

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 أوت 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
Option: Biochimie Appliquée

Intitulé

**Etude du potentiel antioxydant des fractions phénoliques de la plante *Aster squamatus*
(Spreng.) Hieron.**

Présenter par :

DIB Rania GHEDIED Khadidja KHOUDER Yousra MORDJAH Rima

Membre de jury :

**Dr.DJERROU Z. (Prof) Président Université du 20 Août 1955 –
Skikda**

**M^{elle}. BOULECHFAR S. Directrice de mémoire Université du 20 Août 1955 –
(MAA) Skikda**

**M^{me} BENZAZIA. S Examinatrice Université du 20 Août 1955 –
(MCB) Skikda**

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

*Nous adressons nos plus vifs remerciements et notre profond respect à notre chère promotrice **M^{lle} Boulechfar S**, d'avoir accepté de nous encadrer, pour sa prise en charge, son temps, sa disponibilité et sa patience, pour nous avoir accordé sa confiance et pour nous avoir guidé dans ce travail tout au long de ce semestre et ses conseils, merci pour votre gentillesse, soutien à tous les instants et surtout merci pour vos qualités scientifiques et humaines.*

*Nous remercions sincèrement notre jury **Mr Djerrou Z** et **Mme Benzazia S** pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de présider et d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements vont également au Chef de spécialité Biochimie Appliqué **Mr Basli A**.*

*Nos remerciements s'adressent également au Chef de Département des SNV **Mr Boudjellab Z**.*

Nous tenons à remercier de tout cœur nos familles spécialement nos chères parents pour leur soutien sans faille et permanent qui a été essentiel tout au long de nos études, et tout particulièrement au cours de ce travail.

Nos remerciements les plus chaleureux vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*Celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que
la volonté fait toujours les grands hommes et femmes*

« mon Père » ;

*Celle qui a attendu avec patience le fruit de sa bonne
éducation*

« Ma Mère » ;

Mes frères « Abd Elwaheb et Yahia » ;

Ma très chère sœur « Zineb » ;

Toute ma famille « Ghedied et Boussebsi »

*Mes collègue de travail « Rima, Rania et Yousra » et leurs
familles ;*

Toutes mes amies surtout « Rayen, Rima, Sara »

*Tous les gens qui m'aiment : « Marwa, Rimah, Monia,
Hadjer, khadidja, Lamia, Amira, Oumaima »*

KHADIDJA

Dédicaces

Je tiens au premier lieu à remercier Dieu de m'avoir créée en bonne image, de m'avoir accordé sa bénédiction, de m'avoir permis d'être là où je suis aujourd'hui et de m'avoir offert la patience nécessaire pour traverser tous les moments difficiles et résoudre tous les problèmes que j'ai eus.

A ma chère mère,

Qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'études, en effet, vous êtes pour moi une source intarissable d'affection et de tendresse, un exemple de courage et de persévérance et d'honnêteté dans l'accomplissement du travail bien fait. Vous m'avez pris le sens de l'honneur, de la dignité et de la justice. Puisse ce travail m'offrir l'occasion de me rendre digne de tes conseils.

Merci maman pour tout ce que vous avez fait pour nous.

A mon cher père,

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer à jeter valeur mon estime, mon dévouement, mon respect, ma considération et ma reconnaissance pour la patience et les innombrables Sacrifices que tu as consentis pour mon instruction, mon soutien et mon bien-être.

A mon frère, mes chères sœurs,

Vous ne le savez peut-être pas, mais vous êtes le soutien fort invisible dans ma vie et mon cœur qui bat au fond de moi. Puisse Dieu, le tout-puissant, vous préserver et vous accorder santé et bonheur.

A mes aimables amies et collègues d'étude, Hanane, Imane, Khadija et Souad.

Sans oublier le trio Khadija, Yousra, et Rania pour leur patience

Rima

Dédicaces

Je tiens à remercier en premier lieu dieu tout puissant de m'avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon cher père **Mohammed**.*

*A ma chère mère **Guemra** pour son amour, et qu'elle m'a toujours accordé en témoignage de ma reconnaissance envers sa confiance, ses sacrifices et sa tendresse.*

*A mon soutien moral et source de ma joie et de mon bonheur, mon fiancé **Walid** qui n'ont pas cessé de me conseiller et encourager tout au long de mes études, je te souhaite un avenir plein de bonheur et de réussite.*

*A mes chères sœurs : **Sihem** et son mari **Zohir**, **Karima** et son mari **Hichem**, **Khaoula** et son fiancé **Housseem**, et ma petite sœur **Dalal** pour leur soutien et leur aide.*

*A mes adorables frères, **Adel** et son femme **Hayet**, **Khaled** et son femme **Ahlem**, et mon cher frère **Amar**. Qui m'avez toujours, soutenir et encouragé durant ces années d'études.*

*A mes neveux, **Mohammed Abderrahman**, **Adem**, **Abd-El-Hakim**, **Anes**, le petit **yahia**, et mes nièces **Israa**, **Seujoud**, et **Nardjes**.*

*A mon grand-père **Hocine** et ma grand-mère **Mebarka**.*

*A toute la famille **Khouder** et **Baiker** mes oncles et tantes, cousines et cousins.*

*A tous mes amies surtout **Maroua**, **Cheim**, **Soumia**, **Wissem**, **Ahlem** et **Nassima**.*

*Sans oublier le trio **Khadija**, **Rima**, et **Rania** pour leur patience et leur compréhension tout au long de ce travail.*

Yousra

Dédicace

J'adresse mes sincères remerciements à mes collègues pour tous les efforts et pour chaque sacrifice à compléter le sujet de notre étude dans ses différents aspects. Mordjah rima et Ghedied khadidja et Khouder yousra.

*Je dédie également ce fruit de mes efforts aux êtres les plus chers et les plus chers à mon père et ma mère **Dib rachid** et **Messifat Fatiha**.*

*Et à mes sœurs, que Dieu les protège Qui m'ont soutenu dans ma vie et mon parcours universitaire **Dib Wissem**, **Dib Imen**, **Dib sara**, **Dib Khawla** et mon petit frère **Dib Mohamed Ilyes**.*

*Je dédie mes remerciements au peuple du Yémen et à leur chèvre dans mon cœur **Hamid Alsayadi** et **khouloud Alsayadi** et mon oncle **ali Alsayadi** et ma tente.*

Je dis merci beaucoup pour tout ce que vous me donné.

Rania

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

Introduction.....1

Première partie: Synthèse Bibliographique

Chapitre I: le stress oxydatif

I. Stress oxydatif.....2

I.1.Généralités.....2

I.2. Les radicaux libres (RL)2

I.3. Définition des antioxydants.....2

I.4. Classification des antioxydants.....3

I.4.1. Les antioxydants enzymatiques.....3

I.4.1.1.Superoxyde dismutase (SOD).....3

I.4.1.2. Catalase4

I.4.1.3. Glutathion peroxydase4

I.4.2. Les antioxydants non enzymatiques4

I.4.2.1. Vitamine E.....4

I.4.2.2. Vitamine C.....5

I.4.2.3. Les polyphénols.....5

I.4.2.4. Flavonoïdes6

I.4.2.5. β carotene.....7

I.4.2.6. Glutathion.....7

I.5.Mécanismes d'actions.....7

I.6. Pathologies liée au stress oxydatif.....10

Chapitre II: La plante Aster squamatus (sperng) Hieron

II. La plante médicinale sélectionnée.....11

II.1. Généralités.....11

II.2. La plante *Aster squamatus (sperng) Hieron*.....11

| | |
|---|----|
| II.2.1. Le genre <i>Aster</i> | 11 |
| II.2.2. L'espèce <i>Aster squamatus</i> (sperng) Hieron | 12 |
| II.2.2.1. Classification..... | 12 |
| II.3. Description botanique et aire géographique..... | 13 |
| II.4. La composition chimique..... | 13 |
| II.5. Les propriétés biologiques..... | 13 |

Deuxième partie: Etude expérimentale

Chapitre I: Matériel et Méthodes

| | |
|---|----|
| I. Etude phytochimique..... | 15 |
| I.1. Récolte du matériel végétal..... | 15 |
| I.2. L'extraction liquide-liquide | 15 |
| I.3. Analyse quantitative des extraits des feuilles d' <i>Aster squamatus</i> | 17 |
| I.3.1. Dosage des polyphénols totaux des extraits..... | 17 |
| I.3.2. Dosage des flavonoïdes..... | 17 |
| II. Etude de l'activité antioxydante | 18 |
| II.1. Test au DPPH..... | 18 |
| III. Analyse statistique | 19 |

