



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Et De La Recherche Scientifique

Université El Chahid Hamma Lakhdar d'El Oued

Faculté Des Sciences De La Nature Et De Vie

Département de Biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale

THEME :

L'activité biologique et antioxydante
du papayer (*Papaya carica* L.) cultivé
dans la région d'Oued Souf

Soutenue le :00/06/2022

Présenté Par :

MENACEUR Soumia

LAIB Zakaria

AHTIRIB Ahmed

Devant le jury :

CHOUIKH Atef

Président

PROFESSEUR

UNIV. El Oued

GHEMAM Amara Djilani

Examineur

M.C.A

UNIV. El Oued

BOUSBIA BRAHIM Aida

Promoteur

M.A.A

UNIV. El Oued

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciements

Louange à Dieu, qui nous guide à accomplir les bonnes actions, et que les prières et la paix de Dieu soient sur notre Maître Muhammad, que les prières et la paix de Dieu soient sur lui.

Nous traçons maintenant nos derniers pas dans l'une des étapes de nos études universitaires à l'Université Hama Lakhdar, en master 2022 et ici nous adressons toutes les expressions d'appréciation et de respect au professeur Chouikh Atef, nous le remercions d'avoir accepté la présidence de notre travail d'une part ; d'autre part pour tous ce qu'il nous a offert durant notre formation ainsi que pour l'amélioration et la correction de ce travail.

Nos remerciements vont également au Dr Guemam Amara Djilani MCA, d'avoir accepté de nos honoré par l'acceptation de l'examinassions de nos travaux. Nous adressons également nos sincères remerciements et notre reconnaissance à notre chère : M^{me} Bousbia Brahim Aida, pour tous ses efforts et son acceptation de la supervision de ce travail, Nous remercions également M^{elle} Fatima Alia, qui nous a souvent conseillé, nous remercions également :

- D^r MOUMEN Messaoud Abdelrahmane, qui nous a également accompagné dans ce travail,
- M^{elle} Sana Goubi, le responsable des laboratoires, pour tous ses efforts, elle s'est toujours assurée de nous fournir tout l'équipement nécessaire de laboratoire. Nous remercions également l'honorable Monsieur Omar Khanoufa, responsable de laboratoire de physiologie végétale, qui nous a guider à l'intérieur du laboratoire, un grand merci particulier à Monsieur Hossam Laouid pour son aide, sans oublier Monsieur Saleh le responsable du personnel de sécurité.

Dédicace

- ♥ *Je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

A mon cher père :

- ♥ Ma langue ne peut exprimer à quel point je t'aime, Père, tu as toujours été mon maître de patience et de confiance et la source de ma force et tant que tu m'as accompagné pour avancer pour le mieux et rester pour moi une référence et la lumière qui éclaire mon chemin. Que Dieu prolonge ta vie ma chérie

A ma chère mère :

- ♥ Aucun mot ni aucune langue, ma chère mère, ne peuvent exprimer la profondeur des sentiments que j'ai pour vous, vos innombrables sacrifices et votre dévouement m'ont été un encouragement, vos prières et vos bénédictions m'ont beaucoup aidé dans mes études. Elle m'a aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec un intérêt renouvelé à chaque fois. Que Dieu vous comble de santé, bonheur et longue vie.

A mon cher frère Mosbah:

- ♥ Ces quelques lignes ne peuvent exprimer l'amour profond que j'ai pour vous. Votre précieux soutien, vos encouragements et votre amour ont été un exemple de persévérance. Je trouve en toi les conseils d'un frère et le soutien d'un ami.
- ♥ Que ce travail soit une expression de mon appréciation pour vous, et que Dieu vous protège et vous accorde santé et succès Dans ta vie.

A mes belles sœurs Raouia Sarah, fatima zahra

Au bien-aimé de mon cœur, vous avez tout mon amour et ma gratitude pour vos encouragements à mon égard. Je vous souhaite succès et bonheur dans la vie

A mes oncles et mes tantes

À mes oncles et tantes, chacun en son propre nom, et à mes seuls oncles et tantes, je vous dédie ce geste simple en guise de remerciement et d'appréciation pour votre soutien.

A mon grand-père et ma grand-mère à mon père et mon mère

Je vous dédie ce travail pour votre attention particulière, vos prières et votre amour inconditionnel. Merci pour tout et que Dieu vous donne la santé et une longue vie entre nous.

- ♥ **Un merci spécial à mon cher professeur AIDA qui est resté éveillé et m'a appris que Dieu prolonge ta vie dans l'espoir de la rencontre dans les années à venir**

A mes aux compagnons de vie

- ♥ *Aux amis de ma vie et mes compagnons ,Hanae et ses enfants; Besma; wafa, ibtihel et ses enfant ,chayma et ses enfant, Maria et ses enfants, Roumaissa et son mari et maria et ses enfants et*
- ♥ *En souvenir des moments heureux que nous avons passés ensemble, je vous souhaite tout le meilleur, bonheur, santé et prospérité.*

Et une dédicace spéciale à feu tante Ma grand père Mosbah, que Dieu lui fasse miséricorde.

Dédicace

- ♥ *Je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

A mon cher père :

- ♥ *Toute l'encre du monde ne suffit pas à exprimer mes sentiments pour une personne très chère, tu as toujours été mon professeur de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Tu resteras pour moi ma référence, la lumière qui éclaire mon chemin.*

A ma chère mère :

- ♥ *La femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.*

A mon cher frère Mohamed ,Sohaib ,Hani et Anes et :

- ♥ *En gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.*

A mes belles sœurs Anfel:

- ♥ *Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez donné, petit ou grand, et je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de succès et de prospérité.*

A la petite famille Djoudi :

- ♥ *Ce qui apporte joie et bonheur à toute la famille.*

A toute la chère famille :

- ♥ *Aucune langue ne peut exprimer mon respect et ma gratitude pour votre soutien et vos encouragements. Je te dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que tu me donnes au quotidien et de ta gentillesse exceptionnelle. Que Dieu Tout-Puissant vous bénisse et vous accorde santé et bonheur.*

Et une dédicace spéciale à feu grand-mère aïcha, que Dieu lui fasse miséricorde.

A mes chères ami Dj Hatem , Fakhri ,Ahmed, Abdelhai ,Djaoued , Hicham ,Baker , Said , BaHa et Dr Tag eddin

Et une dédicace spéciale mon prof mem Bousbia Brahim Aida,pour son éducation et ses conseils pour moi, que Dieu prolonge sa vie et la guide vers d'autres succès à venir

L'équipe du Réal Madrid:

- ♥ *Merci à tous les joueurs d'avoir remporté la Ligue des champions pour la 14e fois, en particulier **Federico Valverde Karim Benzema et Thibaut Courtois***

ZAKARIA
ZAKARIA

Dédicace

- ♥ *Je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

A mon cher père :

- ♥ *Toute l'encre du monde ne suffit pas à exprimer mes sentiments pour une personne très chère, tu as toujours été mon professeur de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Tu resteras pour moi ma référence, la lumière qui éclaire mon chemin.*

A ma chère mère :

- ♥ *La femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.*

A mon cher frère et sa femme Nasreddin et Layla :

- ♥ *En gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.*

A mes belles sœurs Fatiha, Thouraya, Sihame, Hajar, et Rahima :

- ♥ *Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez donné, petit ou grand, et je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de succès et de prospérité.*

A la petite famille Razan:

- ♥ *Ce qui apporte joie et bonheur à toute la famille.*

A mon ami et mon amour Wiame :

- ♥ *Je ne trouve pas les mots justes et sincères pour vous exprimer mon amour et mes pensées. Je vous dédie ce travail et vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

A toute la chère famille :

- ♥ *Aucune langue ne peut exprimer mon respect et ma gratitude pour votre soutien et vos encouragements. Je te dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que tu me donnes au quotidien et de ta gentillesse exceptionnelle. Que Dieu Tout-Puissant vous bénisse et vous accorde santé et bonheur.*

Et une dédicace spéciale à feu tante Masouda, que Dieu lui fasse miséricorde.

*A mes chères ami ******

- ♥ *Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

Résumé

Résumé

Ce travail vise la contribution à l'étude phytochimique et la capacité antioxydante de l'extrait de *Papaya carica* L. de la région d'Oued Souf L'extrait a été obtenu par macération des feuilles de papaya: MeOH (99%), ce dernier a donné un rendement plus important.

La teneur en polyphénols et en flavonoïdes a été enregistrée dans l'extrait méthanolique des feuilles de papaya avec (69.833 ± 1.663 mg EAG/g Ex ; 8.505 ± 0.354 mg EQ/g Ex respectivement).

L'analyse qualitative par HPLC a révélé la présence de 48 composés phénoliques dont 6 ont été identifier.

Acide gallique, Acide chlorogénique, Acide vanillique, Acide cafeique, Acide p-Coumarique, Naringine

L'activité antioxydante in vitro a été étudiée avec deux méthodes différentes. Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique de feuilles de papayer a une capacité une inhibitrice IC_{50} de DPPH* de $69,021 \mu\text{g/ml}$ par rapport au BHT qui a donné $58,43 \mu\text{g/ml}$, et le même extrait a donné $3,229$ mg équivalent d'acide ascorbique/g de l'extrait pour le test FRAP.

L'étude a également révélé la présence d'une activité anti-inflammatoire et une valeur nutritionnelle importante en protéines, de carbohydrates et lipides.

Mots clés : *Papaya carica* L, Polyphénols, Flavonoïdes, HPLC, La région d'Oued Souf , activité antioxydante.

Abstract

This work aims to the contribution to the phytochemical study and the antioxidant of extract of *Papaya carica* L from the region El Oued. The extracts were obtained by maceration of leaves of papaya using: MeOH (99%), the latter gave a higher yield.

The highest total phenolic and flavonoid contents was recorded in the methanolic extract of leaves of papaya with (69.833 ± 1.663 mg EAG/g Ex; 8.505 ± 0.354 mg EQ/g Ex respectively).

Qualitative HPLC analysis revealed the presence of 48 phenolic compounds which six of them are identify.

Acide gallique, Acide chlorogénique, Acide vanillique, Acide cafeique, Acide p-Coumarique, Naringine

Antioxidant activity in vitro has been studied with two different methods. The results showed that the methanolic extract of papaya leaves gave a DPPH* inhibitory IC₅₀ of 69.021 µg/ml compared to BHT which gave 58.43 µg/ml, and the same extract gave 3.229 mg equivalent of ascorbic acid/g extract in the FRAP test.

The study also revealed the presence of anti-inflammatory activity in addition to the presence of a significant amount of proteins, carbohydrates and lipids.

Keywords: *Papaya carica* L, Polyphenols, Flavonoids, HPLC, antioxidant activity, the region El Oued .

ملخص

الهدف المنشود من خلال هذا العمل هو المساهمة في الدراسة الكيميائية النباتية والقدرة المضادة للأكسدة لمستخلص *Papaya carica L* لمنطقة الوادي. تحصلنا على المستخلص بنقع أوراق البابايا في: ميثانول (99%) هذا الأخير اعطى مردود مهم.

تم تسجيل محتوى إجمالي لعديد الفينول والفلافونويد في المستخلص الميثانولي لأوراق البابايا مع (69.833 ± 1.633 مغ مكافئ من حمض الغاليك/غ من المستخلص؛ 8.505 ± 0.354 مغ من مكافئ الكرسيتين/غ من المستخلص على التوالي).

كشفت التحليل الكيفي عن طريق HPLC وجود أكثر من 48 مركبا فينوليا حيث تم التعرف على ستة منها .

Acide gallique, Acide chlorogénique, Acide vanillique, Acide cafeique, Acide p-Coumarique, Naringine

تمت دراسة نشاط مضاد الأكسدة في المختبر بطريقتين مختلفتين. أوضحت النتائج أن المستخلص الميثانولي لأوراق البابايا أعطى IC_{50} المثبطة لـ DPPH* من 69.021 ميكروغرام/مل مقارنة بـ BHT الذي أعطى 58.43 ميكروغرام/مل، وأعطى نفس المستخلص 3.229 مغ مكافئ من حمض الاسكوربيك/غ من المستخلص في اختبار FRAP.

أيضا كشفت الدراسة عن وجود فعالية مضادة للالتهاب الى جانب وجود كمية معتبرة من البروتينات، الكربوهيدرات والدهون.

الكلمات المفتاحية: *Papaya carica L* ، الفينولات الكلية، الفلافونيدات، HPLC، منطقة الوادي ، نشاط

مضاد للأكسدة.

Remerciements		
Dédicace		
Résumé		
Liste des tableaux		
Liste des figures		
Liste des abréviations		
Introduction		1
	Références.....	3
Partie Théorique		
Chapitre I: Etude botanique		
I.1.	Famille des Caricaceae.....	4
I.2.	Classification	4
I.3.	Genre Carica	5
I.4.	Espèce Carica papaya L.....	5
I.5.	Répartition géographique	6
I.6.	Description botanique	6
I.6.1.	Aspect général	6
I.6.2.	Les feuilles	7
I.6.3	Les fleurs	7
I.6.4	Le fruit	7
I.7.	Utilisations traditionnelles du Carica papaya L	10
I.7.1	Potentiel thérapeutique de Carica papaya L.....	10
I.7.2	Propriétés pharmacologiques de Carica papaya L	11
I.7.3	Compléments alimentaires et interactions médicamenteuses.....	11
	Références.....	12
Chapitre II: Les composés phénoliques		
II.1.	Généralités sur les composés phénoliques.....	15
II.2.	Structure et classification des composés phénoliques.....	15

TABLES DES MATIERES

II.2.1.	Les composés non-flavonoïdes.....	15
II.2.1.1.	Les acides phénoliques.....	16
II.2.1.2.	Les stilbènes.....	16
II.2.2.	Les composés flavonoïdes.....	16
II.3.	Les composés phénoliques bioactives de papaya	18
II.3.1.	Les acides phénoliques.....	18
II.3.2.	Les flavonoïdes.....	19
	Références.....	20
Chapitre III:Antioxydants		
III.1.	Définition de l'antioxydants.....	22
III.2.	Classement des antioxydants	22
III.2.1	Antioxydants enzymatiques	23
III.2.1.1	Superoxyde dismutase « SOD »	23
III.2.1.2.	Catalase :	23
III.2.2.	Antioxydants non enzymatiques	24
III.2.2.1	Vitamine C	24
III.2.2.2.	Vitamine E	24
III.3	Radicaux libres	24
III.3.1	Radical superoxyde O ₂	25
III.3.2.	Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂	25
III.3.3.	Radicaux hydroxyles OH [•]	25
III.4	Sources de radicaux libres	26
III.4.1	Sources internes	26
III.4.2.	Sources externes	26
III.5.	Dommages des radicaux libres	27
III.5.1.	Effets sur les lipides	27
III.5.2.	Effets sur les protéines.....	27
III.5.3.	Effets sur les acides nucléiques.....	27

III.6	Définition du stress oxydant	28
	Références.....	29
Partie Pratique		
Chapitre IV: Matériels et Méthodes		
IV.1.	Matériels.....	31
IV.1.1.	Matériel végétal.....	31
IV.2.	Méthodes.....	32
IV.2.1.	Méthodes utilisées avant la préparation de l'extrait	32
IV.2.2.	Préparation de l'extrait méthanolique	32
IV.2.3.	Estimation du taux de rendement	33
IV.2.4.	Humidité	33
IV.2.5.	Minéraux.....	34
IV.2.6.	Préparation de l'extrait pour la détermination des métabolites primaires (protéines, carbohydrates et les lipides).....	34
IV.2.6.1.	Quantification des carbohydrates.....	36
IV.2.6.1.1.	Préparation de la solution étalon des carbohydrates.....	36
IV.2.6.1.2.	Étapes pratiques pour l'estimation.....	36
IV.2.6.2.	Quantification des protéines.....	37
IV.2.6.2.1.	Préparation des solutions.....	37
IV.2.6.2.2.	Préparation de la solution étalon des protéines.....	37
IV.2.6.2.3.	Étapes pratiques pour l'estimation.....	37
IV.2.6.3.	Quantification des lipides.....	38
IV.2.6.3.1	Préparation de la solution lipidique standard.....	38
IV.2.6.3.2	Préparation des solutions de réactif Sulfophosphvanillinique.....	38
IV.2.6.3.3	Étapes pratiques pour l'estimation.....	38
IV.2.7.	Etude phytochimique d'extrait.....	39
IV.2.7.1.	Dosage des polyphénols totaux.....	39
IV.2.7.2.	Dosage des flavonoïdes totaux.....	41
IV.2.7.3.	Analyse chromatographique d'extrait étudié par chromatographie liquide	42

