



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم: الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude phytochimique et biologique d'une espèce du genre *Silene* (Caryophyllaceae)

Présenté par : LATRECHE Isra

Le : 10/06/2024

LARKAT Yasmine

Jury d'évaluation :

Présidente : BENSMIRA Soumia (MAA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : BECHKRI Sara (MCB- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : MOSRANE Yousra (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire
2023 - 2024

Remerciements

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ وَالصَّلَاةُ وَالسَّلَامُ عَلَى سَيِّدِنَا مُحَمَّدٍ

Malgré les obstacles qui s'opposent, En dépit des difficultés qui s'interposent, Notre unique et seul à tout, Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis Jours et nuits, mènera vers le bonheur fleuri.

Avant toute chose, nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir guidé jusqu'à l'achèvement de ce mémoire, et de nous avoir donné la force, le courage et la patience.

*Nous adressons en premier nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Docteur **BECHKRI Sara**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené à bon port, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordée et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail,*

*Nous remercions vivement les membres du jury, Madame **BENSMIRA**, la présidente du jury, pour nous avoir donné de leur temps et évalué notre mémoire et fourni des conseils et des orientations qui nous seront utiles dans notre travail. Merci à Madame **MOSRANE Yousra**, d'avoir accepté de juger notre travail, elle était une réelle source d'inspiration et un exemple à qui nous devons beaucoup. Nous sommes très touchées à L'honneur que vous nous faites d'être l'examinatrice.*

Nous tenons à témoigner toute notre reconnaissance aux personnes suivantes, pour leurs aides dans la réalisation de ce mémoire :

*Nos remerciements vont aussi à Mme **KABOUCHE Zahia** professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine1, pour nous nous avoir accueillies dans le Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST), pour nous avoir encouragées et conseillées tout au long de ce travail.*

*Nous n'oublions pas aussi les deux doctorantes **Hadjer** et **Nour el houda** pour leur chaleureux accueil, leur aide, disponibilité, ...*

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études, en particulier Mr BENSEGUENI, Mr CHIKHI, Mr MOKRANI, Mme KLIBAT, Mme MOSRANE et Mme KASSAH.

On tient à remercier le chef Département Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire Mr NECIB Youcef, en particulier l'adjoint Mr NOUADRI Tahar et la responsable de la spécialité biochimie appliquée Mme TENIOU Soumia, qui nous a donné la liberté de choix. Merci pour votre soutien, et la confiance que nous a accordé, qui nous ont grandement touchés.

Nos remerciements vont également à toute l'équipe de laboratoire de microbiologie du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT).

Enfin, nous remercions nos parents, nos collègues et amis pour les moments conviviaux passés ensemble, et toutes les personnes qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce travail.

Avec tous nos remerciements et croyez à notre sincère gratitude.

Dédicaces

"وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ"

Je dédie ce modeste travail

♥ À ma chère Mère **KARIMA**, le symbole de tendresse, qui peut être fière de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.

♥ À mon chère Père **MOUSTAPHA**, mon exemple Eternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, J'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté et que j'éprouve d'être votre fille.

♥ À mon chère frère **MOUHAMED**, merci de m'avoir soutenu de témoigner votre affection durant tout ce temps. j'ai toujours pu compter sur vous quel que soit le moment, et merci infiniment d'avoir partagé votre pc avec moi.

♥ À mes chères sœurs **ANFAL** et **RIHAB**, celles qui ont partagé mon rêve et mon espoir, qui m'écoutent toujours, me motivent et soutiennent mes idées, vous êtes la prunelle de mes yeux.

♥ À Mon adorable petite sœur **MANESSA**, qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour moi et pour tout la famille, je t'aime ma fille.

♥ À ma chère cousine **ROUMEISSA**, qui était comme une sœur pour moi, qui m'a accompagné dans ma tristesse avant ma joie, qui était toujours à mes côtés et n'a pas cessé de me conseiller, de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études.

♥ À mes chères cousines **SALSABIL** et **AYA**, celles qui ont été mes piliers dans les moments difficiles, et mes partenaires de fête dans les moments de joie, celles qui m'aiment et cherchent toujours à me rendre heureuse, je vous aime tellement.

♥ À tous les membres de ma grande famille, surtout mes chères tantes **HOURIA** et **AMINA**, mes oncles, ma grand-mère et mes chères cousines et cousins.

♥ À mes chères amies (**NOURHANE**, **AYA**, **RANDA**, **BOUCHRA**, **AMINA NADINE NOURHANE**), celles qui m'ont accompagné tout au long de ces années, avec ses bon et ses mauvais moments et spécialement, mes belles copines **NOUHA** et **MAYA**, qui étaient derrière moi surtout dans les moments les plus difficiles, je vous aime tellement.

♥ À mon chère binôme **YASMINE**, avec qui j'ai partagé tous les moments de stress et les difficultés au suivi de notre travail, mais aussi des fous rires, merci pour tous les bons souvenirs que nous avons pu créer ensemble.

♥ À ma chère enseignante **KLIBAT FAHIMA**, qui était toujours présente pour m'aider, et qui joué un rôle significatif dans mon parcours, surtout dans le début de ce travail.

♥ À mon encadreur **BCHKRI SARA**, merci pour votre temps précieux que vous nous avez accordé, c'est un honneur pour nous.

♥ Une grande dédicace à tous mes collègues de la promotion de Biochimie appliquée et Biochimie (2022-2024) qui ont pris place dans mon cœur, surtout **CHAIMA**, **MOUNA** et **RAYANE**.

♥ Au-delà des noms cités, il existe un cercle précieux de personnes qui ont marqué un point positif dans ma vie, merci à vous, je vous aime tellement.

Isra





Dédicace

(وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

Je dédie ce mémoire à ...

À ma très chère maman la prunelle de mes yeux, la joie de ma vie, aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand respect, mon amour et ma reconnaissance pour les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et mon bien être. j'implore dieu le tout puissant de t'accorder bonne santé et longue vie.

À mon cher père qui a toujours souhaité mon réussite et qui m'a permis d'atteindre mes objectifs dans mes études et dans ma vie. que Dieu, le garde et le protégé.

À ma sœur bien-aimée Wissem, qui a toujours été à mes côtés, partageant mes joies et mes peines, et me donnant la chaleur de la fraternité et de l'amour. Merci pour chaque moment où tu étais là pour moi.

À mon cher frère Salah Eddine , qui a toujours été un exemple d'amitié et de fraternité véritables. Je te souhaite un avenir lumineux, plein de succès et de réalisations.

A toute ma famille et mes proches.

À mes meilleures amies, pour l'amitié qui nous a unies et les souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur, mes chères amies : Nourhan ; Nadine ; Nouha ; Maya .

À mon binôme et mon amie Isra, avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail, merci pour tous les bons souvenirs que nous avons créés ensemble.

À mon encadreur Sara Bechkri pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

À tous mes enseignants depuis le primaire jusqu' l'université.

À tous mes collages et camarades de promo M2 Biochimie appliquée 2024.

Yasmine



Table des matières

Introduction générale	1
Chapitre I :Aperçu bibliographique	
I. Famille des Caryophyllaceae	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Répartition géographique.....	3
I.3. Classification systématique et aspects botaniques.....	4
I.4. Utilisation médicinale et effets pharmacologiques.....	5
II. Genre <i>Silene</i>	6
II.1. Présentation du genre <i>Silene</i>	6
II.2. Répartition géographique	6
II.3. Description morphologique du genre <i>Silene</i>	6
II.4. Biogéographie du genre <i>Silene</i> en Algérie	7
II.5. Utilisations traditionnelles.....	7
II.6. Quelques activités biologiques reconnues du genre <i>Silene</i>	8
II.6.1. Activité antioxydante	8
II.6.2. Activité antibactérienne	8
III. Métabolite secondaires	9
III.1. Généralités.....	9
III.1.1. Composés phénoliques.....	9
III.1.1.1. Flavonoïdes	9
III.1.1.2. Acides phénoliques.....	11
III.1.1.3. Tanins	12
III.1.2. Terpènes.....	13
III.1.3. Stérols	14
III.1.3.1. Phytoecdystéroïdes.....	14
III.1.4. Alcaloïdes	15
III.1.5. Anthraquinones	15
III.1.6. Saponosides.....	16
III.2. Métabolites secondaires isolés du genre <i>Silene</i>	17
III.2.1. Phytoecdystéroïdes	17
III.2.2. Flavonoïdes	18
III.2.3. Saponosides.....	20

IV. Activités Biologiques.....	21
IV.1. Activité antioxydante	21
IV.1.1. Stress oxydant.....	21
IV.1.2. Les radicaux libres.....	22
IV.1.3. Les antioxydants.....	22
IV.1.3.1. Mécanismes d'action des antioxydants.....	22
IV.1.3.2. Principaux antioxydants.....	22
IV.1.4. Principaux tests d'activité antioxydant.....	23
IV.1.4.1. Activité anti radicalaire au DPPH*	23
IV.1.4.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	24
IV.1.4.3. Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	24
IV.2. Activité antibactérienne.....	25
IV.2.1. Définition de la bactérie.....	25
IV.2.1.1. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.....	25
IV.2.2. Antibiotiques.....	26

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Matériel végétal	27
II. Extraction par macération.....	27
III. Analyse qualitative	29
III.1. Test chromatographiques sur couche mince (CCM).....	29
III.2. Screening phytochimique	30
III.3. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP) analytique.....	33
IV. Analyse quantitative.....	35
IV.1. Dosage des polyphénols totaux.....	35
IV.2. Dosage des flavonoïdes totaux	36
V. Evaluation des activités biologiques in vitro	36
V.1. Activité antioxydante	36
V.1.1. Test de piégeage du radical DPPH*	36
V.1.2. Test de piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	37
V.1.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	38
V.2. Activité antibactérienne.....	38

Chapitre III: Résultats et discussion

I. Rendements des extraits.....	41
II. Résultats de l'analyse qualitative	41
II.1. Tests chromatographiques sur couche mince (CCM)	41

II.2. Screening phytochimique	42
II.3. Chromatographie liquide á haute performance (CLHP)	44
III. Résultats de l'analyse quantitative	47
III.1. Dosage des polyphénols totaux	47
III.2. Dosage des flavonoïdes totaux	48
IV. Résultats de l'activité antioxydante	50
IV.1. Test de piégeage du radical DPPH•	50
IV.2. Test de piégeage du cation radical ABTS•+	52
IV.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)	53
V. Résultats de l'activité antibactérienne	57
Conclusion générale	61
Références bibliographiques	62

Liste des tableaux

N°	Titres	Page
Chapitre I: Aperçu bibliographique		
Tableau 1	Classification botanique de la famille des Caryophyllaceae.....	4
Tableau 2	Structures des différentes classes de flavonoïdes	11
Tableau 3	Quelques Phytoecdystéroïdes isolés du genre <i>Silene</i>	18
Tableau 4	Quelques flavonoïdes isolés du genre <i>Silene</i>	19
Tableau 5	Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant	23
Chapitre II: Matériel et méthodes		
Tableau 6	Condition opératoire de l'analyse CLHP analytique	34
Tableau 7	Caractéristiques générales des bactéries utilisées.....	38
Tableau 8	Les différentes concentrations des dilutions de l'extrait.....	39
Chapitre III: Résultats et discussion		
Tableau 9	Rendement des phases de l'espèce <i>Silene</i>	41
Tableau 10	Résultats de la phytochimie qualitative de la plante <i>silene</i>	42
Tableau 11	Les composés phénoliques identifiés dans les deux extraits AcOEt et n-BuOH.....	45
Tableau 12	Teneur en polyphénols calculés des différents extraits	48
Tableau 13	Teneur en flavonoïdes calculés des différents extraits.....	49
Tableau 14	Pourcentage d'inhibition du DPPH par les deux extraits AcOEt et n- BuOH...	51
Tableau 15	Pourcentage d'inhibition du cation ABTS ^{•+} par les extraits AcOEt et n-BuOH.....	52
Tableau 16	Inhibition du CUPRAC par les deux extraits AcOEt et n-BuOH.....	54
Tableau 17	Variation des IC ₅₀ des extraits selon les méthodes DPPH, ABTS et CUPRAC.....	55
Tableau 18	Résultats du test antibactérien de l'extrait n-BuOH.....	58
Tableau 19	Résultats du test antibactérien de l'extrait chloroformique.....	59

Liste des figures

N°	Titres	Page
Chapitre I : Aperçu bibliographique		
Figure 1	Espèces des genres les mieux connus des Caryophyllaceae.....	3
Figure 2	Carte de répartition géographique des Caryophyllaceae.....	4
Figure 3	Morphologie des espèces du genre <i>Silene</i> . A: <i>Silene latifolia</i> Poir , B: <i>Silene gallica</i> L, C: <i>Silene conoidea</i> L, D: <i>Silene arabica</i> Boiss.....	7
Figure 4	Structure de base des flavonoïdes.....	10
Figure 5	Structure chimiques de l'acide benzoïque (1), les principaux dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (2-5), et de l'acide hydroxycinnamique (6-10)....	12
Figure 6	Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensés.....	13
Figure 7	Structure de base des terpènes (isoprène).....	14
Figure 8	Structure de base des stérols.....	14
Figure 9	Structure chimique de la 20-hydroxyecdysone (20E).....	14
Figure 10	Structure d'un alcaloïde (caféine).....	15
Figure 11	Structure générale des anthraquinones.....	15
Figure 12	Structure typique des saponosides	16
Figure 13	Transforamtion du radical DPPH' en DPPH.....	23
Figure 14	Réaction de CUPRAC.....	24
Figure 15	Structure d'une bactérie à Gram positif et Gram négatif	25
Figure 16	Bactérie d' <i>Escherichia coli</i>	26
Chapitre II : Matériel et méthodes		
Figure 17	Différentes étapes de l'extraction.....	27
Figure 18	Différentes étapes d'extraction des parties aériennes de l'espèce <i>Silene</i>	28
Figure 19	Chromatographie sur couche mince.....	29
Figure 20	Test des flavonoïdes.....	30
Figure 21	Test des saponosides	31
Figure 22	Test des terpènes	31
Figure 23	Test des protéines.....	31
Figure 24	Test des anthraquinones.....	32

Figure 25	Test des stérols.....	32
Figure 26	Test des stérols.....	32
Figure 27	Test des sucres.....	33
Figure 28	Test des alcaloïdes.....	33
Figure 29	chromatographe liquide à haute performance (CLHP SHIMADZU SPD-10A).....	34
Figure 30	Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	35
Figure 31	Protocole de dosage des flavonoïdes.....	36
Figure 32	Les étapes de la préparation de l'extrait.....	39
Figure 33	la méthode des puits.....	40
Chapitre III: Résultats et discussion		
Figure 34	Chromatographie sur couche mince (CCM). A - sous UV à 365 nm, B - sous UV à 254 nm, C - révélé par la vanilline sulfurique.....	41
Figure 35	Profil HPLC ($\lambda=254$ nm) de l'extrait Acétate d'éthyle.....	44
Figure 36	Profil HPLC ($\lambda=254$ nm) de l'extrait n-BuOH.....	44
Figure 37	Les composés phénoliques identifiés dans l'extrait AcOEt de l'espèce <i>Silene</i>	46
Figure 38	Les composés phénoliques identifiés dans l'extrait n-BuOH de l'espèce <i>Silene</i>	46
Figure 39	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	47
Figure 40	Résultat du dosage des polyphénols après incubation.....	47
Figure 41	Courbe d'étalonnage de la quercétine	49
Figure 42	Résultat du dosage des flavonoïdes après incubation	49
Figure 43	Illustration d'une plaque de 96 puits dans laquelle un test DPPH a été réalisé.....	50
Figure 44	Pourcentage d'inhibition radical DPPH par l'extrait n-BuOH et AcOEt.....	51
Figure 45	Illustration d'une plaque de 96 puits dans laquelle un test ABTS a été réalisé.....	52
Figure 46	Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits n-BuOH et AcOEt. de l'espèce <i>Silene</i> par le test de ABTS ⁺	53
Figure 47	Résultats du test de CUPRAC sur microplaques.....	54

Figure 48	Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) par les deux extraits.....	55
Figure 49	Histogrammes représentant la comparaison entre les valeurs d'CI ₅₀ des tests: DPPH, ABTS et A _{0,5} du test CURAC et la quantité en (µg) des polyphénols et flavonoïdes des extraits AcOEt et n-BuOH.....	56
Figure 50	Les zones d'inhibition.....	57

Liste des Abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle
n-BuOH : n-butanol
CHCl₃ : Chloroforme
Ep : Ether de pétrole
H₂SO₄ : acide sulfurique
HCl : chlorure d'hydrogène
DMSO : Diméthylsulfoxyde
FeCl₃ : Trichlorure de fer (III)
FCR : Folin-ciocalteu
H₃BO₃ : acide borique
°C : Degré Celsius
C : concentration
I : taux d'inhibition
g : gramme
m : masse
mg : milligramme
ml : millilitre
MeOH : Methanol
MH : gélose Mueller hinton
E. coli : Escherichia coli
NaCl : chlorure de sodium
NaOH : hydroxide de sodium
NaOAc : acétate de sodium
R% : Rendement
V : Volume
UV : Ultra-violet
λ : Longeur d'onde
% : Pourcentage
CCM : Chromatographie sur couche mince
EAG : Equivalent d'acide gallique
EQ : Equivalent de quercétine
BHA : Butyl Hydroxy Anisole

DPPH: 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazy

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxidant Capacity.

ABTS: L'acide 2,2'-Azino-bis(3-éthylBenzoThiazoline-6-Sulphonique)

A_{0,5}: Concentration à A=0,5

IC₅₀: Concentration Inhibitrice de 50 %

(Inhibitory Concentration of 50 %)

Gal : galactose

Glc : glucose

Ara : arabinose

Introduction générale

Introduction générale

Depuis des époques anciennes, l'homme a reconnu l'importance des plantes, les utilisant à la fois comme source de nourriture et comme remèdes pour traiter différentes affections.

Les effets thérapeutiques des plantes ont été explorées au fil du temps, et leurs qualités précieuses ont été transmises de manière orale de génération en génération ou consignées dans des écrits anciens.

On estime, environ 500 000 espèces végétales dans le monde, un nombre relativement infime a été étudié sur le plan chimique ou pharmacologique [1].

Cette matière végétale accumule des métabolites dits secondaires, ces derniers représentent une source importante de molécules à savoir les polyphénols et les flavonoïdes, qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires, offrant des propriétés médicinales, nutritionnelles et cosmétiques. De plus, elles renferment des principes actifs capables de déclencher différentes réactions physiologiques dans le corps humain [2].

La flore algérienne est caractérisée par sa grande diversité floristique, estimée à environ 4450 espèces et sous-espèces indigènes.

Elle renferme des espèces méditerranéennes et paléotempérées, mais aussi sahariennes et paléo-tropicales, réparties sur près de 150 familles [3].

Cette riche biodiversité mérite d'être valorisée car elle renferme une diversité chimique et structurale très importante et offre aux chercheurs une multitude de sujets de Recherche. Avec le développement des connaissances en chimie, les substances actives renfermées dans les plantes ont pu être isolées puis étudiées pour prouver leur efficacité.

Ce mémoire s'intéresse à l'étude photochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactériennes des extraits d'une plante appartenant à la famille des Caryophyllacées et au genre *Silene*.

Les plantes du genre *Silene*, à travers les investigations chimiques antérieures, ont montré une richesse remarquable en métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les stérols phytoecdystéroïdes et les saponines triterpéniques qui présentent des multiples propriétés biologiques [4].

Ce document se structure de la façon suivante :

Introduction générale

- Le premier chapitre présente un aperçu bibliographique sur la famille des Caryophyllaceae, le genre *Silene* et les différentes classes de métabolites secondaires les plus connus suivi par une description travaux antérieurs effectués sur le genre *Silene*, leurs propriétés pharmacologiques et généralités sur les activités antioxydante et antibactérienne.

- Le deuxième chapitre comprend le matériel et les méthodes utilisés dans nos travaux d'extraction, nos travaux expérimentaux pour l'analyse qualitative (HPLC analytique screening phytochimique) et quantitative (les teneurs en flavonoides et polyphénols) et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'espèce *Silene* par les méthodes du DPPH, l'ABTS et du CUPRAC et on termine par l'évaluation de l'activité antibactérienne.

- Le troisième chapitre décrit la discussion des résultats obtenus.

En fin une conclusion présentant une synthèse des principaux résultats obtenus.

Chapitre I

Aperçu bibliographique

I. Famille des Caryophyllaceae

I.1. Définition

Le nom caryophyllaceae donné par Antoine-Laurent de Jussieu en 1789 de caryon= noeud, et phyllon= feuille [5]. Cette famille communément appelée famille rose, comprend plus de 80 genres avec plus de 2600 espèce [6].

C'est l'une des plus importantes familles de plantes à fleurs de l'ordre des Caryophyllales, qui comprend les œillets, les saponaires, les stellaires, les silènes sont les représentants les mieux connus des Caryophyllaceae (**figure 1**).



Figure 1: Espèces des genres les mieux connus des Caryophyllaceae.

I.2. Répartition géographique

La famille des Caryophyllacées est l'une des familles les plus diversifiées à l'échelle mondiale. Elle renferme des plantes herbacées, vivaces ou annuelles. [11]. C'est une famille cosmopolite, mais est surtout distribuée dans toutes les contrées tempérées de l'hémisphère nord et particulièrement dans les montagnes et les régions méditerranéennes et en Asie [12].

En Algérie, elle est particulièrement développée dans la région méditerranéenne, au Sahara septentrional et central [13] (**figure 2**).

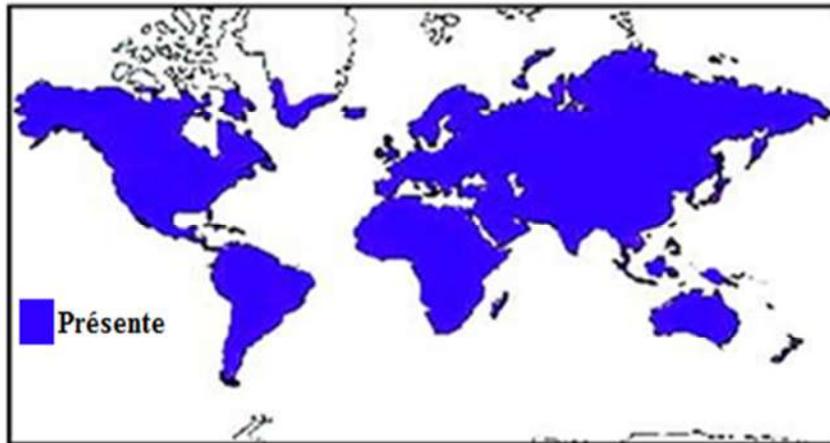


Figure 2: Carte de répartition géographique des Caryophyllaceae.

