



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université des frères Mentouri Constantine

Faculté des sciences de la nature et de la vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques.

Spécialité : *Biochimie Appliquée.*

Intitulé :

---

## **Etude phytochimique et activité antioxydante d'une plante médicinale Algérienne de la famille des Asteraceae**

---

Présenté par

ZAHRAOUI Chafika & SOLTANE Fatima Zohra

**Jury**

GHERBOUDJ Ouissem  
BOUTAGHANE Naima  
BECHKRI Sarah

MCA. UFM Constantine  
PR. UFM Constantine  
MCB. UFM Constantine

President  
Rapporteur  
Examineur

Année universitaire

2024/2025

# **Remerciements**

*Tout d'abord nous tenons à remercier DIEU tout puissant de nous avoir donnés le courage et la volonté de terminer ce travail.*

*Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de notre mémoire de fin d'études et qui nous ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire.*

*Nous souhaiterons avant tout remercier notre encadrante **professeur. BOUTAGHANE Naima**, pour ses relectures, ses corrections et son attention bienveillante pour ce travail et surtout le temps qu'elle a consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Son exigence nous a grandement stimulé et a contribué à alimenter notre réflexion en phytochimie.*

*Nous remercions vivement les membres du jury, madame la présidente GHERBOUDJ Ouissem MCA. UFM Constantine  
Merci à Madame BECHKRI Sarah MCB. UFM Constantine d'avoir accepté de juger notre travail.*

*Nous remercions également Mme. AZOUZI Salima, et Mr LEFHEL Mostapha pour nous avoir soutenus durant notre période de travail au niveau de laboratoire Unité de recherche Valorisation des Ressources Naturelle Bioactives et Analyses Physico-chimique et Biologique ;  
département de chimie Faculté des Sciences exactes Université des Frères Mentouri Constantine 1.*

*Enfin, je remercie tous mes amies qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail par un soutien morale ou matériel : CHADI Rayene, DJADLI Anissa, BENYERBAH Souheila, FERCHA Bouchra.*

*Je tiens à remercier toute personne qui de près ou de loin m'a soutenue pour mener à terme ce travail.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail...*

*Je dédie ce travail à l'âme de ma mère. C'est vrai que votre lumière*

*S'est éteinte sur cette vie mais elle brille encore dans mon cœur*

*Je demande à Dieu le tout puissant de lui accorder sa miséricorde et  
de l'accueillir dans son vaste paradis*

*À mon père, le grand amour de ma vie, je vous remercie pour*

*Votre soutien votre patience. Je ne pourrais jamais être à la hauteur*

*de vos sacrifices. Je prie Dieu pour qu'il vous accorde*

*Santé et une longue vie.*

*À mes chères frère Faouzi et Ali.*

*À mes chères sœurs Afef, Houda, Amel et Leïla*

*À mes chères filles Rayene et Anissa*

*À mes chères amie surtout Zahraoui Fatima, Labed Hanane, Ayoun*

*Hanane, Bouderbane Hanane et Triki Amina.*

*Pour son aide et son soutien*

*Merci pour tout, Merci pour vos encouragements.*



**CHAFIKA**

## Dédicace

*Je dédie ce travail à :*

*Ma chère mère, pour son amour inconditionnel, ses prières constantes, son soutien moral et ses innombrables sacrifices. Sans elle, je n'aurais jamais pu atteindre ce stade.*

*À mon père, pour ses encouragements, sa patience et sa sagesse qui m'ont guidée tout au long de mon parcours.*

*À ma chère Grand-Mère, Je te dédie ce travail en témoignage de l'amour et du respect que je te porte. Tes prières et ton soutien m'ont accompagné à chaque étape.*

*À mon frère Cherif et sa femme, mes sœurs Abir, Bouchra, Hiba, Farah, pour leur affection, leur soutien et leur présence rassurante.*

*À mes proches amis sans exception qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles surtout Fercha Bouchra, Benyerbahe Souheila.*

*À toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin durant mes études.*

*Avec toute ma reconnaissance et mon amour.*



*Fatima Zohra*

## Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	

### Première partie : Recherche bibliographique

#### Chapitre I : Rappel bibliographique

Introduction générale.....	1
I.1. Famille des Asteraceae .....	5
I .1.1. Généralités.....	5
I .1.2. Description botanique de la famille Asteraceae .....	6
I .1.3. Position systématique de la famille Asteraceae .....	7
I .1.4. Etudes chimiques et biologiques antérieures .....	9
I .1.5. Usages traditionnels des Asteraceae .....	13
I .1.6. Quelques activités biologiques reconnues des Asteraceae.....	16

#### Chapitre II : métabolite secondaire

II.1. Généralités sur les composée phénolique.....	18
II .2. Biogénèse des composés phénoliques .....	20
II.2. 1.Flavonoïdes .....	21
II .2.1.1. Classification des flavonoïdes :.....	22
II. 2.1.2. Quelques activités biologiques des flavonoïdes.....	25
1. Propriétés anti-radicalaires .....	25
2. Propriétés chélatrices des ions métalliques .....	27
3. Propriétés anticancéreuses.....	28
4. Propriétés anti-inflammatoires .....	28
5. Propriétés antivirales .....	28
6. Propriétés antimicrobiennes .....	29
7. Propriétés antiallergiques : .....	30

#### Chapitre III : Activité biologique

III. Généralité : .....	32
III.1. Le stress oxydant : .....	32
III.2. Les radicaux libres.....	33
III.2.1. Origine des radicaux libres .....	33

III.3. Implications pathologiques des EOR : .....	35
III.4. Mécanismes de défense contre le stress oxydant.....	35
III.4.1. Systèmes antioxydants enzymatiques endogène.....	36
III.4.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes : .....	37
III.4.3. Autres systèmes antioxydants .....	38
III.5. Quelques méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante : .....	39
III.5.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) : .....	39
III.5.2. Capacité de piégeage du radical-cation ABTS <sup>•+</sup> .....	40
III.5. 3. Capacité de réduire l'ion cuprique (CUPRAC) : .....	41
Deuxième partie : partie pratique	
Chapitre IV : matériel et méthodes	
IV.1. Aperçu et but de travail.....	44
IV.2. Matériel et méthode .....	44
IV.2.1. Matériel végétal.....	44
IV.2.1.1. Récolte de la plante.....	44
IV.3. Méthodes d'analyses phytochimiques .....	45
IV.3.1. Méthodes chromatographiques.....	45
IV.3.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	45
IV.3.1.2. Conditions opératoires de l'analyse LC-MS/MS .....	45
IV.3.2. Conditions de l'analyse HPLC-MS-IT-TOF .....	46
IV.3.3. Spectrophotométrie UV-visible.....	46
IV.4. Etude phytochimique de la plante de la famille des Asteraceae .....	46
IV.4.1. Extraction .....	46
IV.4.2. Screening « Criblage » phytochimique par réactions colorées .....	48
Mise en évidence des alcaloïdes : .....	48
1. Révélation par le réactif de Wagner.....	48
2. Révélation par le réactif de Mayer : .....	48
3. Révélation par le réactif de Hager : .....	48
Mise en évidence des polyphénols.....	48
1. Réaction de la cyanidine .....	48
2. Révélation des tanins par le réactif de Bate-Smith .....	49
Mise en évidence des saponines .....	49

1. Indice mousse .....	49
IV.5. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux .....	50
IV.5. 1. Dosage des polyphénols totaux .....	50
IV.5. 2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	50
IV.6. Evaluation de l'activité antioxydante .....	51
Test de piégeage du radical 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH) .....	51
Test de l'activité du phénanthroline .....	51
Test de la capacité antioxydant totale (TAC) : .....	52
Chapitre V : résultats et discussions	
V. 1. Criblage phytochimique par CCM .....	54
V.2. Screening phytochimique par réactions colorées .....	54
Recherche des polyphénols totaux : .....	55
Recherche des flavonoïdes .....	55
<input type="checkbox"/> Recherche des tanins condensés .....	55
<input type="checkbox"/> Recherche des Saponosides .....	56
<input type="checkbox"/> Recherche des alcaloïdes .....	56
V.3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes .....	57
V. 4. Résultats LC-MS/MS .....	58
V.5. Evaluation du potentiel antioxydant .....	61
V.5.1. Test de l'activité antiradicalaire par le test DPPH .....	61
V.5. 2. Test de l'activité du phénanthroline .....	62
V.5. 3. Test de la capacité antioxydant totale (TAC) : .....	62
Conclusion générale .....	65
Liste des références .....	67

## **LIST DES FIGURES**

<b>Figure I. 1 :</b> Répartition de la famille des Astéracées dans le monde .....	5
<b>Figure I. 2 :</b> Représentation schématique des différents organes de plantes Asteraceae .....	6
<b>Figure I. 3 :</b> Classification des Asteraceae d'après APG, simplifiée, en photo, <i>Barnadesia</i> , arbuste représente les Asteraceae primitives (Dupont et Guignard 2012). .....	7
<b>Figure I. 4 :</b> Illustrations de <i>Cyanus cyanus</i> L (Bleuet). .....	8
<b>Figure I. 5 :</b> Classification sous familiale phylogénétique des Asteraceae selon Panero et Funk.....	9
<b>Figure II. 1:</b> Structures du 2-phényl chromane ou noyau flavane (à gauche) et du 2-phényl chromone (à droite) .....	21
<b>Figure II. 2:</b> Différentes classes des flavonoïdes .....	23
<b>Figure II. 3 :</b> Biogénèse de la chalcone.....	24
<b>Figure II. 4:</b> Schéma récapitulatif de biogénèse des différentes classes de flavonoïdes .....	25
<b>Figure II. 5 :</b> Piégeage des espèces réactives dérivées de l'oxygène (R') par les flavonoïdes et formation d'une structure stable (Tiqwari et al., 2001).....	26
<b>Figure II. 6 :</b> Critères structuraux essentiels pour une bonne activité antiradicalaire des flavonoïdes (Amić et al., 2003). .....	27
<b>Figure II. 7 :</b> Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Men+) (Tiqwari, 2001).....	27
<b>Figure III. 1 :</b> Illustration d'un déséquilibre de la balance entre les espèces réactives oxygénées et les antioxydants. ....	33
<b>Figure III. 2 :</b> L'O <sub>2</sub> à l'origine des radicaux libres (A) ; Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (B) (Koechlin-Ramonatxo., 2006).....	34
<b>Figure III. 3:</b> Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques.....	37
<b>Figure III. 4 :</b> Cycles réactionnels de régénération des antioxydants. ....	38
<b>Figure III. 5 :</b> Mécanisme réactionnel entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH) (Liangs et al., 2014). ....	40
<b>Figure III. 6 :</b> Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS <sup>•+</sup> (Anh-Dao et al, 2022).....	40
<b>Figure III. 7 :</b> Réduction du complexe néocuproïne / cuivre (II) (Anh-Dao et al, 2022) .....	41
<b>Figure IV.1 :</b> Localisation de la zone de récolte de l'espèce appartenant à la famille des Asteraceae.....	44
<b>Figure IV.2:</b> Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes d'une plante de la famille des Asteraceae.....	47



<b>Figure V. 1:</b> Chromatogramme : 1 des extraits MeOH, Acétate et BuOH) dans le système solvants CHCl <sub>3</sub> : MeOH : H <sub>2</sub> O (70 : 30: 0,5) observé sous 254 nm, 365 nm et après la révélation .....	54
<b>Figure V. 2:</b> Mise en évidence des polyphénols.....	55
<b>Figure V. 3:</b> Mise en évidence des flavonoïdes .....	55
<b>Figure V. 4:</b> Mise en évidence des tanins condensés .....	56
<b>Figure V. 5:</b> Mise en évidence des saponosides.....	69
<b>Figure V. 6:</b> Courbes d'étalonnages de la quercétine de l'acide gallique pour le dosage de flavonoïdes et de polyphénols .....	58
<b>Figure V. 7. :</b> (A). Chromatogramme du mélange de 56 standards de référence. (1 : acide quinique, 2 : acide fumarique, 3 : acide aconitique, 4 : acide gallique, 5 : épigallocatechine, 6 : acide protocatechique, 7 : catéchine, 8 : acide gentisique, 9 : acide chlorogénique, 10 : aldéhyde protocatechique, 11 : acide tannique, 12 : épigallocatechine gallate, 13 : acide 1,5-dicaféoylquinique, 14 : acide 4-hydroxybenzoïque, 15 : épicatechine, 16 : acide vanillique, 17 : acide caféique, 18 : acide syringique, 19 : vanilline, 20 : aldéhyde syringique, 21 : daidzine, 22 : épicatechine gallate, 23 : piceid, 24 : acide <i>p</i> -coumarique, 25 : acide férulique D3, 26 : acide férulique, 27 : acide sinapique, 28 : coumarine, 29 : acide salicylique, 30 : cynaroside, 31 : miquelianine, 32 : rutine, 33 : rutine D3, 34 : isoquercitrine, 35 : hespéridine, 36 : acide <i>o</i> -coumarique, 37 : génistine, 38 : acide rosmarinique, 39 : acide ellagique, 40 : cosmosiine, 41 : quercitrine, 42 : astragaline, 43 : nicotiflorine, 44 : fisétine, 45 : daidzéine, 46 : quercétine D3, 47 : quercétine, 48 : naringénine, 49 : hespérétine, 50 : lutéoline, 51 : génistéine, 52 : kaempférol, 53 : apigénine, 54 : amentoflavone, 55 : chrysin, 56 : acacétine). (B) : Chromatogramme LC–MS/MS de l'extrait butanolique de la plante étudiée.....	59
<b>Figure V. 8:</b> Histogramme de pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydant.....	63

## ***LIST DES TABLEAUX***

Tableau II. 1: Principales classes de composés phénoliques	Erreur ! Signet non défini.....19
Tableau III. 1: Les principales affections liées à la production des EOR.....	35
Tableau III. 2: Les 3 principales catégories de défenses antioxydantes (Halliwell, 1989).....	36
Tableau. IV. 1: Gamme de dilutions décroissante de l'extrait butanolique pour la mesure ...	50
Tableau V. 1: les résultats de criblage obtenus. ....	56
Tableau V. 2: Résultats du dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux des extraits d'une plante de la famille des Asteraceae .....	57
Tableau V. 3: Identification et quantification des composés chimiques dans l'extrait BuOH de la plante étudiée, analysés par LC-MS/MS (exprimées en mg/g). ....	60
Tableau V. 4: L'activité antioxydante DPPH (mg EAA / g d'extrait végétal).....	61
Tableau V. 5: Résultats de l'activité antioxydante par le test phénanthroline .....	62
Tableau V. 6: Résultats de la capacité antioxydante totale (TAC) .....	63

## ***LIST DES ABREVIATION***

<b>ABTS</b>	2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>AcOEt</b>	Acétate d'éthyle
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AH</b>	Antioxydant donneur d'hydrogène
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Chlorure d'aluminium
<b>APG</b>	Angiosperm Phylogeny Group
<b>BHA</b>	Butyl-hydroxy-anisole
<b>BHT</b>	Butyl-hydroxy-toluène
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche mince
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Chloroforme
<b>DPPH</b>	2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl
<b>EOA</b>	Espèces oxygénées activées
<b>EOR</b>	Espèces oxygénées réactives
<b>FLO•</b>	Radical flavoxyle
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>LDL</b>	Low-densitylipoprotein
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>SOD</b>	Superoxyde-dismutase
<b>UV</b>	Ultra-violet
<b>v/v</b>	Volume par volume
<b>TAC</b>	Total Antioxydant Capacity
<b>LC/MS/MS</b>	Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse
<b>BuOH</b>	Butanolique
<b>COX</b>	Cyclooxygénase

<b>VIH</b>	Virus Immunodéficience Humaine
<b>RT</b>	Transcriptase inverse
<b>EGCG</b>	Epigallocatechine gallate
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>ATPase</b>	Enzyme catalysant l'hydrolyse de l'ATP en ADP
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Calcium ionisée
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>O<sub>2</sub>•<sup>-</sup></b>	Anion superoxyde
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène
<b>NO</b>	Xanthine oxydase
<b>OH</b>	Radical hydroxyle
<b>ROOH</b>	Hydroperoxydes
<b>GR</b>	Glutathion réductase
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydé
<b>NADP</b>	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
<b>NADPH</b>	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Oxydase
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Ion ferrique
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Ion ferreux
<b>Nrf2</b>	Nuclear factor erythroid 2–related factor 2
<b>IC50</b>	Concentration Inhibitrice Mediane
<b>K2S2O8</b>	Persulfate de potassium
<b>CUPRAC</b>	Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity
<b>NC</b>	Néocuproïne
<b>Cu<sup>+2</sup></b>	Oxyde de cuivre
<b>UHPLC</b>	Chromatographie liquide à ultra haute performance

<b>ESI</b>	Ionisation par électrospray
<b>MRM</b>	Multiple Reaction Monitoring
<b>IT</b>	Ion Trap
<b>TOF</b>	Time Of Flight
<b>CE</b>	Energies de collision
<b>KI</b>	D'iodure de potassium
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	Chlorure mercurique
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Perchlorure de fer
<b>HCl</b>	Chlorure d'hydrogène
<b>IM</b>	L'indice de mousse
<b>WO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>	Phosphotungstique
<b>MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>	Phosphomolybdique
<b>EAG</b>	Equivalent Acide Galique
<b>EQ</b>	Equivalent Quercetine
<b>EAA</b>	Equivalent Acide Ascorbique

## *Introduction générale*

Depuis la nuit des temps, les plantes médicinales constituent un pilier essentiel dans la prévention et le traitement des maladies. Aujourd'hui encore, leur usage suscite un intérêt croissant à l'échelle mondiale, tant dans les pays en développement, où elles demeurent un recours thérapeutique privilégié, que dans les pays industrialisés, où elles représentent une source majeure d'innovation pour la découverte de nouveaux agents pharmacologiques. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 80 % de la population dans certaines régions, notamment en Afrique et en Asie, dépend encore des remèdes d'origine végétale pour les soins de santé primaires (**Tiwari, 2008**).

Les substances naturelles issues des plantes occupent ainsi une place centrale dans la recherche pharmaceutique moderne. Il est établi que plus de 60 % des médicaments actuellement commercialisés dérivent, directement ou indirectement, de composés naturels. Pourtant, seule une infime partie de la biodiversité végétale mondiale a été explorée pour ses vertus thérapeutiques, laissant entrevoir un potentiel immense encore inexploité.

L'Algérie, de par sa position géographique, sa diversité climatique et sa richesse floristique, constitue un véritable réservoir de biodiversité végétale, avec plus de 3000 espèces recensées, dont 15% est endémique (**Quezel et santa, 1962**). Cette richesse offre un terrain propice à la recherche de molécules bioactives d'intérêt thérapeutique. Cependant, de nombreuses espèces restent encore inexploitées, aussi bien sur le plan phytochimique que pharmacologique.

Le présent travail de recherche s'inscrit dans cette dynamique de valorisation des ressources naturelles et constitue une contribution à l'étude de la flore du nord de l'Algérie. Il porte sur l'investigation phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante d'une plante appartenant à la famille des Asteraceae.

Les espèces de la famille des Asteraceae ont, au fil des recherches chimiques antérieures, ont montré une diversité impressionnante de métabolites secondaires d'intérêt biologique. Parmi ceux-ci, on distingue les sesquiterpènes et sesquiterpènes lactones (**Zidorn, 2008; Oleksandr et al., 2019**), les diterpènes (**Stefan Safer et al., 2011**), les triterpènes (**Boutaghane et al., 2013**), les flavonoïdes (**Boutaghane et al., 2013; Lehbili et al., 2018**), les saponosides triterpéniques (**Lehbili et al., 2018**) ainsi que les acides phénoliques.

Notre travail de recherche sera présenté globalement en deux parties :

- ✚ **La première partie** concerne la recherche bibliographique, réunit en trois chapitres distincts :
  - ❖ **Le premier chapitre**, consacré aux aspects botaniques incluant la présentation de la famille astéracée. Leurs répartitions géographiques, usages traditionnels.
  - ❖ **Le deuxième chapitre**, concerne l'étude bibliographique des métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes) : leur définition, leur classification ainsi que leur intérêt thérapeutique.
  - ❖ **Le troisième chapitre**, est un aperçu sur les activités biologiques, avec quelques méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.
- ✚ **La deuxième partie** du manuscrit évoque nos travaux personnels menés en deux chapitres :
  - ❖ **Matériel et méthodes** : résume les travaux expérimentaux réalisés dans le cadre de l'investigation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques antioxydante (DPPH, TAC, et Phenanthroline) de deux extraits butanolique et brut, ainsi que la chromatographie sur couche mince et spectrométrie de masse à haute résolution (LC/MS/MS) utilisées pour réaliser ce travail.
  - ❖ **Résultats et discussions** : présente les résultats obtenus, leurs discussions et leurs comparaisons avec des études antérieures réalisées.

Enfin le manuscrit se termine par une conclusion générale.

**1<sup>ère</sup> partie :**

**Recherche bibliographique**



# Chapitre I

---

## Rappel bibliographique

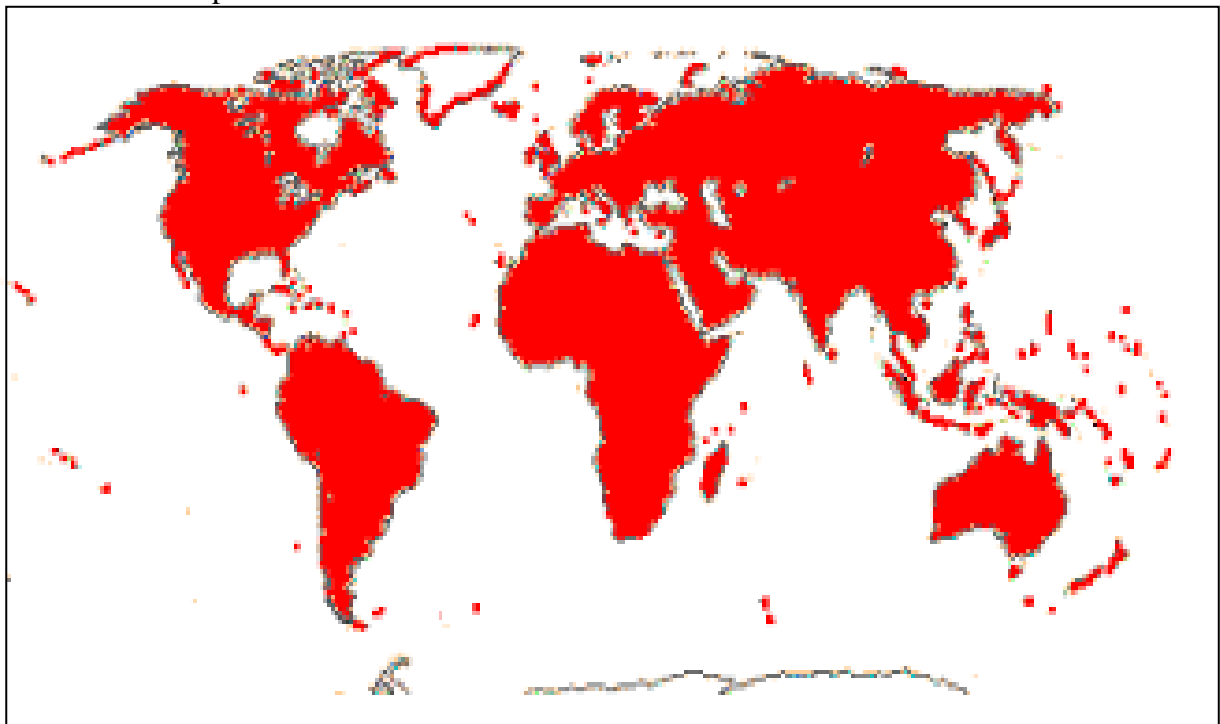
## I.1. Famille des Asteraceae

### I .1.1. Généralités

La famille des Asteraceae, également appelée Composées (ou Compositae en latin), fait partie des plus grandes familles de plantes dicotylédones. Le nom Asteraceae vient du mot grec *Aster* qui signifie étoile en relation avec la forme de la fleur. Elle regroupe près de 25 000 à 35000 espèces réparties sur 1600 à 1700 genres ce qui en fait la deuxième famille la plus importante des Angiospermes (**Dupont et al., 2012; Funk et al., 2005; Heywood et al., 2007**), après les Orchidaceae (avec 25 000 espèces), mais avant les Fabaceae. Le sol algérien abrite près de 109 genres et plus de 408 espèces appartenant à cette famille (**Quezel et Santa, 1963**).

Si la plupart sont des plantes herbacées, certaines sont arbustives, au feuillage persistant ou des sous-arbrisseaux, d'autres sont des espèces de ligneuses grimpantes. Les herbacées peuvent être annuelles (soucis), ou vivaces, rhizomateuses (aster), à racine pivotante (pissenlit) ou tubéreuse (topinambour).

Les plantes de la famille des Asteraceae se trouvent à travers le monde entier (**Figure 1**). Cette famille cosmopolite présente une distribution géographique mondiale, à l'exception de l'Antarctique. Elles s'adaptent bien aux régions tropicales et subtropicales semi-arides, à la toundra alpine et arctique, ainsi qu'aux zones tempérées. Les espèces de cette famille peuvent aussi pousser dans les régions froides (**Bruneton, 2007**), cependant, leur présence reste limitée dans les forêts tropicales.