TABLES DES MATIERES

	haute performance (HPLC).....	
IV.2.8.	Evaluation de la capacité antioxydante.....	43
IV.2.8.1.	Test d'inhibition des radicaux libres DPPH*.....	43
IV.2.8.2.	Test de réflexologie du fer FRAP.....	45
IV.2.8.3.	Evaluation de l'Activité anti –inflammatoire.....	46
IV.2.9.	Caractérisation de l'extrait méthanolique de Papaya.....	46
IV.2.9.1.	Spectromètre infrarouge.....	46
IV.2.9.2.	Test Microscopie Electronique à Balayage (MEB).....	47
IV.2.9.3.	Spectrométrie sélective en énergie (EDS-X).....	47
	Références.....	48
Chapitre V: Résultats et discussion.		
V.1.	Résultats	51
V.1.1	Rendement d'extrait méthanolique du Papaya.....	51
V.1.2	Humidité.....	51
V.1.3	Minéraux.....	52
V.1.4.	Estimation quantitative des métabolites primaires (Carbohyrates, Protéines, Lipides).....	52
V.1.5.	étude phytochimique d'extrait méthanolique de papaya.....	53
V.1.5.1.	Teneur quantitative en polyphénols et Flavonoïdes.....	53
V.1.5.2.	Analyse chromatographique des extrait étudié par chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	54
V.1.6.	Capacités antioxydante d'extrait méthanoliques de Papaya.....	56
V.1.6.1.	Test de DPPH'	56
V.1.6.2.	Test de FRAP	58
V.1.7.	Activité anti –inflammatoire	59
V.1.8.	Caractérisation d'extait méthanolique de Papaya	59
V.1.8.1.	Interprétation FTIR.....	59
V.1.8.2.	Interprétation MEB	61
V.1.8.3.	Interprétation EDX	61
V.2.	Discussion.....	62

TABLES DES MATIERES

V.2.1	Rendement.....	62
V.2.2	Humidité.....	63
V.2.3	Minéraux.....	63
V.2.4	Carbohydrates.....	64
V.2.5	Protéines.....	64
V.2.6	Lipides.....	64
V.2.7	Polyphénols totaux et Flavonoïdes.....	65
V.2.8	Analyse chromatographique des extrait étudié par chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	65
V.2.9.	Capacités antioxydante d'extrait méthanoliques de Papaya.....	66
V.2.9.1.	Test de DPPH*.....	66
V.2.9.2.	Test de FRAP.....	66
V.2.10.	Anti-inflammatoire.....	67
	Références.....	68
Conclusion.....		73

Tableau I.1:	Présentation des papayacées.....	4
Tableau I.2:	récapitulatif de la classification des caricacées	5
Tableau I.3:	Tableau récapitulatif de la composition de la <i>Carica papaya</i> L. verte et mûre, des feuilles et de la graine pour cent grammes de matière fraîche...	8
Tableau I.4:	Composition de la pulpe de papaya, <i>Carica papaya</i> L. (valeur nutritionnel).....	9
Tableau IV.1:	Méthodes utilisées avant la préparation de l'extrait	32
Tableau V.1:	Les structures chimiques des composés connus obtenues à partir de l'analyse chromatographique des extraits végétaux étudiés.....	53
Tableau V.2:	Les Ondes principales dans l'extrait méthanolique de Papaya	58
Tableau V.3:	Les bandes principales dans l'extrait méthanolique de Papaya	60

Figure I.1:	zone de culture de papaya.....	6
Figure II.1:	La classification, les structures chimiques et les nomenclatures des composés phénoliques.....	17
Figure II.2:	Structure des acides phénoliques présents dans la papaya	18
Figure II.3:	Structure des flavonoïdes présents dans Papaya	19
Figure III.1:	Complexe de vitamine C	24
Figure III.2:	Complexe de vitamine E.....	24
Figure III.3:	Sources de radicaux libres	26
Figure IV.1:	Papaya (<i>Carica papaya</i> .L).....	31
Figure IV.2:	Carte de l'Algérie représentant la Wilaya d'El-Oued	31
Figure IV.3:	Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de <i>Carica papaya</i> L.	33
Figure IV.4:	Schéma montrant les étapes d'extraction des carbohydrates, des protéines et des lipides	35
Figure IV.5:	Courbe standard du glucose pour le dosage des carbohydrates	36
Figure IV.6:	Courbe standard BSA de la protéine	38
Figure IV.7:	Courbe standard de l'huile de soja.....	39
Figure IV.8:	Courbe standard d'acide gallique	40
Figure IV.9:	Protocole de Dosage des polyphénols totaux	40
Figure IV.10:	Protocole de Dosage des flavonoïdes totaux	41
Figure IV.11:	Courbe standard de la quercétine	42
Figure IV.12:	high-performance liquid chromatography (HPLC).....	42
Figure IV.13:	Effet de piégeage du radical DPPH* par l'acide ascorbique.....	44
Figure IV.14:	Effet de piégeage du radical DPPH* par BHT.....	44
Figure IV.15:	Courbe standard de Vitamin C pour le test de reflux de fer FRAP.....	46
Figure V.1:	Le rendement méthanolique des feuilles de <i>Papaya carica</i> L.....	51
Figure V.2:	L'humidité des feuilles de <i>Carica papaya</i> L.....	51
Figure V.3:	Taux des minéraux de <i>Papaya carica</i> L.....	52
Figure V.4:	Teneur quantitative en carbohaydrates, protéines et lipides (mg/g, MS) des feuilles de <i>Papaya carica</i> L.....	52

LISTE DES FIGURES

Figure V.5:	Teneur quantitative en polyphénols en (mg EQ/g Ex) et des flavonoïdes en (mg C AG/g Ex) de l'extrait méthanolique de papaya.....	53
Figure V.6:	Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de Papaya (1) Acide gallique (2) Acide chlorogénique (3) Acide vanillique (4) Acide cafeique (5) Acide p-Coumarique (6) Naringine.....	54
Figure V.7:	Composés phénoliques détectés dans l'extrait méthanolique de Papaya	56
Figure V.8:	Effet de piégeage du radical DPPH* par l'extrait de papaya.....	57
Figure V.9:	Valeurs d'IC50 inhibitrices pour 50 % du DPPH* des feuille de papaya, acide ascorbique et butylhydroxytoluène (BHT).....	57
Figure V.10:	Effet de piégeage du fer FRAP par l'extrait de papaya.....	58
Figure V.11:	L'absorbance optique du mélange réactionnel de l'extrait méthanolique et de l'acide ascorbique pour le test FRAP	58
Figure V.12:	courbe d'étalonnage diclofénac de sodium pour évaluer l'activité anti – inflammatoire (teste dénaturation de l'albumine).....	59
Figure V.13:	enregistrement des différentes pics de FTIR en fonction de longueur d'onde	60
Figure V.14:	Photographie prise par MEB	61
Figure V.15:	Spectre EDX	61

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acide Ascorbique (Vitamine C)

Abs : Absorbance .

AC : Chlorogenic acid

ACF : caffeic acid

AG : gallic acid

AV : Vanilic acid

BHA: Beta Hydroxy Acids

BHT : Butyle Hydroxy

BSA: Bovine serum albumin

DPPH : Radical 2,2 - Diphenyl - 1Picrylhydrazil .

EDX : Energy-dispersive X-ray

FAO: Food and Agriculture Organization

FEG: Field Emission Gun

FRAP : The iron-reducing capacity of plasma

FTIR : Fourier transform infrared

HPLC : High Performance Liquid Chromatographie I

I % : Percentage of Inhibition.

IC50 : Inhibition Concentration 50 % .

LaB6: Lanthanum hexaboride

MEB : Scanning Electron Microscopy

MeOH : Méthanol .

Mg Diclo / g MS : Milligram Diclofenac Equivalent on Gram of Extract Material.

Mg EAG / g ME : Milligram Equivalent Gallic Acid on Gram of Extract Material..

Mg Equ / g MS : Milligram Quercetin Equivalent on Gram of Extract Material..

Nar : Naringin

Na₂CO₃ : Sodium Carbonate

NaOH : sodium hydroxide.

PAC : P-coumaric acid

Pf : Papaya leaves

R % : Percentage Yield.

LISTE DES ABREVIATIONS

- ROS** : Reactive Oxygen Species .
- SEM**: Scanning electron microscope
- SOD** : Superoxide dismutase
- TCA** : Trichloroacetic Acid
- USDA**: United States Department of Agriculture

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, les hommes ont utilisé diverses ressources tels que les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale afin de traiter diverses sortes de maladies bénignes comme la toux allergique et rhume, ou plus sérieuses (malaria et la tuberculose ... etc...) pour améliorer la santé humaine (Benhammou, 2011). Il est estimé qu'environ deux tiers de la population mondiale, recourent à la médecine traditionnelle pour leurs traitement puisque les plantes médicinales contiennent beaucoup des principes actifs ayant une majeure partie thérapeutique (Laouni, 2014). En effet, elles représentent une source très riche et diversifiée pour la production de composés phytochimiques aux structures privilégiées qui sont utilisés contre plusieurs maladies complexes (Muanda, 2010).

En dépit du progrès enregistrés au cours du XXe siècle dans la chimie organique de synthèse, environ un quart des médicaments prescrits dans les pays industrialisés proviennent des plantes, directement ou indirectement (Newman et al., 2000). Il faut prêter attention à de nombreuses plantes qui n'ont pas encore été étudiées non seulement pour déterminer leurs propriétés mais aussi pour mieux caractériser et valoriser leur contenu en molécules bioactives qui attendent d'être découverts. Ces plantes représentent une immense source des composés phénoliques, l'extraction brute, naturel à partir d'espèces de plantes est une étape très importante pour l'utilisation en médecine traditionnelle (Karmakar et al., 2011).

Les dommages résultants du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées sont considérés comme le facteur principal des dégénérescences cellulaires entraînant de différents états pathologiques tels que le cancer et l'Alzheimer ... etc. Ce processus peut être retardé voire partiellement réduit, par l'action de molécules dites antioxydantes (Benhammou, 2011). Les antioxydants naturels peuvent protéger le corps humain et entrer radicalement dans la compétition pour éviter la réaction radicale sans effets secondaires contre diverses maladies causées par les radicaux libres, en contraste complet les antioxydants synthétiques tels que le butyl hydroxytoluène (BHT) et le butyl hydroxyanisole (BHA) peuvent causer des risques potentiels en raison de leurs toxicité (Amari, 2015). Cette raison semble justifier l'intérêt accru pour la recherche des molécules bioactives naturelles ces dernières années.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires et l'un des composés les plus importants et les plus largement distribués dans les plantes, avec au moins 10 000 combinaisons différentes de flavonoïdes (une classe de polyphénols) actuellement connues

dans le règne végétal (Mahfoudi, 2018). Ces composés jouent un bon rôle en tant qu'inhibiteur qui combat les radicaux libres, donc une bonne activité en tant qu'antioxydant et peuvent également avoir diverses applications thérapeutiques telles que anti-allergique, anticancéreux, anti-diabétique, anti-inflammatoire et anti-microbienne (Chakar, 2018).

L'Algérie est considérée comme l'un des nouveaux pays dans la culture de la papaya (*Carica papaya*), bien qu'il s'agit d'un fruit tropical, car ce fruit s'est adapté aux conditions climatiques de cette région, et récemment il a été testé dans la région d'Oued Souf, qui a un climat désertique. Malgré tout cela, il s'est adapté et il a donné des résultats impressionnants dignes d'être étudiés pour toutes les parties du fruit, des racines aux feuilles en raison de leurs valeurs nutritives.

Ce travail est axé vers la quantification de composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes) et la détermination de la composition chimique des polyphénols par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) de l'extrait méthanolique de feuilles de *Papaya carica* L. et son activité antioxydante et anti-inflammatoire.

Ce mémoire est subdivisé en cinq chapitres. Le premier chapitre comporte un rappel des principales données bibliographiques et présentation botanique de *Carica papaya*. Le deuxième chapitre présente un aperçu général sur les polyphénols ainsi les principes actifs contenus dans le papaya. Le troisième chapitre propose une introduction aux antioxydants. Le quatrième chapitre concerne les travaux expérimentaux et les conditions expérimentales appropriées ayant été utilisées pour mener cette étude. Le cinquième chapitre a été consacré à la présentation des résultats phytochimiques de la préparation de l'extrait méthanolique de feuilles de *Papaya carica* L., la quantification des composés phénoliques totaux et flavonoïdes, la quantification des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), les résultats d'évaluation de la capacité antioxydante et anti-inflammatoire.

Au terme de ce mémoire, une conclusion générale récapitulera les principaux résultats obtenus durant ce travail.

Références

- Amari NO. (2015). Etude Phytochimique, Potentiel Antioxydant et Activité antifongique de *Thymelaea hirsuta* (Cas des dermatophytes). Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.
- Benhammou N. (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen.
- Chacar S. (2018). Effet des composés phénoliques sur le vieillissement cardiaque et rénal: étude expérimentale chez le rat. Thèse de doctorat. Université de Poitiers.
- Karmakar I, Dolai N, Saha P, Sarkar N, Bala A et Kanti P. (2011). Scavenging activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental medicine*, 11: 221-228.
- Laouini SE. (2014). Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Thèse de doctorat. Université Mohamed Khider, Biskra.
- Mahfoudi R. (2018). Contribution à l'étude de la relation structure-activité antioxydante des flavonoïdes synthétisés. Thèse de doctorat. Université Amar Telidji de Laghouat.
- Muanda FN. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. Ecole doctorale SESAMES Université Paul Verlaine-Metz.
- Newman D J, Cragg GM et Snader KM. (2000). The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Report*, 17: 215-234.

Partie

Théorique

Chapitre I

Etude botanique

I.1. Famille des Caricaceae:

La famille des Caricacées, appelée Papayacées, regroupe 6 genres : *Carica*, *Cylicomorpha*, *Horovitziana*, *Jacaratia*, *Jarilla*, *Vasconcellea* et 35 espèces. Le genre le plus représenté est le genre *Carica* avec vingt -une espèces à lui-seul.

Les Caricacées sont originaires d'Amérique et d'Afrique de l'Ouest. Aujourd'hui, elles sont retrouvées en majeure partie dans les régions subtropicales à tropicales, et essentiellement en Amérique du Sud.(Claire-Marie. Fabert, 2011).

Tableau I.1 : Présentation des papayacées (Sastre, C., Breuil, A. 2007)

Genre	Exemple d'espèce
<i>Carica</i>	<i>Carica papaya</i>
<i>Cylicomorpha</i>	<i>Cylicomorpha parviflora</i>
<i>Horovitziana</i>	<i>Horovitziana cnidoscoloides</i>
<i>Jacaratia</i>	<i>Jacaratia digitata</i>
<i>Vasconcellea</i>	<i>Vasconcellea cauliflora</i>
<i>Jarilla</i>	<i>Jarilla caudata</i>

Il s'agit de petits arbres à l'aspect de palmiers, d'arbustes ou parfois de plantes herbacées. Les Caricacées possèdent de grandes feuilles palmées, longuement pétiolées, à sept ou neuf lobes. Leurs feuilles sont regroupées au sommet du tronc. Elles sont caractérisées par la production d'un latex blanc. (Claude Sastre, 2007).

I.2. Classification :

Les Caricacées sont des Angiospermes puisque leurs ovules sont protégés par un ovaire complètement clos qui, à maturité, donnera le fruit contenant la graine. (Émile Littré 1801-1881).

Cette famille appartient aux Eu-Dicotylédones ou Dicotylédones vraies du fait de la présence de deux cotylédons dans la graine, un cotylédon étant une feuille embryonnaire.

Les Caricacées font partie de l'ordre des Brassicales. (Haston, E *et al.*, 2009)

Tableau I .2 : récapitulatif de la classification des caricacées :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Eu-Dicotylédones
Division	Rosides
Classe	Malvides
Ordre	Brassicales
Famille	Caricaceae

I.3. Genre *Carica*:

Le genre *Carica* tire son nom de la ressemblance des feuilles avec celles du Figuier, *Ficus carica* L.

Les espèces les plus répandues sont *Carica papaya* L., *Carica chrysophila*, *Carica pentagona* ou Babaco qui est un arbre fruitier et *Carica pubescens*.

