asteraceae », 2010.
- [12] T. Barkley, L. Brouillet, et J. Strother, *Flora of North America, Asteraceae, part 1*. Oxford University Press, New York, Ny, USA, 2006.
- [13] « Un aperçu de botanique », *Tela Botanica*. <https://www.tela-botanica.org/ressources/ressources-pedagogiques/un-apercu-de-botanique/> (consulté le juin 09, 2020).
- [14] G. Bonnier, *Flore complète illustrée en couleurs de France Suisse et Belgique: Table des noms français des famille qui se trouvent dans la flore. Table des noms latins des familles genres espèces sous-espèces races, variétés et sous-variétés qui se trouvent dans la flore [ua].. Tab. Gén.* Orlhac, 1934.
- [15] K. Bremer et A. A. Anderberg, *Asteraceae: cladistics & classification*. 1994.
- [16] « eFlore », *Tela Botanica*. <https://www.tela-botanica.org/eflore/> (consulté le juin 26, 2020).
- [17] H. Greger, « Comparative phytochemistry and systematics of *Anacyclus* », *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 6, n° 1, p. 11–17, 1978.

- [18] F. Baba Aissa, « Encyclopédie des plantes utiles », *Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident*, Librairie Moderne Rouiba, EDAS, Alger, 1999.
- [19] I. G. Collado, F. A. Macias, G. M. Massanet, F. R. Luis, J. Salva, et C. Vergara, « Mariolin, a germacranolide from *Anacyclus radiatus* », *Phytochemistry*, vol. 24, n° 10, p. 2447–2448, 1985.
- [20] C. Floret et R. Pontanier, « L'aridité en Tunisie présaharienne: climat, sol, végétation et aménagement », 1982.
- [21] E.-D. Schulze, A. E. Hall, O. L. Lange, M. Evenari, L. Kappen, et U. Buschbom, « Long-term effects of drought on wild and cultivated plants in the Negev desert », *Oecologia*, vol. 45, n° 1, p. 11–18, 1980.
- [22] F. Fernardji, M. Klur, C. Fourlon, et R. Ferrando, « Contribution to the study of white artemisia. (*Artemisia herba alba* L.) », *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 1974.
- [23] J. Shaw, « The splitting of Aster », *Aster*, vol. 500, n° 250, p. 180, 2014.
- [24] D. Gođjevac *et al.*, « Composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Galatella linosyris* (L.) Rchb. f. (Asteraceae) », *Journal of the Serbian Chemical Society*, vol. 77, n° 5, p. 619–626, 2012.
- [25] « eFlore », *Tela Botanica*. <https://www.tela-botanica.org/eflore/> (consulté le juin 26, 2020).
- [26] « Aster linosyris - Blog végétal », nov. 03, 2015.
<http://monerbier.canalblog.com/archives/2011/09/02/21919356.html> (consulté le juin 09, 2020).
- [27] « Galatella linosyris (L.) Rchb.f. » <https://www.preservons-la-nature.fr/flore/taxon/478.html?fbclid=IwAR1Cyn8Z7t62dGRzr4fyxWiDh2JjDI3jiuwkFbPDNdQGqs5kkYWeRI2LT8M> (consulté le juin 09, 2020).
- [28] Frédéric, « Galatella linosyris (L.) Rchb.f. (Aster linosyris) | Préservons la Nature ». <https://preservons-la-nature.fr/blog/?p=3909> (consulté le juin 09, 2020).
- [29] « eFlore », *Tela Botanica*. <https://www.tela-botanica.org/eflore/> (consulté le juin 26, 2020).

Chapitre II

Métabolites secondaires

Les plantes sont des organismes autotrophes, c'est-à-dire ils produisent leur propre matière organique à partir des sels minéraux puisés dans le sol avec le dioxyde de carbone, assimilé par les feuilles grâce à l'énergie solaire : C'est le mécanisme de photosynthèse. La couleur verte des plantes est obtenue par le biais de la chlorophylle contenue dans les chloroplastes. Les plantes possèdent des métabolites dits secondaires ont le rôle intervient dans les relations qu'entretient la plante avec les micro-organismes vivants qui l'entourent tels que : Les parasites, les pathogènes ainsi que les pollinisateurs et les disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés du métabolisme secondaire [1].

I. Généralités

Les végétaux forment des métabolites ayant diverses fonctions au sein de la plante. Ces métabolites sont issus de réactions chimiques appelées métabolisme. Chez les plantes, il existe deux grands types de métabolites [2] (**Figure II.1**).

1. Métabolites primaires

Correspondent aux molécules organiques présentes dans toutes les cellules végétales. Les principaux métabolites primaires sont les lipides, les protéines et les glucides [2].

2. Métabolites secondaires

Sont des molécules plus complexes qui diffèrent selon les espèces et sont présentes en plus faible quantité. Elles ont un rôle notamment de protection contre les insectes, les prédateurs et les pathogènes [2].

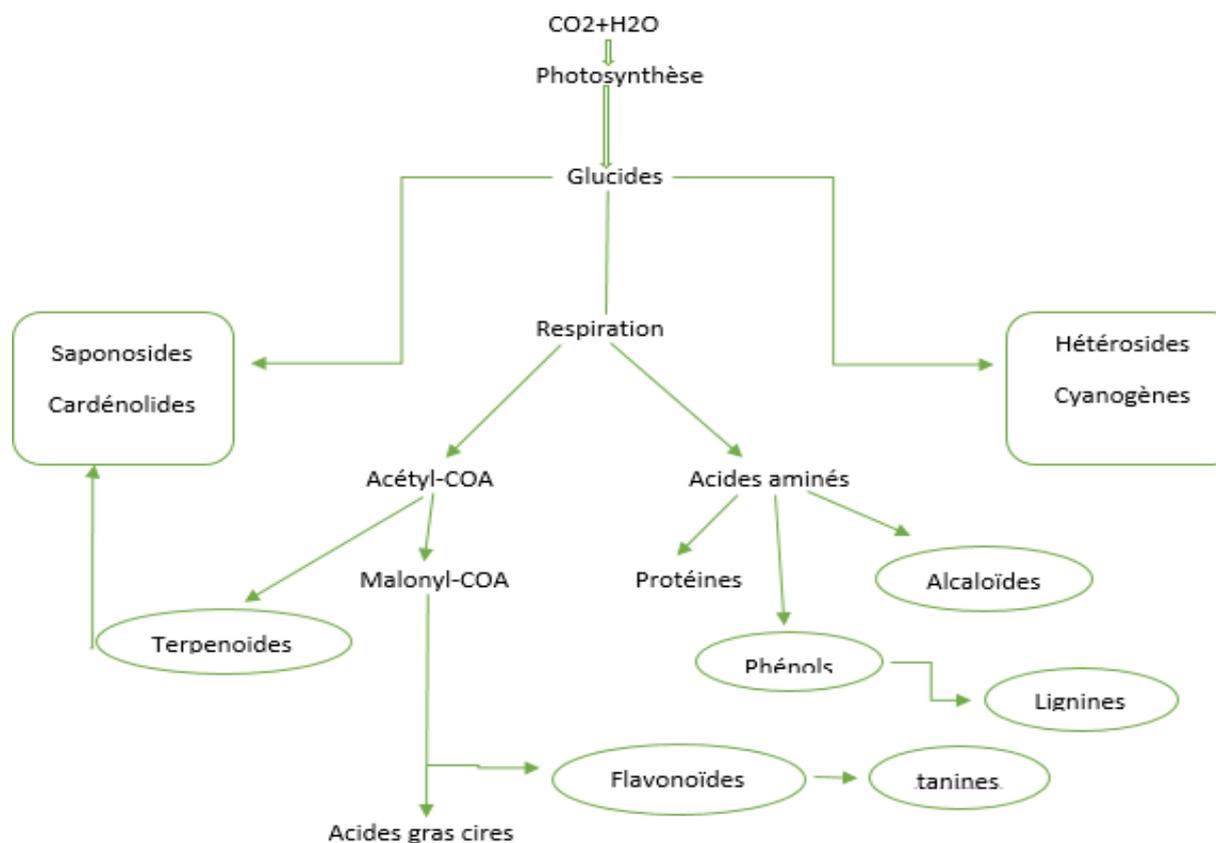


Figure II.1 : Relations entre métabolites primaires et secondaires [2].

II. Classification des métabolites

Les métabolites secondaires dépassent 100000 substances identifiées [3], appartiennent à trois classes principales : Les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes.

1. Composés phénoliques

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles [7] (Figure II.3).

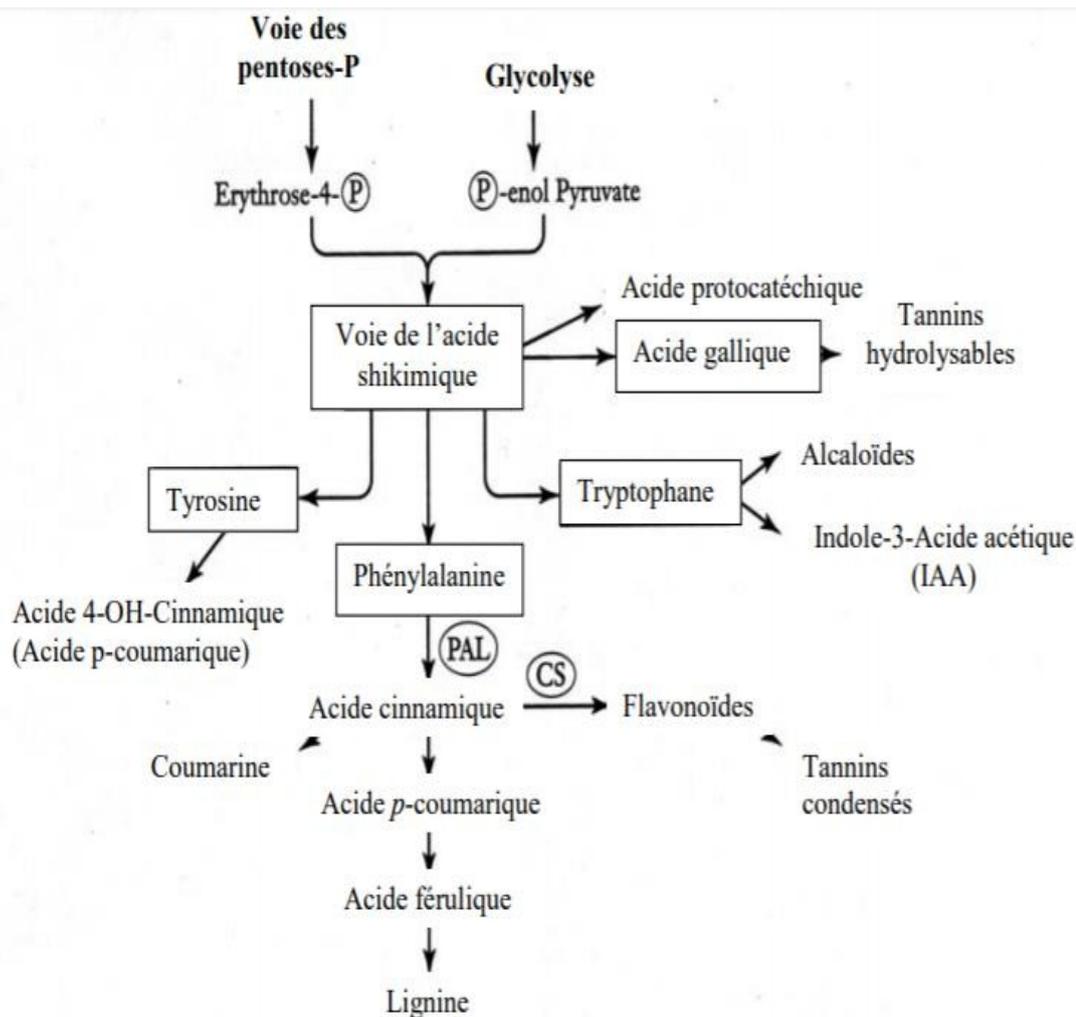
Les polyphénols sont des métabolites secondaires. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales ; c'est pourquoi 80% des composés phénoliques sont essentiellement localisés dans les tissus épidermiques des plantes. Ce sont des phytoconstituants, généralement des pigments, responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge...etc) [7].

1.1. Origine biosynthétique

Les composés phénoliques sont biosynthétisés par deux grandes voies métaboliques : La voie de shikimate et la voie de l'acétate/malonate.

1.1.1. Voie du shikimate

1. La voie de l'acide shikimique est à l'origine de la formation de la phénylalanine et de la tyrosine [4].
2. Le 3-déhydroshikimate, formé à partir de la condensation du phosphoénolpyruvate avec l'érythrose-4-phosphate, est réduit en shikimate.
3. Puis la phosphorylation de ce dernier et sa condensation avec une autre molécule de phosphoénolpyruvate, conduit à la formation du chorismate. Le chorismate occupe une position-clé dans le métabolisme, en particulier dans la formation des acides aminés aromatiques. Les phénylpropanes, tel l'acide cinnamique, sont des métabolites du shikimate susceptibles de se cycliser et d'aboutir à la formation des coumarines, de se dimériser comme dans le cas des lignanes, ou de se polymériser formant alors des lignines. Les flavonoïdes et les stilbènes résultent d'un allongement de la chaîne latérale [5] (**Figure II.2**).



PAL = phénylalanine ammonia lyase. CS = chalconesynthase.

Figure II.2 : Le rôle central de la voie de l'acide shikimique dans la synthèse de différents métabolites primaires et secondaires [6].

1.1.2. Voie d'acétate/malonate

Une seconde voie de biosynthèse, consiste à réaliser non plus un seul noyau benzénique, mais un ensemble de noyaux aromatiques par cyclisation de chaînes polycétoniques, elles-mêmes obtenues par condensation de groupements acétate.

1.2. Structure et classification des polyphénols

Les structures des composés phénoliques se distinguent par leur squelette carboné (nombre de carbone), puis leur degré de modification (oxydation, hydratation, méthylation...) et enfin les liaisons pouvant exister avec d'autres molécules comme des sucres ou d'autres composés phénoliques [8].

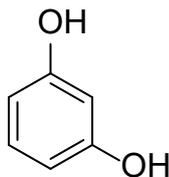
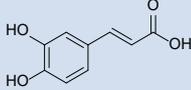
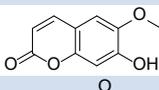
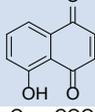
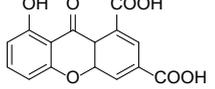
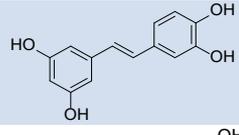
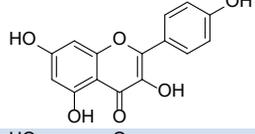
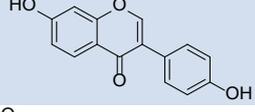
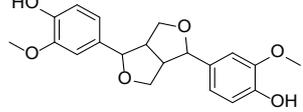
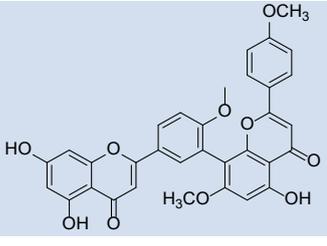


Figure II.3 : Structure d'unité de base des polyphénols [9].

A cause de leur diversité structurelle, les composés polyphénolique peuvent être classés en se basant sur le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base, le (**Tableau II.1**) regroupe les classes principales de ces composés.

Tableau II.1 : Les principales classes de composés phénoliques [10].

Nombre d'atomes de carbones	Squelette Carboné	Classe	Exemple	Structure
6	C ₆	Phénols simples	Catéchol	
7	C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	Acide salicylique	
9	C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinnamiques	Acide caféique	
		Coumarines	Scopolétole	
10	C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Cassiaxanthone	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Piceatannol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoides	Kaempférol	
		Isoflavonoides	Daidzéine	
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoides	Kayaflavone	
n	(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		
	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tannins condensés		

1.3. Principaux groupes des polyphénols

1.3.1. Phénols simples

Les phénols sont des composants aromatiques qui contiennent un ou plusieurs groupes hydroxyles qui sont attachés à un anneau aromatique (**Figure II.4**).

Les propriétés chimiques du phénol sont uniques, elles sont dues à la présence d'un groupe hydroxyle et d'un cycle aromatique qui sont complémentaires l'un de l'autre en facilitant les réactions de type électrophile et nucléophile [11].

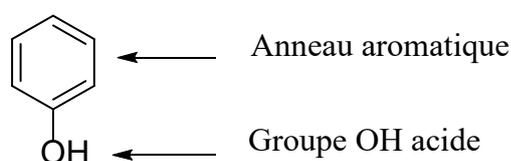


Figure II.4 : Structure de groupement phénol [12].

1.3.2. Acides phénoliques

Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique [13]. Les acides phénoliques sont incolores et plutôt rares dans la nature [14]. Ils sont représentés par deux sous-classes: (**Figure II.5**)

- Les acides hydroxybenzoïques.
- Les acides hydroxycinnamique.

Les acides phénoliques englobent les dérivés de l'acide benzoïque, dont l'acide gallique est le représentant principal (constitués d'un squelette à sept carbones) suivis des dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3) [15].

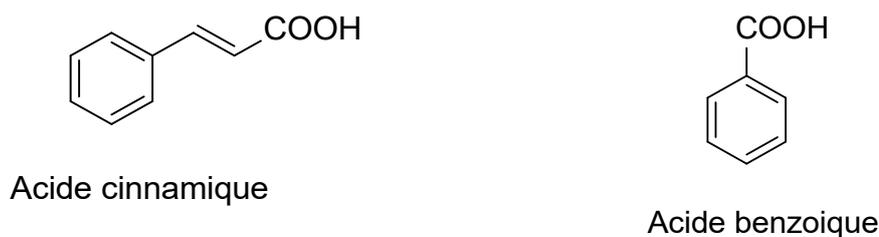


Figure II.5 : Structures de l'acide cinnamique et de l'acide benzoïque [16].

➤ Acides phénols dérivés d'acide benzoïque

- Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque.
- Ont une structure générale de base de type (C6-C1).
- Existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides [17].

La teneur en acide hydroxybenzoïque dans les plantes comestibles est généralement très faible, à l'exception de certains fruits rouges, radis noir et des oignons, qui peuvent avoir des concentrations de plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de poids frais [18].

Tableau II.2 : Les dérivés de l'acide benzoïque [10].

Acides hydroxybenzoïques				
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Acide benzoïque	H	H	H	H
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H
Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H
Acide gallique	H	OH	OH	OH
Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Acide salicylique	OH	H	H	H

➤ Acides hydroxycinnamiques

- Ce sont des dérivés de l'acide cinnamique.
- Ont une formule de base de type C6-C3.

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres ou des polyols tels que l'acide quinique [19]. Ce sont des composés aromatiques avec trois carbones latéraux dans la chaîne C6-C3 dont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide coumarique et l'acide sinapique sont les plus connus [19] (**Tableau II.3**).

Tableau II.3 : Les principaux acides hydroxycinnamiques [20].

Acides hydrocinnamiques			
	R ₁	R ₂	R ₃
Acide cinnamique	H	H	H
Acide <i>p</i> -coumarique	H	OH	H
Acide caféique	OH	OH	H
Acide férulique	OCH ₃	OH	H
Acide sinapique	OCH ₃	OH	OCH ₃

1.3.3. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [21], ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétéroside [22].

Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C [23] (**Figure II.6**).

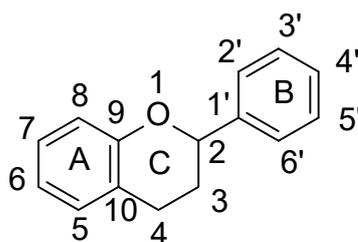


Figure II.6 : Structure de base des flavonoïdes [20].

1.3.3.1. Rôles des flavonoïdes

Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans :

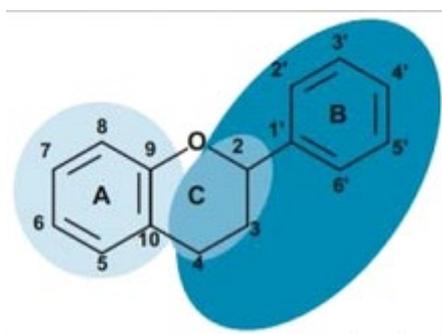
- Les processus de défense contre les UV.
- La pigmentation.
- La stimulation des nodules de fixation de l'azote.
- La résistance aux maladies [24].

On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes et leur nombre ne cesse d'accroître [25].

1.3.3.2. Biosynthèse des flavonoïdes

La structure en C6-C3-C6 est le produit des deux voies de synthèse des composés phénoliques (**Figure II.7**) le noyau B et le pont carbone « constituant une unité phénylpropanoïde » synthétisée à partir de la phénylalanine provenant de la voie de l'acide shikimique, alors que le noyau A vient de la condensation de 3 motifs acétate via la voie de l'acide malonique. La fusion de ces deux parties implique la condensation d'un phénylpropanoïde, le 4-coumaryl, avec 3 malonylCoA donnant chacun 2 atomes de carbone.

La réaction est catalysée par la chalcone synthase, donnant ainsi le tétrahydroxychalcone, qui va à son tour donner tous les flavonoïdes [26]. Il existe plusieurs groupes de flavonoïdes.



En bleu ciel, pont 3 carbones ; en bleu médian, partie provenant de la voie de l'acide shikimique ; en bleu foncé, partie provenant de la voie de l'acétate [24].