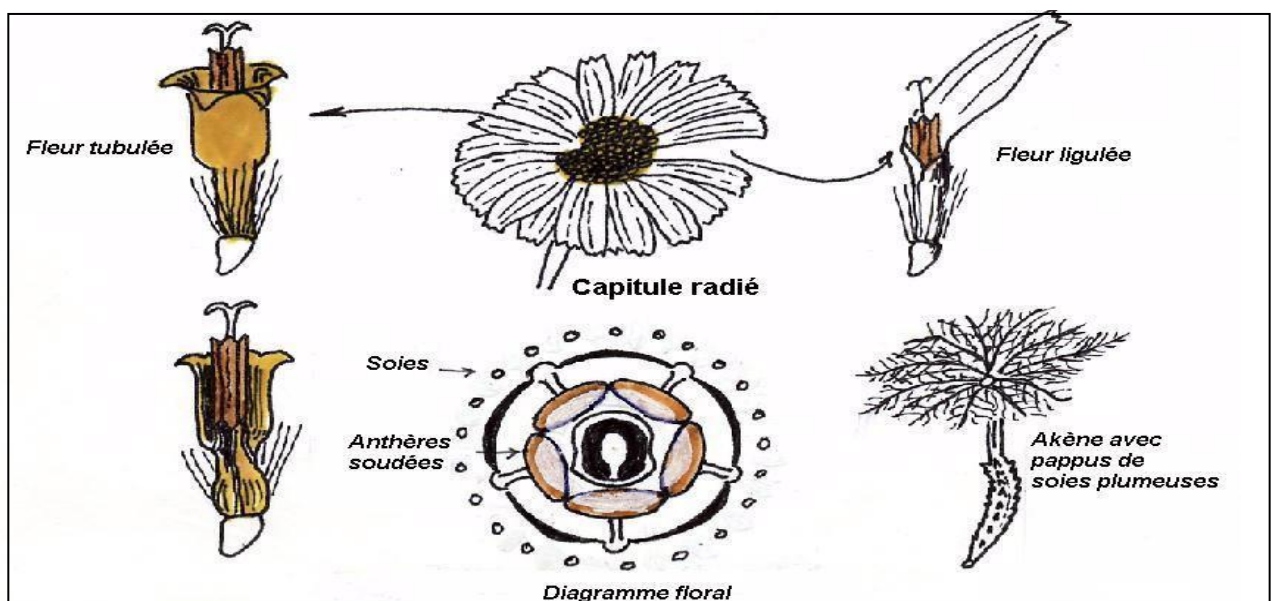


**Figure I. 1 :** Répartition de la famille des Astéracées dans le monde

### I.1.2. Description botanique de la famille Asteraceae

Cette famille se caractérise principalement par sa structure florale uniforme, sa grande diversité écologique, son caractère cosmopolite et son inflorescence en capitule., c'est -à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige ou entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelée un involucre.

- Les fleurs (fleurons), stériles, unisexuées ou hermaphrodites, sont caractérisées par leurs anthères soudées,
- L'inflorescence en capitule qui comprend un réceptacle sur lequel sont insérées des fleurs formant ainsi une « fleur composée », d'où l'ancien nom de la famille (Compositae) (**Figure 02**)
- Le capitule présente un réceptacle entouré par un involucre de bractées stériles. Les fleurs sessiles s'insèrent sur le réceptacle qui peut être bombé, plan ou concave, et dépourvu ou non de paillettes (correspondant aux bractées des fleurs), caractère de détermination.
- La corolle est généralement formée de 5 pétales. Elle peut être régulière, formant alors des fleurons ou fleurs tubuleuses, ou irrégulière. Le limbe, qui termine le tube de la corolle, peut être déjeté sur le côté et prendre la forme d'une lame aplatie avec 3 ou 5 dents, ce qui correspond à des demi-fleurons ou fleurs ligulées (**Figure 02**).
- Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent.

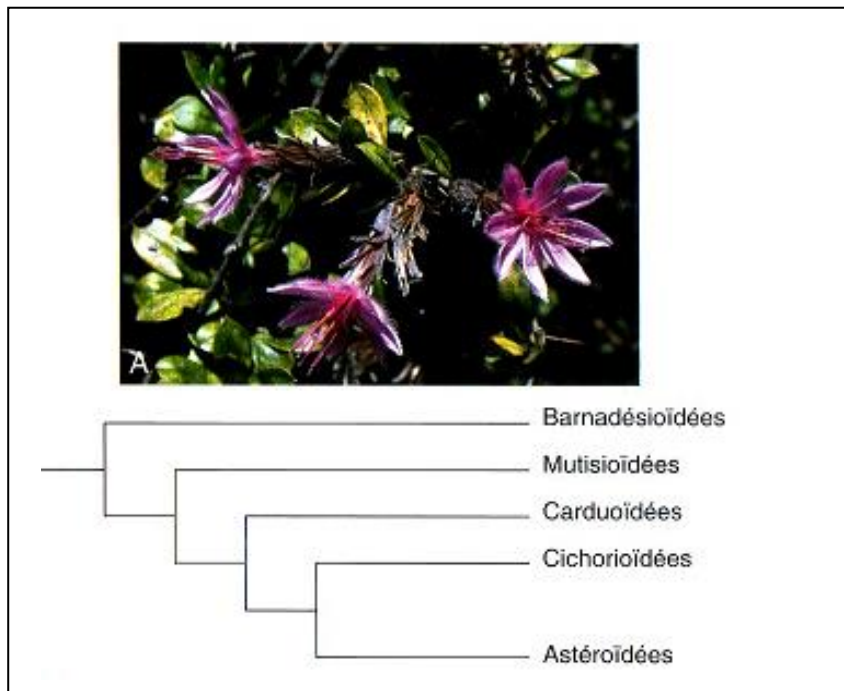


**Figure I. 2 :** Représentation schématique des différents organes de plantes Asteraceae

### I.1.3. Position systématique de la famille Asteraceae

La classification de la famille des Astéracées est particulièrement complexe et varie selon les chercheurs. Les espèces de cette famille ont fait l'objet de nombreuses études visant à établir une classification plus détaillée. On peut subdiviser l'immense famille des Asteraceae en cinq sous-familles principale (**Figure 03**) :

- Les **Barnadesioideae** et **Mutisioideae** sont des arbustes ou des plantes herbacées, principalement originaires d'Amérique du Sud. Ce sont des formes archaïques des Astéracées, dont les fleurs présentent une corolle zygomorphe bilabée à 1/4 (pour les Barnadesioideae) ou à 2/3 (pour les Mutisioideae). La sous-famille des Mutisioideae inclut des plantes comme le Gerbera, une espèce sud-africaine cultivée pour ses magnifiques capitules en forme de marguerite.



**Figure I.3 :** Classification des Asteraceae d'après APG, simplifiée, en photo, *Barnadesia*, arbuste représente les Asteraceae primitives (**Dupont et Guignard 2012**).

- Les **Carduoideae** se caractérisent par des fleurs typiquement roses, bleues ou pourpres, toutes tubulaires, comme celles que l'on trouve dans le capitule du **Bleuet** (**Figure 04**). Cette sous-famille comprend des plantes comme les **Chardons**, les **Cirses** et de nombreuses Astéracées épineuses présentes dans la région méditerranéenne."



**Figure I. 4 :** Illustrations de *Cyanus cyanus* L (Bleuet).

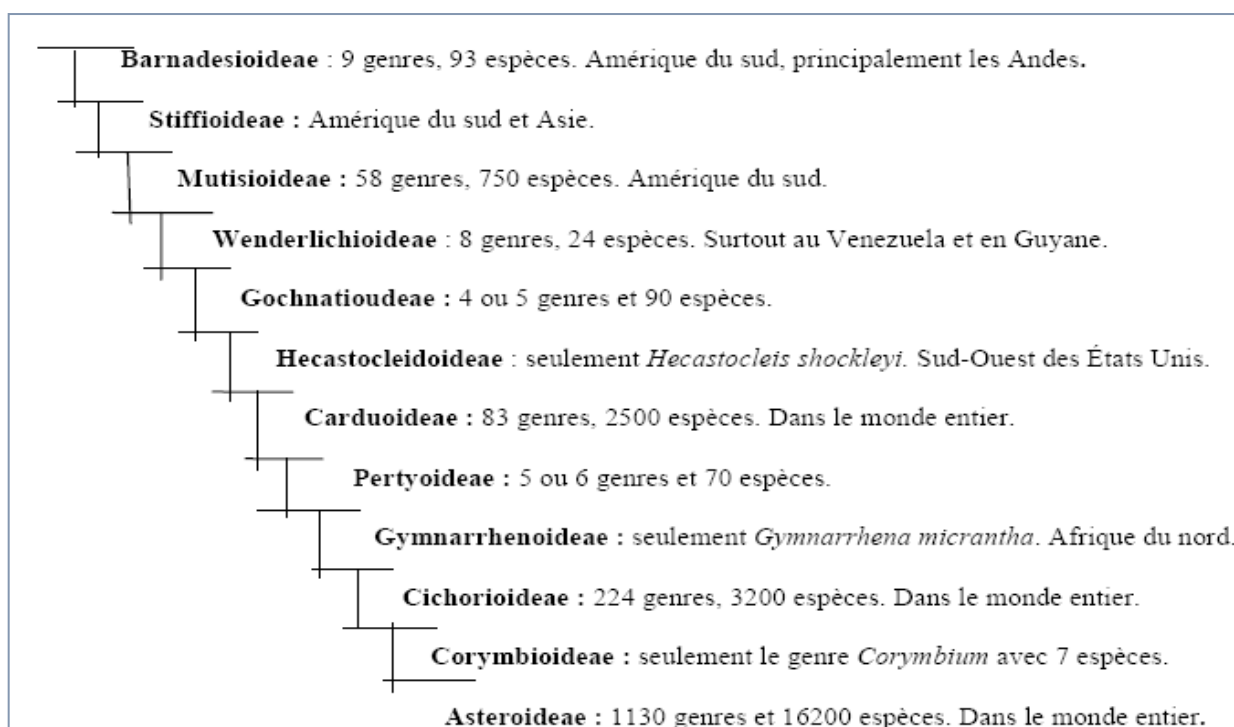
- Les **Cichorioideae** regroupent des Astéracées produisant du latex, un caractère que l'on retrouve dans des espèces comme **Lactuca** (laitue) ou **Laiteron**. Les capitules de ces plantes ne contiennent que des fleurs ligulées, qui se terminent par cinq dents, formant ainsi une languette généralement jaune, parfois bleue.
- **Les Astéroïdées**, avec environ 16 000 espèces, constituent la majorité des Asteraceae. Ce groupe diversifié se caractérise par ses capitules « radiés », avec des fleurs tubulées, généralement jaunes, au centre, et des fleurs ligulées à la périphérie, souvent blanches et terminées par 3 dents, comme c'est le cas chez la marguerite. Ce groupe inclut également des espèces ayant perdu secondairement leurs fleurs ligulées, telles que les Armoises.

Les Astéroïdes sont elles-mêmes divisées en plusieurs tribus, parmi lesquelles les plus importantes sont : les Anthémidées, les Astérées, les Sénécionées et les Hélianthées.

Deux groupes de chercheurs (**Baldwin et al., 2002 ; Panero et Funk, 2002 ; Panero et Funk, 2007 ; Panero et Funk, 2008**) ont développé un nouveau système de classification fondé sur des critères de la phylogénie moléculaire. Ils ont intégré l'ensemble des caractères héréditaires,

allant des traits visibles (qui constituent la base des classifications traditionnelles) jusqu'aux séquences d'ADN, en passant par les protéines et les données paléontologiques.

Cette méthode a permis de diviser la famille des Asteraceae en 12 sous-familles (figure 5) et 43 tribus. Les sous-familles ainsi définies sont : Barnadesioideae, Stiffioideae, Mutisioideae, Wunderlichioideae, Gochnatioideae, Hecastocleidoideae, Carduoideae, Pertyoideae, Gymnarrhenioideae, Cichorioideae, Corymbioideae et Asteroideae. Parmi les tribus identifiées, on trouve : Barnadesieae, Stifftieae, Nassauvieae, Dicomeae, Tarchonantheae, Arctotideae, Astereae, Anthemideae, Heliantheae, Cichorieae et Cardueae.



**Figure I. 5 :** Classification sous familiale phylogénétique des Asteraceae selon Panero et Funk.

#### I.1.4. Etudes chimiques et biologiques antérieures

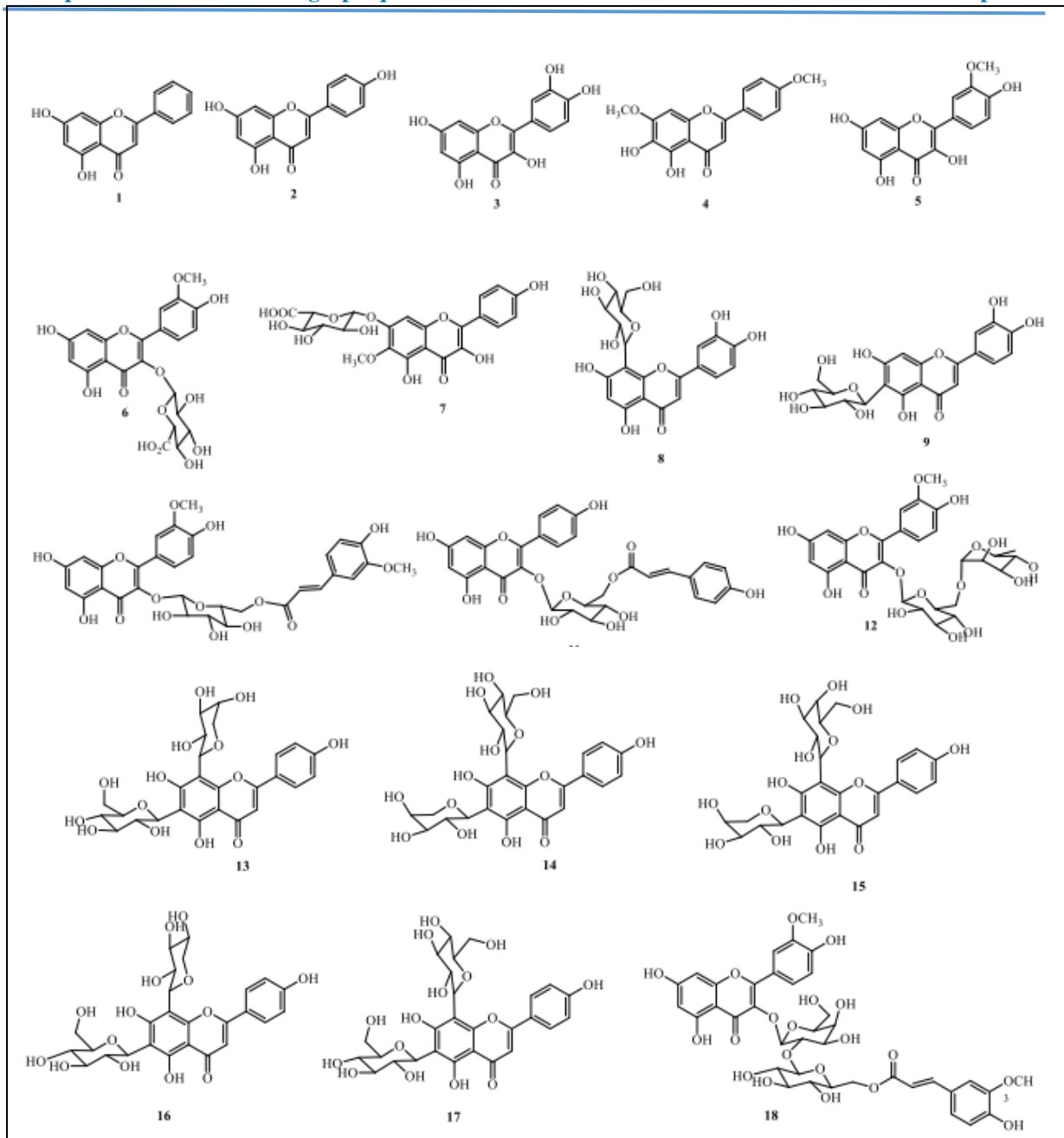
Les données phytochimiques se rapportant aux genres de la famille Astéracée ont été rapidement développées pendant les vingt dernières années. En effet, une centaine d'espèces de cette famille ont déjà fait l'objet d'études phytochimiques et plusieurs centaines de composés ont été identifiés dont la majorité appartient à la classe des terpènes et phénols, plus précisément les dérivés diterpéniques et flavonoïdiques.

Les données phytochimiques approfondies se rapportant aux genres de la famille Asteraceae, ont été rapidement développées pendant les trente dernières années. En effet, une centaine d'espèces de cette famille ont déjà fait l'objet d'études phytochimiques et plusieurs

centaines de composés ont été identifiés dont la majorité appartient à la classe des sesquiterpènes et les sesquiterpènes lactones (Zidorn, 2008; Oleksandr et al., 2019), les diterpènes (Stefan Safer et al., 2011) et les triterpènes (Boutaghane et al., 2013) les flavonoïdes (Boutaghane et al., 2013; Lehbili et al., 2018) triterpènes saponosides (Lehbili et al., 2018) , Les acides phénoliques etc, dont nous allons donner quelques exemples de structures. Les pages qui suivent en sont l'illustration, avec une mention particulière pour les flavonoïdes et saponines triterpéniques en raison de leur prédominance.

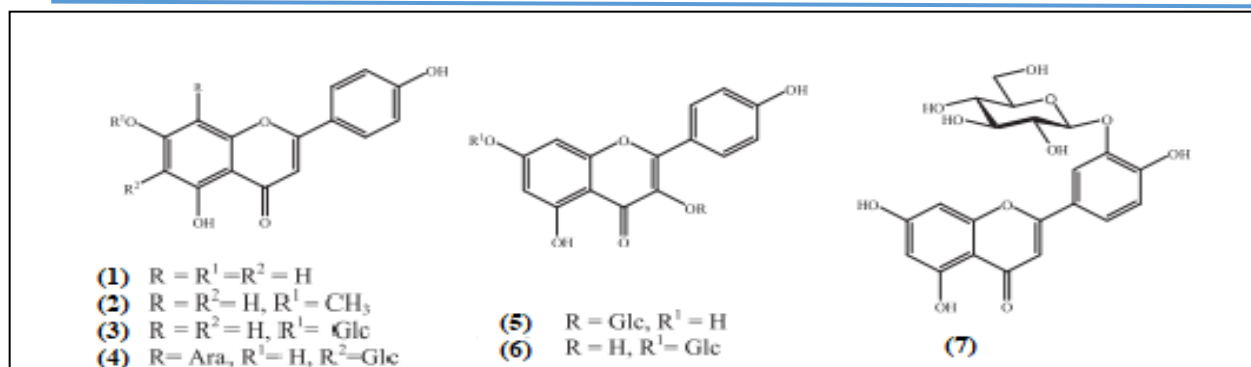
Dix-huit flavonoïdes (1-18) avec différents squelettes et différentes parties osidiques ont été isolées à partir des extraits AcOEt et n-BuOH de la plante *Atractylis. flava* (Chabani et al., 2016), ainsi que les feuilles d'*Atractylis. Gummifera*. On note l'identification de cinq flavonoïdes non glycosylés (1-5) (chrysine, apigénine, quercétine, ladanéine et isorhamnetine), cinq autres flavonoïdes mono-glycosilés (6-10) (isorhamnetine-3-*O*-glucuronide, atraflavoside A, orientine, isoorientine et isorhamnétine-3-*O*-robinobioside) et huit flavonoïdes di-glycosilés (11-18) (tiliroside, narcissine, vicenine 3, schaftoside, isoschaftoside, neocorymboside, vicenine 2 et atraflavoside B).



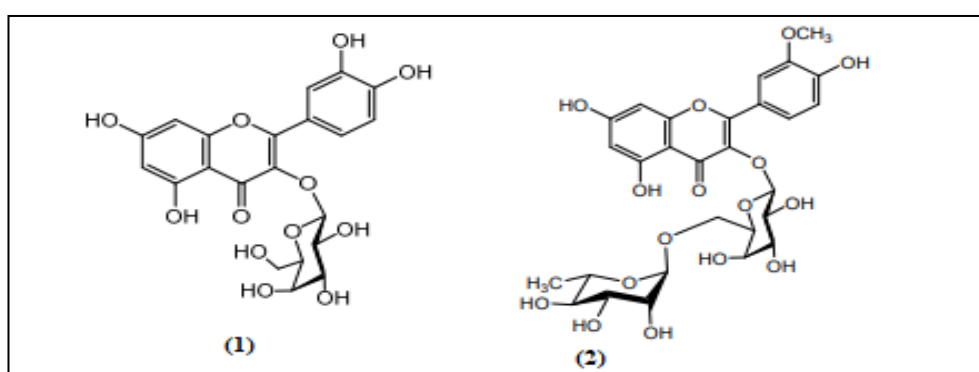


▪ L'étude phytochimique des extraits chloroformique et acétate d'éthyle des parties aériennes de *Chrysanthemum macrocarpum* (Asteraceae) (**Boutaghane et al., 2013**) a conduit à l'isolement et l'identification de 7 flavonoides : Apigénine (1), 7-*O*-methylapigénine (2), Apigénine-7-*O*-glucoside (3), kaempferol-3-*O*-glucoside (5), kaempférol-7-*O*-glucoside (6), lutéoline-3-*O*-glucoside (7) et 6-C-glucosyl-8-Carabinosylapigénine (4)

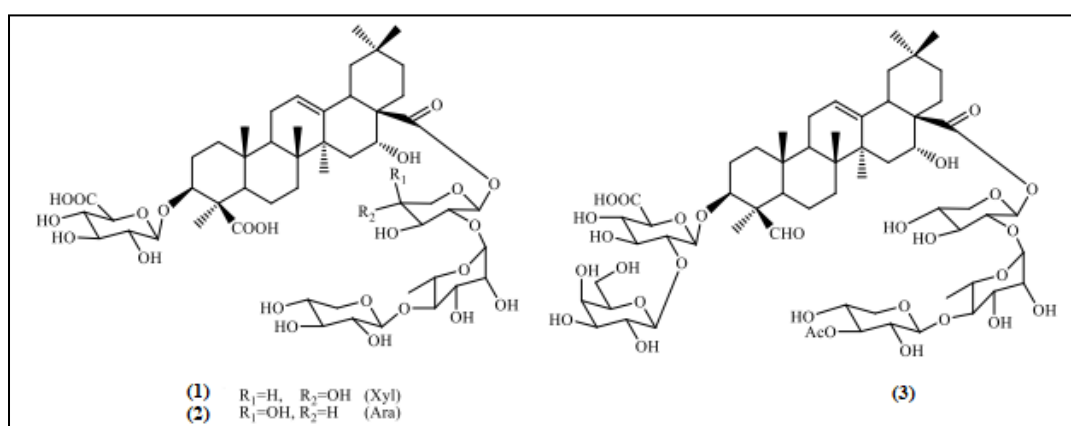




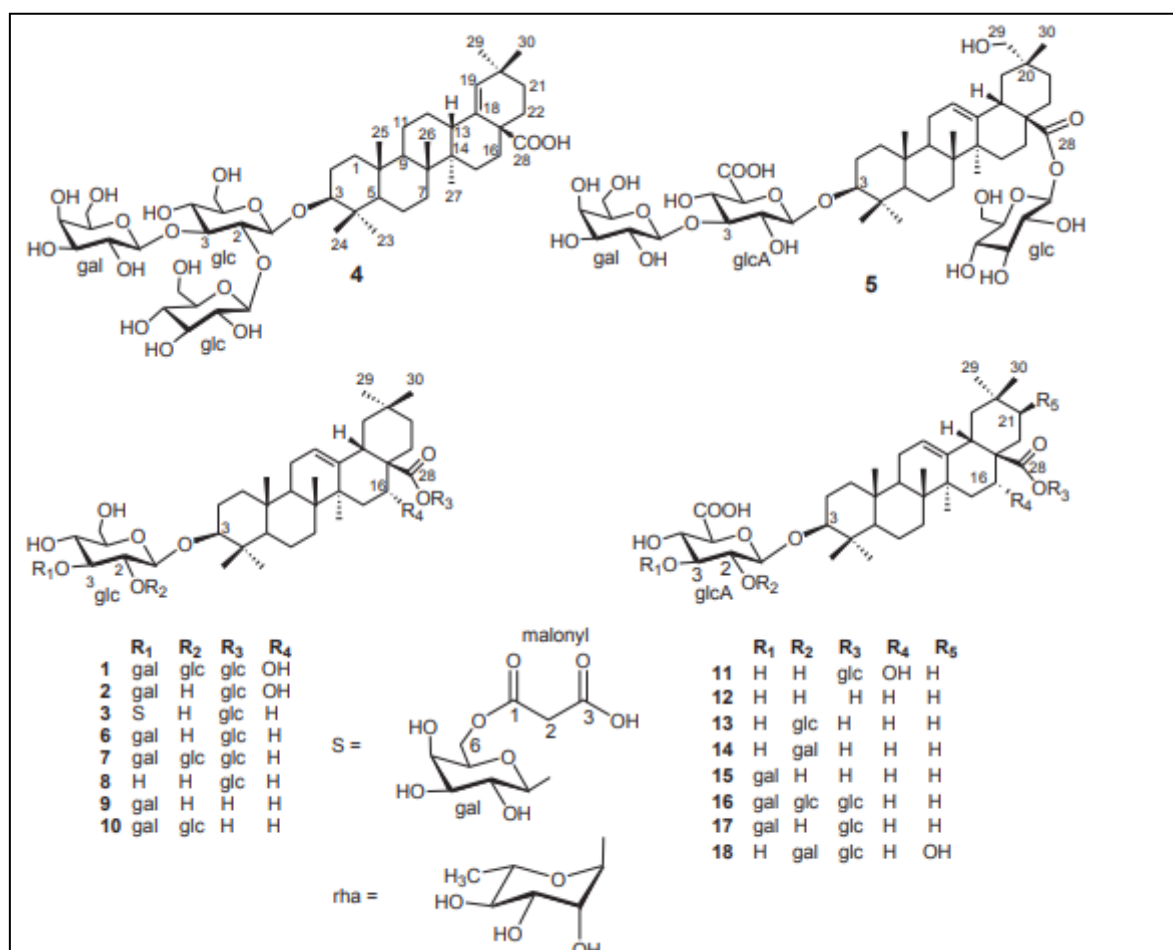
▪ L'étude phytochimique portant sur la plante entière *Calendula stellata* Cav. (Asteraceae), (Lehbili et al., 2018) a abouti à l'isolement de deux flavonoïdes Quercétine-3-O-β-D-galactopyranosyl (hyperine) (1) et 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-galactopyranosyl-isorhamnetine (2).