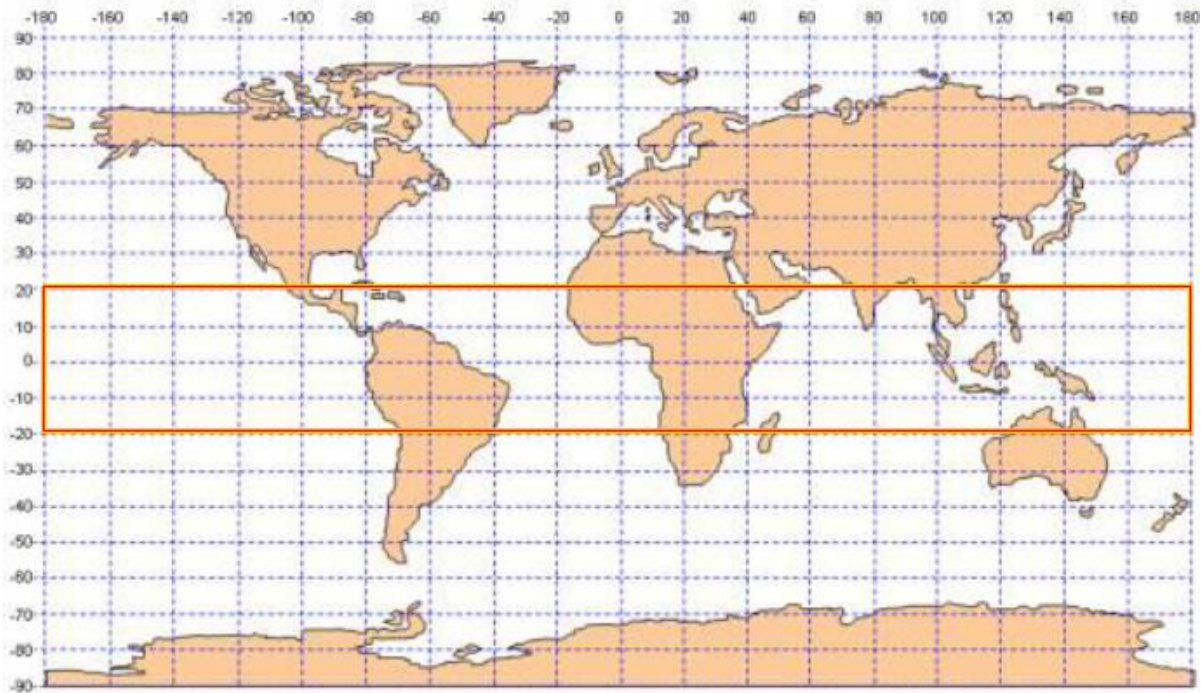
L'espèce *Carica pubescens* possède des feuilles utilisées en horticulture, elle présente un intérêt du fait de sa résistance aux petites gelées brèves d'environ moins trois degrés Celsius. Les fruits sont consommés en sorbets, ou cuits sous la forme de conserves ou de marmelades en Amérique du Sud et à Java. Ils sont à la base de boissons rafraîchissantes dans les Andes. Claire-Marie. Fabert, (2011).

I.4. Espèce *Carica papaya* L.

Il existe une cinquantaine de cultivars de Papaya nées de divers croisements et mutations. Nous nous intéresserons à l'espèce *Carica papaya* L. son fruit la papaye aussi appelée « Papaya » en Espagne, « Mamas » au Brésil, « Fruta de bomba » dans certaines parties des Caraïbes, « melon zapote » au Mexique et « Papaw » en Australie. (Marguerita Enrico, 2008).

I.5. Répartition géographique :

Papaya, *Carica papaya* L., serait originaire du Mexique. Il est cultivé dans de nombreux pays tropicaux, notamment aux Antilles, au Brésil et en Amérique centrale. Il fut introduit en Malaisie et aux Philippines par les Portugais et les Espagnols, ce qui explique sa diffusion jusqu'en Asie tropicale. (P. Delaveau , 1984).



— zone de culture du Papayer

Figure I.1: zone de culture de papaya (P. Delaveau , 1984).

I.6. Description botanique :

I.6.1. Aspect général :

Le Papaya est un petit arbre de trois à dix mètres de hauteur, à port de palmier. Son tronc charnu porte des cicatrices en losanges, empreintes laissées par la chute des feuilles. Il est droit, cylindrique, nu et couronné d'un bouquet de feuilles. (P. Delaveau, 1984).

Il s'agit d'un arbre le plus souvent dioïque, c'est-à-dire que l'on retrouve des pieds mâles et des pieds femelles, mais certaines espèces cultivées peuvent avoir des pieds bisexués, on retrouve alors sur le même tronc des fleurs mâles et femelles (monoïques). (Fabrice le Bellec, 1997). Le tronc du Papayer est le plus souvent non-ramifié. (Gérard Debuigne, 2009).

I.6.2. Les feuilles :

Les feuilles du Papaya se présentent sous la forme d'un bouquet terminal à l'extrémité du tronc, elles peuvent atteindre jusqu'à soixante centimètres de longueur.

Elles sont longuement pétiolées, ce qui signifie que la feuille possède un long pédoncule pouvant atteindre jusqu'à un mètre, située juste avant la feuille proprement dite.

Elles sont palmatilobées à sept ou neuf lobes, c'est-à-dire possédant des lobes formant un aspect de main, de palme. (Loïc Girre ,2006) ;(Bernard Boullard ,2001). Le feuillage est persistant. (Gérard Debuigne, 2009).

La face supérieure des feuilles est vert mat et la face inférieure présente une pruine blanchâtre. (Olivier Carsenti, 2009).

I.6.3. Les fleurs :

Papaya est, comme nous l'avons vu précédemment, généralement une plante dioïque. Les fleurs mâles sont retrouvées groupées à l'aisselle des feuilles, alors que les fleurs femelles de plus grande taille (de 2,5 à 5 centimètres) sont réparties sur la partie supérieure du tronc. (Loïc Girre ,2006).

Les fleurs sont de couleur blanche, qu'elles soient mâles ou femelles. (Bernard Boullard ,2001).

Les fleurs mâles, ramifiées, sont situées sur de longues panicules. Leur corolle qui représente l'ensemble des pétales, forme un tube grêle renfermant dix étamines (cinq longues et cinq courtes). (Claude Sastre, 2007).

Les fleurs femelles sont regroupées par deux ou trois. Elles possèdent cinq sépales, cinq pétales bien distincts, cinq carpelles formant un ovaire uniloculaire à placentation pariétale surmonté par cinq stigmates (qui sont des parties renflées destinées à recevoir le pollen). Ce sont les fleurs femelles qui donneront le fruit. (Grandvaux, M. Leboeuf, 1986)

I.6.4. Les fruits :

Le fruit du Papaya est appelé papaye. Il s'agit d'une baie à péricarpe coriace, appelée péponide, riche en vitamines, longue de quinze à quarante centimètres pour un diamètre de sept à 25 cm. Elle possède une forme ovoïde ou arrondie rappelant la courge ou le melon et

est marquée d'angles saillants. Son poids varie de 500 g à huit kg. les fruits sont groupés deux ou trois. (Velnar, T *et al.*, 2009).

L'écorce de la papaye passe du vert au jaune-orangé à maturité. Sa chair est de couleur orangée, parfois rouge. (Claude Sastre, 2007) ;(P. Delaveau, 1984).

La cavité centrale renferme des graines noires ou grisâtres de saveur piquante contenues dans un mucilage. (Gérard Debuigne, 2009);(Jean Bruneton, 2009).

Tableau I.3 : Tableau récapitulatif de la composition de la *Carica papaya* L. verte et mûre, des feuilles et de la graine pour cent g de matière fraîche. (Velnar, T *et al.*, 2009).

	Fruit vert	Fruit mûr	Feuille	Graine
Calories (cal)	26	45	74	
Eau (g)	92,1	87,1	77,5	
Protéines (g)	1,0	0,5	7	24,3
Graisses (g)	0,1	0,1	2	25,3
Carbohydrates(g)	6,2	11,8	11,3	15,5
Fibres (g)	0,9	0,5	1,8	17
Cendres (g)	0,6	0,5	2,2	8,8
Calcium (mg)	38	24	344	
Phosphore (mg)	20	22	142	
Fer (mg)	0,3	0,7	0,8	
Sodium (mg)	7	4	16	
Potassium (mg)	215	221	652	
β-carotène (µg)	15	710	11,565	
Thiamine (mg)	0,02	0,03	0,09	
Riboflavine (mg)	0,03	0,05	0,48	
Niacine (mg)	0,3	0,4	2,1	
Vitamine C (mg)	40	73	140	
Vitamine E (mg)			36	

Tableau I.4: Composition de la pulpe de papaya, *Carica papaya* L. (valeur nutritionnel) (Jean-Claude Favier *et al.*, 1993).

	Constituants	Unité	Moyenne	Minimum	Maximum	Effectif
Constituants majeurs	Proportion Comestible		0,74	0,67	0,8	33
	Energie	Kcal / 100 g	32,0			
	Energie	KJ / 100 g	137,0			
	Eau	g / 100 g	89,4	83,0	92,0	93
	Protéines	g / 100 g	0,5	0,3	0,8	82
	Lipides totaux	g / 100 g	0,1	0,1	0,3	61
	Glucides disponibles	g / 100 g	7,8			
	Fructose	g / 100 g	2,5			
	Glucose	g / 100 g	2,5			
	Saccharose	g / 100 g	2,8			
	Amidon	g / 100 g	0,0			
	Fibres alimentaires	g / 100 g	1,9	1,7	2,5	12
Minéraux	Sodium	mg / 100 g	3,0	2,0	7,0	24
	Potassium	mg / 100 g	214,0	140,0	312,0	23
	Calcium	mg / 100 g	20,0	8,0	42,0	58
	Magnésium	mg / 100 g	13,0	6,0	41,0	29
	Fer	mg / 100 g	0,4	0,1	2,5	70
	Cuivre	mg / 100 g	0,02	0,01	0,1	20

	Zinc	mg / 100 g	0,1	0,05	0,3	9
	Phosphore	mg / 100 g	11,0	4,0	30,0	66
Vitamines	β -carotène	μ g / 100 g	948,0	117,0	1544,0	38
	Vitamine C	mg / 100 g	64,0	22,0	130,0	31
	Thiamine	mg / 100 g	0,03	0,02	0,06	39
	Riboflavine	mg / 100 g	0,03	0,03	0,05	41
	Niacine	mg / 100 g	0,4	0,2	0,6	35
	Acide Panhoténique	mg / 100 g	0,22	0,22	0,22	2
	Vitamine B6	mg / 100 g	0,02	0,02	0,03	3
	Folates totaux	μg / 100 g	45,0	38,0	63,0	5

I.7 Utilisations traditionnelles du *Carica papaya* L. :

Carica papaya L. une source importante de suppléments nutritionnels non vitaminiques (Scarborough, 2004).

I.7.1 Potentiel thérapeutique de *Carica papaya* L. :

Efficacité clinique de *Carica papaya* L. dans la dengue. (Charan *et al.*, 2016).

Potentiel thérapeutique de *Carica papaya*.L dans le vieillissement. (Bertuccelli *et al.*, 2016), dans la cicatrisation des plaies. (Velnar *et al.*, 2009), dans la parodontite. (Kharaeva *et al.*, 2016), dans le diabète sucré. (Gbolade, 2009), dans l'hypertension. (Eno *et al.*, 2000), dans les infections microbiennes. (Ohene-Agyei *et al.*, 2014), dans le cancer (Nguyen *et al.*, 2013, 2015; Pandey *et al.*, 2017),et un potentiel anti falciforme (Thomas et Ajani, 1987)

I.7.2 Propriétés pharmacologiques de *Carica papaya* L. :

Propriétés antioxydantes de *Carica papaya*.L (Somanah *et al.*, 2017)

Propriétés anti-inflammatoires de *Carica papaya* .L(Rakhimov *et al.*, 2000)

Propriétés immune modulatrices de *Carica papaya*.L (Pandey *et al.*, 2016).

I.7.3 Compléments alimentaires et interactions médicamenteuses :

Interactions entre *Carica papaya*.L et les médicaments (Rodríguez-Fragoso *et al.*, 2011), les médicaments antidiabétiques (Fakeye *et al.*, 2007), les médicaments antipaludiques (Onaku, *et al.*, 2011), les médicaments antimicrobiens (Imaga *et al.*, 2012), et plusieurs herbes dans des préparations multi-herbes(Arrey Tarkang *et al.*, 2013).

Reference :

- Arrey Tarkang, P., Nwachiban Atchan, A. P., Kuate, J. R., Okalebo, F. A., Guantai, A. N., & Agbor, G. A. (2013). Antioxidant potential of a polyherbal antimalarial as an indicator of its therapeutic value. *Advances in pharmacological sciences*, 2013.
- Bernard Boullard (2001). 236. *Carica papaya L.* In Dictionnaire : plantes médicinales du monde, réalités et croyance. St Just-la-Pendue : édition Estem, 2001. P106
- Bertuccelli, G., Zerbinati, N., Marcellino, M., Nanda Kumar, N. S., He, F., Tsepakolenko, V., ... & Marotta, F. (2016). Effect of a quality-controlled fermented nutraceutical on skin aging markers: An antioxidant-control, double-blind study. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 11(3), 909-916.
- Claire-Marie Fabert. (2011) Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Le papayer, carica papaya L., de la médecine traditionnelle à la médecine actuelle. Etudes botanique et pharmacognosique. 2011.
- Claude Sastre, Anne Breuil (2007). *Phanérogames : Angiospermes : Dicotylédones : les Caricacées.* In Plantes, milieux et paysages des Antilles françaises : Ecologie, biologie, identification, protection et usages. Mèze : collection Parthénope,. P491-492.
- Dictionnaire de la langue française.* Paris : Hachette éditions, 1990. 1407 P.
- Du, D., Wang, Z., James, N. R., Voss, J. E., Klimont, E., Ohene-Agyei, T., ... & Luisi, B. F. (2014). Structure of the AcrAB–TolC multidrug efflux pump. *Nature*, 509(7501), 512-515.
- Émile Littré (1801-1881), [Paris] : Librairie générale française , 1990
- Eno, A. E., Owo, O. I., Itam, E. H., & Konya, R. S. (2000). Blood pressure depression by the fruit juice of *Carica papaya* (L.) in renal and DOCA-induced hypertension in the rat. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 14(4), 235-239.
- Fabrice Le Bellec, Valérie Renard (1997). *Le Papayer, Carica papaya L. (famille des Caricaceae).* In Le Grand Livre des fruits tropicaux. CEE : éditions Orphie, 1997. P38-39
- Fakeye, T. O., Oladipupo, T., Showande, O., & Ogunremi, Y. (2007). Effects of coadministration of extract of *Carica papaya* Linn (family Caricaceae) on activity of two oral hypoglycemic agents. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 6(1), 671-678.
- Gbolade, A. A. (2009). Inventory of antidiabetic plants in selected districts of Lagos State, Nigeria. *Journal of ethnopharmacology*, 121(1), 135-139.

Gérard Debuigne, François Couplan.(2009) *Papayer*. In Petit Larousse des plantes médicinales. Villeneuve d'Ascq : édition Larousse, septembre. P260-261

Grandvaux, M. Leboeuf (Dir) (1986). *Le Papayer, Carica papaya L., plante médicinale d'actualité*. 136 P. Thèse de doctorat : Pharmacie. Paris : Paris XI, 1986.

Haston, E., Richardson, J. E., Stevens, P. F., Chase, M. W., & Harris, D. J. (2009). The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 128-131.

Imaga, N. O. A., Ukpo, G. E., Owolabi, M. A., Shekoni, A. I., & Gbenle, G. O. (2012). In vivo analyses of the effects of co-administration of *Carica papaya* leaf extract with ciprofloxacin. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(48), 3268-3273.

Jean Bruneton. (2009) *Enzymes : Papayer, Carica papaya L., Caricaceae*. In *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales* 4^{ème} édition. Lassay-les-châteaux : édition Technique et Documentation, P255-257

Jean-Claude Favier, Jayne Ireland-ripert, Carole Laussucq, Max Feinberg. (1993). *Répertoire générale des aliments : tome 3 : table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique*. Paris : ORSTOM éditions, 207 P.

Kharaeva, Z. F., Zhanimova, L. R., Mustafaev, M. S., De Luca, C., Mayer, W., Chung Sheun Thai, J., ... & Korkina, L. G. (2016). Effects of standardised fermented papaya gel on clinical symptoms, inflammatory cytokines, and nitric oxide metabolites in patients with chronic periodontitis: an open randomised clinical study. *Mediators of Inflammation*, 2016.

Loïc GIRRE(2006) *Médicaments des troubles digestifs, surtout d'origine hépatique ou biliaire*. In *Les plantes et les médicaments : l'origine végétale de nos médicaments*. Paris : éditions Delachaux et Niestlé, P139.

Marguerita Enrico, Dr Pierre Mantello, Pr Luc Montagnier.(2008) *Vivre longtemps en bonne santé. Une alliée extraordinaire : la papaye fermentée*. Edition Michel LAFON, août. 206 P.

Olivier Carsenti, Sylvie Michel (Dir) (2009). *Etude clinique et activités biologiques de la papaye, Carica papaya L., Caricaceae*. 63 P. Thèse de doctorat : Pharmacie. Paris : Paris Descartes, 2009.

Onaku, L. O., Attama, A. A., Okore, V. C., Tijani, A. Y., Ngene, A. A., & Esimone, C. O. (2011). Antagonistic antimalarial properties of pawpaw leaf aqueous extract in combination with artesunic acid in *Plasmodium berghei*-infected mice. *Journal of Vector Borne Diseases*, 48(2), 96.

P. DELAVEAU (1984). *Plante médicinale : Papayer*. *Actualités pharmaceutiques*, n°215. P 51-52.

Rakhimov, R. R., Jones, D. E., Rocha, H. L., Prokof'ev, A. I., & Aleksandrov, A. I. (2000). Electron paramagnetic resonance study of W⁵⁺ pairs in Lithium– Tungsten phosphate glasses. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(47), 10973-10977.