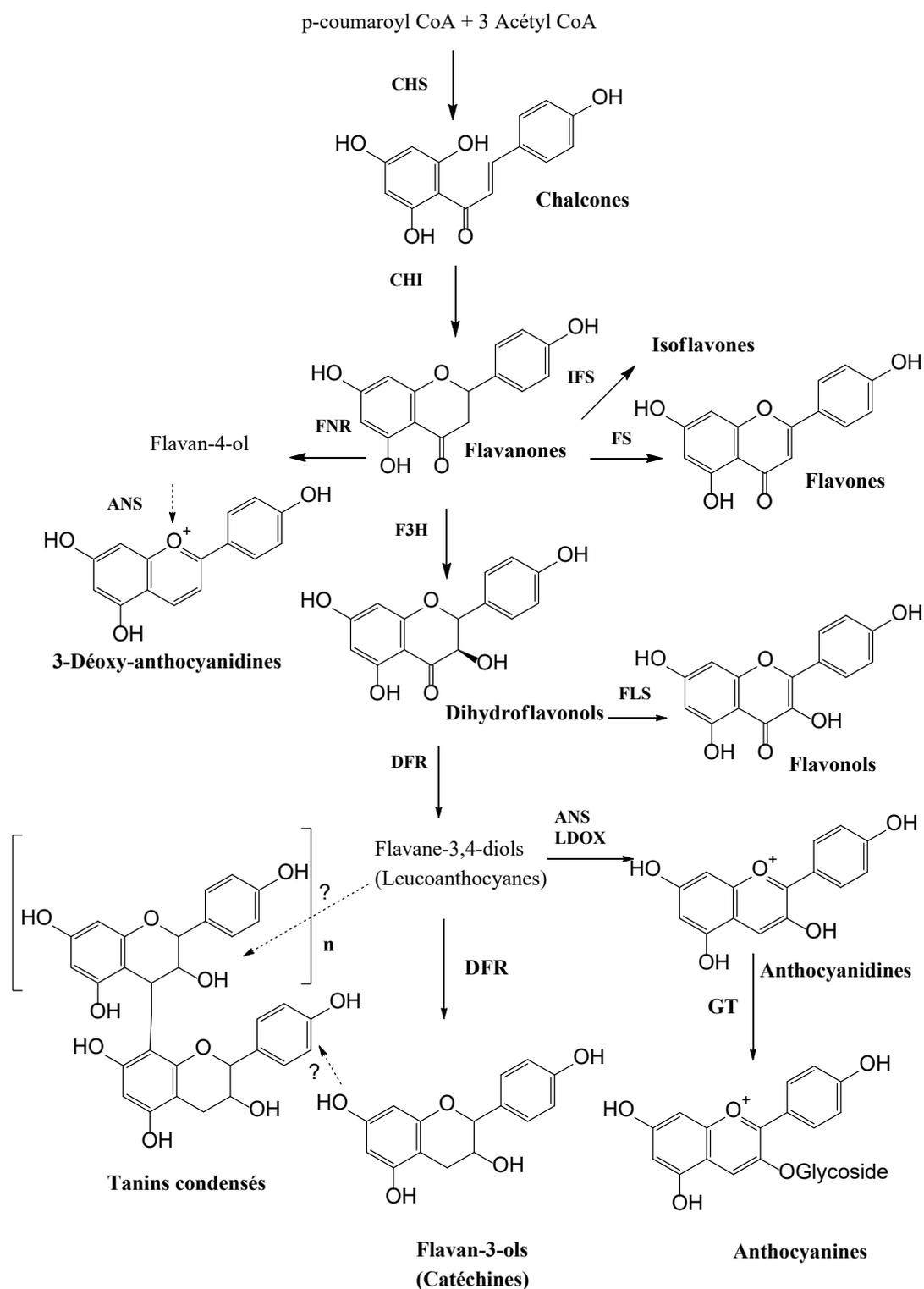
Figure II.7 : Squelette de base des flavonoïdes.

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun qui est la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Le passage de chalcone en flavonoïde se fait par plusieurs étapes comme la méthylation, la glycosylation et l'acylation (**Figure II.8**).

L'enzyme clé de la biosynthèse c'est la chalcone synthase (CHS) qui catalyse la condensation de trois unités acétate à partir de malonyl-COA avec la 4-coumaroyl-COA.

L'isomérisation des chalcones par la chalcone isomérase (CHI) conduit à la formation des flavanones. Ces derniers vont subir soit une oxydation par la flavone synthase (FS) et donnent les flavones, soit une réduction par la flavanone réductase (FNR) et donnent des flavanols.

Tandis que l'hydroxylation des flavanones par la flavanone-3-hydroxylase (F3H) donne des dihydroflavonols qui peuvent s'oxyder en flavonols par la flavonol synthase (FLS) [27].



CHS : Chalconesynthase; **CHI** : Chalcone isomérase; **FS** : Flavonesynthase;

IFS : Isoflavonesynthase; **FNR** : Flavanone réductase; **F3H** : Flavanone-3-hydroxylase;

FLS : Flavonolsynthase ; **DFR** : Dihydroflavonol réductase; **ANS** : Anthocyanidine synthase;

GT : Glucosyl transférase.

Figure II.8 : Biosynthèse des Flavonoïdes

1.3.3.3. Structures chimiques et classification des flavonoïdes

Les classes de flavonoïdes diffèrent en fonction du degré d'oxydation et de la substitution du cycle C comme le montre la (**Figure II.9**), tandis que les composés de chaque classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (hydroxylation, alkylation, glycosylation, acylation) sur les deux cycles A et B [28].

Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes existent: Les flavones, flavanols, flavanones, dihydroflavonols, flavan-3-ols, flavane-3,4-diols, chalcones, aurones, anthocyanes et isoflavones [24].

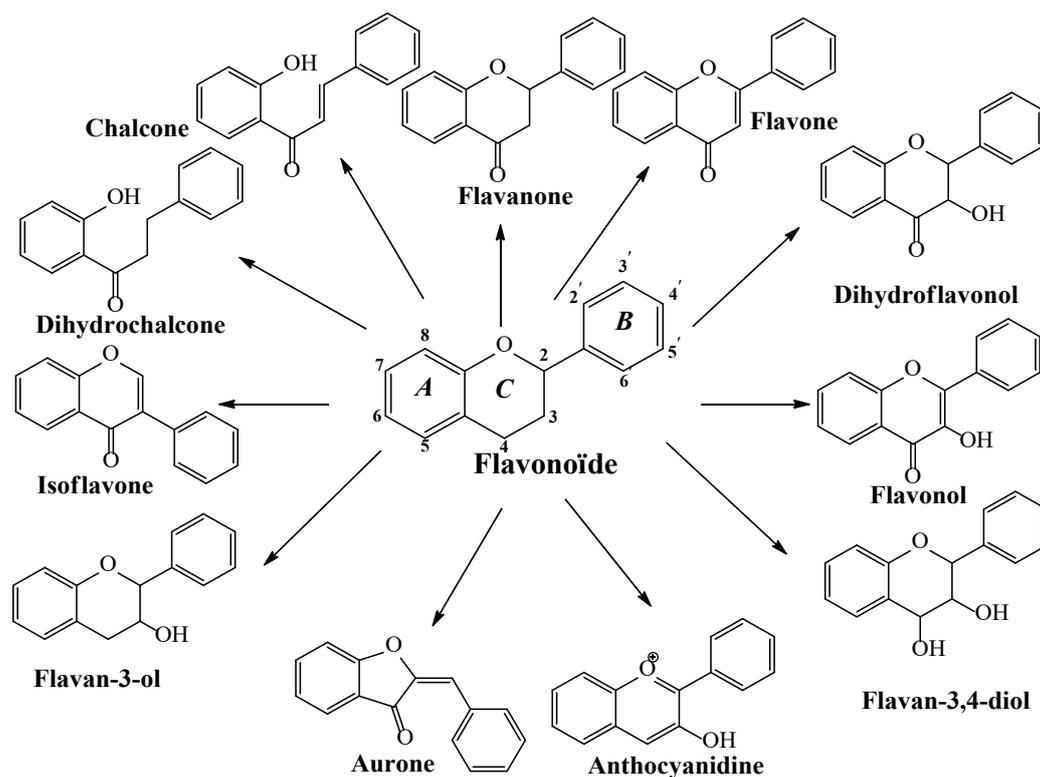


Figure II.9 : Les principales classes des flavonoïdes.

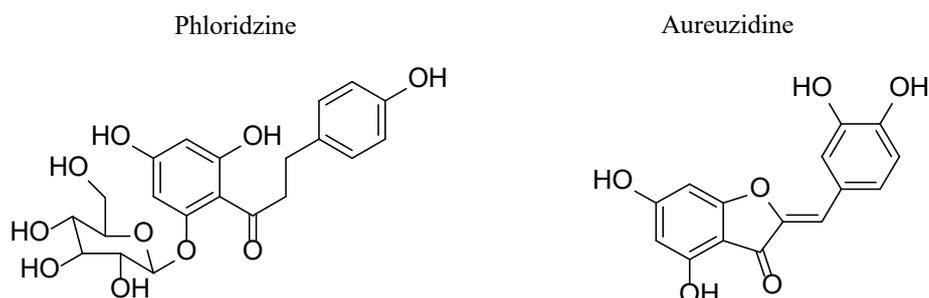


Figure II.11 : Structure de la phloridzine et de la aureuzidine.

o Les anthocyanes

Les anthocyanes (en grec Anthos signifie fleur, et kyanos signifie bleu) sont des pigments hydrosolubles présents dans la plupart des espèces [34].

Sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violet et bleu observées dans la nature [35].

Ces composés sont impliqués dans la protection des plantes contre les excès de rayons solaires, les anthocyanidines sont capables de former des conjugués avec les acides hydroxycinnamiques et les acides organiques (acide malique et acide acétique) [24].

▪ Anthocyanes les plus connus

- ❖ La pélargonidine responsable de la couleur rouge ou orangé chez certaines plantes.
- ❖ Deuxième anthocyane connu c'est la cyanidine qui donne une coloration rouge ou rose.
- ❖ La delphinidine responsable de la coloration mauve (**Figure II.12**) [9].

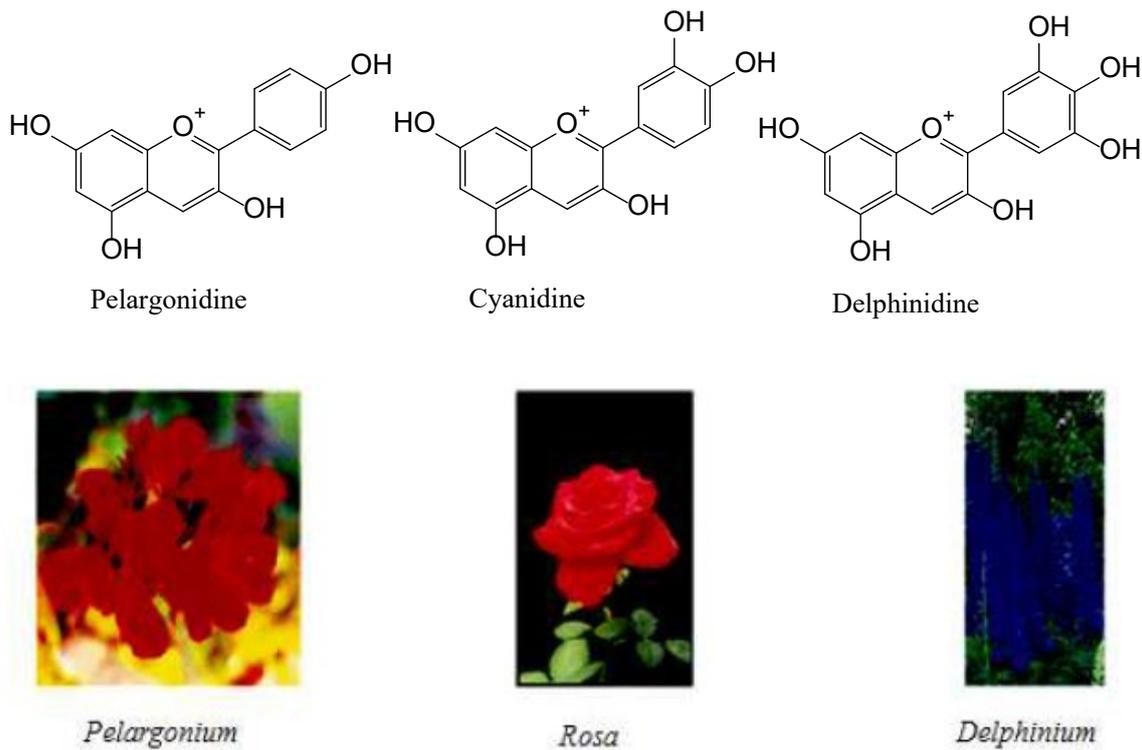


Figure II.12 : Structure de quelques anthocyanes et leur identification dans la nature [35].

1.3.3.4. Aspects thérapeutiques des flavonoïdes

La plupart de ces flavonoïdes sont de puissants antioxydants offrant toute une batterie de fonctions biochimiques particulièrement intéressantes pour notre santé. Ils jouent un rôle important dans:

- La fonction immunitaire.
- L'expression génique.
- La circulation sanguine dans les capillaires et le cerveau.
- La fonction hépatique.
- L'activité enzymatique.
- L'agrégation des plaquettes.
- Le métabolisme du collagène, des phospholipides, du cholestérol et de l'histamine [1].

1.3.4. Quinones

Les quinones résultent de l'oxydation de dérivés aromatiques caractérisés par un motif 1,4- dicétocyclohexa-2,5-diénique (para-quinones) ou par un motif 1,2-dicétocyclohexa-3,5-diénique (ortho-quinones).

La dione peut être conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé: Naphtalène (naphthoquinones), anthracène (anthraquinones), naphthodianthrène (naphthodianthrone) [5] (**Figure II.13**).

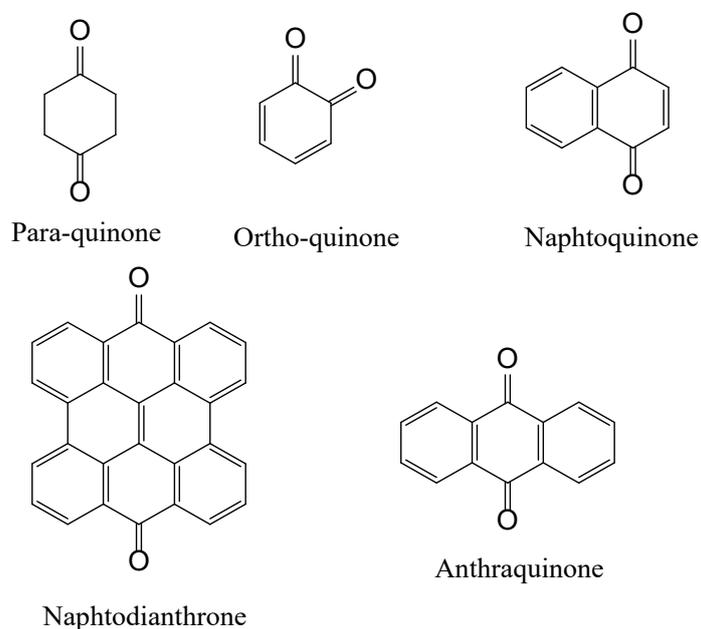


Figure II.13 : Quelques motifs quinoniques.

1.3.5. Lignanes

Les lignanes sont des composés phénoliques formés de deux unités monolignols [36], le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivant de 1-phénylpropane (liaison 8-8'), on dit aussi que ce sont des dimères d'alcools ou d'acides cinnamiques [16], Ces derniers sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : Alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcoolsinapique (**Figure II.14**).

Le sécoisolaricirésinol et le matairesinol constituent les principales lignanes d'origine végétale [37] (**Figure II.15**).

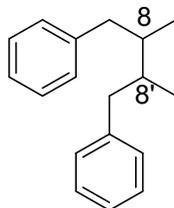
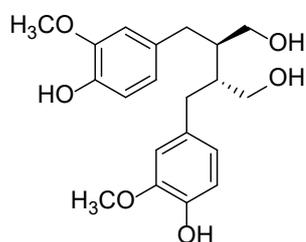
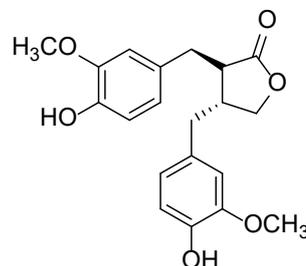


Figure II.14 : Structure générale de lignanes.



Sécoisolaricirésinol (d)



Matairesinol (e)

Figure II.15 : Structures chimiques de Sécoisolaricirésinol et de Matairesinol [38].

1.3.6. Lignines

La lignine est un polymère aromatique qui constitue jusqu'à 30% des tissus ligneux des plantes, de 15% à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20 % des tiges des plantes annuelles, C'est également le polymère aromatique naturel le plus abondant [39], donnant de la rigidité et de la résistance à l'attaque biologique. Parce qu'elle est insoluble, chimiquement complexe, et sans lien hydrolysable, c'est un substrat difficile pour la dépolymérisation enzymatique [40].

Les lignines sont issues de la polymérisation radicalaire de trois alcools phénylpropanoïde ou plus communément appelé monolignols (p-coumarylique (H), coniférylique (G) et sinapylique (S) [39] (**Figure II.16**).

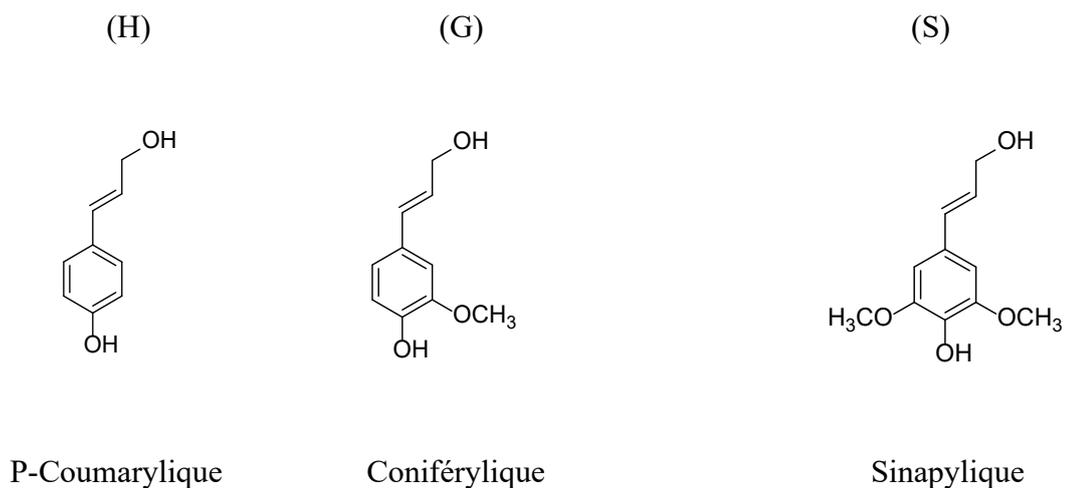


Figure II.16 : Structures chimiques des monolignols.

Une structure précise pour la lignine n'est pas encore connue, mais sûrement elle est très complexe (**Figure II.17**) [35].

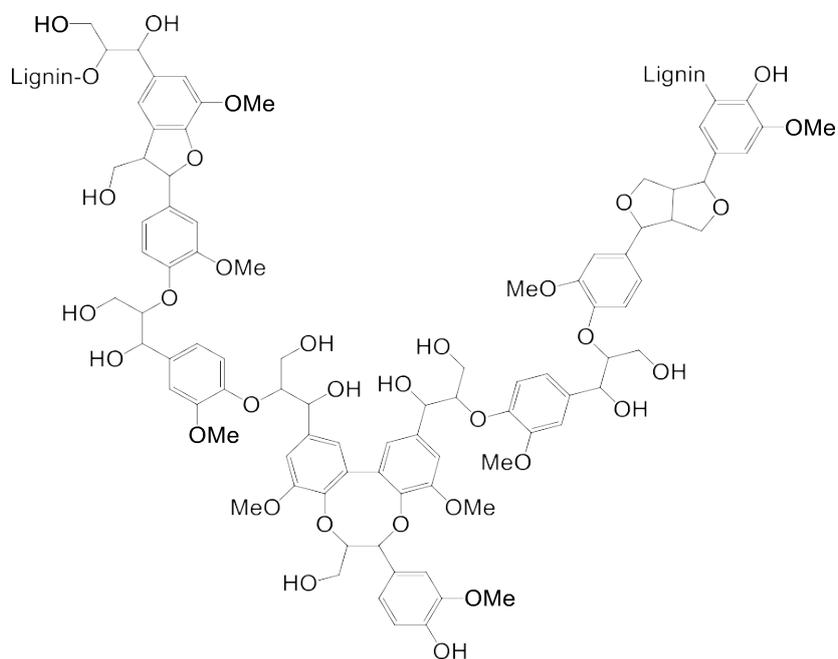


Figure II.17 : Structure chimique de lignine [38].

1.3.7. Stilbènes

Les stilbènes ont une structure en C6-C2-C6, deux cycles benzéniques sont reliés par deux carbones, eux-mêmes unis par une double liaison [16], sont des phytoalexines et constituent un groupe de non-flavonoïdes moins répandus dans les aliments d'origine végétale par rapport aux autres classes de polyphénols [41].

Ils existent sous forme de stéréo-isomères sous les formes E et Z, en fonction de l'endroit où les groupes fonctionnels sont rattachés en relation entre eux de part et d'autre de la double liaison. Naturellement les stilbènes présents dans la majorité des cas dans le Z (trans) formulaire [42] (**Figure 1 II.8**).

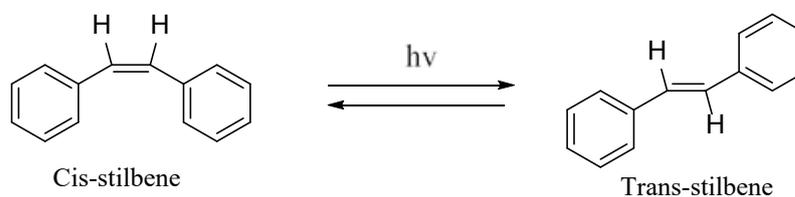


Figure II.18 : Structure générale des stilbènes.

1.3.8. Coumarines

Les coumarines sont des produits naturels très actifs. Ils ont des propriétés phototoxiques, antibiotiques, spasmolytiques, antifongiques et anticancéreuses [43]. Ce sont composées obtenues par lactonisation de l'acide orthocoumarique. Ces coumarines, une fois hydroxylés sur le noyau aromatique, sont des composés phénoliques à structures variables [38] (**Figure II.19**).

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, lactones des acides ortho-hydroxyZ-cinnamiques, des substances phénoliques hétérocycliques oxygénées de la structure C6- C3. Elles sont isolées pour la première fois par Vogel en 1820 dans le coumarona odorat [10], et sont fréquemment hydroxylées en position 7 et ces hydroxyles peuvent être méthylés ou engagés dans une liaison hétérosidique [5]. Elles existent sous formes libres solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau [44].

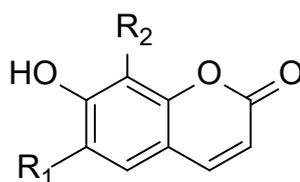


Figure II.19 : Structure chimique de base des coumarines.