I.3. Classification systématique et aspects botaniques

Les Caryophyllacées sont une famille de plantes dicotylédones. Selon la classification classique de Cronquist (1981), les espèces de cette famille sont distribuées comme le montre le tableau 1 phylogénique suivant :

Tableau 1 : Classification botanique de la famille des Caryophyllaceae.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Caryophyllaceae

La famille caryophyllacées est divisée en trois sous-familles : Alsinoideae, Silenoideae et Paronychioideae [12, 13].

- **La sous-famille Alsinoideae** se divise en 5 tribus (Alsineae, Pycnophylleae, Sclerantheae, Geocarpeae et Habrosieae) avec 28 genres (*Arenaria*, *Honkenya*, *Stellaria*, *Sagina*, *Colobanthus*, *Lyallia*,...).
- **La sous-famille Silenoideae (ou Caryophylloideae)**, se partage en 3 tribus (Caryophylleae, Drypideae et Sileneae) avec 24 genres (*Silene*, *Dianthus*, *Gypsophila*, *Lychnis*...).

- **La sous famille Paronychioideae** comprend trois tribus 3 (Paronychieae, Polycarpeae et Corrigioleae) avec 33 genres (*Paronychia*, *Pteranthus*, *Gymnocarpos*, *Polycarpaea*,...).

Les caractéristiques morphologiques principaux des plantes relevant de cette famille sont des arbustes dressés ou des herbes, annuels ou vivaces avec des feuilles simples opposées et entières et des nœuds renflés. Les fleurs tétramères ou pentamères sont fréquemment rassemblées en inflorescences en panicule, en grappe ou en capitule sont pollinisées par divers insectes [6, 14].

I.4. Utilisation médicinale et effets pharmacologiques

La famille des Caryophyllacées, avec plus de 2600 espèces peut constituer une source importante de plantes pouvant être de bons cétidats dans la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques.

Plusieurs espèces de la famille des Caryophyllaceae sont largement utilisées par de nombreuses communautés ethniques que la médecine traditionnelle à travers le monde. Le plus grand nombre de plantes de la famille sont utilisés dans la médecine traditionnelle chinoise. Des applications comme antidiurétique, contre la fièvre, le rhumatisme, la toux, les ulcères, les calculs urinaires, traitement des maladies gastrointestinales et urinaires, des hémorroïdes, ou comme appétissant. [15].

Les études ethno-pharmacologiques indiquent que les plantes de la famille possèdent des propriétés anticancéreuses, antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydantes et anti inflammatoires. Le présent examen est axé sur la tradition utilisations médicinales des plantes de la famille des Caryophyllacées ainsi que phytochimiques et études pharmacologiques de la famille. La propriété la plus importante des plantes de la famille est l'activité anticancéreuse et est démontré par le grand nombre d'espèces végétales étudiées [15].

II. Genre *Silene*

II.1. Présentation du genre *Silene*

Le genre de *Silene* est considéré comme l'un des plus importants de la flore mondiale, étant le plus grand genre de la famille Caryophyllaceae, sous-famille Silenoideae, qui compte plus de 700 espèces [16-17], dont 70 sont présentes dans la flore algérienne [13].

II.2. Répartition géographique

Les espèces du genre *Silene* se trouvent principalement dans les régions tempérées Hémisphère Nord, mais aussi en Afrique et en Amérique du Sud [16-17]. Le principal centre de diversité du genre est l'Eurasie, en particulier dans la région méditerranéenne et Asie du Sud-Ouest [18-19].

II.3. Description morphologique du genre *Silene*

Les silènes sont des plantes annuelles, bisannuelles ou vivaces avec des tiges à nœuds souvent renflés.

- **feuilles** sont souvent opposées, décussées. Le calice pentamère libre ou soudé renflé avec 10, 20 ou 30 nervures. Le genre *Silene* est caractérisé par un carpophore de taille très variable d'une espèce à une autre.
- **inflorescences** sont diversifiées en cymes unipares, bipares ou grappes de cymes avec ou sans fleurs en dichase (Type d'inflorescence dans laquelle la fleur est portée par deux rameaux).
- **fleurs** sont solitaires, généralement hermaphrodites ou unisexuées (exemple de *Silene latifolia* Poir.). Les étamines sont au nombre de dix. L'ovaire est de trois ou cinq styles. Les graines latéralement un peu 3 comprimées, réniformes à sub-orbiculaires ou angulaires (en cas d'entassement dense) comportant deux faces (planes, concaves ou excavées) et un dos qui porte un flanc appelé aussi canalicule.

La forme de la graine est décrite selon la forme des flancs et du dos. Les détails structurels varient considérablement et sont indispensables dans la classification à condition que des graines entièrement mûres soient disponibles pour l'étude. [16, 20-24]. (Figure 3).



Figure 3 : Morphologie des espèces du genre *Silene*. **A:** *Silene latifolia* Poir , **B:** *Silene gallica* L, **C:** *Silene conoidea* L, **D:** *Silene arabica* Boiss. [25]

II.4. Biogéographie du genre *Silene* en Algérie

Le genre *Silene* est d'une grande valeur patrimoniale en Algérie. Avec ses 25 espèces endémiques sensu lato (Algéro-marocaines et Algéro-tunisiennes), c'est le genre qui admet de loin le plus d'endémiques en Algérie [3, 26]. Sur les 71 taxons du genre *Silene* recensés en Algérie, douze sont strictement endémiques dont cinq endémiques au nord-ouest du pays, sept endémiques au nord-est (Kabylie, Constantinois ou Numidie) et appartiennent au hotspot régional Kabylie-Numidie-Kroumirie [27]. Au nord-est du pays et 18 sont sub-endémiques, quatre sont partagés avec la Tunisie et/ou la mer Tyrrhénienne, partagés avec le Maroc et trois sont à endémisme Maghrébin [28].

II.5. Utilisations traditionnelles

Le genre *Silene* est bien connu en médecine traditionnelle, on retrouve diverses utilisations en médecine traditionnelle tibétaine, chinoise et zulu, notamment pour traiter la fièvre, contre les morsures de serpents et comme anti-inflammatoire [29].

- Par exemple *Silene viscidula* ses racines sont appelées Wacao, utilisées en médecine traditionnelle chinoise pour le traitement des rhumatismes, la coque et les douleurs osseuses [30].

- *Silene pilosellifolia* :cette plante est utilisée pour traiter la fièvre chez les patients délirants et aussi pour composer divers autres médecines traditionnelles [31].

- *Silene flos-cuculi* : la décoction de ses fleurs (ajoutée au vin) utilisée pour traiter les maux de tête, le paludisme et douleurs de l'estomac [32].

- *Silene moorcroftiana* les feuilles de cette plante sont utilisées pour traiter les problèmes d'oreille et de nez, anémie ainsi que, le jus de feuilles bouilli utilisées comme bain de bouche et gargarisme pour inflammation de la bouche et gorge [33-34].

En outre, les silènes sont très connues pour leur utilisation comme substituts de savon [29]. Ces plantes sont aussi connues dans certaines gastronomies traditionnelle [35].

II.6. Quelques activités biologiques reconnues du genre *Silene*

Les plantes du genre *Silene* sont connues pour leur richesse en métabolites secondaires, possédant diverses et intéressantes activités biologiques [4], notamment l'activité antitumorale, antioxydant, antimicrobiennes et antifongiques. Dans notre étude bibliographique, nous rapportons certaines activités de quelques espèces du genre *Silene* notamment antioxydante, antibactérienne.

II.6.1. Activité antioxydante

- Les extraits méthanolique de trois espèces *Silene gynodioca*, *Silene spergulifolia* et *Silene swertiifolia* ont été testées in vitro pour leur activité antioxydante par trois méthodes, à savoir le DPPH le piégeage des radicaux libres, l'activité de chélation des métaux et l'oxydation de β -carotène/ oxydation acide linoléique. Les résultats ont montré que les extraits de deux espèces de silène (*S. swertiifolia* et *S. spergulifolia*) ont montré une puissance plus élevée que l'acide ascorbique dans le balayage du radical libre de DPPH [36].

- Une étude montre que les feuilles de *Silene alba subsp. divaricata* ont des effets bénéfiques sur la chélation des ions ferreux, le piégeage des radicaux DPPH et le cation radicalaire ABTS et peut donc exercer une protection contre les dommages oxydatifs [37].

II.6.2. Activité antibactérienne

- L'huile de graines de *Silene vulgaris* et *S. cserei* poussant en Turquie ont été examinés pour leur activité antibactérienne utilisant la méthode de microdilution contre les souches standard d'*Escherichia coli*, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Proteus mirabilis*, de *Klebsiella pneumoniae*, d'*Acinetobacter baumannii*, de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus subtilis*, les résultats ont montrés que la activité antibactérienne notable contre la bactérie Gram-négative *K. pneumoniae* à une concentration de 4 μ g/mL [38].

- Les extraits méthanoliques de trois espèces de *Silene* d'Iran (*S. gynodioca*, *S. spergulifolia* et *S. swertiifolia*) ont été évalués pour déterminer leurs activités antibactériennes in vitro par la méthode de diffusion sur disque, Les résultats ont montré que *S. swertiifolia* avait une forte activité antibactérienne contre trois bactéries Gram positives et Gram négatives, à savoir *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus*, alors que *S. spergulifolia* présentait une forte inhibition contre *Bacillus cereus* [36].

- De plus, une sélection préliminaire de l'extrait de CHCl_3 de la partie aérienne de *S. guntensis* a montré des effets antibactériens contre *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* sp [39].

III. Métabolite secondaires

III.1. Généralités

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont des protéines, des glucides et des lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune des ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique [40-42].

III.1.1. Composés phénoliques

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Près de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille. Le terme « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de molécules divisé en une dizaine de classes chimiques, selon le nombre d'unités phénoliques présentes. Elles présentent un point commun : la présence dans leur structure d'un ou plusieurs cycles aromatiques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles [43]. Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux [44]. Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en différentes familles : acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, anthocyanes, coumarines, lignanes,...etc [45].

III.1.1.1. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde dérive du mot grec flavus qui veut dire jaune [46], Les flavonoïdes sont des substances naturelles issues de plantes présentes dans tout le règne végétal, représentent une vaste gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols.

Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 (1,3-diphénylpropane) [47]. Les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (**figure 04**)

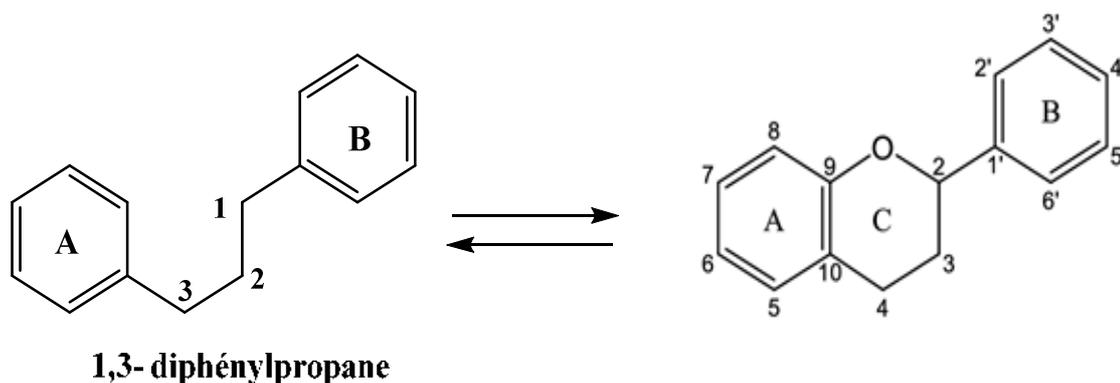


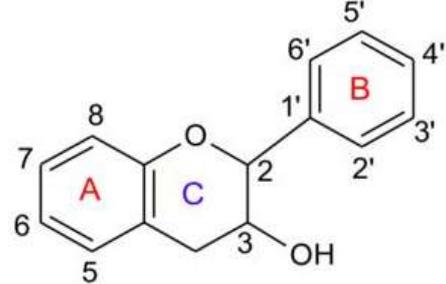
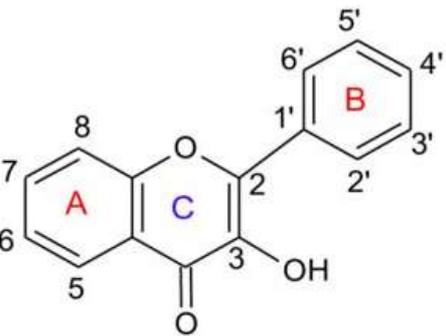
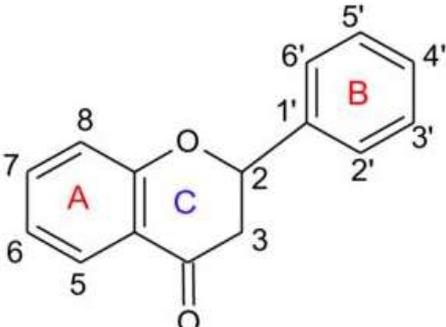
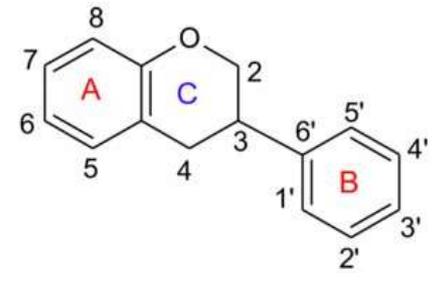
Figure 4: Structure de base des flavonoïdes.

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins [48]. (**tableau 2**).

Les flavonoïdes sont réputés pour leur caractère antioxydant, neutralisant les radicaux libres et limitant, ainsi certains dommages oxydatifs responsables de maladies. Ils sont donc à l'origine d'effets physiologiques bénéfiques, pour l'organisme humain [49].

Tableau 2: Structures des différentes classes de flavonoïdes [50].

Classes	Structure générale	Exemples
Flavones		Position: 5 6 7 4'
		Apigénine : OH _ OH OH
		Lutéoline : OH _ OH _

Flavanes		Position: 5 7 3' 4' Catéchine: OH OH OH OH
Flavonols		Position: 5 7 3' 4' 5' Quercétine: OH OH OH OH _ Kaempférol: OH OH _ OH _ myricétine : OH OH OH OH OH
Flavanones		Position : 5 7 4' Naringèneine : OH OH OH
Isoflavanes		Position: 5 7 3' Genisteine : OH OH OH

III.1.1.2. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont de petites molécules constituées caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside [43], Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires. Les acides phénoliques sont des composés phénoliques possèdent une forme chimique simple allant du simple phénol en C6.

a) **Les acides hydroxybenzoïques** sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1. Les principaux hydroxybenzoïques (p-hydroxybenzoïque, protocatéchine, vanillique, gallique, syringique, salicylique, gentisique) (Macheix et al., 2005) (**figure 5**).

b) **Les acides hydroxycinnamiques** sont dérivés de l'acide cinnamique et représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3). Les principaux hydroxycinnamiques (p- coumarique, caféique, férulique et sinapique) [44]. (**figure 5**).

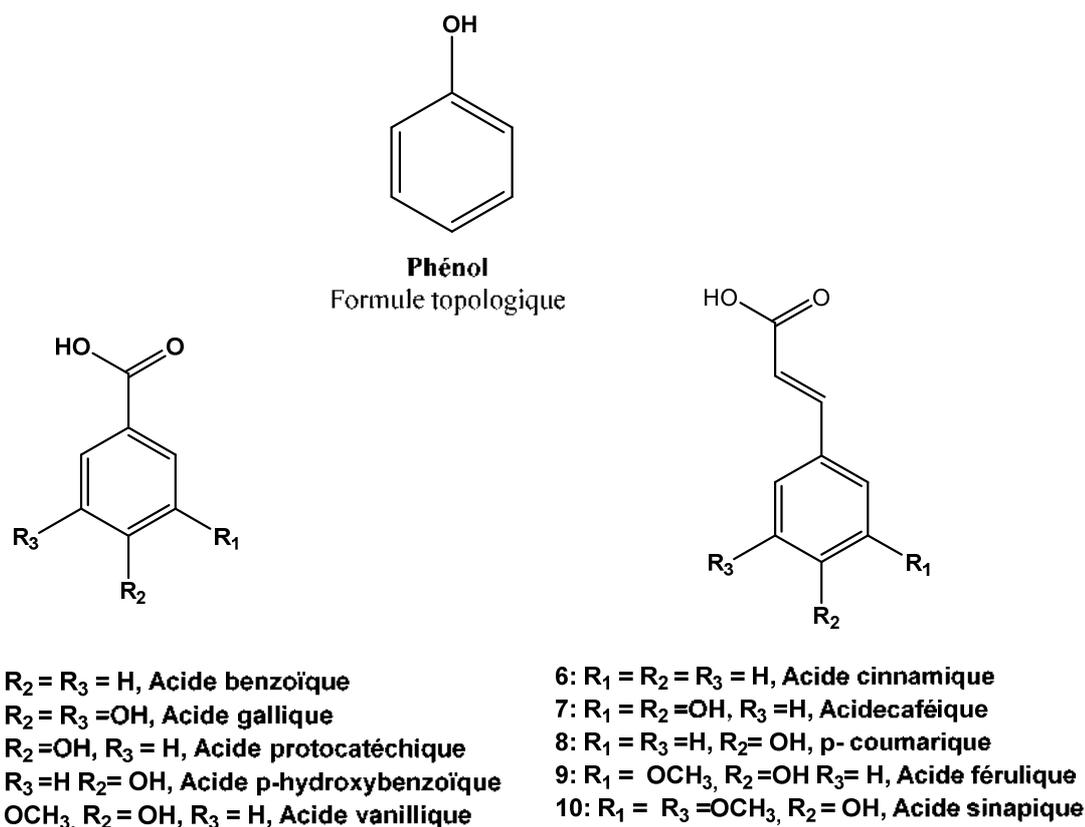


Figure 5: Structure chimiques de l'acide benzoïque (1), les principaux dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (2-5), et de l'acide hydroxycinnamique (6-10) [51].

III.1.1.3. Tanins

Les tanins sont définis comme étant des composés phénoliques de poids moléculaires élevés. Ces composés se situent dans les feuilles, les écorces, les racines, le bois, les fruits et essentiellement dans les tissus de vacuoles [52].

Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés [53] (**figure 6**).

- **Tanins hydrolysables** : Sont des hétéro polymères possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques [54].

- **Tanins condensés** : les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des polymères d'unités flavanniques, le plus souvent liées entre elles par des liaisons C4-C8. Les précurseurs sont des flavan-3ols (catéchine et épicatechine) et flavan-3,4 diols. Cette classe de tanins est la plus représentée dans le monde végétal, aussi bien chez les Angiospermes que les Gymnospermes [54].

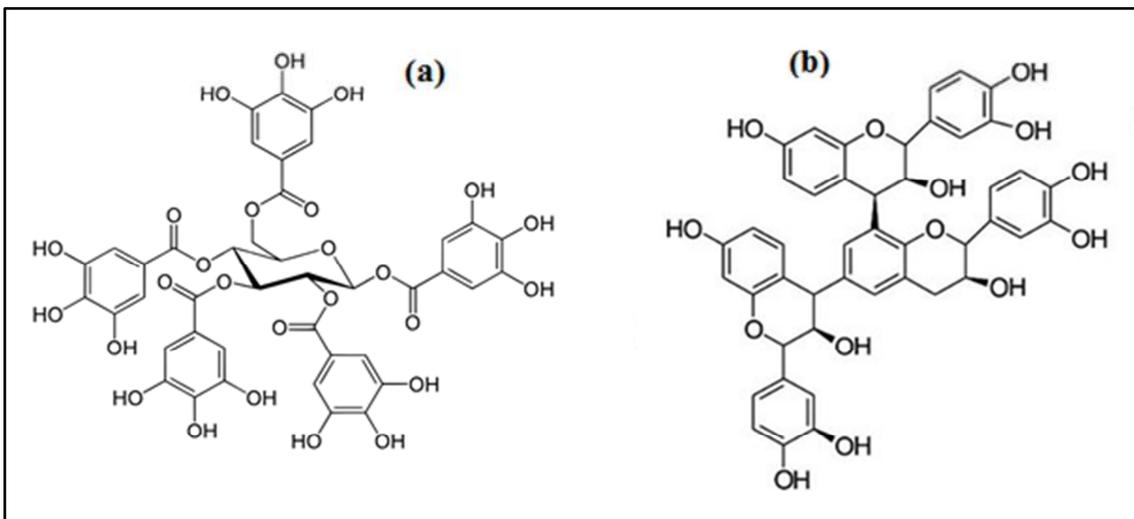


Figure 6 : Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensés.

III.1.2. Terpènes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, Ils sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine [55].

Du point de vue structural, les terpènes constituent une grande famille de composés prénologues, c'est-à-dire d'homologues à enchaînement isoprénique [56] (figure 7). La dénomination des différentes classes de molécules terpéniques repose sur le nombre de motifs isoprènes constituant leur squelette. Ainsi on rencontre: monoterpène à 10 atomes de carbone, sesquiterpène à 15 atomes de carbone, diterpène à 20 atomes de carbone, triterpène à 30, atomes de carbone etc.

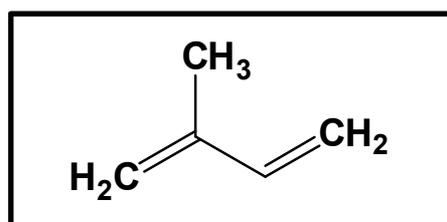


Figure 7 : Structure de base des terpènes (isoprène).

III.1.3. Stérols

Les stérols sont des stéroïdes dérivant des triterpènes, formant ainsi tout un groupe d'alcools solides. Ils sont également un constituant essentiel des membranes cellulaires. On les trouve aussi bien chez les animaux que dans les végétaux. Tous les stérols ont en commun le même noyau (**figure 8**) et ils diffèrent par la chaîne latérale [57].

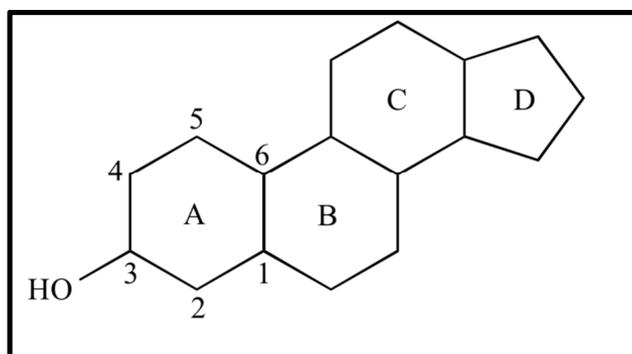


Figure 8 : Structure de base des stérols

III.1.3.1. Phytoecdystéroïdes

Les phytoecdystéroïdes constituent une famille de molécules intéressantes synthétisées et accumulées par un grand nombre de végétaux. Les phytoecdystéroïdes appartiennent à un groupe de molécules dérivées du cholestérol, groupe qui comprend aussi des hormones de plantes comme les brassinostéroïdes, des métabolites secondaires de plantes comme polyhydroxystérols. Ces phytoecdystéroïdes joueraient un rôle de défense chimique contre les insectes phytophages et certains nématodes [58].