▪ L'investigation chimique menée sur l'espèce *Atractylis. flava* (Chabani et al., 2016) a abouti à l'isolement et la caractérisation de plusieurs métabolites secondaires de type flavonoïdes et triterpènes, ainsi que trois saponines nouvelles (1-3) dérivées d'acide gypsogénique et l'acide quillaïque à partir de l'extrait *n*-BuOH.



Vingt saponines triterpéniques (1-20) ont été isolées pour la première fois à partir de la plante entière *Calendula stellata* dont cinq décrites pour la première fois dans la littérature (Lehbili et al., 2018)



### I.1.5. Usages traditionnels des Astéracées

En corrélation avec les différents usages traditionnels des plantes de la famille Asteraceae, diverses études biologiques ont été menées afin de déterminer les différentes activités biologiques susceptibles d'être exploitées ultérieurement à des fins thérapeutiques. La majorité d'entre elles concernent les effets anti-oxydant, antimicrobien, antiprolifératif [19], anti-infection, anti-inflammatoire, antinociceptif,..... etc. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance thérapeutique :

- En médecine traditionnelle italienne, Les racines de *Carlina acanthifolia* All. sont utilisée, comme diurétique et cholagogue. Des études ont montré que les racines de cette plante participent à la promotion de la transpiration et la sécrétion, par contre en Bulgarie elles ont des propriétés anti-inflammatoires et diurétiques. (**Leporatti et Ivancheva., 2003 ; Đordevic et al., 2007**)
- *Carlina canariensis* Pit est utilisée comme laxatif et *Carlina salicifolia* (L. fil.) Cav. est employée comme fourrage pour bétail. (**Darias et al., 1989**)

- L'utilisation des racines de l'espèce *Echinops. grijisii* est rapporté dans la Pharmacopée chinoise. Cette espèce, commercialisée sous le nom de « Yuzhou Loulu », est employée pour stimuler la lactation ou « détoxifier » l'organisme (**Zhang et Ma, 2010**). Les racines de cette même espèce ainsi que celles d'*E. latifolius* peuvent également être utilisées pour traiter certains cancers (**Graham et al., 2000**).
- En Inde, la plante entière d'*E. echinatus* est utilisée comme antalgique et comme anti-inflammatoire, alors que les racines constituent un remède contre la fièvre et la toux (**Singh et al., 1989**). Celles-ci peuvent également être utilisées comme diurétique ou pour soulager certains troubles uro-génitaux. Administrées avant l'accouchement, elles permettraient d'accélérer la délivrance (**Padashetty et Mishra., 2007**). Des indications semblables sont rapportées au Maroc pour les racines de l'espèce *E. spinosus* (**Lahsissene et al., 2009**).
- Au Cameroun, les racines d'*E. giganteus* sont ajoutées à certaines préparations culinaires pour prévenir certains troubles cardiaques et gastriques (**Tene et al., 2004**). En Éthiopie, certaines espèces de ce genre sont indiquées dans le traitement de certains troubles cardiaques, de la migraine, de diarrhées, des hémorroïdes ainsi qu'en tant que vermifuge. (**Hymete et al., 2005**).
- Les extraits de différents organes de *Chromolaena. odorata* ont été utilisés en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies.
- Au Vietnam et dans d'autres pays tropicaux, les feuilles fraîches ou la décoction ont été utilisées pendant longtemps pour le traitement de la morsure de sangsue, de la blessure de tissus mous, blessures de brûlures, de l'infection de la peau et de la dentoalvéolaire. (**Le., 1995 ; Phan., 2001**)
- En Côte-d'Ivoire, ils ont été utilisés dans la pharmacopée pour soigner les douleurs abdominales et les céphalées (**Bedi et al., 2004**), comme cicatrisant et agent antiseptique local. (**Bamba et al., 1993**)
- La décoction des feuilles est utilisée comme boisson pour le traitement du paludisme et du diabète. Le pétrissage des feuilles est employé, après solubilisation de la pâte obtenue dans de l'eau, comme purge pour le traitement de la diarrhée. (**N'guessan et al., 2009**)
- En Thaïlande, la décoction des tiges de la plante peut être utilisée en cas d'hémorragie pulmonaire. (**Thakong, 1999**)

- En Algérie, *Calendula. officinalis*, *Calendula. arvensis* et *Calendula. algériensis* sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour calmer les douleurs de tête et de dents, et comme antiseptique et vulnéraire.

**En usage interne :** une infusion obtenue des fleurs est utilisée dans les cas d'engorgement du foie, de céphalées et comme dépuratif.

**En usage externe :** la décoction serait utile pour soigner les affections des yeux (en application sous forme de compresses), les brûlures, ulcères, les crevasses, les abcès, les furoncles, l'acné, les engelures, les irritations cutanées, l'eczéma et les plaies de toute nature. Le principe colorant contenu dans les fleurs pourrait être utilisé comme colorant pour teindre les cheveux (**Baba Aïssa, 1991**).

- En médecine Coréenne et Chinoise, *Chrysanthemum indicum* est utilisée comme remède antibactérien et anti-inflammatoire elle est utilisée aussi pour traiter plusieurs maladies infectieuses et les troubles d'hypertension (**Cheng et al., 2005**). Alors que *C. morifolium* Ramat est utilisée comme complément alimentaire ou tisane, puisqu'elle est considérée comme un aliment de santé par de nombreux consommateurs. Afin d'établir une assise scientifique à cette pratique, l'investigation des activités antioxydante (**Kim et Lee., 2005**), antitumorale (**Miyazawa et Hisama, 2003**) et protection cardiovasculaire (**Jiang et al., 2004**) a été mise en œuvre.
- En médecine traditionnelle Marocaine, *C. Segetum* est utilisée pour traiter des maladies hépatiques et les troubles de la vésicule biliaire. (**Bellakhdar et al., 1991**)
- Plusieurs espèces du genre *Atractylis* ont des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisées en médecine traditionnelle, à titre d'exemple et au Maroc, la racine desséchée de *Atractylis gummifera* L. connue sous le nom de chardon à glu (Addâd ou choûk el-eulk) est utilisée pour arrêter les hémorragies et pour provoquer les vomissements. Elle est utile contre l'épilepsie et l'hystérie et guérit les œdèmes. Elle est aussi reconnue pour ses propriétés diurétiques et antipyrétiques, et pour le traitement des parasites intestinaux et les ulcères ainsi que des morsures de serpents.

**En usage externe,** *A. gummifera* est utilisée pour ses propriétés cicatrisantes en applications locales, en frictions ou en cataplasmes, dans le traitement de la gale, des taches de rousseur, des boutons d'acné, des chancres syphilitiques, des abcès et des furoncles. (**Daniele et al., 2005 ; Skalli et al., 2002**)

### **I .1.6. Quelques activités biologiques reconnues des Asteraceae**

Les espèces de la famille Asteraceae ont fait l'objet de plusieurs études biologiques pour déterminer les différentes activités pharmacologiques susceptibles d'être exploitées dans le domaine de la thérapeutique. Elles concernent principalement : l'activité antivirale (**Borgo et al., 2024**) (anti-VIH) (**Kalvatchev et al., 1997**), antioxydante (**Fonseca et al., 2010**), antibactérienne (**Hamad et al., 2011**), antitumorale (**Ukiya et al., 2006**), anti-inflammatoire (**Sánchez et al., 2025**) et antiulcérogène (**Melakhessou et al., 2018 ; Preethi et al., 2009**).

# Chapitre II

---

## Métabolites secondaires

### II.1. Généralités des composés phénoliques :

Les composés phénoliques, également appelés polyphénols, sont des métabolites secondaires produits par les plantes. On les retrouve dans tous les organes végétaux (**Beta et al., 2005**). Leur structure de base repose sur la présence d'au moins un noyau aromatique (benzénique) auquel est attaché un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou impliqués dans d'autres fonctions chimiques telles que les éthers, les groupes méthyles ou esters (**Bruneton, 2016**).

Près de, 10 000 composés naturels répondant à ces critères ont été isolés et caractérisés (**Bruneton, 2016**). Sur la base de leurs structures chimiques, ces composés sont regroupés en plusieurs familles, notamment les anthocyanes, les coumarines, les lignanes, les flavonoïdes, les tanins, les quinones, les acides phénoliques, les xanthones, les stilbènes, entre autres (**Hennebelle et al., 2004**). Ils peuvent se présenter sous forme de monomères, de polymères ou de structures complexes, avec une masse moléculaire pouvant atteindre jusqu'à 9000 uma (**Harbone, 1993**). Ces métabolites secondaires sont produits par les plantes au cours de leur développement, mais également en réponse à divers stress environnementaux tels que les infections, les blessures, les radiations ultraviolettes, etc. (**Bruneton, 2009**).

Les principales classes de composés phénoliques sont regroupées dans le tableau II.1.

**Tableau II. 1** : Principales classes de composés phénoliques

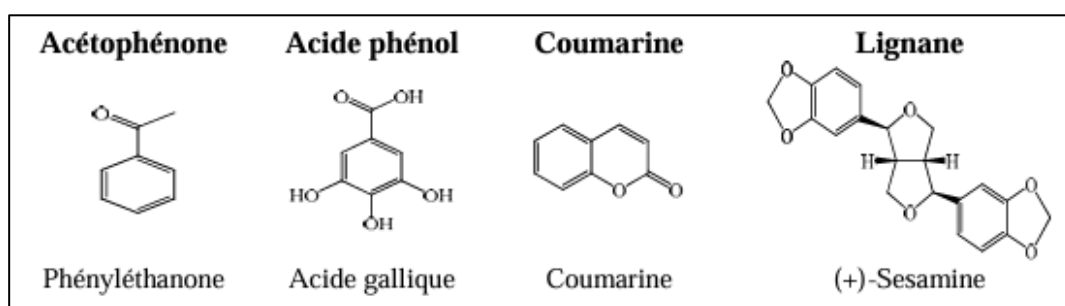
Squelette carboné	Classe	Exemple
<b>Non flavonoïdes</b>		
C <sub>6</sub>	Phénols simple	Catéchol
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acide hydroxy benzoïque	p- hydroxy benzoïque
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acide hydroxycinnamique caumarine	Acide cafeique et ferulique Scopolotine, esculetine
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	resvératrol
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignane	Pinorésinol
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignine	Matairésinol
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés	Prodelphinidine
(C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins hydrolysable	Castalagine
<b>Flavonoides</b>		
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoides <ul style="list-style-type: none"> <li>- Flavonols</li> <li>- Anthocyanes</li> <li>- Flavanols</li> <li>- Flavanones</li> </ul> Isoflavonoides	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catechine, épicatechine Naringénine Daidzéine



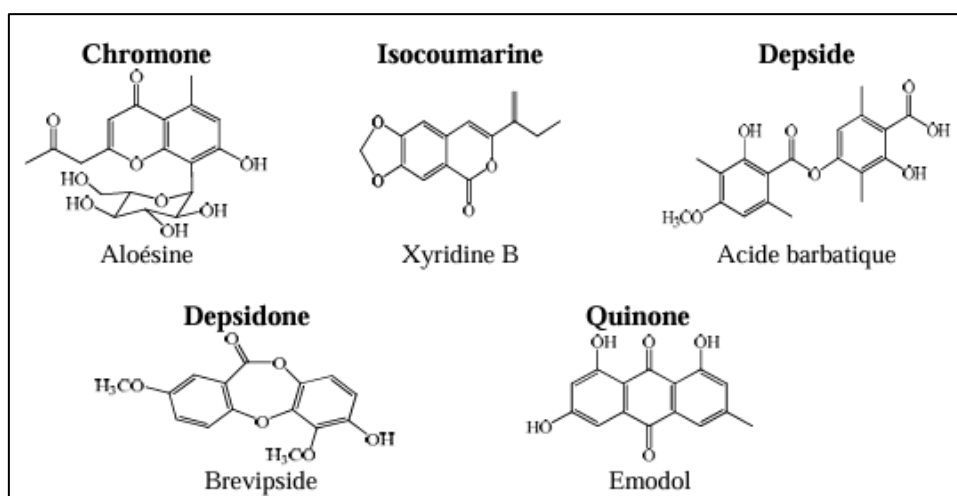
## II .2. Biogénèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques proviennent de deux principales voies d'aromagenèse : la voie de l'acide shikimique et celle de l'acétate.

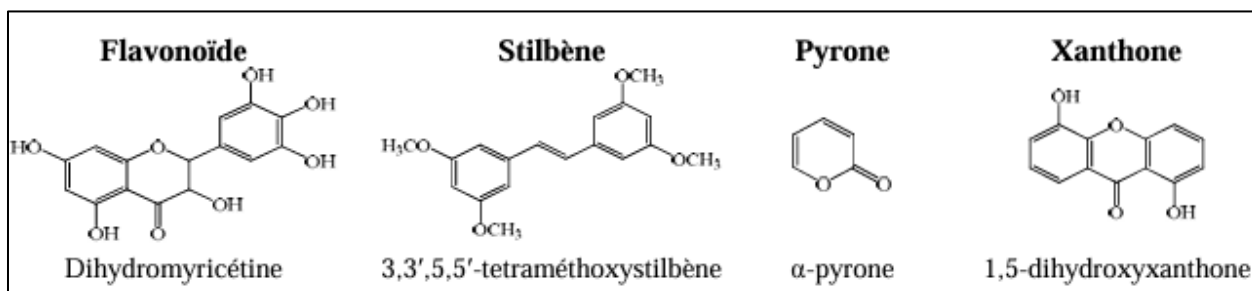
**Voie shikimate** : La voie la plus répandue est celle qui, en passant par le shikimate, joue un rôle essentiel dans la régulation du métabolisme de la voie des phénylpropanoïdes. Elle permet la transformation des oses en acides aminés aromatiques, principalement la phénylalanine et la tyrosine. Par désamination de ces acides aminés aux acides cinnamiques et leurs dérivés, tels que les acétophénones, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes, les lignines, entre autres (Ellis, 2009 ; Roberts, 1996).



✚ **Voie acétate** : l'autre voie biosynthétique majeure débute à partir de l'acétate et mène à la formation de poly- $\beta$ -cétoesters de longueurs variables, appelés polyacétates. Par des réactions de cyclisation telles que la condensation de Claisen ou la condensation aldolique, ces précurseurs donnent naissance à une grande diversité de composés souvent polycycliques, parmi lesquels on retrouve les chromones, les isocoumarines, les depsides, les depsidones, les quinones, etc.



La diversité structurale des composés phénoliques s'explique par leur double origine biosynthétique, issue à la fois des voies du shikimate et de l'acétate. Cette pluralité est d'autant plus marquée que ces deux voies peuvent parfois intervenir simultanément dans la biosynthèse de métabolites d'origine mixte, tels que les flavonoïdes, les stilbènes, les pyrones ou encore les xanthones (**Hemingway et al., 1992 ; Geissamn, 1972**)

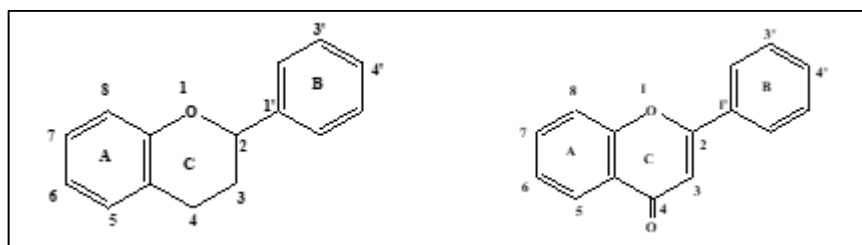


Parmi la grande diversité structurale des composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les acides benzoïques, les acides hydroxycinnamiques, les coumarines, les stilbènes ou encore les lignanes..., notre attention se portera particulièrement sur les flavonoïdes. Ce choix s'explique, d'une part, parce qu'ils sont plus représentés dans notre étude et d'autre part, par les activités biologiques notables que certains d'entre eux peuvent exercer.

## II.2. 1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus abondant de métabolites secondaires chez les plantes. À ce jour, près de 9000 composés différents ont été recensés, et ce nombre ne cesse d'augmenter. Ces molécules se caractérisent par une structure générale à 15 atomes de carbone, organisée selon un enchaînement C6-C3-C6 (**Figure II.1**). Elles possèdent deux cycles benzéniques, désignés cycles A et B, reliés par un chaînon propyle (C<sub>3</sub>) formant le cycle central

Ils ont une origine biosynthétique commune et possèdent la même structure de base à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane (**Figure II.1**).



**Figure II. 1 :** Structures du 2-phényl chromane ou noyau flavane (à gauche) et du 2-phényl chromone (à droite)

Chez les Angiospermes, la diversité structurale des flavonoïdes atteint son maximum. De manière générale, ces composés se localisent dans les feuilles (notamment entre l'épiderme et le mésophylle), dans les fleurs, où ils sont présents dans les cellules épidermiques, ainsi que dans les fruits, en particulier dans le tégument externe (**Bruneton, 1999**).

### II .2.1.1. Classification des flavonoïdes :

Les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs sous-classes, qui se distinguent par une diversité structurale selon la cyclisation et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C alors que les composés individuels au sein d'une classe diffèrent par la substitution des cycles A et B. Le cycle C peut subir des modifications structurales, allant jusqu'à une ouverture suivie

d'une recyclisation en un motif furanique de type dihydrofuranone. Les plus importants sont donnés ci-après (**Figure II.2**).

- ❖ 2-phénylbenzopyriliums : comme les anthocyanes
- ❖ 2-phénylchromones : flavones, flavonols et leurs dimères ou flavanones et dihydroflavonols (dérivés 2,3-dihydrogénés).
- ❖ 2-phénylchromanes : flavanes, flavan-3-ols et flavane-3,4-diols.
- ❖ Chalcones et dihydrochalcones (le cycle pyranique est ouvert).
- ❖ 2-benzylidène-coumaranones (aurones).

En général, les flavonoïdes peuvent être hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4', 5' et/ou 6'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés. Ils peuvent être présents sous forme C- ou O-glycosylés (**Bruneton, 1993**). La (**Figure II.2**) illustre les principales classes de flavonoïdes.

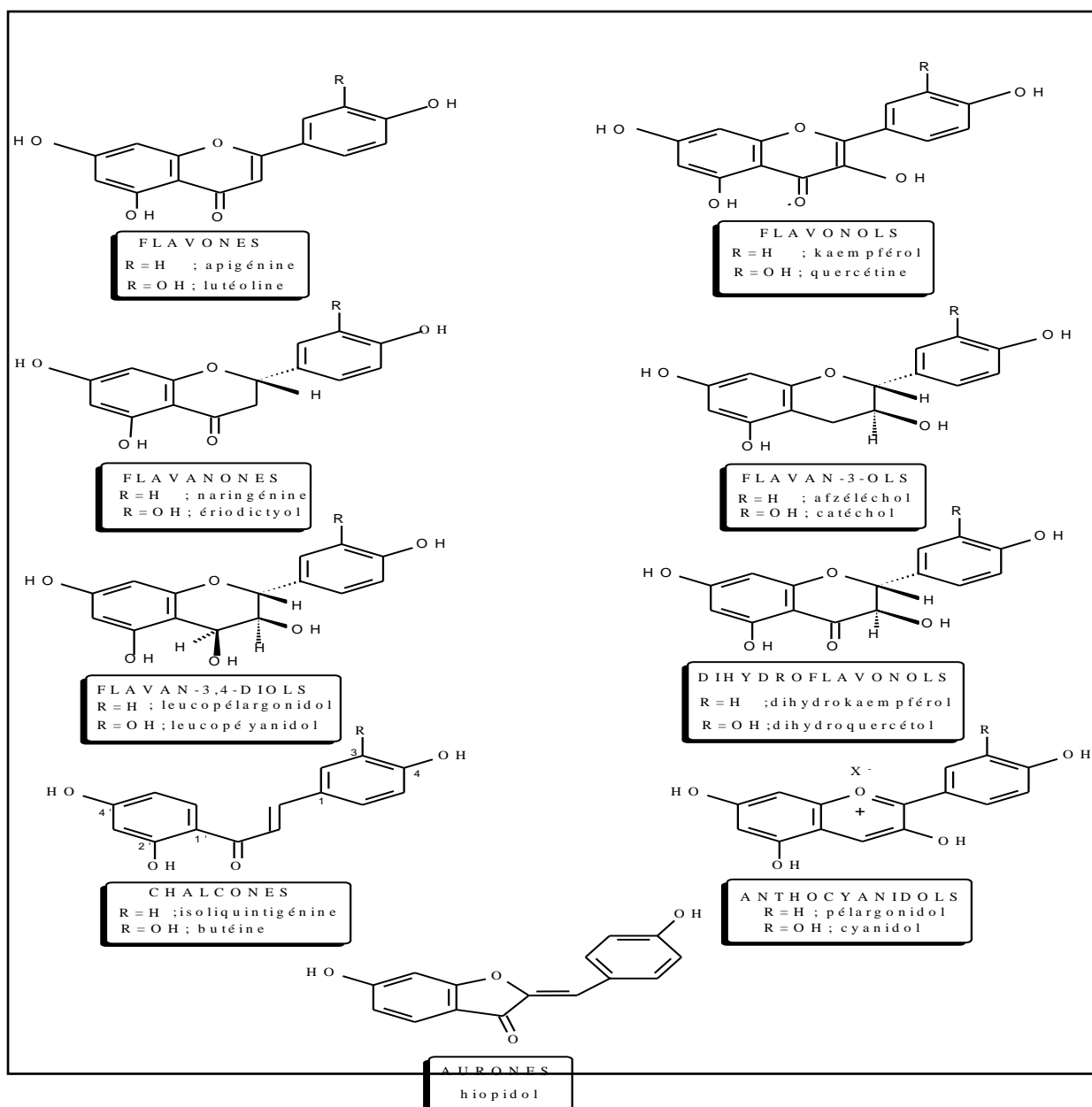


Figure II. 2 : Différentes classes des flavonoïdes

Ainsi, les différentes classes de flavonoïdes dérivent toutes de la chalcone, un intermédiaire central qui subit ultérieurement des réactions catalysées par plusieurs types d'enzymes (Figure II. 3).