❖ Différentes classes de coumarines selon leurs structures

On peut considérer que différentes coumarines dérivent des acides cinnamiques, les plus connus de cette famille sont le skimmine et le scopolin [45] (**Tableau II.4**).

Tableau II.4 : Différentes structures chimiques des coumarines [42].

Composés	R ₁	R ₂
skimmine	H	H
Scopoline	OCH ₃	H
Aesculétine	OH	H
Fraxétine	OCH ₃	H
Daphnetine	H	OH

1.3.9. Tannins

Le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines [46].

Les tannins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux. Ils ont plusieurs activités biologiques [47]. Des études ont montré que des nombreux tannins présentent des propriétés antioxydantes [38].

En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule [48].

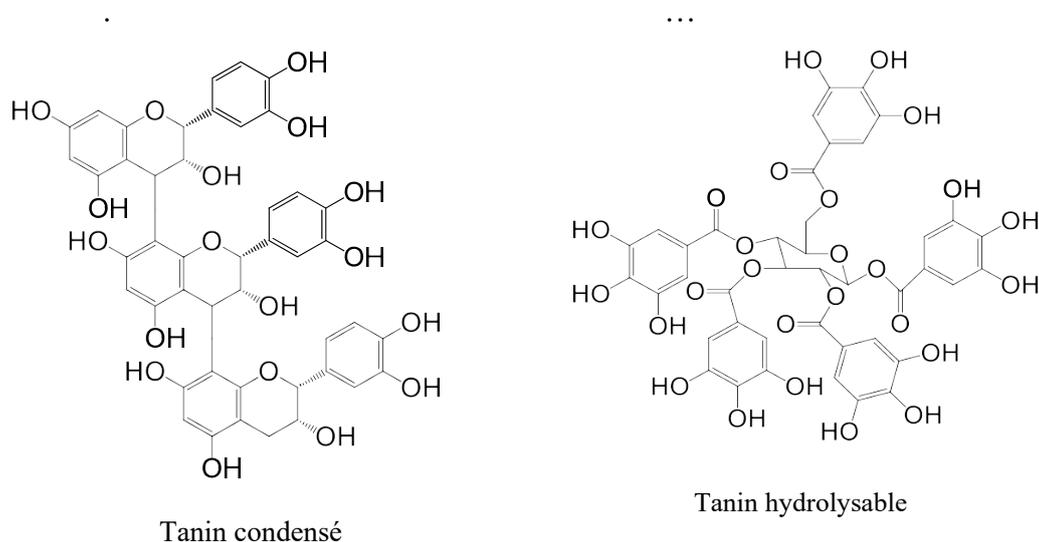


Figure II.20 : Structure chimique de tanin condensé et hydrolysable [47].

1.3.9.1 Les tannins hydrolysables

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou ses dérivés en particulier l'acide éllagique (**Figure II.21**). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) [49].

Ils donnent après hydrolyse à chaud à l'aide de solutions acides étendues une fraction glucidique (glucose) et une fraction polyphénolique exemple la brevilagine 1 et 2 (**Figure II.22**) [50].

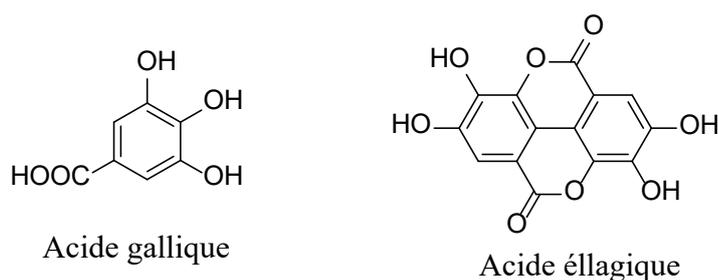


Figure II.21 : Structure chimique de l'acide gallique et l'acide éllagique.

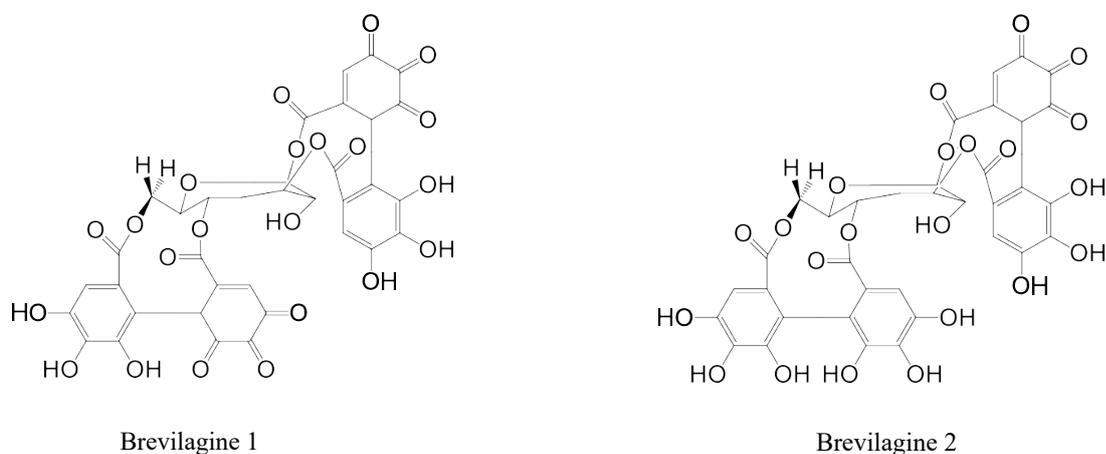


Figure II.22 : Structure de quelques tannins hydrolysables

1.3.9.2. Tannins Condensés

Les tanins condensés, appelés aussi procyanidines ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans les tissus végétaux. Ce sont des polyphénols de masse molaire élevée [51].

Ces composés possèdent comme structure de base le flavan-3-ol ou le flavan-3,4-diol [38], (**Figure II.23**) donc ce sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4, C8 et C6. Ils diffèrent fondamentalement des tannins galliques et ellagiques, ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et sont non hydrolysable [46].

Les tannins condensés donnent une structure hérissée du groupement hydroxyle OH du composé phénolique pour former des liaisons avec les protéines exemple la profisetinidine et la proguibourtinidine [38].

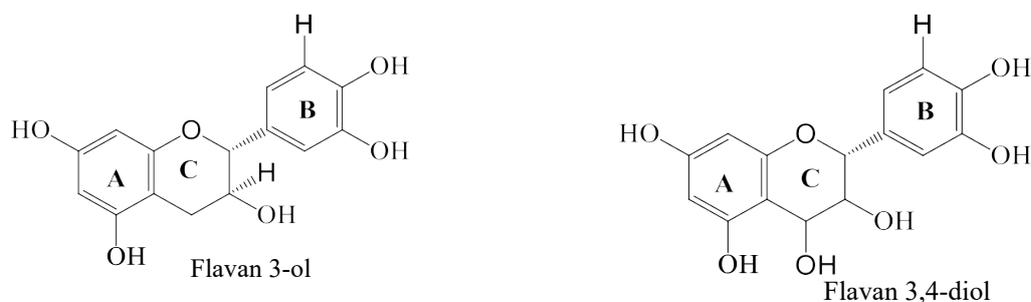


Figure II.23 : Structure de flavan 3- ol et flavan 3,4 -diol [38].

2. Propriétés des composés phénoliques

2.1. Propriétés physico-chimiques

Les polyphénols sont généralement des composés aromatiques solubles dans les solvants polaires tels que l'éthanol, le méthanol, le butanol, l'acétone, le diméthylsulfoxyde, l'eau, ... etc [52].

Les polyphénols moins polaires comme les isoflavones, les flavonones, les flavones et les flavonols sont plus solubles dans autres solvants tels que l'éther et le chloroforme [53].

2.2. Propriétés biologiques

Chez les plantes, les composés phénoliques sont impliqués dans différents processus comme la germination des graines et la croissance des plantes. [8] Ces dernières années les recherches sur les composés phénoliques se sont accentuées en raison de leur activité anti-inflammatoire, antibactérienne et antifongique, antioxydante et même anticancéreuse [54].

2.2.1. Activité anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires des composés polyphénoliques peuvent être dues à leurs capacités d'inhiber des enzymes impliquées dans les processus inflammatoires [19] et leurs activités antioxydantes.

La matricaire, appelée également la camomille allemande ou camomille commune, est une plante médicinale employée pour ses propriétés antispasmodiques et anti-inflammatoire [8].

2.2.2. Activité antibactérienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes [55].

2.2.3. Activité anticancéreuse

Les flavonoïdes et autres phénols peuvent jouer un rôle préventif dans le développement du cancer [56]. Ils interviennent dans l'étape d'initiation comme piègeurs des mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation de l'ADN muté. Durant les étapes de promotion et de progression, ils agissent comme des agents suppresseurs de tumeurs par différents mécanismes comme l'induction de l'apoptose et l'inhibition de la prolifération cellulaire [57].

2.2.4. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des composés phénoliques est due à leur capacité à piéger les radicaux libres, donner l'atome d'hydrogène et électron et chélater les cations métalliques.

La structure des composés phénoliques est l'élément déterminant de leur activité. Pour les acides phénoliques, l'activité antioxydante augmente proportionnellement avec le degré d'hydroxylation et la présence de groupement C=CH-COOH [10].

Pour les flavonoïdes, la relation structure activité antioxydante est généralement plus compliquée que les acides phénoliques à cause de la complexité de la molécule de flavonoïdes [58].

3. Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes de nature basique présentant généralement de puissants effets physiologiques [59]. À forte dose, la plupart des alcaloïdes sont très toxiques, par contre à faible dose, ils peuvent avoir une valeur thérapeutique [60].

Les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et le plus souvent, en plus, de l'oxygène (exceptionnellement quelques alcaloïdes contiennent du soufre) [1].

Ils portent tous la terminaison « ine » [61]. À l'état normal, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates...) ou combinés à des tanins [62]. Selon l'origine biosynthétique on distingue trois types d'alcaloïdes.

3.1. Les alcaloïdes vrais

Représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes et sont toxiques, ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique, ces substances sont douées d'une grande activité biologique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde [2].

3.2. Les pseudo-alcaloïdes

Présentent le plus souvent tous les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés, les alcaloïdes stéroïdaux et les purines sont les représentants principaux de cette classe d'alcaloïdes [2].

3.3. Les proto-alcaloïdes

Sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés, ils sont souvent appelés (amines biologiques) et sont solubles dans l'eau, exemple : Mescaline [63] (**Figure II.24**).

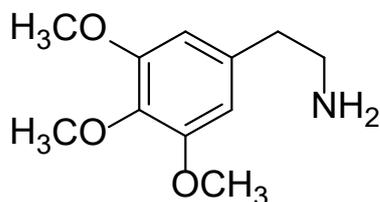


Figure II.24 : Structure chimique de mescaline.

4. Les Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des « produits odorants, généralement de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie. Soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [64].

4.1. Composition chimique des huiles essentielles

Ces constituants chimiques appartiennent, majoritairement, à deux catégories [65] [66] :

- Les terpènes ou plus généralement terpenoïdes, (pour la grande majorité d'entre elles).
- Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, (beaucoup moins fréquents).

5. Terpénoïdes

Les terpénoïdes tirent leurs noms de la térébenthine (*lat. balsamumterebinthinae*), une huile essentielle obtenue par distillation de l'oléorésine de pin dont les composés majeurs sont des terpènes, ils représentent une grande famille de molécules qui varie d'une simple chaîne linéaire d'hydrocarbures jusqu'à des agencements complexes de cycles carbonés avec plus de 40 000 composés [67].

- **Structure et classification des terpénoïdes**

La structure carbonée de base des terpénoïdes est constituée de l'assemblage d'un nombre variable d'unités 2-méthylbutane (appelées unités isoprène) avec une formule générale $(C_5H_8)_n$ [68], selon le nombre d'unités isoprène dans leur structure de base ou le nombre de n, les terpénoïdes sont classés en diverses catégories (**Tableau II.5**) [69].

Tableau II.5 : Classification des terpénoïdes.

Nombre d'isoprène (n)	Formule brute	Classe
1	C_5H_8	Hémiterpène
2	$(C_5H_8)_2$	Monoterpène
3	$(C_5H_8)_3$	Sesquiterpène
4	$(C_5H_8)_4$	Diterpène
5	$(C_5H_8)_5$	Sesterpène
6	$(C_5H_8)_6$	Triterpène et stéroïde
8	$(C_5H_8)_8$	Tétraterpène
> 8	$(C_5H_8)_n$	Polyterpène

5.1. Hémiterpènes

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule de C_5 ramifiée, parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme hémiterpène, seul l'isoprène à toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes [70].

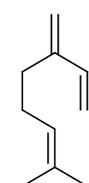
5.2. Monoterpènes

Les monoterpènes contiennent plus de 900 composés connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : Les monoterpènes linéaires (acyclique), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques). Ils résultent d'une fusion typique tête-à-queue des unités d'isoprène [71] (**Figure II.25**).

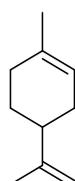
Les monoterpènes existent dans les huiles essentielles. Cyclisés en méthylcyclopentanes et glycosylés, ils constituent les iridoïdes. La glycosylation les rend solubles, on les trouve non pas dans des appareils sécréteurs mais dans toutes les parties de la plante [5].

Ils sont connus par de nombreuses activités biologiques telles que:

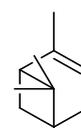
- Antimicrobienne.
- Anti-inflammatoire [72][73].
- Hypotensive.
- Antiprurigineuse [72].
- Anti-cancéreuse [73].
- Inhibiteur d'AChE [74].
- Antidiabétique [75].



Myrcène



Limonène



alpha-pinène

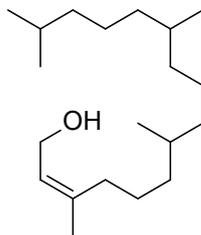
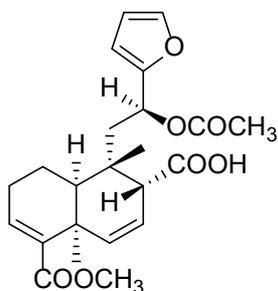
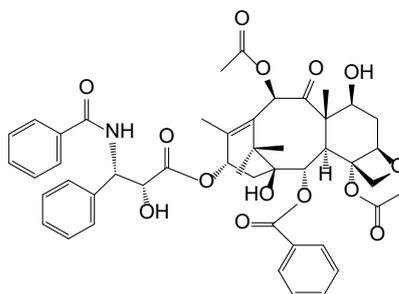
Figure II.25 : Structure de quelques monoterpènes [76].

5.3. Diterpènes

Ces composés en C₂₀, peuvent être acycliques ou bi- ou tri-cycliques. Les plus intéressants sur le plan pharmacologique sont les diterpènes tricycliques à noyau taxane.

Les diterpènes possèdent plusieurs activités biologiques : Anti-cancéreuse [77]; anti-bactérienne [78]; anti-tumeur [78]; antidiabétique [79]; cardiovasculaire [80]; anti-inflammatoire [81].

En se basant sur le degré de cyclisation du squelette hydrocarboné, les diterpénoïdes peuvent être subdivisés en:

5.3.1. Terpénoïdes acycliques : Phytol**Figure II.26 :** Structure chimique du phytol [82].**5.3.2. Terpénoïdes bicycliques : Crispene C****Figure II.27 :** Structure chimique de Crispene C [83].**5.3.3. Terpénoïdes tricycliques : Taxol****Figure II.28 :** Structure chimique de Taxol [84].

5.3.4. Terpénoïdes tétracycliques : Phorbol

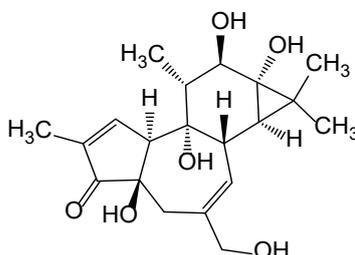


Figure II.29 : Structure chimique de Phorbol [85].

5.4. Triterpènes

Constituent une grande famille de terpénoïdes rencontrés dans le règne végétal et animal [86]. Ce sont des composés en C₃₀, qui dérivent du 2,3-époxy-squalène (**Figure II.30**) ou du squalène lui-même par une variété de cyclisations et d'autres modifications [87].

Les triterpénoïdes possèdent des propriétés pharmacologiques tel que : Anti-inflammatoire [88], antivirale, anti-tumorale [89], antibactérienne [90], antifongique [91], antiallergique, anticancéreuse, spasmolytique, analgésique, hépatoprotective [92], antioxydante [93], neuroprotective [94] et antiparasitique [95].

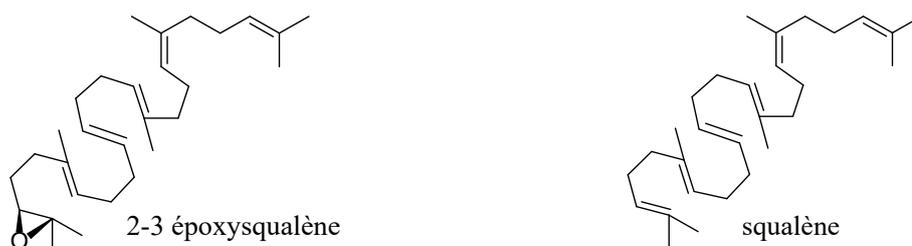


Figure II.30 : Structures chimique de 2,3-époxy-squalène et de squalène [87].

Ils peuvent être classés en trois groupes: Acyclique (squalène), tétracyclique (momordicine I [96]) et pentacyclique (oléanane [97]) (**Figure II.31**).

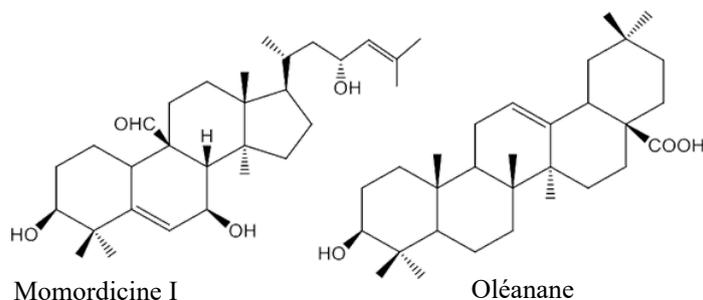


Figure II.31 : Structure de quelques triterpènes. [96] [97].

5.4.1. Les stéroïdes

Peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques (**Figure II.33**) ayant perdu au moins trois méthyles. Ils ont en commun une structure chimique comportant un squelette stérane ou perhydrocyclopentanophénanthrène (**Figure II.32**).

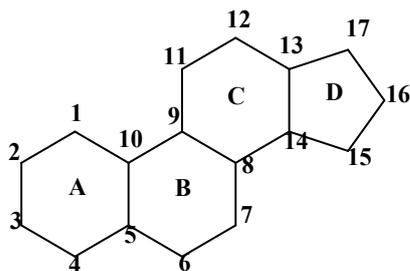


Figure II.32 : Noyau perhydrocyclopentanophénanthrène.

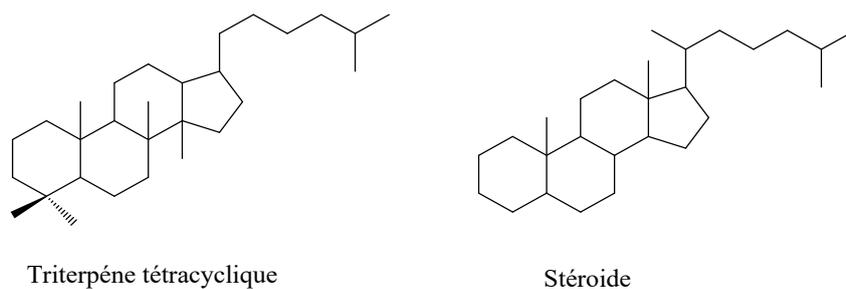


Figure II.33 : Structures chimiques d'un triterpène tétracyclique et de stéroïde [5].

5.4.2. Les saponosides

Les saponosides sont une classe d'hétérosides très répandue chez les plantes et les animaux. Ce sont des glycosides stéroïdiques ou triterpéniques qui ont la propriété de former des solutions moussantes en présence d'eau et de précipiter le cholestérol [59], Ils peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique:

- **Les génines stéroïdiques :** Possèdent un squelette en C₂₇ et 6 cycles.
- **Les saponosides triterpéniques :** Ont souvent un squelette pentacyclique, oléananes ou ursanes. Les chaînes osidiques des saponosides sont le plus souvent formées de 2 à 10 oses banals, liés à la génine par une liaison de type ester ou éther [5].

III. Activités biologiques de quelques métabolites secondaires

Les Phénols simples et acides phénoliques possèdent plusieurs activités biologiques : Antibactériennes, antifongiques, antioxydants, anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques, antipyrétiques, anti-radicalaires, anti-tumorales, antivirales, cholagogues, hépatoprotecteurs, immunostimulants, effet anticancéreux chez les souris (acide caféique et ferulique) [98] [99] [100].

Les Flavonoïdes possèdent des propriétés pharmacologiques tel que : Anti-tumorales, anti-carcinogène, anti-inflammatoires, antioxydants, antiallergique, antiulcéreuse, antivirales, antimicrobiennes, anti-oestrogénique, antispasmodique, hépatoprotectrices, antiseptiques urinaires, inhibiteurs enzymatiques, hypocholestérolémiantes, anti parasitaires [101] [102] [103].

Les Tanins possèdent plusieurs activités biologiques : Astringente, anti diarrhéique, vasculoprotectrices, antivirales, antiseptiques, antioxydants, anti-nutriments, anti-microbes, anti-inflammatoires, anti hypertensive, anti mutagènes, immunostimulants, anti-tumorales, inductrice de l'apoptose [109].

Les Lignanes possèdent des propriétés pharmacologiques tel que : Antivirales, anticancéreux, antimicrobiennes, antioxydants, anti-tumorales, antiagrégants plaquettaires, antagoniste calcique, anti hypertensive, anti protozoaire, antimitotiques, inhibiteurs enzymatiques, anti hypertenseurs, hépato protectrices, antiallergiques et antirhumatismales [106] [107] [108].