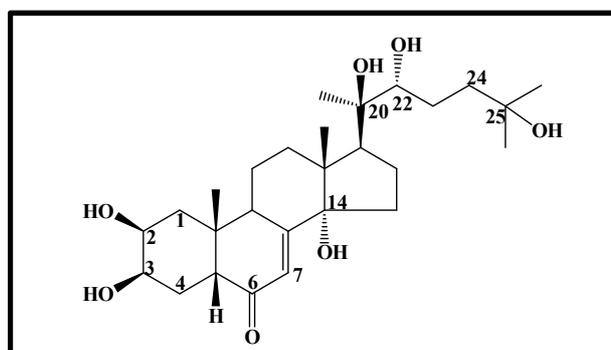


Figure 9 : Structure chimique de la 20-hydroxyecdysone (20E).

III.1.4. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotée, qui sont dérivés à partir d'acides aminés comme la tyrosine, la lysine, le tryptophane et l'acide aspartique. Ils jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les herbivores et les insectes. Ils peuvent être présents dans tous les organes de la plante. Ils existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins [59].

Au niveau cellulaire, l'action des alcaloïdes est assez variable, certains affectent le système nerveux, certains affectent la synthèse des protéines, d'autres affectent le transport membranaire et les activités enzymatiques [60].

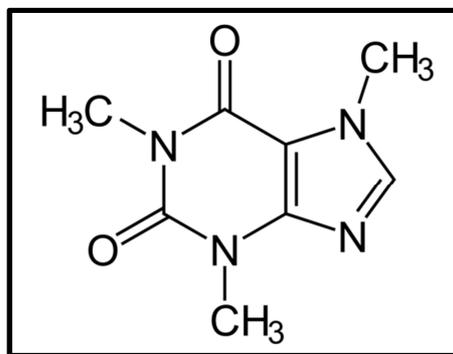


Figure 10: Structure d'un alcaloïde (caféine).

II.1.5. Anthraquinones

Les anthraquinones sont des hydrocarbures aromatiques polycycliques qui se trouvent dans la nature, chez certains animaux et plantes. L'anthraquinone est un dérivé de l'anthracène que la médecine utilise pour ses effets laxatifs dans le traitement des troubles gastrointestinaux [61].

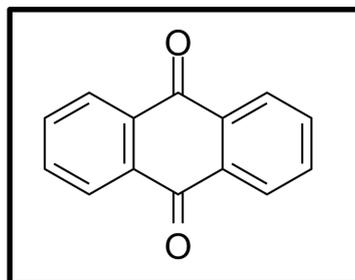


Figure 11: Structure générale des anthraquinones.

III.1.6. Saponosides

Les saponines sont des molécules naturellement produites par les plantes, elles sont structurellement composées d'un squelette porteur d'un ou de plusieurs unités de sucres. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives car ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes [62-63].

Selon la nature de la génine, aussi appelée la partie aglycone, ces saponines sont classées en deux groupes: génine stéroïdique et génine triterpénique [62], sont également classées sur la base du nombre de chaînes osidiques. Pour cette raison, nous pouvons distinguer [63, 64] :

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

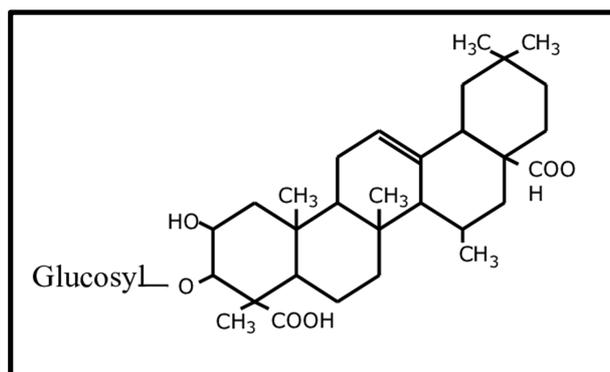


Figure 12: Structure typique des saponosides.

III.2. Métabolites secondaires isolés du genre *Silene*

Des études phytochimiques réalisées sur des espèces de genre *Silene* révèlent une grande richesse de ces dernières en métabolites secondaires possédant une diversité structurale constituées majoritairement des ecdystéroïdes [29], des saponines triterpéniques [65], ce genre est aussi marqué par l'abondance d'autres composés tels que flavonoïdes [66], anthocyanines, les triterpènes et les stérols [67-68].

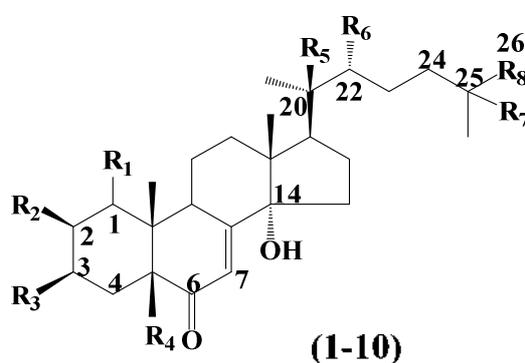
La composition chimique du genre *Silene* est très diversifiée selon une revue bibliographique réalisé par Mamadalieva ses collaborateurs [4], qui englobe toutes les structures isolés du genre.

Voici quelques exemples de molécules des principales classes de métabolites secondaires dans le genre *Silene*

III.2.1. Phytoecdystéroïdes

Les plantes du genre *Silene* sont bien connues en tant que sources riches de phytoecdystéroïdes, Plus de 93 phytoecdystéroïdes isolés de 171 espèces de *Silene* ont été regroupés dans une revue scientifique [29].

Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples de produits isolés à partir des plantes relevant de ce genre.



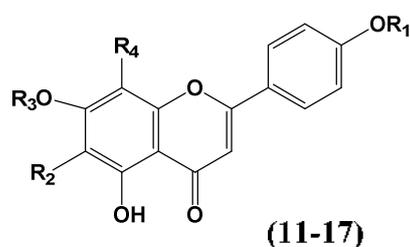
N°	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
1	H	OH	OH	H	H	OH	OH	CH ₃
2	H	OH	OH	H	OH	OH	OH	CH ₂ OH
3	H	H	OH	H	H	OH	OH	CH ₃
4	H	OH	OH	H	OH	OH	CH ₃	H
5	H	H	OH	H	OH	OH	OH	CH ₃
6	H	H	OH	H	OH	<i>O</i> -β-D-Glc	OH	CH ₃
7	H	OH	Gal(1→6)Glc	H	OH	OH	OH	CH ₃
8	H	OH	Gal(1→3)Gal	H	OH	OH	OH	CH ₃
9	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	CH ₂ OH
10	H	OH	OH	H	OH	OH	OH	CH ₂ OH

Tableau 3: Quelques Phytoecdystéroïdes isolés du genre *Silene*

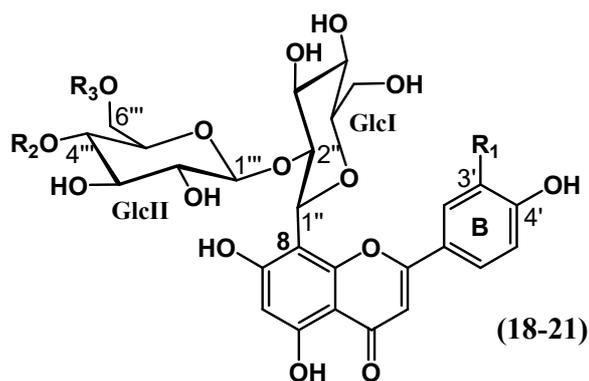
N°	Nom du composé	Espèces	Références
1	Ecdysone	<i>S. cretica</i> , <i>S. disticha</i> , <i>S. nutans</i> , <i>S. repens</i>	[29, 69, 70].
2	20,26-dihydroxyecdysone (Podecdysone C)	<i>S. nutans</i>	[69].
3	2-Déoxyecdysone	<i>S. jenseensis</i>	[71]
4	Dacryhainanstérone		
5	2-Déoxy-20- hydroxyecdysone	<i>S. praemixta</i> , <i>S. repens</i> , <i>S. jenseensis</i> <i>S. claviformi</i> , <i>S. nutans</i>	[29, 70, 71]
6	2-Déoxy-20- hydroxyecdysone- 22-O- glucoside	<i>S. nutans</i>	[69]
7	sileneoside I	<i>S. tatarinowii</i> Regel	[72]
8	sileneoside J	<i>S. tatarinowii</i> Regel	[72]
9	26-hydroxyintegristerone	<i>S. repens</i>	[73]
10	20, 26-dihydroxyecdysone	<i>S. repens</i>	[73]

III.2.2.Flavonoïdes

Plusieurs études menées sur le genre *Silene* ont permis l'isolement des flavonoïdes, nous allons citer quelques exemples de produits isolés à partir des plantes relevant de ce genre. Les différents flavonoïdes isolés sont regroupés dans les tableaux 4.



N°	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
11	CH ₃	Glc(1→2)Glc	O-Glc	H
12	H	Glc(1→2)Glc	H	H
13	H	Glc(1→2)Glc	CH ₃	C-Ara
14	CH ₃	C-Glc	CH ₃	C-Glc
15	H	C-Glc	H	H
16	H	C-Glc	H	H
17	H	C-Glc	H	H

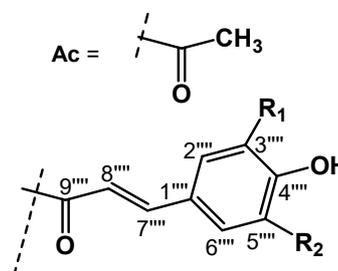


18: $R_1 = H, R_2=R_3= Ac$

19: $R_1 = H, R_2=R_3= Ac$

20: $R_1= OH, R_2= H, R_3= Fer$

21: $R_1= OH, R_2= H, R_3= Sin$



Fer : $R_1= OCH_3, R_2 = H$

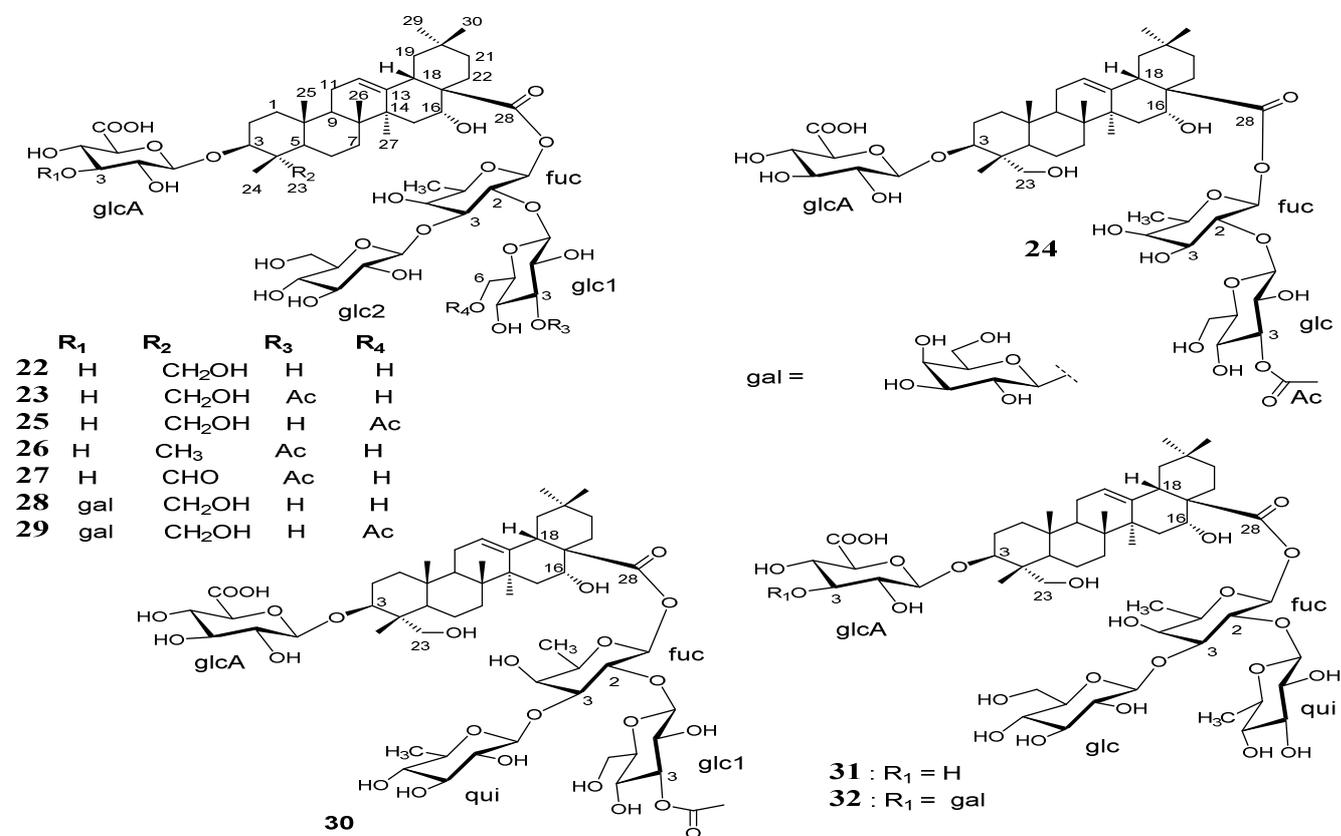
Sin : $R_1= R_2 = OCH_3$

Tableau 4 : Quelques flavonoïdes isolés du genre *Silene*.

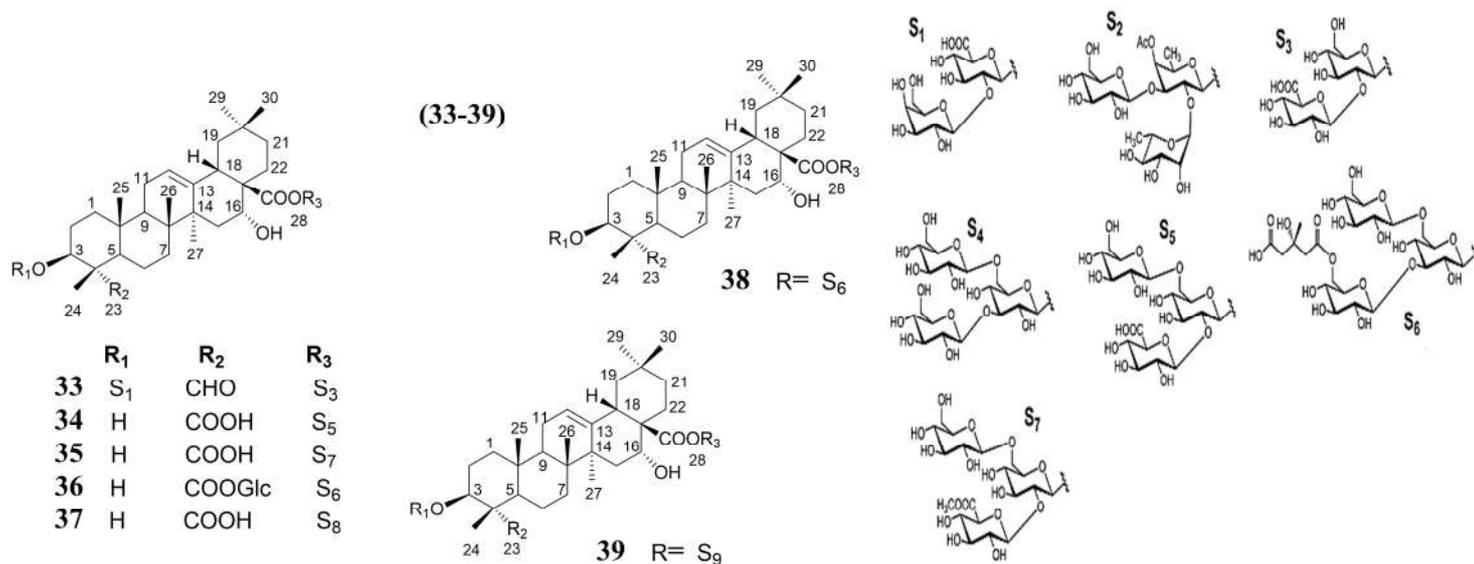
N°	Nom du composé	Espèces	Références
11	Sileneside D	<i>Silene jeniseensis</i>	
12	Sileneside E		[74]
13	Sileneside F	<i>Silene italica</i>	
14	Silenerepin	<i>Silene repens</i>	[75]
15	Schaftoside		
16	Isovitexine	<i>Silene repens</i>	[76]
17	Swertisine		
18	Vitexine 2"-O-β-D-(4''',6'''-di-acétyl)-glucopyranoside		
19	Orientine-2"-O-β-D-(4''',6'''-di-acétyl)-glucopyranoside	<i>Silene gallica</i>	[77]
20	Orientin-2"-O-β-D-(6'''-feruloyl)-glucopyranoside		
21	Orientin-2"-O-β-D-(6'''-sinapoyl)-glucopyranoside		

III.2.3. Saponosides

Onze saponines de nouvelles structures ont été isolées à partir des parties aériennes de l'espèce *silene gallica*, nommés silenegallisaponin A-K (22-32) [78].



L'étude phytochimique portant sur l'extrait n-BuOH de la plante *Silene armeria* a abouti à l'isolement de 12 saponosides dont sept (33-39), possédant de nouvelles molécules nommés armerosides A-G [79].



IV. Activités Biologiques

Le règne végétal offre une large gamme de composés présentant des activités biologiques diverses. Un certain nombre de plantes médicinales ont été consacrées pour traiter différentes maladies chez l'homme et les animaux, ceci est dû à la présence des molécules bioactives [80].

IV.1. Activité antioxydante

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire [81].

IV.1.1. Stress oxydant

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines.

Le stress oxydatif correspond à une perturbation de l'état oxydant intracellulaire, induite soit par une production excessive de molécules particulièrement nocives qui viennent de l'oxygène que nous respirons pour vivre que l'on appelle les radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défenses antioxydantes de l'organisme [82]. Ce déséquilibre peut avoir plusieurs origines, citons la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques) [82-84]. Pour rattraper les électrons célibataires, les ERO (Espèces réactives de l'oxygène) attaquent toutes molécules susceptibles de donner un électron.

Les protéines les lipides, l'acide désoxyribonucléique et l'ADN sont les cibles biologiques les plus vulnérables à cette agression, ceci a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles [85].

IV.1.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une entité chimique (atome ou molécule), possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche périphérique. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano- à la milliseconde) [84].

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, est une espèce chimique de demi vie très courte, le radical libre aura toujours remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable, il existe sous deux forme endogènes ou exogènes.

IV.1.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ERO (espèces réactives de l'oxygène). Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule [86].

IV.1.3.1. Mécanismes d'action des antioxydants [86]

Mécanisme d'action des antioxydants sont divers :

- ❖ Incluant le captage de l'oxygène singulier.
- ❖ La désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente.
- ❖ La réduction de radicaux ou de peroxyde.
- ❖ La chélation des métaux de transition.

IV.1.3.2. Principaux antioxydants

Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non enzymatiques, endogènes ou exogènes [87].

Tableau 5 : Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant [88].

Endogène		Exogène	
Enzymatique	Non enzymatique	lipophiles	hydrophiles
- Super-oxyde dismutase -Glutathion peroxydase - Catalase	- Glutathion - Albumine - Bilirubine - Coenzyme Q10 - Ac. Urique	-Vitamine E -Vitamine A -Caroténoïdes	- Polyphénols - Vitamine C - Oligoélément

IV.1.4. Principaux tests d'activité antioxydant

IV.1.4.1. Activité anti radicalaire au DPPH'

C'est le test le plus ancien des tests indirects utilisé pour la détermination de l'activité antioxydante, il peut déterminer le potentiel antioxydant des composés phénoliques individuels et de la nourriture et les échantillons d'intérêt biologique [89]. Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhyrazyl (DPPH) a été découverte en 1922 [90], a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [91], est une molécule stable soluble dans le méthanol caractérisée par sa couleur violet foncé avec un maximum d'absorption à 515 nm [89], Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote [91], lorsqu'il est réduit par un antioxydant ou une espèce radicale (par un mécanisme combinant le transfert d'un atome d'hydrogène et le transfert d'électrons), la coloration devient incolore ou jaune pâle qui pourrait être facilement surveillée avec un spectrophotomètre (figure13) [89].

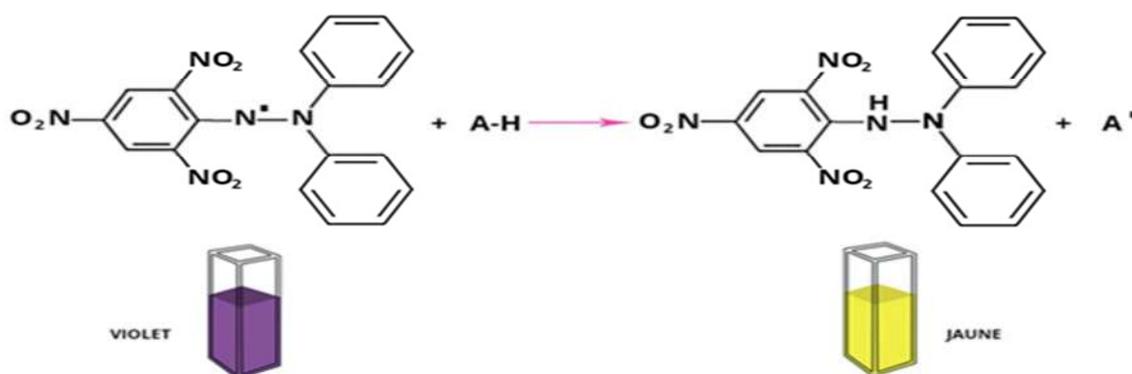


Figure 13 : Transforamtion du radical DPPH' en DPPH.

IV.1.4.2. Activité du piégeage du cation radical $ABTS^{+\bullet}$

La méthode est basée sur la capacité des composés à réduire le radical cation $ABTS^{+\bullet}$ acide 2- 2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) [92], obtenu par oxydation de l'ABTS par un oxydant « persulfate de potassium » pour donner une solution colorée en bleu vert [93], Ceci a des maximums d'absorption aux longueurs d'onde 645,734 et 815 nm. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de la consommation du radical $ABTS^{+\bullet}$ suite à l'addition d'un échantillon antioxydant. Ce dernier réagit avec $ABTS^{+\bullet}$ (en excès) par transfert d'électrons pour redonner l'ABTS incolore [94].

IV.1.4.3. Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

La méthode de CUPRAC a été développée par [95, 96]. Ce dosage est basé sur la réduction de Cu^{2+} en Cu^{+} par l'action combinée de tous les antioxydants ou réducteurs dans un milieu aqueux-éthanolique (pH 7.0) en présence de Neocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phenanthroline), par les polyphénols, donnant un complexe Cu^{+} avec un pic d'absorption maximale à 450 nm [97] (figure 14). Cette méthode peut être utilisée pour la détermination de la capacité antioxydante du constituant alimentaire par le complexe Cu^{2+} -Neocuproïne (Cu^{2+} -Nc) en tant que réactif oxydant chromogène. Le neocuproïne est un composé organique hétérocyclique et est un agent chélatant. Le dosage de CUPRAC est économique, rapide, stable, sélectif et approprié pour une variété d'antioxydants.