Chapitre II: Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| I. Etude phytochimique..... | 20 |
| I.1. Teneur en composées phénoliques..... | 20 |
| I.2. Teneur en flavonoïdes..... | 22 |
| II. Etude de l'activité antioxydante..... | 23 |

| | |
|-------------------------|----|
| Conclusion | 26 |
|-------------------------|----|

| | |
|--|----|
| Références bibliographiques | 27 |
|--|----|

Résumés

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|-----------|
| Figure 01 : Equilibre entre les oxydants et les antioxydants (état physiologique)... | 03 |
| Figure 02 : Structure de la vitamine E..... | 05 |
| Figure 03 : Structure de la vitamine C..... | 05 |
| Figure 04 : Structure du simple phénol..... | 06 |
| Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes..... | 06 |
| Figure 06 : Structure de β -carotène..... | 07 |
| Figure 07 : <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron..... | 12 |
| Figure 08 : Schéma de l'extraction des feuilles de l'espèce <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron..... | 16 |
| Figure 09 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique... .. | 20 |
| Figure 10 : Teneur en composés phénoliques des extraits de la plante <i>Aster</i> <i>Squamatus</i> | 21 |
| Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine..... | 22 |
| Figure 12 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits de la plante <i>Aster</i> <i>Squamatus</i> | 23 |
| Figure 13 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant..... | 24 |

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Mécanisme d'action des antioxydants d'origine enzymatique.....**08**

Tableau 02: Mécanisme d'action des antioxydants d'origine non enzymatique.....**09**

Tableau 03 : Exemples des pathologies liées au stress oxydatif.....**10**

Tableau 04: Les différentes activités biologiques de la plante *Aster squamatus*.... . **13**

Tableau 05 : Résultats du pouvoir antioxydant des extraits d'*A. squamatus* et de la
vitamine C.....**24**

LISTE D'ABREVIATIONS

AcOEt: Acétate d'éthyle.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AG : Acide gallique.

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium.

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

GPX : Glutathium peroxydase.

GSH : Glutathion réduit.

GSHPx : Glutathion peroxydase.

GSSG : Glutathion oxydé.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

OH : Radical hydroxyle.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

LDL: Low-density lipoprotein.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

Na₂CO₃ : carbonate de sodium.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit.

n-BuOH : n-Buthanol.

nm : nanomètre.

O₂ : l'oxygène.

O₂^{•-} : Anion superoxyde.

ONOO⁻ : anion peroxydinitrite.

RL : Radicaux libre.

ROH : Alcool.

ROO^o : Radical peroxyde.

ROOH : Hydroperoxyde lipidique.

SOD : Superoxyde dismutase.

µg: microgramme.

µl: microlitre.

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies (Ma et al., 1997).

Environ 65-80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (Ma et al., 1997).

Les plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (Sanago, 2006).

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier la plante *Aster squamatus*, une plante de la région d'Oum el Bouaghi. Cette plante à plusieurs activités biologiques notamment l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne, Antidiarrhéique, antinéoplasique, cicatrisante et antioxydante qui sont attribuées à ses différentes composantes actives : les flavonoïdes, les tanins les polyphénols ...etc. (Ghedini & Almeida, 2007).

L'objectif du présent travail est de démontrer la richesse de cette plante en substances bioactives et évaluer *in-vitro* leurs pouvoir antiradicalaire. Pour cela, notre étude englobe deux aspects :

- ✓ le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction et la quantification des composés phénoliques et flavonoïdiques.
- ✓ Le second aspect est consacré à une évaluation de l'activité antiradicalaire.

Première partie
Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Le stress oxydatif

I. Stress oxydatif

I.1. Généralités

L'oxygène molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation des radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) (**Pincemail et al., 2002**). En 1969, les Américains **McCord** et **Fridovich** isolent à partir des globules rouges humains, un système enzymatique antioxydant, la superoxyde dismutase (SOD), capable d'éliminer l'anion superoxyde, démontrant ainsi pour la première fois, que notre organisme produit des EOA. Cette découverte était le point de départ, dans le monde entier, de nombreuses recherches sur le stress oxydant et les antioxydants (**Haleng et al., 2007**).

Le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression d'espèces réactives oxygénées (ERO) (**Cheeseman et Salter ., 1993**), il est défini comme un déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les systèmes de défenses antioxydants, que se soit par déficit en antioxydants, par suite d'une surproduction des radicaux libres ou une combinaison de ces deux facteurs (**Ece et al., 2007**).

I.2. Les radicaux libres (RL)

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbital en captant un électron pour devenir plus stable, il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Joëlle et Allain, 1997; Merouane et al., 2014**).

I.3. Définitions des antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Berger, 2006**).

L'action des antioxydants est régie par une balance équilibrée par la production et la destruction des E.O.R (fig.1). elles sont produites de façon permanente et contrôlée par un système d'antioxydants enzymatique (**Dimitrios, 2006 ; Hui-Yin et al., 2007**).

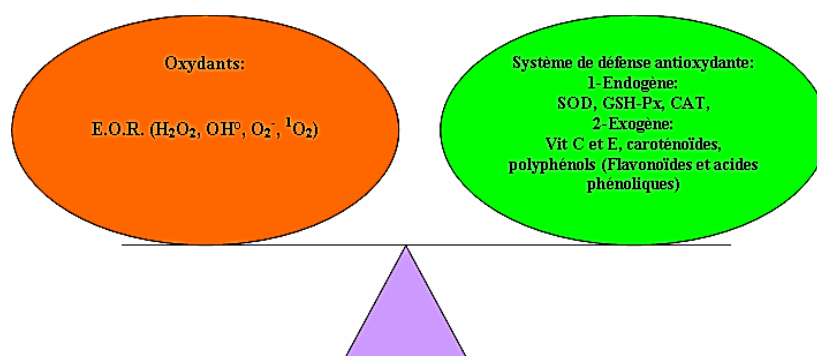


Figure 01 : Equilibre entre les oxydants et les antioxydants (état physiologique).

(Dimistrios, 2006 ; Hui-Yin et al., 2007)

I.4. Classification des antioxydants

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire (Berger, 2006).

I.4.1. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes comme le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, toutes trois présentes dans le cytoplasme (Berger, 2006).

I.4.1.1. Superoxyde Dismutase (SOD)

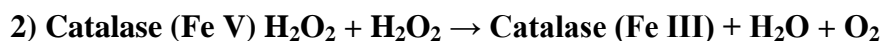
La superoxyde dismutase (SOD) constitue la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène (Vergely et al., 2003). Chez l'homme, les plus hauts niveaux de SOD se trouvent dans le foie, la glande surrénale, les reins et la rate (Scheibmeir et al., 2005). Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en O_2 et peroxyde d'hydrogène (Droillard et Paulin, 1990; Valko et al., 2006).



Cette réaction a pour conséquences la réduction de la disponibilité O_2° , limitation de la cascade radicalaire (OH° , $ONOO^{\circ}$). Le H_2O_2 est pris en charge par des enzymes de relai (**Bensakhria, 2018**)

I.4.1.2. Catalase

Enzyme héminique ubiquitaire située à l'intérieur des globules rouges, elle élimine H_2O_2 par dismutation qui se fait en deux étapes (**Bensakhria, 2018**):



I.4.1.3. Glutathion peroxydase

Elle est l'un des principaux systèmes de protection capables de réduire le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes organiques (ROOH) toxiques formés par l'oxydation des acides gras ou du cholestérol, elle utilise le glutathion réduit comme cofacteur (**Favier, 2003**). Cette réduction se fait selon la réaction suivante (**Bensakhria, 2018**):



I.4.2. Les antioxydants non enzymatiques

I.4.2.1. Vitamine E

Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique (**Proyor., 2000**). L' α -tocophérol est le principal antioxydant contenu dans les LDLs (**López et al., 2005**).

Leur caractère hydrophobe permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO^{\bullet}) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Si l' α -tocophérol est le plus abondant, il semble que le γ -tocophérol soit le plus efficace à ce niveau. Les apports journaliers d' α -tocophérol sont de l'ordre de 10 mg : il se retrouve en quantité variable dans les

huiles (soja, maïs, olive) et dans les noix et noisettes. Le γ -tocophérol est présent essentiellement dans l'huile de sésame (Haleng et al., 2007).

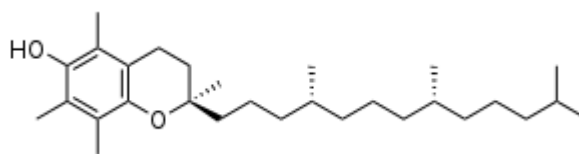


Figure 02 : Structure de la vitamine E (Marc et al., 2004).