Les Saponosides possèdent plusieurs activités biologiques tel que : Antioedémateux , antileishmanien, insecticide, antivirales, antiulcéreux, immuno-modulateur, antivieillessement, hypoglycémique, anti- inflammatoires, anti-hémorroïdaires et anti- appétantes, chimio préventive, analgésique, sédative, hépato protecteurs, neuroprotecteurs, antituberculeux, réduction du cholestérol, diurétique [110] [111] [112]

Les Terpénoïdes et stéroïdes des propriétés pharmacologiques tel que : Anti HIV, insecticide, fongicides, anti appétantes pour les insectes, anti tumoraux, cytotoxiques, antibactériens, anti- inflammatoires, antibiotiques, contraceptives, anabolisantes [116] [115].

Les Alcaloïdes Tanins possèdent plusieurs activités biologiques : Anesthésiques locaux, antipaludiques, analgésiques, sédatifs anti cholinergiques, anti-malaria, anti hypertensive, stimulant centrale, dépressant cardiaque, diurétique nactotique, anti-tumeur, antiallergique, vasodilatatrice, hypnotique, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, rôle dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, effet sur les troubles nerveux. [113] [114] [115].

Les Coumarines possèdent des propriétés pharmacologiques tel que : Antioxydants, anti-tumorales, analgésique, anti- inflammatoires, antimicrobiennes, anti-adhérences, vasculoprotecteurs, neurosédatives, hypotensives, antivirales, stomachiques et carminatives, anti-agrégation plaquettaire, anticoagulante, diurétiques, immunostimulants [98] [104] [105].

Références bibliographiques

- [1] L. Messai et D. Belkacemi, « Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est Algerien », 2011.
- [2] W. G. Hopkins, *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, 2003.
- [3] S. A. John et A. Annadurai, « GC-MS screening of active secondary metabolites present in the *Cleome gynandra* », *Int J of Phytopharm*, vol. 5, n° 4, Art. n° 4, sept. 2015, doi: 10.7439/ijpp.v5i4.2474.
- [4] G. Richter, « Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie », 1993.
- [5] S. Krief, « 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 », PhD Thesis, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS, 2003.
- [6] J.-J. Macheix, « Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle? », *Acta botanica gallica*, vol. 143, n° 6, p. 473–479, 1996.
- [7] A. Lugasi, « The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases », *Acta biologica szegediensis*, vol. 47, n° 1-4, p. 119–125, 2003.
- [8] J.-J. Macheix, A. Fleuriet, et C. Jay-Allemand, *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques, 2005.
- [9] H. Rammal, « Etude phytochimique de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase », p. 244.
- [10] N. Balasundram, K. Sundram, et S. Samman, « Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses », *Food chemistry*, vol. 99, n° 1, p. 191–203, 2006.
- [11] H.-G. Franck et G. Collin, *Steinkohlenteer: chemie, technologie und verwendung*. Springer-Verlag, 2013.
- [12] R. Croteau, T. M. Kuchan, et N. G. Lewis, « Natural products (secondary metabolites) », *Biochemistry and molecular biology of plants*, vol. 24, p. 1250–1319, 2000.
- [13] I. Ignat, I. Volf, et V. I. Popa, « A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables », *Food chemistry*, vol. 126, n° 4, p. 1821–1835, 2011.
- [14] E. Haslam et Y. Cai, « Plant polyphenols (vegetable tannins): gallic acid metabolism », *Natural product reports*, vol. 11, p. 41–66, 1994.
- [15] T. Barboni, « Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie », PhD Thesis, 2006.
- [16] J. Bruneton, « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.) », Tec & Doc/Lavoisier, Paris, p. 279–281, 2009.
- [17] S. Brianceau, « Vers une amélioration quantitative et qualitative de l'extraction des composés phénoliques du marc de raisin rouge à l'aide d'électrotechnologies », PhD Thesis, Compiègne, 2015.

- [18] C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, et L. Jiménez, « Polyphenols: food sources and bioavailability », *The American journal of clinical nutrition*, vol. 79, n° 5, p. 727–747, 2004.
- [19] M. Škerget, P. Kotnik, M. Hadolin, A. R. Hraš, M. Simonič, et Ž. Knez, « Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities », *Food chemistry*, vol. 89, n° 2, p. 191–198, 2005.
- [20] C. Verdu, « Cartographie génétique des composés phénoliques de la pomme », PhD Thesis, 2013.
- [21] A. Seyoum, K. Asres, et F. K. El-Fiky, « Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids », *Phytochemistry*, vol. 67, n° 18, p. 2058–2070, 2006.
- [22] « Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L », p. 99.
- [23] Y. Dacosta, *Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques*. Ed. Yves Dacosta, 2003.
- [24] K. Chira, J.-H. Suh, C. Saucier, et P.-L. Teissède, « Les polyphénols du raisin », *Phytothérapie*, vol. 6, n° 2, p. 75–82, 2008.
- [25] R. Sahli, « Etude phytochimique de quelques plantes extrêmophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques », PhD Thesis, 2017.
- [26] A. Crozier, « Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview », *Plants: Diet and Health: The Report of a British Nutrition Foundation Task Force*, p. 27–48, 2003.
- [27] G. Richter, « Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie », 1993.
- [28] S. Kumar et A. K. Pandey, « Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview », *The scientific world journal*, vol. 2013, 2013.
- [29] A. N. Panche, A. D. Diwan, et S. R. Chandra, « Flavonoids: an overview », *Journal of nutritional science*, vol. 5, 2016.
- [30] H. Halbwirth, « The creation and physiological relevance of divergent hydroxylation patterns in the flavonoid pathway », *International journal of molecular sciences*, vol. 11, n° 2, p. 595–621, 2010.
- [31] F. Luan, L. L. Tang, X. X. Chen, et H. T. Liu, « Simultaneous Determination of Daidzein, Genistein and Formononetin in Coffee by Capillary Zone Electrophoresis », *Separations*, vol. 4, n° 1, p. 1, 2017.
- [32] M. Raja et R. K. Kinne, « Identification of phlorizin binding domains in sodium-glucose cotransporter family: SGLT1 as a unique model system », *Biochimie*, vol. 115, p. 187–193, 2015.
- [33] T. Iwashina, « The structure and distribution of the flavonoids in plants », *Journal of Plant Research*, vol. 113, n° 3, p. 287, 2000.
- [34] J.-M. Kong, L.-S. Chia, N.-K. Goh, T.-F. Chia, et R. Brouillard, « Analysis and biological activities of anthocyanins », *Phytochemistry*, vol. 64, n° 5, p. 923–933, 2003.
- [35] B. Buchanan, W. Gruissem, et R. Jones, « *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists. Courier Companies », Inc. Waldorf, MD, 2000.
- [36] E. Lainé, C. Hano, et F. Lamblin, « Les lignanes phytoestrogènes du lin sont-ils des bienfaiteurs méconnus? », *Phytothérapie*, vol. 5, n° 3, p. 121–128, 2007.
- [37] M. Axelson, J. Sjövall, B. E. Gustafsson, et K. D. R. Setchell, « Origin of lignans in mammals and identification of a precursor from plants », *Nature*, vol. 298, n° 5875, p. 659–660, 1982.

- [38] H. Rammal, « Etude phytochimique de deux Euphorbiacées: Ricinus communis et Jatropha curcas. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase », p. 244.
- [39] E. Privas, « Matériaux ligno-cellulosiques: "Élaboration et caractérisation" », PhD Thesis, 2013.
- [40] I. D. Reid, « Biodegradation of lignin », Canadian Journal of Botany, vol. 73, n° S1, p. 1011–1018, 1995.
- [41] I. Zanotti et al., « Atheroprotective effects of (poly) phenols: a focus on cell cholesterol metabolism », Food & function, vol. 6, n° 1, p. 13–31, 2015.
- [42] K. A. Roupe, C. M. Remsberg, J. A. Yáñez, et N. M. Davies, « Pharmacometrics of stilbenes: segueing towards the clinic », Current clinical pharmacology, vol. 1, n° 1, p. 81–101, 2006.
- [43] N. Yacine, S. Madani, et Z. Abdelghani, « Aperçu ethnobotanique et chimique des Astéracées », p. 58.
- [44] J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochimie. Plantes médicinales, Paris, Ed. Tec-Doc, 1999.
- [45] T. Ouafa, « Etude des propriétés phyto thérapeutique de la plante médicinale Malva Sylvestris », PhD Thesis, 2016.
- [46] M. Paris, M. Hurabielle, et R.-R. Paris, Abrégé de matière médicale: Monographies (2. partie): plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif, plantes cardiotoniques, plantes antiparasitaires, plantes insecticides, antibiotiques et antitumoraux d'origine végétale. Masson, 1981.
- [47] A. Alkurd, H. R. Takruri, et H. Al-Sayyed, « Tannin contents of selected plants used in Jordan », Jordan Journal of Agricultural Sciences, vol. 4, n° 3, p. 265–274, 2008.
- [48] M. Rira, « Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins », 2006.
- [49] T. B. Mysore et al., « Overexpression of glutathione peroxidase with two isoforms of superoxide dismutase protects mouse islets from oxidative injury and improves islet graft function », Diabetes, vol. 54, n° 7, p. 2109–2116, 2005.
- [50] J. Doat, « Les tanins dans les bois tropicaux », BOIS & FORETS DES TROPIQUES, vol. 182, n° 182, p. 37–54, 1978.
- [51] B. Hachimi et H. Djamel, « Extraction et caractérisation des composés phénoliques de Myrtus communis L en vue de leur incorporation dans la margarine », p. 78.
- [52] R. Benkrief, « Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales de l'Est algérien: étude chimique de " Hammada articulata "(Moquin) Iljin ssp. scoparia Pomel. Etude chimique de 3 plantes néo-calédonniennes à monoterpénoïdes.. », PhD Thesis, Paris 5, 1990.
- [53] E. Verykokidou-Vitsaropoulou et C. Vajias, « Methylated flavones from Teucrium polium », Planta medica, vol. 52, n° 05, p. 401–402, 1986.
- [54] P. Montoro, A. Braca, C. Pizza, et N. De Tommasi, « Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species », Food chemistry, vol. 92, n° 2, p. 349–355, 2005.
- [55] A. Basli, M. Chibane, K. Madani, et N. Oukil, « Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: Origanum glandulosum Desf. », Phytothérapie, vol. 10, n° 1, p. 2–9, 2012.

- [56] E. Genoux, « Dérivés de flavonoïdes et de vérapamil comme ligands des transporteurs MRP1 et ABCG2: de la conception à l'activité anticancéreuse », PhD Thesis, 2011.
- [57] M. Gerber, M.-C. Boutron-Ruault, S. Herberg, E. Riboli, A. Scalbert, et M.-H. Siess, « Actualités en cancérologie: fruits, légumes et cancers. Une synthèse du réseau Nacre », *Bulletin du cancer*, vol. 89, n° 3, p. 293–312, 2002.
- [58] W. Bors, C. Michel, et K. Stettmaier, « Antioxidant effects of flavonoids », *Biofactors*, vol. 6, n° 4, p. 399–402, 1997.
- [59] R. Saihi, Etude phytochimique extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa: Mise en évidence de l'activité biologique [Doctorat]: Université Ahmed Ben Bella d'Oran 1 Es Senia. Algérie, 2011.
- [60] W. Hivner, W. E. Hopkins, et S. A. Hopkins, « Facilitating, accelerating, and sustaining the innovation diffusion process: an epidemic modeling approach », *European Journal of innovation management*, 2003.
- [61] M. Hurabielle, J. Eberle, et M. Paris, « Etude des flavonoïdes d'*Artemisia campestris* sous-espèce *glutinosa* », *Planta medica*, vol. 46, n° 10, p. 124–125, 1982.
- [62] I. Merzougui et H. Tadj, « Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'*Ammoides verticillata* De la région de Tlemcen », PhD Thesis.
- [63] P. Oliveros, *Sounding the margins: collected writings 1992-2009*. Lulu. com, 2010.
- [64] J. Bruneton, « Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales », 1993.
- [65] M. G. Miguel, « Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review », *Molecules*, vol. 15, n° 12, p. 9252–9287, 2010.
- [66] P. Belaïche, « Laromatogramme. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie », MSA Editeur, Paris, 204p, 1979.
- [67] M. A. Phillips et R. B. Croteau, « Resin-based defenses in conifers », *Trends in plant science*, vol. 4, n° 5, p. 184–190, 1999.
- [68] J. Bohlmann et C. I. Keeling, « Terpenoid biomaterials », *The Plant Journal*, vol. 54, n° 4, p. 656–669, 2008.
- [69] D. J. McGarvey et R. Croteau, « Terpenoid metabolism. », *The Plant Cell*, vol. 7, n° 7, p. 1015, 1995.
- [70] W. D. LOOMIS et R. CROTEAU, « Biochemistry of terpenoids », in *Lipids: structure and function*, Elsevier, 1980, p. 363–418.
- [71] K. G. Allen, D. V. Banthorpe, B. V. Charlwood, et C. M. Voller, « Biosynthesis of artemisia ketone in higher plants », *Phytochemistry*, vol. 16, n° 1, p. 79–83, 1977.
- [72] A. G. Guimarães, J. S. Quintans, et L. J. Quintans-Júnior, « Monoterpenes with analgesic activity—a systematic review », *Phytotherapy research*, vol. 27, n° 1, p. 1–15, 2013.
- [73] R. Paduch, M. Kandefér-Szerszeń, M. Trytek, et J. Fiedurek, « Terpenes: substances useful in human healthcare », *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*, vol. 55, n° 5, p. 315, 2007.
- [74] W. Zhou, S. Fukumoto, et H. Yokogoshi, « Components of lemon essential oil attenuate dementia induced by scopolamine », *Nutritional neuroscience*, vol. 12, n° 2, p. 57–64, 2009.
- [75] R. Murali et R. Saravanan, « Antidiabetic effect of d-limonene, a monoterpene in streptozotocin-induced diabetic rats », *Biomedicine & preventive nutrition*, vol. 2, n° 4, p. 269–275, 2012.

- [76] C. Kanko, R. K. Oussou, J. Akcah, J. B. Boti, B. P. Seri-Kouassi, et E. J. Casanova, « Structure Des Composés Majoritaires Et Activité Insecticide Des Huiles Essentielles Extraites De Sept Plantes Aromatiques De Côte D'Ivoire », *International Journal of Engineering and Applied Sciences*, vol. 4, n° 10, 2017.
- [77] B. Jian, H. Zhang, C. Han, et J. Liu, « Anti-cancer activities of diterpenoids derived from *Euphorbia fischeriana* Steud », *Molecules*, vol. 23, n° 2, p. 387, 2018.
- [78] G. Topçu et A. C. Gören, « Biological activity of diterpenoids isolated from Anatolian Lamiaceae plants », *Records of Natural Products*, vol. 1, n° 1, p. 1, 2007.
- [79] A. Nagarajan et P. Brindha, « Diterpenes-A Review on Therapeutic uses with special emphasis on Antidiabetic Activity », *J Pharma Res*, vol. 5, n° 8, p. 4530–40, 2012.
- [80] A. M. de Oliveira, C. R. Tirapelli, S. R. Ambrosio, et F. B. da Costa, « Diterpenes: a therapeutic promise for cardiovascular diseases », *Recent patents on cardiovascular drug discovery*, vol. 3, n° 1, p. 1–8, 2008.
- [81] R. Paduch, M. Kandefler-Szerszeń, M. Trytek, et J. Fiedurek, « Terpenes: substances useful in human healthcare », *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*, vol. 55, n° 5, p. 315, 2007.
- [82] X.-H. Xiao, Z.-Q. Yuan, et G.-K. Li, « Preparation of phytosterols and phytol from edible marine algae by microwave-assisted extraction and high-speed counter-current chromatography », *Separation and Purification Technology*, vol. 104, p. 284–289, 2013.
- [83] F. Hossen, R. Ahasan, M. R. Haque, B. Begum, et C. M. Hasan, « Crispene A, B, C and D, four new clerodane type furanoid diterpenes from *Tinospora crispa* (L.) », *Pharmacognosy magazine*, vol. 12, n° Suppl 1, p. S37, 2016.
- [84] U. Heinig et S. Jennewein, « Taxol: A complex diterpenoid natural product with an evolutionarily obscure origin », *African Journal of Biotechnology*, vol. 8, n° 8, 2009.
- [85] J. Staniszevska, M. Szymański, et E. Ignatowicz, « Antitumor and immunomodulatory activity of *Inonotus obliquus* », *Herba Polonica*, vol. 63, n° 2, p. 48–58, 2017.
- [86] M. Chudzik, I. Korzonek-Szlacheta, et W. Król, « Triterpenes as potentially cytotoxic compounds », *Molecules*, vol. 20, n° 1, p. 1610–1625, 2015.
- [87] Z. Wang et al., « Two oxidosqualene cyclases responsible for biosynthesis of tomato fruit cuticular triterpenoids », *Plant Physiology*, vol. 155, n° 1, p. 540–552, 2011.
- [88] L. Fu et al., « Three New Triterpenes from *Nerium oleander* and Biological Activity of the Isolated Compounds », *Journal of natural products*, vol. 68, n° 2, p. 198–206, 2005.
- [89] R.-Y. Kuo, K. Qian, S. L. Morris-Natschke, et K.-H. Lee, « Plant-derived triterpenoids and analogues as antitumor and anti-HIV agents », *Natural product reports*, vol. 26, n° 10, p. 1321–1344, 2009.
- [90] D. R. Katerere, A. I. Gray, R. J. Nash, et R. D. Waigh, « Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Combretaceae », *Phytochemistry*, vol. 63, n° 1, p. 81–88, 2003.
- [91] Y. Wei-Hua, Y. I. Yang-Hua, X. U. E. Mei, H.-W. ZHANG, et L. A. Ming-Ping, « Two antifungal active triterpene glycosides from sea cucumber *Holothuria (Microthela) axiloga* », *Chinese Journal of Natural Medicines*, vol. 6, n° 2, p. 105–108, 2008.
- [92] A. Bishayee, S. Ahmed, N. Brankov, et M. Perloff, « Triterpenoids as potential agents for the chemoprevention and therapy of breast cancer », *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, vol. 16, p. 980, 2011.

- [93] B. D'Abrosca, A. Fiorentino, P. Monaco, et S. Pacifico, « Radical-Scavenging Activities of New Hydroxylated Ursane Triterpenes from cv. Annurca Apples », *Chemistry & biodiversity*, vol. 2, n° 7, p. 953–958, 2005.
- [94] M. K. Lee et Y. C. Kim, « Five Novel Neuroprotective Triterpene Esters of *Ulmus davidiana* var. *japonica* », *Journal of natural products*, vol. 64, n° 3, p. 328–331, 2001.
- [95] M. G. M. Danelli, D. C. Soares, H. S. Abreu, L. M. T. Peçanha, et E. M. Saraiva, « Leishmanicidal effect of LLD-3 (1), a nor-triterpene isolated from *Lophanthera lactescens* », *Phytochemistry*, vol. 70, n° 5, p. 608–614, 2009.
- [96] J. Ma et al., « Cucurbitane-type triterpenoids from *Momordica charantia* », *Planta medica*, vol. 76, n° 15, p. 1758–1761, 2010.
- [97] H. Sun, W.-S. Fang, W.-Z. Wang, et C. Hu, « Structure-activity relationships of oleanane-and ursane-type triterpenoids », *Botanical Studies*, vol. 47, n° 4, p. 339–368, 2006.
- [98] PHARMACOGNOSIE - Phytochimie, plantes médicinales, 3ème édition -... - Librairie Eyrolles. .
- [99] I. Cunha et al., « Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts », *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 15, n° 6, p. 964–970, 2004.
- [100] « Laraoui, H. (2007) Etude phytochimique L'Extrait Chloroformique de *Bupleurum atlanticum* Docteur de l'université Louis Pasteur (chimie organique, UV El Hadj Lakhdar Batna) ».
- [101] T. Hennebelle, S. Sahpaz, et F. Bailleul, « Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif », *Phytothérapie*, vol. 2, n° 1, p. 3–6, 2004.
- [102] K. R. Narayana, M. S. Reddy, M. R. Chaluvadi, et D. R. Krishna, « Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential », *Indian journal of pharmacology*, vol. 33, n° 1, p. 2–16, 2001.
- [103] S. Ramos, « Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention », *The Journal of nutritional biochemistry*, vol. 18, n° 7, p. 427–442, 2007.
- [104] B. Thati et al., « Mechanism of action of coumarin and silver (I)–coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans* », *Toxicology in vitro*, vol. 21, n° 5, p. 801–808, 2007.
- [105] G. Taguchi et al., « Scopoletin uptake from culture medium and accumulation in the vacuoles after conversion to scopolin in 2, 4-D-treated tobacco cells », *Plant science*, vol. 151, n° 2, p. 153–161, 2000.
- [106] M. S. Donaldson, « Nutrition and cancer: a review of the evidence for an anti-cancer diet », *Nutrition journal*, vol. 3, n° 1, p. 19, 2004.
- [107] D. C. Ayres et J. D. Loike, *Lignans: chemical, biological and clinical properties*. Cambridge university press, 1990.
- [108] J. Gertsch, R. T. Tobler, R. Brun, O. Sticher, et J. Heilmann, « Antifungal, antiprotozoal, cytotoxic and piscicidal properties of Justicidin B and a new aryl-naphthalide lignan from *Phyllanthus piscatorum* », *Planta medica*, vol. 69, n° 05, p. 420–424, 2003.
- [109] M. Biaye, « Action pharmacologique des tanins », PhD Thesis, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar ..., 2002.
- [110] K. Hostettmann et A. Marston, *Chemistry and pharmacology of natural products: Saponins*. London: Cambridge University Press, 1995.
- [111] G. Francis, Z. Kerem, H. P. Makkar, et K. Becker, « The biological action of saponins in animal systems: a review », *British journal of Nutrition*, vol. 88, n° 6, p. 587–605, 2002.

- [112] M.-A. Lacaille-Dubois, « Saponins as immunoadjuvants and immunostimulants », in *Immunomodulatory agents from plants*, Springer, 1999, p. 243–272.
- [113] W. G. Hopkins, « *Physiologie végétale*. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier SA », Paris: 514p, 2003.
- [114] M. Badiaga, « Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali », PhD Thesis, 2011.
- [115] J. Bruneton, « *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4^e éd.) », Lavoisier, Paris, p. 783–785, 2009.
- [116] E. Bisoli, W. S. Garcez, L. Hamerski, C. Tieppo, et F. R. Garcez, « Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum* », *Molecules*, vol. 13, n° 11, p. 2717–2728, 2008.