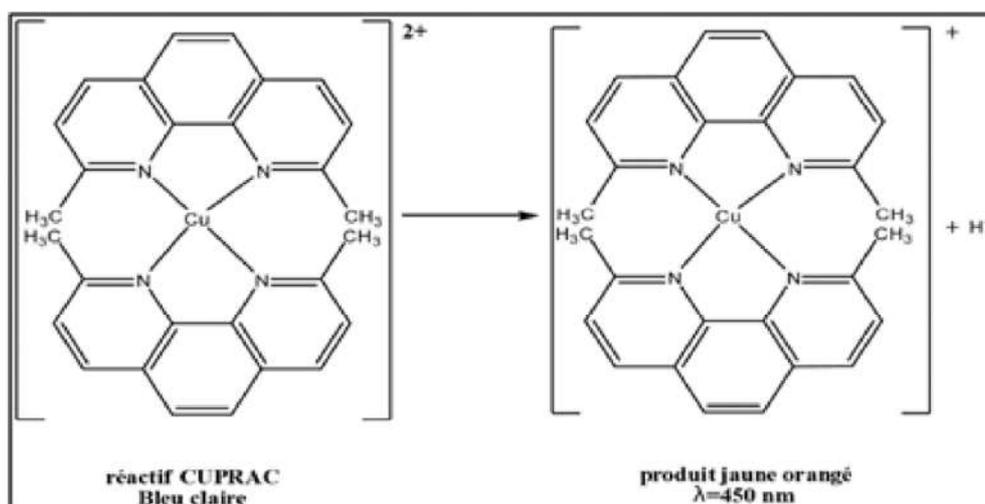


Figure 14: Réaction de CUPRAC.

IV.2. Activité antibactérienne

Les infections microbiennes ont été la principale cause de maladies tout au long de l'histoire de l'humanité [98-99]. Malgré les avancées spectaculaires, dans les recherches pharmaceutiques, l'apparition et le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques, est devenu un défi médical mondial.

Par ailleurs, les plantes possèdent un système de défense naturelle, très efficace, basé sur la biodiversité, de leurs métabolites secondaires. Cette diversité, des groupes structuraux et fonctionnels, permet de se protéger efficacement contre de nombreux pathogènes, tels que les bactéries, les champignons et les virus [100].

IV.2.1. Définition de la bactérie

Une bactérie est un microbe, formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition, entre le règne animal et le règne végétal. Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule. Certaines bactéries sont mobiles, grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies. En fonction de la technique de coloration de Gram, on distingue les bactéries Gram (+) et Gram (-) (**figure 15**).

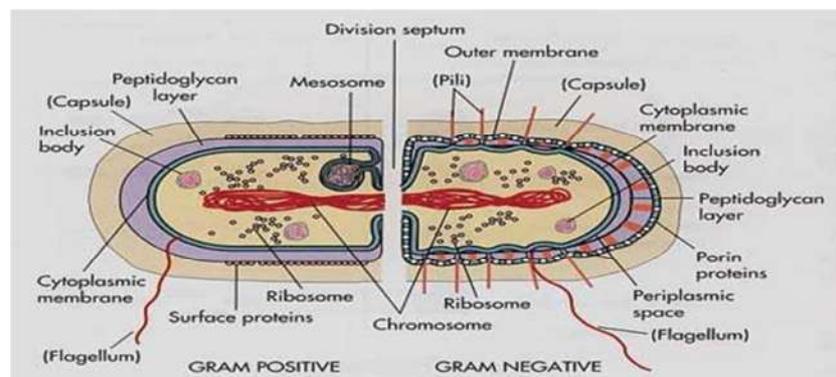


Figure 15: Structure d'une bactérie a Gram positif et Gram négatif.

IV.2.1.1. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

- **Escherichia coli** : Bacille, mobile, gram négatif, pathogène, c'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. Escherichia coli est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers [101]. (**Figure 16**)



Figure 16 : Bactérie d'*Escherichia coli*.

- **Staphylococcus aureus** : Une coccobactérie à Gram positif, catalase positive, immobile, asporulé et facultativement anaérobique, il est habituellement disposé en grappes. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore humaine et est surtout présent dans le nez et sur la peau.

IV.2.2. Antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle, semi-synthétique ou synthétique, capable à faible dose de tuer ou d'inhiber spécifiquement la croissance du germe par un mécanisme particulier jouant sur ses mécanismes vitaux [102]. Selon la structure chimique, les antibiotiques peuvent exercer leurs effets selon différents modes:

- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi : β -lactamines, glycopeptides.
- Antibiotiques altérant la membrane plasmique : polymixines, daptomycine.
- Antibiotiques inhibant la synthèse protéique (généralement par fixation sur les ribosomes): tétracyclines, chloramphénicol.
- Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques : rifampicine, etc.... [99].

Chapitre II

Matériel et méthodes

Ce travail est réalisé au niveau de laboratoire d'obtention des substances thérapeutiques « LOST » de l'Université des Frères Mentouri-Constantine 1 et au centre de recherche en biotechnologie de Constantine (CRBT).

I. Matériel végétal

La plante a été récoltée dans la région de Constantine en Mai 2016, l'identification a été faite par Mr. Kamel Kabouche. Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été coupées en petits morceaux et pesées (850 g).

II. Extraction par macération

Les parties aériennes séchées et broyées (850 g) sont soumises à une macération à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (Ethanol/Eau, 80 : 20 V/V), en répétant cette opération 3 fois avec renouvellement du solvant (3×24 h).

Après filtration afin de séparer le marc du filtrat, le filtrat est évaporé à une température n'excédant pas 40°C pour obtenir un extrait brut sec, puis dilué avec de l'eau distillé (700 mL).

La solution obtenue est laissée au repos à froid pendant une nuit pour décantation. Cette décantation permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable, etc.....

Après filtration, la phase aqueuse obtenue a subi des extractions successives liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol.



Figure 17 : Différentes étapes de l'extraction

Les quatre phases organiques récupérées sont, concentrées sous pression réduite à sec et pesées. Le protocole d'obtention de l'extrait brut ainsi que les différentes phases de la plante *Silene* est détaillé dans l'organigramme suivant (**Figure 18**).

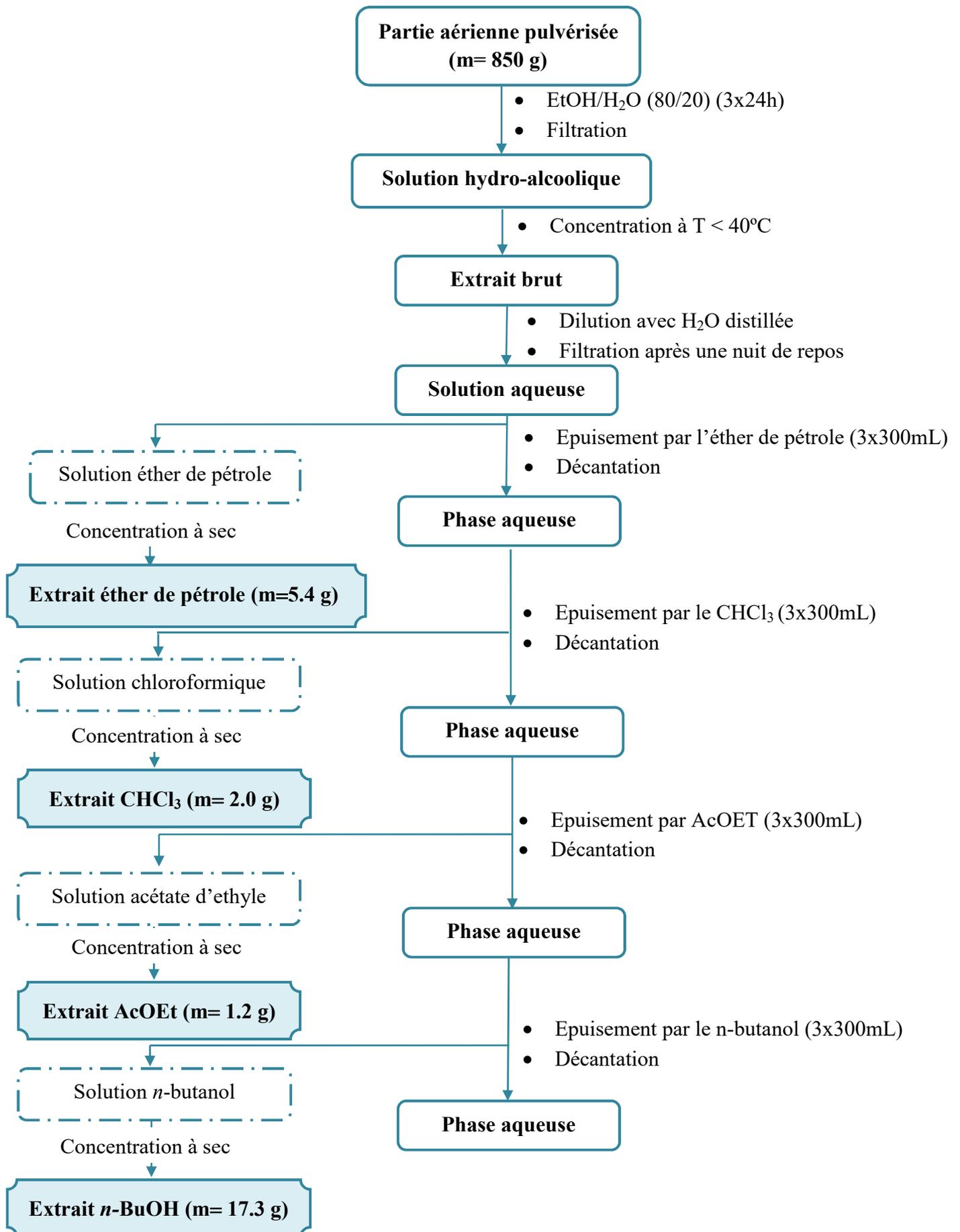


Figure 18 : Différentes étapes d'extraction des parties aériennes de l'espèce *Silene*.

III. Analyse qualitative

III.1. Test chromatographiques sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique analytique rapide, simple et économique, repose sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité. Un mélange de composés est placé sur un support solide (phase stationnaire) qui est plongé dans un solvant (phase mobile) qui, par capillarité, se déplace le long de la phase stationnaire. La phase mobile va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile [103]. Les principaux éléments d'une analyse chromatographique en couche mince sont les suivants :

✓ **La cuve chromatographique** : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.

✓ **La phase stationnaire** : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre ou en aluminium à l'aide d'un liant comme sulfate de calcium hydraté.

✓ **L'échantillon** : environ un microlitre (μl) de solution diluée (2 à 5%) du mélange à analyser, déposé en un point repère située au-dessus de la surface de l'éluant. Une ligne de dépôt est tracée à 1,5 cm du bord de la plaque.

✓ **L'éluant** : un solvant pur ou un mélange de deux ou trois solvants selon l'échantillon à tester et le type de séparation souhaitée, il migre lentement le long de plaque en entraînant les composants de l'échantillon [103].

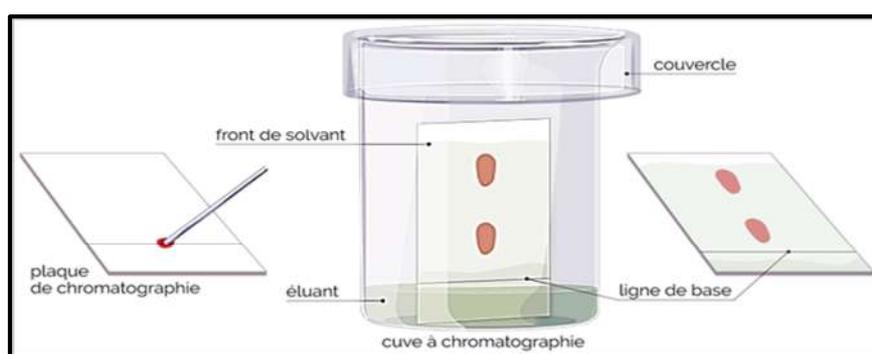


Figure 19 : Chromatographie sur couche mince.

Dans un premier temps, les phases obtenues ont été analysés par chromatographiques sur couche mince (CCM) pour avoir une idée générale sur leurs compositions et leurs richesses en métabolites secondaires. Les tests sont réalisés sur des plaques prêtes à l'emploi à support

en aluminium en phase normale Kieselgel 60 F254 Merck, 250 μm (20 x 20 cm).

Deux systèmes de solvant ont été utilisés :

- ✓ **Système 1** : (Hexane/AcOEt) (8/2) (v/v).
- ✓ **Système 2** : (AcOEt/MeOH/H₂O) (10/1/0.5) (v/v).

III.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence des composés chimiques qui se trouvent dans un produit végétal donné. Ces composés sont divisés entre métabolites primaires et secondaires. La présence de ces derniers est testée par la formation d'un précipité et/ou changement de coloration du milieu en utilisant des réactions en solution à l'aide de réactifs spécifiques. Ces techniques permettent de déceler, la présence des produits appartenant à des classes de composés physiologiquement actifs ; notamment les stérols et triterpènes, les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes, les stéroïdes, les anthraquinones, les tannins et les saponosides [104].

Les différents tests réalisés sur les extraits CHCl₃, n-BuOH, AcOEt de l'espèce *Silene* sont les suivants :

A) Test des flavonoïdes

Test de Shinoda: Une petite quantité de l'extrait a été dissoute dans 5 ml d'éthanol à 95%(v/v) puis traitée avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique HCl concentré et 0.5g de copeau de magnésium. L'apparition d'une couleur rose ou magenta en 1 ou 2 min indique la présence des flavonoïdes [105].



Figure 20: Test des flavonoïdes.

B) Test des saponosides

Test à la mousse : On a dissout quelques milligrammes de chaque extrait dans 1 ml d'eau et quelques milligrammes de bicarbonate de sodium placés dans un tube à essai, on a agité

vigoureusement, on a laissé reposer le tube pendant 10 minutes, la persistance de mousse après 10 minutes indique la présence des saponosides.

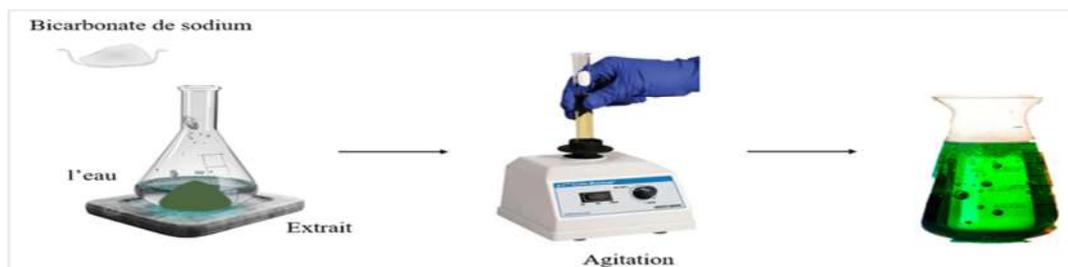


Figure 21: Test des saponosides.

C) Test des terpènes

La mise en évidence des terpènes est fondée selon la réaction de Liebermann-Burchard. On a additionné à chaque extrait 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme, après dissolution, on a transféré les solutions dans des tubes à essai auxquels on a ajouté 1ml d'acide sulfurique concentré. La réaction est effectuée à froid. La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, avec coloration de la couche du surnageant de vert ou de violet, traduit la présence des terpènes [106].

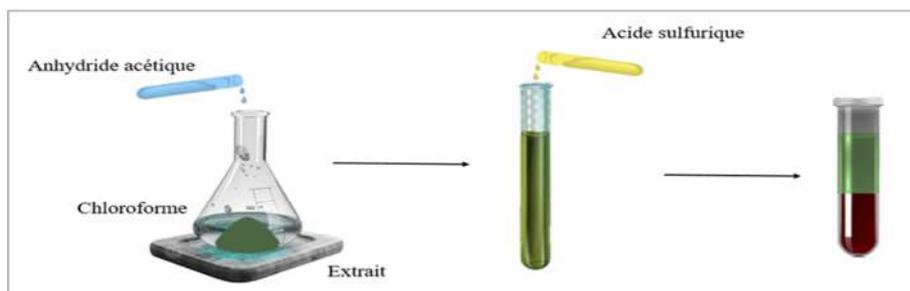


Figure 22: Test des terpènes.

D) Test des protéines

Test de Biuret : On a mis quelques mg d'extrait dans l'eau et on a ajouté 1ml de sulfate de cuivre (CuSO_4) 4%, si la couleur violet claire à rose apparait cela indique la présence de protéine [107].



Figure 23: Test des protéines.

E) Test des anthraquinones

On a dissout quelques milligrammes de chaque extrait dans 1 ml du mélange éther de pétrole/chloroforme (1:1, v/v). On a traité la solution obtenue avec 1 ml de soude NaOH (10%). L'apparition de la couleur rouge indique la présence des anthraquinones [108].

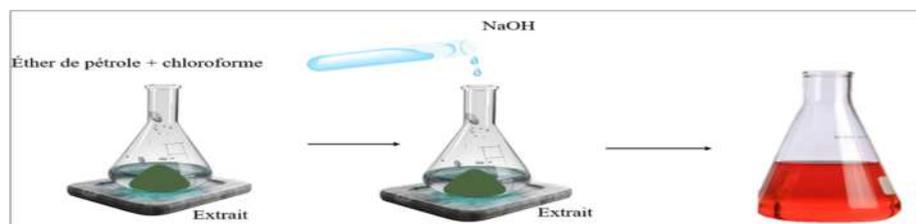


Figure 24: Test des anthraquinones.

F) Test des stérols

Test de Salkowski: la détection des stérols est fondée selon la réaction de Salkowski, Quelques mg de l'extrait est mis dans 2 ml de chloroforme, ensuite on ajoute 2 ml d' H_2SO_4 concentré dans le tube à essai. On le secoue et on le laisse quelques minutes L'apparition de la couleur rouge dans la couche chloroforme indique la présence des stérols [109].

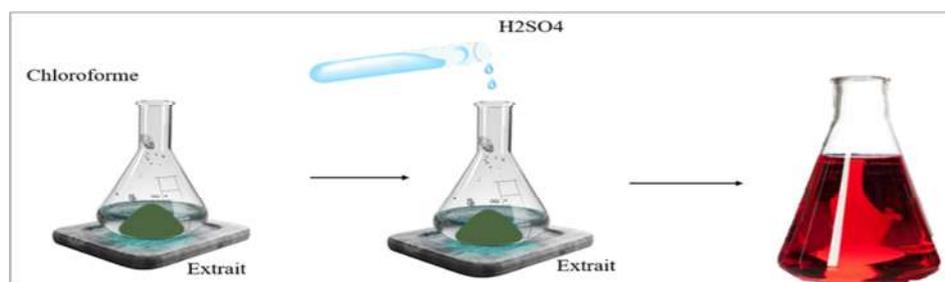


Figure 25: Test des stérols.

G) Test des tanins

On a ajouté à 1 ml de chaque filtrat, quelque goutte de solution de $FeCl_3$ diluée à 5% dans l'éthanol 90%. L'apparition d'une coloration verte indique la présence des tanins.

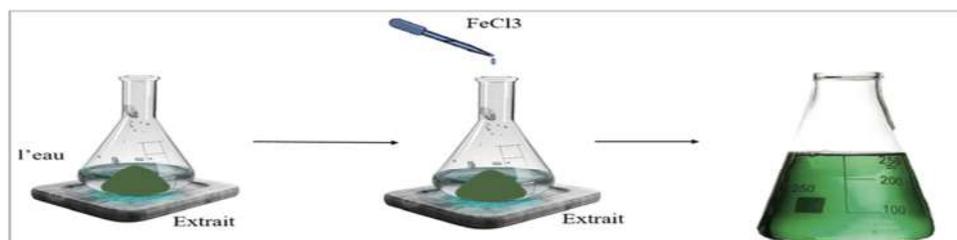


Figure 26: Test des tanins.

H) Test des sucres

D'une manière générale, le terme sucre est souvent utilisé pour désigner les glucides ; par exemple, le glucose est qualifié de « sucre simple » et l'amidon de « sucre complexe [110]. Dans un tube à essai, on a ajouté 1 ml du réactif de Fehling à 1 ml de l'extrait dissout dans 1 ml de Méthanol. On a incubé le mélange pendant 8 minutes dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres.

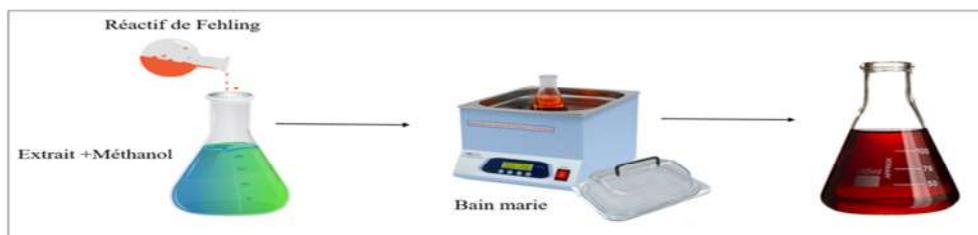


Figure 27: Test des sucres

I) Test des alcaloïdes.

Test de Wagner : quelques mg d'extrait sont dissouts dans 5ml de HCl (1.5%) puis filtré. Le filtrat est ensuite traité avec le réactif de Wagner (1,7 g d'iode avec 2 g d'iodure de potassium sont dissous dans 5ml d'eau et complétés avec l'eau jusqu'à l'obtention de 100 ml de solution). La formation d'un précipité brun indique la présence d'alcaloïdes [111].

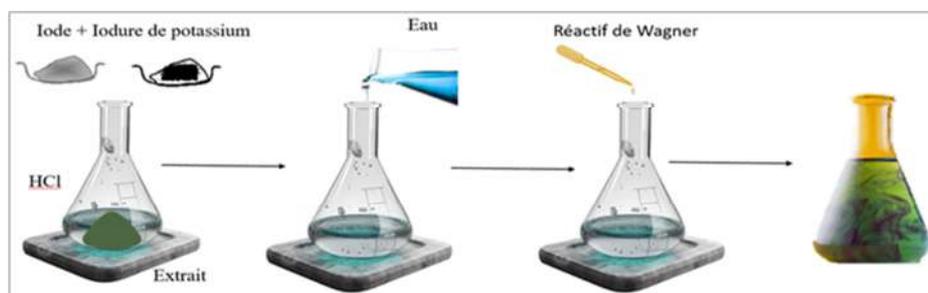


Figure 28: Test des alcaloïdes.

III.3. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP) analytique

La chromatographie liquide haute performance (CLHP ou HPLC) est une forme spécifique de la chromatographie sur colonne généralement utilisée pour séparer, identifier et quantifier les composés [112], utilisée en analyse quantitative et qualitative, principalement dans le domaine de la chimie analytique.