I.4.2.2 Vitamine C (Acide ascorbique)

Elle est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène (Carr et Frei, 1999). Elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les α -tocophérol (Greff, 2011).

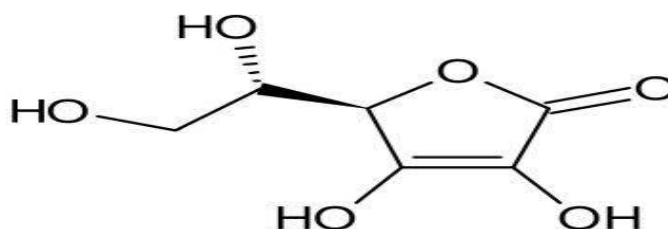


Figure 03 : Structure de la vitamine C (Marc et al., 2004).

I.4.2.3. Les polyphénols

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux (Haleng et al., 2007). Ils sont reconnus pour leurs multiples propriétés biologiques : anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antifongiques, anticancéreuses incluant l'activité antioxydante. Ce sont des antioxydants naturels puissants impliqués dans la défense contre les dommages oxydatifs au niveau de la cellule car ils possèdent des structures chimiques idéales. L'activité antioxydante des polyphénols est plus puissante que celle des tocophérols et de l'acide ascorbique (Ozsoy et al., 2008).

Les polyphénols regroupent les principales sous-classes suivantes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins condensés, les stilbènes et les coumarines. Plusieurs études ont montré qu'il existe une relation entre la structure et l'activité antioxydante (Pokorny et al., 2001, Magalhaes et al., 2008) .

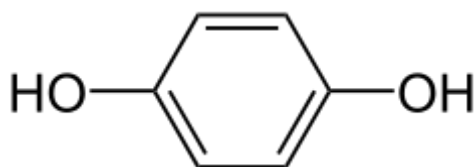


Figure 04 : Structure du simple phénol (Marc et al., 2004)

I.4.2.4 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés naturels qui constituent un groupe majeur de polyphénols. Ils sont caractérisés par leur structure aromatique C6-C3-C6 (Fig05), et qui contiennent les flavones, les flavonols, les isoflavones ; les flavonones et les chalcones.

Ils peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation de régulation du stress oxydant par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer, le cuivre ou par inhibition de l'activité de certains enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène comme la xanthine oxydase (Lahouel et al., 2006).

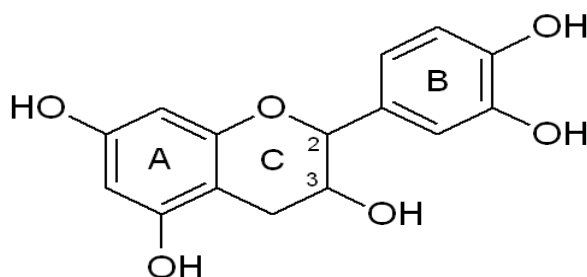
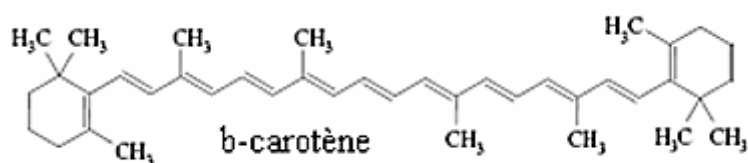


Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes (Pokorny et al., 2001).

I.4.2.5. β - carotène

Le chef de file des caroténoïdes également appelé provitamine A car, après hydrolyse hépatique, il donne naissance à deux molécules de vitamine A. il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : il s'oppose à la cyto- et à la génotoxicité de nombreux agents (**Goudable et Favier, 1997**).



disposition d'électrons (céruloplasmine, vitamine C, superoxyde dismutase, GSHPx), et la réparation des molécules de DNA (Zn, acide folique, niacine) (Berger, 2006).

Tableau 01: Mécanisme d'action des antioxydants d'origine enzymatique

| Enzyme | Mécanisme d'action | Références |
|------------------------------|--|---|
| Superoxyde dismutase | Elimination du radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). | Simonoff et Simonoff, 1991 ; Pokorny et al. , 2001 ; Iriti et Faoro- Water, 2008 |
| Glutathion peroxydase | Elimination du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le hydroperoxyde lipidique (ROOH), en association avec le glutathion pour donner respectivement une molécule d'eau et (ROH). | |
| Catalase | Transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en simple molécule d'eau. | |

Tableau 02: Mécanisme d'action des antioxydants d'origine non enzymatique

| Substances | Mécanismes d'actions | Références |
|--|--|--|
| Vitamines : -Vit C -Vit E | -Protège efficacement les protéines sans protéger les lipides -Piège le superoxyde au niveau du cytoplasme -Elle intervient dans la protection des acides gras insaturés, très sensibles à l'oxydation du fait de leur structure. -Elle empêche ainsi la formation des radicaux peroxydes. -Elle participe également à la protection des structures lipidiques, notamment celles des membranes des cellules et celles des lipoprotéines -Elle inhibe la peroxidation lipidique par piégeage d'oxygène singulet. | Kraus et al., 1997 ; Aourousseau, 2002 ; Kraus et al., 1997; Pokorny et al., 2001 |
| β- carotène : | -Piégeage de l'oxygène singulet O ₂ et blocage des réactions en chaînes. -Inhibition spécifique de la surproduction de peroxyde d'hydrogène. En présence de basses teneurs en oxygène, elle protège plus efficacement les lipides que la vitamine E. | Pokorny et al., 2001 ; Aourousseau, 2002 ; Palozza et al., 1995) |
| Les polyphénols | -Inhibition des E.O.R (1O ₂) -Piégeage des radicaux libres -Chélation des ions métalliques responsables de la production des E.O.R -Inhibition des enzymes responsables de la production des E.O.R (exemple xanthine oxydase et cyclooxygénase). | Pokorny et al., 2001, Magalhaes et al., 2008 |

| | | |
|------------------------|--|------------------------|
| Les flavonoïdes | <ul style="list-style-type: none"> -Piégeage direct des radicaux libres. -Inhibition de la peroxydation lipidique. -Inhibition des enzymes responsables de la production des E.O.R. -Chélation des ions métalliques responsables de la production des E.O.R. | Halliwell, 1994 |
|------------------------|--|------------------------|

I.6. Pathologies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant a été largement étudié durant les 20 dernières années. Il joue un rôle important dans les dommages cellulaires et il est impliqué de manière significative dans plusieurs physiopathologies des maladies fortement répandues (**Rodrigo, 2009**).

Tableau 03 : Exemples des pathologies liées au stress oxydatif (**Bensakhria, 2018**)

| Maladies où le stress oxydatif est la cause primordiale | Maladies où le stress oxydatif est le facteur déclencheur | Maladies entraînant un stress oxydatif secondaire |
|---|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Cancers - Auto-immunité - Cataracte | <ul style="list-style-type: none"> - Maladie d'Alzheimer - Stérilité masculine - Rhumatismes - Athéromes - Asthmes | <ul style="list-style-type: none"> - Diabète - Insuffisance rénale - Maladie de Parkinson. |

Chapitre II

La plante *Aster squamatus* (sperng)

Hieron

II. La plante médicinale sélectionnée

II.1. Généralités

Les Asteraceae du latin "*aster* = étoile" se réfère à la forme de l'inflorescence, un mot créé par le botaniste **Ivan Ivanovič Martinov** en 1820, anciennement appelée Compositae, constitue la plus grande famille des plantes à fleurs. Elle est constituée de plus de 1500 genres et 25000 espèces dont 750 endémiques. En Algérie, cette famille est la plus importante, elle renferme 109 genres et 408 espèces (**Quezel et Santa, 1963**).

Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues (**Bonnier, 1934**). Bien que généralement ce soit des plantes herbacées à feuilles isolées (**Crete, 1965**).

Une des propriétés typique de la famille des Asteraceae est sa richesse en composés naturels divers. On y trouve des flavonoïdes et des alcaloïdes. C'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représente des principes amers typiques de cette famille (**Harborne et Swain, 1969**).

II.2. La plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

II.2.1. Le genre *Aster*

Le genre *Aster* appartient à la famille Asteraceae, tribu Astereae (**Corea et al., 2004**). Ce vaste genre, originaire des régions tempérées de l'hémisphère Nord et principalement d'Amérique du Nord (**Burnie et al., 2006**), comprend environ 500 espèces originaires d'Amérique, 100 espèces distribuées dans la Chine et d'autres sont originaires d'Europe, d'Asie, et Afrique du Sud (**Oren-Shamir et al., 2000 ; Liu et al., 2010**).