Chapitre III

Stress oxydatif

Radicaux libres, espèces réactives de l'oxygène (ERO), stress oxydant et antioxydants sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical que dans le grand public. Au début des années 2000, ces notions n'étaient généralement évoquées que dans les congrès scientifiques. Mais ces dernières années, l'industrie pharmaceutique, les laboratoires d'analyses médicales et la presse grand public ont massivement diffusé des informations relatives aux antioxydants [1].

I. Stress oxydatif

Le stress oxydatif fut défini par Favier (2003), comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur destruction par les systèmes de défense antioxydants (**Figure III.1**).

Des facteurs exogènes comme les polluants environnementaux, les radiations, les solvants organiques, le tabac ainsi que les agents pathogènes, sont incriminés dans la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) [2].

Ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : Les lipides avec altérations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation [3].

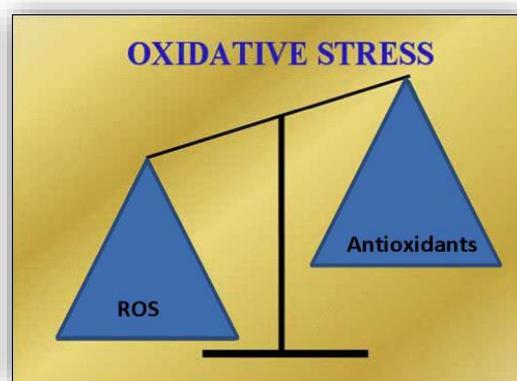


Figure III.1 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants [4].

II. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomes, ou des molécules dont une orbitale contient un ou plusieurs électrons non appariés. Extrêmement instables et s'accouplent de force avec le premier électron compatible rencontré, soit en arrachant un électron (se comportant comme un oxydant), soit céder l'électron (agissant alors comme un réducteur). L'électron chassé devient à son tour un radical libre et on assiste à la destruction de longues chaînes de molécules assortie de dégradation cellulaire en cascade, c'est ce qu'on appelle le stress oxydatif [5].

Le RL est un produit présent naturellement dans l'organisme [6] [7] [8] :

- Au niveau de la respiration mitochondriale lorsque l'oxygène échappe à la réduction complète en H₂O.
- Au niveau de certains organites cellulaires tels que les peroxysomes.
- Par diverses oxydases cellulaires.
- Au cours de la phagocytose.

Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène. Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) ou de l'azote (ERA ou RNS) [9].

L'oxygène (**O₂**) est indispensable à la vie des organismes aérobies où les mitochondries «poumons» de la cellule, qui en utilisent la majeure partie comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP (**Figure III.2**). Ce métabolisme induit la production d'espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA) en équilibre avec les systèmes antioxydants [10].

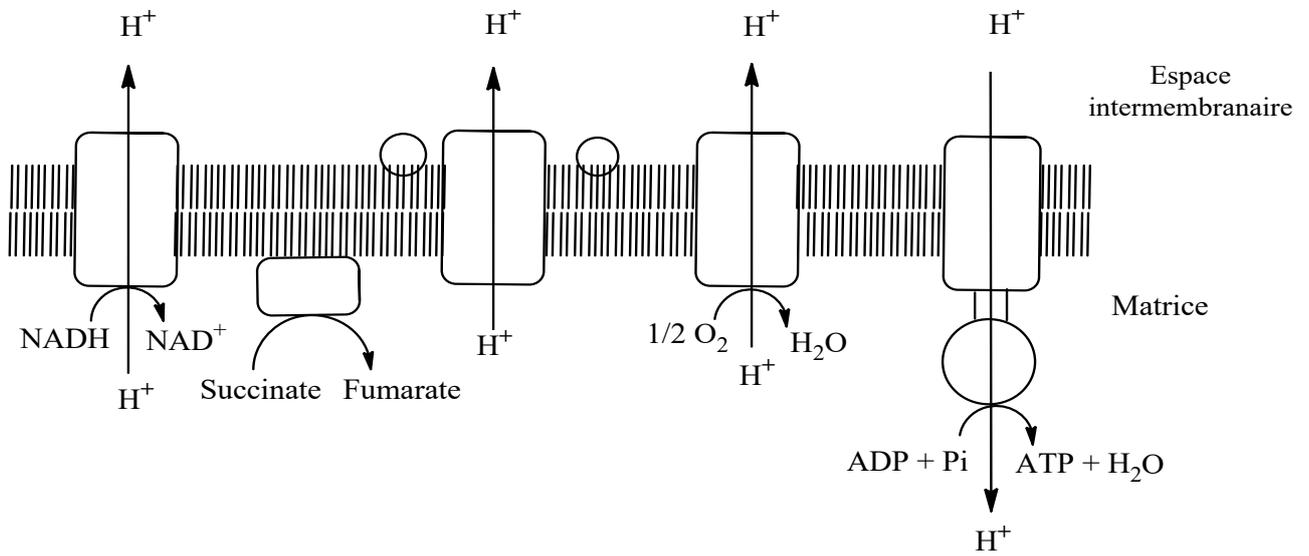


Figure III.2 : Représentation schématique d'une partie de la chaîne respiratoire [11].

1. Espèces réactives d'oxygène

Tableau III.1 : Les principales espèces réactivées de l'oxygène.

Espèces réactives	Réaction de formation	Principale réaction	Références
Radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$	En présence de rayonnements, de métaux ou d'enzymes, le dioxygène O_2 est capable de capter un électron pour donner le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ qui est un radical modérément réactif [161].	- Catalyseur de la réaction de Haber-Weiss Catalysée par le Fe^{3+} , qui traduit la formation de radicaux hydroxyles OH^{\bullet} lors de la réduction de H_2O_2 - Réaction d' $O_2^{\bullet-}$ avec le monoxyde d'azote radicalaire NO^{\bullet} qui donne naissance au peroxydazote $OONO^{\bullet}$ [162].	[161] [162]
Peroxyde d'hydrogène H_2O_2	- Le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ est le substrat des superoxyde dismutases (SOD), qui le transforment en eau oxygénée H_2O_2 [163].	- Formation du radical hydroxyl ; inactivation d'enzymes ; oxydation de biomolécules [164].	[163] [164]
Radical hydroxyl OH^{\bullet} : L'oxydant le plus Puissant des ERO	- L'eau oxygénée H_2O_2 peut avoir plusieurs destinées. En présence de métaux, en particulier fer Fe^{++} , elle est transformée en radical hydroxyl OH^{\bullet} par la réaction de Fenton [161]. - L'eau oxygénée peut aussi subir des réactions de détoxication catalysées par la catalase, la glutathion peroxydase ou les peroxyrédoxines. [165].	- Abstraction de l'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols [165].	[161] [165]
Oxygène singulet 1O_2	- Formé par des réactions chimiques privilégiées, comme par exemple : $H_2O_2 + ClO \longrightarrow H_2O + Cl^{\bullet} + ^1O_2$	- Réaction avec les doubles liaisons, formation de peroxyde, décomposition des aminoacides et nucléotides.	

2. Rôle biologique des ERO

Les radicaux libres participent au fonctionnement de :

- Certaines enzymes.
- A la transduction de signaux cellulaires.
- A la défense immunitaire contre les agents pathogènes.
- A la destruction par apoptose des cellules tumorales.
- A la régulation de la dilatation capillaire.
- Au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire.
- A la fécondation de l'ovule.
- A la régulation des gènes [17].
- A la production énergétique.
- Au règlement de la croissance des cellules [18] [19].

2.1. Les propriétés de l'anion superoxyde

- ✓ L'anion superoxyde est issu de la réduction mono électrique d'une molécule de dioxygène. Il est donc le premier ERO produit dans une situation de stress oxydant.
- ✓ La demi-vie de l'anion superoxyde est plutôt longue : Elle est mille fois supérieure à celle du radical hydroxyle par exemple, il peut diffuser de son lieu de production.
- ✓ La réaction de formation de l'anion superoxyde a une constante de vitesse faible (inférieure à $10^2 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$) comme toutes les réactions dans lesquelles l'anion superoxyde est impliqué. En effet, il s'agit du radical le moins réactif vis-à-vis des substrats organiques.
- ✓ Possède une affinité particulière pour certains substrats : Le cytochrome c (plus précisément l'ion Fe^{3+}), la vitamine C et la Super Oxyde Dismutase (SOD).

- ✓ La toxicité de l'anion superoxyde réside surtout dans sa capacité à entretenir les réactions radicalaires en chaîne comme la lipoperoxydation [20].

3. Les cibles des ERO et des ERA

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme, les ERO Formés en trop grande quantité, deviennent «pathologiques» en activant l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion. En outre, leur nature instable les rend très réactifs vis-à-vis de substrats biologiques et capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies [21].

Ces espèces s'attaquent à la plupart des molécules organiques et inorganiques présentes dans les cellules, parmi lesquelles l'ADN, les protéines, les lipides, les acides aminés, les sucres et les métaux [22] (**Figure III.3**).

En touchant donc à l'ensemble des tissus et des métabolismes, le stress oxydant contribue au développement d'un grand nombre de pathologies comme les cancers, les maladies cardiovasculaires ou cérébro-vasculaires (**Figure III.4**) [23] [24] [25].

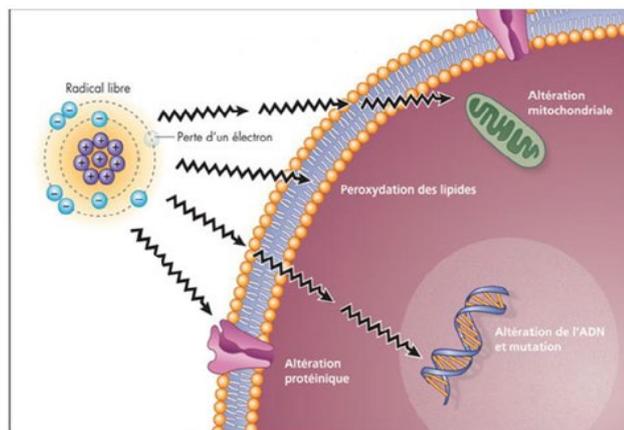


Figure III.3 : Les cibles des ERO et ERA.

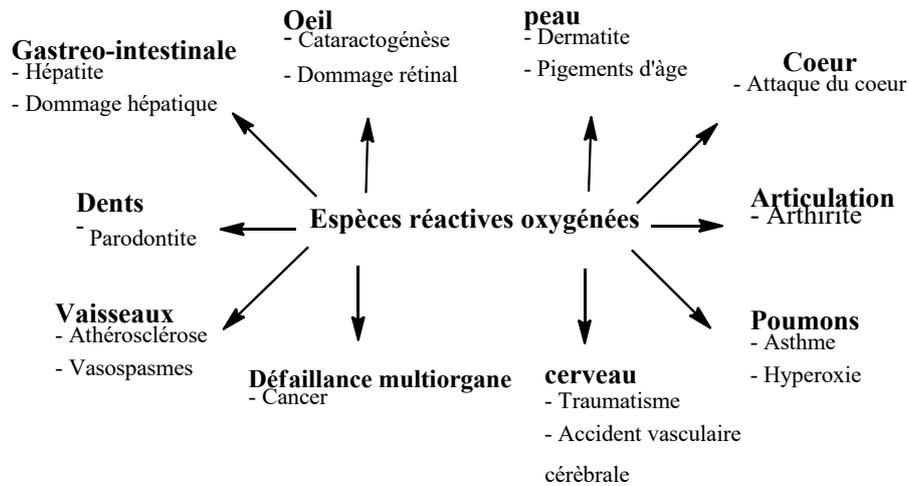


Figure III.4 : Organes cibles du stress oxydatif.

3.1. L'acide désoxyribonucléique ou ADN

L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA. La guanine, par exemple, peut réagir avec OH^\bullet pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement [23].

3.2. Les protéines

Les attaques radicalaires générées par les ROS affectent aussi les protéines, parmi lesquelles les protéines plasmatiques sont les plus exposées. Elles peuvent être attaquées par les radicaux libres même en présence de concentrations très élevées en antioxydants, alors que dans les mêmes conditions, le processus de peroxydation lipidique est grandement atténué [26]. Les ROS agissent sur les protéines par le biais des acides aminés les plus sensibles au stress oxydant tels que la lysine, l'arginine, la cystéine, la méthionine, l'histidine et la phénylalanine [27].

3.3. Les lipides membranaires

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (AGPI) : C'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxy (ROO^\bullet), suffisamment réactif pour arracher un H^+ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction (3). Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues [23].

3.4. Les lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) [28]. En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages [29].

4. Les principales sources des radicaux libres

Les ROS sont à l'origine de la génération d'un stress oxydant et peuvent provenir de sources endogènes ou exogènes (**Tableau III.2**).

4.1. Les sources exogènes

Tableau III.2 : Principales sources des ROS [30].

Source exogène
Tabagisme
Cytokine pro- inflammatoire
Chimiothérapie
Radiation ionisantes
Radiation UV
Toxique enviromementaux
Champs électriques
Xénobiotique pro –oxydant

4.2. Les sources endogènes

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.

Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent [2], parmi eux :

- **Fuite d'électrons dans la chaîne respiratoire mitochondriale**

Les êtres vivants trouvent leur énergie dans la respiration mitochondriale dont la dernière étape réduit par quatre électrons la molécule d'oxygène. Cependant, au contact entre l'oxygène et certaines protéines de la chaîne respiratoire, il advient une production connexe inévitable d'anions superoxydes. En effet, la chaîne respiratoire mitochondriale présente deux principales imperfections : Les électrons sont apportés un à un et un faible pourcentage d'oxygène est converti en EOR [20] (**Figure III.5**).

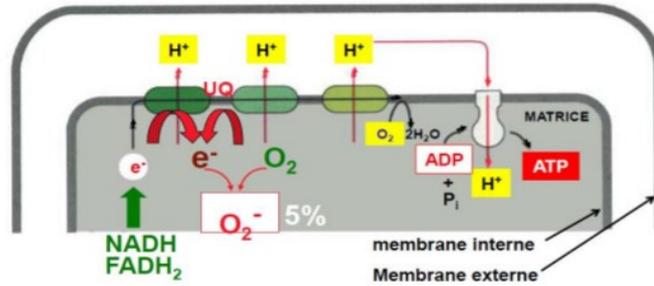


Figure III.5 : Production d'anion superoxyde dans la chaîne respiratoire mitochondriale.

▪ **Le catabolisme des bases puriques**

La principale enzyme du catabolisme des bases puriques est la xanthine oxydoréductase (XOR). Elle existe sous deux formes :

- La xanthine déshydrogénase qui prédomine in vivo.
- La xanthine oxydase présente majoritairement dans les cellules endothéliales.

Le passage d'une forme à l'autre est possible par l'oxydation de fonctions thiols (réversible) ou par protéolyse (irréversible). La XOR possède une chaîne interne de cofacteurs d'oxydoréduction ce qui rend son fonctionnement très complexe. La forme réduite de la XOR possède six électrons qui peuvent être progressivement transférés à l'oxygène ce qui produit du peroxyde d'hydrogène et des anions superoxydes [20] (**Figure III.6**).

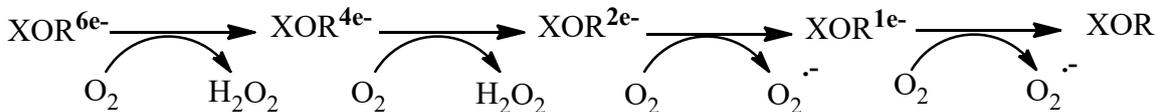


Figure III.6 : Oxydations successives de la XOR.

▪ Les cytochromes P450

Les cytochromes P450 sont des complexes enzymatiques situés dans la membrane du reticulum endoplasmique ou dans la membrane interne des mitochondries. Ils sont essentiellement présents dans le foie et participent au métabolisme des médicaments et autres xénobiotiques, de l'acide arachidonique, du cholestérol, de la vitamine D3, des eicosanoïdes. Ils catalysent l'oxydation de ces substrats par le dioxygène selon un cycle réactionnel qui a pour bilan la réaction suivante :



Les cytochromes P450 ont une structure héminique. Ils sont composés d'un groupement prosthétique (protoporphyrine IX identique à celle de l'hémoglobine et de la myoglobine) et d'une partie protéique (apoprotéine). Le groupement prosthétique fixe, par quatre liaisons, un atome de fer en son centre [31].

En l'absence de substrat, c'est une molécule d'eau qui est fixée à l'atome de fer (fer ferrique Fe^{3+}). Lorsqu'un substrat est présent (**Figure III.7**), la liaison se rompt et le fer accepte alors un électron provenant du NADPH (par l'intermédiaire d'une chaîne de transporteurs d'électrons : La NADPH-cytochrome P450 oxydoréductase). Le fer (fer ferreux Fe^{2+}) fixe alors une molécule de dioxygène. Ce complexe est en équilibre avec une forme isoélectrique dans laquelle le dioxygène récupère l'électron pour devenir anion superoxyde [30].

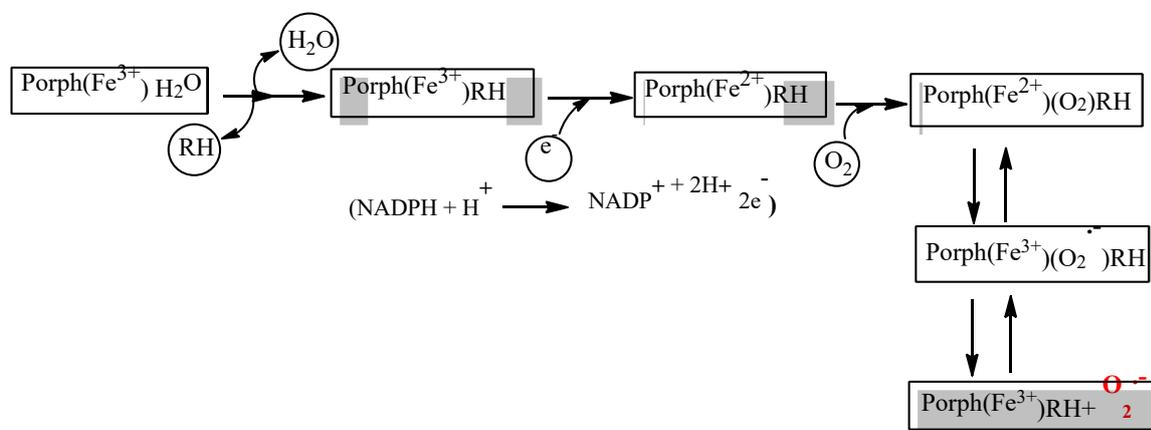


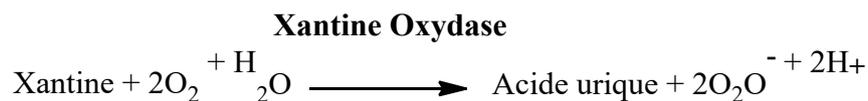
Figure III.7 : Production d'anion superoxyde par les cytochromes P450.

- **L'auto-oxydation**

L'auto-oxydation de molécules telles que la dopamine, l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones est une importante source de ROS [32]. Le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l'O₂^{•-}.

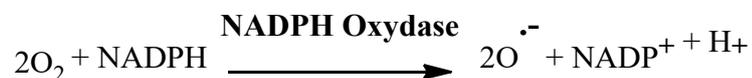
- **La xanthine oxydase**

La xanthine oxydase catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l'O₂^{•-} [33][34].



- **La NADPH oxydase**

La NADPH oxydase joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire et plus précisément dans la lutte contre les micro-organismes [35]. En effet, lors de la phagocytose, cette enzyme présente dans la membrane plasmique des phagocytes, catalyse la formation d'O₂^{•-}. Il existe aussi une NADPH oxydase dans des cellules non phagocytaires dont le rôle serait de réguler la croissance cellulaire [36].



- **Les peroxyosomes**

Les peroxyosomes sont une importante source de production d'H₂O₂ cellulaire. [37] Toutefois, l'H₂O₂ est utilisé comme substrat de la catalase peroxyosomale (enzyme antioxydant) afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Ces réactions

sont importantes dans le processus de détoxification présent dans le foie et le rein. Seule une faible quantité d' H_2O_2 produit au niveau du peroxydosome pourrait échapper à la Catalase.

Cependant, la principale source de ROS est la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire. Elle produirait en effet 90% des ROS cellulaires [38].

III. Les défenses Cellulaires antioxydantes

Pour contourner les dommages causés par les ERO, la cellule fait appel à des systèmes de défense, communément appelés antioxydants.

1. Les Antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif [2].

Le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive [39].

On distingue deux sources d'antioxydants : L'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes [40].

2. Les sources des antioxydants

2.1. Sources endogènes

2.1.1. Systèmes de défenses enzymatiques

Les systèmes de défense primaires diminuent la production de radicaux libres et comprennent différentes enzymes qui peuvent métaboliser les radicaux libres. Les plus connues sont la superoxyde dismutase (**SOD**), la glutathion peroxydase (**GSH**) et la **catalase**. Ces antioxydants endogènes participent donc à des réactions de détoxification de ROS [41] (**Figure 08**).

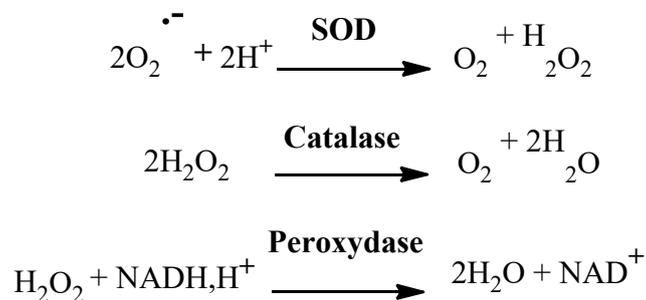


Figure 08 : Les principales réactions de détoxification [41].

❖ *Les superoxydes dismutases (SOD)*

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène [40].

❖ *Les glutathion peroxydases (GPxs)*

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés [40].

❖ *Le système thiorédoxine*

Le milieu intracellulaire est plutôt réducteur, les protéines contiennent des groupements thiols libres et les ponts disulfures sont rares. L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine qui sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif, elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique [40].