Principe général : CLHP utilise principalement une colonne qui contient la phase stationnaire, une pompe qui déplace la phase mobile à travers la colonne et un détecteur qui décèle le passage de chaque molécule à la sortie de la colonne. Le temps de rétention varie en

fonction des interactions entre la phase stationnaire, les molécules analysées et le ou les solvants utilisés. L'échantillon à analyser est introduit en petit volume dans le flux de phase mobile et est retardé par des interactions chimiques ou physiques spécifiques avec la phase stationnaire. Le retard dépend de la nature de l'analyte et de la composition des phases stationnaire et mobile [112].

L'analyse qualitative des composés phénoliques présents dans l'extrait AcOEt et *n*-BuOH de l'espèce *Silene* a été réalisée par CLHP SHIMADZU SPD-10A (figure 29).



Figure 29: chromatographe liquide à haute performance (CLHP SHIMADZU SPD-10A).

Les conditions opératoires utilisées dans notre analyse sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 6: Condition opératoire de l'analyse CLHP analytique.

Paramètres	Type /valeur
Colonne	Colonne RESTEK ultra C18 d'un diamètre interne de 4,6 mm.
Détecteur	SPD-20 prominence UV/VIS detector (SHIMADZU) ($\lambda=254$ nm).
Débit	0.8 mL/min
Volume d'injection	20 μ L.
Température	30°C.
Concentration de l'échantillon	10 mg/mL
Temps d'analyse	35 min
Phase mobile	A : H ₂ O, B : acétonitrile (ACN) Système d'élution gradient de 5% ACN \rightarrow 100% ACN
Logiciel informatique	Lab Solution est utilisé pour visualiser et enregistrer les signaux détectés par le détecteur (chromatogramme).

IV. Analyse quantitative

IV.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par spectrophotométrie en utilisant la méthode colorimétrique (Folin-Ciocalteu), dans laquelle on utilise le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) selon une méthode de dosage sur microplaque [113].

Le réactif de Folin-Ciocalteu, constitué d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) lors de l'oxydation des phénols. La coloration bleue issue de la réaction est proportionnelle à la quantité totale en polyphénols présent dans l'échantillon. Elle est quantifiée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm.

➤ Protocol expérimental

Préparation de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5%

7,5 g de Na_2CO_3 sont dissouts dans 100 mL d'eau distillé.

Préparation de l'extrait de plante

Une masse de 1 mg de chaque extrait est dissoute dans un volume de 1 mL de Méthanol.

Préparation de Folin-Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois

2 mL de la solution FCR concentré (2M) est complété à 20 mL avec l'eau distillée.

➤ Mode opératoire

400 μ L d'extrait de plante est mélangé avec 2 mL de FCR dilué (1 :10) et de 1,5 mL de carbonate de sodium (7,5%). Après un repos de 2h à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).



Figure 30: Protocole de dosage des polyphénols totaux.

La teneur de polyphénols totaux, est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique est exprimée en mg équivalents d'acide gallique pour 1g d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

IV.2. Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Principe

La teneur en flavonoïdes totaux a été évaluée en utilisant la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium AlCl_3 . Le réactif AlCl_3 forme en effet avec les groupements hydroxyles du flavonoïde un complexe très stable de coloration jaune qui absorbe à une longueur d'onde de 415 nm [114]. Avec une légère modification.

➤ Mode opératoire

Pour un volume de 1 ml d'échantillon on ajoute 1 mL de la solution méthanolique d' AlCl_3 (2%). Après 1 heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 415nm. La teneur de polyphénols totaux, est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine est exprimée en μg d'équivalent de Quercétine (QE) par mg d'extrait.

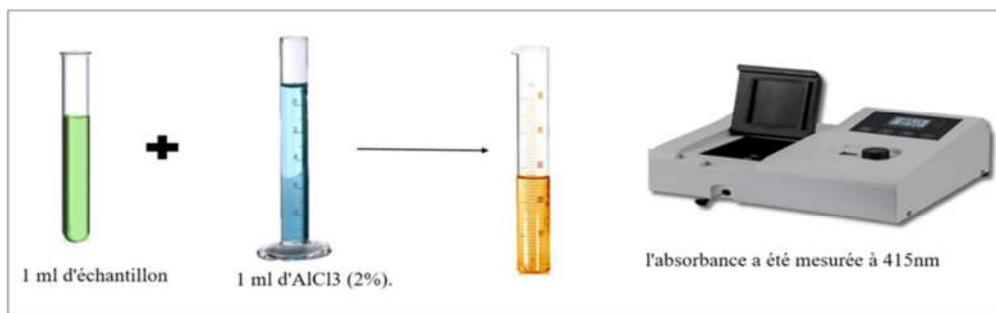


Figure 31: Protocole de dosage des flavonoïdes.

V. Evaluation des activités biologiques in vitro

V.1. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits AcOEt et n-BuOH de la plante *Silene* a été réalisée par trois méthodes : Piégeage du radical libre DPPH ; piégeage de l'ABTS ; la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC). L'activité antioxydante des extraits testés a été comparée à celle du BHA ((butylhydroxyanisole) est utilisé comme standard antioxydant. La lecture a été faite à l'aide d'une lecture de microplaque BioTek ELX. 808.

V.1.1. Test de piégeage du radical DPPH[•]

L'activité du DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Blois [115] avec une légère modification. Le test consiste à mettre le radical du DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette, en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire en 2,2diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune.

Dans une microplaque à 96 puits de volume 200 μL , 40 μL de différentes concentrations (3.125 à 200 $\mu\text{g/mL}$) de chaque échantillon testé ont été déposés puis on ajoute à chaque puits, 160 μL d'une solution méthanolique de DPPH (est préparée par solubilisation de 6 mg de DPPH dans un volume de 100 mL de méthanol sous l'agitation puis gardé à l'abri de la lumière). Le contrôle négatif (blanc) est préparé en parallèle, en mélangeant 40 μL du méthanol avec 160 μL d'une solution méthanolique de DPPH. Après incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min, l'absorbance a été mesurée à 490 nm en utilisant une lecture à microplaque.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH selon la formule :

$$I (\%) = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

I (%) : pourcentage d'inhibition.

A_C : Absorbance en absence de l'extrait (contrôle négatif).

A_E : Absorbance en présence de l'extrait.

V.1.2. Test de piégeage du cation radical ABTS^{•+}

L'analyse spectrophotométrique de l'activité de piégeage de l'ABTS^{•+} a été déterminée selon la méthode [92].

L'ABTS^{•+} a été produit par la réaction entre 7 mM ABTS avec 5 mL H₂O et 2,45 mM de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) avec 5 mL H₂O, les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12-16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H₂O) à 0,700 ± 0,020 à 630 nm avant l'usage.

Ensuite 40 μL de différentes concentrations de chaque échantillon testé ont été déposés sur une microplaque à 96 puits, puis on ajoute à chaque puits, 160 μL de la solution ABTS^{•+}. Un blanc est parallèlement préparé suivant le même protocole tout en remplaçant l'échantillon testé par le méthanol. Après 10 minutes après 10 min l'absorbance a été mesurée à 630 nm en utilisant un lecteur de microplaque à 96 puits.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (%) du radical ABTS par l'équation suivante :

$$ABTS^{•+} \% \text{ d'inhibition} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

$A_{\text{contrôle}}$: Absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

V.1.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

La réduction cuprique a été déterminée par la méthode CUPRAC décrite par [95]. Cette méthode est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe cuivre (Cu^{+2}), néocuproïne (NC) Cu^{+2} -Nc. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproïne est réduit et cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450 nm [116].

Dans chaque puits un volume de 40 μL d'échantillon est ajouté à 60 μL d'acétate d'ammonium préparé dans l'eau distillée, ensuite le tout est mélangé avec 50 μL d'une solution aqueuse du Chlorure de cuivre ($\text{CuCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$) et 50 μL d'une solution éthanolique du néocuproïne. Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un agitateur de microplaque, puis incubé durant une heure. L'absorbance est mesurée à 450 nm par un lecteur de microplaque.

V.2. Activité antibactérienne

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie centre de recherche CRBt de Constantine.

L'activité antibactérienne *In vitro* vis à-vis des différentes souches bactériennes *Staphylocoque aureus* (ATCC25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), est réalisée par La méthode des puits. Les caractéristiques générales des bactéries utilisées sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 7: Caractéristiques générales des bactéries utilisées.

Nom de la souche	Gram	Famille
<i>Escherichia Coli</i>	Négative	Enterobacteriaceae
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Positive	Micrococcaceae

➤ Mode opératoire

✚ **Préparation de l'extrait :** Dans le cadre de cette étude, des dilutions successives de l'extrait ont été préparées pour évaluer son activité biologique. Pour cela, 1 ml de DMSO a été ajouté à un eppendorf contenant 200 mg de l'extrait, en utilisant le vortex, afin obtenir une solution mère homogène pour faire plusieurs dilutions.

Les dilutions successives ont été réalisées selon un facteur de 2, en diminuant la concentration de moitié à chaque étape. Ainsi, les dilutions suivantes ont été obtenues: 100 mg/ml, 50mg /ml, 25 mg/ ml et enfin 12,5 mg/mL.

Tableau 8: Les différentes concentrations des dilutions de l'extrait.

Extrait C (mg/mL)	Solution mère	Dilution 1	Dilution 2	Dilution 3	Dilution 4
Extrait brut	200	100	50	25	12,5

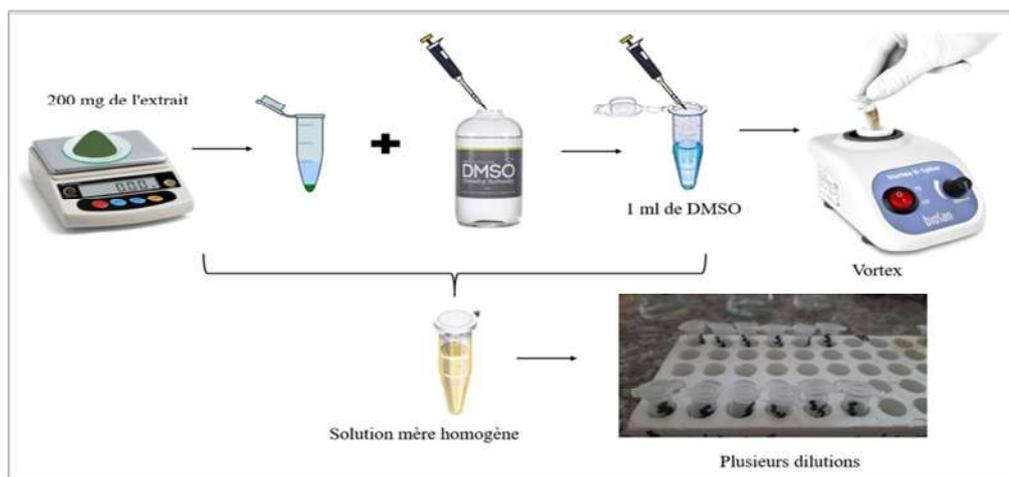


Figure 32: Les étapes de la préparation de l'extrait.

- ✚ **L'aromatogramme** : l'aromatographie est une méthode réalisée *in vitro*, basée sur la technique antibactérienne (diffusion en milieu gélosé) où on a effectué la méthode des puits.
- ✚ **Revivification des souches** : Dans des conditions stériles, les souches de référence ont été repiquées sur milieu liquide (bouillon nutritif), et incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures afin de favoriser leur multiplication rapide. Ensuite, un deuxième repiquage a été effectué par la méthode d'ensemencement en quadrant sur des boîtes de pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches microbiennes utilisées (Chapman pour *Staphylococcus aureus*, gélose nutritive pour *Escherichia coli*). Cette approche visait à obtenir des colonies jeunes, bien isolées et représentatives des souches microbiennes étudiées.

✚ **Technique d'aromatogramme**

Préparation de l'inoculum bactérien : Après 24 heures d'incubation des souches testées, des colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques de chaque souche ont été prises à l'aide d'une anse de platine et transférées dans des tubes contenant 10 mL d'eau physiologique stérile 0.9% NaCl. L'inoculum ainsi obtenu est homogénéisé avec un vortex de telle manière à obtenir une turbidité égale à celle de l'étalon Mc Farland 0,5.

Préparation des milieux de cultures :

Pour tester l'activité antibactérienne de l'extraits sur les souches obtenues, le milieu de culture Mueller Hinton a été fondu dans un bain marie à 95C° puis coulé dans des boîtes de pétri (4 mm d'épaisseur), et le laissé sécher.

L'ensemencement :

La technique d'ensemencement d'écouvillonnage vise à favoriser la multiplication des bactéries sur un milieu nutritif lorsqu'elles proviennent d'un milieu à faible concentration. Les bactéries sont prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile et l'ensemencement des boîtes de Mueller Hinton par la méthode des quatre quadrants consiste à beurrer un milieu nutritif solide pour obtenir une culture bactérienne abondante.

La méthode des puits :

La méthode des puits consiste à faire un trou circulaire de 7 mm de diamètre dans le milieu de Mueller Hinton ensemencé par des bactéries utilisées à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Six puits pour chaque souche ont été effectués dont 5 sont remplis par 50 μ L des cinq concentrations (200, 100, 50, 25 et 12.5mg/mL) de l'extrait testé, et le sixième par 50 μ l de DMSO comme un témoin, à l'aide d'une micropipette stérile, tous les tests ont été répétés trois fois. Les boîtes ont été incubées dans des étuves à la température de 37 °C pendant 24 h.

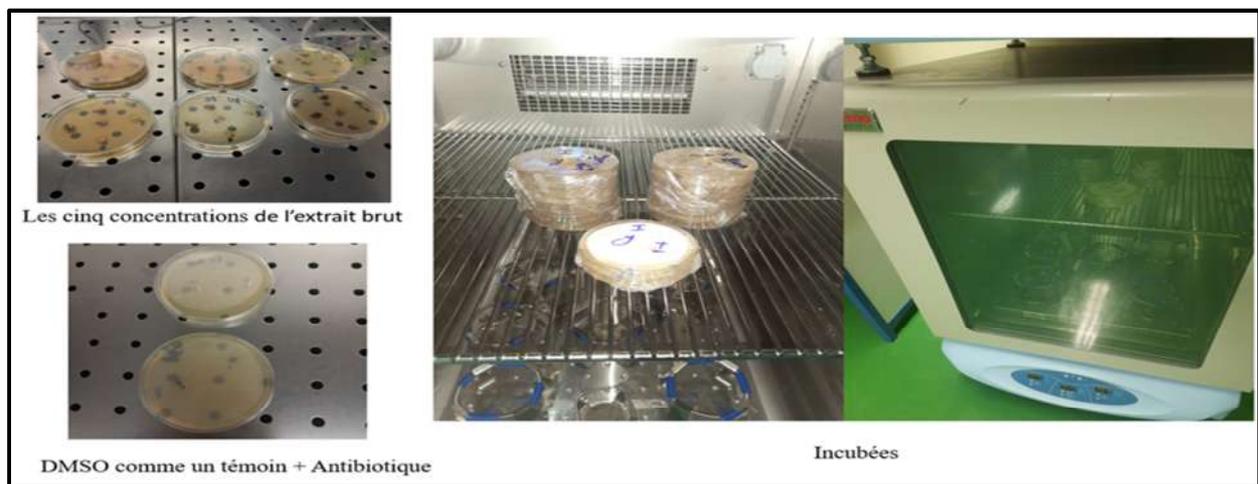


Figure 33: La méthode des puits.

La lecture est obtenue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied de coulisse; les bactéries sont considérées comme sensibles, résistantes ou intermédiaires.

Chapitre III

Résultats et discussion

I. Rendement des extraits

Les rendements relatifs d'extraction sont calculés comme étant le rapport entre la masse d'extrait brut obtenue et la masse de matière végétale initiale (poudre sèche) et étaient exprimés en pourcentage. La formule de calcul ci-dessous a été utilisée.

$$R(\%) = \frac{\text{Masse de l'extrait obtenu}}{\text{Masse de la poudre végétale}}$$

Les masses et les rendements d'extraction sont mentionnés dans (**Tableau 9**)

Tableau 9: Rendement des phases de l'espèce *Silene*.

Phases	Masse (g)	Rendement (%)
Ether de pétrole	5.4	0.63
Chloroformique	2.0	0.23
Acétate d'éthyle	1.2	0.14
<i>n</i> -Butanol	17.3	2.03

II. Résultats de l'analyse qualitative

II.1. Tests chromatographiques sur couche mince (CCM)

Après développement et l'évaporation du solvant de migration les taches sont visualisées sous UV (254 et 365 nm), avant révélation par la vanilline sulfurique, les résultats des tests CCM sont présentés ci-dessus (figure 34) :

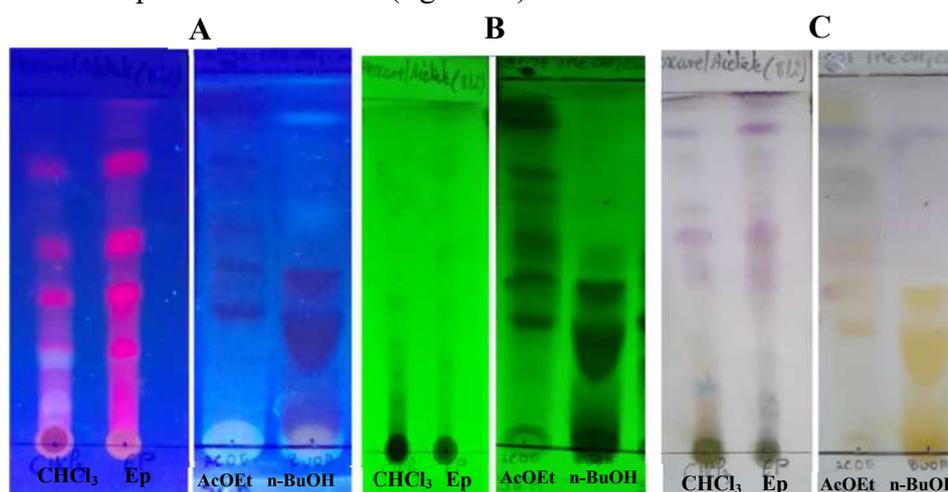


Figure 34: Chromatographie sur couche mince (CCM). A- sous UV à 365 nm, B - sous UV à 254 nm, C - révélé par la vanilline sulfurique.

Ces tests ont montrés que les extraits AcOEt et BuOH sont les plus riches en composés.

II.2. Criblage phytochimique qualitatif

Les tests phytochimiques réalisés sur la plante *Silene* ont permis de détecter les différentes classes de composés existant dans les trois extraits étudiés par des réactions qualitatives de caractérisation. Pour identifier spécifiquement la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires, nous avons fait des tests qualitatifs physico-chimiques basées sur des phénomènes de précipitation ou de changement de couleur par des réactifs spécifiques, effectués sur les trois extraits (AcOEt , *n*-BuOH et CHCl₃) de la plante *silene*. Les résultats obtenus sont évalués comme suit et sont consignés dans le tableau 10

Tableau 10: Résultats de la phytochimie qualitative de la plante *Silene*.

Classes de composés	Aspect du test	Acétate d'éthyle	<i>n</i> - butanol	chloroforme
Flavonoïdes		+++	+++	+
Saponosides		++	+++	-
Terpènes		+	+	-
Protéines		-	-	-

Anthraquinones		++	+	-
Stérols		+++	+++	+++
Tanins		+++	+++	+++
Sucres		-	-	-
Alcaloïdes		+++	+++	+++
+++ : Fortement positif, ++ : Moyennement positif, + : faiblement positif, - : négatif.				

D'après le tableau ci-dessus, ces résultats indiquent que les extraits de la plante examinée présentent des variations dans leur composition chimique.

Le screening phytochimique des trois extraits de la plante *Silene* révèle la présence des stérols, des tanins et des alcaloïdes les flavonoïdes dans les trois extraits. Tandis que les saponosides et les terpènes et les anthraquinones se présentent uniquement dans les extraits d'acétate d'éthyle et n- butanol. En revanche, une absence totale des protéines et des sucres dans les trois extraits. Ces résultats sont en cohérence avec ceux obtenus par des études

menées sur l'espèce *Silene macrosolenpar* par Ateshim et ses collaborateurs, ont indiqué la présence des phénols, tanins, saponosides, flavonoïdes dans les extraits étudiés [117].

Des travaux effectués par El amri et ses collaborateurs, ont permis de mettre en évidence la présence des stérols, stéroïdes, alcaloïdes, tannins, flavonoïde dans l'espèce *Silene vulgaris* [118]. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus) sont en accord avec nos résultats.

Le screening phytochimique a mis en évidence la richesse des extraits obtenus à partir de cette plante de *Silene* en métabolites secondaires associés à diverses activités biologiques. Il s'agit notamment du groupe de composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes qui sont connus pour leur activité antioxydante.

II.3. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

Les extraits Acétate d'éthyle et n-butanol de l'espèce *Silene* ont été analysés par CLHP analytique, afin de comparer leurs profils chromatographiques (figures 35 et 36) avec ceux des standards afin d'identifier les structures des composés présents dans ces extraits.

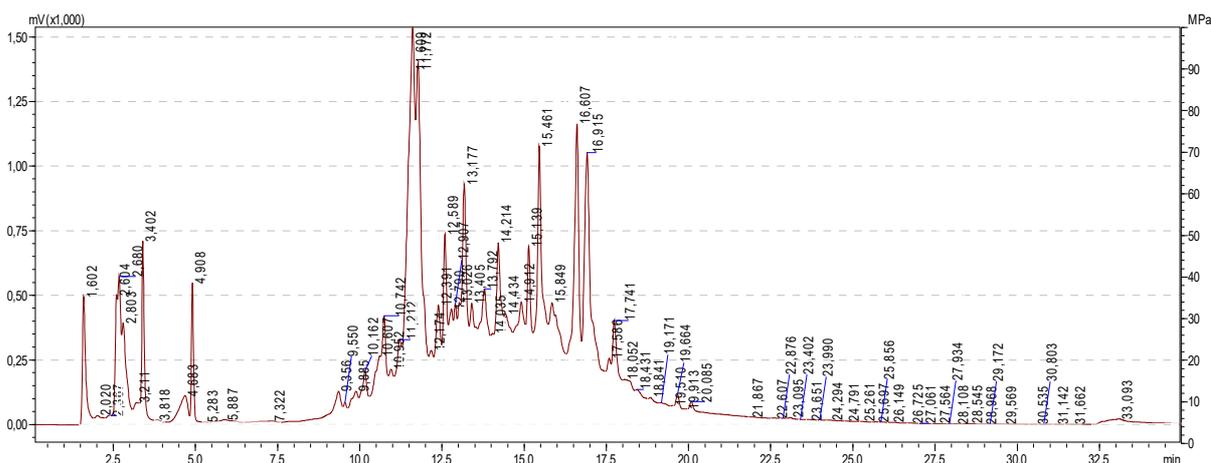


Figure 35: Profil HPLC (λ=254 nm) de l'extrait Acétate d'éthyle.