Rodríguez-Fragoso, L., Martínez-Arismendi, J. L., Orozco-Bustos, D., Reyes-Esparza, J., Torres, E., & Burchiel, S. W. (2011). Potential risks resulting from fruit/vegetable–drug interactions: effects on drug-metabolizing enzymes and drug transporters. *Journal of food science*, 76(4), R112-R124.

Sastre, C., & Breuil, A. (2007). Plantes, milieux et paysages des Antilles françaises: écologie, biologie, identification, protection et usages.

Scarbrough, H., Swan, J., Laurent, S., Bresnen, M., Edelman, L., & Newell, S. (2004). Project-based learning and the role of learning boundaries. *Organization studies*, 25(9), 1579-1600.

Shields, R. K., Chen, L., Cheng, S., Chavda, K. D., Press, E. G., Snyder, A., ... & Clancy, C. J. (2017). Emergence of ceftazidime-avibactam resistance due to plasmid-borne bla KPC-3 mutations during treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(3), e02097-16.

Somanah, J., Bourdon, E., & Bahorun, T. (2017). Extracts of Mauritian *Carica papaya* (var. solo) protect SW872 and HepG2 cells against hydrogen peroxide induced oxidative stress. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1917-1927.

Tang, Y., Wright, L. G., Charan, K., Wang, T., Xu, C., & Wise, F. W. (2016). Generation of intense 100 fs solitons tunable from 2 to 4.3 μm in fluoride fiber. *Optica*, 3(9), 948-951.

The Angiosperm phylogeny group. In *Botanical journal of the linnean society*. 2009.

Thomas, K. D., & Ajani, B. (1987). Antisickling agent in an extract of unripe pawpaw fruit (*Carica papaya*). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(3), 510-511.

Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528-1542.

Chapitre II

Les composés phénoliques

II.1. Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques également dénommés les polyphénols, sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal (Bruneton, 1993). On les retrouve dans toutes les parties des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, et ils font donc partie intégrante du système alimentaire (Rezaire, 2012).

Avec plus de 8000 composés isolés et identifiés, ils constituent une très grande famille de composés qui résultent bio génétiquement de deux grandes voies synthétiques : la voie shikimate et la voie acétate (Lugasi *et al.*, 2003).

Ces composés n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction (Guignard, 1996).

II.2. Structure et classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules possédant au moins un cycle aromatique à 6 carbones et portant d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle *et al.*, 2004).

Ils se subdivisent sur le plan structurel, en fonction de la nature chimique des groupes fonctionnels et les modifications sur squelette de base, les composés phénoliques se caractérisent par une grande diversité allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire et simple structure à des composés hautement polymérisés (Balasundram *et al.*, 2006).

La large variété de polyphénols peut être classée et divisée en différentes classes dont la structure chimique peut être répartie en deux grands groupes, les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Ignat *et al.*, 2011).

II.2.1. Les composés non-flavonoïdes

Dans la littérature, les composés non-flavonoïdes peuvent être classés selon leur structure chimique dans les groupes suivants : les acides phénols et les stilbènes.

II.2.1.1. Les acides phénoliques

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins un groupement carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 1999). Ils consistent en deux sous-groupes : les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxy cinnamiques.

II.2.1.2. Les stilbènes

Les stilbènes contiennent au minimum deux noyaux aromatiques reliés entre eux par une double liaison, ce qui forme un système conjugué. Ce système confère une grande réactivité due à la délocalisation des électrons π sur la totalité de la molécule (Belkheiri, 2010).

II.2.2. Les composés flavonoïdes

Les composés flavonoïdes forment une grande famille des composés phénoliques dans les plantes. Ces molécules possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6, formé de deux cycles aromatiques en C6 (A et B) reliés par une chaîne de trois atomes de carbone. Le chaînon propyle C3 peut être complété par une fonction éther formant ainsi un hétérocycle central, appelé cycle C. (Heim *et al.*, 2002).

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les anthocyanidines, les flavan-3-ols, les flavanones, les isoflavones, les flavonols et les flavones.

CHAPITRE II: LES COMPOSES PHENOLIQUES

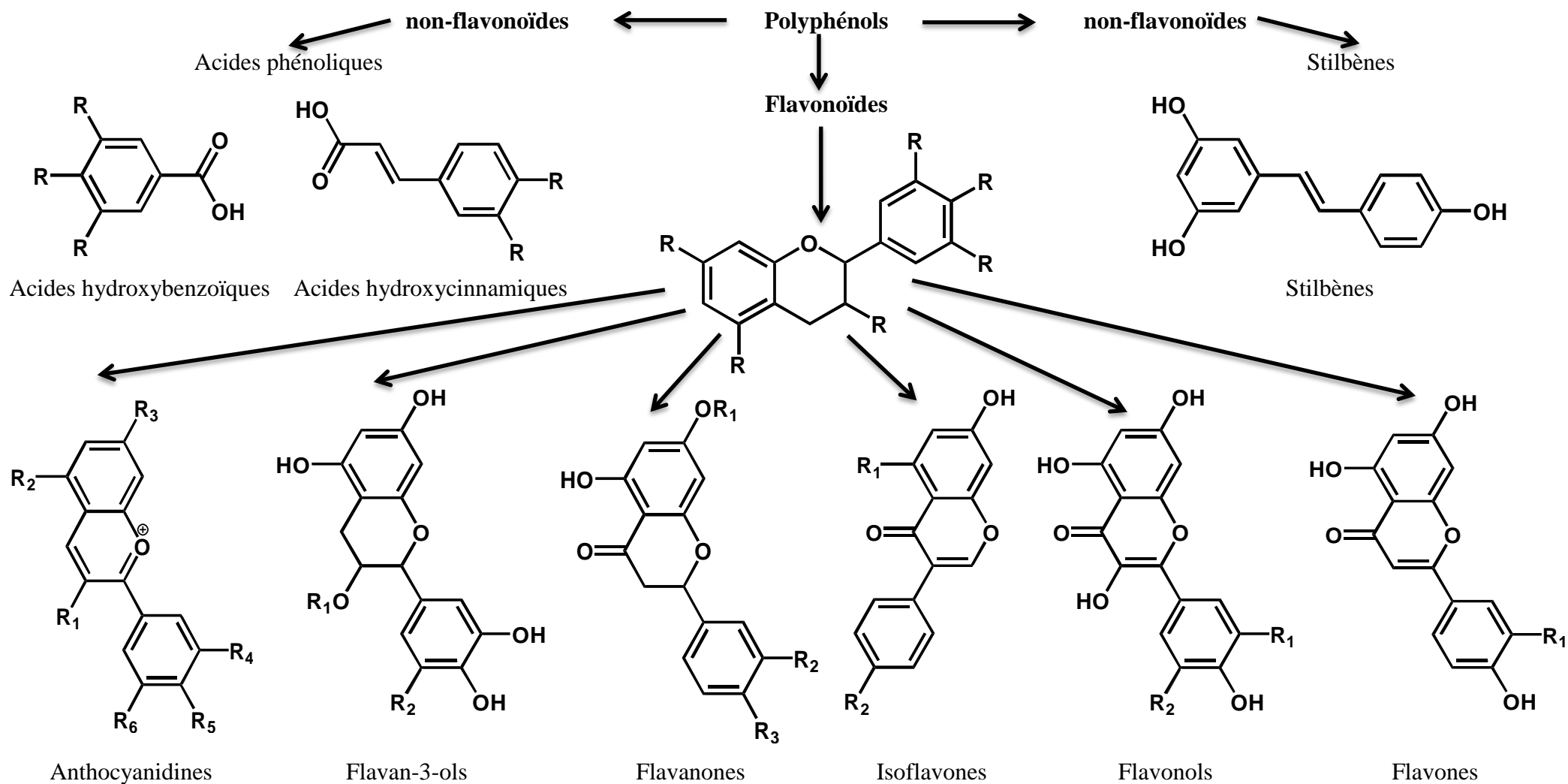


Figure II.1: La classification, les structures chimiques et les nomenclatures des composés phénoliques (Chacar, 2018)

II.3. Les composés phénoliques bioactives de papaya

Les parties de papaya sont riches en composés phénoliques comme les acides phénoliques et les flavonoïdes (Canini *et al.*, 2007 ; Addai *et al.*, 2013 ; Gomes *et al.*, 2018 ; Rodrigues *et al.*, 2019 ; Alara *et al.*, 2021).

Nisa *et al.* (2019) ont signalé que le rapport et les concentrations de ces constituants sont liés à de nombreux facteurs, comme : la variété, les conditions de croissance, la disponibilité en eau, les maladies, la saison de maturité, les temps de récolte, l'origine géographique, la fertilité du sol, la température, les conditions de stockage et le temps d'exposition au soleil ainsi que le système d'extraction et la méthode d'analyse.

La papaye constitue une source riche en polyphénols reconnus par leur pouvoir antioxydant puissant et impliqué dans des rôles nutritionnels et préventifs des maladies liées au stress oxydant qui pourraient potentiellement être utilisés dans la formulation alimentaire (Zhou *et al.*, 2011).

II.3.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent l'une des principales classes des composés phénoliques présents dans la papaya.

La papaya est riche en acides phénoliques, on trouve, acide gallique, acide p-coumarique, acide caféique et l'acide férulique (Sancho *et al.*, 2011).

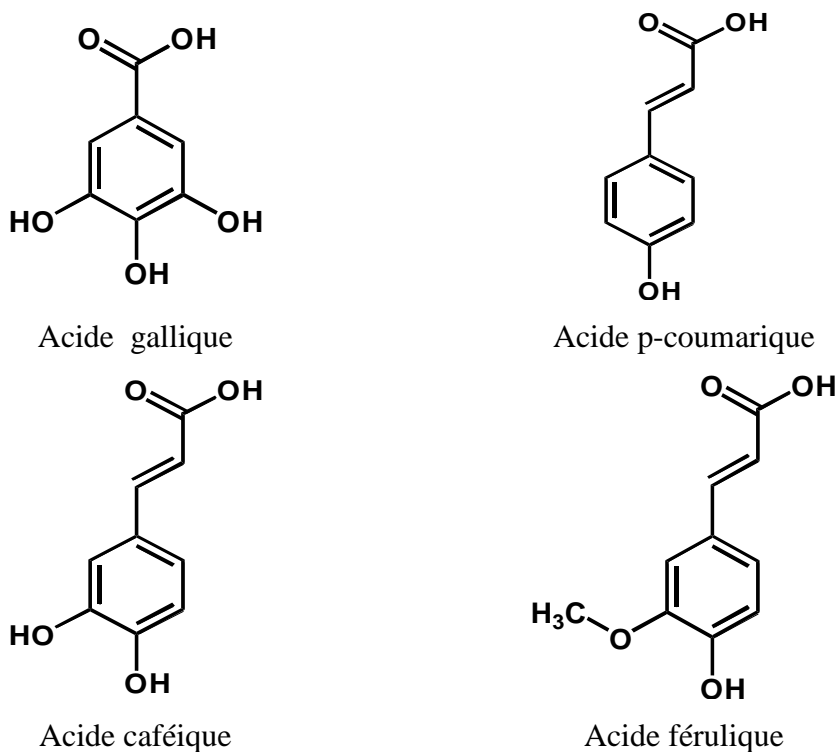


Figure II.2: Structure des acides phénoliques présents dans la papaya (Sancho *et al.*, 2011.)

II.3.2. Les flavonoïdes

La classe des flavonoïdes est l'une des plus abondantes et à ce jour, plus de 10000 structures naturelles ont été isolées et caractérisées (Mahfoudi, 2018).

Les flavonoïdes sont identifiés dans la papaya, on trouve quercétine, kaempferol, catéchine, naringenin et isorhamétin. (Rivera-Pastrana *et al.*, 2010 ; Nugroho *et al.*, 2017) ont mentionné que les teneurs en flavonoïdes des noyaux des dattes sont variables selon la variété.

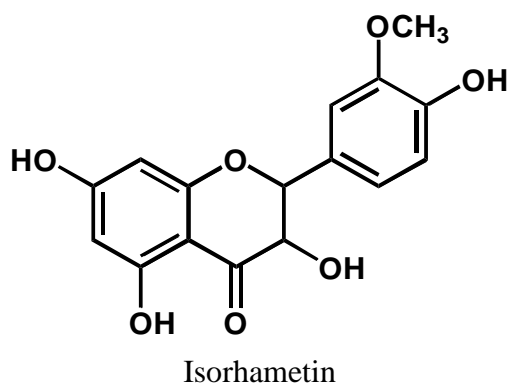
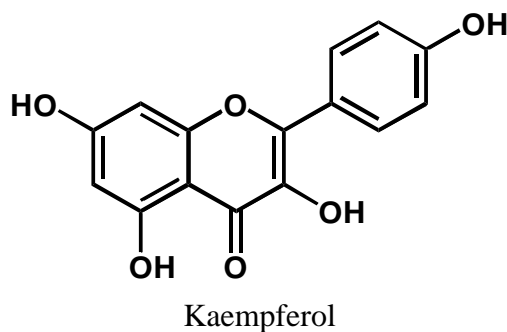
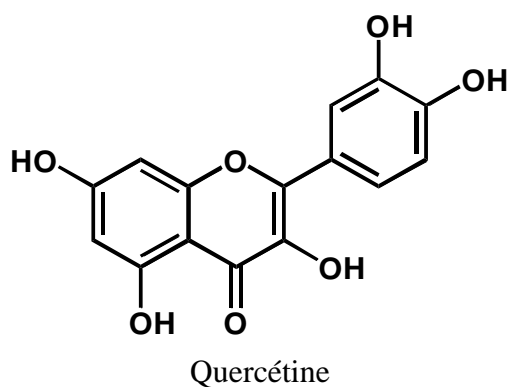


Figure II.3: Structure des flavonoïdes présents dans la papaya (Rivera-Pastrana *et al.*, 2010)

Référence:

- Addai, Z. R., Abdullah, A., & Mutalib, S. A. (2013). Effect of extraction solvents on the phenolic content and antioxidant properties of two papaya cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(46), 3354-3359.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ali, H. A., & Zain, N. M. (2021). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from *Carica papaya* leaves: An optimization study and LC-QTOF-MS analysis. *Future Foods*, 3, 100035.
- Balasundram N, Sundram K et Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1): 191-203.
- Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. 2^{ème} édition, Lavoisier Techniques et Documentation, Paris.
- Canini, A., Alesiani, D., D'Arcangelo, G., & Tagliatesta, P. (2007). Gas chromatography–mass spectrometry analysis of phenolic compounds from *Carica papaya* L. leaf. *Journal of food composition and analysis*, 20(7), 584-590.
- Chacar S. (2018). Effet des composés phénoliques sur le vieillissement cardiaque et rénal: étude expérimentale chez le rat. Thèse de doctorat. Université de Poitiers; Université Saint-Joseph (Beyrouth).
- Gomes, W. F., França, F. R. M., Denadai, M., Andrade, J. K. S., da Silva Oliveira, E. M., de Brito, E. S., ... & Narain, N. (2018). Effect of freeze-and spray-drying on physico-chemical characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of papaya pulp. *Journal of food science and technology*, 55(6), 2095-2102.
- Guignard J. (1996). *Biochimie végétale*. Ed. Lavoisier, Paris. pp 175-192 p.
- Heim KE, Tagliaferro AR et Bobilya DJ. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10): 572-584.
- Hennebelle T, Sahpaz S et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- Ignat I, Volf I et Popa VI. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4):1821-1835.
- Lugasi A, Hovari J, Sagi K V et Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegedientis*, 47(1-4): 119-125.
- Nisa, F. Z., Astuti, M., Haryana, S. M., & Murdiati, A. (2019). Antioxidant activity and total flavonoid of *Carica papaya* L. leaves with different varieties, maturity and solvent. *Agritech*, 39(1), 54-59.

Nugroho, A., Heryani, H., Choi, J. S., & Park, H. J. (2017). Identification and quantification of flavonoids in *Carica papaya* leaf and peroxynitrite-scavenging activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(3), 208-213.

Rezaire A. (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat. Université des Antilles.

Rodrigues, L. G. G., Mazzutti, S., Vitali, L., Micke, G. A., & Ferreira, S. R. S. (2019). Recovery of bioactive phenolic compounds from papaya seeds agroindustrial residue using subcritical water extraction. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 101367.

Sancho, L. E. G. G., Yahia, E. M., & González-Aguilar, G. A. (2011). Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*, 44(5), 1284-1291.

Zhou, K., Wang, H., Mei, W., Li, X., Luo, Y., & Dai, H. (2011). Antioxidant activity of papaya seed extracts. *Molecules*, 16(8), 6179-6192.

Chapitre III

Antioxydants

III.1. Définition de l'antioxydant :

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Il est défini par Halliwell comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». C'est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques des radicaux libres. (Halliwell, B. 1999).