❖ *Les protéines*

Concernant les protéines, de nombreuses oxydoréductases catalysent la réduction au niveau de nombreux résidus aminés des protéines préalablement oxydés par les radicaux libres comme la tyrosine, l'histidine, la méthionine et la cystéine. Par exemple, le peptide méthionine sulfoxyde réductase (PMSR) comporte deux familles d'enzymes (MsrA et MsrB) susceptibles de réduire les différentes formes de la méthionine sulfoxyde, produit de l'oxydation de la méthionine. Son rôle dans la réparation de protéines oxydées a été confirmé dans de nombreuses études, notamment celle décrivant des lymphocytes humains sur exprimant cette enzyme et qui présentent une plus grande résistance au stress oxydant [41].

2.1.2. Système de défense non enzymatique

➤ *La bilirubine*

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique 1/1, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau. La bilirubine est capable de piéger ROO[•] et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires [40].

➤ *L'acide urique*

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux

(OH[•], ROO[•], NOO[•] ...). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C) [40].

➤ ***Le glutathion et les protéines-thiols***

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intra-cellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress.

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « **thiols** » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées [40].

2.2. Sources exogènes

2.2.1. Source alimentaire

➤ ***La vitamine C***

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des EOA (HO[•] ou O₂[•]). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : Contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer [40].

➤ ***La vitamine E***

D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' α - et le γ -tocophérol. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO[•]) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la

propagation de la peroxydation lipidique [40]. Les attaques radicalaires causées au niveau de l'ADN, empêchant la réplication de l'information génétique, sont contrées par l'action des ligases, de l'ADN polymérase I ainsi que ceux des endonucléases. Grâce à son caractère liposoluble, la vitamine E représente un bon système de défense contre la peroxydation au niveau des lipides [41].

➤ *Les polyphénols*

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement par l'apport en fruits et, dans une moindre mesure, en légumes et en céréales. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges et le vin rouge, sous forme de flavonoïdes dans les agrumes, l'huile de lin et sous forme d'épicatéchine dans le vin, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons et les algues brunes. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivres [40].

➤ *Les Caroténoïdes*

Sont des pigments liposolubles de couleur jaune, orangée à rouge. Ils regroupent plus de 600 molécules différentes, elles interagissent avec les radicaux libres par trois mécanismes, soit par l'abstraction d'hydrogène, transfert d'électron, et addition du radical.

Le β -carotène (provitamine A) possède la capacité de capter l'oxygène singulet et se trouve dans les légumes verts, la salade, les carottes, les épinards, l'abricot, la papaye, le melon, le potiron et d'autres fruits jaunes.

Le lycopène, pigment rouge extrait de la tomate, piège les radicaux libres avec une efficacité supérieure d'au moins 70 % à celle du β -carotène. Il présente un grand intérêt du fait de ses propriétés antimutagènes [42].

2.2.2. Les oligoéléments

Le sélénium

Joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx [43]. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx [44].

Cuivre

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine β -hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) [44].

Zinc

Est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'EOA induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu / Zn, (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. Les aliments les plus riches en zinc sont les viandes et les poissons, les céréales complètes et les légumes secs [44].

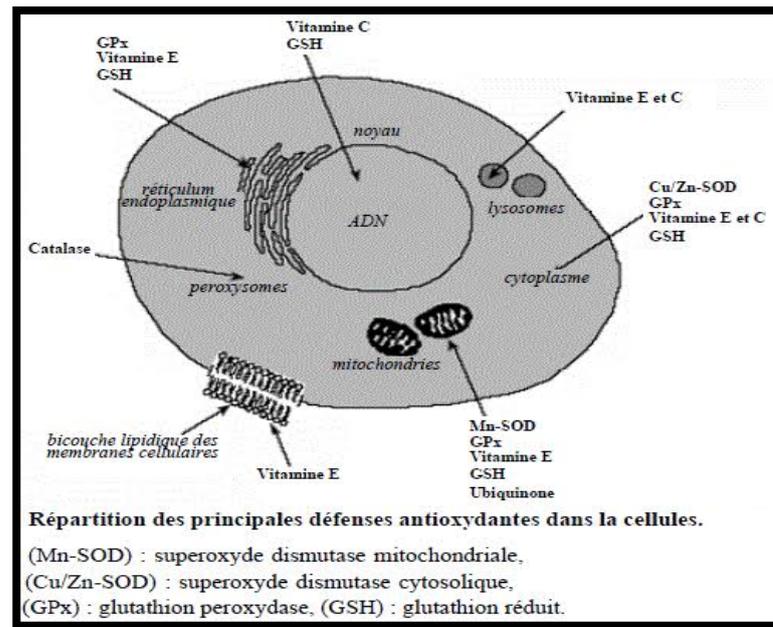


Figure III.9 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule.

2.2.3. Antioxydants naturels (source naturelle)

Les flavonoïdes

Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et anti virales, d'autres ont des effets protecteurs sur le foie. Les relations structure activités antioxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation [45].

Les tanins

Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides [46].

Les coumarines

Sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes [45].

Les Xanthines

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthonnes sont essentiellement : Leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase. La manguiférine est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions super oxydes [47]. **(Figure III.10)**

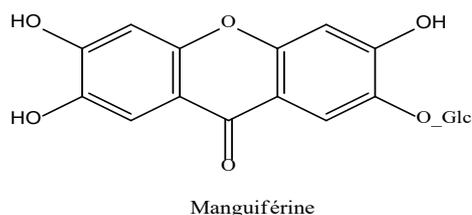


Figure III.10 : Structure chimique de manguiférine.

2.2.4. Médicaments

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes :

AINS : Le mécanisme d'action commun de tous les AINS est la diminution de la production de prostaglandines du fait de l'inhibition de la cyclo-oxygénase.

Antihypertenseurs : Ils agissent en inhibant la réabsorption des ions Na^+ et Cl^- à différents niveaux.

Le probucol : Par exemple est un médicament qui en plus de ses effets reconnus dans la baisse de cholestérol, prévient l'athérogenèse en agissant comme antioxydant et en supprimant la modification oxydative des lipoprotéines de basse densité (LDL) [48].

IV. Stress oxydant et vieillissement

La mitochondrie a été désignée comme responsable du vieillissement cellulaire car elle est source des ERO mais est également leur cible préférentielle subissant ainsi toutes leurs actions délétères. Elles accumulent les mutations sur l'ADN mitochondrial ce qui altère leur morphologie, leur fonctionnement et empêche leur renouvellement.

Au sein d'un organisme âgé, le taux de mutations est plus élevé. Le fonctionnement des phosphorylations oxydatives est altéré au sein des mitochondries ce qui entraîne une surproduction d'ERO. Ces derniers agissent sur l'ADN mitochondrial et provoquent des mutations ce qui enclenche un cercle vicieux et participe au vieillissement cellulaire [49].

Références bibliographiques

- [1] I. TEFIANI, « Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits d'algue verte: *Ulva linza* », PhD Thesis.
- [2] I.-F. Palici, « Valorisation des activités biologiques de certaines espèces végétales sahariennes nord-africaines », PhD Thesis, Bordeaux, 2016.
- [3] O. Sergent, B. Griffon, P. Cillard, et J. Cillard, « Alcool et stress oxydatif », *Pathologie Biologie*, vol. 49, n° 9, p. 689-695, janv. 2001, doi: 10.1016/S0369-8114(01)00244-9.
- [4] H. D. Choi, J. H. Kim, M. J. Chang, Y. Kyu-Youn, et W. G. Shin, « Effects of astaxanthin on oxidative stress in overweight and obese adults », *Phytotherapy Research*, vol. 25, n° 12, p. 1813-1818, 2011.
- [5] M. Goto *et al.*, « A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine », *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 45, n° 9, p. 1318-1325, 2008.
- [6] H. Milane, « La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques », PhD Thesis, Strasbourg 1, 2004.
- [7] « Biochimie métabolique. 2e édition ». <https://www.editions-ellipses.fr/accueil/1748-biochimie-metabolique-2e-edition-9782729839727.html> (consulté le août 25, 2020).
- [8] C. Haton, « Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale », *Physiologie Physiopathologie*, 2005.
- [9] D. Serteyn *et al.*, « La nature chimique et la réactivité de l'oxygène », in *Annales de médecine vétérinaire*, 2002, vol. 146, n° 3, p. 137-153.
- [10] J. R. Roede et D. P. Jones, « Reactive species and mitochondrial dysfunction: Mechanistic significance of 4-hydroxynonenal », *Environmental and molecular mutagenesis*, vol. 51, n° 5, p. 380-390, 2010.
- [11] E. Cadenas et K. J. Davies, « Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging », *Free radical biology and medicine*, vol. 29, n° 3-4, p. 222-230, 2000.
- [12] M. Gardès-Albert et D. Jore, « Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène », *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Paris: Lavoisier, p. 1-23, 2005.
- [13] T. W. Stief, « The physiology and pharmacology of singlet oxygen », *Medical Hypotheses*, vol. 60, n° 4, p. 567-572, 2003.
- [14] Y. Morel et R. Barouki, « Repression of gene expression by oxidative stress », *Biochemical Journal*, vol. 342, n° 3, p. 481-496, 1999.
- [15] N. M. Karp, « Immunizing compositions comprising nucleic acids encoding the HIV-1 matrix protein myristate binding site », mai 18, 2010.

- [16] A. Roussel, J. Neve, I. Hinnering, J. Delattre, J. L. Beaudoux, et D. Bonnefont-Rousselot, « Antioxydants et nutrition », *Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques*, p. 261–280, 2005.
- [17] A. Favier, « Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique », *Actualité chimique*, n° 11/12, p. 108–117, 2003.
- [18] O. Touafek, « Etude phytochimique de plantes médicinales du Nord et du Sud algériens », 2010.
- [19] A. Marfak, « Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides », *Université de LIMOGES*, 2003.
- [20] M. Mongens, « Origine et conséquences du stress oxydant », PhD Thesis, 2013.
- [21] J. Haleng, J. Pincemail, J.-O. Defraigne, C. Charlier, et J.-P. Chapelle, « Le stress oxydant », *Revue médicale de Liège*, vol. 62, n° 10, p. 628–38, 2007.
- [22] R. A. Jacob, « The integrated antioxidant system », *Nutrition research*, vol. 15, n° 5, p. 755–766, 1995.
- [23] H. Sies *et al.*, « Oxidative stress: damage to intact cells and organs », *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, vol. 311, n° 1152, p. 617–631, déc. 1985, doi: 10.1098/rstb.1985.0168.
- [24] E. R. Stadtman et B. S. Berlett, « Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease », *Drug metabolism reviews*, vol. 30, n° 2, p. 225–243, 1998.
- [25] S. Pennathur et J. W. Heinecke, « Mechanisms for oxidative stress in diabetic cardiovascular disease », *Antioxidants & redox signaling*, vol. 9, n° 7, p. 955–969, 2007.
- [26] R. T. Dean, J. V. Hunt, A. J. Grant, Y. Yamamoto, et E. Niki, « Free radical damage to proteins: the influence of the relative localization of radical generation, antioxidants, and target proteins », *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 11, n° 2, p. 161–168, 1991.
- [27] J. Baraka-Vidot, « Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion – Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée », phdthesis, Université de la Réunion, 2014.
- [28] K. Nakajima, T. Nakano, et A. Tanaka, « The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma », *Clinica Chimica Acta*, vol. 367, n° 1-2, p. 36–47, 2006.
- [29] A. F. Saad, G. Virella, C. Chassereau, R. J. Boackle, et M. F. Lopes-Virella, « OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages », *Journal of lipid research*, vol. 47, n° 9, p. 1975–1983, 2006.
- [30] Z. Ďuračková et A. Gvozdjaková, « Oxidants, antioxidants and oxidative stress », in *Mitochondrial medicine*, Springer, 2008, p. 19–54.
- [31] T. D. Porter et M. J. Coon, « Cytochrome P-450. Multiplicity of isoforms, substrates, and catalytic and regulatory mechanisms. », *Journal of Biological Chemistry*, vol. 266, n° 21, p. 13469–13472, 1991.

- [32] B. A. Freeman et J. D. Crapo, « Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria. », *Journal of Biological Chemistry*, vol. 256, n° 21, p. 10986–10992, 1981.
- [33] T. G. McKelvey, M. E. Hollwarth, D. N. Granger, T. D. Engerson, U. Landler, et H. P. Jones, « Mechanisms of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase in ischemic rat liver and kidney », *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 254, n° 5, p. G753–G760, 1988.
- [34] D. A. Parks, T. K. Williams, et J. S. Beckman, « Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation », *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 254, n° 5, p. G768–G774, 1988.
- [35] B. M. Babior, « NADPH oxidase: an update », *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, vol. 93, n° 5, p. 1464–1476, 1999.
- [36] K.-H. Krause, « Tissue distribution and putative physiological function of NOX family NADPH oxidases. », *Japanese journal of infectious diseases*, vol. 57, n° 5, p. S28, 2004.
- [37] A. Boveris, N. Oshino, et B. Chance, « The cellular production of hydrogen peroxide », *Biochemical Journal*, vol. 128, n° 3, p. 617–630, 1972.
- [38] R. S. Balaban, S. Nemoto, et T. Finkel, « Mitochondria, oxidants, and aging », *cell*, vol. 120, n° 4, p. 483–495, 2005.
- [39] P.-J. Park, W.-K. Jung, K.-S. Nam, F. Shahidi, et S.-K. Kim, « Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk », *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 78, n° 6, p. 651–656, 2001.
- [40] A. Hozawa, D. R. Jacobs Jr, M. W. Steffes, M. D. Gross, L. M. Steffen, et D.-H. Lee, « Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) study », *Clinical chemistry*, vol. 53, n° 3, p. 447–455, 2007.
- [41] J. Baraka-Vidot, « Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion–Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée », PhD Thesis, 2014.
- [42] S. Ahamet, « Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L.(Balanitaceae) », PhD Thesis, Thèse de pharmacie, Bamako, 2003.
- [43] G. E. Arteel et H. Sies, « The biochemistry of selenium and the glutathione system », *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 10, n° 4, p. 153–158, 2001.
- [44] P. H. Langsjoen et A. M. Langsjoen, « The clinical use of HMG CoA-reductase inhibitors and the associated depletion of coenzyme Q10. A review of animal and human publications », *Biofactors*, vol. 18, n° 1-4, p. 101–111, 2003.
- [45] R. Boukaabache, « Recherche et détermination des métabolites secondaires de plantes issues de la famille des fabacées ».
- [46] A. Cavin, « Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinospora crispa* (Menispermaceae) *Merremia emarginata* (Convolvulaceae) et *Orophea enneandra* (Annonaceae). », PhD Thesis, Université de Lausanne, Faculté des sciences, 1999.

- [47] R. SANOGO, A. MAIGA, et D. DIALLO, « ACTIVITES ANALGESIQUE ET ANTI-INFLAMMATOIRE DES EXTRAITS DE MAYTENUS SENEGALENSIS, STEREOSPERMUM KUNTRIANUM ET TRICRILIA EMETICA UTILISEES DANS LE TRAITEMENT TRADITIONNEL DES DYSMENORRHEES AU MALI », *Pharm Med Trad Afr*, vol. 14, p. 123–36, 2006.
- [48] A. Diallo, « Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd.(Myrtaceae) », *PhD. of the University Bamako, Mali*, p. 38–47, 2005.
- [49] M. Mongens, *Origine et conséquences du stress oxydant*. 2013.

Chapitre IV

Section expérimentale

La phytochimie a pour but principal de trouver de nouvelles voies d'applications dans les domaines de la pharmacie, de la cosmétologie et autres, en se basant sur la recherche et l'isolement de nouvelles molécules naturelles pouvant servir de modèles pour la synthèse de médicaments et produits cosmétiques. Cependant il est important de sélectionner les plantes à étudiées soigneusement.

I. But de travail

L'objectif de cette étude réalisée au sein de laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie (CRBT) est de mettre en évidence les différentes activités biologiques de quelques extraits préparés à partir de la partie aérienne (tige, fleurs, feuilles) de notre matériel végétal.

II. Critère de choix de notre matériel végétal

- Le peu d'études phytochimiques ou biologiques sur cette espèce jusqu'à ce jour.
- Les espèces liées à ce matériel végétal sont connues par la richesse et la diversité en métabolites secondaires
- Faire valoir la flore algérienne qui reste jusqu'à présent très mystérieuse

III. Travail expérimental

1. Matériel végétal

Notre étude est portée sur la plante : *Galatella Linosyris*



Figure IV.1 : L'espèce *Galatella Linosyris*.

2. Récolte de la plante du genre *Galatella linosyris*

Parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) d'*Aster linosyris* (L.) autrement appelé. (= *Galatella linosyris* (L.) Rechb. F.) Famille des astéracées ont été récoltés à Ahnif (province de Bouira en Algérie), 336 m au-dessus du niveau de la mer, N 36 ° 19'40 ", E 04 ° 15'53" en novembre 2019. L'identification taxonomique du matériel végétal a été confirmée par le Dr Khellaf Rebbas au Département de Biologie, Université de M'sila, utilisant la nouvelle Flore d'Algérie (Quezel et Santa 1962), et un spécimen d'herbier a été archivé à l'herbier de l'Université de M'sila.

3. Réactifs chimiques

- Eau (H₂O).
- Methanol (CH₃OH).
- Chloroforme (CHCl₃).
- Acétate d'éthyl (C₄H₈O₂).
- Butanol (C₄H₁₀O).

4. Matériels de laboratoire

Tableau IV.1 : Matériels de laboratoire.

Balance de précision	Rotavapeur sous pression	Micropipette
Ans de platine	Entonnoir	Papier Filtre
Ballon	Bécher	Erlenmeyer
Ampoule à décanter + support	Verres de montre	Hotte

5. Préparation de matériel végétal

5.1. Méthode d'extraction

5.1.1. Séchage et Broyage

❖ Séchage

Les parties aériennes fraîchement récoltées ont été séchées à l'air libre à l'abri de l'humidité. L'intérêt du séchage est d'éviter tout effet nocif dû à l'excès d'humidité qui favorise

la fermentation microbienne de feuillage et le développement des moisissures. Il empêche aussi l'action de polyphénols-oxydases et de glycosidases qui dégraderaient les composés phénoliques (Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003). Le matériel végétal séché a été ensuite broyé par un broyeur électrique [1].

❖ Broyage

Les organes sélectionnés, ont été broyés mécaniquement à l'aide d'un mortier, pour obtenir à la fin une poudre fine qui sert à la préparation des extraits, après broyage, la poudre de plante a été conservée dans des flacons en verre afin de garder leur couleur et principalement leur effet thérapeutique, les flacons ont été stockés soigneusement dans un endroit jusqu'à leur analyse.

6. Extraction des métabolites secondaires par macération

6.1. Principe

La macération est une méthode d'extraction solide-liquide. Elle consiste à tremper une substance (matière végétale) dans un solvant froid ou chaud, pour extraire les molécules solides ou liquides présentes dans une substance naturelle par sa dissolution dans ce solvant, à température ambiante sous agitation ou pas [2].

6.2. Objectif

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules chimiques contenants dans la partie aérienne de la plante *Galatella Linosyris*, en utilisant des solvants organiques sélectifs qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

6.3. Protocol extractif

Une quantité de 67g de matériel végétal broyé est macérée dans 100mL du système solvant (Méthanol/Eau) (70/30, V/V) pendant 48h à température ambiante (**Figure IV.2**), le premier mélange est récupéré après filtration sur tissu et papier Whatman n°1 dans un erlenmeyer (**Figure IV.3** et **IV.4**). L'étape de macération a été renouvelée deux fois successives sur le résidu récupéré pendant deux jours, en changeant chaque 24h le solvant pour éviter sa saturation en métabolites et permettre la solubilisation maximum des métabolites secondaires. A la fin les trois filtras sont réunis puis conservés pour donner l'extrait brut.

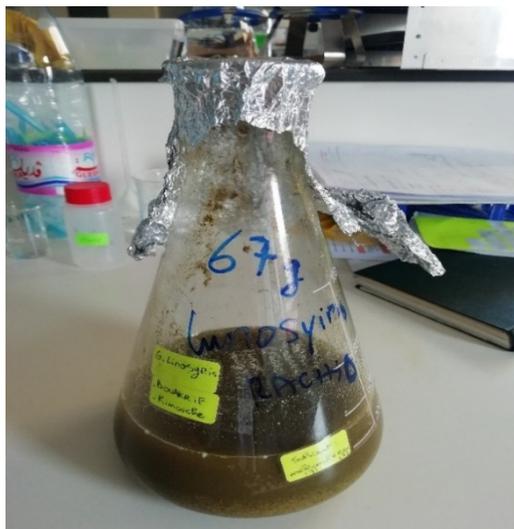


Figure IV.2 : Macération des parties aériennes.



Figure IV.3 : Réalisation de la filtration.

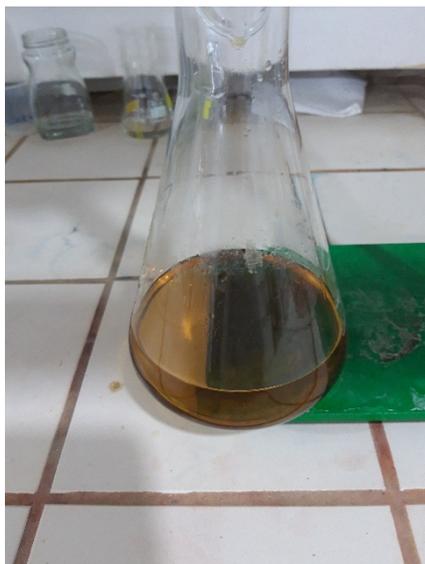


Figure IV.4 : Filtrat obtenu.

7. Evaporisation

L'extrait hydrométhanolique est ensuite évaporé à sec sous pression réduite à 37°C par un évaporateur rotatif (rotavapeur) pour finalement récupérer l'extrait presque sec, le reste du solvant est laissé s'évaporer à l'air libre pour avoir l'extrait sec dépourvu de toutes traces d'eau ou du méthanol (**Figure IV.5 et IV.6**).



Figure IV.5 : Evaporation de l'extrait hydrométhanolique.



Figure IV.6 : Extrait brut obtenu.