Les espèces de ce genre sont des plantes herbacées vivaces et caduques ou de sous-arbrisseaux persistants, variant en taille de la miniature pour rocaille à la géante, de 2m de hauteur. Les asters portent des feuilles simples, le plus souvent à marge lisse assez petite, parfois pubescente. Les plantes se revêtent, généralement en fin d'été ou

en automne, de capitules voyants dans une vaste gamme de coloris dans les bleu, violet, pourpre, rose, rouge et blanc, présentant toujours un disque central jaune ou violet(**Burnie et al., 2006**).

Il est indiqué dans la littérature que les espèces du genre *Aster* ont été également utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des morsures de serpent, fièvre, rhume, angine et piqûre d'abeille (**Corea et al., 2004**). Ainsi, ils sont utilisés pour soulager la toux, réduire des expectorations (**Liu et al., 2010**), et comme antidiarrhéique, antinéoplasique et cicatrisante (**Ghedini et Almeida, 2007**).

II.2.2. L'espèce *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

II.2.2.1. Classification

Règne : Plantae

Embranchement : Angiospermae

Classe : Dicotylédonae

Sous classe : Asteridae

Ordre : Astérale

Famille : Asteraceae

Tribu : Astereae

Sous-tribu : Asterinae

Genre : *Aster*

Espèce: *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron



Figure 07 : *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron

II.3. Description botanique et aire géographique

Aster squamatus 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 et Santa, 1963**), caractérisé par :

Les tiges : sont très fins, est rougeâtre de 40 à 80 cm (**Quezel et Santa, 1963**).

Les feuilles : possédés des feuilles premières ovales et entières, les inférieures glabres, alternes, charnues et très étroites entières (**site 1**).

Les Capitules : sont petits (6-7 mm de diam) (**Quezel et Santa, 1963**).

Les akènes : sont fusiformes et très petits (2 mm env.) (**Quezel et Santa, 1963**).

II.4. La composition chimique

La littérature indique la présence d'acides caféique, cinnamique et sinapique dans ces fractions solubles des extraits aqueux de feuilles, des tiges et des racines de la plante *Aster squamatus*. Ainsi, plusieurs flavonoïdes ont été isolés à partir des fleurs de la plante tels que : squamatine, ternatine, ramnetime, kaempférol, baicaleine, luteolin-7-méthyletherleter, et quercétine (**El Sayed et Ross, 1987; Sperotto et al., 2002**).

II.5. Les propriétés biologiques

Aster squamatus est doué de plusieurs propriétés biologiques prouvées par des études *in vitro* et *in vivo* (Tableau 04).

Tableau 04: Les différentes activités biologiques de la plante *Aster squamatus*

| Activité biologique | Partie de la plante étudiée | Type d'extrait | Référence |
|---------------------|-----------------------------|---|------------------------------------|
| Effet antioxydant | Feuilles | Extrait éthanolique | Ghedini et al., (2002), |
| | Feuilles | Fractions acétate d'éthyle et n-butanol | Boulechfar et al., (2014) |
| | Feuilles | Extraits éthanolique et acétonique | Boulebrachene et al., 2021) |
| Activité | Feuilles | Fractions acétate | Boulechfar et al., |

| | | | |
|---|-------------------------|---|-------------------------------------|
| antibactérienne | | d'éthyle et n-butanol | (2014) |
| Activité photoprotectrice | Feuilles | Extraits éthanolique et acétonique | Boulebrachene et al., (2021) |
| Anti ulcérogène | Feuilles | Fraction éthanol, chloroforme et éther de pétrole | Ghedini et al., (2002). |
| Inhibition de la sécrétion de l'acide gastrique | Partie aérienne | Fraction butanolique | Ghedini et Almeida., (2007) |
| Effet anti diarrhéique | | Extrait aqueux brut | |
| Effet antinéoplasique | | Fraction butanolique | |
| Effet cicatrisant | | Fraction butanolique | |
| Réduction de la propulsion gastro-intestinale | Feuilles, tige, racines | Extrait aqueux et Ethanolique | Sperotto et al., (2002) |

Deuxième partie
Etude Expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthodes

I. Etude phytochimique

I.1. Récolte du matériel végétal

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, les feuilles ont été coupées en petits morceaux, et broyées dans un moulin électrique, puis pesées. Ce matériel végétal a été réservé pour l'extraction des polyphénols.

I.2. L'extraction liquide-liquide

L'extrait éthanolique brut, préparé par Boulebrachene et al. en 2021, est traité avec une quantité d'eau bouillante. La solution obtenue est laissée au repos pendant une nuit pour décantation. Celle-ci permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable, des résines, etc..... après filtration, on obtient une solution aqueuse.

A l'aide d'une ampoule à décanter de 1L, nous avons procédé à des extractions Successives de type liquide-liquide, par affrontement à des solvants organiques de polarité croissante :

- L'éther de pétrole qui permet d'éliminer les matières grasses, les chlorophylles, et les impuretés.
- Le chloroforme qui permet l'extraction des aglycones méthoxylés et peu hydroxylés
- L'acétate d'éthyle qui permet l'extraction des aglycones polyhydroxylés et monoglycosylés et partiellement les diglycosylés.
- le n-butanol qui accède aux hétérosides polyglycosylés et aussi les hétérosides de type C-glycosyle.

La phase aqueuse et le solvant sont agités énergiquement puis laissés au repos pendant 30 minutes, la phase aqueuse (qui est au fond de l'ampoule) et la phase chargée de molécules spécifiques sont récupérées séparément. Les 4 phases organiques récupérés sont évaporées sous pression réduite,. Les extraits obtenus sont ensuite stockés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation.

Les différentes étapes de l'extraction des feuilles d'*Aster squamatus* sont représentées dans le schéma ci-dessous :

