

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة 20 اوت 1955-سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955-SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

**Etude des activités antioxydantes et anti-enzymatiques des extraits
de la plante
Aster squamatus (Spreng.) Hieron.**

Présenté par :

Alioua Nesrine

Rehamnia Nour

Saadaoui Asma

Zaoui Ikram

Soutenu publiquement le 25/06/2024

Membres de Jury :

Dr. Meriem Nassar (MCA)

Présidente

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Dr. Safia Boulechfar (MCB)

Promotrice

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Dr. Fethia Zadri (MCB)

Examinatrice

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite. Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Madame Boulechfar Safia qui a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans elle ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre recherche qui ont bien voulu examiner ce travail.

Nous souhaiterons également remercier nos professeurs de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pendant les cinq années du notre parcours.

Dédicaces

Je commence par rendre grâce à dieu et sa bonté pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade. Maintenant, je dédie mon travail :

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie : à ma mère Ghania: tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.

À Mon très cher père Salah : aucun remerciement ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

à Mes chères frères Yasser, Aymen, Yahia

à Mes belles soeurs Hassiba, Raounak, Ferial

à Mon neveu Oussaid

à Mes amies Chaima , Ilham , Amel

à toute ma famille élargie, et toutes les personnes qui me sont chères

Nesrine

Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui nous a tracé le chemin de notre vie, nous avons pu réaliser ce travail que nous avons dédié :

A mes très chers parents, que j'admire beaucoup, qui m'ont toujours aidés dans ma vie et qui n'ont cessés de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que dieu les garde en bonne santé.

A mon frère et MES SŒURS pour leurs tendresses et leurs permanentes présences à mes Côtés.

À mes chers trinômes qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Je vous souhaite le succès et tout le bonheur du monde, que Dieu vous protège.

ASMA

Dédicaces

A ma chère mère et mon cher père,

pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance, pour leur grand amour à nous

A ma chère sœur et mes chers frères

A tous mes amis que j'ai pu connaître depuis mon enfance

- merci d'être toujours avec moi

A mes collègues en cette mémoire

A ma chère encadrante et A tous les professeurs qui m'ont enseigné tout au long de mon parcours

A tous ceux qui m'aiment, A tous

ceux que j'aime

Je vous dédie ce modeste travail, ça me fait plaisir d'avoir et de connaître des personnes comme vous, je vous aime.

Nour

Dédicaces

La première et la dernière chose est pour Allah qui m'a donné la capacité suffisante pour terminer ce travail

Je dédie ce travail

A ma mère, la source de tendresse et la lumière qui guide mes routes et qui m'emmène aux chemins de la réussite, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

A mon père que je remercie énormément pour ses efforts, ses conseils et sa surveillance.

A mon grand-père et ma grand-mère, je leur souhaite une bonne santé.

A mes oncles et tantes, notamment mon oncle Abd allatif, et je le remercie pour son soutien et son amour pour moi.

A tous mes chers frères et sœurs

A ma meilleure amie

Enfin, j'offre mes bénédictions à tous ceux qui m'ont soutenu dans l'accomplissement de ce travail.

Ikram

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Notion de stress oxydatif et les antioxydants

1. Stress oxydant..... 2

2. Les radicaux libres 2

2.1. Les principaux types des radicaux libres 2

2.2. Sources des radicaux libres 3

2.3. Cibles des radicaux libres 4

2.3.1. Acides désoxyribonucléiques..... 4

2.3.2. Protéines..... 5

2.3.3. Lipides 5

2.4. Les maladies liées au stress oxydatif 5

3. Antioxydants 7

3.1. Définition..... 7

3.2. Classification des antioxydants 7

3.2.1. Les antioxydants non-enzymatiques..... 7

3.2.2. Les antioxydants enzymatiques 9

4. Mécanismes d'action des antioxydants 9

4.1. Système de défense primaire 10

4.2. Système de défense secondaire 10

Chapitre II : La plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

1. Présentation de la plante <i>Aster squamatus</i>	11
2. Classification.....	11
3. Répartition géographique.....	12
4. Description botanique.....	12
4.1. Plantule	12
4.2. Plante adulte	12
5. Composition chimique	13
6. Utilisation en médecine traditionnelle.....	13
7. Les effets biologiques de l' <i>Aster squamatus</i>	134

Partie II: Etude Expérimentale

Chapitre I: Matériels et Méthodes

1. Récolte de la plante	15
2. Extraction	15
3. Evaluation de l'activité Antioxydante <i>in vitro</i>	16
3.1. Test de piégeage des radicaux ABTS ⁺	16
3.1.1. Principe	16
3.1.2. Mode opératoire	16
3.2. Pouvoir réducteur du Fer	17
3.2.1. Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).....	17
3.2.1.1. Principe	17
3.2.1.2. Mode opératoire	17
3.2.2. Test de phénanthroline.....	17
3.2.2.1. Principe	17
3.2.2.2. Mode opératoire	17
4. Evaluation de l'activité anti-enzymatique	18
4.1. Activité Anti-acétylcholinestérase	18
4.1.1. Principe	18

4.1.2. Mode opératoire	18
4.2. Activité anti-Butyrylcholinestérase	19
4.2.1. Principe	19
4.2.2. Mode opératoire	19
5. Analyse statistique	19
Chapitre II : Résultats et discussion	
I. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	20
1.1. Test de piégeage du radical ABTS+	20
1.2. Test de FRAP	22
1.3. Test de phénanthroline	23
II. L'activité anti-enzymatique	24
CONCLUSION	26
Référence bibliographique :	27

Liste des figures

Figure 1. Structure chimique de β -carotène	7
Figure 2. Structure chimique de vitamine C	8
Figure 3. Structure chimique de vitamine E	8
Figure 4. Structure chimique du phénol	9
Figure 5. <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	13
Figure 6. Méthode de la macération.....	15
Figure 7. Méthode chimique d'Ellman.....	18
Figure 8. Variation de l'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations des extraits.....	21
Figure 9. Pouvoir réducteur des extraits d' <i>A.squamatus</i> et la vitamine C par la méthode du FRAP.....	22
Figure 10. Pouvoir réducteur des extraits d' <i>A. squamatus</i> et la vitamine C par la méthode du Phénanthroline.....	23
Figure 11. Activité anti- acétylcholinestérase des extraits et de galantamine.....	25

Liste des tableaux

Tableau 1. Types des radicaux libres	3
Tableau 2. Source et origine des radicaux libres	4
Tableau 3. Les principales affections liées à la production des ERO	6
Tableau 4. Activité antioxydantes des extraits et de la vitamine C	20

Liste des abréviations

ABTS = 2,2 azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique acide).

ACHE = Acétylcholinestérase

ADN = Acide Désoxyribonucléique

BCHE = Butyrylcholinestérase

DTNB = (5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid) (ELLMAN REAGENT)

EAR = Espèce Azoté Réactive

EEF = Extrait éthanolique des feuilles

EEFL = Extrait éthanolique des fleurs

EEPA = Extrait éthanolique des parties aériennes

EET = Extrait éthanolique des tiges

ERO = Espèce Réactive de l'Oxygène

FeCl₃ = Chlorure ferrique

FRAP = Ferric Reducing Antioxydant Power

MA = Maladie d'Alzheimer

O₂ = Oxygène

OH = Radical Hydroxyle

R L = Radicaux Libres

SOD = Superoxyd Dismutase

GSSG = Disulfure de glutathion

Résumé

L'*Aster squamatus* est caractérisé par plusieurs propriétés médicinales importantes en tant que plante aromatique riche en composés métaboliques secondaires. Cette recherche vise à évaluer les effets antioxydants et anti-enzymatiques des extraits éthanoliques de différentes parties (feuilles, fleurs, tiges, partie aérienne) de la plante *A. squamatus*. Les propriétés antioxydantes évaluées par les méthodes ABTS, FRAP et Phénanthroline, ont montré que les extraits possèdent une capacité de piégeage des radicaux libres et de réductions des ions ferriques. Ainsi, l'activité anti-enzymatique des extraits évaluée vis-à-vis l'acétylcholinestérase (ACHE) et de la butyrylcholinestérase (BCHE), a révélé la capacité des extraits à inhiber acétylcholinestérase et aucun effet sur l'enzyme butyrylcholinestérase.

Mots clés : *Aster squamatus*, antioxydant, acétylcholinestérase, butyrylcholinestérase.

Abstract

Aster squamatus is characterized by several important medicinal properties as an aromatic plant rich in secondary metabolic compounds. This research aims to evaluate the antioxidant and anti-enzymatic effects of ethanolic extracts from different parts (leaves, flowers, stems, aerial part) of *A. squamatus* plant. The antioxidant properties evaluated by the ABTS, FRAP and Phenanthroline methods showed that the extracts have capacity to trap free radicals and reduce ferric ions. The anti-enzymatic activity of the extracts evaluated against acetylcholinesterase (ACHE) and butyrylcholinesterase (BCHE), revealed that the capacity of the extracts to inhibit acetylcholinesterase and no effect on the enzyme butyrylcholinesterase.