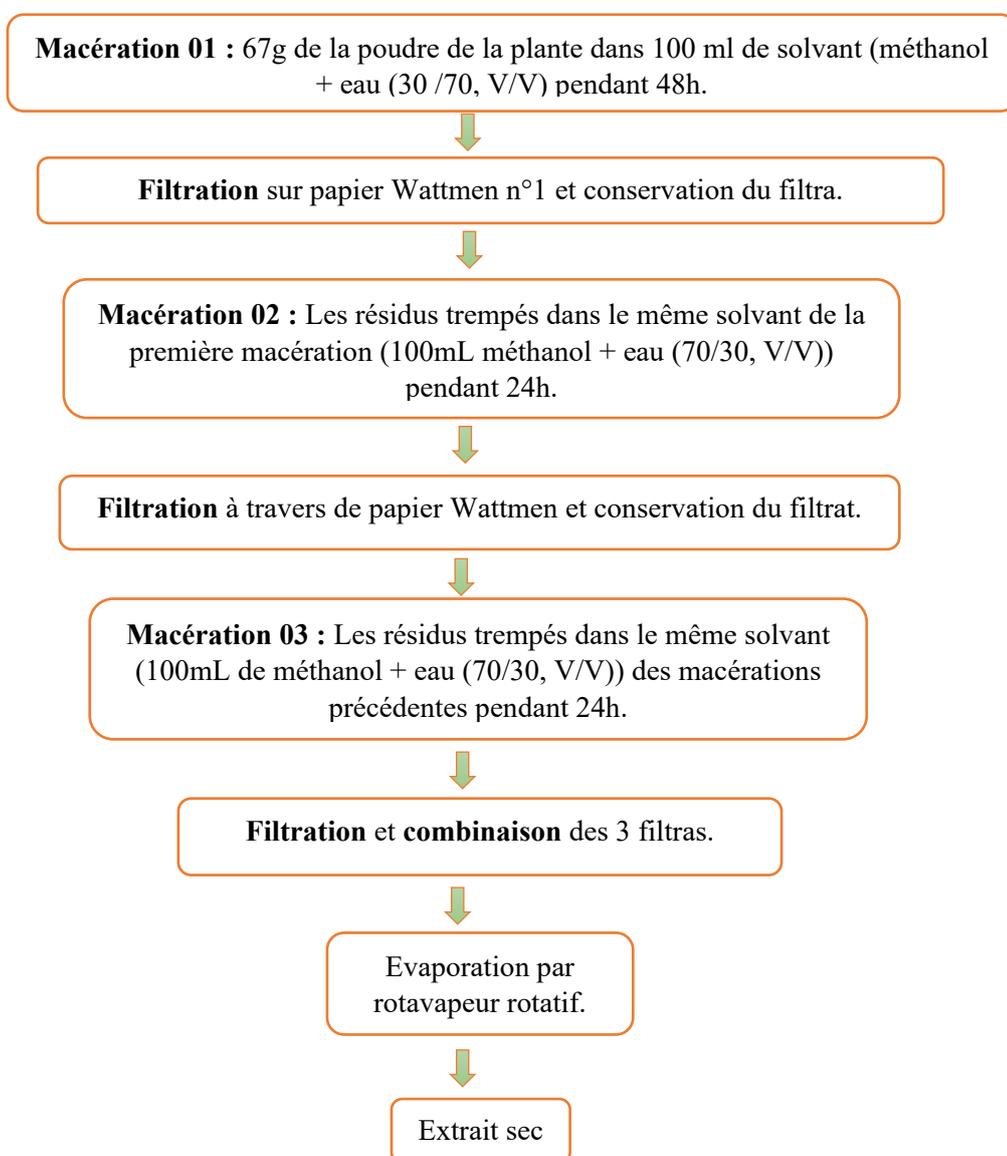


Figure IV.7 : Les étapes d'extraction des métabolites secondaires.

8. Préparation des extraits par décantation

L'extrait brut subit des extractions successives de type liquide –liquide en utilisant des solvants de polarité croissante (Chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol).

8.1. Principe de la décantation

C'est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles, sans transfert de chaleur. Cette technique permet d'extraire une substance dissoute dans un solvant, à l'aide d'un autre solvant, appelé solvant d'extraction, dans lequel elle est plus soluble. Le solvant initial et le solvant d'extraction ne doivent pas être miscibles. L'extraction liquide-liquide est réalisée par le contact intime du solvant avec la solution dans des appareils destinés à mélanger les deux phases (ampoules, colonnes, mélangeurs).

8.2. Protocol de décantation

La quantité de résidu sec est traitée par 100mL d'eau distillée et laissée pendant 24h pour la solubilisation proportionnelle des composés phénoliques. Ensuite une filtration est imposée pour éliminer les substances non phénoliques (impuretés, granules, graisses...etc) et on obtient à la fin un extrait aqueux. Celui-ci est soumis à une série d'extraction sélective liquide-liquide dans l'ampoule à décanter par des solvants organiques de polarité croissante, on a commencé avec le Chloroforme (moyennement apolaire), ensuite l'acétate d'éthyle (peu apolaire), enfin le n-Butanol (polaire).

✓ **Extrait de Chloroforme (EC)**

La phase aqueuse est traitée par le chloroforme à 3 reprises (3x100mL) :

EC1 : Dans une ampoule à décanter on met 100mL de chloroforme avec l'extrait aqueux, on applique une forte agitation pour bien mélanger les deux solvants (solvant initial – solvant d'extraction), et on obtient à la fin d'une bonne séparation des solvants, deux phases (phase aqueuse et phase organique numéro 1), (**Figure IV.8**).

EC2 : On ajoute une deuxième quantité de 100mL chloroforme avec la phase aqueuse, après une bonne agitation et séparation des deux solvants on récupère la phase organique numéro 2.

EC3 : Pour la troisième et dernière fois, on a répété la même opération. 100mL de chloroforme avec la phase aqueuse, ensuite une forte agitation est appliquée, on laisse l'ampoule sur le support pour une bonne séparation et on obtient à la fin la phase organique numéro 3.



Figure IV.8 : Extraction liquide-liquide par le Chloroforme.

✓ **Extrait d'acétate d'éthyle (EA)**

La phase aqueuse est traitée par l'acétate d'éthyle à 3 reprises (3x100mL) :

EC1 : Dans une ampoule à décanter on met 100mL de d'acétate d'éthyle avec l'extrait aqueux, on applique une forte agitation pour bien mélanger les deux solvants (solvant initial – solvant d'extraction), et on obtient à la fin d'une bonne séparation des solvants, deux phases (phase aqueuse et phase organique numéro 1), (**Figure IV.9**).

EC2 : On ajoute une deuxième quantité de 100mL acétate d'éthyle avec la phase aqueuse, après une bonne agitation et séparation des deux solvants on récupère la phase organique numéro 2.

EC3 : Pour la troisième et dernière fois, on a répété la même opération. 100mL d'acétate d'éthyle avec la phase aqueuse, ensuite une forte agitation est appliquée, on laisse l'ampoule sur le support pour une bonne séparation et on obtient à la fin la phase organique numéro 3.



Figure IV.9 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.

✓ **Extrait de n-Butanol (EB)**

La phase aqueuse est traitée par le n-Butanol à 3 reprises (3x100mL) :

EC1 : Dans une ampoule à décanter on met 100mL de n-butanol avec l'extrait aqueux, on applique une forte agitation pour bien mélanger les deux solvants (solvant initial – solvant d'extraction), et on obtient à la fin d'une bonne séparation des solvants, deux phases (phase aqueuse et phase organique numéro 1)

EC2 : On ajoute une deuxième quantité de 100mL n-butanol avec la phase aqueuse, après une bonne agitation et séparation des deux solvants on récupère la phase organique numéro 2.

EC3 : Pour la troisième et dernière fois, on a répété la même opération. 100mL de *n*-butanol avec la phase aqueuse, ensuite une forte agitation est appliquée, on laisse l'ampoule sur le support pour une bonne séparation et on obtient à la fin la phase organique numéro 3.

Les trois phases organiques de chaque extraction sont réunies pour passer à l'évaporation et la récupération de la phase aqueuse.

8.3. Evaporation

Les trois phases organiques de chaque extraction (chloroforme, acétate d'éthyle, *n*-butanol) sont soumis à une évaporation à sec sous pression réduite par le rotavapeur rotatif et le produit final de chaque extrait est récupéré sur les parois du ballon d'évaporation.

A la fin on a récupéré quatre fractions : Fraction chloroformique, fraction acétate d'éthyle, fraction *n*-butanolique, et une fraction aqueuse résiduelle. Les fractions sont conservées à température ambiante jusqu'à l'utilisation.

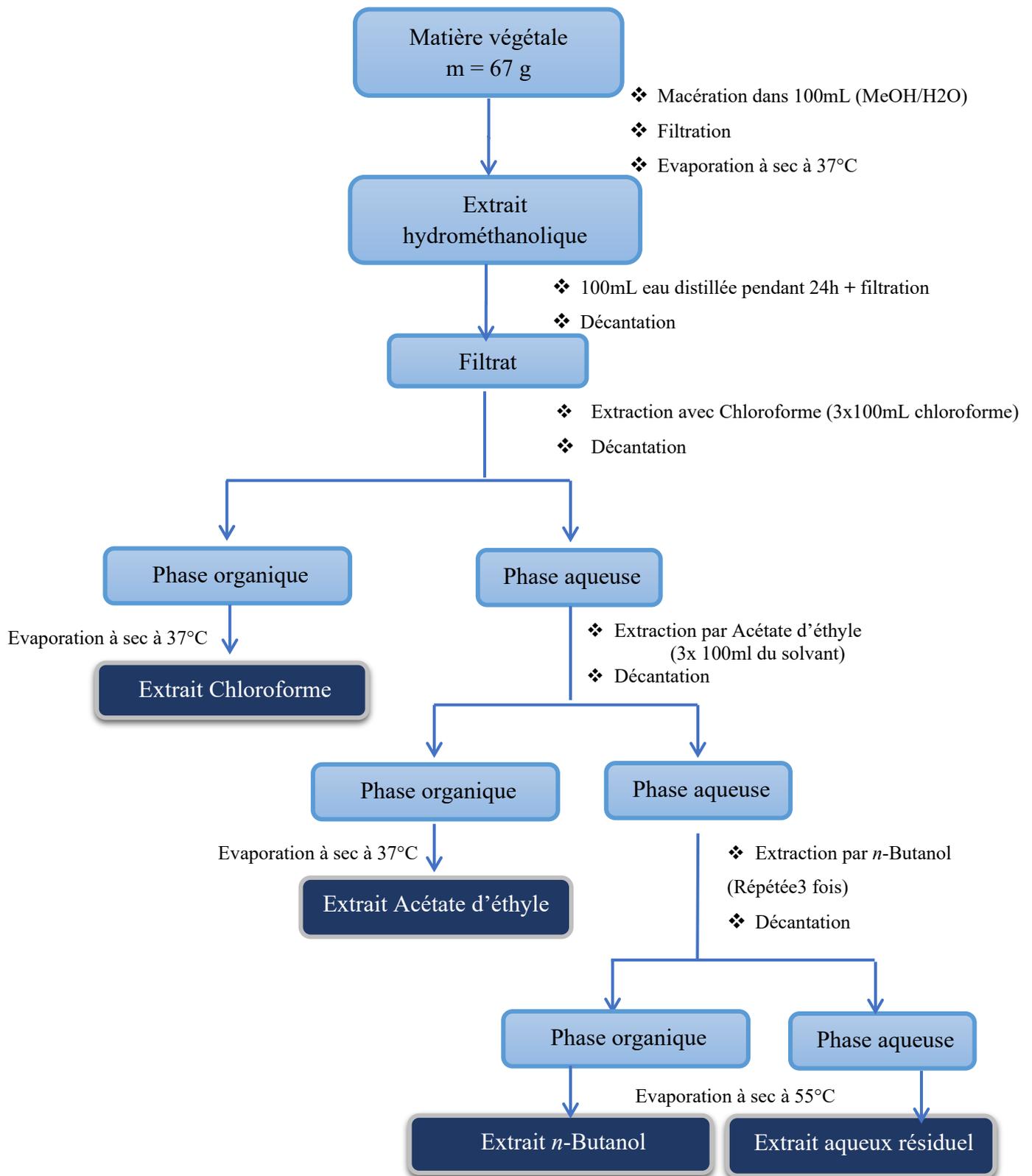


Figure IV.10 : Protocole d'extraction de la plante *Galatella linosyris*.

9. Les activités biologiques

9.1. Evaluation de l'activité antioxydante

9.1.1. Détermination de l'activité anti-radicalaire par piégeage du DPPH

Le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre, il se caractérise par une coloration violette en état oxydé et une coloration jaune en état réduit [3].

En présence de composés anti radicalaire, le radical DPPH est réduit et change de couleur envirant au jaune. Les absorbances mesurées à 515 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'extrait (**Figure IV.11**).

- **Protocole**

40 μ L de chacune des différentes concentrations des échantillons ont été incubées avec 160 μ L d'une solution méthanolique de DPPH (0,1mM) dans des microplaques à 96 puits. Un blanc a été préparé en remplaçant l'échantillon par le méthanol. Après une période d'incubation de 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 517 nm [4] [5]. La capacité de piéger le radical DPPH a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$(\%) \text{ d'inhibition} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{Control}}] \times 100$$

Les résultats ont été exprimés en valeur CI_{50} (μ g/mL) correspondant à la concentration d'inhibition de 50%.

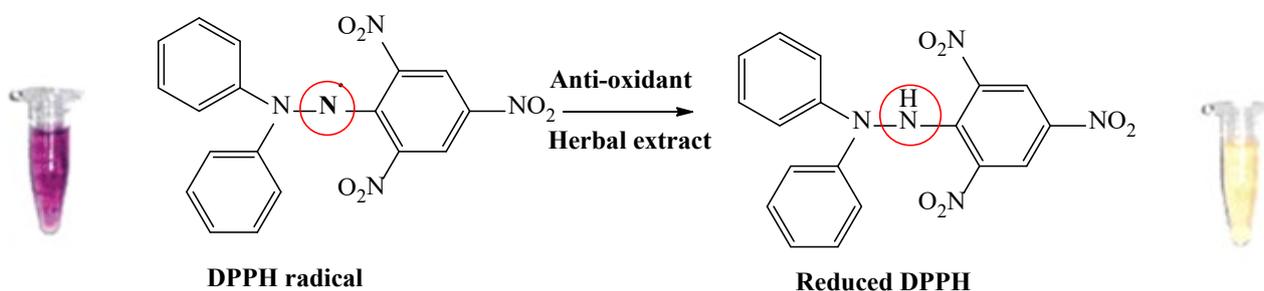


Figure IV.11 : La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH* [6].

9.1.2. Détermination de l'activité anti-radicalaire par piégeage de l'ABTS

Dans cette méthode, l'activité antioxydante des échantillons est déduite de leur capacité à inhiber le radical $ABTS^{\bullet+}$. L'obtention de ce radical cationique résulte du contact de l'ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) avec le persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleue. L'addition d'un antioxydant à une solution d' $ABTS^{\bullet+}$ entraîne la réduction de ce radical en $ABTS^+$ et conduisant ainsi à une décoloration et une diminution de l'absorbance à 734 nm [7] (**Figure IV.12**).

- **Protocole**

À partir de l'ABTS (7mM) et de persulfate de potassium (2,45mM), l' $ABTS^{\bullet+}$ a été produit. Les deux produits en solution aqueuse ont été mélangés et conservés à l'obscurité à la température ambiante pendant 12 à 16 heures. L'absorbance de la solution ainsi obtenue a été ajustée avec de l'eau pour obtenir une absorbance de $0,708 \pm 0,025$ à 734 nm. Ensuite, 160 μ L de solution $ABTS^{\bullet+}$ ont été ajoutés à 40 μ L de l'échantillon. Après 10 minutes, l'absorbance a été mesurée à 734 nm. La capacité de piéger le radical $ABTS^{\bullet+}$ a été calculée à l'aide de l'équation suivante : [7]

$$\text{(\% d'inhibition)} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{Control}}] \times 100$$

Les résultats ont été exprimés en valeur CI_{50} (μ g/mL) correspondant à la concentration d'inhibition de 50%.

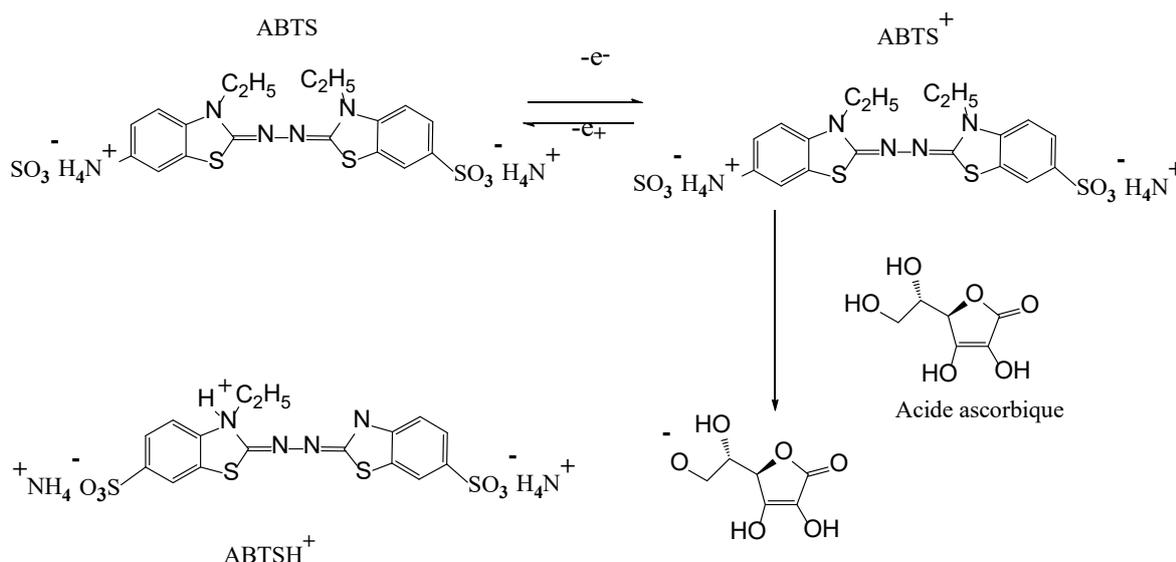


Figure IV.12 : Formation et piégeage du radical $ABTS^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de H^{\bullet} [8].

9.1.3. La chélation du fer ferreux

La ferrozine réagit avec les ions divalents pour former un complexe violet ou rouge très soluble dans l'eau. L'absorbance du complexe ferrozine- Fe^{2+} est maximale à 562 nm [9]. En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est perturbée aboutissant à une diminution de la couleur qui est suivie au spectrophotomètre.

- **Protocole**

La chélation du fer ferreux a été estimée selon la méthode de (Bourgouet *al.*, 2008). [8] 100 μ l d'extrait ont été initialement mélangés avec 50 μ l de $FeCl_2 (2H_2O)$ à 2mM et 100 μ l de la Ferrozine 5mM puis on ajoute 2,75 ml d'EDTA, le mélange est bien agité à l'aide d'un vortex puis laissé réagir pendant 10 min à température ambiante et à l'obscurité.

La lecture des absorbances est faite à une longueur d'onde de 562 nm. Le standard EDTA est utilisé comme chélateur de référence à une concentration de 0.005965 g/ml. Le pourcentage de chélation du fer est calculé selon l'équation suivante :

$$(\%) \text{ Chélation} = (\text{Abs control} - \text{Abs Ech} / \text{Abs C}) * 100$$

Abs C : Absorbance du contrôle.

Abs Ech : Absorbance d'échantillon.

9.1.4. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est basé principalement sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) suite à une donation d'électrons. En solution, cette forme réduite prend une couleur vert -bleue, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur [10] [11].

- **Protocole**

40 μL d'une solution du tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 50 μL de ferricyanure de potassium (1%) ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) ont été ajoutés à 10 μL d'échantillon à différentes concentrations. Après une incubation de 20 minutes à 50°C, 50 μL d'acide trichloroacétique (TCA) (10%), 40 μL d'eau distillée et 10 μL de chlorure ferrique (0,1%)(FeCl_3) ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm et les résultats ont été exprimés en $A_{0,50}(\mu\text{g}/\text{mL})$ [12] .

9.1.5. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

La méthode CUPRAC (cupric ion Reducing Antioxydant Capacity) est basée sur le suivie de l'absorbance à 450 nm d'un complexe entre néocuproïne et le cuivre (I), ce dernier est formé par la réduction du cuivre (II) en présence de la néocuproïne [13].

En effet, en présence d'un électron libéré par un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne ($\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$) est réduit et cette réaction est quantifié par la mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 450 nm [14] [15] (**Figure IV.13**).

- **Protocole**

40 μL d'extrait à différentes concentrations ont été mélangé avec 50 μL d'une solution de chlorure de cuivre (II) (10mM), 50 μL de solution alcoolique de néocuproïne (7,5mM) et 60 μL d'acétate d'ammonium (1 M, PH = 7,0). Après une heure, l'absorbance a été mesurée à 450 nm et les résultats ont été exprimés en $A_{0,50}(\mu\text{g}/\text{mL})$ correspondant à la concentration indiquant 0,50 absorbance [14].

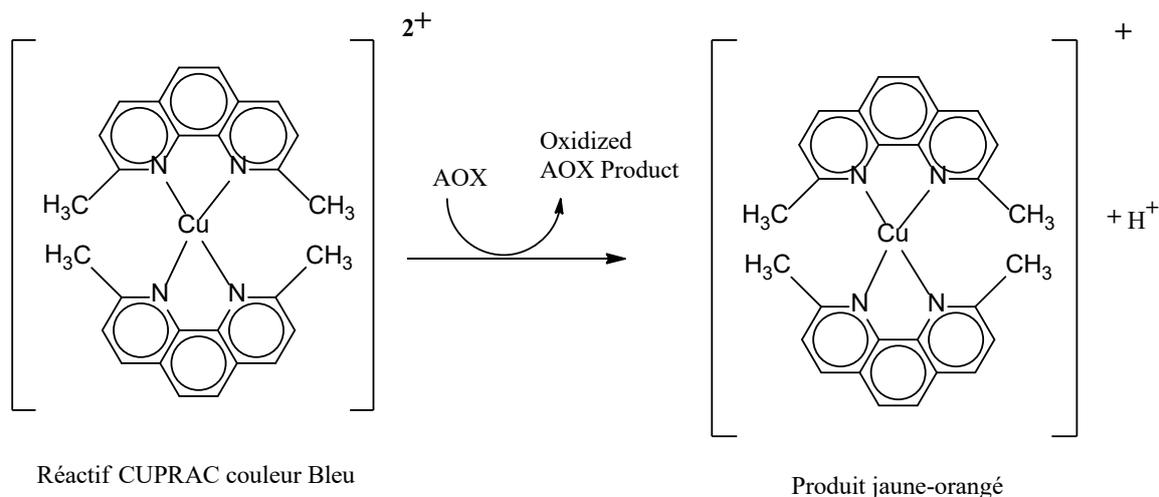


Figure IV.13 : Réduction du complexe chromogène Cu^{2+} _Nc.