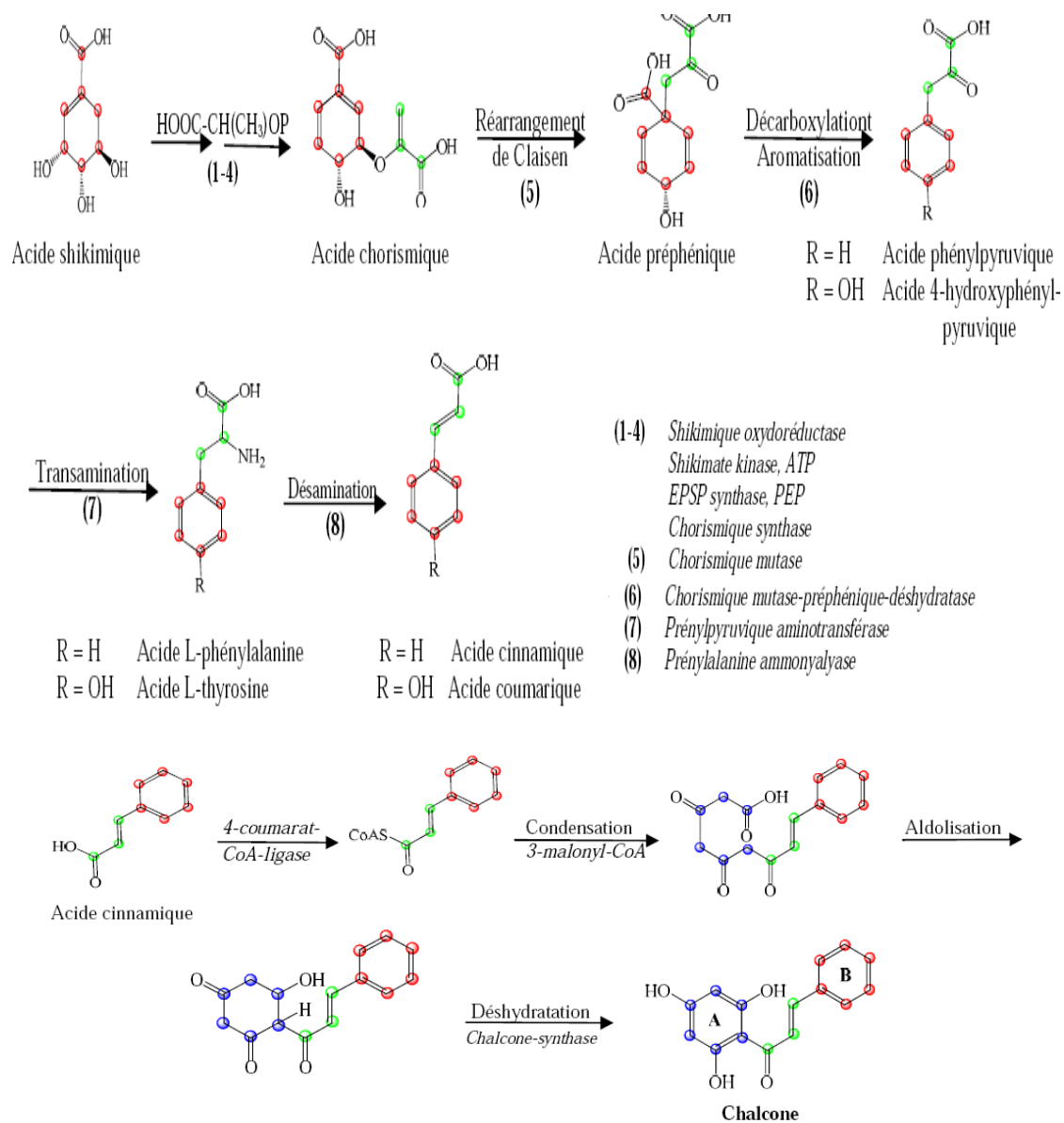
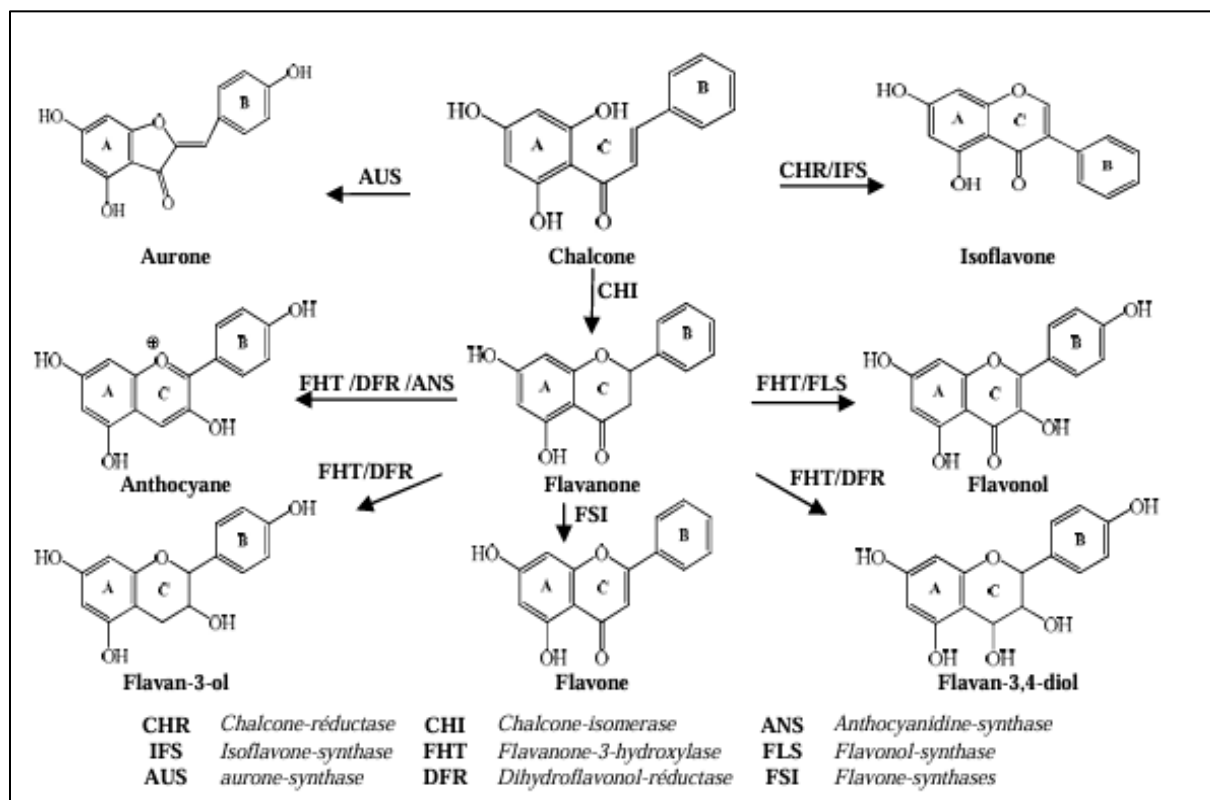


Figure II. 3 : Biogénèse de la chalcone

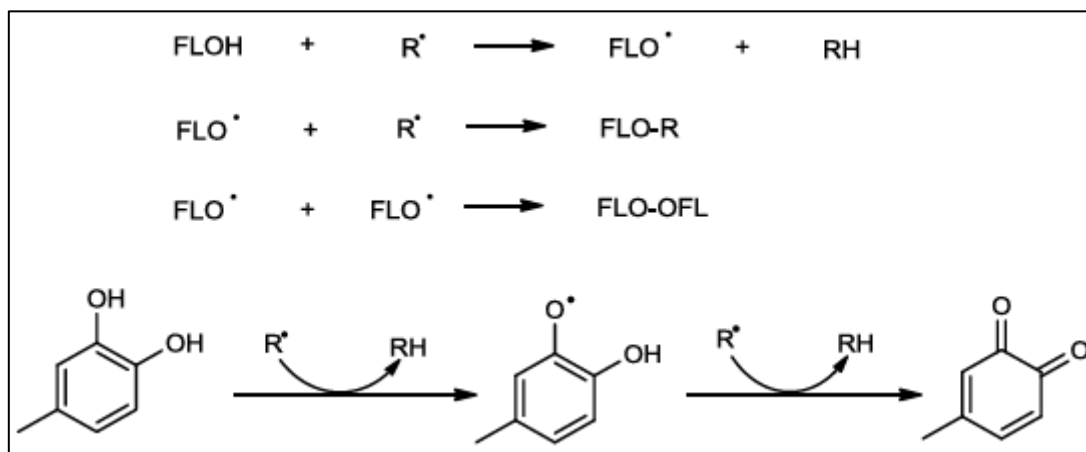


**Figure II. 4:** Schéma récapitulatif de biogénèse des différentes classes de flavonoïdes

## II. 2.1.2. Quelques activités biologiques des flavonoïdes

### 1. Propriétés anti-radicalaires

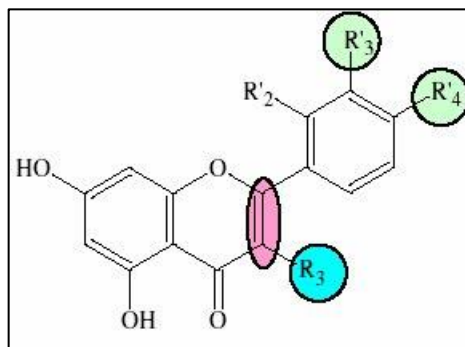
Les flavonoïdes possèdent la capacité de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles (FLO<sup>•</sup>) moins réactifs. Cette propriété antioxydante repose notamment sur leur aptitude à céder un atome d'hydrogène depuis l'un de leurs groupements hydroxyles (**Figure II. 4**). La réaction de piégeage conduit ainsi à la formation d'une molécule stable (RH) et d'un radical flavoxyle (FLO<sup>•</sup>). Ce radical subit une délocalisation de l'électron célibataire par résonance sur l'ensemble du noyau aromatique, réduisant ainsi considérablement sa réactivité comparativement aux radicaux libres initiaux (R<sup>•</sup>). Par ailleurs, les radicaux flavoxyles peuvent également interagir entre eux, pour former des composés non réactifs, renforçant ainsi leur rôle protecteur dans les systèmes biologiques.



**Figure II. 5 :** Piégeage des espèces réactives dérivées de l’oxygène ( $\text{R}^\bullet$ ) par les flavonoïdes et formation d’une structure stable (Tiqwari et al., 2001).

L’activité antiradicalaire des composés flavoniques est étroitement liée à leur structure moléculaire, notamment au phénomène de résonance électronique stabilisant exercé par les noyaux aromatiques. Cette activité repose sur plusieurs critères structuraux essentiels, parmi lesquels :

1. La présence de groupements hydroxyles en position ortho (3',4') sur le cycle B, favorisant la délocalisation des électrons.
2. L’existence d’une double liaison entre C2 et C3 conjuguée à une fonction cétone en C4 sur le cycle C, facilitant la délocalisation des charges.
3. La présence d’un groupement hydroxyle en position 3 sur le cycle C (caractéristique des flavonols), renforçant la capacité de chélation des métaux et de stabilisation des radicaux.
4. Les groupements hydroxyles libres en C3 et C5 (Amić et al., 2003).
5. A titre d'exemple ; la quercétine et la myricétine répondent à tous ces critères nécessaires pour avoir une activité antiradicalaire efficace et importante (Middleton et al., 2000).



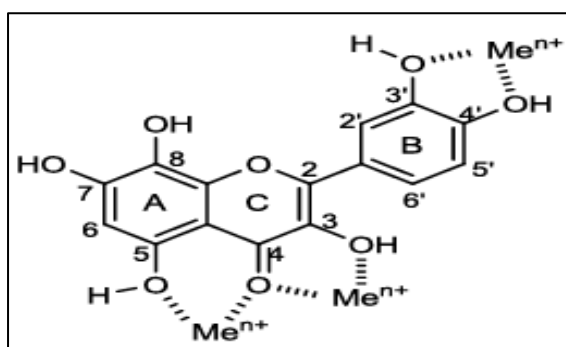
**Figure II. 6 :** Critères structuraux essentiels pour une bonne activité antiradicalaire des flavonoïdes (Amić et al., 2003).

## 2. Propriétés chélatrices des ions métalliques

Les ions métalliques jouent un rôle fondamental dans de nombreux processus biochimiques et physiologiques cellulaires. Toutefois, leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, le stress oxydatif ou encore des lésions tissulaires. À titre d'exemple, l'ion de cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) est connu pour stimuler fortement la peroxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL, *low-density lipoprotein*) (Tiqwari, 2001).

Grâce à leur structure chimique particulière, les flavonoïdes sont capables de chélater efficacement les ions métalliques en formant des complexes stables et biologiquement inactifs. Cette capacité de chélation nécessite trois principaux sites (Figure II. 7)

1. Le site entre le groupement hydroxyle en position 3' et 4' du cycle B
2. Le site entre le groupement hydroxyle en position 3 et la fonction cétone en position 4 du cycle C
3. Le site entre le groupement hydroxyle en position 5 du cycle A et la fonction cétone en position 4 du cycle C.



**Figure II. 7 :** Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques ( $\text{Men}^+$ ) (Tiqwari, 2001).



### 3. Propriétés anticancéreuses

Des recherches ont mis en évidence que certains flavonoïdes, tels que la lutéoline, la quercétine, le kaempférol, l'apigénine et la taxifoline, inhibent de manière significative la lipogenèse des cellules cancéreuses. Par ailleurs, d'autres flavonoïdes se distinguent par leur capacité à induire l'apoptose. C'est notamment le cas de certains flavanols, comme l'épigallocatechine-3-gallate (EGCG), des études ont montré que l'EGCG présente des effets antitumoraux sur divers cancers, notamment ceux du sein, de la prostate, du poumon, colorectal, le mélanome, ainsi que les cancers hématologiques comme la leucémie myéloïde aiguë, la leucémie myéloïde chronique et le myélome multiple. (Sharifi-Rad et al., 2020 ; Kim et al., 2014 ; Tsukamoto et al., 2014 ; Du et al., 2012).

### 4. Propriétés anti-inflammatoires

Plusieurs études montrent que les flavonoïdes présentent des propriétés anti-inflammatoires notables. Ils sont notamment capables de moduler l'activité du système immunitaire en inhibant certaines enzymes impliquées dans les processus inflammatoires. Par ailleurs, ils peuvent intervenir dans l'inflammation athérosclérotique en réduisant l'adhésion des monocytes, grâce à l'inhibition de l'expression de médiateurs inflammatoires (González-Gallego et al., 2007) Certains flavonoïdes sont également en mesure d'inhiber la libération d'histamine (Kim et al., 2004).

Les flavones et flavonols, qu'ils soient sous la forme glycosylée ou génine comme le kaempférol, la quercétine, ou la myricétine résistent une activité inhibitrice *vis-à-vis* de la cyclooxygénase (COX) (Tapas et al., 2008). Par ailleurs, le kaempféride a été identifié comme un inhibiteur de l'inflammation induite par la promotion tumorale de l'ester de phorbol. Une autre étude a montré que l'eupatiline, est capable d'inhiber de manière sélective la 5-lipoxygénase dans des cellules de mastocyte cultivées (Harborne et al., 1999)

### 5. Propriétés antivirales

L'activité antivirale des flavonoïdes contre le VIH semble être étroitement liée à leur capacité à inhiber des enzymes clés impliquées dans la réplication virale, telles que la transcriptase inverse (HIV-1 reverse transcriptase) et l'intégrase (HIV-1 integrase). Parmi les flavonoïdes les plus étudiés pour leurs propriétés antivirales figurent la quercétine, l'apigénine, la catéchine et l'hespéridine, qui ont démontré une efficacité contre onze types de virus. Les flavonoïdes aglycones possédant un groupement hydroxyle libre en position C3 présentent une

activité antivirale marquée, tandis que les flavanes se révèlent généralement plus actifs que les flavones et les flavanones contre le VIH-1 et le VIH-2 (Tapas et al., 2008).

**Mécanismes d'action antivirale :** Les flavonoïdes agissent à différents stades du cycle viral du VIH, notamment en :

- **Inhibant la transcriptase inverse (RT) :**

L'épigallocatechine gallate (EGCG), un flavonoïde présent dans le thé vert, agit comme un inhibiteur non nucléosidique de la RT (transcriptase inverse du VIH-1, avec une concentration efficace (EC<sub>50</sub>) de 1,6 µM.

- **Ciblant l'intégrase virale :**

Des composés tels que l'herbacitrine ont montré une inhibition de l'intégrase du VIH-1, bloquant ainsi l'intégration de l'ADN viral dans le génome de l'hôte.

- **Modulant la réponse immunitaire :**

L'hespéridine et la linarine, des flavonoïdes glycosylés, stimulent la production de cytokines anti-inflammatoires (IL-2, IL-5, IL-13) et de chimiokines RANTES, MIP-1α, MIP-1β) renforçant ainsi la réponse immunitaire contre le VIH.

## 6. Propriétés antimicrobiennes

L'activité antimicrobienne des flavonoïdes suscite un intérêt croissant, notamment face à la montée des résistances bactériennes. Des études récentes ont mis en évidence leur efficacité contre divers pathogènes, en particulier le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA).

- Une étude très récente de (Xu et al, 2024) a montré que 85 flavonoïdes d'origine végétale présentent une activité significative contre le MRSA avec des concentrations inhibitrices minimales (CIM) de 1 à 8 µg/mL. Le mécanisme d'action peut être lié à l'inhibition des pompes d'efflux et des β-lactamases et par la perturbation des membranes bactériennes.

- Une étude publiée en 2023 par (Veiko et al., 2023) a révélé que des flavonoïdes tels que la quercétine, la naringénine et la catéchine sont capables d'inhiber l'hémolyse provoquée par *Staphylococcus aureus*, tout en altérant la perméabilité des membranes aussi bien bactériennes qu'érythrocytaires.

- Une recherche conduite par (Suksamrarn et al., 2004) a mis en évidence que la 5,7-dihydroxy-4'-méthoxyflavanone, possède une activité antimycobactérienne notable à l'encontre de *Mycobacterium tuberculosis*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 175  $\mu\text{M}$ . En revanche, d'autres composés flavonoïdiques tels que la 4'-hydroxy-5,6,7-triméthoxyflavanone, l'acacétine et la lutéoline ont présenté une efficacité moindre, avec des valeurs de CMI respectives de 606  $\mu\text{M}$ , 704  $\mu\text{M}$  et 699  $\mu\text{M}$ .

### 7. Propriétés antiallergiques :

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (Chaudhry et al., 1983).

# Chapitre III

---

## Activités biologiques

### III. Généralité :

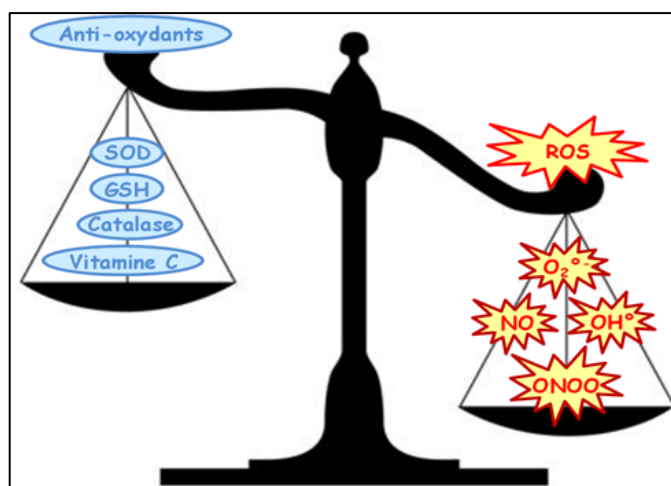
L'oxygène est un élément indispensable à notre survie, à notre vie, à notre développement, à notre capacité d'adaptation ; l'oxygène est également à l'origine de toxicité, d'acidité, d'altération, de dégénérescence. En effet, le métabolisme de l'oxygène, lorsqu'il est dérégulé comme dans les maladies respiratoires, peut entraîner de part ce que l'on appelle « le stress oxydant » des anomalies métaboliques aux conséquences importantes. Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants. Les modifications génomiques, métaboliques et fonctionnelles induites par un stress oxydant ont été impliquées dans le développement de différentes pathologies.

En 1969, **McCord et Fridovich** ont identifié, à partir des globules rouges humains, la superoxyde dismutase (SOD), une enzyme capable de neutraliser l'anion superoxyde. Cette découverte a permis de démontrer, pour la première fois, que l'organisme produit naturellement des EOA. Elle a marqué le début d'une nouvelle ère dans la recherche sur le stress oxydatif et les systèmes antioxydants biologiques (**Haleng et al., 2007**).

#### III.1. Le stress oxydant :

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre marqué entre la production de composés pro-oxydants et la capacité des systèmes antioxydants à les neutraliser, en faveur des premiers, ce qui peut entraîner des dommages cellulaires irréversibles. La réduction univalente de l'oxygène conduit à la formation d'espèces oxygénées activées (EOA), incluant des radicaux libres tels que l'anion superoxyde et le radical hydroxyle, ainsi que des composés non radicaux comme le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet. Ces espèces sont potentiellement toxiques pour les cellules car elles peuvent altérer les protéines, endommager l'ADN en provoquant une perturbation de l'information génétique, dégrader les glucides, oxyder les lipoprotéines et initier la peroxydation lipidique des membranes, en ciblant notamment les acides gras polyinsaturés. Dans des conditions normales (physiologiques), les EOA sont produites de manière continue par notre organisme. Toutefois, l'organisme dispose d'un ensemble de mécanismes de défense antioxydante (vitamines, enzymes, oligoéléments) destinés à réguler cette production et à prévenir les effets nocifs. Lorsque ces systèmes sont dépassés par une production excessive d'EOA en réponse à divers mécanismes biochimiques, un stress oxydatif s'installe (**Figure III.1**). Ce phénomène est de plus en plus reconnu comme un facteur clé dans la genèse des lésions cellulaires observées dans les processus

inflammatoires aigus, le vieillissement, le cancer, le diabète et les maladies cardiovasculaires. (Pincemail., 1999). Les protéines, les lipides, l'acide désoxyribonucléique (ADN) sont particulièrement vulnérables à cette agression, ce qui entraîne des lésions cellulaires et tissulaires, souvent irréversibles (Valko et al., 2006).



**Figure III. 1 :** Illustration d'un déséquilibre de la balance entre les espèces réactives oxygénées et les antioxydants.

### III.2. Les radicaux libres

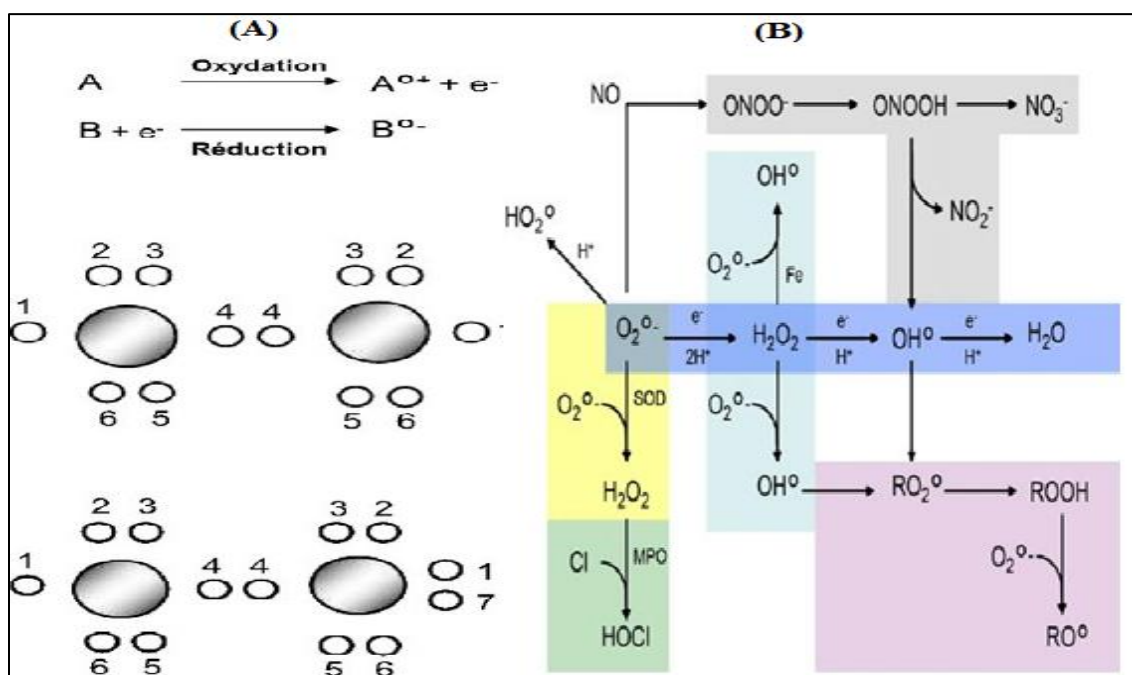
Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules caractérisés par la présence d'un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe, ce qui leur confère une forte instabilité à la fois énergétique et cinétique (Asmus & Bonifacic, 2000). Ils peuvent être générés de deux manières principales : par la rupture homolytique d'une liaison covalente, lors de laquelle chaque atome impliqué conserve son électron, ou par des réactions d'oxydoréduction avec le gain ou la perte d'un électron à partir d'un composé non radical. En raison de leur instabilité, les radicaux libres ont tendance à retrouver rapidement un état plus stable, soit en cédant un électron, soit en captant un auprès d'une autre molécule. Ils peuvent ainsi agir comme agents réducteurs ou oxydants. Leur capacité à accepter ou donner des électrons les rend extrêmement réactifs *vis-à-vis* de leur environnement moléculaire, avec une durée de vie très courte, généralement comprise entre la nanoseconde et la milliseconde (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

#### III.2.1. Origine des radicaux libres

En raison de sa configuration électronique, l'oxygène moléculaire est lui-même un radical libre, car il possède deux électrons non appariés. Toutefois, sa réactivité est limitée par

un blocage cinétique : les spins de ces deux électrons célibataires sont parallèles, ce qui confère à l'oxygène une stabilité relativement élevée (**Asmus et Bonifacic, 2000**). Néanmoins, dans l'organisme, une partie de cet oxygène moléculaire peut capter un électron de manière univalente et séquentielle, conduisant ainsi à la formation du principal radical de l'oxygène réactif, l'anion superoxyde ( $O_2 + 1e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$ ). Dans la mitochondrie, à l'état physiologique, cette formation se produit lors du transport des électrons le long de la chaîne respiratoire, avec une fuite d'électrons au niveau des complexes I et III, ce qui mène à la production de l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ). La réaction de "poussée respiratoire" des polynucléaires neutrophiles ainsi que les oxydases, telles que la xanthine oxydase, la NO synthase et les enzymes impliquées dans la biosynthèse des eicosanoïdes, représentent également des sources cellulaires de production de l'anion superoxyde (**Ji, 2001**). L'anion superoxyde constitue le point de départ d'une véritable cascade de réactions d'oxydoréduction, aboutissant à la formation de nombreuses espèces très réactives (voir Fig. 15B). Les espèces oxygénées réactives (EOR) comprennent à la fois des radicaux libres, comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) et le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ), ainsi que des composés non radicaux mais tout aussi réactifs, tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et les hydroperoxydes ( $ROOH$ ) (**Halliwell & Gutteridge, 1989**).

Ainsi, la génération d'EOR apparaît comme une conséquence inévitable de consommation de l'oxygène moléculaire par l'organisme. Leur production est continue et fait partie intégrante du fonctionnement physiologique normal (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).