Keywords : *Aster squamatus*, antioxidant, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase.

ملخص

يتميز نبات *Aster squamatus* بعدة خصائص طبية مهمة لكونه نبات عطري غني بالمركبات الأيضية الثانوية، تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثيرات المضادة للأكسدة والمضادة للإنزيمات للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء مختلفة (الأجزاء العلوية الأوراق الأزهار والسيقان) تم تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة من خلال الاختبارات التالية: ABTS، FRAP، Phénanthroline حيث أظهرت النتائج تثبيطاً مهماً للجذور الحرة وتقليل أيونات الحديد الثلاثي كما كشفت الدراسة عن قدرة المستخلصات على تثبيط أسيتيل كولينستيراز وعدم وجود أي تأثير على إنزيم البوتيريل كولينستيراز (BCHE).

الكلمات المفتاحية: استر سكواماتوس، مضادات الأكسدة، أسيتيل كولينستيراز، بيتيريل كولينستيراز

Introduction

L'utilisation des plantes médicinales par l'être humain est une pratique ancienne qui remonte à l'aube de l'humanité. Les plantes ont toujours été une source essentielle de remèdes naturels, offrant une gamme de composés chimiques aux propriétés curatives. Cette utilisation traditionnelle des plantes médicinales est profondément ancrée dans de nombreuses cultures à travers le monde, et elle continue d'être présente dans la médecine moderne **(Boissière, 2018)**.

Les plantes médicinales contiennent une grande variété de composés actifs tels que des flavonoïdes, des polyphénols, qui peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine. Ces composés peuvent agir de différentes manières, comme soulager la douleur, réduire l'inflammation, tuer les microbes ou réguler les fonctions corporelles **(Boissière, 2018)**.

C'est pourquoi ce travail vise à étudier la plante *Aster squamatus*, une plante de la région d'Oum el Bouaghi, qui est dotée de plusieurs activités biologiques.

L'objectif du présent travail est d'évaluer *in – vitro* ses propriétés biologiques.

Notre travail sera donc réparti en deux parties :

- Une partie d'étude bibliographique qui regroupe deux chapitres dont le premier concerne des informations sur le stress oxydatif et les agents anti oxydantes, et le deuxième chapitre regroupe des informations sur la plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.
- Une autre partie est consacrée à l'évaluation de l'activité antioxydante, et anti enzymatique.

Partie 1
Synthèse Bibliographique

Chapitre 1

Notion de stress oxydatif et les antioxydants

1. Stress oxydant

Le stress oxydant, nommé aussi stress oxydatif, est communément défini comme un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages cellulaires oxydatifs (Sy et al., 2018), soit par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les cellules et les tissus, et/ou un déficit des mécanismes de défense antioxydants (enzymatiques et non enzymatiques). Ceci conduit à l'endommagement irréversible des biomolécules telles que l'ADN, les protéines, et les lipides (Remmelt, 2013 ; Hussain et al., 2016 ; Meziti, 2018). Il peut être d'origine accidentelle comme un état d'inflammation, une exposition à des radiations ou à des xénobiotiques pro oxydants. Il peut être aussi d'origine génétique comme un déficit dans l'expression d'enzymes de défense antioxydants. Ce déséquilibre a pour conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Robert, 2006).

2. Les radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être définis comme des molécules ou des fragments de molécules contenant des électrons libres. La présence d'électrons inutilisés confère un degré de réactivité considérable sur un radical libre (Valko et al., 2006). La production de radicaux libres peut-être endogène. En effet la formation de radicaux libres dans l'organisme est constante et nécessaire à la vie, mais les excès dépendent des facteurs extérieurs tels que le stress, la fatigue et les exercices physiques intensifs (Bakasso, 2009). Ils sont également générées sous l'effet d'oxydants environnementaux, tels que, le tabac, la pollution, le soleil, les rayons ultra-violet, les radiations ionisantes, un effort physique intense, le stress, une mauvaise alimentation, la consommation d'alcool, les fibres d'amiante, les pesticides, etc (Afonso et al., 2007).

2.1. Les principaux types des radicaux libres

Les radicaux libres qui interviennent ont soit un électron célibataire centré sur un atome d'oxygène, ce qui leur confère la dénomination d'espèces oxygénées réactives (EOR), soit centré sur un atome d'azote, d'où l'appellation d'espèces azotées réactives (EAR) (Choteau, 2011).

Tableau 1. Types des radicaux libres (Hallwell, 1996).

	<i>Espèce radicalaire</i>	<i>Espèce non radicalaire</i>
ERO	Alkoxyde RO ⁻ Anion superoxyde O ₂ ⁻ Hydroxyle HO ₂ Peroxyde RO ₂ ⁻	Acide hypochloreux HOCl Oxygène singulet 1O ₂ Ozone O ₃ Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂
ERA	Dioxyde d'azote NO ₂ Oxyde nitrique NO ⁻	Acide nitreux HNO ₂ Acide peroxy nitreux ONOOH Alkylperoxy nitrites ROONO Cation nitronium NO ₂ ⁺ Peroxyde d'azote N ₂ O ₄ Peroxy nitrite ONOO ⁻ Trioxyde d'azote N ₂ O ₃

2.2. Sources des radicaux libres

Dans l'organisme, les radicaux libres peuvent être formés à partir des substances endogènes et exogènes (tableau 2).

Tableau 2. Source et origine des radicaux libres

Source	Origine	Reference
Production intracellulaire (endogène)	<ul style="list-style-type: none"> *NAD(P)H *Oxydase membranaire *Mitochondrie *Les cytochromes P450 *Xanthine oxydase *Métabolisme de l'acide arachidonique *Les cellules phagocytaires *Le mécanisme leucocytaire 	(Valko et al., 2006)
Production extracellulaire (exogène)	<ul style="list-style-type: none"> * Les rayonnements UV *Tabagisme, radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels, consommation d'alcool. 	(Gambini, 2013) (Mena et al., 2009)

2.3. Cibles des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales ils sont sécrétés en faibles quantités mais quand ils sont produits en grandes quantités, les radicaux libres deviennent pathologiques **(Haleng et al., 2007)**.

Les principales cibles des RL sont : acides désoxyribonucléiques, protéines, lipides, etc.

2.3.1. Acides désoxyribonucléiques

L'ADN est une molécule très sensible à l'attaque radicalaire, cette dernière peut entraîner l'oxydation des bases azotées, engendrant un grand nombre de bases modifiée, citons l'exemple de la Guanine qui réagit avec le $\text{OH}\cdot$ et en donne la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique donnant éventuellement naissance à plusieurs maladies tel que le cancer **(Davier, 2000 ; Lee et al., 2004)**.

2.3.2. Protéines

Les modifications des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les RL sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Pincemail et al., 1999**). Les acides aminés les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Les radicaux libres peuvent interagir avec différents types de protéines : celles de soutien comme le collagène (vieillesse), les protéines circulantes (transferrine, albumine) et les enzymes protéiques. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non-reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (**Haleng et al., 2007**).

2.3.3. Lipides

Les membranes cellulaires riches en acides gras polyinsaturés (AGPI : oléique, linoléique, et arachidonique), sont très sensibles à l'oxydation par les RL en déclenchant une réaction en chaîne appelé lipoperoxydation cellulaire (**Favier, 2003**).

2.4. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies (**Tableau 3**) comme facteur déclenchant ou associé à des complications (**Favier, 2003**). Il peut être associé à l'athérosclérose, l'asthme, l'arthrite, la cataractogénèse, l'hyperoxie, l'hépatite, l'attaque cardiaque, les vasospasmes, les traumatismes, les accidents vasculaires cérébraux, les pigments d'âge, les dermatites, les dommages de la rétine, les parodontites et les cancers (**Cohen et al., 2000**). Néanmoins, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (**Favier, 2003**).

Tableau 3. Les principales affections liées à la production des ERO (Meziti, 2009).