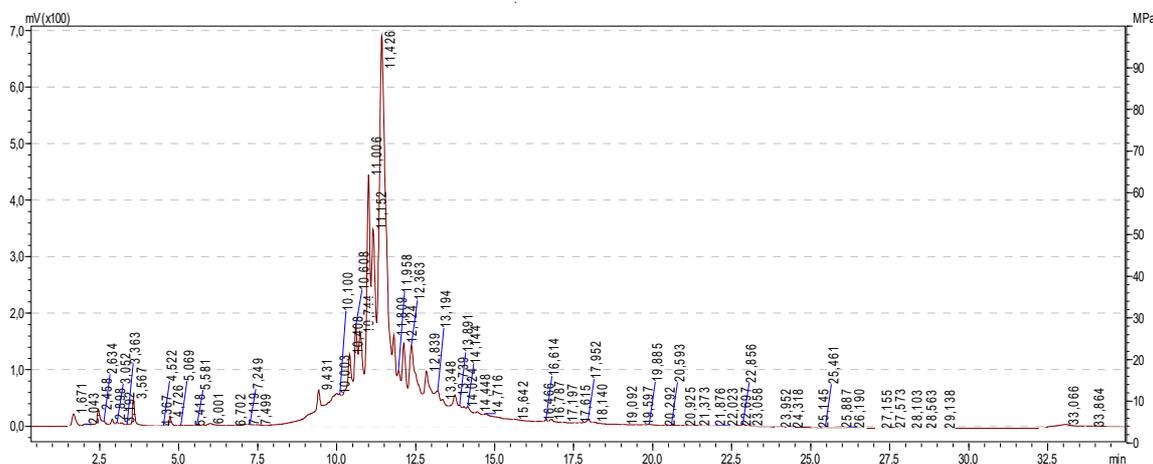


Figure 36: Profil HPLC (λ=254 nm) de l'extrait n-BuOH.

L'identification se base généralement, par la comparaison de temps de rétention des pics du chromatogramme de chaque extrait à celui de standard pur. Pour effectuer cette analyse, nous avons sélectionné 18 composés phénoliques comprenant des flavonoïdes et des acides phénoliques, en tant que standards. Leurs temps de rétention sont présentés dans le tableau 11. Après avoir comparé les temps de rétention de nos extraits avec ceux des témoins, les résultats sont présentés dans le tableau 11.

Tableau : Les composés phénoliques identifiés dans les deux extraits AcOEt et n-BuOH.

N°	Composés phénoliques	tr (min)	Extrait AcOEt Présent/ tr (min)	Extrait n-BuOH Présent/tr (min)
1	Acide chlorogénique	4.94	(+)/ 4.91	(-)
2	Rutine	11.07	(-)	(-)
3	Isorammnetine-3- <i>O</i> - β -Robinobioside	11.35	(-)	(-)
4	Catéchine	11.41	(-)	(+)/ 11.42
5	Lutéoline- 4'- <i>O</i> -glucoside	11.84	(-)	(+)/ 11.81
6	Myrcetrine-7- <i>O</i> -glucoside	12.03	(-)	(-)
7	Myricétine-3- <i>O</i> - β -galactopyranoside	12.33	(-)	(+)/ 12.36
8	acide caféique	12.50	(-)	(-)
9	Hespéridine	12.60	(+)/ 12.59	(-)
11	Acide syringique	12.80	(-)	(-)
12	Quercétine	12.99	(-)	(-)
13	Cannabisine A	13.19	(+)/ 13.17	(-)
14	Acide p-coumarique	13.92	(-)	(-)
15	Acide sinapique	14.03	(-)	(-)
16	Lutéoline	14.25	(+)/ 14.21	(-)
17	Kaempférol	17.51	(-)	(-)
18	Hespéretine	17.81	(-)	(-)

Ainsi, grâce à l'authentification par la technique CLHP en présence de standard nous avons pu identifier pour l'extrait acétate d'éthyle 4 composés dont un acide phénolique (Acide chlorogénique) et 3 flavonoïdes (Hespéridine, Cannabisine A, Lutéoline).

L'extrait *n*-BuOH semble contenir 3 flavonoïdes comme étant la catéchine, Lutéoline-4'-*O*-glucoside, Myricétine-3-*O*- β -galactopyranoside.

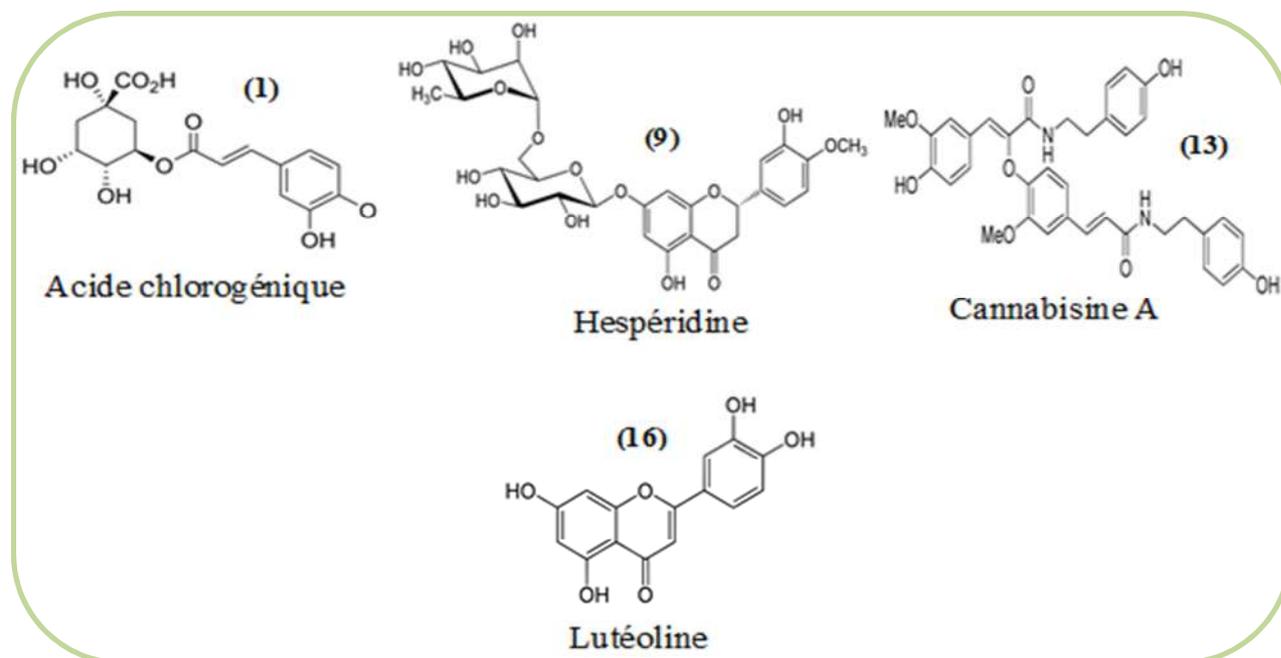


Figure 37 : Les composés phénoliques identifiés dans l'extrait AcOEt de l'espèce *Silene*.

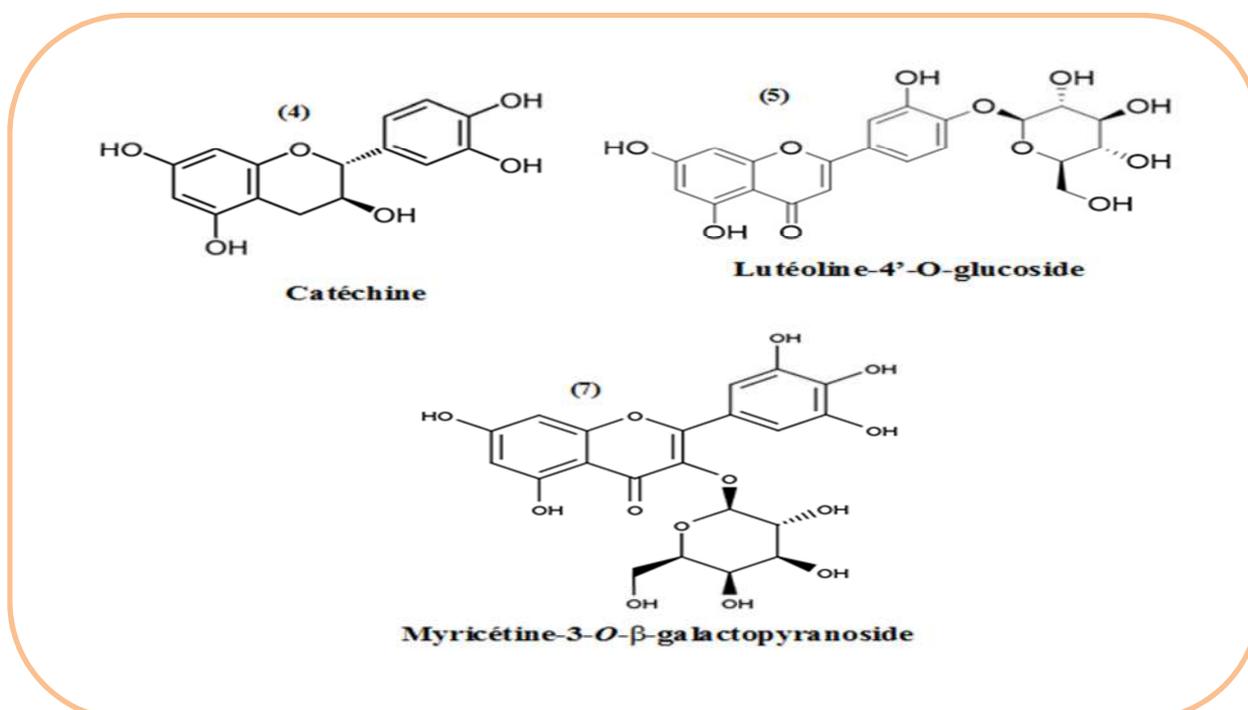


Figure 38 : Les composés phénoliques identifiés dans l'extrait *n*-BuOH de l'espèce *Silene*.

III. Résultats de l'analyse quantitative

La détermination quantitative de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes dans les trois extraits de l'espèce *Silene* a été réalisée par la méthode spectrophotométrique en se référant aux courbes d'étalonnages dressées à partir d'une gamme de solution standard avec les produits de référence de chaque composé.

III.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu en utilisant comme standard l'acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$) à l'aide d'une courbe d'étalonnage (**figure 39**) :

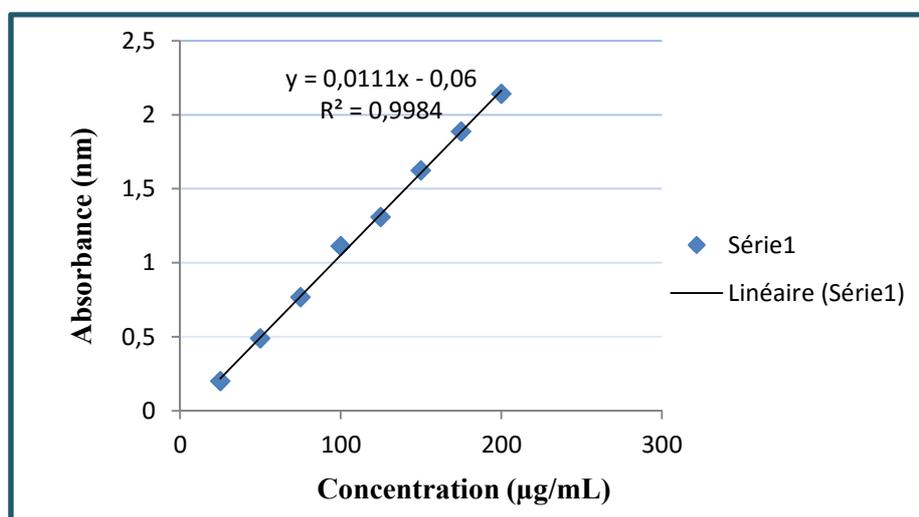


Figure 39: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



Figure 40: Résultat du dosage des polyphénols après incubation

La teneur en composés polyphénoliques indiquée dans le tableau 12, est calculée selon la relation suivante : $Y = 0,011 X - 0,06$

Tableau 12: Teneur en polyphénols calculés des différents extraits

Extraits	Teneur en polyphénols totaux $\mu\text{g EAG/mg d'extract}$
Extrait CHCl_3	$147,70 \pm 0,10$
Extrait acétate d'éthyle	$301,44 \pm 0,24$
Extrait <i>n</i> -butanol	$171,66 \pm 0,17$
Extrait hydro-éthanolique de thé vert	$313,3 \pm 1,41$

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 12 e, les teneurs en polyphénols totaux révèlent que l'extrait AcOEt possède la plus grande concentration en composés phénoliques ($301,44 \pm 0,24 \mu\text{g EAG/mg}$), suivie de l'Extrait BuOH ($171,66 \pm 0,17 \mu\text{g EAG/mg}$), tandis que l'extrait CHCl_3 a présenté une teneur modérée dont la valeur moyenne est de $147,70 \pm 0,10 \mu\text{g EAG/mg}$ présente une teneur plus faible.

En comparant ces valeurs du teneur en polyphénols totaux à une étude faite sur trois types de thé (blanc, vert, noir) [119], on constate que l'extrait *n*-BuOH a la moitié par rapport au thé vert tandis que, l'extrait AcOEt présente une teneur en polyphénols totaux très proche de celle du thé vert.

Ces résultats indiquent que la richesse de l'espèce *Silene* en polyphénols est importante.

III.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination quantitative des flavonoïdes a été réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) en utilisant comme standard la quercétine. Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extract ($\mu\text{g EQ/mg}$) à l'aide d'une courbe d'étalonnage (**figure 41**).

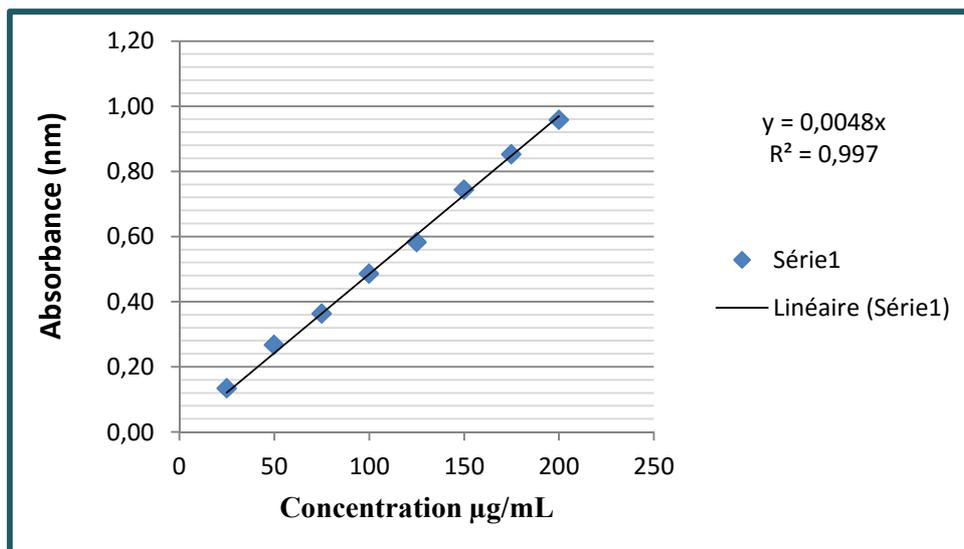


Figure 41: Courbe d'étalonnage de la quercétine



Figure 42: Résultat du dosage des flavonoïdes après incubation

Les résultats sont déterminés à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine d'équation: $(y= 0,0048 x)$ avec $R^2 = 0,997$ (tableau 13).

Les teneurs en flavonoïdes des extraits AcOEt, *n*-BuOH et CHCl₃ ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage tracée en utilisant la quercétine comme standard.

Tableau 13: Teneur en flavonoïdes calculés des différents extraits

Extraits	Teneur en flavonoïdes totaux µg EQ/mg d'extrait
Extrait CHCl ₃	27,39 ± 0,01
Extrait acétate d'éthyle	45,83 ± 0,04
Extrait <i>n</i> -butanol	37,60 ± 0,01

Les résultats présentés sur la figure 42 et le tableau 13 montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les extraits. L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux montre que l'extrait acétate d'éthyle est le plus riche en flavonoïdes avec une valeur de $(45,83 \pm 0,04 \mu\text{g EQ/mg d'extrait})$ suivi par l'extrait *n*-butanolique $(37,60 \pm 0,01 \mu\text{g EQ/mg d'extrait})$, cependant, la teneur en flavonoïdes la plus faible a été enregistré dans l'extrait chloroforme $(27,39 \pm 2,21 \mu\text{g EQ/mg})$.

IV. Résultats de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait *n*-BuOH ont été évalués par trois méthodes DPPH, ABTS et CUPRAC.

IV.1. Test de piégeage du radical DPPH[•]

La détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH a été effectuée en utilisant la méthode décrite par Blois (1958) [115], l'apparition d'une couleur jaune signifie que le DPPH de couleur violette a été réduit par un antioxydant (voir **figure 43**). Le standard utilisé est le BHA. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de l'extrait testé.

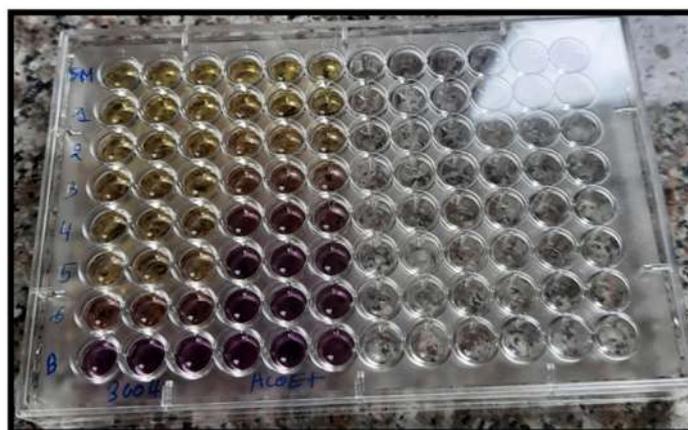


Figure 43 : Illustration d'une plaque de 96 puits dans laquelle un test DPPH a été réalisé.

Les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% de chacun des extraits testés sont représentées dans le Tableau 14.

Tableau 14: Pourcentage d'inhibition du DPPH par les deux extraits AcOEt et *n*-BuOH.

Extraits / Standard	[C] (µg/mL)							CI ₅₀ (µg/mL)
	3,125 (µg/mL)	6,25 (µg/mL)	12,5 (µg/mL)	25 (µg/mL)	50 (µg/mL)	100 (µg/mL)	200 (µg/mL)	
Pourcentage d'inhibition du DPPH								
AcOEt	19,59±2,59	36,94±3,87	56,63±2,90	61,82±1,69	62,82±2,10	65,16±0,89	65,85±1,07	10,49 ± 0,71
<i>n</i>-BuOH	18,45±0,89	35,73±2,86	61,32±0,99	62,10±1,23	62,60±1,39	63,95±0,56	65,23±2,10	9,84 ± 0,20
BHA								5,02±0,19

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± S.D (n=3)

Les valeurs des CI₅₀ exprimées en µg/mL, calculées graphiquement à partir des régressions linéaires obtenues (**figure 44**).

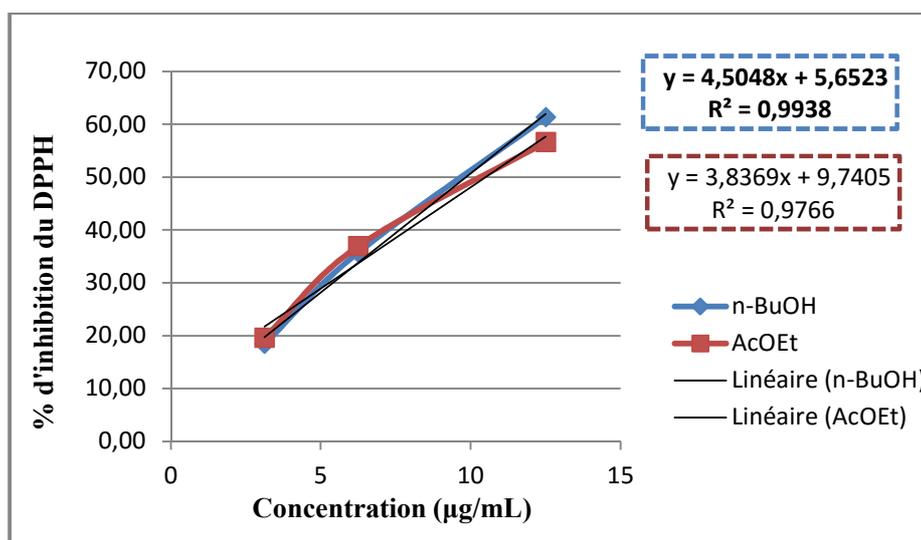


Figure 44: Pourcentage d'inhibition radical DPPH[•] par l'extrait *n*-BuOH et AcOEt.

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration. Les valeurs inférieures à IC₅₀ indiquent l'efficacité de l'extrait et donc le pouvoir antioxydant plus fort [120].

Dans ce test, les résultats obtenus révèlent que les valeurs des IC₅₀ déterminées graphiquement sont proches l'une de l'autre pour les deux extraits, 10,49 ± 0,71 µg/mL pour l'extrait acétate d'éthyle et 9,84 ± 0,20 µg/mL pour l'extrait *n*-butanol, ces IC₅₀ sont 2 fois inférieurs à celle du standard BHA (CI₅₀= 5,02±0,19 µg/mL).

En comparaison avec le standard antioxydant BHA, les deux extraits acétate d'éthyl et *n*-butanol ont manifesté une excellente activité antiradicalaire du DPPH.

IV.2. Test de piégeage du cation radical ABTS^{•+}

L'activité de piégeage du radical ABTS des deux extraits de l'espèce *Silene* est déduite par leur capacité à inhiber le radical cation ABTS^{•+}, obtenu à partir de l'oxydation du chromophore synthétique l'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). La figure ci-dessous (**figure 45**) illustre le virage de la couleur par rapport au blanc confirmant ainsi les résultats du test. Comparativement à un antioxydant de référence le BHA.



Figure 45 : Illustration d'une plaque de 96 puits dans laquelle un test ABTS a été réalisé.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits testés (**tableau 15**).

Tableau 15: Pourcentage d'inhibition du cation ABTS^{•+} par les extraits AcOEt et *n*-BuOH.

Extraits / Standard	[C] (µg/mL)							CI ₅₀ (µg/mL)
	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	
Pourcentage d'inhibition								
AcOEt	33,23±2.24	37,99±3.39	67,54±1,58	72,96±1,08	74,71±0,85	75,06±0,93	76,24±1,85	8,77 ± 1,18
<i>n</i>-BuOH	34.66±3,62	38.04±2.75	70,51±0,81	71,94±0,77	74.24±1.83	75.17±1.24	75.37±0.87	8,04 ± 0,79
BHA								5,00±0,36

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± S.D (n=3).