III.2. Classement des antioxydants :

Les antioxydants sont classés selon leur source, les antioxydants synthétiques et naturels, ils sont couramment utilisés dans les aliments et les médicaments ; en particulier ceux contenant des huiles et des graisses pour protéger les aliments contre l'oxydation. Il existe un certain nombre d'antioxydants phénoliques synthétiques, l'hydroxy toluène butylé (BHT) et l'hydroxy anisole butylé (BHA) étant des exemples importants. Ces composés ont été largement utilisés comme antioxydants dans l'industrie alimentaire, cosmétique et thérapeutique. Cependant, certaines propriétés physiques du BHT et du BHA telles que la volatilité élevée et l'instabilité à leur température élevée, une législation stricte sur l'utilisation d'additifs alimentaires synthétiques, la nature cancérigène de certains antioxydants synthétiques et les préférences des consommateurs ont déplacé l'attention des fabricants du synthétique vers le naturel. (Papas, A. M. 2019).

Compte tenu de l'augmentation des facteurs de risque chez l'homme de diverses maladies mortelles, il y a eu une tendance mondiale à l'utilisation de substances naturelles présentes dans les plantes médicinales et les plats diététiques comme antioxydants thérapeutiques. Il a été rapporté qu'il existe une relation inverse entre l'apport alimentaire d'aliments riches en antioxydants et de plantes médicinales et l'incidence des maladies humaines. L'utilisation d'antioxydants naturels dans l'industrie alimentaire, cosmétique et thérapeutique serait prometteuse comme alternative aux antioxydants synthétiques en raison de leur faible coût, hautement compatible avec l'apport alimentaire et sans effets nocifs à l'intérieur du corps humain. De nombreux composés antioxydants, naturellement présents dans les sources végétales, ont été identifiés comme des piègeurs de radicaux libres ou d'oxygène actif (Brown, J. 1998).

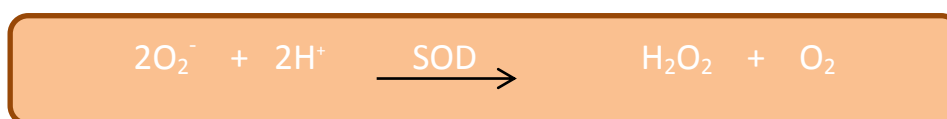
Des tentatives ont été faites pour étudier le potentiel antioxydant d'une grande variété de légumes comme les pommes de terre, les épinards, les tomates et les légumineuses (Furuta, S *et al.*, 1997). Il existe plusieurs rapports montrant le potentiel antioxydant des fruits. De

fortes activités antioxydantes ont été trouvées dans les baies, les cerises, les agrumes, les pruneaux et les olives. Les thés verts et noirs ont été largement étudiés dans un passé récent pour leurs propriétés antioxydantes puisqu'ils contiennent jusqu'à 30 % du poids sec sous forme de composés phénoliques Lin, J. *et al.*, (1998).

III.2.1. Antioxydants enzymatiques :

III.2.1.1. Superoxyde dismutase « SOD » :

Les SOD sont une classe d'enzymes étroitement apparentées qui catalysent la dégradation de l'anion superoxyde en oxygène et H_2O_2 présents dans presque toutes les cellules aérobies et dans les fluides extracellulaires (Rahman, 2007).



Il comprend 3 familles selon le cofacteur métallique ; Cu/Zn, Fe et Mn et le type Ni qui lie le nickel. Mn-SOD a été trouvé principalement dans les mitochondries et les peroxysomes, Fe-SOD a été trouvé dans les peroxysomes et CuZn-SOD dans les peroxysomes et le cytosol (Droge, 2002 ; Valko *et al.*, 2007).

III.2.1.2. Catalase :

Ceci est prédominant dans les cellules exposées à l'oxygène et est fréquemment utilisé pour catalyser la décomposition de H_2O_2 (sous le produit d'une gamme de processus métaboliques normaux) en oxygène et en eau (Schwentker *et al.*, 2002).



La catalase a l'un des taux de rotation les plus élevés pour toutes les enzymes ; avec une molécule de catalase capable de convertir environ 6 millions de molécules de H_2O_2 en eau et en oxygène chaque minute. Il peut être trouvé dans tous les organes mais principalement dans le foie (Droge, 2002 ; Valko *et al.*, 2007).

III.2.2. Antioxydants non enzymatiques :

III.2.2.1. Vitamine C :

La vitamine C est généralement maintenue sous forme réduite dans le corps par sa réaction avec le glutathion qui peut être catalysée par des protéines. La vitamine C est capable d'empêcher la formation de nitrosamines, de neutraliser les ROS tels que H_2O_2 , stimulant ainsi la réponse immunologique (Victor *et al.*, 2007).

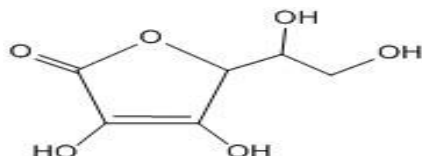


Figure III.1 : Complexe de vitamine C

III.2.2.2. Vitamine E

Ce sont des vitamines liposolubles qui existent sous huit formes différentes et possèdent des propriétés antioxydants. La fonction principale de la vitamine E est de protéger la cellule de la peroxydation des lipides. Dans le système biologique humain, l' α -tocophérol est le plus étudié et on dit qu'il a la biodisponibilité la plus élevée, le corps absorbant et métabolisant préférentiellement cette forme est la plus active. (Cejas *et al.*, 2004).

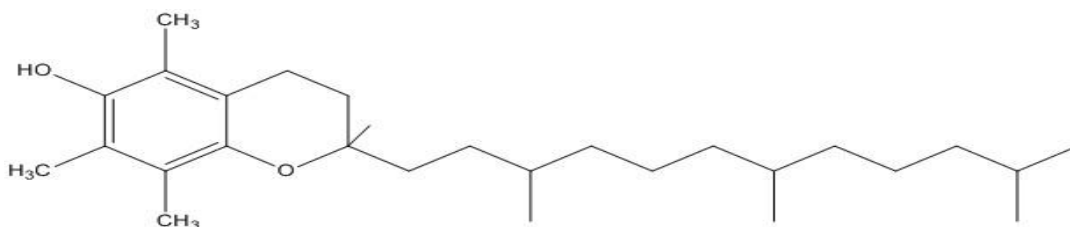


Figure III.2. : Complexe de vitamine E

III.3. Radicaux libres :

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité. Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres. Les sources des radicaux libres sont nombreuses, Il existe deux grandes voies de formation de ces derniers (Turrens. JF *et al.*, 1985).

- La première voie consiste en un transfert d'électrons catalysé par les métaux de transition (Fe, Cu), ils transforment H_2O_2 en radical hydroxyle (OH), encore plus toxique, et accélèrent la peroxydation lipidique.

- La deuxième voie se fait au niveau de la scission homolytique des liaisons covalentes des molécules. Cette voie nécessite de l'énergie qui pourra être fournie par les radiations ionisantes, par la lumière, la chaleur et les ultrasons.

III.3.1. Radical superoxyde O_2^- :

État de réduction à un électron de O_2 , formé dans de nombreuses réactions d'auto-oxydation et par la chaîne de transport d'électrons. Plutôt non réactif mais peut libérer du Fe^{2+} à partir des protéines, fer, soufre et de la ferritine. Subit une dismutation pour former du H_2O_2 spontanément ou par catalyse enzymatique et est un précurseur de la formation de OH catalysée par un métal (Sies, H, 1997)



III.3.2. Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 :

Il est aussi appelé dioxyde d'hydrogène ou "peroxyde d'hydrogène". Peroxyd d'hydrogène.

Résultats de la réduction de l'oxygène à deux électrons. Il peut être créé par :



L'absence de charges électriques à sa surface le rend très lipophile et peu réactif en milieux aqueux.

En présence d'ions métalliques, tels que les ions ferreux (Fe^{2+}) et cuivre (Cu^+), le peroxyde.

d'hydrogène peut aussi se décomposer en radicaux hydroxyle ($OH\cdot$), l'oxydant le plus puissant produit par les organismes vivants. Le peroxyde d'hydrogène est un radical libre potentiellement toxique car sa faible réactivité, associée à sa capacité de traverser les membranes biologiques, font qu'ils puissent se retrouver à une grande distance de son lieu de synthèse. (Wilson, A, 2003).

III.3.3. Radicaux hydroxyles $OH\cdot$:

Il est créé dans les cellules par :



Il est extrêmement réactif avec tous les substrats de son entourage et représente donc une source potentielle de lésions moléculaires, cellulaires et tissulaires importantes. Il

intervient directement dans la dégradation des acides nucléiques (ADN), la peroxydation des lipides détériorant les membranes lipidiques des cellules et l'oxydation des protéines. (Wilson; A, 2003).

III.4. Sources de radicaux libres :

III.4.1. Sources internes :

- Mitochondries
- Processus respiratoires
- Métabolisme
- Infection
- Xanthine oxydase
- Peroxysomes
- Phagocytose
- Voies de l'arachidonate (Ebadi; M, 2001).

III.4.2 Sources externes :

- Fumée de cigarette
- Polluants environnementaux
- Radiation
- Certains médicaments, pesticides
- Solvants industriels
- Ozone (Bagchi, K. et Puri, S, 1998).

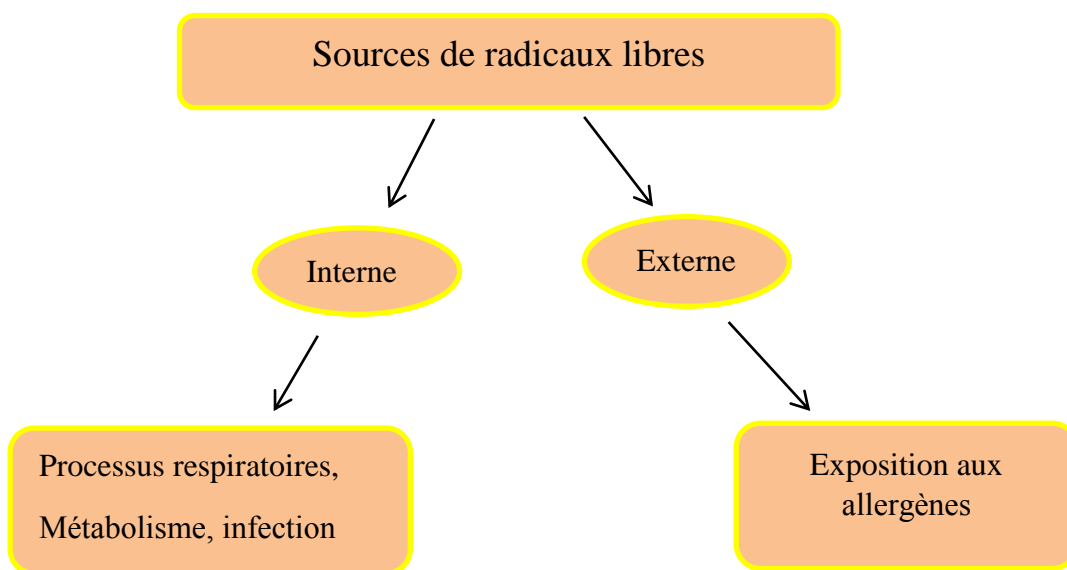


Figure III.3: Sources de radicaux libres.

III.5 Dommages des radicaux libres :

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (Favier, 2003). Le danger est accentué par la multiplicité des sources de formation des radicaux libres. Qui provoque des lésions directes sur les molécules biologiques (Ohare, 2010).

III.5.1 Effets sur les lipides :

Les lipides, et notamment les acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle (HO^*). Cette attaque est appelée peroxydation lipidique (Favier 2003).

III.5.2 Effets sur les protéines :

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ROS. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bityrosine intra- et inter-chaînes. 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; Pasquier, 1995).

III.5.3 Effets sur les acides nucléiques :

L'acide désoxyribonucléique (ADN), constituant l'essentiel du génome, est aussi très sensible à l'attaque du radical OH, celui-ci oxyde des constituants de l'ADN conduisant ainsi à la mutagenèse, la carcinogénèse et la mort cellulaire (Pasquier C, 1995). Il peut y avoir jusqu'à 70 modifications oxydatives différentes des acides nucléiques, certaines affectant les bases d'autres induisant des cassures dans les brins. L'un des marqueurs d'une attaque oxydative des acides nucléiques est la présence de 8-hydroxy-guanine (8-OHG) (Ré *et al.*, 2005).

III.6. Définition du stress oxydant :

Le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, en faveur des premières (Thorin-Trescases *et al.*, 2010). Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydant ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece *et al.*, 2007; Sergent *et al.*, 2001) ce qui conduit à des dégâts cellulaires importants via le déclenchement de cassures et de mutations au sein de l'ADN, l'inactivation de diverses enzymes, la modification des structures protéiques, l'oxydation des sucres et l'induction de peroxydation lipidique (Robert, F *et al.*, 2009). Si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable au développement de pathologies diverses (Defraigne et Pincemail, 2008).

Référence:

- Bagchi, K., & Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease: a review. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 4 (2), 350-360, 1998.
- Defraigne, Jean-Olivier et Pincemail, Joël. Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 2008, vol. 63, p. 10-19.
- Ebadi, M., Alexiou, C., & Lever, A. B. (2001). The reduction of oxygen and hydrogen peroxide on dinuclear ruthenium phthalocyanine electrocatalytic surfaces. *Canadian Journal of Chemistry*, 79(5-6), 992-1001.
- Ece, M. C., Aydogdu, M., & Taskin, V. (2007). Vibration of a variable cross-section beam. *Mechanics Research Communications*, 34(1), 78-84.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, 1995(276), 87-92.
- Robert, F., Bebin, K., Garrau, J. M., Gueriot, J. F., Foret, R., Brack, M., & Garrel, C. (2009). Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage. *Journées Rech Porc*, 173-8.
- Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., & Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie*, 49(9), 689-695.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 82(2), 291-295.
- Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, M. È., & Thorin, É. (2010). Âge et stress oxydant. *Médecine/Sciences*, 26, 875-80.
- Turrens, J. F., Alexandre, A., & Lehninger, A. L. (1985). Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Archives of biochemistry and biophysics*, 237(2), 408-414.

Partie Pratique

Chapitre IV

Matériels et Méthodes

IV.1. Matériels :

IV.1.1. Matériel végétale :

Le matériel végétal utilisé correspond aux feuilles et des pédoncule de *Carica papaya*.L, La récolte a été effectuée au niveau de la ferme de monsieur Hamdi Mohsen (33°30'46.2"N 6°57'58.8"E) située dans la municipalité de Dabila, État El-Oued. La sélection du matériel végétal utilisé dans notre étude est principalement due à la connaissance des activités biologiques de cette plante.



Figure IV.1: Papaya (*Carica papaya*.L)

La région d'El-Oued (Souf), située au sud-est de l'Algérie, dans la Grande mer des Sables orientale, près de la frontière tunisienne et à 350 km de la mer Méditerranée, est mentionnée dans la "liste indicative de l'UNESCO" pour le paysage culturel. (UNESCO Convention 2008).



Figure IV.2: Carte de l'Algérie représentant la Wilaya d'El-Oued

IV.2. Méthodes :**IV.2.1. Méthodes utilisées avant la préparation de l'extrait****Tableau IV.1:** Méthodes utilisées avant la préparation de l'extrait

Organiser	La méthode utilisée	Outils d'occasion
La récolte	Des échantillons de plantes de papaya ont été prélevés dans la zone mentionnée le 30/10/2021.	<ul style="list-style-type: none"> • sacs en papier • corde • Lame tranchante
Le séchage	Après le processus de collecte, les échantillons ont été dépoussiérés, puis placés sur du morceau de tissu, afin de les sécher, puis laissés dans une pièce à l'abri du soleil pendant une période de trois semaines.	<ul style="list-style-type: none"> • un morceau de tissu blanc • le ciseau
Le broyage	Après d'être assuré du séchage complet, nous avons coupé les plantes en petits morceaux avec une machine électrique, où la poudre a été conservée dans des flacons en verre scellés, à l'abri de la lumière, de la chaleur et de l'humidité jusqu'à son utilisation.	<ul style="list-style-type: none"> • Moulin électrique • Flacons en verre scellés

IV.2.2. Préparation de l'extrait méthanolique :

10 g de poudre de matière végétale sèche ont été trempés dans 100 ml de méthanol à 99%, le mélange a été légèrement agité afin d'homogénéiser les composants, puis laissé pendant 24 heures à l'obscurité et à température du laboratoire après nous avons filtré le mélange, Le filtrat a été transféré à l'évaporateur rotatif (Rotavapeur) à une température de 55°C. Afin d'obtenir l'extrait brut, qui est conservé dans un endroit sec à l'abri de l'humidité et de la lumière. (Matkowski, A., et Piotrowska, M. 2006)

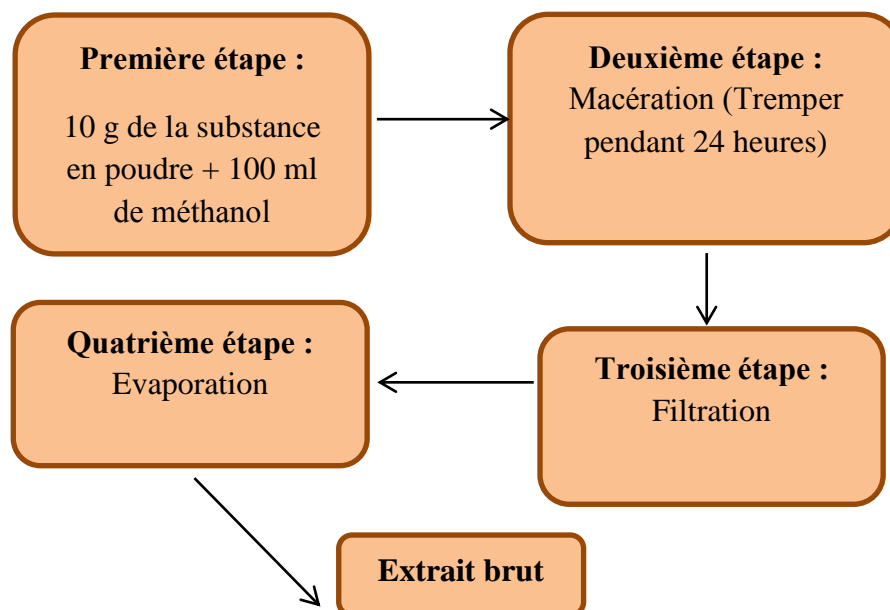


Figure IV.3: Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de *Carica papaya* L.