**Figure III. 2 :** L' $O_2$  à l'origine des radicaux libres (A) ; Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (B) (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

### III.3. Implications pathologiques des EOR :

Les radicaux libres induisent des perturbations de l'homéostasie cellulaire en raison de leur réactivité élevée avec divers substrats biologiques. Il est important de noter que le stress oxydant est un facteur majeur et initial dans le déclenchement de nombreuses pathologies. Cela inclut les cancers et les maladies neurodégénératives, telles que les ataxies, la sclérose latérale amyotrophique et la maladie d'Alzheimer (**Tableau III.1**). Dans plusieurs autres maladies, le stress oxydant intervient de manière secondaire, en tant que complication dans l'évolution de la pathologie, mais contribue également aux complications immunitaires ou vasculaires. Cela concerne des maladies infectieuses comme le sida ou le choc septique, le diabète, la maladie de Parkinson, ainsi que l'insuffisance rénale (**Favier, 2003 ; 2006**). Le stress oxydant a aussi été associé à des processus physiologiques, notamment le vieillissement (**Martinez-Cayuela, 1995 ; Lehucher-Michel et al., 2001 ; Sorg, 2004 ; Valko et al., 2007**).

**Tableau III. 2: Les principales affections liées à la production des EOR.**

Pathologies	Références
Lésions de reperfusion post-ischémique	(Zweier et al., 2006)
Maladies auto-immunes	(Halliwell, 1989)
Arthrite rhumatoïde	(Ahsan et al., 2003)
Maladies inflammatoires	(Densiov et al., 2005)
Athérosclérose	(Harrison et al., 2003)
Maladies d'Alzheimer, de parkinson	(Sorg, 2004)
Emphysème	(Lehucher Michel et al., 2001)
Diabète sucré	(Pal Yu, 1994)
Certains cancers	(Valko et al., 2007)
Anémie drépanocytaire	(Martinez-Cayuela, 1995)

### III.4. Mécanismes de défense contre le stress oxydant :

Un stress oxydatif peut entraîner une accumulation excessive des EOR dans l'organisme humain. Le système de défense antioxydant est crucial pour la conservation d'un niveau non cytotoxique des radicaux libres. Les défenses antioxydantes impliquent toutes les molécules qui peuvent contrecarrer les ROS produits en excès et protéger les cellules et les tissus contre les dommages oxydatifs. Cela inclut plusieurs systèmes enzymatiques aussi bien que des molécules non enzymatiques et des molécules de séquestration des ions métalliques (**Tableau III.2**).



Tableau III. 3 : Les 3 principales catégories de défenses antioxydantes (Halliwell, 1989)

Enzymes (principalement intracellulaires) :	Antioxydants de faible poids moléculaire (intra et extracellulaires) :	Molécules de séquestration des ions métalliques :
-Superoxyde dismutase (SOD)	-Vitamine C (acide ascorbique)	Plasma transferrine (Fe <sup>3+</sup> )
-Glutathion peroxydase (GPx)	-Vitamine E (a-tocophérol)	Ferritine (Fe <sup>3+</sup> )
-Glutathion réductase (GR)	-Glutathion (GSH)	Métallothionéines intracellulaires (Zn <sup>2+</sup> Cu <sup>+</sup> Hg <sup>2+</sup> )
Catalase (principalement localisée dans le peroxysome)	-Flavonoïdes, Caroténoïdes, Acide urique	

#### III.4.1. Systèmes antioxydants enzymatiques endogène :

La superoxyde dismutase (SOD) est une enzyme clé dans la défense contre le stress oxydatif, catalysant la dismutation de l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et en oxygène moléculaire. Elle contribue également à limiter la formation de peroxynitrite, un composé hautement réactif (Halliwell, 2001).



La SOD existe sous trois isoformes principales : une forme cytosolique (SOD1, Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale (SOD2, Mn-SOD) et une forme extracellulaire (SOD3). Parmi celles-ci, l'isoforme mitochondriale est considérée comme la plus essentielle. En effet, des études chez les souris ont montré que l'inactivation génétique de la SOD2 entraîne une mort précoce, accompagnée de dommages mitochondriaux sévères dans plusieurs tissus. En revanche, l'absence de la SOD1 cytosolique permet la survie, bien qu'elle s'accompagne de dysfonctionnements physiologiques marqués (Lebovitz et al., 1996 ; Melov et al., 1999).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui est produit par la SOD est converti en eau par la catalase (localisée dans le peroxysome), la thiorédoxine peroxydase et la glutathion peroxydase (GPx), (Figure III. 3) (Halliwell B, 2001; Lavie, 2015). La prise en charge de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est primordiale afin d'éviter la production du radical hydroxyle, connaissant sa grande réactivité avec les biomolécules de la

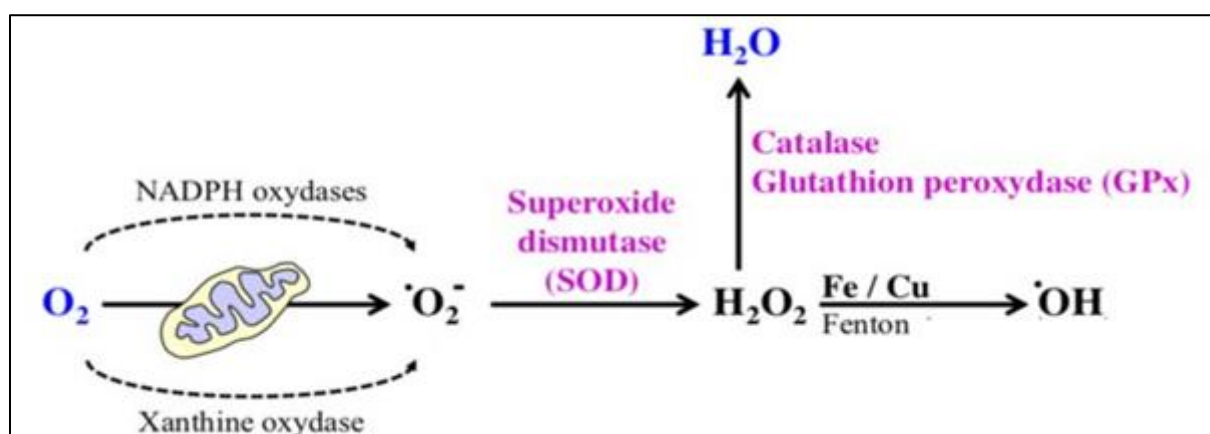
cellule (**Halliwell et Gutteridge, 2015**). La glutathion peroxydase est située dans la mitochondrie et le cytosol, elle dépend de la disponibilité en glutathion (GSH) et permet la réaction d'oxydoréduction suivante



La glutathion réductase joue un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre redox cellulaire en assurant la régénération du glutathion réduit (GSH) à partir de sa forme oxydée (GSSG), à l'aide du NADPH comme cofacteur. Cette réaction permet de préserver une concentration élevée de GSH, essentielle à la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène et au bon fonctionnement de la glutathion peroxydase.



La mitochondrie dispose d'un système de transport spécifique lui permettant d'importer le glutathion réduit (GSH) depuis le cytosol vers la matrice mitochondriale, assurant ainsi une protection antioxydante efficace au sein de cet organite clé (**Fernández-Checa et al., 1998**).



**Figure III. 3:** Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques.

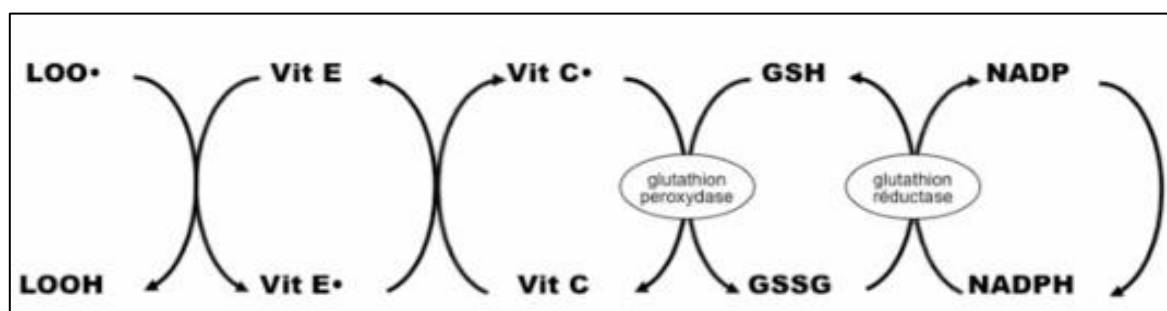
#### III.4.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes :

Certaines petites molécules non enzymatiques exercent également une activité antioxydante. Parmi elles figurent la vitamine C (acide ascorbique), la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol), les flavonoïdes, les caroténoïdes ainsi que le glutathion réduit (GSH).

La vitamine C, la vitamine E ainsi que les caroténoïdes, tels que le  $\beta$ -carotène, sont des molécules antioxydantes dites « piègeuses de radicaux libres », capables de stabiliser ces derniers en captant leur électron non apparié.

La vitamine C est capable de chélater diverses espèces réactives de l'oxygène, notamment l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) et le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ). Bien qu'elle joue un rôle majeur en tant qu'antioxydant, elle peut également présenter une activité pro-oxydante. En effet, en réduisant l'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ), elle favorise la réaction de Fenton, génératrice de radicaux hydroxyles particulièrement réactifs (**Evans et Halliwell, 1999**). Le radical ascorbyl (forme radicalaire de la vitamine C), peut être régénéré de façon enzymatique grâce au glutathion réduit (GSH). Ce dernier est lui-même recyclé à partir du glutathion oxydé (GSSG) par la glutathion réductase, un processus dépendant du NADPH (**Lacraz, 2009**).

Le glutathion réduit (GSH) constitue l'antioxydant intracellulaire le plus abondant et l'un des plus réactifs. Il est capable de chélater le radical hydroxyle et d'éliminer le peroxyde d'hydrogène. De plus, il joue un rôle clé en tant que substrat pour la glutathion peroxydase (GPx), contribuant ainsi à la protection cellulaire contre le stress oxydatif (**Lavie, 2015**).



**Figure III. 4 :** Cycles réactionnels de régénération des antioxydants.

### III.4.3. Autres systèmes antioxydants

L'organisme dispose de mécanismes spécifiques pour la séquestration des ions métalliques tels que le fer et le cuivre, afin de prévenir leur toxicité. Dans le plasma, la transferrine fixe le fer circulant, limitant ainsi les effets délétères du fer libre (**Halliwell and Gutteridge, 1984**). À l'intérieur des cellules, le fer est majoritairement stocké dans la ferritine, tandis que le cuivre est lié aux métallothionéines (**Halliwell B, 2001**). La chélation de ces métaux est essentielle pour empêcher la formation du radical hydroxyle via la réaction de Fenton.

Le facteur de transcription Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2–related factor 2) joue un rôle clé dans la défense cellulaire contre le stress oxydatif. En se liant aux éléments de réponse antioxydants de l'ADN, Nrf2 régule l'expression de nombreux gènes impliqués dans les mécanismes de protection cellulaire contre le stress oxydatif. Il contrôle l'expression de gènes codants pour la SOD, la biosynthèse du glutathion et de plusieurs protéines associées au métabolisme mitochondrial (**Reddy et al., 2014**). Son activation est déclenchée par la présence

de ROS (espèces réactives de l'oxygène), et la réoxygénation survenant lors des phénomènes d'ischémie/reperfusion stimule également l'expression de gènes protecteurs, renforçant la résistance cellulaire au stress oxydant (Lavie, 2015).

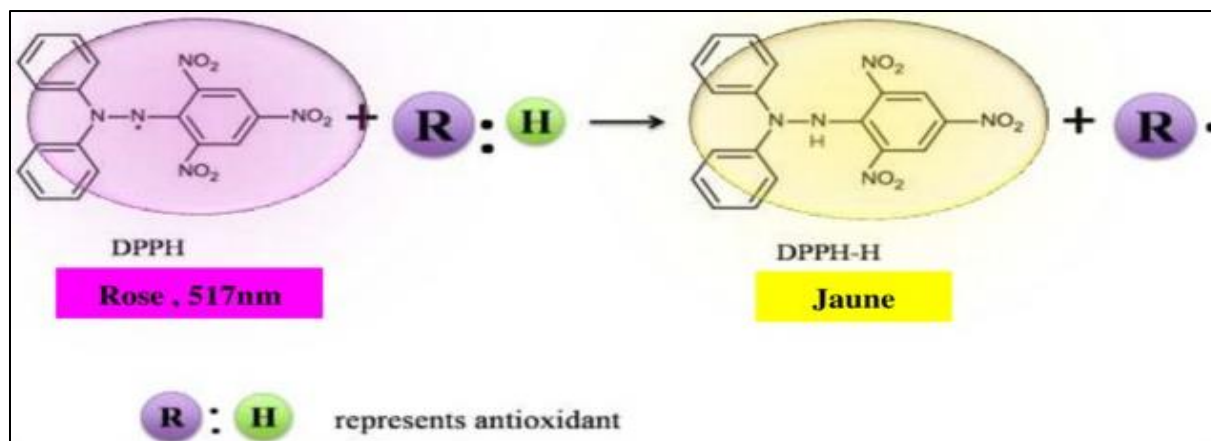
### III.5. Quelques méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :

Les avancées scientifiques récentes témoignent d'un intérêt accru pour antioxydants naturels, tant pour leurs propriétés thérapeutiques que pour leur utilisation comme additifs dans l'industrie agroalimentaire, en particulier ceux issus des plantes. C'est un domaine prometteur et en plein croissance. Dans cette optique, des travaux scientifiques multidisciplinaires ont été entrepris afin d'extraire, d'identifier et de quantifier ces composés. Diverses méthodes ont ainsi été développées pour évaluer leur activité antioxydante. Cependant, en raison de la complexité des mécanismes d'oxydation et de la diversité structurale des métabolites à la fois hydrophiles et hydrophobes, aucune méthode unique et universelle ne permet une mesure exhaustive et précise de l'activité antioxydante. Il est donc souvent nécessaire combiner plusieurs tests complémentaires afin d'obtenir une évaluation fiable du pouvoir antioxydant d'un échantillon (Hua et al., 2008; Tabart et al., 2009).

Plusieurs méthodes pratiques ont été développées pour mesurer de manière complémentaire l'activité antioxydante d'une molécule. Habituellement, les approches pour évaluer la capacité antioxydante totale se répartissent en deux catégories majeures : les tests fondés sur une réaction de transfert d'un électron unique et les tests s'appuyant sur un transfert d'atome d'hydrogène (Prior et al., 2005).

#### III.5.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) :

La molécule de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1995). Cette molécule est définie comme un radical libre stable en raison de la délocalisation de l'électron disponible, ce qui génère sa couleur violet intense, caractérisée par une absorption. Il entre en réaction avec les groupements amine, les phénols ainsi que les acides. Lorsqu'on mélange la solution de DPPH avec une substance capable de fournir un atome d'hydrogène ou un électron, cela entraîne la formation de DPPH réduit, qui fait disparaître la couleur violette et génère une teinte jaune pâle due à l'émergence du groupement picryl. L'absorbance est alors mesurée à 517 nm (Gülçin et al., 2003).



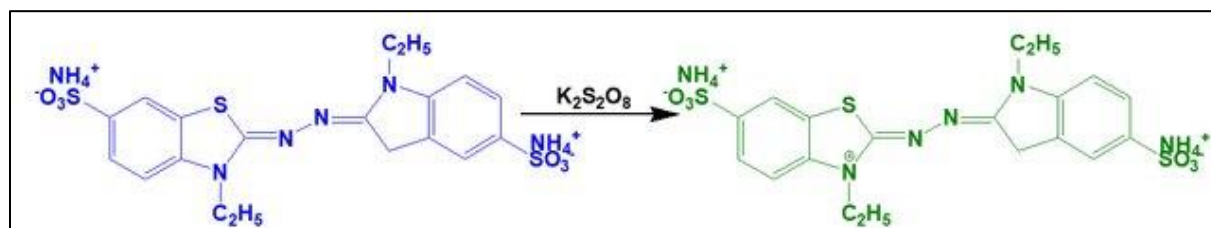
**Figure III. 5 :** Mécanisme réactionnel entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH) (Liangs et al., 2014).

Les résultats sont présentés en termes d'IC<sub>50</sub>, qui est défini comme la concentration de l'extrait ayant la capacité de piéger 50 % des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel. Plus l'activité est forte, plus l'IC<sub>50</sub> est faible (Bastos et al., 2007).

### III.5.2. Capacité de piégeage du radical-cation ABTS<sup>•+</sup>

Le radical libre stable 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), couramment désigné sous nom ABTS, est largement utilisé pour évaluer l'efficacité antioxydante des composés purs et des mélanges complexes. Ce radical est capable de réagir non seulement avec des antioxydants classiques tels que les composés phénoliques et les thiols, mais également avec toute molécule capable de céder un électron ou un atome d'hydrogène (Rice-Evans et Miller, 1994 ; Rice-Evans et al., 1995).

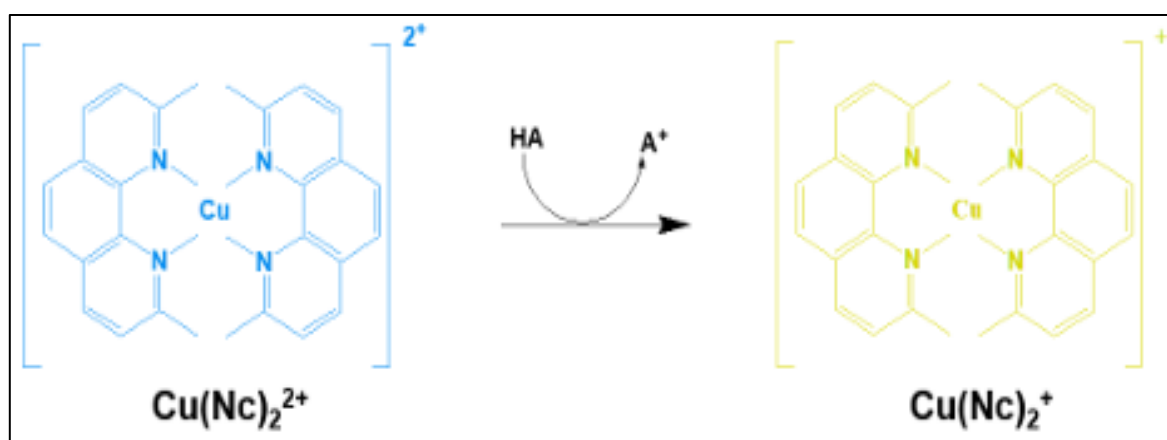
Il est formé par oxydation de ABTS stable par un oxydant qui est le persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) ou avec une enzyme de peroxydation pour générer le radical ABTS<sup>•+</sup> qui présente une coloration vert bleu (Figure III. 6). La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à la longueur d'onde appropriée. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction en ABTS<sup>+</sup> et à la décoloration à 734 nm de la solution (Re et al., 1999).



**Figure III. 6 :** Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS<sup>•+</sup> (Anh-Dao et al., 2022).

### III.5. 3. Capacité de réduire l'ion cuprique (CUPRAC) :

La méthode CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity), est une méthode de mesure de la capacité antioxydante, introduite à la littérature mondiale par le laboratoire de chimie analytique de l'Université d'Istanbul (**Apak et al., 2004**), est basé sur l'évolution des caractéristiques d'absorption du complexe néocuproïne (NC) /cuivre (II) lorsqu'il est réduit par un antioxydant (**Apak et al., 2011**). Le potentiel de réduction de l'échantillon ou du standard convertit efficacement  $\text{Cu}^{+2}$  en  $\text{Cu}^{+1}$  (Figure 7), cela modifie l'absorbance maximale. Il y a peu d'informations publiées sur ce test. Toutefois, un laboratoire industriel l'utilise comme mesure du potentiel antioxydant total (**Oxiresearch, Inc, 2002**).



**Figure III. 7** : Réduction du complexe néocuproïne / cuivre (II) (**Anh-Dao et al., 2022**)

**2<sup>ème</sup> partie :**

**Partie expérimentale**

# Chapitre IV

## Matériel et Méthodes



### IV.1. Aperçu et but de travail

Ce travail vise à établir le profil phytochimique et à évaluer les activités biologiques d'une espèce appartenant à la famille des Asteraceae, afin de valoriser la richesse végétale de l'Algérie en plantes médicinales endémiques. Après l'extraction des parties aériennes de cette plante, les principaux constituants chimiques présents dans les extraits méthanolique, et butanolique ont été caractérisés par criblage phytochimique (réactions colorées), chromatographie sur couche mince (CCM) et par analyse LC/MS/MS pour l'extrait butanolique (BuOH).

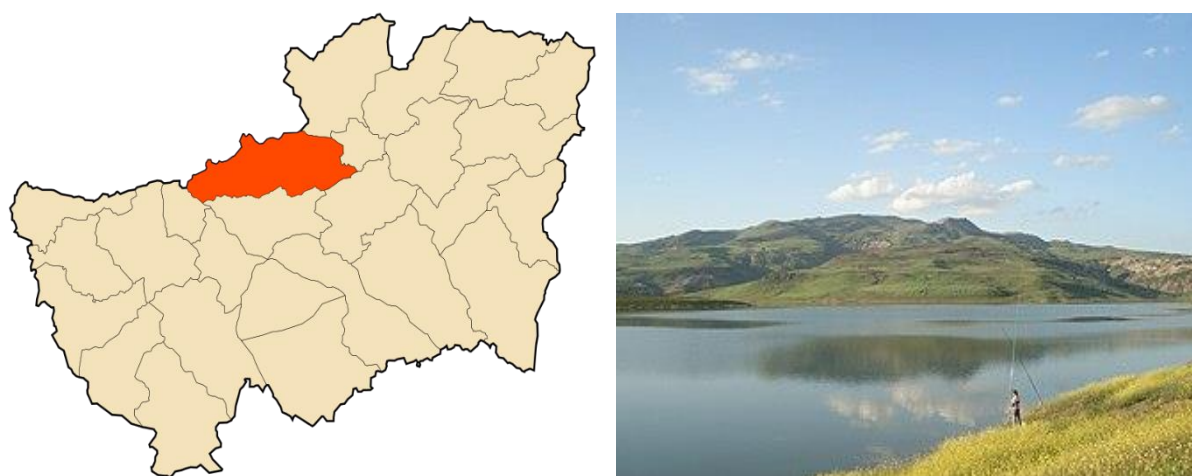
Notre étude a également porté sur la quantification des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanolique et butanolique, à l'aide de cette plante trois méthodes : DPPH•, TAC (Capacité Antioxydante Totale) et le test phénanthroline.

### IV.2. Matériel et méthodes

#### IV.2.1. Matériel végétal

##### IV.2.1.1. Récolte de la plante

La plante a été récoltée dans la région de l'Hnancha située à environ 20 km au sud-ouest de la wilaya de Souk-Ahras au mois d'Avril 2021 (stade de la floraison). L'identification botanique de la plante étudiée a été réalisée par Monsieur Pr. Gérard de Bélair (Université Badji-Mokhtar, Annaba). Après l'avoir séché dans un endroit sec, le matériel végétal est ensuite réduit en poudre fine à l'aide d'un broyage électrique.



**Figure IV.1 :** Localisation de la zone de récolte de l'espèce appartenant à la famille des Asteraceae.

### IV.3. Méthodes d'analyses phytochimiques

#### IV.3.1. Méthodes chromatographiques

##### IV.3.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM), est une méthode d'analyse qui permet d'avoir des informations sur la composition chimique et la pureté des fractions analysées. Cette technique est utilisée à chaque étape de notre travail pour faire le suivi et le contrôle des purifications.

Les plaques utilisées pour la chromatographie sur couche mince (CCM) dans ce travail sont des plaques prêtes à l'emploi, à support en aluminium, recouvertes de Kieselgel 60 F254 (Merck), d'une épaisseur de 250 µm et de dimensions 20 x 20 cm. Le développement des plaques CCM a été effectué dans des cuves en verre pré-saturées en un système approprié.

Le système utilisé est :

$\text{CHCl}_3$  : MeOH:  $\text{H}_2\text{O}$  : 70 : 30 : 5

La visualisation des CCM s'effectue en lumière visible et sous UV (254 et 365 nm) dans une chambre noire, avant la révélation par une solution de la vanilline sulfurique (0,5 g de la vanilline, dissous dans 100 ml du méthanol, plus 1 ml d'acide sulfurique).

##### IV.3.1.2. Conditions opératoires de l'analyse LC- IT-TOF :

Le profil chimique de l'extrait Butanolique a été déterminé par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/ MS). Pour la préparation des échantillons, 1 g de l'extrait BuOH a été dissous dans 1000 mL de méthanol, puis transféré dans des piluliers de 2 mL et filtré à travers un microfiltre de 0,2 µm de diamètre.

L'analyse a été réalisée à l'aide d'un système LC-MS/MS, composé d'une UHPLC de marque Shimadzu couplée à un spectromètre de masse triple quadripolaire (modèle LCMS-8040). Le dispositif comprend également une pompe binaire (LC-30AD), un dégazeur (DGU-20A3), un four de colonne (CTO-10ASvp) et un injecteur automatique (SIL-30AC).

La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne en phase inverse Inertsil ODS-4 RP-C18 (100 mm × 2,1 mm, 2 µm), maintenue à une température de 35 °C.

Deux phases mobiles ont été préparées :

🚦 Phase A : eau ultrapure contenant 5 µM  $\text{NH}_4\text{HCO}_2$  et 0,1 % d'acide formique.

🚦 Phase B : méthanol contenant également 5 µM  $\text{NH}_4\text{HCO}_2$  et 0,1 % d'acide formique.