À partir des équations des régressions linéaires des graphes représentés dans la figure 45 Nous avons déterminés pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre ABTS^{•+} ou IC₅₀ (**tableau 15**).

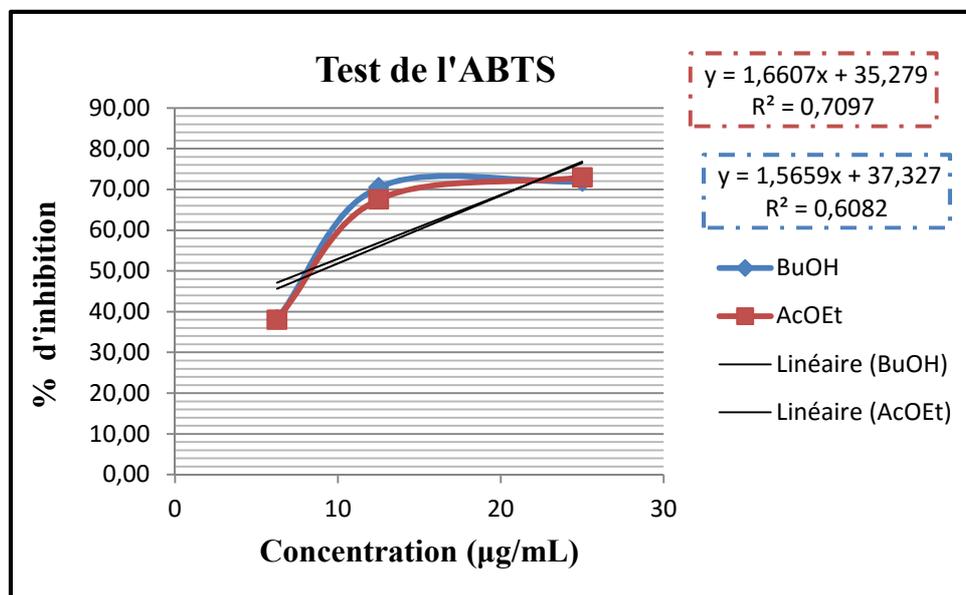


Figure 46: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits n-BuOH et AcOEt. de l'espèce *Silene* par le test de ABTS^{•+}.

Les pourcentages d'inhibition et les valeurs du pouvoir antioxydant montrent clairement que les deux extraits testés possèdent des propriétés antioxydantes très puissantes.

Nos résultats indiquent que les extraits n-BuOH et AcOEt présentent une activité remarquable avec des CI₅₀ de l'ordre de (**8,77 ± 1,18; 8,04 ± 0,79** µg/mL respectivement). En comparant les résultats de l'activité antioxydant évaluée par la méthode ABTS avec celle du standard le BHA donne une valeur d'IC₅₀ 5,00±0,36µg/mL.

IV.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

La capacité antioxydante réductrice du cuivre est basée sur la réduction du Cu (II) en Cu (I) en présence d'un antioxydant, où l'absorbance est enregistrée à la longueur d'onde maximale de 450 nm décrite par **Apak et al [95]**. La figure ci-dessous (**figure 47**) illustre le virage de la couleur par rapport au blanc confirmant ainsi les résultats du test.



Figure 47: Résultats du test de CUPRAC sur microplaques

Les résultats de l'activité inhibitrice du CUPRAC sont représentés par les absorbances des différentes concentrations de chacun des extraits testés ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (**tableau 16**).

Tableau 1: Inhibition du CUPRAC par les deux extraits AcOEt et *n*-BuOH.

Extraits / Standard	[C] ($\mu\text{g/mL}$)							$A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$)
	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	
Absorbance								
AcOEt	0,27 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01	0,53 \pm 0,01	0,89 \pm 0,13	1,35 \pm 0,06	2,19 \pm 0,08	3,33 \pm 0,18	11,33 \pm 0,20
<i>n</i>-BuOH	0,35 \pm 0,02	0,50 \pm 0,02	0,75 \pm 0,03	1,18 \pm 0,05	1,90 \pm 0,03	3,21 \pm 0,12	4,75 \pm 0,10	6,50 \pm 0,40
BHA								6,46\pm0,22

Les valeurs exprimées sont des moyennes \pm S.D (n=3).

Il semble que l'absorbance a augmenté avec l'augmentation de la concentration de l'échantillon testé.

Les valeurs des $A_{0,5}$ exprimées en $\mu\text{g/mL}$ calculées graphiquement à partir des régressions linéaires obtenues, sont représentées dans la figure 48.

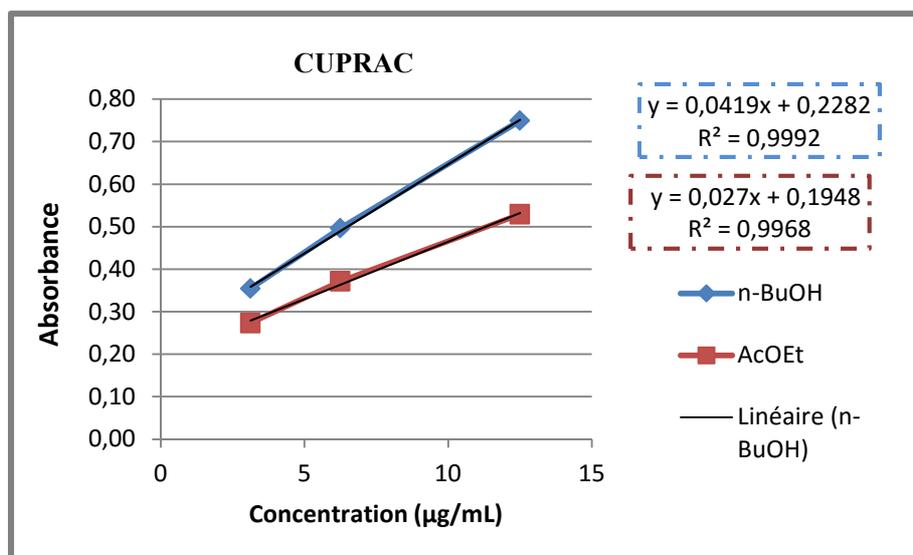


Figure 48: Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) par les deux extraits.

L'activité CUPRAC indique une relation inverse entre les $A_{0,5}$ et la capacité antioxydante des échantillons testés. Cela signifie que plus l'absorbance est basse, plus l'activité antioxydante est élevée, car cela indique une meilleure capacité à neutraliser les radicaux libres.

Il ressort de ces résultats, que les deux extraits possèdent une activité antioxydante intéressante. L'extrait n-butanol possède une activité oxydante très élevée avec une $A_{0,5}$ ($6,50 \pm 0,40 \mu\text{g/mL}$) qui égale à celle du BHA ($A_{0,5}$: $6,46 \pm 0,22 \mu\text{g/mL}$), suivi par l'extrait acétate d'éthyle avec $A_{0,50}$: $11,33 \pm 0,20$ qui est deux fois inférieure à celle du BHA, cela suggère que l'extrait AcOEt présente une meilleure capacité antioxydante.

On conclue que les deux extraits ont manifestés une excellente activité antioxyante proche de celle du standard vis-à-vis du piégeage du l'ABTS'.

Le tableau 17 et la figure 49 résumant les résultats obtenus avec les 3 tests.

Les pourcentages d'inhibition d'IC₅₀, les absorbances ainsi que les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits étudiés sont représentées dans le tableau 17

Tableau 17: Variation des IC₅₀ des extraits selon les méthodes DPPH, ABTS et CUPRAC.

Extrait/ Tests	Flavonoïdes µg EQ/mg	Polyphénols µg EAG/mg	DPPH [*] CI ₅₀ (µg/mL)	ABTS [*] CI ₅₀ (µg/mL)	CUPRAC A _{0,5} (µg/mL)
AcOEt	45,83 ± 0,20	301,44 ± 0,24	10,49 ± 0,71	8,77 ± 1,18	11,33 ± 0,20
n-BuOH	37,60 ± 0,20	176,66 ± 0,17	9,84 ± 0,20	8,04 ± 0,79	6,50 ± 0,40

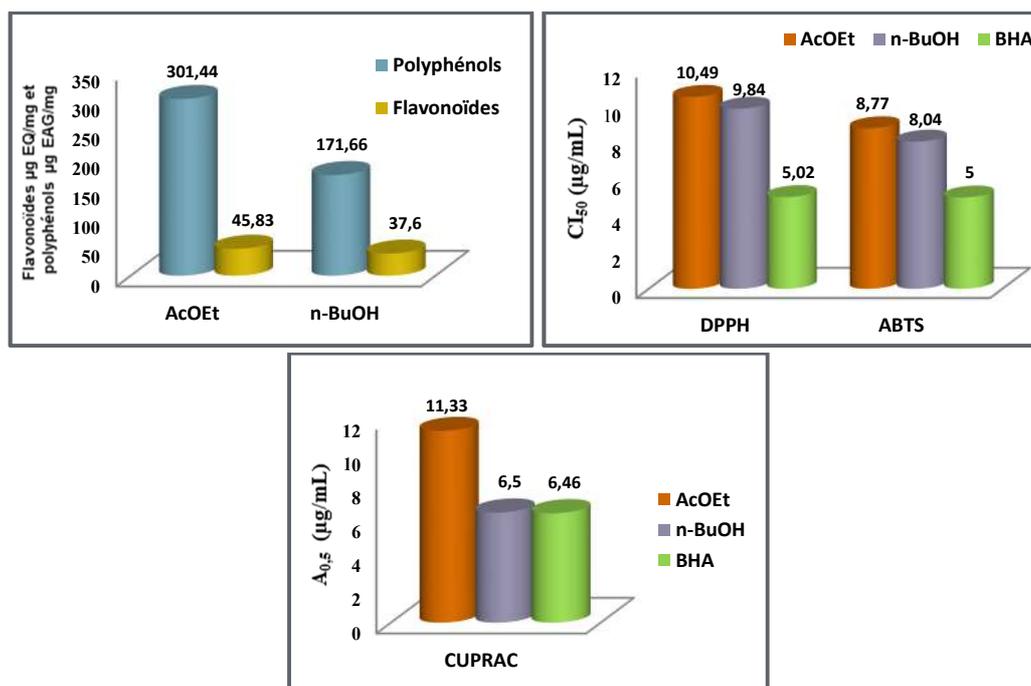


Figure 49: Histogrammes représentant la comparaison entre les valeurs d'CI₅₀ des tests: DPPH, ABTS et A_{0,5} du test CURAC et la quantité en (µg) des polyphénols et flavonoïdes des extraits AcOEt et n-BuOH

Conclusion

L'étude de l'activité antioxydante des deux extraits AcOEt et n-BuOH de l'espèce *Silene* montre que ces extraits possèdent une activité antioxydante très puissante selon les différentes méthodes testées en comparant avec le standard utilisé.

L'extrait AcOEt présente une teneur en polyphénols totaux deux fois grande que l'extrait n-BuOH tandis que les deux extraits possèdent une teneur en flavonoïdes totaux proche, bien que l'extrait n-BuOH de l'espèce *Silene* contient presque la moitié de la quantité des polyphénols et une quantité des flavonoïdes inférieure que celle l'extrait AcEot son pouvoir antiradicalaire est bien meilleur. Ces résultat s'explique par la nature des composés phénoliques présents dans cette fraction, une des caractéristiques structurales des flavonoïdes est la variabilité du taux d'hydroxylation des cycles phénoliques suivant le flavonoïde considéré. Cette caractéristique influe directement sur leur capacité donatrice en hydrogène et donc sur leur potentiel anti-radicalaire [121].

De Plus, des études ont montré que l'effet antioxydant dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et de la nature des antioxydants [122]. Par ailleurs Il a été suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire [123].

. V. Résultats de l'activité antibactérienne

Afin de réaliser cette expérience, nous avons évalué in vitro le pouvoir antibactérien de deux extraits de *Silene* par la méthode des puits sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton). L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en termes de diamètre de zone d'inhibition (mm) autour des puits contenant l'extrait à tester contre deux souches bactérienne (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*), après 18 à 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. On a récupéré les boîtes et on a mesuré les diamètres des zone d'inhibition des différentes souches bactériennes testées à l'aide d'une règle. Le pouvoir antibactérien de chaque extrait est estimé en terme de diamètre d'inhibition représenté par une auréole claire formée autour de chaque puits, exprimé en mm et interprété en quatre niveaux d'activités selon **Ponce et al** comme suit :

- ✓ $D < 8$ mm (-) souche résistante.
- ✓ $9 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$ (+) souche sensible.
- ✓ $15 \leq D \leq 19$ mm (++) souche très sensible.
- ✓ $D \leq 20$ mm (+++) souche extrêmement sensible.

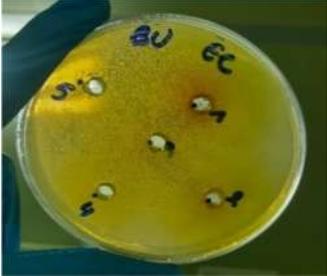
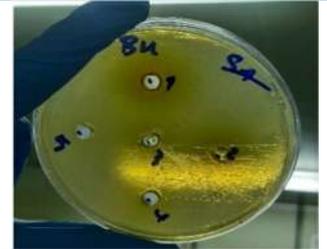
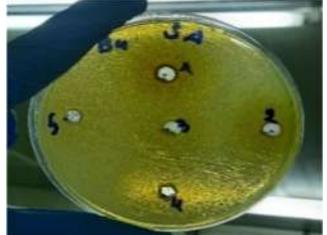
Les résultats des zones d'inhibition obtenus sur gélose de Muller-Hinton (MH) pour le témoin (-) DMSO et le témoin (+) l'antibiotique (Amoxicilline), par les deux souches testées (**figure 50**).



Figure 50: Les Zones d'inhibition.

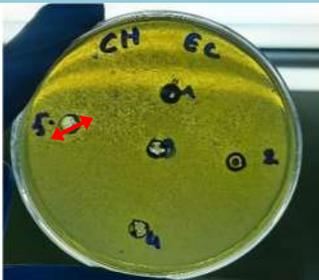
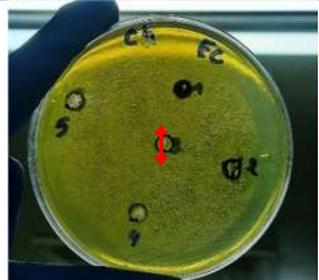
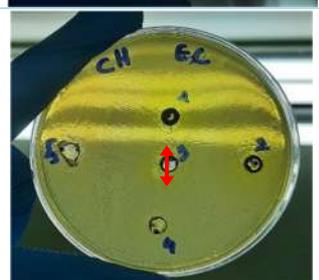
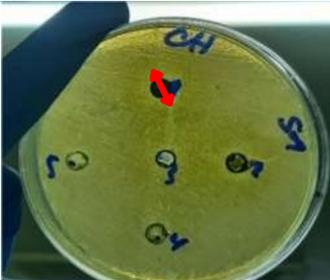
Les diamètres des zones d'inhibition obtenus de l'extrait **n-BuOH** contre les deux germes pathogènes sont résumés dans le tableau 18:

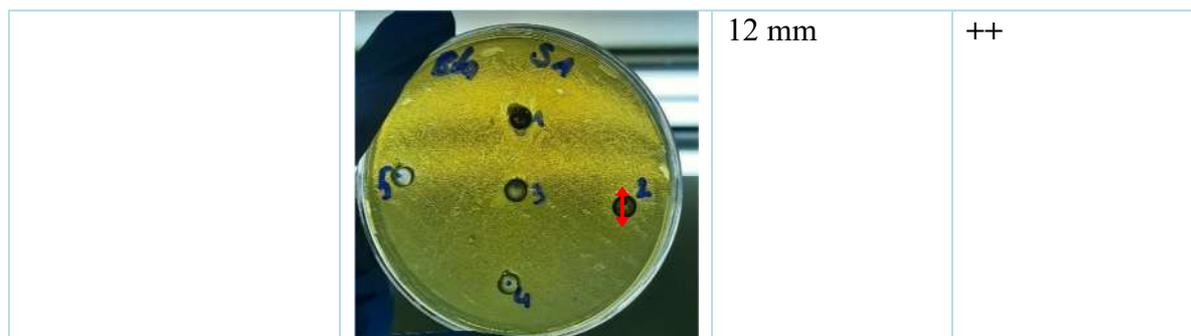
Tableau 18: Résultats du test antibactérien de l'extrait n-BuOH.

Les souches	n-BuOH	Diamètre mm	Sensible
		Abs	-
<i>Escherichia coli</i>		Abs	-
		Abs	-
<i>Staphylococcus aureus</i>		Abs	-
		Abs	-
		Abs	-

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus de l'extrait CHCl_3 contre les deux germes pathogènes sont résumés dans le tableau 19:

Tableau 19: Résultats du test antibactérien de l'extrait chloroformique.

Les souches	CHCl_3	Diamètre mm	Sensible
<i>Escherichia coli</i>		12 mm	+
		12 mm	+
		12 mm	+
<i>Staphylococcus aureus</i>		12 mm	++
		12 mm	++



-Selon les tableaux ci-dessus, les souches bactériennes testées sont apparues sensibles à l'extrait chloroformique de notre plante aux différentes concentrations effectuées. Cela montre clairement que cet extrait exerce une activité antibactérienne sur les deux souches étudiées, avec un diamètre maximal d'inhibition de 12 mm pour *Staphylococcus Aureus* et *Escherichia coli* à la concentration de 200 mg/ml. En effet, notre extrait chloroformique est avéré actif sur tous les germes testés.

L'absence d'activité antibactérienne dans l'extrait testé (*n*-BuOH) pourrait s'expliquer par la nature et la quantité de composés bioactifs aux propriétés antibactériennes, qui pourraient être totalement absents ou présents en très faible quantité dans cet extrait. Selon Balouiri et ses collaborateurs (2016) [124], la méthode adoptée pour l'extraction, Le mode opératoire et la nature des solvants utilisés influencent l'activité antibactérienne des composés phénoliques. En effet, l'ajout de DMSO aux extraits de plantes diminue leurs activités antibactériennes [125].

Les extraits chloroformiques sont riches en lipides, triglycérides, acides gras libres et stérols obtenus à partir de l'espèce *S. brachuca*, *S. viridiflora* et *S. wallichiana* ont présenté de fortes activités antimicrobiennes contre diverses souches bactériennes [39].

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans l'objectif de la valorisation de la flore algérienne, notre travail a été consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation du potentiel biologique *in vitro* d'une espèce Algérienne appartenant à la famille des Caryophyllaceae et au genre *Silene*.

Le screening phytochimique basé sur des tests spécifiques a été réalisé sur les extraits (AcOEt, *n*-BuOH et CHCl₃), les résultats obtenus de ces différents tests révèlent la diversité et la richesse de cette plante en métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les stérols, les tanins, les saponosides et les alcaloïdes.

L'analyse qualitative des extraits AcOEt et *n*-BuOH par CLHP en présence de standards, nous a permis d'identifier 4 composés dans l'extrait AcOEt dont un acide phénolique (acide chlorogénique) et 3 flavonoïdes (Lutéoline, Cannabisine, Hespéridine) Pour ce qui est de l'extrait *n*-BuOH l'analyse a révélé la présence de trois flavonoïdes leurs structures ont été identifiés comme la Catéchine, Lutéoline-4'-*O*-glucoside et Myricétine-3-*O*-galactopyranoside.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux dans les trois extraits analysés montre que l'AcOEt et *n*-BuOH sont les plus riches en ces métabolites avec une teneur élevé dans l'extrait acétate d'éthyle. Tandis que tandis que l'extrait chloroforme présente une teneur plus faible. L'analyse quantitative a montré que la plante *silene* est riche en polyphénols et flavonoïdes avec des teneurs considérables.

Enfin, une évaluation des activités biologiques, l'activité antioxydante a été testée sur les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol en utilisant les méthodes du DPPH, de l'ABTS et du CUPRAC, les résultats qu'on a obtenus montrent que les deux extraits, possèdent une activité antioxydante très puissante.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits (*n*-BuOH, chloroforme) de la plante *Silene* a été réalisée, selon la méthode des puits, vis à vis deux souches pathogène, Les résultats ont montré que l'extrait chloroforme a produit des zones d'inhibitions tandis que l'extrait *n*-BuOH n'a montré aucun résultat significatif.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]: Hanifi, N. (1991). Importance des ressources phylogénétiques et leur utilisation en Algérie. *conservation des ressources végétales. Publication des Actes éditions*, 47-49.
- [2]: Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal. Thèse de doctorat. Muséum national d'histoire naturelle, 32p.
- [3]: Dobignard, A., Chatelain, C. (2011). Index synonymique de la flore d’Afrique du Nord, volume 3, Dicotyledonae Balsaminaceae à Euphorbiaceae. Conservatoire et Jardin Botanique de la Ville de Genève, hors-série 11b.
- [4]: Mamadalieva, N. Z., Lafont, R., Wink, M. (2014). Diversity of secondary metabolites in the genus *Silene* L.(Caryophyllaceae)—Structures, distribution, and biological properties. *Diversity*, 6(3), 415-499.
- [5]: Botineuau, M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. tec c& doc - Edition Lavoisier , (376-382).
- [6]: Jakimiuk, K., Wink, M., Tomczyk, M. (2021). Flavonoids of the Caryophyllaceae. *Phytochemistry Reviews*, 21, 179–218.
- [11]: Dupont, F., Guignard, J. L. (2015). Botanique: les familles de plantes. Paris, Elsevier Masson. 388p.
- [12]: Ai-Qun, J., Ning-Hua, T., Yong-Ping, Y., Su-Gong, W., Li-Qin, W., Jun, Z. (2004). Cyclopeptides from Three Arctic Caryophyllaceae Plants, Chemotaxonomy and Distribution Significance of Caryophyllaceae Cyclopeptides. *Acta Botanica Sinica*. 46: 625-630.
- [13]: Quezel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1, Edition CNRS, Paris.
- [14]: Allaoua, Z. (2017). Etude phytochimique des espèce : *Pteranthus dichotomus* et *Paronychia capitata*. Thèse de doctorat en chimie des substances, Université de Batna 1.
- [15]: Chandra, S., Rawat, D. S. (2015). Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: a review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. *Integr. Med. Res.* 1–9.
- [16]: Greuter, W. (1995). *Silene* (Caryophyllaceae) in Greece: A subgeneric and sectional classification. *Taxon*. 44: 543–581.