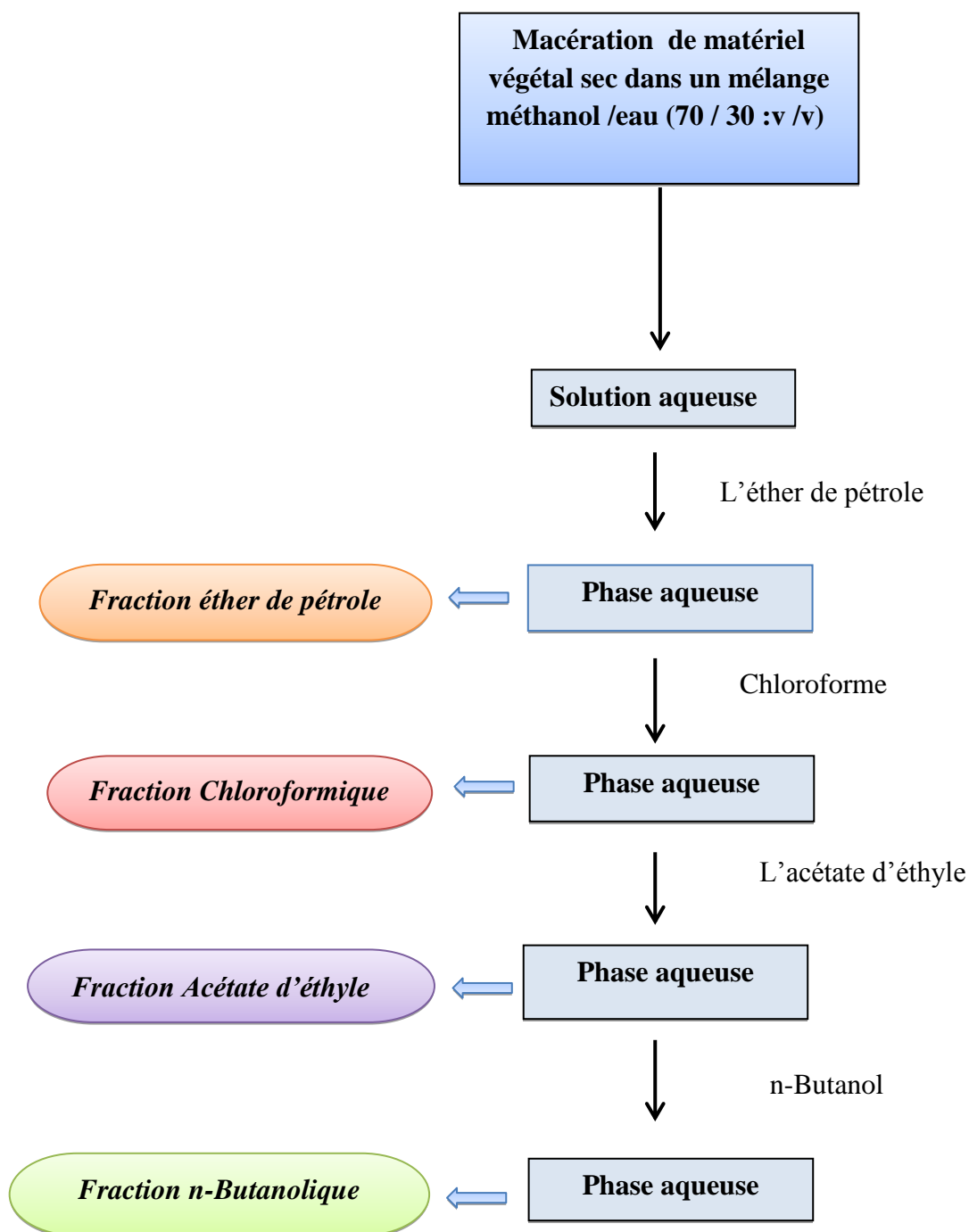


Figure 08 : Schéma de l'extraction des feuilles de l'espèce *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

I.3. Analyse quantitative des extraits des feuilles d’*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

I.3.1. Dosage des polyphénols totaux des extraits

Le dosage des polyphénols totaux de nos extraits chloroformique, acétate d’éthyle et butanolique a été effectué selon la méthode du réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu décrite par **Wong et al., (2006)**.

➤ **Principe :**

Il consiste à mélanger 200 μL de chaque extrait (0.5 mg d’extrait dilué dans 1 mL Méthanol) avec 1mL de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l’eau distillé). Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l’incubation, 800 μL de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75 g/L) a été ajoutée. Le développement d’une couleur bleue est obtenu après incubation à l’obscurité et à température ambiante pendant 2h. Après incubation, l’absorbance est mesuré par un spectrophotomètre à 765 nm. Le blanc de la réaction ne contenant pas des polyphénols est réalisé et considéré comme le point 0 en mg/mL.

➤ **Expression des résultats**

La concentration en polyphénols totaux est calculée à partir de l’équation de régression linéaire de la gamme d’étalonnage, établie avec le standard étalon l’acide gallique (10-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) et exprimée en microgrammes d’équivalents d’acide gallique par milligramme d’extrait (μg EAG/mg E)

I.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d’aluminium (AlCl_3) cité par **(Djeridane et al., 2006)** est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

➤ **Principe:**

1 ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d’une solution d’ AlCl_3 (2% dans le

méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

➤ **Expression des résultats**

La concentration en flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de régression linéaire de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon la quercétine et exprimée en microgrammes d'équivalents quercétine par milligramme d'extrait (2.5-30 µg EAG/mg E)

II. Etude de l'activité antioxydante

II.1. Test au DPPH

L'activité antiradicalaire de nos extraits a été déterminée spectrophotométriquement par le test du DPPH selon le protocole de Blois (1958). L'acide ascorbique (vitamine C) a été utilisé comme standard antioxydant.

Du point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant les groupes SH, NH et OH (Salah et al., 1995).

➤ **Principe**

4 mg de DPPH sont dissout dans un volume de 100 mL de méthanol. Puis 1600 µL de DPPH ont été ajouté à 400 µL de chaque extrait. Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 517 nm a été lue après 30 minutes d'incubation.

➤ **L'expression des résultats:**

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où qui est estimée selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 : Absorbance du Blanc

A_1 : Absorbance de l'extrait

Où en calculant l'IC₅₀ qui est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

III. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été faites en triples et les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart- type. L'analyse statistique des résultats a été réalisée par le T-test en utilisant Microsoft® Office Excel 2010.

Chapitre II

Résultats et Discussion

I. Etude phytochimique

I.1. Teneur en composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en microgrammes équivalent acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg E}$), en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 09).

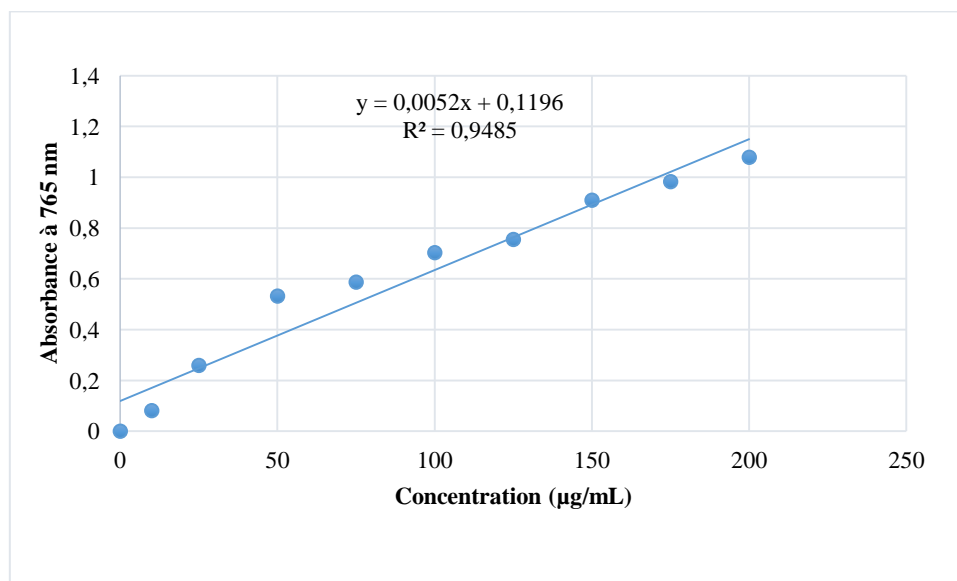


Figure 09: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats du dosage des polyphénols totaux présentés dans la figure 10 indiquent qu'il existe une différence significative ($p < 0.05$) entre l'extrait acétate d'éthyle et n-butanol et l'extrait Chloroformique et n-butanol, par contre il n'y a pas une différence significative ($p > 0.05$) entre les extraits chloroformique et acétate éthyle.

Ainsi, la fraction n-BuOH d'extrait éthanolique de feuilles d'*A. squamatus* représente la teneur la plus élevée en polyphénols avec une teneur de $118 \pm 1,54 \mu\text{g EAG/mg}$, tandis que la fraction AcOEt vient en 2^{ème} position avec une teneur de $98,1 \pm 1,11 \mu\text{g EAG/mg}$, en 3^{ème} position la fraction chloroformique avec une teneur $93,9 \pm 3,99 \mu\text{g EAG/mg}$. Ces résultats confirment la richesse des feuilles d'*A. squamatus* en substances polyphénoliques.

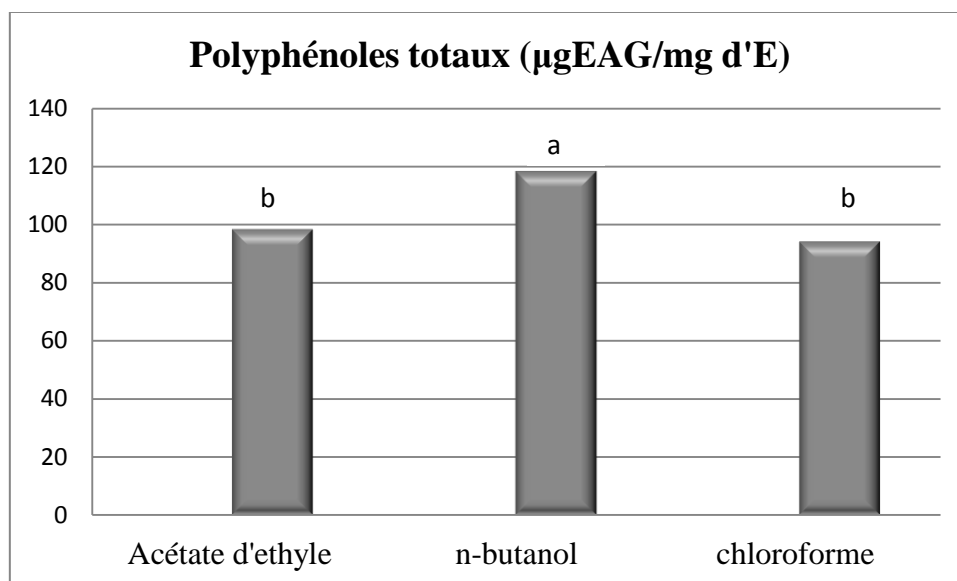


Figure 10 : Teneur en composés phénoliques des extraits de la plante *Aster squamatus*

L'étude menée par **Boulechfar et al. (2014)**, sur les fractions *n*-BuOH et AcOEt de l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. squamatus*, indiquent que les teneurs obtenues par des fractions *n*-BuOH et AcOEt se réfèrent respectivement $19,82 \pm 1,61$ µg EAG/mg E et $8,86 \pm 1,31$ µg EAG/mg E sont inférieures par rapport à nos résultats. Les travaux de **Ravipati et al. (2012)**, sur l'extrait éthanolique des feuilles d'*A. tataricus* L, ont indiqué une teneur en polyphénols totaux ($6,95 \pm 0,00$ mg/g) aussi inférieure en comparaison avec nos résultats. Les travaux de **Boulebrachene et al. (2021)** sur l'extrait éthanolique et acétonique des feuilles d'*A. squamatus*, indiquent que les teneurs obtenues des deux extraits éthanolique et acétonique sont de l'ordre ($402,10 \pm 0,89$ et $464,92 \pm 9,33$ µg EAG/mg d'extrait), respectivement, sont supérieures en comparaisant avec nos résultats.