Pathologie	Références
Lésion de répercussion post-ischémique	(Zweier & Talukder, 2006)
Maladie auto-immunes	(Halliwell & Guetteridge, 1999)
Arthrite rhumatoïde	(Ahsan et al., 2003)
Maladies inflammatoires	(Dension & Afanas, 2003)
Maladies d'Alzheimer, de parkinson	(Sorg, 2004)
Emphysème	(Lechuer et al., 2001)
Diabète	(Yu ,1994)
Certains cancers	(Valko et al., 2007)
Anémie drépanocytaire	(Martinez, 1995)

Concernant les maladies les plus fréquentes la maladie d'Alzheimer (MA) qui est un trouble neurologique chronique caractérisé par des troubles de la mémoire, un dysfonctionnement cognitif, des troubles du comportement et des déficits dans les activités de la vie quotidienne. La MA s'est avérée être associée à un déficit cholinergique dans le cerveau post-mortem caractérisé par une diminution significative de la quantité d'acétylcholine. La MA est devenue un problème majeur, en particulier dans les pays développés en raison de l'augmentation de la population âgée avec une qualité de vie élevée. L'acétylcholine est un neurotransmetteur inhibé principalement par l'acétylcholinestérase (AChE) et ensuite par la Butyrylcholinestérase (BChE), considéré comme jouant un rôle dans la pathologie de la MA. Les deux enzymes sont présentes dans le cerveau et sont détectées parmi les enchevêtrements neurofibrillaires et les plaques neuritiques. Malgré l'étiologie inconnue de la MA, l'élévation de la quantité d'acétylcholine par l'inhibition de l'enzyme AChE a été acceptée comme la stratégie de traitement la plus efficace contre la MA. Par conséquent, les inhibiteurs de l'AChE et de la BChE sont devenus des alternatives remarquables dans le traitement de la MA (Orhan et al., 2004).

3. Antioxydants

3.1. Définition

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : (i) prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles décrites ci-dessus ou (ii) désactiver directement les

ROS. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres (Desmier, 2016).

3.2. Classification des antioxydants

3.2.1. Les antioxydants non-enzymatiques

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules pro-oxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition (Bensizerare & Boulakhoua, 2014). On peut citer les vitamines, dont deux présentent des effets antioxydants importants, comme les vitamines C et E (Sharifi et al., 2020).

3.2.1.1. Les vitamines

3.2.1.1.1. La vitamine A

La vitamine A est une vitamine liposoluble que l'on retrouve en grande quantité dans l'organisme surtout au niveau du foie. On distingue deux groupes, à savoir les rétinoïdes (rétinol, trétinoïne....) et les provitamines A (principalement les α - et β - carotène). Même en l'absence de liaison OH, le β -carotène est un bon antioxydant naturel. Le β -carotène peut agir comme un inhibiteur de la peroxydation lipidique uniquement à une faible pression partielle en O_2 (Higdon, 2004 ; Desmier, 2016).

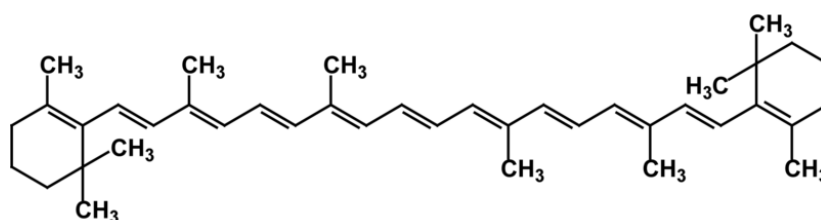
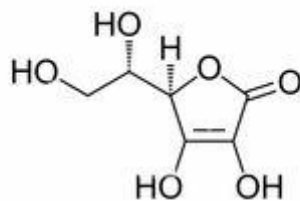
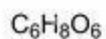


Figure 1. Structure chimique de β -carotène (Desmier, 2016).

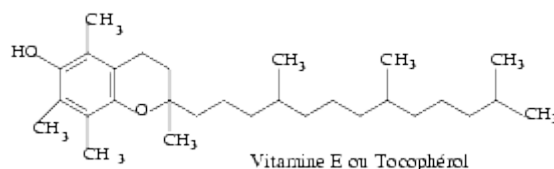
3.2.1.1.2. La vitamine C

La vitamine C ou l'acide ascorbique est soluble dans l'eau et c'est l'antioxydant naturel le plus puissant. Il piège les radicaux dans la phase aqueuse. Les aliments les plus riches en vitamine C sont les fruits comme les oranges (Fabre et al., 2015 ; Desmier, 2016).

Vitamin C
Ascorbic acid**Figure 2.** Structure chimique de la vitamine C (Dannier, 2016).

3.2.1.1.3. La vitamine E

Le terme « vitamine E » comprend deux classes sous-ensemble des tocophérols (α -, β -, γ -, ou δ -tocophérol) et des tocotrienols (α -, β -, γ -, ou δ -tocotrienol). Elle agit comme antioxydant contre les ERO (en parallèle avec la vitamine C et du glutathion) et plus particulièrement dans l'inhibition de la peroxydation lipidique. La vitamine E est retrouvée dans les huiles végétales (Desmier, 2016).



Vitamine E ou Tocophérol

Figure 3. Structure chimique de la vitamine E (Desmier, 2016).

3.2.1.2. Polyphénols

Les polyphénols, sont des composés phytochimiques polyhydroxylés qui sont synthétisés par les plantes et qui ont de nombreux avantages pour la santé humaine. Les polyphénols ont la capacité de piéger et de récupérer les radicaux libres en faisant don d'ions hydrogènes pour stabiliser les radicaux libres (Arts & Hollman, 2005).

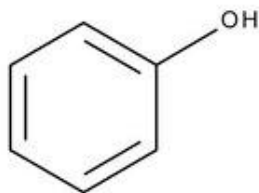


Figure 4. Structure chimique du phénol (Desmier, 2016).

3.2.2. Les antioxydants enzymatiques

L'organisme possède des enzymes qui peuvent métaboliser les ERO (Morena et al., 2002). Les plus connues sont : le superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase, la catalase

3.2.2.1. La superoxydedismutase (SOD)

Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H_2O_2) et en oxygène (Desmier, 2016).

3.2.2.2. La glutathion peroxydase

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Valko et al., 2006).

3.2.2.3. La catalase

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes elle permet de convertir deux molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 (Valko et al., 2006).

4. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

Selon leurs modes d'actions, les antioxydants sont classés en deux catégories :

-système de défense primaire

-système de défense secondaire

4.1. Système de défense primaire

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (**Favier, 2006**).

Ces enzymes antioxydants permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation des radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

4.2. Système de défense secondaire

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydants, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Dacosta, 2003**).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants *in vivo*, elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc (**Kohen & Nyska, 2002**).

Chapitre II

La plante *Aster squamatus* (Spreng.)

Hieron.

1. Présentation de la plante *Aster squamatus*

Généralité

Les Astéracées connues sous le nom de composées, sont une grande famille de plantes à fleurs comprenant plus de 23000 espèces réparties dans près de 1900 genres. Elles se distinguent souvent par leurs capitules composés de fleurs très serrées, qui donnent l'impression d'une seule fleur (Reveal, 2011).

L'*Aster squamatus* est une grande astéracée annuel d'automne, halophile. C'est une grande plante aérée à fleurs minuscules dont l'allure pyramidale est caractéristique. Cette plante d'origine américaine a été observée la première fois en Camargue en 1929 (Crad, 2007).

Le nom, *Aster squamatus*. Provient du latin. « Aster » fait référence à la forme en étoile. De ses Fleurs, tandis que « *squamatus* » signifie « écailleux », faisant allusion aux écailles, présentes sur certaines parties de la plante.

Cela pourrait faire référence aux écailles sur les tiges ou les feuilles cette nom créé par le botaniste Ivan ivanovič Martinov en 1820 (Flora of China. Éditorial Comité 2011).

Le prénom *Aster squamatus* a des noms alternatifs donnés à une même espèce de plante.

Pour *Aster squamatus*. Quelques synonymes pourraient inclure des noms utilisés précédemment ou localement pour désigner la même plante (Huxley et al., 1999).

2. Classification

Règne : Plantae

Embranchement : Angiospermae

Classe : Dicotylédonae

Sous classe : Astéridae

Ordre : Astérale

Famille : Asteraceae

Tribu : Astereae

Sous-tribu : Asterinae

Genre : *Aster*

Espèce : *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

3. Répartition géographique

Aster squamatus est une plante appartenant à la famille des Astéracées, la famille se retrouve sur tous les continents sauf l'Antarctique, c'est une plante halophile et annuelle d'automne, est originaire d'Amérique du sud, naturalisée un peu partout jusque dans les oasis du Sahara (**Quezel & Santa, 1963**).

4. Description botanique

4.1. Plantule

Cotylédons lancéolés-pointus de 10 x 3 mm, pétiolés, glabres. Feuilles primordiales ovales, entières, longuement atténuées en pétiole canaliculé, glabres. L'axe hypocotylé est assez court. Plantule d'un vert sombre (**Kazi & Thomas, 2021**).

4.2. Plante adulte

Aster squamatus est une plante annuelle à pluriannuelle. Port dressé, atteignant 30 cm à 120 cm. Tige très ramifiée surtout dans la partie supérieure, glabre ou presque, rougeâtre. Feuilles alternes, entières, sessiles, glabres, les supérieures étroitement linéaires, légèrement succulentes, les inférieures lancéolées. Inflorescence en grappe de capitules ligulés, petits, 4-6 x 7-5 mm, lilas pâle à blanchâtres, au centre jaune. Akènes fusiformes, petits, de 2-3 mm, velus à aigrette blanche plus longue qu'eux, de 5-6 mm (**Kazi & Thomas, 2021**).