Références bibliographiques

- [17]: Melzheimer, V. (1988). *Silene L.* In: Rechinger KH (ed.), *Flora Iranica*, 163: 341-508. Austria: Graz.
- [18]: Aydin, Z., Ertekin, A. S., Langstrom, E., Oxelman, B. (2014). A new section of *Silene* (Caryophyllaceae) including a new species from South Anatolia, Turkey. *Phytotaxa*. 178 (2): 98– 112.
- [19]: Hamzaoglu, E., Aksoy, A., Budak, U. (2010). A new species of *Silene* (Caryophyllaceae) from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 34(1), 47-50.
- [20]: Battandier, J.-A., Trabut, L.-C. (1888). *Flore de l'Algérie, Dicotylédones I.* Librairie des sciences naturelles, Paris, 132-135 p.
- [21]: Daumas, P., Santa, S. (1953). Les *Silènes* de l'Algérie et de la Tunisie. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord* 44: 264-323.
- [22]: Quézel, P., Santa, S. (1962, 1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.* CNRS, Paris, 2 Volumes. 1170 p.
- [23]: Maire, R. (1963). *Flore de l'Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara).* Edition Paul Lechevalier, Paris. Volume 10, 229 p.
- [24]: Fennane, M., Ibn-Tattou, M. (1999). *Flore pratique du Maroc: manuel de détermination des plantes vasculaires. Vol. 1. Pteridophyta, Gymnospermae, Angiospermae (Lauraceae-Neuradaceae).* Edition de l'Institut Scientifique de Rabat, Maroc.
- [26]: Quézel, P. (1957). *Peuplement végétal des hautes montagnes de l'Afrique du Nord : essai de synthèse biogéographique et phytosociologique.* In: *Encyclopédie Biogéographique et Ecologique*, 10: 1-445. Edition Paul Lechevalier, Paris.
- [27]: Véla, E., Benhouhou, S. (2007). Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *Comptes Rendus Biologies* 330(8): 589-605.
- [28]: Mesbah, M. (2021). *Etude taxonomique et biogéographique de quelques espèces du genre Silene L. (Caryophyllacées) en Algérie. Systématique, phylogénie et taxonomie. Thèse de doctorat. En Biologie. Université de Bejaia [Algérie].* 154 p.

Références bibliographiques

- [29]: Mamadalieva, N. Z. (2012). Phytoecdysteroids from *Silene* plants: distribution, diversity and biological (antitumour, antibacterial and antioxidant) activities. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(6), 474-497.
- [30]: Xu, W., Wu, J. M., Zhu, Z., Sha, Y., Fang, J., & Li, Y. S. (2010). Pentacyclic triterpenoid saponins from *Silene viscidula*. *Helvetica Chimica Acta*, 93(10), 2007-2014.
- [31]: Moteetee, A., Van Wyk, B. E. (2011). The medical ethnobotany of Lesotho: a review. *Bothalia*. 41:209–28.
- [32]: Leto, C., Tuttolomondo, T., La Bella, S. (2013). Licata M. Ethnobotanical study in the Madonie Regional Park (Central Sicily, Italy) medicinal use of wild shrub and herbaceous plant species. *J ethnopharmacol.* 146: 90–112.
- [33]: Angmo, K., Adhikari, B. S., Rawat, G. S. (2012). Changing aspects of traditional healthcare system in Western Ladakh, India. *J Ethnopharmacol.* 143:621–30.
- [34]: Shuaib, M., Khan, I., Sharifullah, R. K., Hashmatullah, S. M., Naz, R. (2014). Ethnobotanical studies of spring flora of Dir Lower, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Pak J Weed Sci Res.* 20:37–49.
- [35]: Hadjichambis, A. C. H., Paraskeva-Hadjichambi, D., Della, A., Giusti, M. E., de Pasquale, C., Lenzarini, C., Censorii, E., Reyes Gonzales-Tejero, M., Patricia Sanchez-Rojas, C., Ramiro-Gutierrez, J. M. (2008). Wild and semi-domesticated food plant consumption in seven circum-Mediterranean areas. *Int J Food Sci Nutr.* 59: 383–414.
- [36]: Karamian, R., Ghasemlou, F. (2013). Screening of total phenol and flavonoid content, antioxidant, and antibacterial activities of the methanolic extracts of three *Silene* species from Iran. *Intl J Agri Crop Sci.* 5:305–12.
- [37]: Taskin, T., Bitis, L. (2013). Antioxidant activity of *Silene alba* subsp. *divaricata* and *Stellaria media* subsp. *media* from Caryophyllaceae. *Spatula DD-Peer Reviewed Journal on Complementary Medicine and Drug Discovery*, 3(1), 1-5.
- [38]: Kucukboyaci, N., Ozcelik, B., Adiguzel, N., Goren, A. (2010). Fatty-acid compositions of *Silene vulgaris* and *S. cserei* subsp. *aeniopsis* seeds and their antimicrobial activities. *Chem. Nat. Compd.* 46: 88–91.

- [39]: Mamadalieva, N. Z., Ul'chenko, N. T., Yuldasheva, N. K., Egamberdieva, D. R., Zhanibekov, A. A., Dzhukharova, M. K., Glushenkova, A. I. (2010). Fatty-acid composition and antibacterial activity of CHCl₃ extracts of three plants of the genus *Silene*. *Chem Nat Compd.* 46 :95–96.
- [40]: Huang, M. T., Ferraw, T. (1991). Phenolic coumpoud in food and cancer prevention. Phenolic coumpounds in food and their effects on health. 3:83.
- [41]: Ali, N. A. A., Julich, W. D., Kusnick, C., Lindequist, U. (2001). Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(2), 173-179.
- [42]: Li, J., Jiang, Y. (2007). Litchi flavonoids: Isolation, identification and biological activity. *Molecules*, 12(4), 745-758.
- [43]: Bruneton, J. (1999). Pharmacognosy: phytochemistry, medicinal plants.
- [44]: Macheix, J. J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.
- [45]: Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- [46]: Duval, C., Duval, R. (1978). Dictionnaire de la Chimie et de ses Applications, Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- [47]: Heller, W., Forkmann, G. (1993). The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London. 399-425.
- [48]: Effendi, L., Yajun, Y. et al. (2008). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylatedflavonols in *Escherichia coli*. *Metab.Eng.*8: 172-181.
- [49]: Raskin, I., Ribnicky, D., Komarnytsky, S., Ilic, N., Poulev, A., Borisjuk, N., Brinker, A., Moreno, D., Ripoll, C., Yabuki, N., O'Neal, J., Cornwell, T., Pastor, I., Fridlender, B. (2002). Plants and human health in the twenty-first century. *Trends in Biotechnology*, 20: 522-531.

Références bibliographiques

- [50]: Abedini, A. (2013). Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. (Thèse de doctorat). Université du Droit et de la Santé, Lille II. HAL. p 54- 55.
- [51]: Bento-Silva, A., Koistinen, V. M., Mena, P., Bronze, M. R., Hanhineva, K., Sahlstrøm, S., Kitryté, V., et al. (2020). Factors affecting intake, metabolism, and health benefits of phenolic acids: Do we understand individual variability? *European Journal of Nutrition*, 59, 1275-1293.
- [52]: Hassanpour, S., Maheri-Sis, N., Eshratkhah, B., Mehmandar, F. (2011). “Plants and Secondary Metabolites (Tannins): A Review», *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, Vol. 1 (1): 47–53.
- [53]: Catier , O., Roux, D. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie : Cahiers du préparateur en pharmacie. 3eme ed. France : Walters Kluwer.
- [54]: Leinmüller, E., Steingass, H., Menke, K. H. (1991). Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro. *Übersichten zur Tierernährung*. Vol. (19) :45–70.
- [55]: Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, 55-86).
- [56]: Donald, J. C., Gerge, S. H. (1968). « Chimie organique », 2 Edition, Gautier Villars.
- [57]: Aichi, M. (1977). Etude phytochimique de la plante *Atrctylis Cancellata* .De Magister en chimie organique.
- [58]: Sláma, K. (1993). Ecdysteroids: insect hormones, plant defensive factors, or human Medicine. *Phytoparasitica*. 21: 3-8.
- [59]: Ziegler , J., Facchini, P. J. (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.* Vol (59): 735 – 769.
- [60]: Ejaz, A., Arshad, M., Khan, M. Z., Shoaib Amjad, M., Mehreen Sadaf, H., Riaz, I., Sabir, S., Ahmad, N., Sabaoon. (2017). Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life.
- [61]: RizkA, M. (1982). Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterpia* . 35-42.

Références bibliographiques

[62]: Vincken, J.-P, Heng L. De Groot, A., Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68:275–297.

[63]: Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie-Photochimie, plante médicinales*. 4^{ème} édition. Paris : Edition Tec & Doc .Edition médicales inter nationales . 1292.

[64]: Hostettmann, K., Marston, A. (2005). *Saponins. Chemistry and pharmacology of natural products*. Cambridge University Press, Cambridge, isbn-10.

[65]: Gaidi, G., Miyamoto, T., Laurens, V., Lacaille-Dubois, M. A. (2002). New acylated triterpene saponins from *Silene fortunei* that modulate lymphocyte proliferation. *J Nat Prod*. 65:1568–72.

[66]: Darmograi, V. (1977). Flavonoids of plants of the genera *Silene* and *Orites adans*, family Caryophyllaceae. *Chem. Nat. Compd*. 13: 102–103.

[67]: Elgamal, M. H. A., Soliman, H. S. M.; Karawya, M. S.; Duddeck, H. (1994). Villosagenin I and II Two Novel Pentacyclic 28-Nortriterpenes from *Silene villosa* (Forssk). *Nat. Prod. Lett*. 4 : 297–301.

[68]: Eshmirzaeva, N. E., Khidyrova, N. K., Khodzhaeva, M., Mezhlumyan, L. G., Shakhidoyatov, K. M. (2005). Chemical Composition of *Silene viridiflora*. *Chem Nat Compd*. 41 : 451–453.

[69]: Olennikov, D. N. (2019a). ECDYSTEROIDS, FLAVONOIDS, AND PHENYLPROPANOIDS FROM *Silene nutans*. *Chem Nat Comp*. 55(1) 107–110.

[70]: Olennikov, D. N. (2019b). Ecdysteroids of *Silene repens* from Eastern Siberia. *Chem Nat Comp*. 55(4): 658–659.

[71]: Olennikov, DN., Kashchenko, NI., (2017). Phytoecdysteroids from *Silene jennisseensis*. *Chemi Nat Comp*. 53 (6): 1016–1017.

[72]: Zhang, H., Tan, Y., Dong, X. (2021). Two new ecdysteroid glycosides from the rhizomes of *Silene tatarinowii* Regel. *Rec. Nat. Prod*, 15, 46-52.

[73]: Kashchenko, N. I., Olennikov, D. N., & Chirikova, N. K. (2021). Phytohormones and elicitors enhanced the ecdysteroid and glycosylflavone content and antioxidant activity of *Silene repens*. *Applied Sciences*, 11(23), 11099.

Références bibliographiques

- [74]: Olennikov, D. N., & Kashchenko, N. I. (2020). New C, O-glycosylflavones from the genus *Silene*. *Chemistry of Natural Compounds*, 56(6), 1026-1034.
- [75]: Olennikov, D. N. (2020). Silenerepin—a new C-glycosylflavone from *Silene repens*. *Chemistry of natural compounds*, 56(3), 423-426.
- [76]: Kashchenko, N. I., Olennikov, D. N., & Chirikova, N. K. (2021). Phytohormones and elicitors enhanced the ecdysteroid and glycosylflavone content and antioxidant activity of *Silene repens*. *Applied Sciences*, 11(23), 11099.
- [77]: Bechkri, S., Magid, A. A., Khalfallah, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Kabouche, A., Sayagh, C., ... & Kabouche, Z. (2022). Antioxidant activity-guided isolation of flavonoids from *Silene gallica* aerial parts. *Phytochemistry Letters*, 50, 61-66.
- [78]: Bechkri, S., Alabdul Magid, A., Sayagh, C., Berrehal, D., Harakat, D., Voutquenne-Nazabadioko, L., Kabouche, Z., Kabouche, A. (2020). Triterpene saponins from *Silene gallica* collected in North-Eastern Algeria.
- [79]: Takahashi, N., Li, W., Koike, K., (2016). Oleanane-type triterpenoid saponins from *Silene armeria*. *Phytochemistry* 129 : 77-85.
- [80]: Bouguet Bonnet, S.; Rochd, M.; Mutzenhardt, P.; Henry, M. (2002). Total assignment of ¹H and ¹³C NMR spectra of three triterpene saponins from roots of *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. *Magn. Reson. Chem.* 40: 618–621.
- [81]: Guinebert, E., Durand, P., Prost, M., Grinand, R., & Bernigault, R. (2005). Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Acte du 6ème Journées de la Recherche Avicole, S Malo, les*, 30, 554-558.
- [82]: Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes rendus biologies*, 327(7), 649-662.
- [83]: Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002). Physiological action of antioxidant defenses. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16, 233-239.
- [84]: Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

Références bibliographiques

- [85]: Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- [86]: Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- [87]: Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
- [88]: D. Durand, M. Damon, and M. Gobert, "Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux," *Cah. Nutr. Diet.*, vol. 48, pp. 218–224, 2013.
- [89]: Njoya, E. M. (2021). Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. In *Cancer* (pp. 349-357). Academic Press.
- [90]: Ionita, P. (2021). The chemistry of DPPH· free radical and congeners. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 1545.
- [91]: Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4(8).
- [92]: Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [93]: Prouillac, C., (2006). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat en chimie, sous la direction de RIMA.G, Université Paul Sabatier Toulouse III. p294.
- [94]: Roginsky, V., Lissi, E.A., (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92, 235-254.
- [95]: Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing

capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.

[96]: Apak, R., Guçlu, K., Ozyurek, M., Celik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchim Acta*. 160, 413-419

[97]: Gulcin I. (2008). Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *Journal of Enzyme Inhibition Medicine Chemistry*. 23, 871-876.

[98]: Davies ,J.(1994).Inactivation of antibiotic and the Dissemination of resistance genes science .vol.264.PP.375-382.

[99]: Dzidic, S., Suskovic, J ., et Kos ,B. (2008).Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. *Food Technol. Biotechnol*, Vol.46, N°1.11–21 PP.

[100]: Chibani, S. (2018). Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante, antibactérienne des espèces : *Rosmarinus officinalis L.* et *Helichrysum italicum L.*1èreEd : Mehdi.

[101]: Matsiota-Bernard, P., Vildé, F., Nauciel, C. (2000). *Mycobacterium genavense* infection in normal and immunodeficient mice. *Microbes and infection*, 2(6), 575-580.

[102]: Okusa Ndjolo ,Philippe ., Beuerie ,T., Stevigny Carolin ., Duez Pierre .(2012).Absence of pyrrolizidine alkaloids in *Cordia Gilleti de wild* (Boraginaceae).In *biochemical Systematic and Ecology*,41,1-2

[103]: Abedini. A. (2013). Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat. Université du Droit et de la Santé, LilleII. HAL. 2014. p 84- 85

[104]: Franzyk, H., Frederiksen, S. M., & Rosendal Jensen, S. (1998). Synthesis of antirrhinolide, a new lactone from *Antirrhinum majus*. *European journal of organic chemistry*, 1998(8), 1665-1667.

[105]: Harborne J. B, Baxter H et Chichester W. 1999.The handbook of natural flavonoids phytochemical analysis.

Références bibliographiques

- [106] : Crete, P. (1965). Précis de botanique, Masson (4ème Éd), Paris, 429.
- [107]: Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. biol. Chem*, 177(2), 751-766.
- [108]: RizkA, M.(1982).Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterpia*, 35-42 .
- [109]: Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales, Lavoisier (2ème Éd) - Londres-New York, 625-642.
- [110]: Signe, M. (1998). Frederiksen. Synthesis of Antirrhinolide ,a New Lactone from Antirrhinum MajusHenrikkFranzyk. Denmark : The Technical University of Denmark.
- [111]: Bruneton,J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales, Lavoisier (4ème ED).
- [112]: Malviya, R., Bansal, V., Pal, O. P., & Sharma, P. K. (2010). High performance liquid chromatography: A short review. *Journal of global pharma technology*, 2(5), 22-26.
- [113]: Müller, L., Gnoyk, S., Popken, A.. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT- Food Sci Technol*, 43: 992-999.
- [114]: Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- [115]: Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- [116]: Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Çelik, S. E., ... & Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical methods*, 3(11), 2439-2453.
- [117]: Ateshim, B., Tekle, F. (2022). Evaluation of antimicrobial activity and phytochemical screening of *Silene macrosolen* and *Solanum incanum*: A common medicinal plant in Eritrea. *J Bacteriol Mycol Open Access*, 10(1), 15-20.
- [118]: EL AMRI, J., EL BADAOUI, K., ZAIR, T., BOUHARB, H., CHAKIR, S., & el molk ALAOUI, T. (2015). Phytochemical screening and antibacterial study of two medicinal plants

Références bibliographiques

Teucrium capitatum L and Silene vulgaris as a part of ethnobotanical study of the region of El Hajeb (central Morocco). *J Res Biol*, 5(4), 1720-1725.

[119]: Orak, H., Yagar, H., Isbilir, S., Demirci, A., Gumus, T. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of white, green and black tea extracts. *Acta alimentaria*, 42(3), 379-389.

[120]: Pokorný, J., Schmidt, Š. (2001). Natural antioxidant functionality during food processing. *Antioxidants in food: practical applications*, 331-354.

[121]: Le, K., Chiu, F., & Ng, K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in Fructus lycii. *Food chemistry*, 105(1), 353-363.

[122]: Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus. Biologies*, 331(5), 372-379.

[123]: Yang, J., Guo, J., & Yuan, J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6), 1060-1066.

[124]: Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2), 71-79.

[125]: Ciobanu C.S., Iconaru S.L., Le Coustumer P., Constantin L.V., Predoi D. (2012). Antibacterial activity of silver-doped hydroxyapatite nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanoscale Research Letters*. 7(1), 324.

Références site web:

[7]: <https://www.ecoflora.be/fr-be/d/product-detail/17141-stellaria-holostea>(consulté en 2024).

[8] : <https://www.snhf.org/fiche-plante/oillet-de-poete/> (consulté en 2024).

[9]: <https://www.flickr.com/photos/atrnkoczy/9126638419> (consulté en 2024).

[10] : <https://www.etsy.com/fr/listing/1182767379/15-graines-silene-latifolia-subsp-alba> (consulté en 2024).

[25]: www.identify.plantnet.org (consulté en 2024).

Résumé

Dans ce travail, notre étude a été consacrée à l'étude phytochimique et biologique d'une plante du genre *Silene* appartenant à la famille des Caryophyllaceae.

Les résultats de screening phytochimique ont mis en évidence la richesse de la plante *Silene* en métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les stérols et les saponosides.

L'analyse qualitative par CLHP de l'extrait acétate d'éthyle et *n*-BuOH a révélé leur richesse en flavonoïdes.

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

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

L'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits *n*-BuOH et chloroforme ont été réalisés, selon la méthode des puits, vis à vis deux souches pathogène, nous a montré que l'extrait chloroforme a produit des zones d'inhibitions, en revanche il y a une absence totalement des zones d'inhibition pour l'extrait *n*-butanol.

Mots clés : Caryophyllaceae, *Silene*, polyphénols, flavonoïdes, CLHP, Activité antibactérienne, Activité antioxydante .

Abstract

In this work, our study was devoted to the phytochemical and biological study of a plant belonging to the *Silene* genus, which is part of the Caryophyllaceae family.

The results of phytochemical screening revealed the abundance of secondary metabolites in *Silene* plant notably flavonoids, sterols and saponosides.

The qualitative analysis by HPLC of the ethyl acetate and *n*-butanol extracts revealed their richness in flavonoids .

The quantification of total polyphenols and flavonoids in ethyl acetate, *n*-butanol, and chloroform extracts of *Silene* plant was determined using colorimetric methods, Folin-Ciocalteu and aluminum chloride assays, respectively. The results demonstrated the richness of this plant in polyphenols and flavonoids.

The antioxidant activity of ethyl acetate and *n*-butanol extracts of *Silene* plant was evaluated using DPPH, CUPRAC, and ABTS methods. The results showed that the tested extracts possessed good antioxidant activity due to their rich composition of flavonoids and polyphenols, as revealed by the quantification of total flavonoids and polyphenols.

the antibacterial activity of the two extracts *n*-BuOH and chloroform was conducted using the well method against two pathogenic strains. It showed that the chloroform extract produced inhibition zones, whereas there was a complete absence of inhibition zones for the *n*-BuOH extract.

Key words: Caryophyllaceae, *Silene*, polyphenols, flavonoids, HPLC, Antioxidant activity, Antibacterial activity.

في هذا العمل، كانت دراستنا مخصصة لدراسة الكيمياء النباتية والبيولوجية لنبات من نوع *Silene* ينتمي إلى عائلة Caryophyllaceae

أظهرت نتائج الفحص الكيميائي النباتي غنى نبات *Silene* الأيض الثانوي لاسيما الفلافونويدات، الستيروول و الصيا ونبينات.

أظهر التحليل النوعي طريقة الكروماتوغرافيا CLHP لمستخلصات n-BuOH و AcOEt عن ثرائها الفلافونويد.

تم تحديد كميات البوليفينولات والفلافونويدات الإجمالية في مستخلصات الأسيئات الإيثيل والن-وتانول والكلوروفورم من نبات *Silene* واسطة الطرق اللونية، Folin-Ciocalteu و كلوريد الألومنيوم على التوالي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها غنى هذا النبات البوليفينول والفلافونويد.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات AcOEt و n-BuOH من نبات *Silene* استخدام طرق DPPH ، CUPRAC و ABTS. أظهرت النتائج أن المستخلصات المختبرة تمتلك نشاطاً مضاداً للأكسدة جيداً فضل تركيبها الغنية الفلافونويدات والبوليفينولات الإجمالية .

تم إجراء تقييم للنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصين (الن-وتانول والكلوروفورم)، وفقاً لطريقة الآبار، د سلالتين ممرتين أظهرت أن المستخلص الكلوروفورمي أنتج مناطق تثبيط، بينما كانت هناك غياب تام لمناطق التثبيط لمستخلص الن-وتانول.

الكلمات المفتاحية : *Silene*, Caryophyllaceae , البوليفينولات, الفلافونويدات , CLHP, النشاط المضاد للأكسدة, النشاط المضاد للبكتيريا.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : LATRECHE Isra
LARKAT Yasmine

Etude phytochimique et biologique d'une espèce du genre *Silene* (Caryophyllaceae)

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

Dans ce travail, notre étude a été consacrée à l'étude phytochimique et biologique d'une plante du genre *Silene* appartenant à la famille des Caryophyllaceae.

Les résultats de screening phytochimique ont mis en évidence la richesse de la plante *Silene* en métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les stérols et les saponosides.

L'analyse qualitative par CLHP de l'extrait acétate d'éthyle et *n*-BuOH a révélé leur richesse en flavonoïdes.

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

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

L'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits *n*-BuOH et chloroforme ont été réalisés, selon la méthode des puits, vis à vis deux souches pathogène, nous a montré que l'extrait chloroforme a produit des zones d'inhibitions, en revanche il y a une absence totalement des zones d'inhibition pour l'extrait *n*-butanol.

Mots-clefs : Caryophyllaceae, *Silene*, polyphénols, flavonoïdes, CLHP, Activité antibactérienne, Activité antioxydante.

Laboratoires de recherche : Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Présidente du jury : Dr BENSMIRA Soumia (MAA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : Dr BECHKRI Sara (MCB - UFM Constantine 1).

Examinatrice : Dr MOSRANE Yousra (MCB - UFM Constantine 1).