L'élution a été réalisée selon un gradient linéaire défini comme suit : 5–20 % de B (0–10 min), 20 % de B (10–22 min), 20–50 % de B (22–36 min), 95 % de B (36–40 min), et retour à 5 %

de B (40–50 min). Le volume d'injection a été fixé à 4 µL et le débit de la phase mobile maintenu à 0,25 mL/min.

#### IV.3.2. Conditions de l'analyse HPLC-MS-IT-TOF :

La détection par spectrométrie de masse a été réalisée à l'aide d'un spectromètre de masse tandem modèle Shimadzu LCMS-8040, équipé d'une source d'ionisation par électrospray (ESI) fonctionnant à la fois en modes d'ionisation négative et positive.

Les données LC-ESI-MS/MS ont été acquises et traitées par le logiciel LabSolutions (Shimadzu). Le mode MRM (Multiple Reaction Monitoring) a été utilisé pour la quantification des composés de l'extrait BuOH. Ce mode MRM a été optimisé pour détecter et quantifier sélectivement les composés phytochimiques, basé sur le criblage des transitions spécifiques des ions précurseurs aux ions fragmentés. Les énergies de collision (CE) ont été optimisées pour générer une fragmentation optimale des composés et une transmission maximale des ions produits souhaités. Les conditions opératoires du spectromètre de masse étaient les suivantes :

- ✚ Débit du gaz de séchage (N<sub>2</sub>), 15 L/min ;
- ✚ Débit du gaz de nébulisation (N<sub>2</sub>), 3 L/min ;
- ✚ Température du détecteur de l'interface (DL), 250°C ;
- ✚ Température du bloc chauffant, 400°C ;
- ✚ Température de l'interface, 350°C.

#### IV.3.3. Spectrophotométrie UV-visible

Le dosage des flavonoïdes et des polyphénols totaux ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre (**Thermo ELECTRON CORPORATION : evolution 100**). Grâce à son monochromateur intégré, cet appareil offre une grande sensibilité et une précision élevée lors des analyses spectrales.

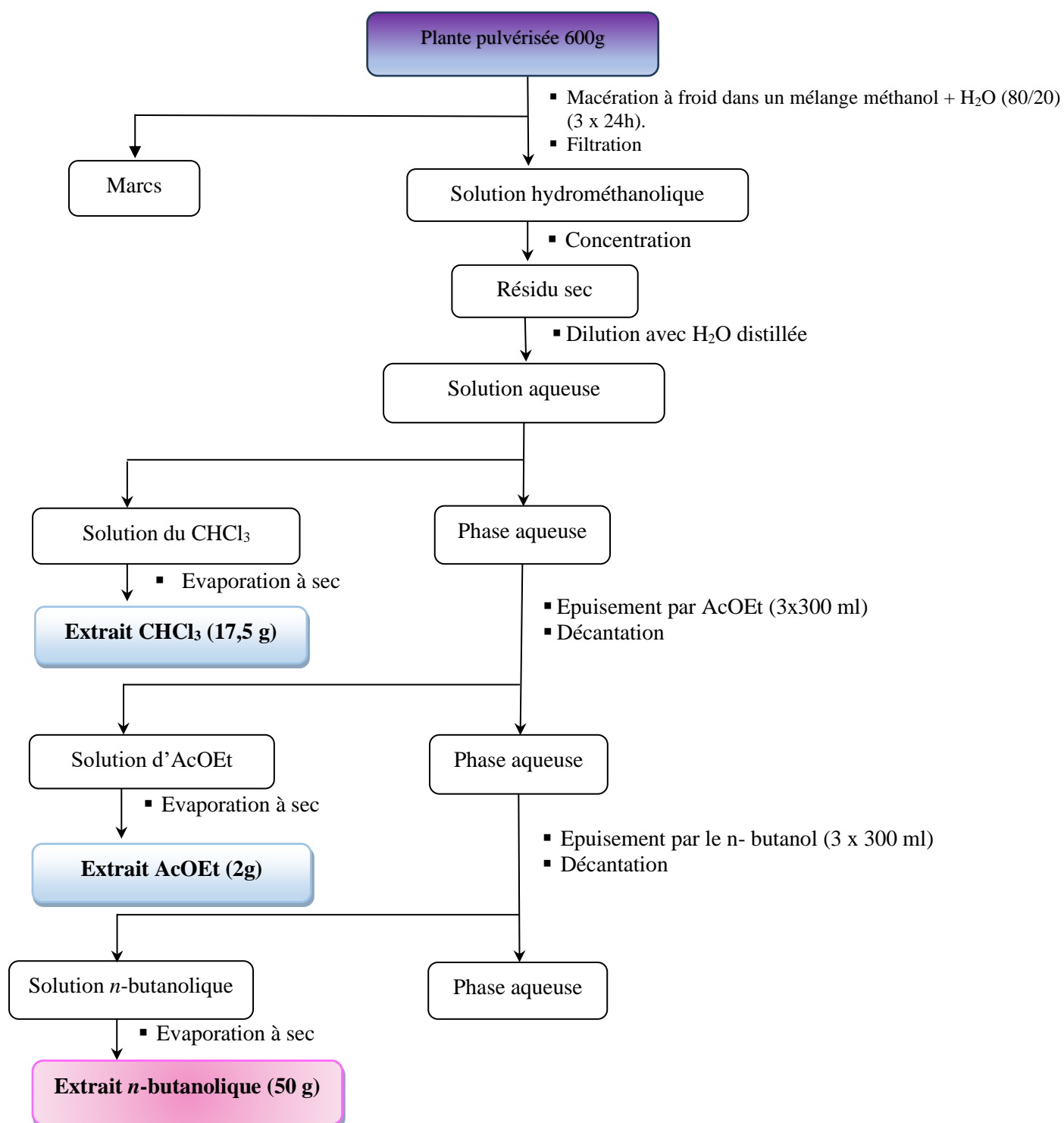
### IV.4. Etude phytochimique de la plante de la famille des Asteraceae

#### IV.4.1. Extraction

Après le séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, des parties aériennes de la plante (600 g) ont été macérées à température ambiante par un mélange hydroalcoolique (Méthanol/Eau : 80 : 20 V/V). La macération est effectuée 3 fois avec renouvellement de solvants. L'extrait hydro-alcoolique obtenu est filtré puis concentré sous basse pression pour donner un résidu de 120 g (**Figure IV.2.**). Après la solubilisation dans l'eau, 80g de l'extrait brut a subi des extractions successives avec des solvants à polarité croissante

Le mélange est ensuite filtré et concentré. La phase aqueuse résultante subit une extraction liquide-liquide, d'abord par le chloroforme (300 ml, 3 fois) puis l'acétate d'éthyle

(300 ml, 3 fois) et enfin le butanol (300 ml, 3 fois) (**Figure IV.2.**). L'évaporation à sec des phases organiques a permis de recueillir les masses suivantes : 17,5 g pour l'extrait chloroformique, 2 g pour l'extrait AcOEt et 50 g pour l'extrait butanolique. Les CCM réalisées sur les trois extraits dans différents systèmes de solvants, ont montré une composition chimique plus riche au niveau des extraits acétate d'éthyle et butanolique,



**Figure IV.2:** Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes d'une plante de la famille des Asteraceae

#### IV.4.2. Screening « Criblage » phytochimique par réactions colorées

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des grands groupes chimiques présentes dans une plante donnée.

Les tests préliminaires de caractérisation sont basés soit sur l'analyse qualitative, soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés, en utilisant des réactions de coloration. A cet effet, plusieurs types de réactifs ont été utilisés. La plupart des tests sont effectués selon la technique de **Harborne (1973)**.

##### Mise en évidence des alcaloïdes

###### 1. Révélation par le réactif de Wagner

La mise en évidence des alcaloïdes a été réalisée à l'aide du réactif de Wagner, préparé à partir d'une solution iodoiodurée (mélange d'iode et d'iodure de potassium). L'addition de quelques gouttes de ce réactif à 2 mL de la solution d'extrait conduit à la formation d'un précipité brun-rouge caractéristique, traduisant la présence d'alcaloïdes.

###### 2. Révélation par le réactif de Mayer :

La présence des alcaloïdes peut également être révélée à l'aide du réactif de Mayer, préparé à partir d'un mélange de 10 g d'iodure de potassium (KI) et 2,70 g de chlorure mercurique ( $\text{HgCl}_2$ ) dans 20 mL d'eau. L'ajout de quelques gouttes de ce réactif à 2 mL de la solution d'extrait provoque, en présence d'alcaloïdes, la formation d'un précipité blanc ou blanc jaunâtre.

###### 3. Révélation par le réactif de Hager :

Le réactif de Hager, constitué d'une solution saturée de picrate de potassium, permet également de révéler la présence d'alcaloïdes. L'ajout de quelques gouttes de ce réactif à 2 mL de la solution d'extrait conduit à la formation d'un précipité jaune caractéristique en présence d'alcaloïdes.

##### Mise en évidence des polyphénols

Les polyphénols (notamment les tanins et flavonoïdes) possèdent la capacité de former des complexes colorés avec les sels de métaux lourds. Leur présence dans une plante peut être mise en évidence par l'ajout de perchlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) à l'extrait végétal. Ce test se traduit par l'apparition d'une coloration caractéristique ou par la formation d'un précipité noirâtre intense, indiquant la présence de ces composés polyphénoliques.

###### 1. Réaction de la cyanidine

Afin de mettre en évidence la présence des flavonoïdes dans les extraits méthanolique et butanoliques, la réaction dite « la cyanidine » a été utilisée. Elle utilise en effet le pouvoir réducteur des métaux en milieu acide pour réduire spécifiquement le noyau flavonoïdique ce qui permet l'apparition d'une couleur caractéristique. Pour cela une quantité de chaque extrait (Quelques millilitres) a été mélangé séparément avec 1ml de HCl, 1ml de l'eau distillée et 2 ml de rognure de Mg dans un tube à essai. La présence de coloration rose orange (flavones) ou rose violacé (flavonones) ou rouge cerise (flavonols) dans la couche surnageante du mélange indique la présence d'un flavonoïde.

## **2. Révélation des tanins par le réactif de Bate-Smith**

La mise en évidence des tanins peut être réalisée par une réaction colorée utilisant une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$ . Cependant, la différenciation entre les types de tanins s'effectue grâce au réactif de Bate-Smith. Cette méthode repose sur l'addition de réactif spécifique aux extraits végétaux, permettant ainsi de distinguer les tanins condensés des tanins hydrolysables. En présence de tanins condensés, une coloration rouge caractéristique apparaît, alors que les tanins hydrolysables ne provoquent pas de coloration significative.

Pour ce test, 2 mL de chaque extrait sont mélangés à 4 mL de butanol chlorhydrique ((40mLbutanol et 10 mL HCl) dans des tubes à essai, puis incubés pendant 10 minutes à 90 °C. La présence de tanins catéchiques est confirmée par l'apparition d'une coloration rouge, due à la formation de cyanidol, intensifiée par l'agitation favorisant l'oxydation à l'air.

## **Mise en évidence des saponines**

L'identification rapide des saponosides dans une plante repose sur la mise en évidence de leur pouvoir aphrogène. Celui-ci se manifeste par la formation d'une mousse fine après une agitation énergique de la poudre végétale en présence d'eau pendant 15 secondes, et par la persistance de cette mousse pendant au moins 10 minutes.

### **1. Indice mousse**

La présence de saponines dans une plante est confirmée lorsque l'indice de mousse (IM) dépasse 100. La détermination de cet indice constitue l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour valider la présence de saponines.

Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Extrait <i>n</i> -BuOH 1% (mL)	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5
Eau (ml)	10	9,5	9	8,5	8	7,5	7	6,5	6	5,5	5

**Tableau IV.1:** Gamme de dilutions décroissante de l'extrait butanolique pour la mesure

Dans une série de 11 tubes à essai, sont introduits successivement 0,5 à 5 mL de chaque extrait, tous les tubes sont complétés à 10 ml avec de l'eau distillée selon le tableau IV.1 et agités vigoureusement dans le sens de la longueur pendant 15 secondes.

Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides.

$$IM = \text{inverse } C \times D$$

C : Concentration initiale de l'extrait

D : Dilution dans le tube ou la mousse >1

#### IV.5. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux

##### IV.5. 1. Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la teneur en composés phénoliques totaux a été réalisée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu décrite dans la littérature (**singleton et al.,1965**) avec quelques modifications. Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ( $WO_4^{2-}$ ) phosphomolybdique ( $MoO_4^{2-}$ ) de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. Brièvement, Une quantité de 300  $\mu$ L de l'extrait est mélangée avec 1500  $\mu$ L du réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (dix fois dilué), et 1200  $\mu$ L de carbonate de sodium à 7,5 % ( $Na_2CO_3$ ) a été ajouté. L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 120 minutes à l'abri de la lumière, et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm. Une gamme d'étalonnage a été établie avec l'acide gallique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g). Toutes les manipulations sont réalisées en triple.

##### IV.5. 2. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode de **Arvouet-Grand et al., 1994** a été utilisée pour déterminer la teneur des flavonoïdes totaux des extraits. Un volume de 1mL d'échantillon de chaque dilution



(préalablement préparés à 1mg /ml) est transféré dans un tube à essai suivi par l'ajout de 1mL d'une solution méthanolique d'AlCl<sub>3</sub> (2%). Après une incubation de 15 min à température ambiante, les absorbances sont enregistrées à 430 nm. Les résultats sont exprimés en µg EQ/mg d'extrait en se basant sur une courbe d'étalonnage tracé en utilisant une gamme de dilution de la quercétine.

#### IV.6. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante est généralement évaluée à l'aide de différentes méthodes, appliquées aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, basées principalement sur la capacité des antioxydants à neutraliser des radicaux libres. Parmi les plus utilisées figurent la méthode du DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et celle du ABTS<sup>•+</sup> (radical cation de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Toutefois, en raison de la complexité des mécanismes d'oxydation ainsi que de la diversité structurale des antioxydants qui peuvent être aussi bien hydrophiles qu'hydrophobes, aucune méthode unique ne permet de quantifier de manière absolue et universelle le potentiel antioxydant d'un échantillon (Cristina et al., 2009).

##### Test de piégeage du radical 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH)

L'effet scavenger des extraits brut et butanolique, *vis-à-vis* du radical DPPH a été évalué selon la méthode décrite par Blois (1958) avec quelques modifications

Un volume de 400 µL de chaque échantillon à des concentrations décroissantes, ainsi que le BHA a été additionné à 1600 µL d'une solution méthanolique de DPPH (0,1mM) préalablement déposée dans des tubes à essais. Un témoin négatif est préparé en parallèle en remplaçant les 400 µL d'échantillon par du méthanol. Suite à une incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant une trentaine de minutes, l'absorbance est mesurée à 517 nm. On note que les tests sont pratiqués en triplicata.

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire de DPPH a été calculé comme suit :

$$\text{APR (\%)} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Extrait}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

Où A DPPH est l'absorbance de la solution DPPH, et A Extrait est l'absorbance de l'échantillon à une concentration donnée.

##### Test de l'activité du phénanthroline

L'évaluation de l'activité antioxydante selon la méthode de la 1,10-phénanthroline repose sur la réduction des ions ferriques (Fe<sup>3+</sup>) en ions ferreux (Fe<sup>2+</sup>) par les composés antioxydants présents dans les extraits. Les ions Fe<sup>2+</sup> ainsi formés réagissent avec la 1,10-phénanthroline pour former un complexe stable de couleur rouge-orangé, constitué de trois molécules de



phénanthroline pour un ion  $\text{Fe}^{2+}$ . L'intensité de la coloration est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'échantillon et est mesurée par spectrophotométrie à 510 nm.

L'activité de phenanthroline des extraits de notre plante est déterminée par la méthode de **(Szydlowska-Czerniaka ,2008)**. Brièvement, 0,6 mL de chaque échantillon et de BHT sont mixés à 1 mL de  $\text{FeCl}_3$  (0.2%) puis à 0,5 mL de phenanthroline (0.5%) et 100 mL de MeOH dans chacun de tubes. Après avoir soumis les mélanges à une incubation à l'obscurité pendant 20 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm. Il faut noter que chaque dépôt est triplé aussi bien pour les extraits que pour le blanc.

#### **Test de la capacité antioxydant totale (TAC) :**

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits a été évaluée selon la méthode au phosphomolybdène, décrite par **Prieto et al ;1999**. Cette méthode repose sur la réduction des ions molybdate  $\text{Mo(VI)}$ , présents dans le réactif, en molybdène  $\text{Mo(V)}$ , sous l'action des composés antioxydants contenus dans l'échantillon. Cette réduction conduit à la formation d'un complexe de phosphate/molybdène (V) de couleur verte en milieu acide.

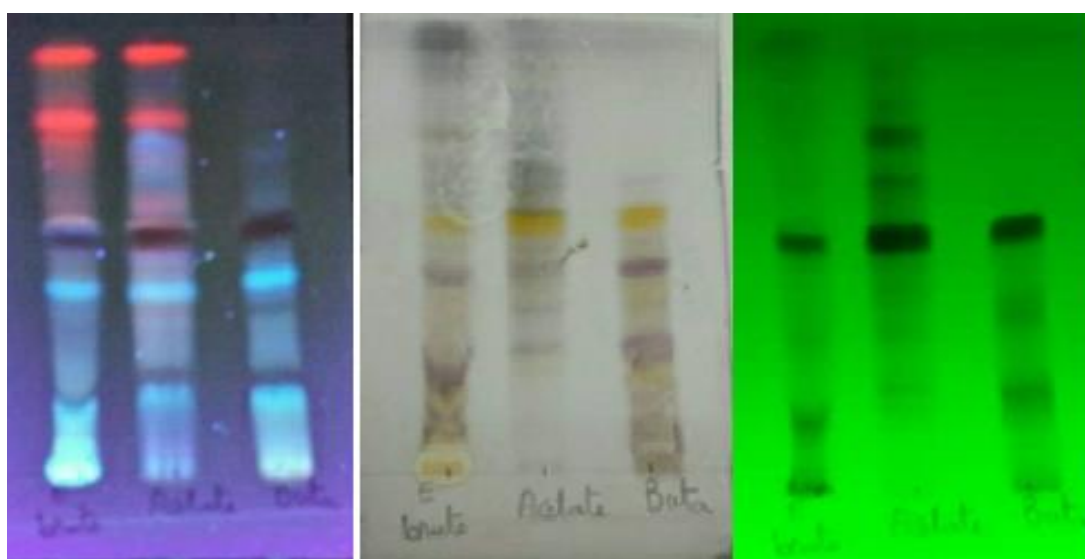
Brièvement un volume de 300  $\mu\text{L}$  de chaque extrait a été mélangé avec 3 mL de solution réactive composée d'acide sulfurique (0,6 M), de phosphate disodique (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes ainsi préparés ont été hermétiquement fermés puis incubés au bain-marie à 95 °C pendant 90 minutes. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre un blanc. Ce dernier a été préparé en remplaçant l'extrait par 300  $\mu\text{L}$  de méthanol, tout en suivant les mêmes conditions d'incubation. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide ascorbique par gramme d'extrait sec (mg EAA/g d'extrait). Chaque analyse a été réalisée en triplicat pour garantir la reproductibilité des données.

# Chapitre V

## Résultats et discussions

### V. 1. Criblage phytochimique par CCM

La chromatographie sur couche mince (CCM), révélée sous lumière UV à 254 et 366 nm, puis à l'aide d'une solution de la vanilline sulfurique, a révélé la présence de plusieurs taches dans chacun des extraits, suggérant des composés de type flavonoïdes et saponosides. Ces classes de métabolites secondaires sont bien connues pour avoir été isolées et purifiées à partir de diverses plantes. À titre d'exemple (**Boutaghane et al., 2013**) ont identifié et purifié 6 flavonoïdes et 14 saponosides à partir de l'extrait butanolique de *G. ulicina* alors que **lehbili et al., 2018** ont isolé et purifié 2 flavonoïdes et 18 saponosides à partir de l'extrait hydroéthanolique de *Calendula stellata*



**Figure V.1** : chromatogramme : 1 des extraits MeOH, Acétate et BuOH) dans le système solvants  $\text{CHCl}_3$  : MeOH :  $\text{H}_2\text{O}$  (70 : 30: 0,5) observé sous 254 nm, 365 nm et après la révélation.

Les CCM réalisées sur les trois extraits méthanoliques (brut) acétate d'éthyle (ACOEt) et butanolique (BuOH) des parties aériennes d'une plante de la famille des Asteraceae, ont montré une composition chimique riche surtout en saponosides et flavonoides.

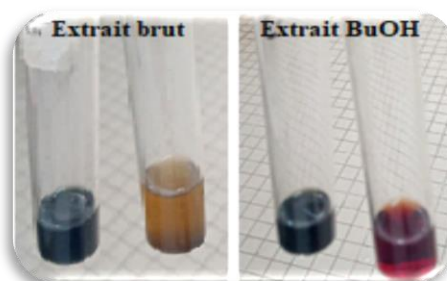
### V.2. Screening phytochimique par réactions colorées

La caractérisation phytochimique a révélé la présence de trois grandes classes de composés : les flavonoïdes, les tanins et les saponosides, tandis qu'aucune trace d'alcaloïdes n'a été détectée dans les deux extraits analysés. Ces observations sont cohérentes avec les résultats obtenus par chromatographie sur couche mince (CCM).

L'intensité des réactions observées a été évaluée selon une échelle semi-quantitative, allant de négative (–) à fortement positive (+++).

### ✚ Recherche des polyphénols totaux :

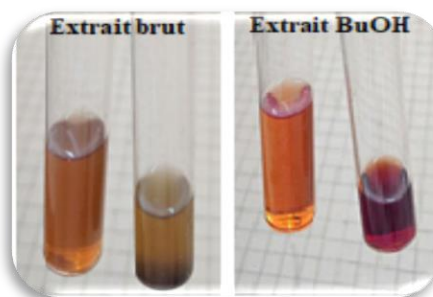
La teneur en polyphénols totaux dans les deux extraits a été évaluée par une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du réactif de  $\text{FeCl}_3$ . Les résultats ont révélé une présence notable de ces composés dans les deux extraits analysés (**Figure V. 2.**).



**Figure V. 2 :** mise en évidence des polyphénols

### ✚ Recherche des flavonoïdes

La présence des flavonoïdes dans les deux extraits a été mise en évidence par la réaction à la cyanidine (**Figure V.3.**). Ce test indique que ces composés phénoliques sont fortement présents dans les deux extraits étudiés.



**Figure V. 3 :** mise en évidence des flavonoïdes

### ✚ Recherche des tanins condensés :

Les tanins condensés ont été mis en évidence dans les deux extraits l'aide du réactif de Bathe-Smith (**Figure V. 4.**).



**Figure V. 4 :** mise en évidence des tanins condensés

La coloration rouge de l'extrait brut et Butanolique confirme la présence des tanins condensés.

#### 🔬 Recherche des Saponosides :

Après agitation, la formation d'une mousse stable d'une hauteur supérieure à un centimètre et persistante pendant plus de quinze minutes (**Figure V. 5.**) indique la présence de saponosides. L'indice de mousse a ensuite été déterminé selon la formule suivante :

$$IM = \text{l'inverse } C \times D$$

Où :

C : Concentration initiale de l'extrait = 1/ 100

D : Dilution dans de tube N°4 = 1.5 / 10 dans l'extrait Butanolique

$$IM = 1/100 \times 1.5/10 = 1.5/1000$$

$$IM = \text{l'inverse } 1.5/1000 = 1000/1.5 = 666.66 > 100$$

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait brut ainsi que l'extrait butanolique contiennent des saponosides (**Tableau V.1.**).



**Figure V. 5 :** mise en évidence des saponosides

#### 🔬 Recherche des alcaloïdes :

Les réactions caractéristiques des alcaloïdes se sont révélées négatives pour les deux extraits, malgré l'utilisation des réactifs appropriés.

Pour résumer le screening phytochimique de notre plante, le **tableau V.1** présente de manière synthétique les résultats des différents tests réalisés, en indiquant la présence ou l'absence des composés dans chacun des extraits.

**Tableau V. 1 :** les résultats de criblage obtenus.

Extrait	Polyphénols	Flavonoides	Tannins	Saponosides	Alcaloides
Brut	++	+	+	++	-
Butanolique	+++	+++	+++	+++	-

(+) : présence ; (++) : présence considérable ; (+++) : abondance ; (-) : absence

Les données obtenues dans le cadre de ce travail sont en parfaite concordance avec celles rapportées par **Kanakiya et al., 2018**, à l'issue d'un criblage phytochimique des extraits des parties aériennes de *Limonium stocksii* (Boiss.) Kuntze. Ces auteurs ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, flavonoïdes, tanins et saponosides, tandis qu'aucune trace d'alcaloïdes n'a été détectée.

### V.3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

Les composés phénoliques sont largement reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, ce qui justifie en partie l'usage traditionnel de nombreuses plantes médicinales (**Hennebelle et al., 2004**). Dans le cadre de ce travail, la quantification des polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique (mg EAG) par gramme d'extrait, sur la base d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique comme étalon. Par ailleurs, le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué selon la méthode décrite par **Arvouet-Grand et al., 1994**, les résultats étant exprimés en milligrammes équivalents quercétine (mg EQ) par gramme d'extrait (**Figure V.6.**).