Figure 5. *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. (Pascal et al., 2006).

5. Composition chimique

La littérature sur la composition chimique de la plante *Aster squamatus* indique la présence d'acides caféique, cinnamique et sinapique dans des fractions solubles d'extraits aqueux des feuilles, des tiges et des racines de cette plante. Par conséquent, une variété des flavonoïdes a été isolés des fleurs de la plante telles que : squamatine, ternatine, ramnetime, kaempférol, baicaleine, lutéoline-7-méthyletherleter et quercétine (El-Sayed & Ross, 1987 ; Sperotto et al., 2002).

6. Utilisation en médecine traditionnelle

Les asters ont été également utilisés en médecine traditionnelle chinoise pour le traitement des morsures de serpent, fièvre, rhum, angine et piqûre d'abeille (Coréa et al., 2004).

La plante médicinale *Aster squamatus* est couramment utilisée au sud du Brésil comme antinéoplasique, cicatrisant et anti diarrhéique (Meneghetti et al., 2001). Elle est utilisée aussi pour traiter la bronchite chronique, la coqueluche et la pneumonie (Lanzotti, 2005).

7. Les effets biologiques de l'*Aster squamatus*

L'effet anti-ulcérogène de l'extrait hydro-alcoolique brut des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron a été testé sur des ulcères induits par l'éthanol, l'indométhacine, le froid et le stress. Les résultats de l'étude suggèrent que l'extrait hydro-alcoolique brut des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron peut être efficace dans le traitement des lésions gastriques (Ghedini et al., 2002). Ghedini & Almeida, (2007) ont signalé que la fraction butanolique de l'extrait hydro-alcoolique brut de la partie aérienne était également efficace pour inhiber la sécrétion d'acide gastrique.

Les travaux de **(Sperotto et al., 2002)** ont suggéré que les infusions de feuilles, des tiges et des racines d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron réduit de façon significative la propulsion gastro-intestinale par rapport au contrôle (standard), alors que les extraits aqueux et éthanolique ne l'ont pas modifié.

L'effet antibactérien de l'extrait d'acétate d'éthyle et n-butanol des feuilles d'*Aster squamatus* a été aussi confirmé **(Boulechfar et al., 2014)**.

L'effet antioxydant de l'extrait éthanolique, acétonique, acétate d'éthyle et n-butanol des feuilles de l'*Aster squamatus* a été aussi étudié par **Ghedini et al. (2002)** et **Boulebrachene et al. (2021)**.

L'effet cicatrisant de l'extrait des fractions butanolique des parties aérienne de la plante *Aster squamatus* a été aussi étudié **(Ghedini & Almeida, 2007)**.

L'effet de réduction de la propulsion gastro-intestinale d'extrait aqueux et éthanolique des feuilles, tiges, et racines de l'*Aster squamatus* a été aussi confirmé par l'étude de **Sperotto et al. (2002)**.

Partie II
Etude Expérimentale

Chapitre I

Matériels et Méthodes

1. Récolte de la plante

La plante *Aster squamatus* a été récoltée de la région d'Oum el Bouaghi à la fin du mois de septembre 2019 (stade de floraison). Après séchage dans un endroit sec à l'abri des rayons solaires, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, la plante a été divisée en 3 parties (feuilles, fleurs, tiges) et partie aérienne puis les différentes parties ont été coupées en petits morceaux et broyées dans un moulin électrique puis pesées.

2. Extraction

L'extraction a été effectuée par macération selon le protocole de **Park & Ikegaki (1998)**. 20 g de poudre végétale est laissé macérer pendant 3 jours dans un mélange hydro alcoolique (Éthanol/eau) (70/30 : v/v). La macération a été répétée 4 fois jusqu'à l'épuisement du matériel végétal. Les extraits ont ensuite été filtrés par papier filtre et soumis à une évaporation dans un étuve à 37° C.

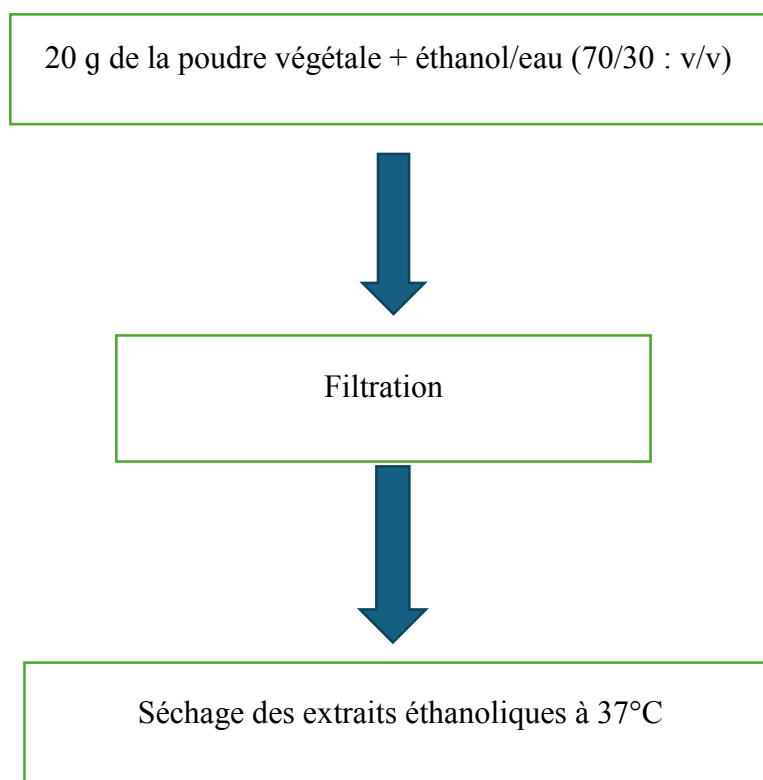


Figure 6. Méthode de la macération.

3. Evaluation de l'activité Antioxydante *in vitro*

3.1. Test de piégeage des radicaux ABTS⁺

3.1.1. Principe

L'activité anti radicalaire des extraits est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical ABTS (2,2-azino-bis. (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique acide)) Qui est utilisé comme un radical libre pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons. Ce radical cationique est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert bleu (Prouillac, 2006).

L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cationique entraîne la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante des composés testés, du temps et de la concentration (Re et al., 1999).

3.1.2. Mode opératoire

La solution ABTS⁺ été préparée en mélangeant l'ABTS avec du persulfate de potassium K₂S₂O₈ (solution aqueuse conservée durant 16 h dans l'obscurité à une température ambiante). L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à 7.00±0.020 par l'éthanol à 734 nm. Une quantité de 1 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 mL de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 6.25/12.5/25/50/100/200 µg/mL. Dans les tubes, un volume de 1600 µL de l'ABTS⁺. Est déposé dans chaque puits ensuite 400 µL des différentes concentrations de chaque solution d'extrait. Pour le blanc un volume de 400 µL de méthanol et 1600 µL d'ABTS⁺. a été mis dans les derniers tubes. Après 10 minutes à température ambiante ; le tube est lue à 734 nm.

L'activité de piégeage de l'ABTS⁺ est exprimée en pourcentage d'inhibition à l'aide de la formule suivante :

$$I \% = \frac{AC - AE}{AC} * 100$$

AC : Absorbance contrôle.

AE : Absorbance extrait.

3.2. Pouvoir réducteur du Fer

3.2.1. Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

3.2.1.1. Principe

Les substances, qui possèdent un potentiel de réduction, réagissent avec le ferricyanure de potassium ($C_6N_6FeK_3$) pour former du ferrocyanure de potassium ($C_6FeK_4N_6$), qui lui-même réagit avec le chlorure ferrique pour donner un complexe ferreux de couleur bleu cyanée, qui présente un maximum d'absorption à 700 nm (**Jayanthi & Lalitha, 2011**).

3.2.1.2. Mode opératoire

Le test FRAP a été effectué selon la méthode d'**Oyaizu (1986)** avec une légère modification. Dans une microplaque à 96 puits 10 μ L de diverses concentrations des extraits de plante sont mélangées avec 40 μ L du tampon phosphate (pH 6.6), 50 μ L potassium ferricyanide $C_6N_6FeK_3$ (1%) est alors ajouté. Ce mélange a été maintenu à 50°C dans l'étuve pendant 20 minutes. Après refroidissement, 50 μ L d'acide trichloracétique (TCA) à 10% et 40 μ L H_2O et 10 μ L de chlorure ferrique ($FeCl_3$) fraîchement préparée à 0.1% ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

3.2.2. Test de phénanthroline

3.2.2.1. Principe

La méthode de la phénanthroline était basée sur la réduction de Fe_3^+ en ion Fe_2^+ par un antioxydant. L'ion Fe_2^+ formé réagissait ensuite avec la 1,10-phénanthroline pour former un complexe rouge-orange de tri-phénanthroline qui absorbe au maximum à 508-510 nm (**Mukhopadhyay et al., 2016 ; Yefrida et al., 2018**).