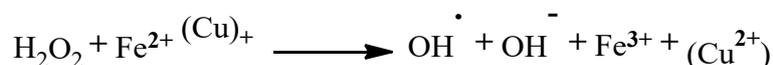
9.1.6. Test de piégeage du peroxyde d'hydrogène

Une solution de $20\mu\text{M}$ de peroxyde d'hydrogène est préparée dans le tampon phosphate. Un millilitre (1ml) extrait (fraction ou standard) à différentes concentrations dans le méthanol est additionné à 2ml solution PBS. L'absorbance est lue après 10min contre un blanc sans peroxyde d'hydrogène. Le pourcentage de piégeage (I%) est calculé par la formule suivante : [16]

$$I (\%) = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

9.1.7. Chélation des ions métalliques

Les métaux de transition, tels que les ions ferreux ou cuivrique, peuvent être responsables de la production du radical OH^\bullet par la réduction de H_2O_2 . Ces réactions peuvent se produire dans les cellules et constituent une source possible de stress oxydatif [13] [17]. Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de ces métaux de transition [18] [19]. Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante.



9.2. Evaluation de l'activité anti-acétylcholinestérase (anti-AChE)

9.2.1. Méthode utilisée

L'évaluation des activités anti-AChE d'un produit peut se réaliser selon plusieurs méthodes dont la plupart sont des méthodes colorimétriques telles que la méthode d'Ellman et la méthode bioautographique au Fast Blue B. Au cours de cette étude, nous avons choisi d'évaluer cette activité par le test d'Ellman [8].

9.2.2. Principe du test d'Ellman

Ce test est appelé aussi méthode de la détermination quantitative des peptides par Sulfhydryle (-SH). Il s'agit d'un protocole standard pour la détermination des thiols libres. Le test d'Ellman est basé sur le clivage de l'acétylthiocholine par l'AChE pour produire de la thiocholine. Cette dernière va réagir avec le 5,5'-dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un anion de couleur jaune (**Figure IV.14**). En présence d'un inhibiteur enzymatique, cette réaction permet d'étudier les paramètres cinétiques et par la suite de quantifier l'inhibition exprimée par son CI50 (concentration diminuant l'activité enzymatique de moitié) [8].

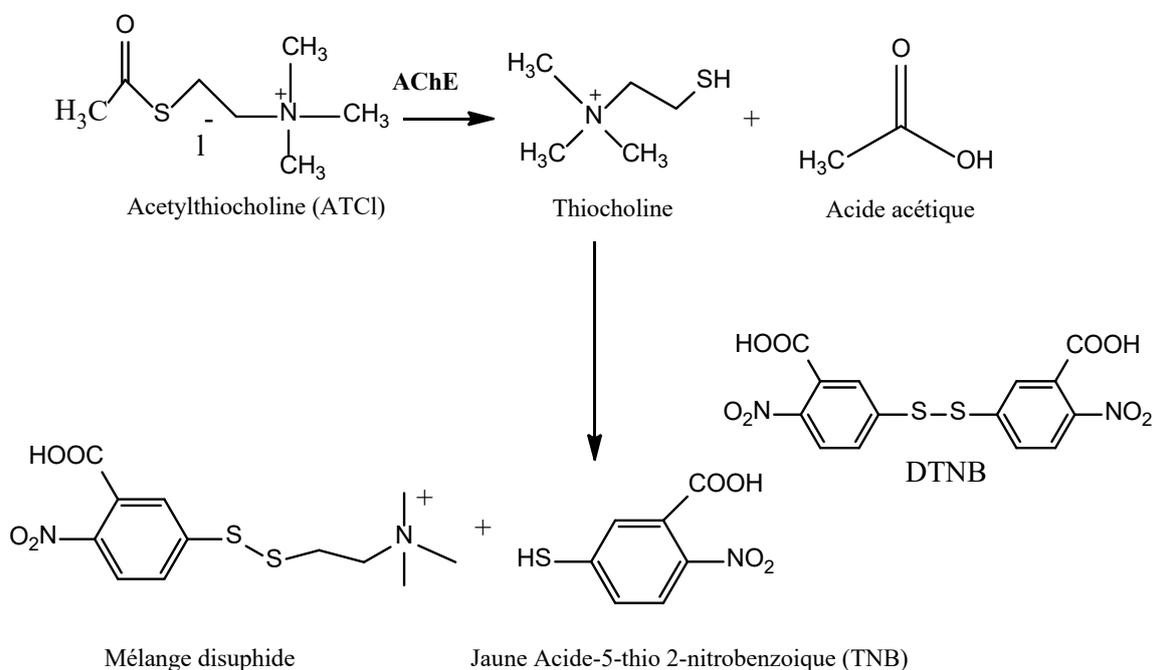


Figure IV.14 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman's [20].

9.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

9.3.1. Définitions des bactéries

Les bactéries (*Bacteria*) sont des micro-organismes vivants unicellulaires procaryotes. Elles mesurent quelques micromètres de long (généralement de 0,5 à 5 μm de longueur) et peuvent présenter différentes formes : Des formes sphériques (coques), des formes allongées ou en bâtonnets (bacilles) et des formes plus ou moins spiralées (spirilles).

Les bactéries sont ubiquitaires et sont présentes dans tous les types de biotopes : Sol, eau, air, sur les végétaux et les animaux...etc. Cependant, de nombreuses espèces bactériennes sont pathogènes et sont responsables de maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis et la tuberculose [21].

9.3.2. Les différentes méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

➤ *Méthode de dilution en milieu liquide*

En milieu liquide, la croissance bactérienne se visualise par un trouble ou un culot bactérien. On réalise une gamme d'antibiotique de concentrations décroissantes par dilutions successives [20].

➤ *Effet bactéricide*

L'effet bactéricide consiste en la destruction d'une partie de la population d'une souche bactérienne. Pour tester le pouvoir bactéricide d'un antibiotique sur la souche isolée il faut déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB) (cette concentration est toujours supérieure à la concentration Minimale Inhibitrice (CMI)) [20].

9.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

9.4.1. Introduction

L'inflammation peut être définie comme un processus général réactionnel de tout ou partie l'organisme à une agression, qu'elle soit chimique, physique, bactérienne, virale ou parasitaire. Elle se traduit ordinairement par des symptômes cardinaux : Chaleur, rougeur et douleur [22].

Dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire on recherche les effets sur les premières phases de l'inflammation primaire et les effets sur l'inflammation secondaire [20].

9.4.2. L'Activité anti-inflammatoire

La méthode décrite par Winter (1962) a été utilisée pour évaluer l'effet anti-inflammatoire. Pour l'application de cette méthode, les animaux sont répartis en trois lots renfermant chacun six souris, qui sont mis à jeun 12 heures avant l'expérimentation. La première étape de consiste à administrer une heure avant l'injection de la carragénine, différenciées solutions ont été administrées par voie intra-péritonéale [23].

Le premier lot a été traité par l'extrait méthanolique (2.5ml/kg), le deuxième lot par de l'NaCl et le troisième par du Diclofenac comme produit de référence (2.5ml/kg). À la 3ème heure on coupe les pattes de chaque souris et pesés immédiatement patte droite par rapport à la patte gauche.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de l'œdème : [23]

$$P = [(DM - DMT) / D] * 100$$

Ou :

DM : La différence moyenne de poids entre les morceaux des pattes droites traitées à carragénine et ceux des pattes gauches non traitées du lot témoin.

DMT : La différence moyenne de poids entre les morceaux des pattes droites traitées aux produits à tester dans carragénine et ceux des pattes gauches non traitées des lots traités.

9.5. Evaluation de l'activité antidiabétique

9.5.1. Définition du diabète

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang. On dit qu'une personne est diabétique quand son taux de glucose dans le sang (ou glycémie), à jeun, est supérieure à 1.26 g/L ou 7 mmol/L.

9.5.2. Diabète de type 1

Connu aussi sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID) est caractérisé par une production insuffisante d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière. La cause de diabète de type 1 n'est pas connue, et en l'état des connaissances actuelles, il n'est pas évitable : Les symptômes sont les suivants : Excrétion excessive d'urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement.

9.5.3. Diabète de type 2

Appelé diabète non insulino-dépendant (DNID) résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. Le diabète de type 2 représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité. Ses symptômes peuvent être les mêmes que ceux du diabète de type 1 mais souvent à un degré moindre. De ce fait, la maladie peut être diagnostiquée plusieurs années après son apparition, une fois les complications déjà présentes [24].

9.5.4. Activité inhibitrice de l' α -glucosidase

L' α -glucosidase est une enzyme présente à la bordure en brosse des cellules intestinales. Cette enzyme catalyse le clivage des oligosaccharides et disaccharides en glucose afin d'être absorbés dans l'intestin et libérés dans la circulation sanguine [25].

Les inhibiteurs de l' α -glucosidase sont cliniquement utilisés comme agents antihyperglycémiant. Leur administration va se traduire par un allongement du temps de digestion des glucides alimentaires et en conséquence par une limitation des élévations glycémiques postprandiales [25].

- **Protocole**

L'inhibition de l' α -glucosidase est effectuée en utilisant p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG) comme substrat, qui est hydrolysé par α -glucosidase pour libérer le p-nitrophényl (un agent coloré qui peut être surveillé à 405 nm). Un volume de 50 μ L de l'échantillon à différentes concentrations est ajouté à 100 μ L de solution de α -glucosidase (0,1U/mL) (1 mg d'enzyme alpha-glucosidase dans 10 mL de tampon phosphate 100 mM, pH 6,9), suivi par l'addition de 50 μ L de pNPG (5 mM) [26]. Après incubation à 37 °C pendant 30 minutes, L'absorbance est mesurée à 405 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{(\% d'inhibition)} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{Control}}] \times 100$$

Références bibliographiques

- [1] H. Zbalah et Y. Belarbi, « Effet de séchage des plantes médicinales de la famille des Lamiacées (Romarin) sur l'activité antibactérienne », 2018, Consulté le: août 28, 2020. [En ligne]. Disponible sur: <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/6490>.
- [2] M. AREF et M. HEDED, « Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). », 2015.
- [3] I. Parejo *et al.*, « Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, n° 23, p. 6882–6890, 2002.
- [4] M. S. Blois, « Antioxidant determinations by the use of a stable free radical », *Nature*, vol. 181, n° 4617, p. 1199–1200, 1958.
- [5] A. Bouratoua *et al.*, « Chemical composition and antioxidant activity of aerial parts of *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier and Maury », *Natural Product Research*, vol. 32, n° 16, p. 1873–1880, août 2018, doi: 10.1080/14786419.2017.1353513.
- [6] M. Bouchekrit, « ETUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE ET DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE DEUX APIACEAE *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. et *Margotia gummifera* (Desf.) Lange », PhD Thesis, 2018.
- [7] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, et C. Rice-Evans, « Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay », *Free radical biology and medicine*, vol. 26, n° 9-10, p. 1231–1237, 1999.
- [8] W. Ghnimi, « Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase », phdthesis, Université de Lorraine, 2015.
- [9] S. Norshazila, I. Syed Zahir, K. Mustapha Suleiman, M. R. Aisyah, et K. Kamarul Rahim, « Antioxidant levels and activities of selected seeds of malaysian tropical fruits. », *Malaysian Journal of Nutrition*, vol. 16, n° 1, 2010.
- [10] A. Blázovics, « Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum tectorum* in vitro and in vivo », *Acta Biologica Szegediensis*, vol. 47, n° 1-4, p. 99–102, 2003.
- [11] R. Smr, B. Lca, Q. Jh, K. M, et S. A, « Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties », *Food Chem*, vol. 110, n° 3, p. 620–626, oct. 2008, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.067.
- [12] M. Oyaizu, « Studies on Products of Browning Reaction », *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, vol. 44, n° 6, p. 307–315, 1986, doi: 10.5264/eiyogakuzashi.44.307.
- [13] G. Tel, M. Apaydın, M. E. Duru, et M. Öztürk, « Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia », *Food Analytical Methods*, vol. 5, n° 3, p. 495–504, 2012.

- [14] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, et S. E. Karademir, « 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*, vol. 52, n° 26, p. 7970–7981, 2004.
- [15] A. Muhammad *et al.*, « Phytochemicals from *Dodonaea viscosa* and their antioxidant and anticholinesterase activities with structure–activity relationships », *Pharmaceutical biology*, vol. 54, n° 9, p. 1649–1655, 2016.
- [16] Z. MOHAMMEDI, « Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l’Algérie », PhD Thesis, 2013.
- [17] G. Tel, M. Ozturk, M. E. Duru, et A. Turkoglu, « Antioxidant and anticholinesterase activities of five wild mushroom species with total bioactive contents », *Pharmaceutical biology*, vol. 53, n° 6, p. 824–830, 2015.
- [18] P.-G. Pietta, « Flavonoids as antioxidants », *Journal of natural products*, vol. 63, n° 7, p. 1035–1042, 2000.
- [19] K. E. Heim, A. R. Tagliaferro, et D. J. Bobilya, « Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships », *The Journal of nutritional biochemistry*, vol. 13, n° 10, p. 572–584, 2002.
- [20] C. Bensouici, « Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sedum* ».
- [21] M. W. Hahn *et al.*, « Isolation of novel ultramicrobacteria classified as Actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia », *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, n° 3, p. 1442–1451, 2003.
- [22] N. Boutaghane, « Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae) », 2013.
- [23] « Evaluation de l’activité biologique des polyphénols de *Carthamus caeruleus* L (Asteraceae) ».
- [24] C. Selles, « Valorisation d’une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l’extrait aqueux à l’inhibition de corrosion d’un acier doux dans H₂SO₄ 0.5 M », PhD Thesis, 2012.
- [25] İ. Aydoğrdu, F. Zihnioğrlu, T. Karayildirim, D. Gülcemal, Ö. Alankuş-Çalışkan, et E. Bedir, « α -Glucosidase Inhibitory Constituents of *Linaria kurdica* subsp. *ericalyx* », *Natural Product Communications*, vol. 5, n° 6, p. 1934578X1000500601, 2010.
- [26] S. Lordan, T. J. Smyth, A. Soler-Vila, C. Stanton, et R. P. Ross, « The α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts », *Food chemistry*, vol. 141, n° 3, p. 2170–2176, 2013.

Conclusion générale

Conclusion

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées à l'étude phytochimique de la plante *Galatella linosyris* appartenant à une famille connue pour sa vertu médicinale et cosmétique.

Après l'étape de macération, nous avons procédé à l'extraction, en utilisant trois différents solvants (Chloroforme, acétate d'éthyle, *n*-butanol) pour aboutir, à la fin d'évaporation, à trois extraits bruts secs.

Ces extraits secs seraient utilisés dans l'identification et la quantification des différentes molécules bioactives telles les polyphénols et les flavonoïdes totaux, en adoptant la méthode de Folin ciocalteu et du trichlorure d'aluminium.

Ces extraits seraient également testés pour quelques activités biologiques comme l'activité anti-radicalaire, par l'application de plusieurs tests : (DPPH; ABTS⁺, CUPRAC, La chélation du fer ferreux, pouvoir réducteur...etc) ; aussi l'activité anti- acétylcholinestérase (anti-AChE) par le test d'Ellman ; l'activité antidiabétique ; l'activité antibactérienne ; l'activité antifongique et autres...

Cette étude phytochimique serait accomplie dans le but de déterminer la richesse de *Galatella linosyris* en molécules bioactives qui pourraient éventuellement être employées dans différentes applications thérapeutiques.

En perspective, on pourrait faire des études complémentaires à fin de confirmer l'importance de cette espèce en phytothérapie.

Résumé

La famille des Astéracées est la famille la plus large de Spermatophytes. Elle contient plus de 23 000 espèces. Les espèces de cette famille sont connues par leur richesse en métabolites secondaires. Cette vertu nous a encouragées à nous intéresser à la plante *Galatella linosyris* qui découle de cette famille.

Le nombre de métabolites secondaires dépassent les 100000 substances identifiées à ce jour. Ces dernières peuvent être réparties sur trois classes principales : Les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes. Ces molécules dites bioactives, peuvent présenter d'importantes activités biologiques telle l'activité anti-radicalaire permettant l'élimination des radicaux libres dans l'organisme.

Le stress oxydatif est un déséquilibre pouvant survenir lors de la production des radicaux libres et leur destruction par les systèmes de défense antioxydants. Ainsi, il existe différentes cibles des radicaux libres et des ERO. Pour lutter contre le stress oxydatif, les antioxydants jouent un rôle important et ont différentes sources.

Dans notre étude, nous avons ciblé l'espèce *Galatella linosyris* dont les vertus sont encore peu explorées. L'étude porte sur l'extraction des métabolites secondaires des parties aériennes de la plante, puis sur l'effet biologique de ces dernières. La deuxième partie de ce travail n'a pas pu être accomplie à cause de la conjoncture vécue par l'humanité, en l'occurrence la pandémie COVID-19.

Mots clés : Astéracées, *Galatella linosyris*, Métabolites secondaires, Stress oxydatif, Extraction liquide-liquide, Chloroforme, Acétate d'éthyle, *n*-Butanol.

Abstract

The Astéracées family is the largest family of spermatophytes. It contains more than 23,000 species, the species of this family are known for their richness in secondary metabolites. This property encouraged us to be interested in the plant *Galatella linosyris* which belongs to this family.

The secondary metabolites exceed 100,000 identified substances, belonging to three main classes : Phenolic compounds, terpenoids and alkaloids. These bioactive molecules can have important biological activities such as the anti-free radical activity that allows the elimination of free radicals in the body.

Oxidative stress is an imbalance between the production of free radicals and their destruction by antioxidant defense systems. There are different targets for free radicals and ROS. Antioxidants have different sources to combat oxidative stress.

In our study, we targeted the species *Galatella linosyris* whose virtues are still little explored. The study focuses on the extraction of secondary metabolites from the aerial parts of the plant, and then on their biological effects. The second part of this work could unfortunately not be completed due to the events experienced by humanity, in this case the COVID-19 pandemic. The Biotechnology Research Center (CRBT) decide to not receive any more.

Keywords : Astéracées, *Galatella linosyris*, Secondary metabolites, Oxidative stress, Liquid- liquid extraction, Chloroform, Ethyl acetate, *n*-butanol.

ملخص

يحتوي على أكثر من 23000 نوع. تُعرف أنواع هذه Spermatophytes هي أكبر عائلة من Asteraceae عائلة المشتق من هذه Galatella linosyris الفصيلة بئرائها في المستقلبات الثانوية. شجعتنا هذه الفصيلة على الاهتمام بنبتة العائلة.

يتجاوز عدد نواتج الايض 100,000 مادة محددة حتى الآن. يمكن تقسيمها إلى ثلاث فئات رئيسية: المركبات الفينولية ، التربينويدات والقلويدات. يمكن لهذه الجزيئات النشطة بيولوجيًا المزعومة أن تعرض أنشطة بيولوجية مهمة مثل النشاط المضاد للراديكالية الذي يسمح بالقضاء على الجذور الحرة في الجسم.

الإجهاد التأكسدي هو خلل يمكن أن يحدث أثناء إنتاج الجذور الحرة وتدميرها بواسطة أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة. لمكافحة الإجهاد التأكسدي ، تلعب مضادات الأكسدة دورًا مهمًا. ROS وبالتالي ، هناك أهداف مختلفة للجذور الحرة و وتأتي من مصادر مختلفة.

التي لم يتم استكشاف فضائلها بعد. تركزت الدراسة على استخلاص Galatella linosyris في دراستنا ، استهدفنا الأنواع نواتج الايض من الأجزاء الهوائية للنبات ثم التأثير البيولوجي للأخيرة. تعذر إكمال الجزء الثاني من هذا العمل بسبب COVID-19 الظروف الاقتصادية التي مرت بها البشرية ، وفي هذه الحالة وباء

الكلمات الأساسية: نواتج الايض ، الإجهاد التأكسدي ، الاستخلاص السائل Galatella linosyris ، Asteraceae والسائل ، الكلوروفورم ، أسيتات الإيثيل ، ن-بوتانول.

Présenté par : Kimouche roumeissa

Bouakrif nourhene kaouther

Année universitaire 2019-2020

Titre : *Galatella linosyris* extraction et étude théorique

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

La famille des Astéracées est la famille la plus large de Spermatophytes. Elle contient plus de 23 000 espèces. Les espèces de cette famille sont connues par leur richesse en métabolites secondaires. Cette vertu nous a encouragées à nous intéresser à la plante *Galatella linosyris* qui découle de cette famille.

Le nombre de métabolites secondaires dépassent les 100000 substances identifiées à ce jour. Ces dernières peuvent être réparties sur trois classes principales : Les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes. Ces molécules dites bioactives, peuvent présenter d'importantes activités biologiques telle l'activité anti-radicalaire permettant l'élimination des radicaux libres dans l'organisme.

Le stress oxydatif est un déséquilibre pouvant survenir lors de la production des radicaux libres et leur destruction par les systèmes de défense antioxydants. Ainsi, il existe différentes cibles des radicaux libres et des ERO. Pour lutter contre le stress oxydatif, les antioxydants jouent un rôle important et ont différentes sources.

Dans notre étude, nous avons ciblé l'espèce *Galatella linosyris* dont les vertus sont encore peu explorées. L'étude porte sur l'extraction des métabolites secondaires des parties aériennes de la plante, puis sur l'effet biologique de ces dernières. La deuxième partie de ce travail n'a pu malheureusement pas être accomplie à cause de la conjoncture vécue par l'humanité, en l'occurrence la pandémie COVID-19.

Mots clés : Astéracées, *Galatella linosyris*, Métabolites secondaires, Stress oxydatif, Extraction liquide-liquide, Chloroforme, Acétat d'éthyle, *n*-Butanol.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biochimie (C.R.BT.)

Jury d'évaluation :

Président : Mr BOUANIMBA Nour (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : Mr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine).

Examineurs : Mr BENSOUISI Chawki (MRB- CRBT Constantine).

Date de soutenance : 24/09/2020