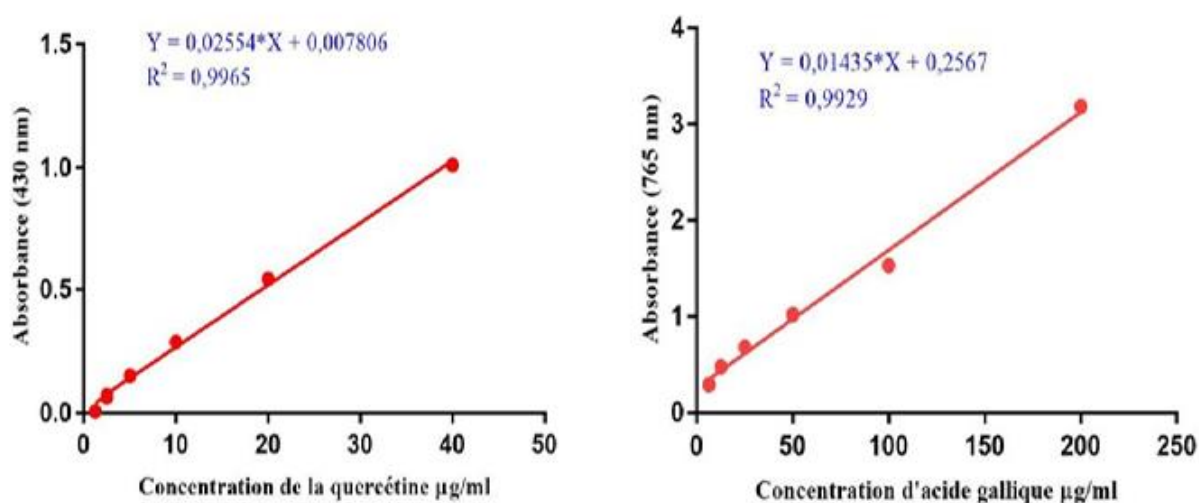
**Tableau V. 2 :** Résultats du dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux des extraits d'une plante de la famille des Asteraceae

Extraits	Polyphénols <sup>(a)</sup>	Flavonoïdes <sup>(b)</sup>
Extrait brut	175,84 ± 1,11	85,73 ± 1,78
Extrait butanolique	185,04 ± 0,97	114,40 ± 0,65

(a)mg d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

(b)mg d'équivalent de quercétine par g d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

Les résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux révèlent que l'extrait butanolique est plus riche en composés phénoliques et flavonoidique (185,04 ± 0,97mg EAG/g d'extrait, 114,40 ± 0,65 mg EQ/g d'extrait) que l'extrait brut (175,84 ± 1,11mg EAG/g d'extrait, 85,73 ± 1,78mg EQ/g d'extrait).



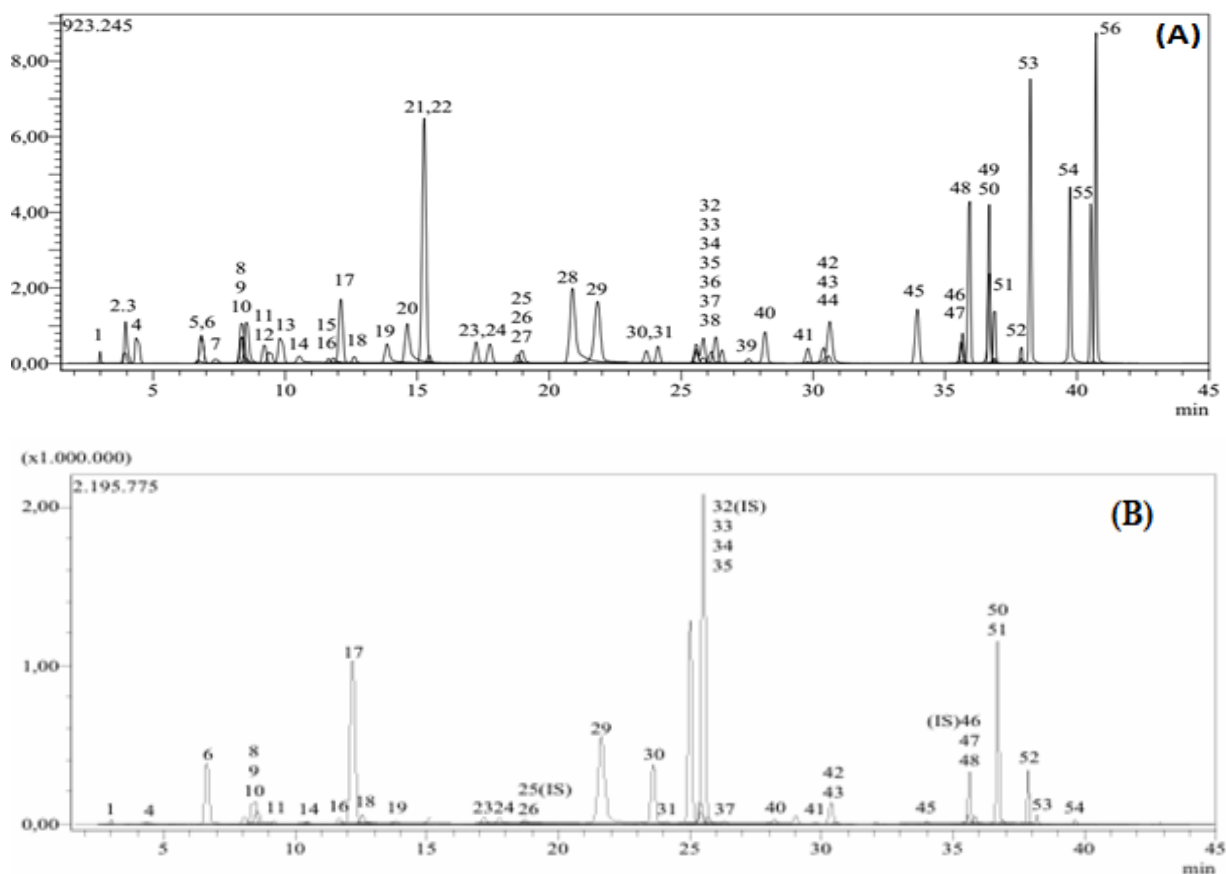
**Figure V. 6** : courbes d'étalonnages de la quercétine de l'acide gallique pour le dosage de flavonoïdes et de polyphénols

La teneur en composés phénoliques peut être modulée par de nombreux facteurs. En effet, plusieurs études ont démontré que des paramètres extrinsèques tels que les conditions géographiques et climatiques, mais également des facteurs intrinsèques comme le patrimoine génétique de la plante, son stade de maturité, ainsi que les modalités et la durée de stockage, influencent significativement le contenu en polyphénols (Aganga & Mosase, 2001 ; Bouzid et al., 2011). La comparaison des résultats de cette étude avec ceux rapportés dans la littérature concernant la famille des Astéracées met en évidence une convergence significative. Plusieurs auteurs ont en effet souligné la richesse des espèces du genre *Centaurea* en composés phénoliques et en flavonoïdes, confirmant ainsi les tendances observées dans nos analyses (Salachna et al., 2021 ; Özcan et al., 2019 ; Azzouzi et al., 2016 ; Azzouzi et al., 2025).

#### V. 4. Résultats LC-MS/MS

Le profil chimique de l'extrait butanolique de l'espèce étudiée a été établi à l'aide de l'utilisation de la méthode LC-MS/MS décrite par Yilmaz, 2020, utilisant 56 composés phytochimiques de référence, révélant la présence de 34 composés. Les chromatogrammes des substances standard et le profil phytochimique de l'extrait BuOH sont présentés dans la (Figure V. 7.) et (Tableau V. 3.). Un total de dix-neuf flavonoïdes (cynaroside, miquelianine, rutoside, isoquercitrine, hespéridine, génistine, cosmosiine, quercitrine, astragaline, nicotiflorine, daidzéine, quercétine, naringénine, lutéoline, génistéine, kaempférol, hespérétine, apigénine et amentoflavone), onze acides phénoliques (acide gallique, acide protocatéchique, acide gentisique, acide chlorogénique, acide tannique, acide 4-hydroxybenzoïque, acide vanillique, acide caféique, acide syringique, acide p-coumarique et acide salicylique), un acide

organique non phénolique (acide quinique), deux aldéhydes phénoliques (aldéhyde protocatéchique et vanilline), ainsi qu'un stilbène (piceide) ont été identifiés dans l'échantillon de la plante analysée.



**Figure V.7.** (A). Chromatogramme du mélange de 56 standards de référence. (1 : acide quinique, 2 : acide fumarique, 3 : acide aconitique, 4 : acide gallique, 5 : épigallocatechine, 6 : acide protocatéchique, 7 : catéchine, 8 : acide gentisique, 9 : acide chlorogénique, 10 : aldéhyde protocatéchique, 11 : acide tannique, 12 : épigallocatechine gallate, 13 : acide 1,5-dicaféoylquinique, 14 : acide 4-hydroxybenzoïque, 15 : épicatechine, 16 : acide vanillique, 17 : acide caféique, 18 : acide syringique, 19 : vanilline, 20 : aldéhyde syringique, 21 : daidzine, 22 : épicatechine gallate, 23 : piceid, 24 : acide *p*-coumarique, 25 : acide férulique D3, 26 : acide férulique, 27 : acide sinapique, 28 : coumarine, 29 : acide salicylique, 30 : cynaroside, 31 : miquelianine, 32 : rutine, 33 : rutine D3, 34 : isoquercitrine, 35 : hespéridine, 36 : acide *o*-coumarique, 37 : génistine, 38 : acide rosmarinique, 39 : acide ellagique, 40 : cosmosiine, 41 : quercitrine, 42 : astragaline, 43 : nicotiflorine, 44 : fisétine, 45 : daidzéine, 46 : quercétine D3, 47 : quercétine, 48 : naringénine, 49 : hespérétine, 50 : lutéoline, 51 : génistéine, 52 : kaempférol, 53 : apigénine, 54 : amentoflavone, 55 : chrysin, 56 : acacétine). (B) : Chromatogramme LC-MS/MS de l'extrait butanolique de la plante étudiée

Isoquercitrine s'est révélée être le composé le plus abondant dans l'extrait butanolique, avec une concentration de 47,913 mg/g, suivi par la cynaroside et la quercétine avec des teneurs de 11,318mg/g et 9,299 mg/g respectivement. Par ailleurs, les acides phénoliques les plus représentés étaient l'acide protocatéchique (14,595 mg/g), suivi de l'acide caféique (7,935



mg/g) et l'acide chlorogénique (4,630 mg/g). Cette richesse en flavonoïdes et acides phénolique dans l'extrait butanolique de l'espèce étudiée est en accord avec ce qui a été rapporté dans la littérature. **Cruceiru et al., 2020**, ont décrit la présence d'acides hydroxycinnamiques et de flavonols dans les fleurs et les feuilles de *C. officinalis*. De manière similaire, des dérivés de quercétine et d'apigénine ont été identifiés dans l'extrait hydroalcoolique des fleurs de *C. officinalis* (**Escher et al., 2019**).

**Tableau V. 3 :** Identification et quantification des composés chimiques dans l'extrait BuOH de la plante étudiée, analysés par LC-MS/MS (exprimées en mg/g).

No	Analytes	BuOH Extract	No	Analytes	BuOH Extract
1	Acide quinique	0,858	29	Acide salicylique	3,671
2	Acide fumarique	N.D.	30	Cynaroside	11,318
3	Acide aconitique	N.D.	31	Miquelianine	0,007
4	Acide gallique	0,138	32	Rutoside-D3-IS	N.A.
5	Épigallocatechine	N.D.	33	Rutoside	2,211
6	Acide protocatechique	14,595	34	Isoquercitrine	47,913
7	Catéchine	N.D.	35	Hespéridine	1,789
8	Acide gentisique	1,337	36	Acide <i>o</i> -coumarique	N.D.
9	Acide chlorogénique	4,630	37	Génistine	0,014
10	Aldéhyde protocatechique	1,900	38	Acide rosmarinique	N.D.
11	Acide tannique	0,077	39	Acide ellagique	N.D.
12	Épigallocatechine gallate	N.D.	40	Cosmosiine	0,800
13	Cynarine	N.D.	41	Quercitrine	0,082
14	Acide 4-hydroxybenzoïque	0,969	42	Astragaline	5,888
15	Épicatéchine	N.D.	43	Nicotiflorine	0,513
16	Acide vanillique	2,704	44	Fiséline	N.D.
17	Acide caféique	7,935	45	Daidzéine	0,016
18	Acide syringique	4,814	46	Quercétine-D3-IS	N.A.
19	Vanilline	0,069	47	Quercétine	9,299

20	Aldéhyde syringique	N.D.	48	Naringénine	0,069
21	Daidzine	N.D.	49	Hespérétine	N.D.
22	Épicatéchine gallate	N.D.	50	Lutéoline	3,408
23	Piceid	0,008	51	Génistéine	0,151
24	Acide <i>p</i> -coumarique	1,331	52	Kaempférol	0,368
25	Acide férulique-D3-IS	N.A.	53	Apigénine	0,551
26	Acide férulique	3,735	54	Amentoflavone	0,047
27	Acide sinapique	N.D.	55	Chrysin	N.D.
28	Coumarine	N.D.	56	Acacétine	N.D.

### V.5. Evaluation du potentiel antioxydant

La capacité antioxydante des extraits végétaux est fortement influencée par leur composition chimique ainsi que par les conditions expérimentales spécifiques aux méthodes utilisées. Pour cette raison, il est recommandé d'évaluer l'activité antioxydante à l'aide de plusieurs tests complémentaires, afin de couvrir les différents mécanismes d'action (Li et al., 2008). Dans ce travail, deux approches ont été retenues pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits brut et butanolique de la plante étudiée :

- ✚ L'activité de piégeage du radical libre DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle),
- ✚ Le pouvoir réducteur évalué à l'aide du test TAC (Total Antioxidant Capacity) ainsi que du test phenantroline.

#### V.5.1. Test de l'activité antiradicalaire par le test DPPH

L'activité antiradicalaire (DPPH) de l'extrait brut, et butanolique a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, mesurée à 517 nm. Le standard utilisé est le BHT. Les résultats sont exprimés en mg EAA /g d'extrait végétal (Tableau V. 4.)

**Tableau V. 4 :** L'activité antioxydante DPPH (mg EAA / g d'extrait végétal)

Extrait	(mg EAA / g d'extrait végétal)
Brut	18.94 ± 0.37
Butanolique	20.88 ± 0.58

L'évaluation de l'activité antioxydante par piégeage du radical libre DPPH° a révélé une capacité antiradicalaire plus élevée pour l'extrait butanolique (20,88 ± 0,58 mg EAA/g

d'extrait) comparativement à l'extrait brut ( $18,94 \pm 0,37$  mg EAA/g d'extrait). Cette différence peut être attribuée à la polarité du butanol, solvant semi-polaire favorisant l'extraction sélective de polyphénols actifs à potentiel antioxydant élevé. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans d'autres études sur des plantes de la famille des Asteraceae, telles que *Centaurea cyanus*, *Artemisia absinthium*, et *Achillea millefolium*, pour lesquelles les extraits méthanoliques ou éthanoliques ont montré des activités antioxydantes comprises entre 15 et 25 mg EAA/g d'extrait (Salachna et al., 2021 ; Özcan et al., 2019 ; Bouzid et al., 2011). La richesse en composés phénoliques et flavonoïdiques de ces espèces semble fortement corrélée à leur potentiel antioxydant, confirmant ainsi la contribution majeure de ces métabolites secondaires dans la neutralisation des radicaux libres.

### V.5. 2. Test de l'activité du phénanthroline

L'évaluation de la capacité antioxydante par la méthode de réduction du complexe  $\text{Fe}^{3+}$ -phénanthroline a révélé des valeurs significativement élevées pour les deux extraits étudiés (Tableau V. 5.). L'extrait butanolique a présenté une activité de  $345,94 \pm 1,09$  mg EAA/g d'extrait, nettement supérieure à celle de l'extrait brut ( $199,61 \pm 0,98$  mg EAA/g d'extrait). Ces résultats surpassent ceux rapportés pour plusieurs espèces de la famille des Asteraceae. A titre d'exemple, l'étude de Belkassam et al., 2019 sur *Centaurea dimorpha* a montré une activité antioxydante de  $152,63 \pm 0,49$  mg EAA/g pour l'extrait acétate d'éthyl-, mesurée par la méthode de la phénanthroline

**Tableau V. 5 :** Résultats de l'activité antioxydante par le test phénanthroline

Extrait	(mg EAA / g d'extrait végétal)
Brut	$199.61 \pm 0.98$
Butanolique	$345.94 \pm 1.09$

### V.5. 3. Test de la capacité antioxydant totale (TAC) :

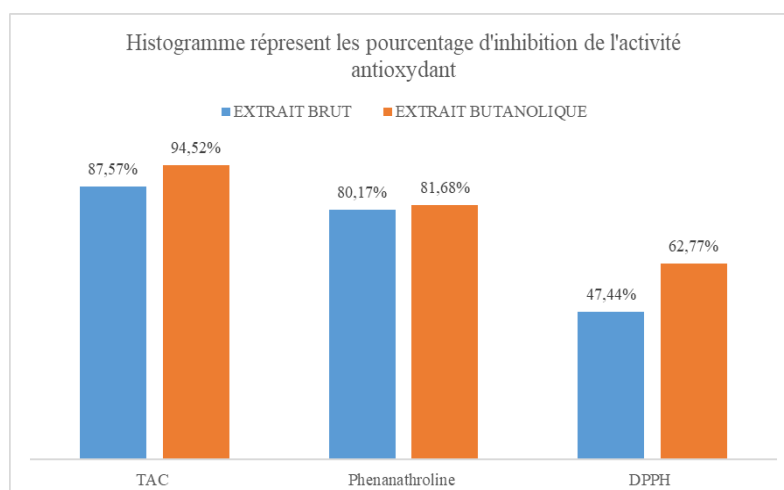
L'évaluation de la capacité antioxydante totale (TAC) par la méthode phosphomolybdique, fondée sur la réduction des ions molybdate Mo (VI) en molybdène Mo(V) (Tableau V. 6.), a mis en évidence une activité antioxydante significativement plus élevée pour l'extrait butanolique ( $456,68 \pm 5,06$  mg EAA/g d'extrait) comparativement à l'extrait brut ( $203,83 \pm 0,63$  mg EAA/g d'extrait). De tels résultats sont en accord avec ceux rapportés pour d'autres espèces de la famille des Asteraceae, notamment *Artemisia absinthium*, *Centaurea cyanus* ou encore *Achillea millefolium*, dont les extraits riches en métabolites secondaires présentent des

TAC élevés, souvent supérieurs à 300 mg EAA/g (Özcan et al., 2019 ; Piątkowska et al., 2022 ; Bouzid et al., 2011). Ces données confirment le rôle majeur des composés phénoliques dans les capacités réductrices globales des extraits végétaux.

**Tableau V. 6 : Résultats de la capacité antioxydant totale (TAC)**

Extrait	TAC (mg EAA / g d'extrait végétal)
Brut	203.83± 0.63
Butanolique	456.68 ± 5.06

En résumé, la comparaison de la capacité antioxydante des deux extraits, évaluée à travers les trois méthodes (DPPH, TAC et phénanthroline) et présentée dans la (Figure V. 8), révèle que l'extrait butanolique est celui qui présente l'activité antioxydante la plus élevée.



**Figure V. 8 : Histogramme de pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydant**

L'activité antioxydante accrue observée pour l'extrait butanolique dans les trois tests (DPPH, TAC et phénanthroline) peut être corrélée à sa richesse en flavonoïdes tels que l'isoquercitrine (quercétine-3-O-glucoside) et la quercétine, deux composés largement reconnus pour leurs propriétés antioxydantes (Xu. et al., 2019). L'isoquercitrine a démontré une capacité notable à atténuer le stress oxydatif en neutralisant les radicaux libres et en protégeant les cellules contre les dommages induits par des agents oxydants tels que le peroxyde d'hydrogène. De son côté, la quercétine est bien documentée pour son aptitude à moduler les voies de signalisation antioxydantes, réduisant ainsi le stress oxydatif et l'inflammation. Les résultats de l'activité antioxydante sont en parfaite cohérence avec le profil chimique de l'extrait obtenu par LC-MS/MS.

# Conclusion

## Conclusion générale

L'Algérie dispose d'un patrimoine végétal exceptionnellement riche, qui se distingue tant par sa diversité que par son endémisme. De nombreuses espèces appartenant à cette flore sont utilisées depuis des générations dans la médecine traditionnelle. Cependant, malgré leur potentiel thérapeutique reconnu, la majorité de ces plantes n'ont pas encore été étudiées de manière approfondie sur le plan phytochimique et biologique, ce qui souligne l'importance de les valoriser scientifiquement.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et à l'évaluation de l'activité antioxydante d'une plante Algérienne appartenant à la famille des Asteraceae. Cette famille botanique est largement reconnue pour sa richesse en métabolites secondaires bioactifs tels que les flavonoïdes, les sesquiterpènes, les triterpènes, les saponosides, ainsi que d'autres composés phénoliques.

A partir de l'analyse LC/MS/MS, nous avons pu identifier pour la première fois la composition phénolique de la plante étudiée, cette dernière est plutôt riche en flavonoïdes qu'en acides phénoliques.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits brut et butanolique des parties aériennes de l'espèce étudiée a été réalisée à travers trois méthodes complémentaires : DPPH, TAC et Phénanthroline. Les résultats obtenus révèlent une activité notable, essentiellement attribuée à la teneur élevée en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, présents dans ces extraits.

Les résultats obtenus au cours de cette étude confirment l'intérêt scientifique de l'espèce étudiée et soulignent son potentiel en tant que source de composés bioactifs. Bien que ces données soient encourageantes, elles ne constituent qu'une base pour des recherches futures plus approfondies. Des études complémentaires, incluant des essais *in vivo*, l'isolement de principes actifs purs et l'élucidation de leurs mécanismes d'action, seront nécessaires pour envisager des applications concrètes dans le domaine pharmaceutique, cosmétique ou agroalimentaire.

# Liste des références

## Liste des références

### -A-

**Ahsan, H., Ali, A., Ali, R., 2003.** Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and experimental immunology*. 131, 398-404.

**Amić, D., et al., 2003.** Structure-Radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta*, 76 (1) : p. 55-61.

**Anh-Dao, L.T., Duc, L. N, Cong-Hau, N., Thanh-Nho, N., 2022.** Variability of Total Polyphenol Contents in Ground Coffee Products and Their Antioxidant Capacities through Different Reaction Mechanisms. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12(4), 4857 – 4870.

**Apak R, Güçlü K, Özyurek M, Karademir S., 2004).** Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 7970-7981.

**Apak, R., Guculu, K., Ozyurek, M., Karademir., 2011.** 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 agricultur and food chemistry*. 2004, 52, pp 7970-7981. b. Ozyurek, M. ; Guculu, K. ; Apak, R. The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement. *Trends in Analytical Chemistry*., 30, pp 644-652.

**Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P., 1994.** Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *J Pharm Belg*; 49: 462-468

**Asmus, KD., Bonifacic, M., 2000.** Free radical chemistry. In : Sen CK, Packer L, Hanninen O, editors. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam, *Elsevier.*, p 3-53.

### -B-

**Baba Aïssa, F., 1991.** Les plantes médicinales en Algérie (identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnels des plantes communes en Algérie), Edition Bouchéne et Ad. Diwan, Alger.

**Baldwin, B. G., Wessa, B. L., Panero, J. L., 2002.** Nuclear DNA evidence for major lineages of Hellenioid Heliantheae (Compositae). *Systematic Botany* 27, 161–198.

**Bamba, D., Bessière JM, Marion C, Pélissier Y, Fourasté I., Essential oil of Eupatorium odoratum. Planta Medica., 1993.** 59 (2): p. 184-185., Essential oil of Eupatorium odoratum. *Planta Medica.*, 1993. 59 (2): p. 184-185.



- Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A., Cunha, I. B., Carvalho, P. O., Eberlin, M. N., 2007.** Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules* 12(3), 423-432
- Bedi, G., Tonzibo, Z.F., Chopard, C., Mahy, J-P., N'Guessan, T. Y., 2004.** Etude des effets antidouleurs des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* et de *Mikania cordata*, par action sur la Lipoxigenase L-1 de soja. *Physical Chemical News*. 15: p. 124-127.
- Belkassam, A., Zellagui, A., Gherraf, N., Flamini, G., Cioni, P. L., Rebbas, K., & Smaili, T., 2019.** Assessment of antioxidant effect of the essential oil and methanol extract of *Centaurea dimorpha* Viv. aerial parts from Algeria. *Acta Scientifica Naturalis*, 6(1), 54–62.
- Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J., Younos, C., 1991.** Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 123
- Beta, T. S. Nam, J.E Dexter. H.D., 2005.** Sapirstein. Phenolic Content and antioxidant activity of Pearled Wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem.*, 82(4), 390-393.
- Blois M.S., 1958.** Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. 181 : 1199-1200.
- Borgo, J., Wagner, M. S., Laurella, L. C., Elso, O. G., Selener, M. G., Clavin, M., Bach, H., Catalán, C. A. N., Bivona, A. E., Sepúlveda, C. S., & Sülsen, V. P., 2024.** Plant Extracts and Phytochemicals from the Asteraceae Family with Antiviral Properties. *Molecules*, 29(4), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules29040814>
- Boutaghane, N., Voutquenne-Nazabadioko, L., Harakat, D., Simon, A., Kabouche, Z., 2013.** Triterpenoid saponins of *Genista ulicina* spach. *Phytochemistry* 93, 176–181.
- Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., & Ayachi, A., 2011.** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1), 59-69.
- Brand-Williams W, Cuvelier M.E, Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel–Wissenschaft und Technologie*. 28: 25-30
- Bruneton, J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition, Lavoisier, Paris, France.
- Bruneton, J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. (3). Paris.