IV.2.3. Estimation du taux de rendement

Le rendement est le produit divisé entre la masse de l'extrait végétal et la masse de la matière sèche utilisée dans l'extraction (masse de matière sèche de départ), est estimé selon Guettaf *et al.*, (2016) Avec la relation suivante :

$$\text{Rendement}\% = (\text{Masse d'extrait} / \text{Masse sèche de matière végétale de départ}) \times 100$$

IV.2.4. Humidité

L'humidité dépend d'autres facteurs climatiques tels que la chaleur, les précipitations et le vent (Leong, W. H. *et al.*, 1998).

- Nous avons pris des feuilles de papaye fraîches.
- Nous avons coupé la feuille en petits morceaux, puis nous l'avons pesé.
- Nous avons étalé les pièces sur du papier aluminium puis à 80 C° à l'étuve de séchage pendant 24h.
- On les pèse après 24h de séchage, puis on les remet dans l'étuve de séchage pendant une heure puis en prélève une deuxième pesé et ainsi de suite jusqu'à ce que le poids se stabilise.

$$\text{Humidité \%} = (\text{Poids de l'échantillon humide} - \text{Poids de l'échantillon}) \times 100 / \text{Poids du matériau humide}$$

IV.2.5. Minéraux

Les métaux ont été estimés par la méthode de brûlage à sec selon les étapes suivantes (Ahmed Othman, 2011).

Méthode de travail :

- Nous avons pesé 4 g de la poudre de la plante sèche ;
- Placer chaque gramme dans un petit flacon en verre stérilisé (comme répétition) ;
- Nous avons mis les quatre échantillons dans le four à moufles à une température de 550 C° pendant 6 heures.

$$\text{MO\%} : (\text{Poids de matière sèche} - \text{Poids de cendres}) \times 100 / \text{Poids de matière sèche}$$

IV.2.6. Préparation de l'extrait pour la détermination des métabolites primaires (protéines, carbohydrates et les lipides) :

Les extraits ont été préparés pour le dosage des métabolites primaires selon la méthode (Shibko *et al.*, 1966) décrite par (Amira, 2013 ; Beldi,2007) de poudre d'échantillons de plantes, en suivant les étapes suivantes :

- 0.5 g de la plante sèche déposé dans un tube en verre. Nous ajoutons 5ml d'Acide trichloracétique à (20%), mélanger avec un Vortex Shaker pendant 5 minutes.
- Séparer le mélange par centrifugation pendant 10 min à 3000 tr/min pour obtenir le surnageant I, puis nous valorisons les carbohydrates.
- Pour le précipité I, nous ajoutons 2 ml de solution ether /chloroforme (1V/1V)
- Le mélange obtenu et séparé par centrifugation pendant 10 min et à 3000 tr/min pour obtenir le surnageant II, pour la valorisation des lipides.
- Nous ajoutons 5 ml de solution Sodium hydroxide (NaOH) (0.1N), au précipité II ensuite ont passent à l'agitation du mélange pendant 10 min et à 3000 tr/min pour obtenir le surnageant II, pour la valorisation des protéines.

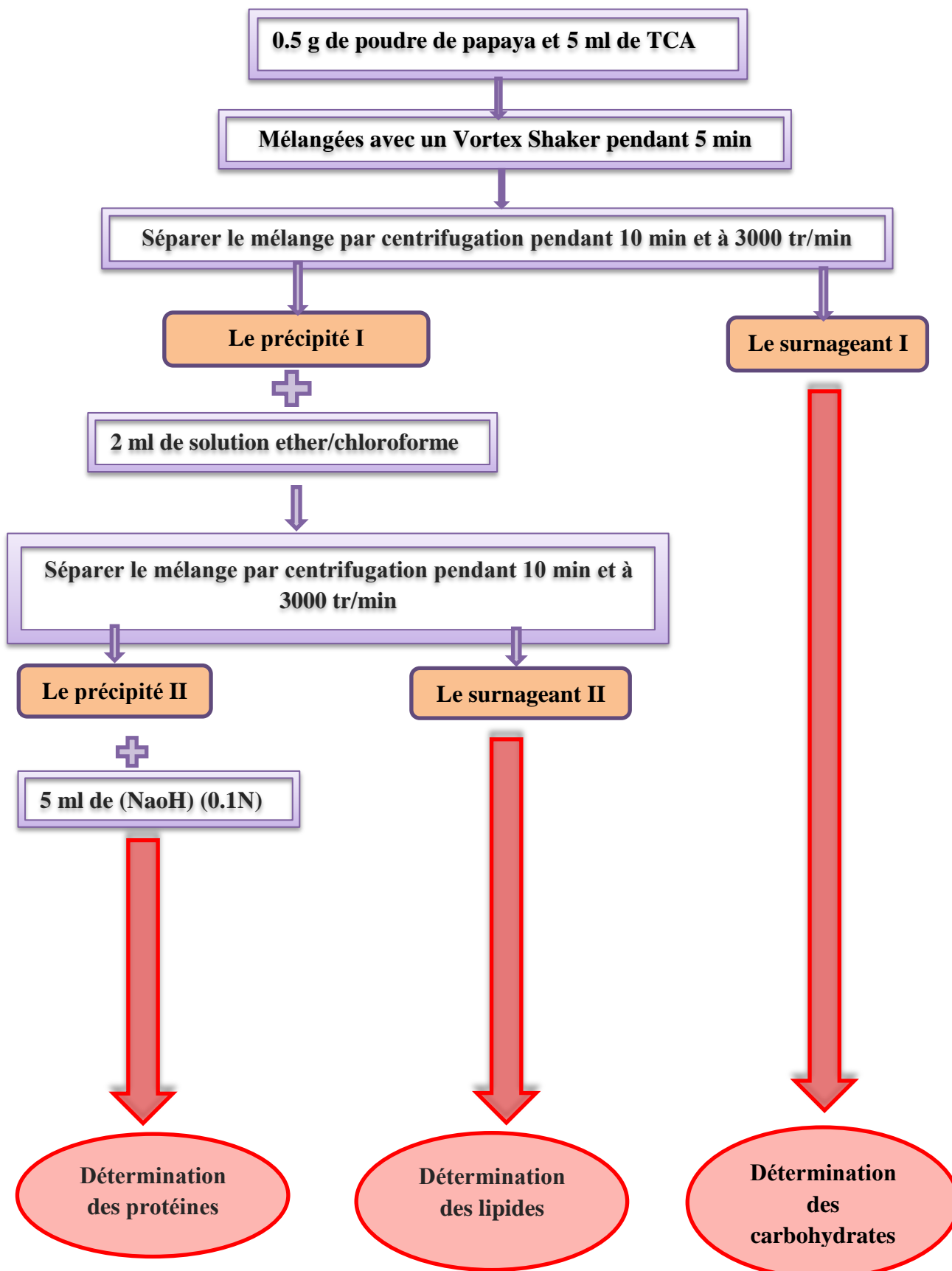


Figure IV.4: Schéma montrant les étapes d'extraction des carbohydrates, des protéines et des lipides

IV.2.6.1. Quantification des carbohydrates :

Les carbohydrates ont été estimés selon la méthode de Dubois et al. (1956) d'après les étapes suivantes :

IV.2.6.1.1. Préparation de la solution étalon des glucoses:

05 mg de glucose ont été dissous dans 5 ml d'acide sulfurique (1N) pour obtenir une solution à une concentration de 1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$, à partir de là, une série de solutions étalons avec des concentrations ont été préparées (25,100,200) $\mu\text{g}/\text{ml}$.

IV.2.6.1.2 Étapes pratiques pour l'estimation :

- Nous mettons 0.2 ml de la série de solutions standard préparées ainsi que de l'extrait d'échantillon (surnageant I) dans des tubes à essai en verre.
- On ajoute 0.2 ml de phénol (5%), puis 1 ml d'acide sulfurique pure.
- Agiter et laisser les échantillons pendant 15 min.
- Lecture de l'intensité d'absorbance optique à une longueur d'onde de 490 nm par un spectrophotomètre UV visible.
- Enfin le traçage de la courbe standard (la figure IV.5) en utilisant les résultats de la lecture des solutions standard qui déterminent la concentration en glucides de chaque échantillon en mg/g.

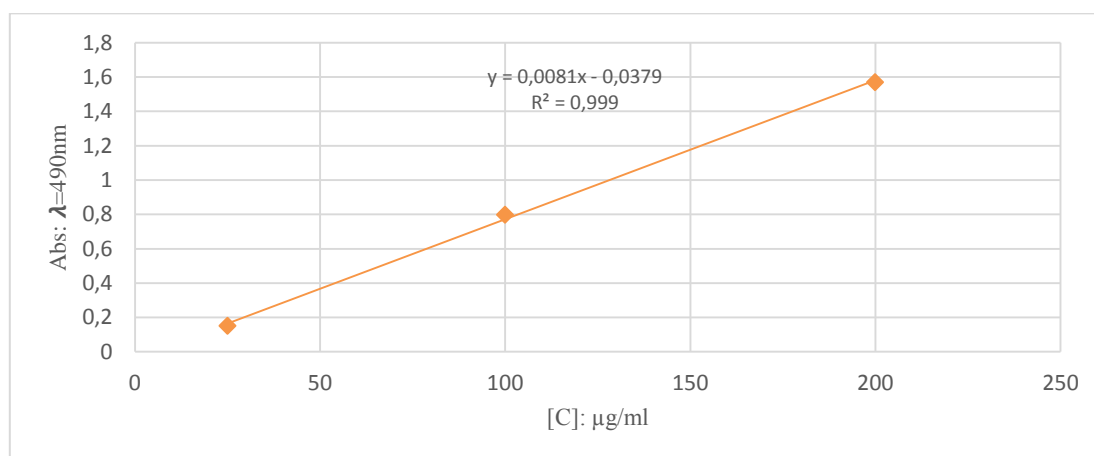


Figure IV.5: Courbe standard du glucose pour le dosage des carbohydrates

Les carbohydrates ont été estimés selon la méthode de Dubois et al (1956). Décrite par (Ben Jaméa, 2008) qui est l'un des moyens les plus efficaces, où la teneur quantitative en carbohydrates est exprimée à l'aide de l'équation linéaire de la courbe standard des

carbohydrates pendant que la teneur quantitative en protéines est décrite selon la méthode de (Lowry *et al.*, 1951) et (Prabhu et Krishmaszamy, 2012).

IV.2.6.2. Quantification des protéines :

Les protéines ont été estimées selon la méthode de Lowry *et al.*, (1951) selon les étapes suivantes :

IV.2.6.2.1 Préparation des solutions :

- **Solution A** : préparé en mélangeant 50 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%) avec 50 ml de soude NaOH (0,1N).
- **Solution B** : préparé en mélangeant 10 ml d'une solution de CuSO_4 (0,5%) avec 10 ml d'une solution de titrage sodium-potassium $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_4\text{H}_2\text{O}$ (0.1%)
- **Solution C** : elle est préparée en hydratant une solution concentrée de Folin-Ciocalteu (1V/1V).
- **Solution D** : Le réactif sulfate de cuivre basique a été préparé en mélangeant 50 ml de solution (A) avec 1 ml de solution (B)

IV.2.6.2.2 Préparation de la solution étalon des protéines :

Dissoudre 3 mg de protéine d'albumine sérique bovine (BSA) dans 3 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH 0,5 N) pour obtenir une solution à une concentration de 1000 μg / ml, et à partir de celle-ci une série de solution standard avec des concentrations de (100, 400, 600, 800, 1000) μg / ml à était préparé.

IV.2.6.2.3 Étapes pratiques pour l'estimation :

- Mettre 0,2 ml de la série de solutions standard préparées ainsi que de l'extrait protéique des échantillons dans des tubes à essai en verre.
- Ajouter 2 ml de solution (d)
- Ajouter 2 ml de solution (C).
- Laisser à l'obscurité pendant 30 minutes à la température du laboratoire.
- Lecture de l'intensité d'absorbance optique à une longueur d'onde de 750 nm par un spectrophotomètre.
- Dessiner la courbe étalon présentée dans la figure (IV.6) en exploitant les résultats de la lecture des solutions étalons qui déterminent la concentration en protéines dans chaque échantillon en mg/g de matière sèche.

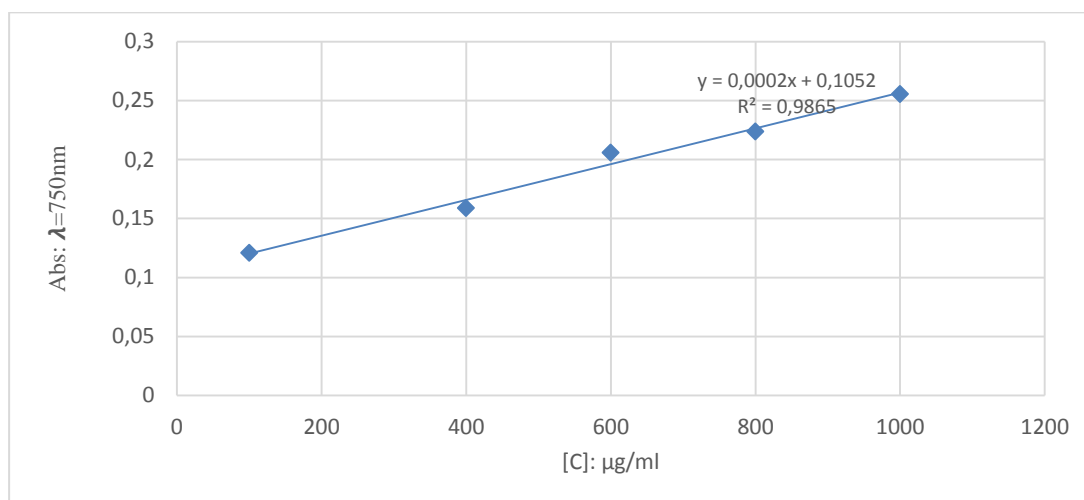


Figure IV.6: Courbe standard BSA de la protéine

La teneur quantitative en protéines est exprimée à l'aide de l'équation linéaire du tracé standard pour l'absorption de la protéine d'albumine sérique bovine (BSA) et la graisse ou les lipides ont été estimée à l'aide de la méthode Goldsworthy *et al* (1972) et Beldi(2007).

IV.2.6.3. Quantification des lipides :

Les lipides ont été estimés selon la méthode de Lowry *et al.*, (1951) selon les étapes suivantes :

IV.2.6.3.1 Préparation de la solution lipidique standard :

Dissoudre 2,5mg d'huile (100% soja) dans un ml de solution d'éther/chloroforme (1V/1V) pour obtenir une solution de (1000, 1500, 2000, 2500) µg/ml.

IV.2.6.3.2 Préparation des solutions de réactif Sulfophosphvanillinique :

Dissoudre 75 mg de Vanilline dans 11 ml d'eau distillée, puis ajouter 39 ml de l'acide phosphorique H₃PO (85%) pour obtenir un volume de 50 ml.

IV.2.6.3.3 Étapes pratiques pour l'estimation :

- Mettre 0,1 ml de la série de solutions étalons préparées ainsi que de l'extrait d'échantillon (surnageant II) dans des éprouvettes en verre.
- Ajouter 0,1 ml d'acide sulfurique concentré.
- Agiter les tubes et laisser reposer 10 minutes dans un bain-marie à 100 °C.
- Une fois les tubes refroidis, nous en prenons 0,15 ml et les mettons dans d'autres tubes.
- Ajouter 1,5 ml du réactif préparé (Sulfophosphvanillinique).

- Mélanger les tubes dans le noir pendant 30 minutes
- Lecture de l'absorbance optique à une longueur d'onde de 530 nm par un spectrophotomètre.
- Tracé du courbe étalon en utilisant les résultats de lecture des solutions étalons qui déterminent la concentration en lipides de chaque échantillon en mg/g de matière sèche, comme indiqué dans la figure (IV.7).
- En présence de graisse la couleur de la solution vire au rose.