La teneur en polyphénols d'un extrait dépend de la méthode d'extraction utilisée, de la nature du solvant ainsi que du matériel végétal utilisé (**Hayouni et al., 2007**), et les facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008 ; Podsedek, 2007**).

I.2. Teneurs en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et rapportée en μg équivalent de quercétine/mg d'extrait, en utilisant la courbe d'étalonnage de la quercétine (figure 11).

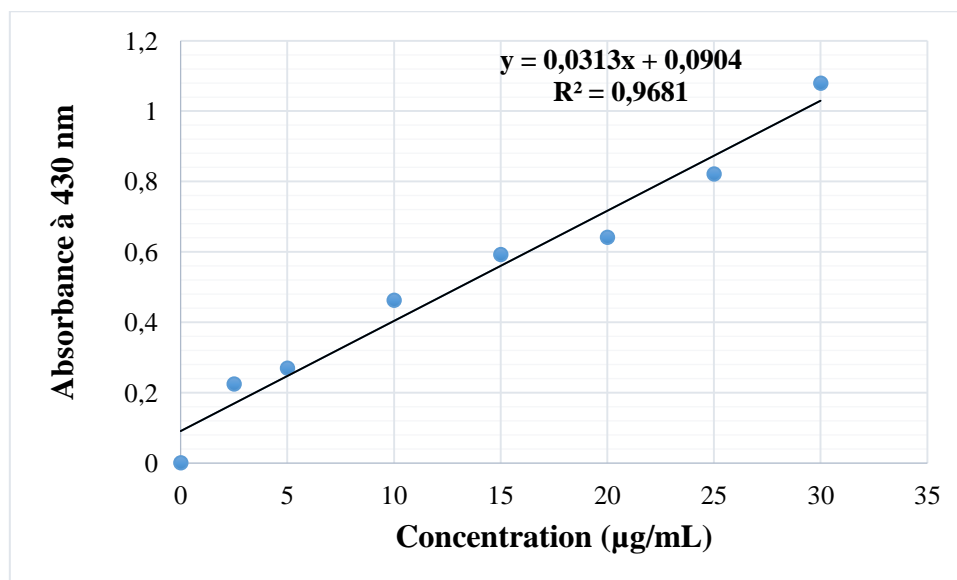


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux présentés dans (la figure 12) indiquent qu'il n'existe pas une différence significative ($p > 0.05$) entre l'extrait acétate d'éthyle et n-butanol contrairement il existe une différence significative ($p < 0.05$) entre les extrait chloroforme et n-butanol, chloroforme et acétate éthyle.

Ainsi, les résultats trouvés dans cet étude montrent que les teneurs en flavonoïde totaux varient considérablement entre les différents extraits. L'extrait butanolique enregistre un maximum de flavonoïdes $24,23 \pm 2,36 \mu\text{g EQ/mg}$, suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle de teneur $19,87 \pm 2,25 \mu\text{g EQ/mg}$, tandis que la plus basse teneur mesurée dans l'extrait chloroformique $12,03 \pm 0,63 \mu\text{g EQ/mg}$

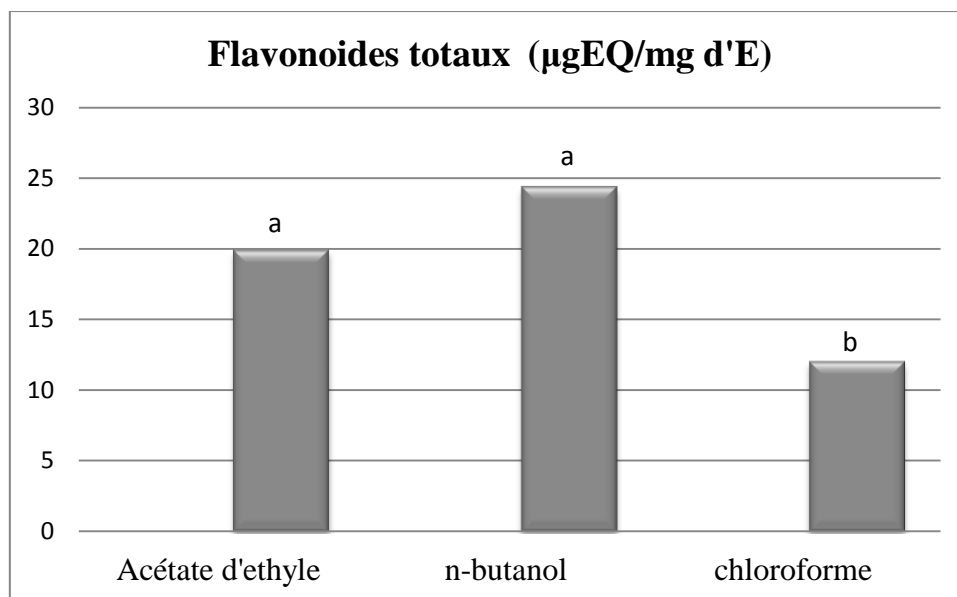


Figure 12: Teneur en flavonoïdes totaux des extraits de la plante *Aster squamatus*

Nos résultats sont inférieurs à ceux de **Boulechfar et al., (2014)**, qui ont montré des contenus en flavonoïdes totaux des fractions *n*-BuOH et AcOEt avec des teneurs de $58,53 \pm 5,10$ mg EAG/gE et $47,11 \pm 2,82$ mg EAG/gE, respectivement. L'étude de **Ravipati et al. (2012)**, sur l'extrait éthanolique de l'espèce *A. tataricus L* montre une teneur en flavonoïdes totaux de $22,79 \pm 0,98$ mg E/gE qui est proche à nos résultats. Cependant, nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Boulebrachene et al.,(2021)** qui ont montré des teneurs en flavonoïdes totaux de l'ordre de $10,45 \pm 0,29$ et $9,35 \pm 0,97$ mg EAG/gE pour l'extrait éthanolique et l'extrait acétonique, respectivement.

La concentration des flavonoides dans les extraits des plantes dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits (**Marco.1968**)

Selon l'étude précédente, le genre *Aster* est riche en flavonoïde. Ces derniers sont largement distribués chez les espèces de ce genre (**El-Sayed et al., 1987; Allen, 1988**).

II. Etude de l'activité antioxydante

En raison de la gravité des maladies qu'induite par le stress oxydant, dans ce contexte nous avons évalué *in vitro* l'activité antioxydante des différents extraits d'*A. squamatus* vis-à-vis le radical DPPH en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune à 517 nm.

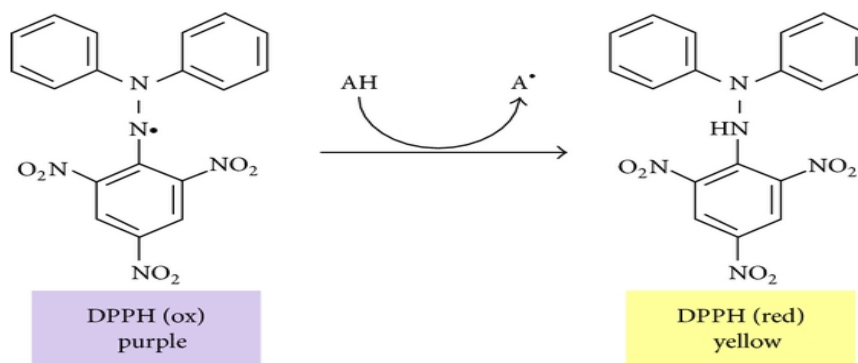


Figure 13: Réduction du radical DPPH par un antioxydant

L'Activité antioxydante des extraits a été évaluée par le test DPPH, ce test a permis de déterminer la capacité de nos extraits à neutraliser le radical libre DPPH présent dans le milieu réactionnel. L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par le calcul de la valeur IC_{50} qui indique la concentration nécessaire de l'extrait qui inhibe 50% du radical libre DPPH. Il est à noter que plus la concentration de l'extrait est petite plus l'extrait est un bon antioxydant (Mghezzi Habelah et al., 2016).