**Bruneton, J., 2007.** Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux. 3e édition. Lavoisier, Paris.

**Bruneton, J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition, Lavoisier, Paris, France.

**Bruneton, J., 2016.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 5ème édition, Lavoisier, Paris, France.

**-C-**

**Chabani, S., Lavaud, C., Benkhaled, M., Harakat, D., Long, C., Haba, H., 2016.** Three new oleanane-type triterpene saponins from *Atractylis flava*. *Phytochem. Lett.* 15, 88–93.

**Chaudhry, P. S., Cabrera, J., Juliani, H. R., Varma, S. D., 1983.** Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochemistry and Pharmacology*, 32-1995.

**Cheng, W., Li, J., You, T., Hu, C., 2005.** Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linne. *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 334–337

**Cristina Popovici, Ilonka Saykova, Bartek Tylkowski., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.

**Cruceriu, D.; Diaconeasa, Z.; Socaci, S.; Socaciu, C.; Rakosy-Tican, E.; Balacescu, O., 2020** Biochemical profile, selective cytotoxicity and molecular effects of *Calendula officinalis* extracts on breast cancer cell lines. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca*, 48, 24–39.

**-D-**

**Daniele, C., Dahamna, S., Firuzi, O., Sekfali, N., Saso, L., Mazzanti, G., 2005.** *Atractylis gummifera* L. poisoning: an ethnopharmacological review. *J. Ethnopharmacol.* 97, 175–181

**Darias, V., Bravo, L., Rabanal, R., Sanchez Mateo, C., Gonzalez Luis, R. M., Hernandez Perez, A. M., 1989.** New contribution to the ethnopharmacological study of the Canary Islands. *J. Ethnopharmacol.* 25, 77–92.

**Densiov, E.T., Afanas'ev, I.B., 2005.** IN: *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology*. Eds: Taylor & Francis Group (U.S.A), pp: 703-861.

**Dordevic, S., Petrovic, S., Dobric, S., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Zizic, S., Kukic, J., 2007.** Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. J. Ethnopharmacol. 109, 458–463

**Du, G.J.; Zhang, Z.; Wen, X.D.; Yu, C.; Calway, T.; Yuan, C.S.; Wang, C.Z. 2012.** Epigallocatechin Gallate (EGCG) is the most effective cancer chemopreventive polyphenol in green tea. Nutrients, 4, 1679–1691.

**Dupont F. Guignard J.L., 2012.** Abrégé de Botanique 15ème édition. Editions Masson, Paris.

#### **-E-**

**Ellis, G.P., 2009.** The chemistry of heterocyclic compounds, chromenes, chromanones, and chromones. John Wiley & Sons, USA.

**Escher, G.B.; Borges, L.D.C.; Santos, J.S.; Cruz, T.M.; Marques, M.B.; do Carmo, M.A.V.; Azevedo, L.; Furtado, M.M.; Sant’Ana, A.S.; Wen, M.C.; et al., 2019.** From the field to the pot: Phytochemical and functional analyses of *Calendula officinalis* L. flower for incorporation in an organic yogurt. Antioxidants, 8, 20.

**Evans, P., Halliwell, B., 1999.** Free radicals and hearing. Cause, consequence, and criteria. Ann. N. Y. Acad. Sci. 884, 19–40.

#### **-F-**

**Favier A., 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L’actualité Chimique. p108-11.

**Favier A., 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. Ann. Pharm. Fr . Mémoire des Activités antioxydante et antimicrobienne d’extraits de *Rhamnus alaternus* L. p 64: 390-396.

**Fernández-Checa, J.C., García-Ruiz, C., Colell, A., Morales, A., Marí, M., Miranda, M., Ardite, E., 1998.** Oxidative stress: role of mitochondria and protection by glutathione. BioFactors Oxf. Engl. 8, 7–11.

**Funk VA, Bayer RJ, Keeley S, Chan R, Watson L, Gemeinholzer B, Schilling E, Panero JL, Baldwin BG, Garcia-Jacas N, Susanna A, Jansen RK., 2005.** Everywhere but antartica: using a superthree to understand the diversity and distribution of the Compositae. Biologische Skriffer. 55: 343-374.

**Fonseca, Y.M., Catini, C.D., Vicentini, F.T., Nomizo, A., Gerlach, R.F., Fonseca, M.J., 2010.** Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. *J Ethnopharmacol.* 127(3), 596-601.

**-G-**

**Geissamn, T.A., 1972.** Biosynthesis. Royal Society of Chemistry, England.

**González-Gallego, J., S. Sánchez-Campos, and M.J. Tuñón., 2007.** Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutricion hospitalaria.* 22 (3): p. 287-293.

**GRAHAM JG, QUINN ML, FABRICANT DS, FARNSWORTH NR., 2000.** Plants used against cancer – an extension of the work of Jonathan Hartwell. *Journal of Ethnopharmacology,* 73, 347-377.

**Gülçin İ, Oktay M, Kirreççi E et Kü frevioğ lu Ö I., 2003.** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem.* 83, 371- 382.

**-H-**

**Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1984.** Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219, 1–14.

**Haliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989.** *Biology and Medecine.* Oxford : Free Radicals in Claenton Prep, p 543.

**Halliwell B., 2001.** Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging* 18, 685–716.

**Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2015.** *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford University Press.

**Haleng J, Pincemail J, Defraigne J.O, Charlier C, Chapelle J.P., 2007.** Le stress oxidant, *Rev Med Liege,* 62, 10 : 628-638.

**Hamad, M.N., Mohammed, H.J., Merdaw, M.A., 2011.** Antibacterial activity of *Calendula officinalis* flowers in vitro. *Ibn Al- Haitham J. Pure & Appl Sci,* 24(3), 1-7.

**Harborne J. B., 1973.** Phytochemical Methods, Chapman and Hall, Ltd., London, pp. 49-188.

**Harbone B. J., 1993.** Introduction to ecological biochemistry. 4ème édition, Academic Press, London, England.

**Harborne, J.B., H. Baxter, and G.P., 1999.** Moss, Phytochemical dictionary : a handbook of bioactive compounds from plants, 2nd edition., London, UK: Taylor & Francis.

**Harrison, D., Griendling, K.K., Landmesser, U., Hornig, B., Drexler, H., 2003.** Role of oxidative stress in atherosclerosis. The American Journal of Cardiology. 91, 7-11.

**Hemingway, R.W., Laks., P.E., Branham., S.J., 1992.** Plant polyphenols : Synthesis, properties, sinificance. Springer Science & Busines Media, Germany

**Hennebelle, T. S. Sahpaz, F. Bailleul., 2004.** Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 1: 3-6.

**Heywood VH, Brummit RK, Culham A, Seberg O., 2007.** Flowring plant families of the world. Royal Botanic Gardens.

**Hua, H.Y., Xie, X., Li, F.M., & Hong, Y., 2008.** Responses of enzymatic antioxidants and non-enzymatic antioxidants in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to the allelochemical ethyl 2-methyl acetoacetate (EMA) isolated from reed (*Phragmites communis*). Journal of Plant Physiology, 165(12), 1264–1273.

**Hymete, A., Dagne, E., & Gebre-Mariam, T., 2005.** Utilisation des plantes médicinales dans le traitement traditionnel des troubles gastro-intestinaux et cardiovasculaires au Cameroun : cas de quelques Asteraceae. Journal of Ethnopharmacology, 96(1-2), 115-121.

**-J-**

**Jiang, H., Xia, Q., Xu, W., Zheng, M. (2004).** *Chrysanthemum morifolium* attenuated the reduction of contraction of isolated rat heart and cardiomyocytes induced by ischemia/reperfusion. Farmazie, 59, 565–567.

**Ji, LL., (2001).** Exercise at old age: does it increase or alleviate oxidative stress Annals of the New York Academy of Sciences., 928, p 236–47.

**J. R. Mandel, R. B. Dikow, C. M. Siniscalchi, R. Thapa, L. E. (2019)** Watson, and V. A. Funk, “A Fully Resolved Backbone Phylogeny Reveals Numerous Dispersals and Explosive Diversifications Throughout the History of Asteraceae,” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116, no. 28: 14083–14088, <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.7697834>

**-k-**

**Kalvatchev, Z., Walder, R., Garzaro, D., 1997.** Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. *Biomed Pharmacother.* 51, 176-180.

**Kim, H.J., Lee, Y.S. (2005).** Identification of new dicaffeoylquinic acids from *Chrysanthemum morifolium* and their antioxidant activities. *Planta Medica*, 71, 871–876.

**Kim, S.J.; Amankwah, E.; Connors, S.; Park, H.Y.; Rincon, M.; Cornell, H.; Chornokur, G.; Hashim, A.I.; Choi, J.; Tsai, Y.Y.; et al. (2014)** Safety and chemopreventive effect of Polyphenon E in preventing early and metastatic progression of prostate cancer in TRAMP mice. *Cancer Prev. Res.* 7, 435–444.

**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, pp165–177

**-L-**

**Lacaze, B., Joffre, R., 1987.** Caractérisation de formations végétales méditerranéennes à partir de données ‘Thematic Mapper’ Une étude de cas en Andalousie (Espagne). *International Journal of Remote Sensing*, 8 (9), 1319-1333.

**LAHSISSENE H, KAHOUADJI, TIJANE M, HSEINI S. (2009)** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia*, 186, 1-30.

**Lavie, L., 2015.** Oxidative stress in obstructive sleep apnea and intermittent hypoxia – Revisited – The bad ugly and good: Implications to the heart and brain. *Sleep Med. Rev.* 20, 27 45.

**Le, T.T., (1995)** The use of Eupolin prepared from *Eupatorium odoratum* to treat soft tissue wounds., in *The 5th European Tissue Repair Society Meeting 1995* Abst. 30: Padova, Italy

**Lebovitz, R.M., Zhang, H., Vogel, H., Cartwright, J., Dionne, L., Lu, N., Huang, S., Matzuk, M.M., 1996.** Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in

mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 93, 9782–9787.

**Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., Prost, M., 2001.** Stress oxydant et pathologies humaines. Bilan et perspectives préventives. Presse médicale. Paris, France. 30(21), 1076-1081.

**Lehbili, M., Alabdul Magid, A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Amin Abedini., Morjani, H., Harkat, D., Thomas Sarazin., Sophie C. Gangloff., Kabouche, Z., (2018).** Oleanane-type triterpene saponins from *Calendula stellata*. Phytochemistry 144, 33-42.

**Leporatti, M. L., Ivancheva, S., 2003.** Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. J. Ethnopharmacol. 87, 123 142.

**Liang, N. and D.D. Kitts, (2014)** Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. Molecules. 19(11): p. 19180-19208.

#### **-M-**

**Martínez-Cayuela, M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie.* 77, 147- 161.

**McCall, M. R. et Frei, B. (1999).** Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? Free Radical Biology and Medicine 26(7-8): 1034-1053.

**Melakhessou MA, Benkiki N, Marref S, Bouzidi S. 2018.** Anti-inflammatory, anti-pyretic and acute toxicity effects of n-butanol extract of *Atractylis flava* Desf. in rats. Pharmacognosy Journal. 10: 763- 767.

**Melov, S., Coskun, P., Patel, M., Tuinstra, R., Cottrell, B., Jun, A.S., Zastawny, T.H., Dizdaroglu, M., Goodman, S.I., Huang, T.T., Miziorko, H., Epstein, C.J., Wallace, D.C., 1999.** Mitochondrial disease in superoxide dismutase 2 mutant mice. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 96, 846–851.

**Middleton, E., C. Kandaswami, and T.C. Theoharides, (2000)** The effects of plants flavonoids on mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacological Reviews, 52(4): p. 673-751.

**Miyazawa, M., Hisama, M. (2003).** Antimutagenic activity of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium*. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 67, 2091–2099

**-N-**

**N'Guessan K., B Kadja., G Zirihi., D Traoré., L Aké-Assi, (2009)** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). Sciences & Nature 6(1): p. 1-15.

**-O-**

**Oleksandr S., Zidorn, C. (2019).** Sesquiterpene lactones and their precursors as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae revisited: An update (2008–2017). Phytochemistry 163, 149-177.

**Oxiresearch, Inc., 2002.** Colorimetric, quantitative assay for total antioxidant potential (aqueous samples).

**Özkan, E., Karakas, F.P., Yildirim, A.B.B., Tas, I., Eker, I., Yavuz, M.Z., & Turker, A.U. (2019).** Promising medicinal plant *Inula viscosa* L.: antiproliferative, antioxidant, antibacterial and phenolic profiles. Progress in Nutrition, 21(3), 652–661.

**-P-**

**PADASHETTY SA, MISHRA SH. (2007)** Effect of terpenoidal fraction of *Echinops echinatus* roots on reproductive parameters of male rats. Journal of Natural Medicines, , 61, 452-457.

**Pal Yu, B. (1994).** Cellular defences against damage from reactive oxygen species  
Physiopathological Reviews. 74, 139-155.

**Panero, J. L., Funk, V. A., 2002.** Toward a phylogenetic classification for the Compositae (Asteraceae). Proceedings of the Biological Society of Washington 115, 909–922.

**Panero, J. L., Funk, V. A., 2007.** New infrafamilial taxa in Asteraceae. Phytologia 89, 356–360.

**Panero, J. L., Funk, V. A., 2008.** The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. Mol. Phylogenet. Evol. 47, 757–782.



**Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4, (5).

**Phan, T.T., M.A. Hughes, and G.W. (2001)** Cherry, Effects of an aqueous extract from the leaves of *Chromolaena odorata* (Eupolin) on the proliferation of human keratinocytes and on their migration in an in vitro model of reepithelialization. *Wound. Rep. Reg.* , 9: p. 305-313.

**Phan, T.-T., (2001)** Phenolic compounds of *Chromolaena odorata* Protect cultured skin cells from oxidative damage: Implication for cutaneous wound healing. *Biol. Pharm. Bull.* , 24(12): p. 1373 - 1379.

**Preethi, K.C., Kuttan, G., Kuttan, R., 2006.** Antioxidant potential of an extract of *Calendula officinalis* flowers in vitro and in vivo. *Pharmaceutical Biology*. 44(9), 691–697.

**Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337–341.

**Prior R.L. et Cao G. (2005).** In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine* 27, 1173- 1181.

#### **-Q-**

**Quezel P, Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II .C.N.P.S. Paris.

#### **-R-**

**Rajinder, R., (2008)** Medicinal Plants and their Role in Wound Healing *Vet Scan* 3(1): p. 1-7.

**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.

**Reddy, N.M., Qureshi, W., Potteti, H., Kalvakolanu, D.V., Reddy, S.P., 2014.** Regulation of Mitochondrial Functions by Transcription Factor NRF2, in: *Mitochondrial Function in Lung Health and Disease, Respiratory Medicine*. Humana Press, New York, NY, pp. 27–50.

**Roberts, J.C., 1996.** The chemistry of paper. Royal Society of Chemistry, England.

**Rice-Evans C, Miller N.J. (1994).** Total Antioxidant Status in Plasma and Body Fluids. Methods in Enzymology. 234: 279-293.

**Rice-Evans C, Miller N.J, Bowell P.G, Bramley P.M, Pridham J.B. (1995).**The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Research. 22: 375-383.

-S-

**Salachna, P., Pietrak, A., & Łopusiewicz, Ł. (2021).** Antioxidant Potential of Flower Extracts from *Centaurea* spp. Depends on Their Content of Phenolics, Flavonoids and Free Amino Acids. Molecules, 26(24), 7465.

**Sánchez-Canul, M., Villa-de la Torre, F., Borges-Argáez, R. et al. (2025)** Effets anti-inflammatoires d'un extrait méthanolique de *Montanoa grandiflora* DC. (Asteraceae) laisse sur des modèles in vitro et in vivo. Inflammopharmacol 33 , 417-430.  
<https://doi.org/10.1007/s10787-024-01573-1>

**Sharifi-Rad, M.; Pezzani, R.; Redaelli, M.; Zorzan, M.; Imran, M.; Ahmed Khalil, A.; Salehi, B.; Sharopov, F.; Cho, W.C.; Sharifi-Rad, J. (2020)** Preclinical pharmacological activities of epigallocatechin-3-gallate in signaling pathways: An update on cancer. Molecules, 25, 467.

**Skalli, S., Alaoui, I., Pineau, A., Zaid, A., Soulaymani, R., 2002.** L'intoxication par le chardon à glu (*Atractylis gummifera* L.) ; à propos d'un cas clinique. Bull. Soc. Pathol. Exot. 95, 284–286.

**SINGH B, GAMBHIR SS, PANDEY VB, JOSHI VK. (1989)** Anti-inflammatory activity of *Echinops echinatus*. Journal of Ethnopharmacology, 25, 189-199.

**Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144–153.

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

**Stefan, S., Serhat S. C., Valerio P., Stefan S., Peter S., Volker W., Hermann S. (2011)** Metabolic fingerprinting of *Leontopodium* species (Asteraceae) by means of <sup>1</sup>H NMR and HPLC–ESI-MS. *Phytochemistry* 72, 1379-1389.

**STEVENS. [En ligne]. juin 2008.** Répartition géographique des Asteraceae [cité le 4 juillet 2018]. Disponible: [https://hortical.com/spip.php?mot648&debut\\_mots\\_freres=25](https://hortical.com/spip.php?mot648&debut_mots_freres=25)

**Suksamrarn, A., et al., (2004)** Antimycobacterial Activity and Cytotoxicity of Flavonoids from the Flowers of *Chromolaena odorata*. *Arch. Pharm. Res.* , 27(5): p. 507-511.

**Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008).** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899–905.

#### **-T-**

**Tapas, A.R., D.M. Sakarkar, and R.B. (2008)** Kakde, Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of Pharmaceutical Research*. 7(3): p. 1089-1099.

**Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J.O., & Dommes, J. (2009).** Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1655–1666.

**Thakong, K., A (1999)** study on the antimalarial constituents and chemical composition of *Eupatorium odoratum* (L.), Mahidol University: Mahidol, THAILAND.

**Tene, V., Tane, P., Connolly, J. D., & Mbogning, T. (2004).** Utilisation des plantes médicinales dans le traitement traditionnel des troubles gastro-intestinaux et cardiovasculaires au Cameroun : cas de quelques Asteraceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2-3), 135–140.

**Tiqwari, A.K., (2001)** Imbalance in antioxidant defence and human diseases : Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current Science*, 81(9): p. 1179-1181.

**Tsukamoto, S.; Huang, Y.; Umeda, D.; Yamada, S.; Yamashita, S.; Kumazoe, M.; Kim, Y.; Murata, M.; Yamada, K.; Tachibana, H. (2014)** 67-kDa laminin receptor-dependent protein phosphatase 2A (PP2A) activation elicits melanoma-specific antitumor activity overcoming drug resistance. *J. Biol. Chem.* 289, 32671–32681.

#### **-U-**

**Ukiya, M., Akihisa, T., Yasukawa, K., Tokuda, H., Suzuki, T., Kimura, Y., 2006.** Anti inflammatory, anti-tumor-promoting, and cytotoxic activities of constituents of marigold (*Calendula officinalis*) flowers. *J. Nat. Prod.* 69, 1692-1696.

-V-

**Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic., M., Mazur, M., 2006.**"Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chemico-Biological Interactions* 160(1) : 1-40.

**Veiko, A.G.; Olchowik-Grabarek, E.; Sekowski, S.; Roszkowska, A.; Lapshina, E.A.; Dobrzynska, I.; Zamaraeva, M.; Zavodnik, I.B. (2023)** Antimicrobial Activity of Quercetin, Naringenin and Catechin: Flavonoids Inhibit Staphylococcus aureus-Induced Hemolysis and Modify Membranes of Bacteria and Erythrocytes. *Molecules*, 28, 1252.

-X-

**Xu, D., Hu, M.-J., Wang, Y.-Q., & Cui, Y.-L. (2019).** Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*, 24(6), 1123.

**Xu, S. , Kang, A. , Tian Y., Li, X ., Qin, S ., Yang, R ., Guo, Y.(2024).** Plant Flavonoids with Antimicrobial Activity against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *ACS Infect Dis*, 10(9):3086-3097.

-Z-

**ZHANG X, MA Z. (2010)** Characterization of bioactive thiophenes from the dichloromethane extract of *Echinops grijisii* as Michael addition acceptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397, 1975-1984.

**Zidorn, C., 2008.** Sesquiterpene lactones and their precursors as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae. *Phytochemistry* 69, 2270–2296.

**Zweier, J.L., Talukder, M.A.H. (2006).** The role of oxidants and free radicals in reperfusion Injury. *Cardiovascular Research*. 70,181-190.

## Résumé

Ce travail de recherche a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante d'une plante Algérienne appartenant à la famille des Asteraceae, à partir de deux extraits végétaux : l'extrait brut et l'extrait butanolique des parties aériennes. L'activité antioxydante a été évaluée in vitro à l'aide de trois tests complémentaires : DPPH, TAC et phénanthroline. Parallèlement, des analyses chromatographiques (CCM) et une caractérisation chimique par spectrométrie de masse à haute résolution (LC/MS/MS) ont été réalisées afin d'identifier les composés responsables de cette activité.

L'analyse LC/MS/MS a permis de mettre en évidence une richesse notable en composés phénoliques, en particulier des flavonoïdes et les acides phénoliques. Ces composés sont largement reconnus pour leur pouvoir antioxydant. Les résultats des tests biologiques confirment une activité antioxydante marquée, notamment pour l'extrait butanolique, qui s'est révélé le plus actif dans l'ensemble des essais menés.

**Mots clés :** Asteracea, activité antioxydante, flavonoïdes, acides phénoliques, CCM, LC/MS/MS.

## *Abstract*

This research work focused on the phytochemical investigation and the evaluation of the antioxidant activity of an Algerian plant belonging to the Asteraceae family, based on two plant extracts: the crude extract and the butanolic extract from the aerial parts. The antioxidant activity was assessed *in vitro* using three complementary assays : DPPH, TAC, and phenanthroline. In parallel, chromatographic analyses (TLC) and chemical characterization by high-resolution mass spectrometry (LC/MS/MS) were carried out to identify the compounds responsible for this activity.

The LC/MS/MS analysis revealed a significant richness in phenolic compounds, particularly flavonoids and phenolic acids. These compounds are widely recognized for their antioxidant power. The biological tests confirmed a strong antioxidant activity, especially for the butanolic extract, which showed the highest activity across all tests performed.

**Keywords:** Asteraceae, antioxidant activity, flavonoids, Phenolic Acid, , TLC, LC/MS/MS.

# الملخص

ركز هذا العمل البحثي على الدراسة الفيتوكيميائية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لنبات جزائري ينتمي إلى العائلة النجمية (Asteracée) وذلك من خلال مستخلصين نباتيين: المستخلص الخام، والمستخلص البوتانولي من الأجزاء الهوائية.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستخدام ثلاث اختبارات تكميلية، TAC، DPPH، وفينانترولين. وبالتوازي، أجريت تحاليل كروماتوغرافية (CCM) وتوصيف كيميائي باستخدام مطيافية الكتلة عالية الدقة (LC/MS/MS) بهدف تحديد المركبات المسؤولة عن هذا النشاط.

أظهرت نتائج تحليل LC/MS/MS غنى ملحوظا بالمركبات الفينولية، خصوصا والأحماض الفينولية، وهي مركبات معروفة بقدرتها العالية على مقاومة الأكسدة. كما أكدت الاختبارات البيولوجية وجود نشاط مضاد للأكسدة قوي، لاسيما في المستخلص البوتانولي، الذي أظهر أعلى فعالية في جميع الاختبارات المنجزة.

**الكلمات المفتاحية:** النجمية، (Asteracée)، النشاط المضاد للأكسدة، الفلافونويدات، الأحماض الفينولية، التحليل بالكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة (TLC) مطيافية الكتلة عالية الدقة (LC/MS/MS)

## Etude phytochimique et activité antioxydante d'une plante Médicinale Algérienne de la famille des Asteraceae.

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

### Résumé

Ce travail de recherche a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante d'une plante Algérienne appartenant à la famille des Asteraceae, à partir de deux extraits végétaux : l'extrait brut et l'extrait butanolique des parties aériennes. L'activité antioxydante a été évaluée in vitro à l'aide de trois tests complémentaires : DPPH, TAC et phénanthroline. Parallèlement, des analyses chromatographiques (CCM) et une caractérisation chimique par spectrométrie de masse à haute résolution (LC/MS/MS) ont été réalisées afin d'identifier les composés responsables de cette activité.

L'analyse LC/MS/MS a permis de mettre en évidence une richesse notable en composés phénoliques, en particulier des flavonoïdes et les acides phénoliques. Ces composés sont largement reconnus pour leur pouvoir antioxydant. Les résultats des tests biologiques confirment une activité antioxydante marquée, notamment pour l'extrait butanolique, qui s'est révélé le plus actif dans l'ensemble des essais menés.

**Mots clés :** Asteracea, activité antioxydante, flavonoïdes, acides phénoliques, CCM, LC/MS/MS.

### Jury d'évaluation :

<b>Président du jury :</b>	<b>Dr. GHERBOUDJ</b> Ouissem	(MCA.UFM Constantine 1)
<b>Rapporteur :</b>	<b>Pr. BOUTAGHANE</b> Naima	(Pr. UFM Constantine 1)
<b>Examineur :</b>	<b>Dr. BECHKRI</b> Sarah	(MCB.UFM Constantine 1)