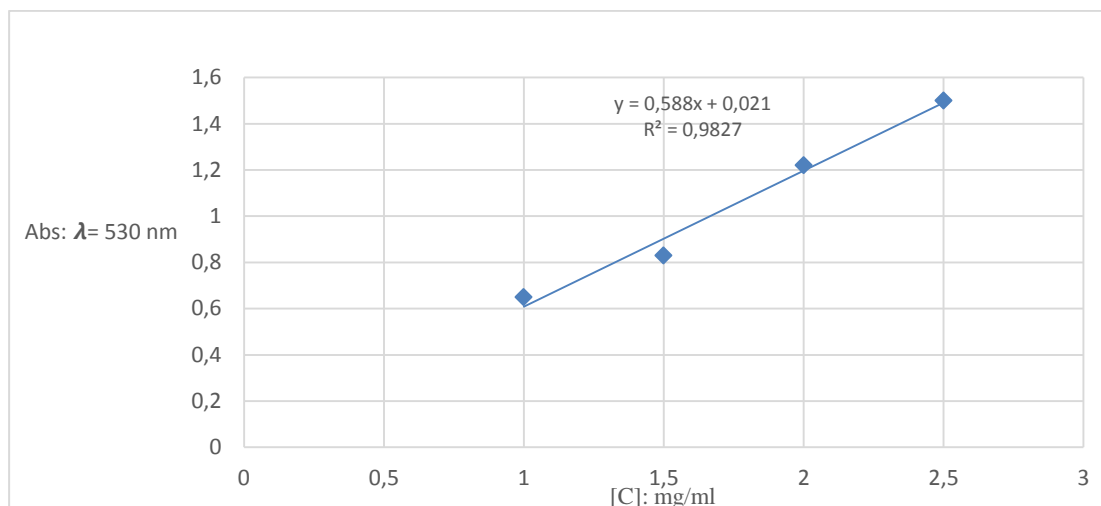


Figure IV.7: Courbe standard de l'huile de soja

La teneur quantitative en lipides est exprimée à l'aide de l'équation linéaire de la courbe standard de l'huile de soja.

IV.2.7. Etude phytochimique d'extrait

IV.2.7.1. Dosage des polyphénols totaux

• Principe

La quantification des polyphénols a été réalisée à l'aide de la méthode Singleton – Rossi à l'aide du Folin–Ciocalteu Cette méthode repose sur la restitution des composants réactifs par des composés phénoliques, en leur donnant des cétones ou des quinones à des oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (Mo_8O_{23}) Présenté en bleu (DIF *et al.*, 2015).

• Mode opératoire

Selon Li *et al.*, (2007) nous mélangeons 0.2 ml de différentes concentrations de l'extrait soluté dans l'eau et 1 ml de Folin – Ciocalteu Diluer 10 fois, puis nous ajoutons au mélange 0,8 ml de carbonate de sodium (7.5 %) Les tubes sont agités et incubés à la température du laboratoire pendant 30 minutes dans l'obscurité L'absorbance de la solution préparée est mesurée à une longueur d'onde de 765 nm avec un spectrophotomètre. On

prépare des solutions dans du méthanol à partir de concentrations croissantes d'acide gallique. (0.02-0.12) mg / ml Pour la détermination quantitative des polyphénols dans l'extrait méthanolique

La quantification des polyphénols a été réalisée selon la méthode de Singleton et Rossi en utilisant Folin-Ciocalteu comme réactif où l'on utilise l'acide gallique pour déterminer l'équation de la courbe représentée sur la Fig. (IV.8), et les résultats sont exprimés en le nombre de milligrammes équivalent à l'acide gallique par gramme de poids d'extrait.

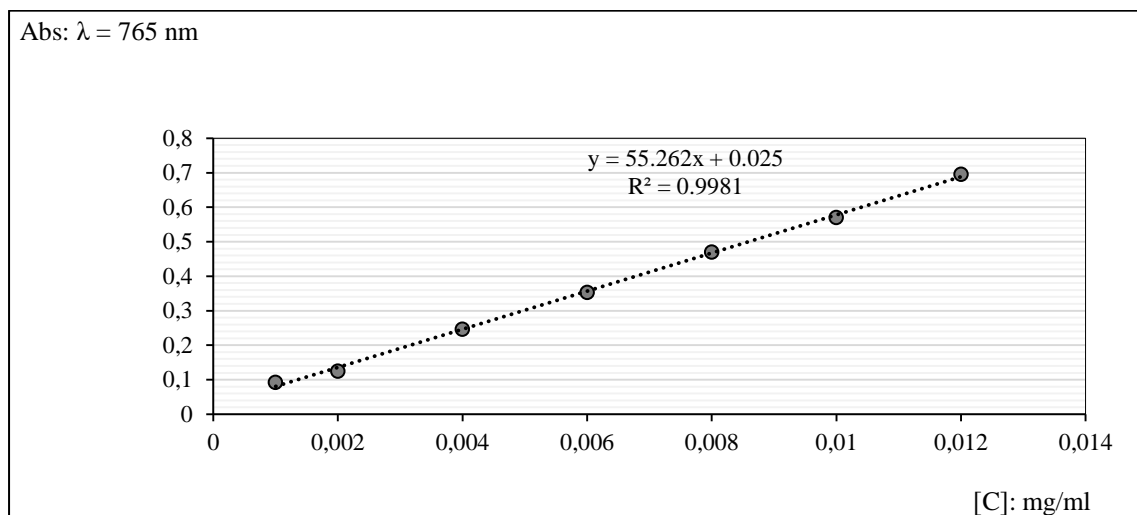


Figure IV.8: Courbe standard d'acide gallique

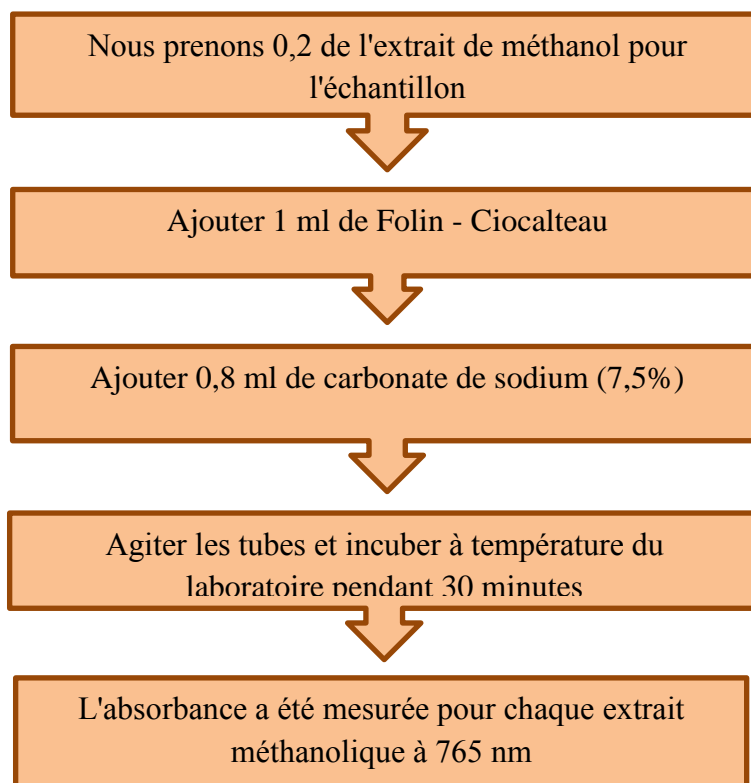


Figure IV.9 : Protocole de Dosage des polyphénols totaux

IV.2.7.2. Dosage des flavonoïdes

• Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement (CO), un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium), reflétant le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Zhou *et al.*, 2005).

• Mode opératoire

Les flavonoïdes ont été déterminés à l'aide d' AlCl_3 , selon Mbaebie *et al.*, (2012) en mélangeant 0,5 ml de solutions diluées des extraits dissous dans du méthanol, en y ajoutant 0,5 ml AlCl_3 à 2 %, en agitant les tubes et en incubant à la température du laboratoire pendant à une heure de la lumière.

Nous préparons des solutions de concentrations connues de (0,025 - 0,4) mg/ml de quercétine pour la détermination quantitative des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique.

L'intensité d'absorption du mélange est mesurée à une longueur d'onde de 420 nm, La quantification des flavonoïdes pour les extraits étudiés a été réalisée à l'aide du réactif AlCl_3 , nous utilisons la quercétine pour déterminer l'équation de la courbe représentée sur la figure (IV.11), où le résultat est exprimé en nombre de milligrammes équivalent à la quercétine par gramme de masse de l'extrait.

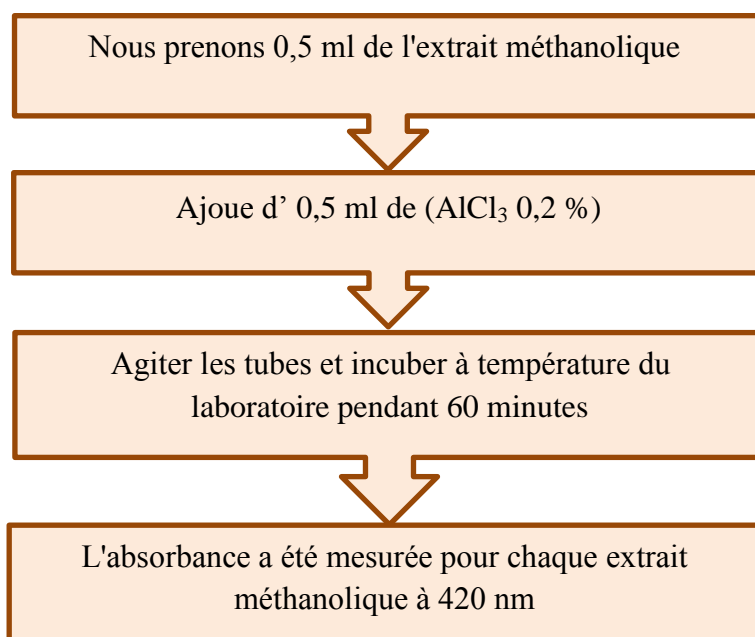


Figure IV.10 : Protocole de Dosage des flavonoïdes totaux

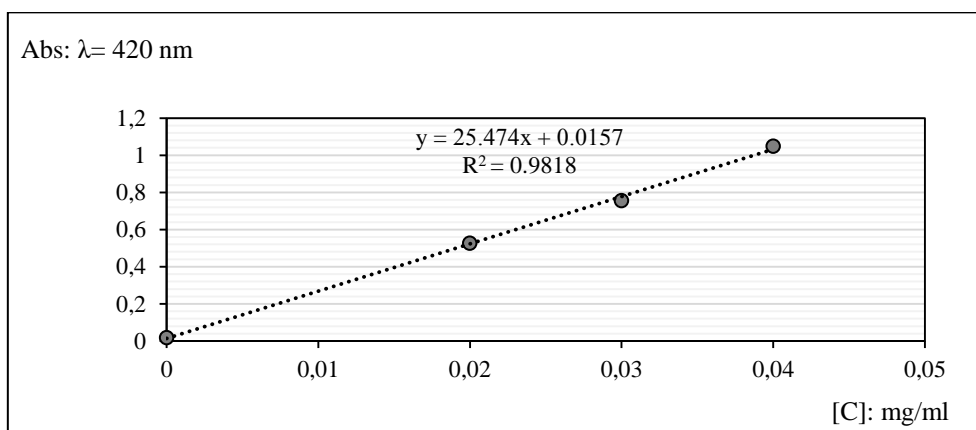


Figure IV.11 : Courbe standard de la quercétine

IV.2.7.3. Analyse chromatographique d'extrait étudié par chromatographie liquide haute performance (HPLC) :

L'une des différentes méthodes chromatographiques utilisées c'est la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) qu'a été utilisée pour analyser l'extrait de *Carica papaya* L. (figure IV.12).



Figure IV.12: high-performance liquid chromatography (HPLC).

• Principe

L'échantillon à analyser est poussé par un éluant liquide appelé aussi phase mobile qui l'entraîne à travers une colonne remplie d'une phase stationnaire composée de grains solides très fins. Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire (Braithwaite et Smith, 1999).

• Mode opératoire

L'analyse des composés phénoliques dans l'extrait méthanolique étudiés a été réalisée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance de marque SHUMADZU (HPLC) couplée à un détecteur UV-visible. L'analyse s'effectue selon les conditions opératoires :

- La colonne en acier de longueur de 250x4.6 mm,
- Phase stationnaire C18.
- Solvant d'éluion : A (1% Acide acétique / Eau ultra pure) / B (Acétonitrile)
- Longueur d'onde : 254 nm.
- Boucle d'injection : 10 µl.
- Détecteur UV-Visible.

Les pics ont été identifiés par leur temps de rétention comparés aux temps de rétention des standards.

IV.2.8. Evaluation de la capacité antioxydante

Afin d'estimer l'action antioxydant inhibitrice des extraits de plantes, le test DPPH* et le test de capacité de reflux du fer FRAP ont été utilisés, qui sont considérés comme les méthodes les plus largement utilisées pour estimer l'effet de déplacement antioxydant en laboratoire.

IV.2.8.1. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH*

Ce test est basé sur la capacité d'un extrait ou d'un composé végétal à inhiber les radicaux libres DPPH* (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) (Khalaf *et al.*, 2008) Et cela dépend de sa capacité à donner un atome ou des atomes d'hydrogène, où le radical DPPH* est connu comme un composé solide avec une couleur violet noirâtre et une masse molaire de 394,33 moles (Molyneux, 2004) , Il est chimiquement stable et change de couleur après avoir été réduit par des antioxydants (c'est-à-dire l'extrait de plante) (DPPH-H) en une couleur jaune, ce qui peut être tracé chromatiquement. Par un spectrophotomètre à 517 nm (Rebai *et al.*

2015) A partir de l'estimation du taux d'absorbance décroissante exprimé sur la capacité et l'efficacité de l'extrait à inhiber la racine (Bentabet *et al.*, 2014).

• **Mode opératoire**

Selon Brand et Collègues (1995) ont pris 1 ml des différentes concentrations de l'extrait, dissous dans du méthanol , ajouté à celui-ci 1 ml de solution DPPH* de concentration (4mg / 100 ml méthanol) les tubes sont incubés à l'obscurité pendant 20 min .L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm avec un spectrophotomètre UV visible, L'acide ascorbique est utilisé comme composé de référence (Figure IV.13) et le BHT comme deuxième référence standard (Figure IV.14) pour inhiber les radicaux libres (Concentré 0.12 -0.01 mg / ml) Dans le but de le comparer avec l'extrait de plante .