3.2.2.2. Mode opératoire

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniaka** et ses collaborateurs (**2008**). Un volume 100 μ L de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 500 μ L de chlorure ferrique $FeCl_3$ 0,2%, 300 μ L de phénanthroline 0,5% puis 1100 μ L de méthanol. Après une incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C, l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Un blanc sans échantillon est préparé parallèlement dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant. La vitamine C est utilisée comme standard.

4. Evaluation de l'activité anti-enzymatique

4.1. Activité Anti-acétylcholinestérase

4.1.1. Principe

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase est déterminée par la méthode d'Ellman *et al* (1961). Le principe chimique de la réaction est présenté dans la (figure 7). L'enzyme hydrolyse le substrat acétylcholine iodé (ATCI) en thiocholine et en acide acétique. La thiocholine peut réagir avec le DTNB, et cette réaction donne naissance à une couleur jaune. L'intensité de la couleur du produit est mesurée à 412 nm et elle est proportionnelle à l'activité enzymatique. La galanthamine est utilisée comme référence.

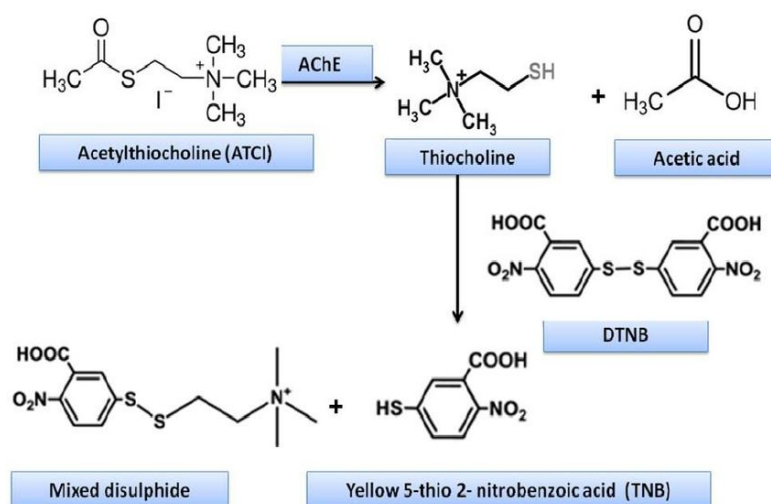


Figure 7. Méthode chimique d'Ellman (site web).

4.1.2. Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 mL de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 3.125/6.25/12.5/25/50/100/200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Dans une microplaque à 96 puits 150 μL du tampon phosphate de sodium (pH 8.0), 10 μL des extraits à différentes concentrations et 20 μL d'AChE ont été déposés. Après une incubation dans une étuve à 37°C pendant 15 min ; 10 μL réactif d'Ellman DNTB et 10 μL d'acétylcholine d'iode (substrat) ont été ajoutés. La lecture par spectrophotomètre à 412 nm permet de déterminer l'absorbance à T_0 , après une incubation dans une étuve à 37°C pendant 15 min, une deuxième lecture à 412 nm permet de noter l'absorbance à T_1 .

4.2. Activité anti-Butyrylcholinestérase

4.2.1. Principe

L'activité inhibitrice de butyrylcholinestérase est évaluée par la méthode d'Ellman et al. (1961). Dans cette réaction, l'enzyme hydrolyse le substrat butyrylcholine chlorure en thiocholine et en acide acétique. La thiocholine peut réagir avec le DTNB, et cette réaction donne naissance à une couleur jaune. L'intensité de la couleur du produit est mesurée à 412 nm et elle est proportionnelle à l'activité enzymatique. La galanthamine est utilisée comme référence.

4.2.2. Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 mL de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 3.125/6.25/12.5/25/50/100/200 µg/mL Dans une microplaque à 96 puits : 150 µL du tampon phosphate de sodium (pH 8.0), 10 µL des extraits à différentes concentrations et 20 µL BChE (enzyme Butyrylcholinestérase) ont été déposés. Après une incubation dans une étuve à 37°C pendant 15 min ; 10 µL réactif d'Ellman DNTB et 10 µL de chlorure butyrylcholine (substrat) ont été additionnés. La lecture par spectrophotomètre à 412 nm permet de déterminer l'absorbance à T_0 , après une incubation dans une étuve à 37 °C pendant 15 min, une deuxième lecture à la même longueur permet de noter l'absorbance à T_1 .

5. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été faites en triples et les résultats sont exprimés en moyenne \pm écartype. Les résultats sont analysés par une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie d'un test de Tukey à l'aide de Graph Pad Prism (version 6.0.1). Les résultats sont considérés comme significativement différentes à $p < 0.05$.

Chapitre II

Résultats et discussion

I. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

Pour évaluer avec précision l'activité antioxydante, une seule méthode n'est pas suffisante car de nombreux facteurs peuvent affecter l'évaluation. Il est nécessaire de prendre plus d'une mesure et également de prendre en compte les différents mécanismes de l'activité antioxydante (**Kukrić et al., 2012**). Pour cela, trois tests (ABTS ; FRAP ; Phénanthroline) ont été utilisés dans notre étude et dans lesquels le pouvoir antioxydant des extraits de l'*A.squamatus* est comparé à la molécule de référence (vitamine C).

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par le calcul de la valeur IC₅₀ qui indique la concentration nécessaire de l'extrait qui inhibe 50% des radicaux libres. Il est noté que les valeurs d'IC₅₀, qui font référence à la plus petite concentration d'antioxydants nécessaire pour 50 % de réactivité, ont été calculées. L'efficacité des propriétés antioxydantes est inversement corrélée avec leurs valeurs IC₅₀ (µg/ml). Une valeur IC₅₀ inférieure indique une activité plus élevée.

Les résultats obtenus dans notre étude sont présentés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : activité antioxydantes des extraits et de la vitamine C.

Extraits	ABTS IC ₅₀ (µg/mL)	FRAP A _{0,50} (µg/mL)	Phénanthroline A _{0,50} (µg/mL)
EEPA	45,30±0,14 ^b	117,25±5,49 ^{b, c}	29,63±0,16 ^c
EEFL	71,48±1,85 ^c	42,28±13,20 ^{a, b}	30,33±0,04 ^d
EEF	76,96±1,83 ^c	83,50±6,44 ^{b, c}	28,44±5,95 ^d
EET	>200	159,77±46,52 ^c	21,76±0,04 ^b
Vitamine C	9,84±0,05 ^a	6,77±1,15 ^a	2.72±0.06 ^a

1.1. Test de piégeage du radical ABTS⁺

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al., (1999)**. L'activité totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS⁺. L'ajout de l'extrait ou de la vitamine C, entraîne une décoloration de la solution indiquant l'existence d'une activité antioxydante des échantillons. La disparition de la coloration bleue est proportionnelle à la capacité d'inhiber le radical ABTS⁺.

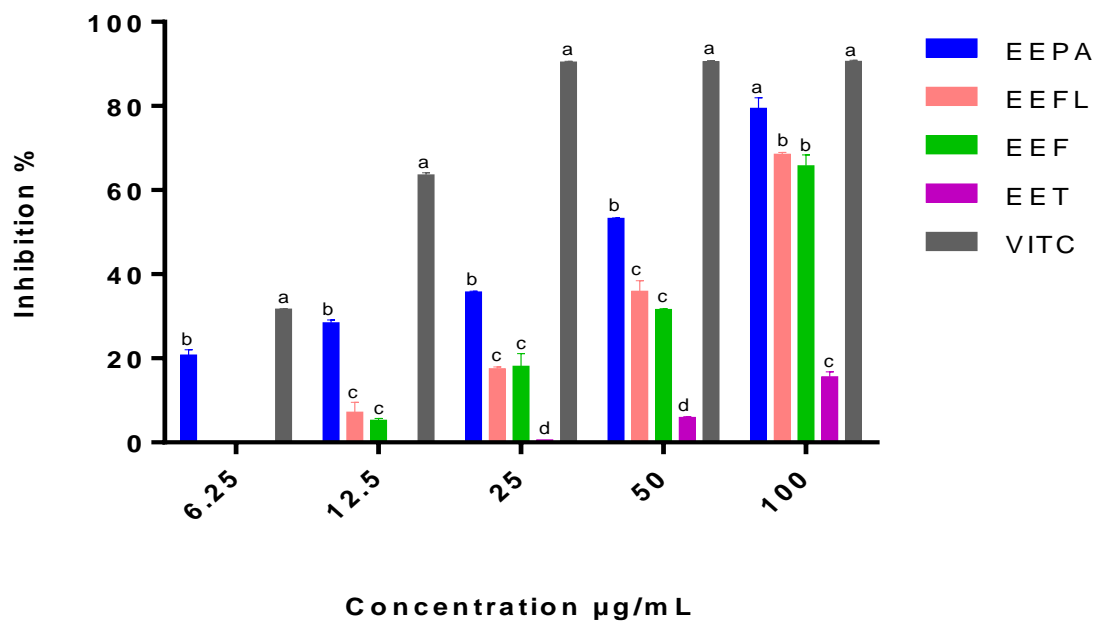


Figure 8. Variation de l'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations des extraits.