Tableau 05 : Résultats du pouvoir antioxydant des extraits *d'A. squamatus* et de la vitamine C.

| Extraits | % d'activité à 100 $\mu\text{g/mL}$ | IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) |
|------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| Acétate d'éthyle | $89,53 \pm 0,28^a$ | $23,60 \pm 1,63^b$ |
| n-butanol | $89,21 \pm 1,87^a$ | $< 3,125$ |
| Chloroforme | $39,37 \pm 4,92^c$ | > 100 |
| Vitamine C | $74,86 \pm 2,04^b$ | $7,67 \pm 1,33^a$ |

D'après le tableau, on remarque que les trois extraits étaient capables de piéger le radical DPPH, dont l'extrait n-butanol a montré un pouvoir antioxydant le plus puissant avec un $IC_{50} < 3,125 \mu\text{g/mL}$, suivi par la vitamine C et l'extrait Acétate

d'éthyle. Cependant, l'extrait chloroformique a montré une activité antioxydante la plus faible.

Nos résultats sont inférieurs à ceux de **Boulechfar et al. (2014)**, qui ont montré des IC_{50} de l'ordre de 351,06 $\mu\text{g/mL}$ et 571,44 $\mu\text{g/mL}$ des fractions n-BuOH et AcOEt, respectivement. L'étude de **Ravipati et al. (2012)**, sur l'extrait éthanolique de l'espèce *A. tataricus L* a montré une $IC_{50}=49,93\pm 2,02$ $\mu\text{g/mL}$. Nos résultats sont aussi inférieurs à ceux trouvés par **Boulebrachene et al. (2021)** qui ont étudié les extraits bruts d'*A. squamatus* et ont indiqué des IC_{50} de l'ordre de 42,71 \pm 0,88 $\mu\text{g/mL}$ et 40,81 \pm 7,87 $\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait éthanolique et l'extrait acétonique, respectivement.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Cette étude préliminaire a montré des résultats intéressants et elle a indiqué l'étude phytochimique et le potentiel antioxydant des fractions phénoliques de l'extrait éthanolique des feuilles de la plante *Aster squamatus* de la région d'Oum el Bouaghi.

L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis de conclure que la plante est une source potentielle de polyphénols et flavonoïdes possédants des propriétés antioxydantes d'origine naturelle qui justifient son utilisation traditionnelle dans le traitement de nombreuses affections lié au stress oxydatif.

En fin, comme perspectives on propose de :

- ✓ Evaluer l'activité antioxydante des extraits de la plante par plusieurs tests pour confirmer leurs capacités à piéger les différents radicaux et leur pouvoir réducteur.
- ✓ Etudier d'autre activités biologiques (antibactérienne, antidiabétique, anticancéreuse, anti-inflammatoire.....).
- ✓ Faire d'autres tests *in vivo*.

Références Bibliographique

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Allen G.A. (1988). Flavonoids of *Aster bracteolatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*,16(2):139-141

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 122: 303-309.

Aurousseau. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage conséquence sur la reproduction la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim*, 67–82.

B

Bensakhria A. (2018). Toxicologie générale, le stress oxydatif, 70-86

Berger M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutr. Clin. Métabolisme*, 20: 48-53.

Bonnier. (1934). Flore complète de France, Suisse et Belgique. Édition 10, PP. 118.

Boudiaf K. (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.

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. *Thera pharmacia lettre*, 6 (5):112-115.

Burnie G., Forresster S., Greig D., Guest S., Harmony M., Hobley S., Jackson G., Lavarack P., Ledgett M., McDonald R., Macoboy S., Molyneux B., Moodie D., Moore J., Newman D., North T., Pienaar K., Purdy G., Ryan S., Schien G., Silk J. (2006). *Botanica, Encyclopédie de botanique et d'horticulture*. Editions places des victoires, Paris,120- 626.

C

Carr A.C., Frei B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*, 69: 1086–1087.

Cheeseman K. H. et Slater T. F. (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br.Med. Bull* 49: 481-493.

Corea G., Iorizzi M., Lanzotti V., Cammareri M., Conicella C., Laezzad C., Bifulco M. (2004). Astersedifolioside A–C, three new oleane-type saponins with antiproliferative activity. *Bioorganic et Medicinal Chemistry*, 12 : 4909–4915.

Crete P. (1965). Précis de botanique. Masson, Paris, édition 2, 429.

D

Dimitrios B. (2006). Sources of phenolic antioxydants. *Trend in food science and technology*, 505-512.

Djeridane A., Yous M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006) Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97: 654-660.

Droillard M. J. et Paulin A. (1990). Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* 94 (3): 1187-1192.

E

Ece A., Gurkan F., Celik F., Boşnak M., Yel S., Balik H., Erel O. (2007). Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clin Biochem* 40 (9-10) :634.

El-Sayed H.M. et Ross S.A. (1986). Phytochemical studies on *aster squamatus*. parte III: constituents of the leaves, 9(1):149- 163.

F

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

Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D., Guo Z. (1986). Places des plantes medicinales dans la therapeutiques. *bulltin de l'organisation mondiale de la santé*. 64(2): 159-164.

Favier A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115.

Favier A. (2003). Le Stress Oxydant. Intérêt Conceptuel Et Expérimental Dans La Compréhension Des Mécanismes Des Maladies Et Potentiel Thérapeutique. *L'actualité Chimique-Novembre-Décembre*, 108-115.

Favier A. (2006). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115. *flaccidus. Fitoterapia*, 81: 140–144.

G

Ghedini P et Almeida C.E. (2007). Butanolic Extract of *Aster squamatus* Aerial parts is the active fraction responsible to the antiulcer and gastric acid antiseecretory effects. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(6): 889-892.

Ghedini P., Esteves C., Bürger M., Bauermann L., Magni D., Borgmann S. (2002). Preliminary Studies of Anti-Ulcerogenic Effect of *Aster squamatus* Leaves Hydroalcoholic Extract on Various Ulcer Models in Rats. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 21(3): 165-168.

Goudable J et Favier A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2): 115-120.

Greff M. 2011. *Post'U FMC-HGE*, Springer Edition. 39.

H

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

Halliwell B. (1994). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. American Journal of Medicine. 91: 14–22.

Harborne J.B et Swain T. (1969). Perspectives In Phytochemistry, Academic Press, London, New York.

Hayouni E., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. Chimie alimentaire 105(3): 1126-1134.

<https://identify.pl@ntnet.org/fr/the-plant-list/species>.

Hui-Yin C., Yuh-Charn L. et Chiu-Lan H. (2007). Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. Food Chemistry, 104: 1418–1424.

I

Iriti M et Faoro-Water F. (2008). Oxidative Stress, the Paradigm of Ozone Toxicity in Plants and Animals. Air Soil Pollut., 187: 285–301.

J

Joëlle G et Allain F. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutr Clin Métabol, 11:115-120. Journal Algérien des Régions Arides, 13: 27-34.

K

Kraus A., Roth H.P., Kirchgessner M. (1997). Supplementation with vitamin C, vitamin E or b-carotene influences osmotic fragility and oxidative damage of erythrocytes of zinc-deficient rats. J. Nutr., 127: 1290-1296 cités par Aourousseau, 2002.

L

Lahouel M., Amedah S., Zellaoui A., Touil A., Rhouati S., Benayache F., Lghouchi E., Bousseboua H. (2006). The interaction of plant flavonoides with rat liver mitochondria. *therapie* 61(4): 347-355.

Liu Z.L., Liu Y.Q., Zhao L., Xu J., Tian X. (2010). The phenylpropanoids of Aster

López G. V., Batthyány C., Blanco F., Botti H., Trostchansky A., Migliaro, E., Rubbo H. (2005). Design, synthesis, and biological characterization of potential antiatherogenic nitric oxide releasing tocopherol analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13(20): 5787–5796.