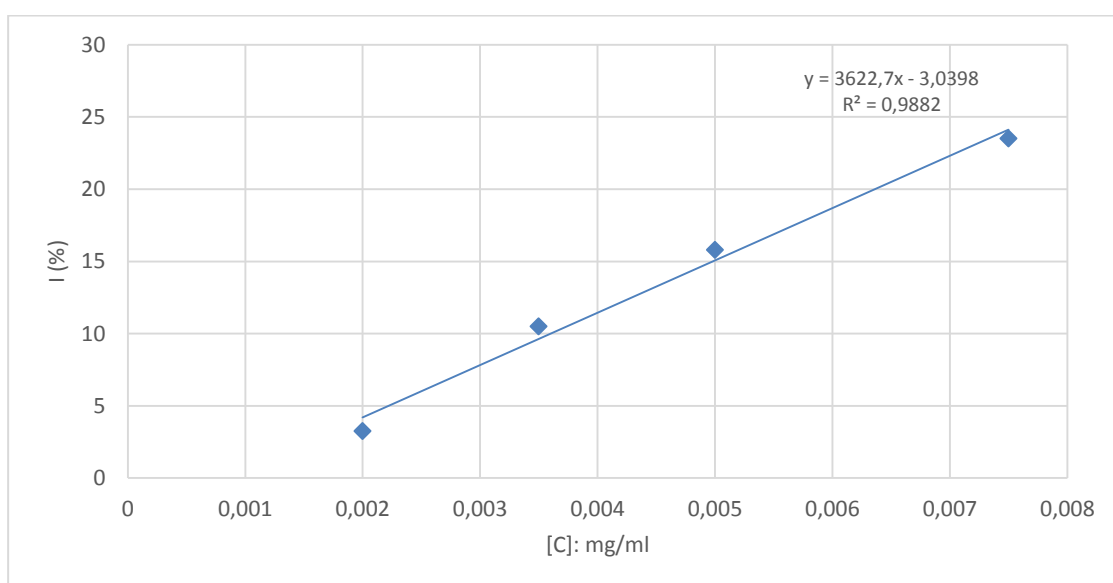


Figure IV.13: Effet de piégeage du radical DPPH* par l'acide ascorbique

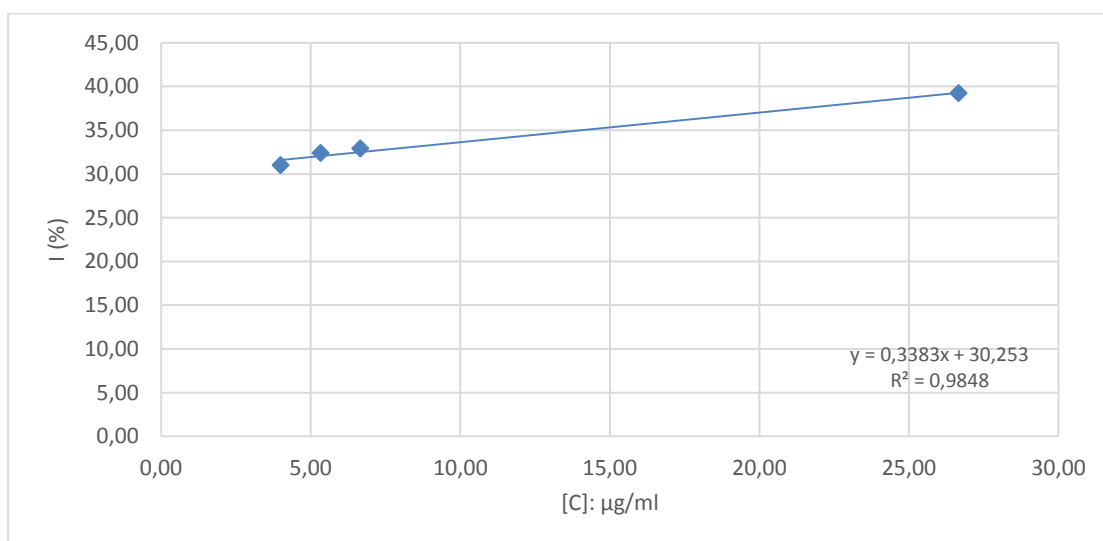


Figure IV.14 : Effet de piégeage du radical DPPH* par BHT

La capacité antioxydant d'un extrait est déterminé en spécifiant le facteur IC₅₀, Qui est défini comme la concentration de l'extrait (antioxydant) nécessaire pour inhiber 50 % de la racine DPPH*. Il est calculé à l'aide de l'équation linéaire des courbes de variation du taux d'amortissement I % En termes de concentration, le pourcentage d'inhibition est estimé en fonction de Chaouche *et al.*, (2013) avec la relation suivante.

$$I \% = [(A_c - A_s) / A_c] 100$$

I% : Le taux d'inhibition du facteur antioxydant de DPPH* .

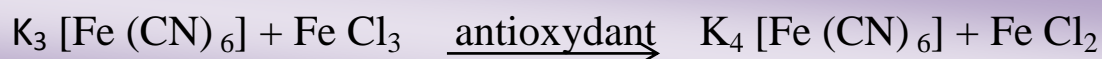
A_c : L'absorbance de l'échantillon à une longueur d'onde de 517 nm.

A_s : Absorbance DPPH* en présence de la substance étudiée 517 nm

IV.2.8.2. Test de réflexologie du fer FRAP

La réduction du fer ternaire est fréquemment utilisée comme indicateur de l'activité des électrons donneurs, ce qui est important dans le mécanisme de réaction des antioxydants phénoliques.

Dans le test de réversibilité du fer, les antioxydants cèdent des électrons qui convertissent le fer ferrique en fer binaire, La quantité de complexe de fer binaire peut être déterminée en mesurant la longueur d'onde de la couleur bleu foncé à 700 nm.



• Mode opératoire

La valorisation de l'extrait est déterminée selon la méthode de Jayanthi et Lalitha (2011), L'extrait qui a une réversibilité inter-agissante avec le ferricyanure de potassium K₃[Fe (CN)₆] Pour former du ferrocyanure de potassium K₄[Fe (CN)₆], Ce dernier réagit avec le chlorure de fer pour donner un composé qui absorbe à une longueur d'onde de 700 nm. En pratique, 250 µl d'extrait de différentes concentrations est mélangé avec 625 µl de solution tampon phosphate. (PH=6.6,0.2 M) et 625 µl A partir d'une solution de ferricyanure de potassium (1%). Après une période d'incubation de 20 minutes dans un bain-marie à une température de 50 °C, il est ajouté au mélange 625 µl Acide trichloroacetic (TCA à 10 %) .Ensuite le mélange a été soumis à une centrifugation à 3000 tours pendant 10 min ; 625 µl ont etait ajouté à de la partie flottante à 625 µl d'eau distillée et 125 µl de chlorure de fer FeCl₃ (0.1%) , L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 700 nm , Les résultats ont été comparés

en utilisant la vitamine C comme contrôle positif (Figure IV.15), L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation de la capacité de la réduction.

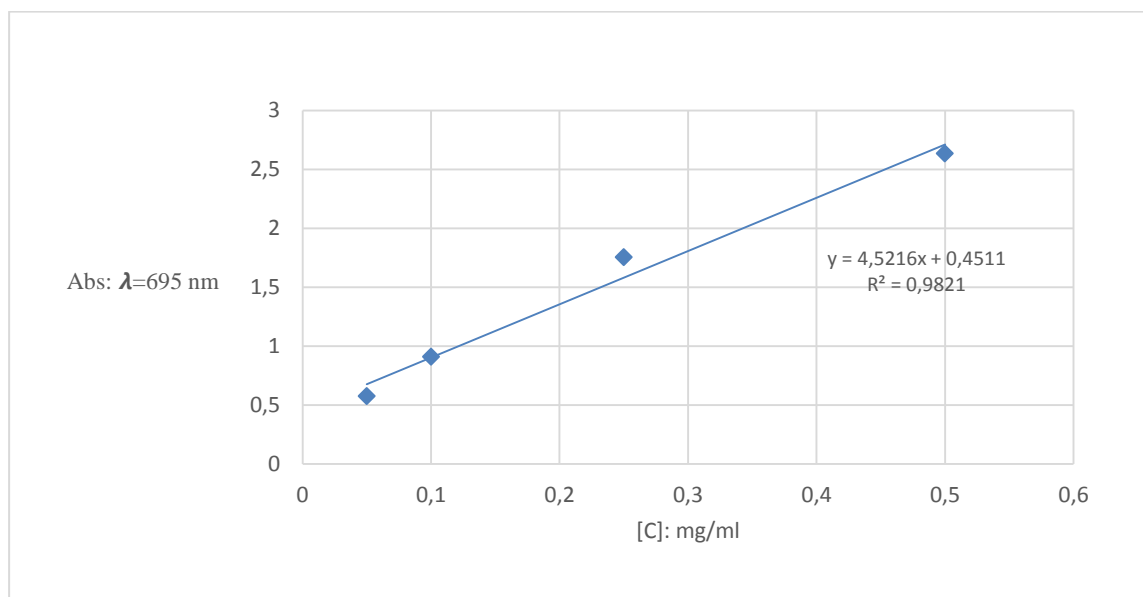


Figure IV.15: Courbe standard de vitamine C pour le test de reflux de fer FRAP.

IV.2.8.3 Evaluation de l'Activité anti –inflammatoire

La dénaturation de l'albumine a été choisie pour évaluer les propriétés anti - inflammatoires in vitro des extraits de notre plante *carica papaya L.*

Mode opératoire :

Ce teste a été réalisé selon la méthode décrite par Padmanabhan et Jangle (2012) et Elias et Rao (1988) avec certains modifications, Un volume de 1 ml de l'extrait à différentes concentrations a été mélangé avec 1 ml d'albumine humaine (5%), Après 15 min d'incubation à 37°C, les tubes sont incubés dans un bain-marie à une température de 70°C pendant 10 minutes. Après refroidissement (température ambiante) leur absorption a été mesurée à 660 nm (Djuichou Nguemmang *et al.*, 2019).

IV.2.9. Caractérisation de l'extrait méthanolique de Papaya

IV.2.9.1. Spectromètre infrarouge :

Le rayonnement infrarouge, compris entre le visible et la micro-onde, se divise en trois parties : l'infrarouge proche entre 13 000 et 4 000 cm^{-1} , l'infrarouge moyen se situe entre 4000 et 200 cm^{-1} , et l'infrarouge lointain se situe entre 200 et 10 cm^{-1} (Szafran *et al.*, 1991). La spectroscopie infrarouge est basée sur l'étude de l'interaction entre la matière et l'électromagnétique. Ce dernier peut-il être défini par sa fréquence ν , exprimée en Hertz (Hz) ou par son nombre d'onde est généralement exprimé en cm^{-1} ou en Kayseri, représente le nombre d'onde contenue dans un espace de 1cm (Chavannes *et al.*, 1991).

IV.2.9.2. Observation en Microscopie Electronique à Balayage (MEB).

La Microscopie Electronique à Balayage est fondée sur les interactions électrons-matière. Elle permet l'obtention d'images de hautes résolutions de la surface de l'échantillon avec des profondeurs de champs supérieures à la microscopie optique. (Azli , M.*et al.*, 2007).

Les principaux composants d'un microscope électronique à balayage sont : une source d'électrons (barillet) et un dispositif haute tension, une colonne qui est maintenue sous vide secondaire, un ensemble de lentilles électroniques qui permettent une acquisition précise du faisceau, une plaque qui permet la collection d'échantillons, un détecteur d'électrons couplé à un amplificateur de signal et enfin un système de visualisation d'images.

Deux principes sont utilisés pour extraire les électrons : l'émission thermique et l'émission par effet de champ. (Donald, A. M. 2003).

- L'émission thermique : Utilisée dans les microscopes à balayage classiques : la source d'électrons est un filament d'hexa borure de tungstène ou de lanthane (LaB6), chauffé par effet Joule.
- L'émission par effet de champ : Correspond à la technologie utilisée dans le MEB-FEG (abréviation anglaise de Field Emission Gun). Dans ce cas, une cathode métallique très tranchante est utilisée. L'application de tension entre cette électrode négative et l'anode permet d'obtenir un champ électrique très intense grâce à l'effet de crête. Cette différence de technologie présente trois avantages principaux. Le SEM-FEG a une plus grande stabilité lors d'une meilleure observation et fluorescence (efficacité de la source électronique). Sa source d'électrons à une durée de vie plus longue que celle du SEM.

IV.2.9.3. Spectrométrie sélective en énergie (EDS-X)

La spectrométrie sélective en énergie est utilisée pour l'analyse quantitative de la composition des échantillons grâce à la création d'analyses personnalisées, de cartes brutes ou de profils de concentration.

Cette technique est généralement utilisée en microscopie électronique à balayage, et elle dépend de la sensibilité de certains capteurs au flux et à l'énergie des photons émis par l'échantillon observé, Les principaux composants nécessaires pour cette technologie sont : une source d'excitation (le faisceau d'électrons primaire émis par le SEM), un détecteur de rayons X, un processeur d'enregistrement des impulsions et un système de stockage et d'analyse des signaux émis. (Barbier, S. 2014).

Références:

- Amira, K., (2013): Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires et l'effet d'un régulateur de croissance, RH-0345 sur le développement et la reproduction de *Culex pipiens*. Thèse de Doctorat, Université Annaba, Algérie, P: 75.
- Azli, M., & Boutana, D. (2007). Taritement des signaux issues de l'interaction rayonnement-matière: Applications à la microscopie électronique à balayage (Doctoral dissertation).
- Barbier, S. (2014). Étude des techniques de spectrométrie de plasma pour l'analyse de matériaux à spectres optiques complexes: application aux terres rares et aux matériaux plastiques (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).
- Beldi, H. (2007). Étude de *Gambusia affinis* (Poisson, Téléostéen) et *Donax trunculus* (Mollusque, Pélécyfode): écologie, physiologie et impacts de quelques altérages. *Annaba (Algérie): Université Badji Mokhtar d'Annaba*.
- Braithwaite, J. (1999). Restorative justice: Assessing optimistic and pessimistic accounts. *Crime and justice*, 25, 1-127.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Chavanne, M., Beaudoin, G. J., Jullien, A., & Flamand, E. (1991). *Chimie organique expérimentale* (p. 321). Modulo éditeur.
- Dif, M. M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., & Bouterfas, K. (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*, 13(5), 314-319.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Elias, G., & Rao, M. N. A. (1988). Synthesis and anti-inflammatory activity of substituted (E)-4-phenyl-3-buten-2-ones. *European journal of medicinal chemistry*, 23(4), 379-380.
- Goldsworthy, G. J., Mordue, W., & Guthkelch, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology*, 18(3), 545-551.
- Guettaf, S., Abidli, N., Kariche, S., Bellebcir, L., & Bouriche, H. (2016). Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharæ* (Coss. & Dur.). *Der Pharmacia Lettre*, 8(1), 50-60.
- Jayanthi, G., Kamalraj, S., Karthikeyan, K., & Muthumary, J. (2011). Antimicrobial and antioxidant activity of the endophytic fungus *Phomopsis* sp. GJJM07 isolated from *Mesua ferrea*. *Int J Curr Sci*, 1, 85-90.

- Khalaf, A., Shakya, K., AL-Othman, A., El-Agbar, Z., Farah, H., (2008): Antioxidant Activity of Some Common Plants. *Turk J Biol*, 32: 52.
- Leong, W. H., Tarnawski, V. R., & Aittomäki, A. (1998). Effect of soil type and moisture content on ground heat pump performance: Effet du type et de l'humidité du sol sur la performance des pompes à chaleur à capteurs enterrés. *International Journal of Refrigeration*, 21(8), 595-606.
- Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., (1951): Protein measurments with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193: 265-275.
- Matkowski, A., & Piotrowska, M. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77(5), 346-353.
- Mbaebie, B. O., Edeoga, H. O., & Afolayan, A. J. (2012). Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), 118-124.
- Othman, A. M. A. (2011). Arthroscopic versus percutaneous release of common extensor origin for treatment of chronic tennis elbow. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*, 131(3), 383-388.
- Padmanabhan, P., & Jangle, S. N. (2012). Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. *International journal of basic and applied medical sciences*, 2(1), 109-116.
- Prabhu, Y., Burgos, P. V., Schindler, C., Farías, G. G., Magadán, J. G., & Bonifacino, J. S. (2012). Adaptor protein 2-mediated endocytosis of the β -secretase BACE1 is dispensable for amyloid precursor protein processing. *Molecular biology of the cell*, 23(12), 2339-2351.
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyneck, C., Newhall, A., & Freidman, L. (1966). A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Anal. Biochem*, 19, 415-428.
- Szafran, N. (1991). Zonoèdres: de la géométrie algorithmique à la théorie de la séparation (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- Zhou, X., Peng, J., Fan, G., & Wu, Y. (2005). Isolation and purification of flavonoid glycosides from *Trollius ledebouri* using high-speed counter-current chromatography by stepwise increasing the flow-rate of the mobile phase. *Journal of Chromatography A*, 1092(2), 216-221.

Conclusion

Conclusion

Au cours de ces dernières décennies, les plantes médicinales ont connu un intérêt croissant à travers le monde, autant que remède traditionnelle pour la santé publique, grâce aux avantages thérapeutiques qu'elles offrent. Cette diversité de propriétés biologiques et chimiques importantes est associée aux vertus thérapeutiques et pharmacologiques attribuées à un large éventail de substances biologiquement actives synthétisées par la plante comme agents médicinaux pouvant exercer des activités biologiques (anticancéreuses, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antioxydant).

Dans ce présent travail, nous avons tenté de contribuer à la valorisation de feuilles (*Papaya carica* L.) utilisés en médecine traditionnelle dans certains pays tropicaux, qui possèdent des vertus thérapeutiques qui nécessitent des études plus approfondies. Puisqu'il était cultivé dans la région d'El-Oued, en Algérie, il fallait l'étudier et mettre l'accent sur les différences climatiques. Nous avons déterminé la composition phytochimique (le dosage des composés phénoliques, des flavonoïdes et la détermination de la composition par HPLC). Nous avons étudié la capacité antioxydante et anti-inflammatoire de ce extrait.

Le rendement enregistré avec l'extrait méthanolique de feuilles de papaye est égale à 6 %.

Le dosage de polyphénols totaux et de flavonoïdes montre un bon résultat avec des valeurs égales à 69.833 ± 1.663 mg EAG/g Ex; 8.505 ± 0.354 mg EQ/g Ex ont été obtenues respectivement.

L'analyse par HPLC de l'extrait méthanolique de feuilles de papaya a permis la détection des cis molécules (l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide vanillique, l'acide caféique, l'acide p-Coumarique et naringine en différentes quantités.

L'extrait méthanolique de feuilles de papaya a enregistré des activités antioxydantes avec deux méthodes de DPPH* ($69,021 \mu\text{g/ml}$) et FRAP ($3,229$ mg EAA/g).

Sachant que la papaye est considérée comme un nouveau saut qualitatif en Algérie, il faut d'abord la préserver, la développer et l'étudier davantage. Nous proposons donc les perspectives suivantes :

✓ Séparation et caractérisation des composés bioactifs dans les parties de papaya.

CONCLUSION

✓ Elargir le panel des activités antioxydantes et autre tests biologiques contre les maladies ophtalmiques et anti-inflammatoire... *in vitro* et *in vivo*.