L'efficacité des extraits à inhiber le cation $ABTS^+$ peut être classée selon leur IC_{50} dans l'ordre suivant : $EET < EEF < EEFL < EEPA < Vitamine\ C$ (**tableau 04**). D'après l'histogramme (**figure 8**), on remarque que la capacité de piégeage du radical libre $ABTS^+$ est variable entre les extraits. A une concentration de 100 $\mu g/mL$, il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre EEPA, EEFL et EET. Par contre, il n'existe pas une différence significative ($p > 0,05$) entre l'EEFL et EEF.

L'EEPA a montré l'activité la plus puissante avec une IC_{50} de $45,30 \pm 0,14 \mu g/mL$ parmi les extraits de la plante *A. squamatus* et ceci peut-être s'expliquer par sa forte teneur en composés bioactifs. Ce résultat est en agrément avec les travaux de **Boumediene et al. (2023)** qui ont indiqué la richesse de la partie aérienne en composés phénoliques et flavonoidiques. Cependant, aucun extrait n'a montré une activité mieux que la Vitamine C ($IC_{50} = 9,84 \pm 0,05 \mu g/mL$).

Nos résultats sont supérieurs à ceux de **Choi et al. (2020)** qui ont montré que l'extrait éthanolique de l'espèce *A. scaber* a exercé une activité de piégeage des radicaux $ABTS^+$ de 8,87% à 18,42% pour des concentrations allant de 0,1 à 1 mg/mL . **Seo & Kim (2019)** ont étudié l'activité antioxydante d'*A. glehni* et ont montré que les extraits d'acétate d'éthyle, butanolique et méthanolique ont une activité de piégeage du radical $ABTS^+$ supérieur à 50%.

1.2. Test de FRAP

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction de fer est une méthode facile et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs (Li et al., 2007). L'acide ascorbique est un puissant antioxydant, il est utilisé comme témoin. Pour tous les extraits, des dilutions en cascade allant de 3,125 à 200 µg/mL, sont préparées et les pouvoirs réducteurs sont mesurés à 700 nm.

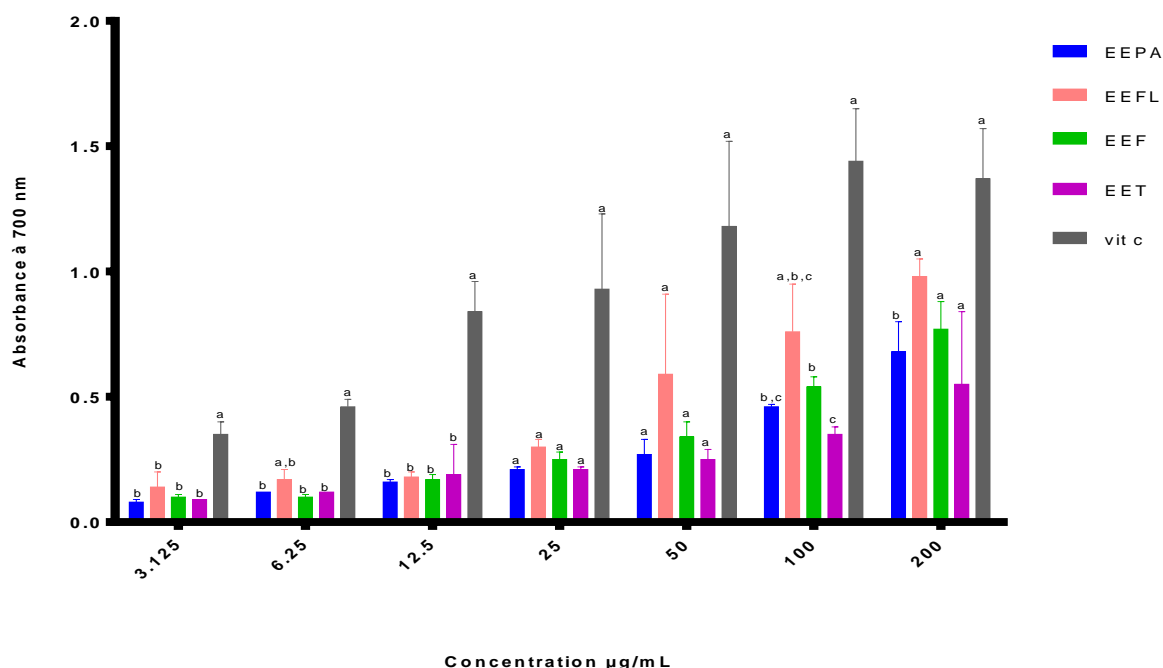


Figure 9. Pouvoir réducteur des extraits d'*A.squamatus* et la vitamine C par la méthode du FRAP.

La capacité des extraits à réduire les ions ferriques peut être classé selon leur $A_{0,50}$ dans l'ordre suivant : Vitamine C > EEFL > EEF > EEPA > EET (tableau 4). D'après l'histogramme (figure 9), on remarque qu'à une concentration de 100 µg/mL, il n'existe pas une différence significative entre le standard (vitamine C) et EEFL, EET et EEF. Par contre, il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre l'activité de EEPA et les autres extraits.

En général, tous les extraits étaient capable de réduire les ions ferriques en ions ferreux dont le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par l'EEFL avec une valeur de $A_{0,50} = 42,28 \pm 13,20$ µg/mL. Cependant, cette valeur est six fois plus supérieur à celle de la vitamine C ($A_{0,50} = 6,77 \pm 1,15$ µg/mL).

Une étude faite par **Jamei & Anvari (2018)** sur les extraits de la plante *A. absinthium* ont montré un pouvoir réducteur de l'ordre de $1.09 \pm 0.20 \mu\text{mol Fe (II)}/100\text{g}$ pour l'extrait des fleurs et de $0.87 \pm 0.18 \mu\text{mol}$ pour l'extrait des feuilles.

L'étude de **Hamza et al. (2018)** sur l'espèce du genre *Erodium glaucophyllum*, une plante de la famille Astéracée, a révélé un pouvoir réducteur de valeur égale à $14.98 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$, ce qui est meilleur que celle enregistré dans notre étude.

En général, le potentiel réducteur des extraits végétaux est lié à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres afin de donner des produits plus stables (**Ferreria et al., 2006**), ce qui explique le pouvoir réducteur de nos extraits riches en composés phénoliques.

1.3. Test de phénanthroline

La méthode phénanthroline est une méthode appliquée pour mesurer la capacité antioxydante totale des antioxydants. Cette méthode est basée sur la réduction de Fe^{+3} par un agent antioxydant pour donner l'ion Fe^{+2} qui ensuite réagit avec la phénanthroline pour donner un complexe de couleur rouge orangé, et qui absorbe à 510 nm (**Szydłowska et al., 2008**). L'augmentation de la coloration rouge-orangée indique un pouvoir réducteur élevé.

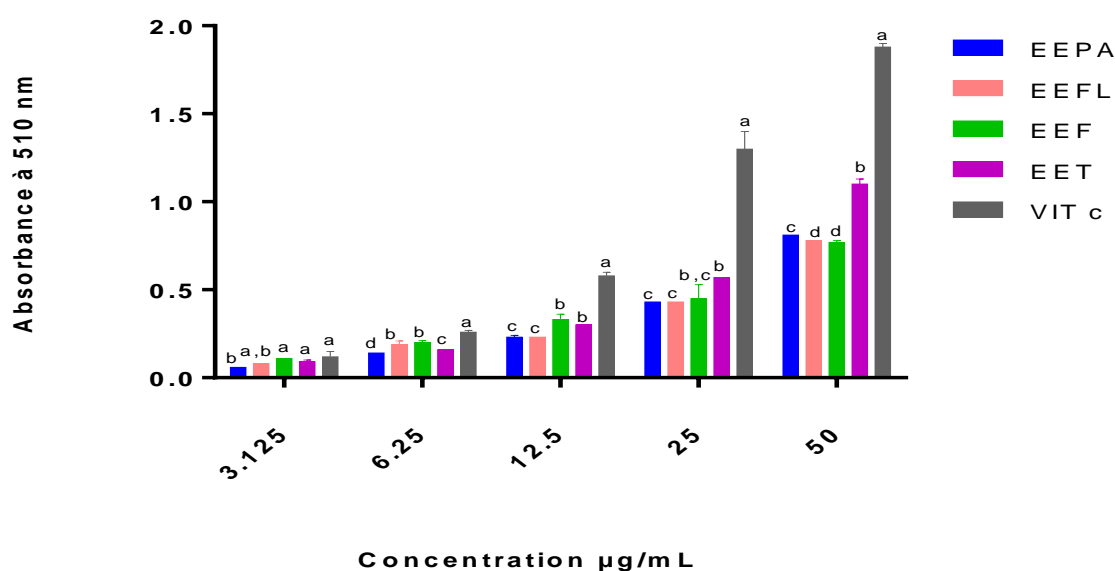


Figure 10. Pouvoir réducteur des extraits d'*A. squamatus* et la vitamine C par la méthode du Phénanthroline.