M

Ma w. G., Tanr X., Fuzzati N., Li Q. S., Wolfender J. L., Hostettmann K. (1997). Natural occurring and synthetic polyynes glycosides. *Phytochemistry*, 45(2): 411-415.

Magalhães L., Segundo M., Reis S. et Lima Jose L.F.C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta.*, 613: 1–19.

Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *MEDECINE/SCIENCES*; 20 : 458-463. méridionales. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. Tome I, 956- 957.

Marco G.J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants, 45:594 –598

Markham K. R. (1982). Techniques of flavonoides identification. Edition Academic Press Méridionales. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. Tome I, 925- 957.

Merouane A., Noui A., Medjahed H., NedjariBenhadj Ali K., Saadi A. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci* 8 (4): 1865-1870.

Mghezzi Habelah R., Karoune S., Kechebar M.S.A., Bounab H. (2016). Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de l'Acacia ehrenbergiana de la région de Tindouf.

Moreira-Muñoz A. et Muñoz-Schick M. (2007). Classification, diversity, and distribution of Chilean Asteraceae: implications for biogeography and conservation. *Diversity and Distributions*, 13: 818–828.

O

Oren-Shamir M., Shaked-Sachray L., Nissim-Levi A., Weiss D. (2000). Effect of growth temperature on Aster flower development. *Hortscience*, 35(1): 28–29.

Ozsoy N., Can A., Yanardag R., Akev N. (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry*, 110: 571–583.

P

Palozza P., Calviello G., Bartoli G.M. (1995). Prooxidant activity of β -carotene under 100 % oxygen pressure in rat liver microsomes. *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 887- 892.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. (2002). Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16: 233-239.

Podsdek A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food and Science Technology*, 40,(1):1-11.

Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (2001). Livre antioxidants in Food: Practical Applications.PP.288.

Pryor W. (2000). Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(1) :141-164.

Q

Quezel P. et Santa S. (1963).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques.

R

Ravipati A., Zhang L., Koyyalamudi S., Jeong S., Reddy N., Bartlett J., Smith P., Shanmugam K., Münch G., Wu M., Satyanarayanan M., Vysett B. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*12:173

Rodrigo R. (2009). Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease. New York: Nova Science, :358.

S

Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G.P., Rice-Evans C.A.(1995). Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. Archives of Biochemistry and Biophysics, PP. 339-346.

Sanago R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali),53.

Simonoff M. et Simonoff G. (1991). Le sélénium et la vie. MASSON, ed., Paris, 95

Smirnoff N. (2005).Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants. Blackwell Publishing Ltd. Exeter. Australie.

Sperotto J., Bialeski N., Savegnago L., Heinzmann B., Karnikowski M., Baldisserotto B. (2002). Effect on gastrointestinal propulsion and preliminary phytochemical analysis of *Aster squamatus* (Asteraceae). Acta Farmaceutica Bonaerense, 21 (4): 279-282.

V

Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic, M., Mazur M. (2006). "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." Chem Biol Interact 160(1): 1-40. Flaccidus. Fitoterapia, 81 :140–144. méridionales. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. Tome I, 956- 957.

Vergely C., Rochette L. 2003. Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire/médecine thérapeutique cardiologique 1(1).

Résumé

Résumé

L'objectif de cette étude est la détermination de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des fractions n-BuOH, AcOEt et chloroformique des feuilles d'*Aster squamatus*, ainsi que leur propriété antioxydante. Le contenu en phénols totaux a été évalué selon la procédure de Folin-Ciocalteu. Le contenu phénolique le plus élevé a été obtenu par la fraction n-BuOH avec une teneur de $118 \pm 1,54$ μg EAG/mg d'extrait. Cependant, la teneur la plus élevée en flavonoïdes, estimée par la méthode AlCl_3 , a été enregistrée par la fraction n-BuOH avec une teneur de $24,23 \pm 2,36$ μg EQ/mg d'extrait. Le test au DPPH a révélé la capacité antioxydante des extraits n-BuOH, AcOEt et chloroformique dont l'extrait n-butanol a montré le potentiel antioxydant le plus puissant avec une $\text{IC}_{50} < 3,125$ $\mu\text{g/mL}$.

Les mots clés: *Aster squamatus*, contenu phénolique, flavonoïdes, antioxydant

Abstract

The objective of this Study was the determination of phenolic and flavonoid content of n-BuOH, AcOEt and Chloroformic extracts of *Aster squamatus* leaves as well as their antioxidant properties. Total phenolic content was evaluated according to Folin-Ciocalteu procedure. The highest phenolic content was obtained by n-BuOH extract with amount of $118 \pm 1,54$ μg GAE/mg of extract. However, the highest amount of flavonoid content estimated by AlCl_3 method, was recorded by n-BuOH extract ($24,23 \pm 2,36$ μg QE/mg of extract). DPPH test revealed the antioxidant ability of n-BuOH, AcOEt and Chloroformic extracts, where n-BuOH showed the potent antioxidant with $\text{IC}_{50} < 3,125$ $\mu\text{g/mL}$.

Keywords: *Aster squamatus*, phenolic content, flavonoids, antioxydant

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد المحتوى الفينولي والفلافونويدي للمستخلصات البيتانولية، اسيتات ايتيل و كلوروفورم لأوراق أستر سكواماتوس، إلى جانب خصائصها المضادة للأكسدة. تم تقييم الفينول الإجمالي وفقاً

Folin-Ciocalteu تم الحصول على أعلى محتوى فينولي عن طريق مستخلص البيتانولي بكمية

118±1,54 ميكروغرام / GAE ملغ من المستخلص. ومع ذلك، تم تحديد أعلى محتوى الفلافونويدي المقدر

بواسطة طريقة AICI₃ بواسطة المستخلص البيتانولي 24,23±2,36 ميكروغرام من/ QE ملغ من

المستخلص. كشف اختبار DPPH عن القدرة المضادة للأكسدة لكل المستخلصات البيتانولية، اسيتات

ايتيل وكلوروفورم اين اظهر المستخلص البيتانولي اقوى مضاد اكسدة ب $IC_{50} > 3,125$ ميكروغرام/مل

الكلمات المفتاحية: أستر سكواماتوس، المحتوى الفينولي، الفلافونويدات، المضاد للأكسدة

Nom et prénom:**DIB Rania GHEDIED Khadidja KHOUDER Yousra MORDJAH Rima****Thème: Etude du potentiel antioxydant des fractions phénoliques de la plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron****Résumé**

L'objectif de cette étude est la détermination de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des fractions n-BuOH, AcOEt et chloroformique des feuilles d'*Aster squamatus*, ainsi que leur propriété antioxydante. Le contenu en phénols totaux a été évalué selon la procédure de Folin-Ciocalteu. Le contenu phénolique le plus élevé a été obtenu par la fraction n-BuOH avec une teneur de $118 \pm 1,54 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait. Cependant, la teneur la plus élevée en flavonoïdes, estimée par la méthode AlCl_3 , a été enregistrée par la fraction n-BuOH avec une teneur de $24,23 \pm 2,36 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait. Le test au DPPH a révélé la capacité antioxydante des extraits n-BuOH, AcOEt et chloroformique dont l'extrait n-butanol a montré le potentiel antioxydant le plus puissant avec une $\text{IC}_{50} < 3,125 \mu\text{g/mL}$.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد المحتوى الفينولي والفلافونويدي للمستخلصات البيتانولية، اسيتات ايثيل و كلوروفورم لأوراق أستر سكواماتوس، إلى جانب خصائصها المضادة للأكسدة. تم تقييم الفينول الإجمالي تم وفقا Folin-Ciocalteu تم الحصول على أعلى محتوى فينولي عن طريق مستخلص البيتانولي بكمية $118 \pm 1,54$ ميكروغرام / GAE ملغ من المستخلص. ومع ذلك، تم تحديد أعلى محتوى الفلافونويدي المقدر بواسطة طريقة AlCl_3 المستخلص البيتانولي $24,23 \pm 2,36$ ميكروغرام من / بواسطة QE ملغ من المستخلص. كشف اختبار DPPH عن القدرة المضادة للأكسدة لكل المستخلصات البيتانولية، اسيتات ايثيل وكلوروفورم اين اظهر المستخلص البيتانولي اقوى مضاد اكسدة ب $\text{IC}_{50} > 3,125$ ميكروغرام/مل

Les mots clés: *Aster squamatus*, contenu phénolique, flavonoïdes, antioxydant**الكلمات المفتاحية: أستر سكواماتوس، المحتوى الفينولي، الفلافونويدات، المضاد للأكسدة****Année universitaire 2021/2022**