D'après l'histogramme (**figure 10**), on remarque que tous les extraits étaient capables de réduire les ions de fer d'une manière concentration dépendante. Cela implique que les extraits contiennent des composants donneurs d'électrons.

Nous avons remarqué qu'à une concentration de 50 µg/mL, il existe une différence significative entre vitamine C et les autres extraits, et que la capacité de réduction du fer est variable entre les extraits mais cette variabilité est non significative entre EEFL, EEF et EEPA. Par contre, il existe une différence significative entre l'EET et les autres extraits.

Les résultats ont aussi montré qu'EET est l'extrait le plus actif parmi les extraits de la plante, dont il a présenté une valeur $A_{0.50}$ de $21,76 \pm 0,02$ µg/mL (**tableau 4**). Mais elle est incomparable à celle de la vitamine C ($A_{0.50} = 2,72 \pm 0,06$ µg/mL).

Il est indiqué dans la littérature que les plantes de la famille Astéraceae possèdent des pouvoirs réducteurs. Parmi les peu de travaux réalisés sur les espèces de la famille Astéracée, l'étude de **Boudjelal & Zerzaihi (2019)** a révélé que les extraits buthanolique et d'acétate d'éthyle d'*Artemisia compestris* possède un effet réducteur ($0,390$ et $0,93 \pm 0,07$ µg/mL, respectivement). **Boutiti & Zellagui (2019)** ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle de la plante *Artemisia judaica* a exercé un pouvoir réducteur fort avec une $A_{0.50} = 0,65 \pm 0,01$ à la concentration 50 µg/mL.

II. L'activité anti-enzymatique

La capacité des extraits de la plante *A. squamatus* à inhiber les enzymes de la famille des cholinestérases (Acétylcholinestérase et Butyrylcholinestérase), enzymes clés dans la maladie d'Alzheimer, a été évaluée *in vitro*. Galantamine a été utilisé comme standard.

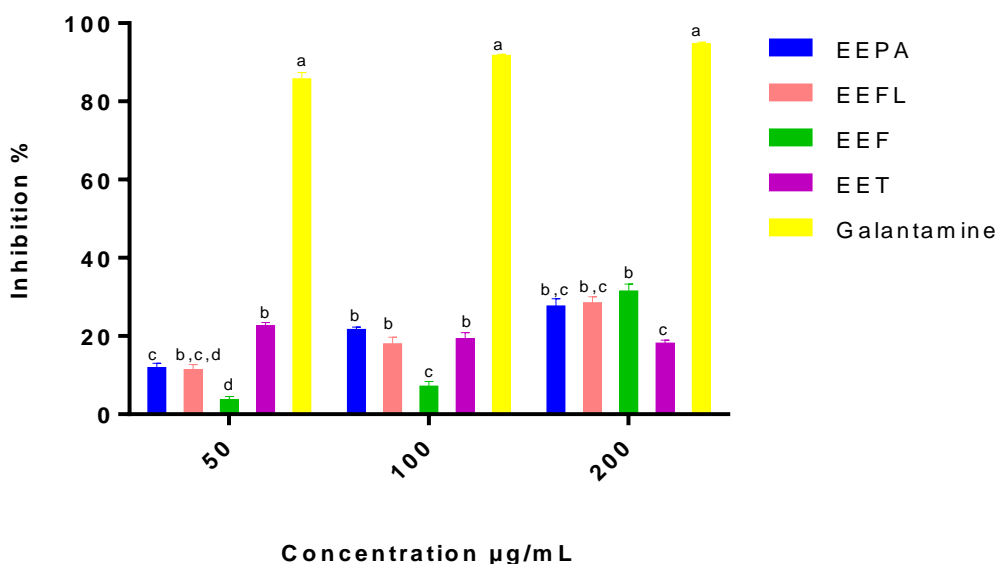


Figure 11. Activité anti-acétylcholinestérase des extraits et de galantamine.

Tous les extraits (EEPA, EEF, EEFL et EET) étaient capables d'inhiber l'enzyme Acetylcholinestérase. Cependant, les extraits ont présenté des pourcentages d'inhibition très faibles (inférieures à 50%) à des concentrations de 200 µg/mL. Ces valeurs obtenues sont incomparables au standard car ce dernier a présenté un pourcentage de $94,77 \pm 0,34$ % à la même concentration. Par ailleurs, tous les extraits testés étaient incapables d'inhiber l'enzyme butyrylcholinestérase.

Dans ce test, étaient capable d'inhiber l'acétylcholinestérase, mais incapable d'inhiber la butyrylcholinestérase. Cela explique que les composés actifs qui inhibent la butyrylcholinestérase ne sont pas les mêmes que ceux qui inhibent l'acétylcholinestérase.

Il est important de signaler qu'aucun travail portant sur ce test a été fait ni chez l'espèce *A. squamatus* ni chez le genre *Aster*.

CONCLUSION

CONCLUSION

Notre travail porte sur l'étude de l'espèce *A.squamatus* qui appartient à la famille des Astéracées, l'une des familles les plus importantes dans la région méditerranéenne, et la plus utilisée dans la médecine traditionnelle. Notre étude a été réalisée pour évaluer le potentiel antioxydant et anti-enzymatique de différents extraits de la plante *Aster squamatus* de la région d'Oum el Bouaghi.

L'activité antioxydante a été évaluée par les méthodes ABTS, le pouvoir réducteur (FRAP) et phénanthroline. Les résultats obtenus nous amènent à conclure que cette plante est une source potentielle des antioxydants. C'est une source naturelle qui a prouvé son utilisation traditionnelle dans de nombreux soins des maladies associées aux stress oxydatif.

Ainsi, l'activité anti enzymatique *in vitro* des extraits évaluée vis-à-vis deux enzymes Acétylcholinestérase et Butyrylcholinestérase, a révélé que la plante contient des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, une enzyme clé de la maladie d'Alzheimer.

Partant de ces résultats, il est nécessaire de :

- Établir d'autres tests *in vitro* pour confirmer le pouvoir antioxydant, et anti-enzymatique.
- Établir des tests *in vivo* pour confirmer l'efficacité de cette dernière, afin de l'utiliser pour l'intérêt de la santé humaine.

Références bibliographiques :

A

Ahsan H, Ali A, Ali R. (2003). Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and Experimental Immunology*, 131(3):398-404.

Afonso V, Champy R, Mitrovic D, et al. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74 (4):324-9.

Anderberg A, Baldwin B, Bayer R et al. (2007). Compositae. In : Kadereit JW, Jeffrey C, eds. The families and genera of vascular plants. Volume VIII. Flowering plants. Eudicots. Asterales. Berlin : Springer.

Ardestani A, Yazdan R. (2007). Antioxidant and free radical, 10 (04).

Arts I, Hollman P. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81 (1) : 317S-325S.

B

Bakasso S. (2009). Études phytochimiques et potentialités biologiques de cinq espèces d'*Indigofera* (fabaceae) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso. Thèse de Doctorat. Université d'Ouagadougou.

Bensizerare A, Boulakhoua A. (2014). Dosage des polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante d'une plante médicinale : *Cucurbita pepo*. 35. Université d'O.E.B.

Boissière M. (2018). Consommation des plantes médicinales par les patients suivis en cabinet de médecine générale à La Réunion : expériences, représentations et ressentis des patients dans le cadre de la communication médecin-patient. Thèse pour l'Obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine. Université de Bordeaux.

Boulebrachene I, Chelli N, Souames A. (2021). Etude in-vitro des activités antioxydante et photoprotectrice des feuilles de la plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. Mémoire Master II en Biochimie Appliquée. Université de 20 Aout 1955 Skikda.

Boulechfar S, Zellagui A, Gherraf N. (2014). Total phenolic and flavonoid content and in vitro antioxidant and antibacterial activity of *Aster squamatus* Hier. Leaves extracts. *Der Pharmacia Lettre*, 6 (5) : 112-115.

Boutiti K, Zellagui O. (2019). Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale *Artemisia judaica*. Mémoire de Master, Université Frères Mentouri Constantine 1. Constantine.

Boudjelal K, Zerzaihi O. (2019). Etude de l'activité antioxydante de l'espèce *Artemisia campestris* de la région désertique méridional (Tassili /Hoggar). Mémoire de Master, Université Frères Mentouri Constantine 1. Constantine.

C

Cohen J, Kristal A, Stanford J. (2000). Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 92 :61-68.

Corea G, Ioizzi M, Lanzotti V, et al. (2004). *Astersedifolioside A-C* three new oleanane-type saponins with antiproliferative activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12, 4909-4915.

Choteau-Mary FC, (2011). Développement de nouveaux agents anti-radicalaires de type nitroxyde et nitrone utilisables comme sondes et agents thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon.

D

Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

Dai J, Mumper R. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352 <https://doi.org/10.3390/molecules15107313> .

Davier K. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, 50: 279–289.

Densiov E, Afanas'ev I. (2005). IN : Oxydation and antioxydants in organic chemistry and biology. Eds : Taylor & Francis Group (U.S.A). p 703-861.

Desmier T. (2016). Les antioxydants de nos jours : Définition et applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie. Université de Limoges.

E

- Ebadi M.** (2001). Antioxydants et radicaux libres dans la santé et la maladie : introduction aux espèces réactives de l'oxygène, aux lésions oxydatives, à la mort des cellules neuronales et à la thérapie dans les maladies neurodégénératives. Arizona : Presse de premier plan ; 2001.
- Ellman G, Courtney K, Andres V, Featherston R.** (1961). A new and rapid colorometric détermination of acétylcholinestérase activity. *Biochem. Pharmacol* ; 62(3) : 195-204.
- El-Sayed H, Ross A.** (1987). *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*.

F

- Fabre G, Bayach I, Berka K, et al.** (2015). Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. *Chemical communications*, 51 (36).
- Favier A.** (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* (11/12) : 108-115.
- Ferreria A, Proenca C, Serralheiro L, Aranho M.** (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(1):31-7.
- Flora of China Editorial Committee.** (2011). *Flora of China* (Vol. 20-21). Science Press/Missouri Botanical Garden Press.

G

- Gambini D.** (2013). Effets indésirables des rayons X. *EM-Consulte*. <https://www.em-consulte.com/article/845001/effets-indesirables-des-rayonsx>.
- Ghedini P, Almeida C.** (2007). Butanolic Extract of *Aster squamatus* Aerial parts is the active fraction responsible to the antiulcer and gastric acid antisecretory effects. *Latin American journal of pharmacy*, 26.
- Ghedini P, Almeida C, Burger M, et al.** (2002). Preliminary studies of anti-Ulcerogenic Effect of *Aster squamatus* leaves Hydroalcoholic Extract on various Ulcer Models in Rats. *Acta Farmaceutica*, 21.

H

Haleng J, Pincemail J, Defraigne J, et al. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62 (10) : 628-638.

Halliwell B, Gutteridge J. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford (fourth edition).

Halliwell B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annual review of nutrition*, 16(1).

Hamza G, Emna B, Yeddes W, et al. (2018) Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities data of three plants from Tunisia region : *Erodium glaucophyllum*, *Erodium hirtum* and *Erodium guttatum*. *Data in Brief*, 19, 2352-2355. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.07.005>.

Higdon J. (2004). Antioxydant vitamins and Health : Cardiovascular Disease, Cancer, Cataracts and Aging by Claude Fernand Bourgeois, 2003, 306 pages, hardcover, \$72. NHB Publishing, New York. *Am J Clin Nutr*, 80 (1) : 239-239.

Hussain T, Tan B, Yin Y, et al. (2016). Oxidative Stress and Inflammation : What Polyphenols Can Do for Us ? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. doi: 10.1155/2016/7432797.

Huxley A, Griffiths M, Levy. (1999). *The New Royal Horticultural Society Dictionary of Gardening*. Macmillan.

J

Jamei R, Anvari D. (2018). Evaluation of Antioxidant Capacity and Phenolic content in Ethanolic Extracts of Leaves and Flowers of some Asteraceae Species. Urmia University, Iran.

Jayanthi P, Lalitha P. (2011). Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(3):126-128.

K

Kazi C, Grard P, Bourgeois T. (2021). "AdvenAlg 1.0 Identification et connaissance des principales adventices d'Algérie méditerranéenne." *Al Yasmina, Revue de Botanique*, 2(3): 1-187.

Références Bibliographiques

Kohen R, Nyska A. (2002). Revue invitée : Oxydation des systèmes biologiques : phénomènes de stress oxydatif, antioxydants, réactions redox et méthodes pour leur quantification. *Pathologie toxicologique*, 30, 620-650.

L

Le J, Koo N, Min D. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3: 21-33.

Lehucher-Michel M, Lesgards J, Delubac O, et al. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale*, 30.

Li H, Cheng K, Wong C, et al. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102(3) : 771-776.

M

Maksimović Z. (2008). In vitro antioxidant activity of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L., Asteraceae) herb. *Industrial Crops and Products*, 28(3) : 356-360.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.04.001>.

Martínez-Cayuela M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77 (3) : 147-161.

Mena S, Ortega A, Estrela J. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2).

Meziti A. (2009). Activité Antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Étude *in vitro* et *in vivo*. Mémoire de Magistère en Biochimie Appliquée. Université El-Haj Lakhdar Batna.

Mukhopadhyay D, Dasgupta D, Roy, et al. (2016). A Sensitive In vitro Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10-Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants*. 6(1).

Meziti H. (2018). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L. Mémoire de Magister En Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbas –Setif.

Morena M, Martin-Mateo M, Cristol J, Canoud B. (2002). Stress oxydant, hémocompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23 (5) : 201 – 208.

O

Orhan I, Şener B, Choudhary M, Khalid A. (2004). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1), <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.11.016>.

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

P

Park Y, Ikegaki M. (1998). Preparation of water and ethanolic extracts of propolis and evaluation of the preparations. *Biosci biotech*, 62(11) : 2230-2232.

Pascal M, Alain C, Estelle D, Fanny G. (2006). *Plantes des rizières de Camargue. Le parc naturel régional de la camargue* : CIRAD-CFR, 266 p. (Guide pratique : Quae) ISBN 2-87614-621-5.

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraign J. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaissaux, Coeur, Poumons*, 4, 1 – 7.

Prouillac C. (2009). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III.

Q

Quezel P, Santa S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. Tome I, pp. 925, 956- 957.

R

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. (1999). Antioxydant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay *Free Radical Biology and Medicine* 26(9-10) :1231-7.

Remmelt V. (2013). Evaluation du pouvoir anti-oxydant des aliments : recherche de leurs effets modulateurs sur le stress oxydant dans le cas du diabète. Thèse de Doctorat en Chimie/Chimie analytique. Université de Strasbourg. France.

Références Bibliographiques

Reveal J. (2011). Indices Nominum Supragenericorum Plantarum Vascularium. Smithsonian Institution. <http://www.plantsystematics.org/reveal/pbio/fam/allspgnames.html>

Robert B. (2006). Stress oxydant et vieillissement. médecine/sciences, 22(3). <https://doi.org/10.1051/medsci/2006223266>.

S

Sharifi-Rad M, Anil K, Zucca P, et al. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants : back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.

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

Sperotto J, Bialeski N, Savegnago L, et al. (2002). Effect on Gastrointestinal Propulsion and preliminary phytochemical analysis of *Aster Squamatus* (Asteraceae). *Acta Farm. Bonaerense*, 21 (4).

Stevens P. (2012). Angiosperm phylogeny website. Available. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb>. Version 12. Retrieved 26 February 2014.

Szydłowska-Czerniaka A, Dianoczki C, Recseg K, et al. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* ;76:

Sy A, Diorfall A, Ndiaye M, et al. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera Lam.* (Moringaceae) du Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4) :1816.

T

Touafek O. (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud Algérien. Thèse de Doctorat. Université de Constantine.

V

Valko M, Izakovic M, Mazur C, et al. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266(1-2).

Valko M, Rhodes C, Moncol J, et al. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160.

W

Références Bibliographiques

Woodruff-Pak D, Vogel R, Wenk G. (2001). Galantamine : effect on nicotinic receptor binding, acetylcholinesterase inhibition, and learning. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 98 (4), pp 2089- 2094.

Y

Yefrida, Suyani H, Alif A, Efdi M, Hermansyah A. (2018). Modification of phenanthroline method to determine antioxidant content in tropical fruits methanolic extract. Research Journal of Chemistry and Environment, 22(4) : 28-35.

Yu BP. (1994). Cellular defences against damage from reactive oxygen species. Physiopathological Reviews, 74(1) :139-62.

Z

Zweier J, Talukder M. (2006). The role of oxidants and free radicals in reperfusion Injury. Cardiovascular Research, 70(2) :181-90.

Site web <https://www.researchgate.net/figure/chemical-mechanisme-of-Ellmans> .