

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie-Biologie
Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية-البيولوجيا
الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Contribution à l'étude phytochimique et biologique de plante
endémique *Lawsonia inermis* : comparaison entre deux types de séchages.

Présenté par : Mekki Mancef

Le 22/06/2023

Lemoualdi Mounder

Jury d'évaluation :

Président : Mme KLIBET F. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Rapporteur : Mme. BENNAMOUN L. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : Mme. DAKHMOUCHE S. (MCA – ENS Assia Djébar, Constantine).

Année universitaire
2022 – 2023

Remerciement

*Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous
avoir donné la force à réaliser cet humble travail.*

*Nos sincère remerciements s'adressent à notre encadrante, Mme BENNAMOUN LEILA,
Maître de Conférences B à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université
Constantine 1, pour son encadrement, son soutien et ses recommandations utiles dans la
poursuite de notre travail.*

*Nos remerciements s'adressent à Mme KLIBET F. Maître de conférences B à la Faculté
des Sciences de la Nature et de la Vie Université Constantine 1 et à Mme.
DAKHMOUCHE S. Maître de conférence A à L'ENS Assia Djébar, Constantine d'avoir
accepté d'évaluer ce travail.*

*Nous remercions tous les ingénieurs des différents Laboratoires du Centre de Recherche
en Biotechnologie (CRBT) et spécialement Mr. BENSOUICI CHAOUKI maitre de
recherche B, qui nous ont aidé dans l'accomplissement de ce modeste travail,*

*On tient également à exprimer notre reconnaissance à Mr BOULDJADJ Redouane de
l'université de Constantine 1 pour nous avoir aidé à réaliser la partie in vitro.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à Mme ABDELAZIZ WIDED Chef du Département
de Microbiologie et Mme BENDEMENE SAMIA de Laboratoire de Biochimie.*

*Sans oublier toute personne ayant contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce
travail particulièrement Bouhanika Malak Rym.*

Dédicace

Avant tout, je voudrais remercier Allah de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien cette simple tâche.

Je voudrais dédier ce petit ouvrage à ma merveilleuse mère et à mon père et ma grand-mère, dont le sacrifice et le soutien m'ont donné confiance, courage et stabilité.

À ma sœur Amina et à mon frère Yahia, qui m'ont donné le courage et la force de poursuivre mes études.

A toute ma famille Lemoualdi,

Mon meilleur binôme Mancef,

Mon meilleur ami Azzedine et Mourched,

*Et à tous ceux qui ont contribué à faire de ce travail une réalité,
merci.*

À toute la promo de biochimie 2023.

Mounder

Dédicace

Tout d'abord, je remercie Allah de m'avoir donné la force et le courage d'accomplir cette modeste travaille

Je tiens à dédier ce modeste travail :

Pour mes chers parents, vous avez été mes piliers de force, croyant toujours en moi même quand je doutais de moi-même. Vos sacrifices, votre patience inépuisable et vos encouragements sans fin m'ont fait devenir la personne que je suis aujourd'hui.

Pour mes merveilleux frères Noufel et Mouhamed, vous avez été mes compagnons et confidents constants. C'est avec une immense fierté et joie que je partage ce travail avec vous.

À mon collègue et Binôme Mounder pour son amitié et son soutien dans les bons et les mauvais moments

À mon meilleur ami Moumen qui était là avec moi tout au long des années

Sans oublier mon amis Mordjana Soulef et tous les amis que j'ai rencontrés au cours de mes années d'université

MANCEF

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
CHAPITER 1: Etude Bibliographique	
Partie 1 : la plante médicinale <i>Lawsonia inermis</i>	
1. Historique	3
2. Présentation de la plante	3
3. Description de la plante	4
3.1. Classification Botanique	5
3.2. Nom du henné	5
3.3 culture et récolte du henné	6
4. Exigences de la culture	7
4.1. Besoin d'eau	7
4.2 Sol	7
4.3. Température	7
4.4. Humidité	7
5. Origine et répartition géographique	7
5.1 Origine	8
5.2. Répartition géographique	8
6. Utilisation de <i>Lawsonia inermis</i>	9
6.1. Domaine tinctorial	9
6.2. domaine pharmacologique	10
7. Effet secondaire	10
8. Effet du climats sur la teneur de Lawsons en Henné	10
9. Composition chimique	11
9.1. Les feuilles	11
9.2. Les tiges	12
9.3. Les fleurs	12
9.4. Les Fruits	13
Partie II : PHYTOTHERAPIE ET METABOLISMES SECONDAIRES	
1. Définition des métabolites secondaires	15
2. Les composés phénoliques	15
2.1. Les alcaloïdes	17
2.2. Les terpénoïdes	17
Partie III : LES ACTIVITES BIOLOGIQUES	

1. Généralité des activités biologiques	20
2. Définitions des Métabolites secondaire	20
3. les radicaux libres	20
4. Stress oxydatif	21
5. définition de L'activité antimicrobienne	21
6. Les activités biologiques de <i>Lawsonia inermis</i>	21
6.1. Action antibactérienne	21
6.2. Activité antioxydante	22
6.3. Activité anti-inflammatoire	22
6.4. Activité antifongique	23
6.5. Action diurétique	24
6.6. Action anti-diarrhéique	24
6.7. action analgésique	24
6.8. action anticancéreuse	24
Chapitre 2 : Matériels et Méthode	
1. Matériels végétal	25
1.1. Broyage et tamisage	25
2. Les méthode	26
2.1. Macération et extraction	26
3. Détermination des rendements d'extraction	28
4. Les activités biologiques de <i>Lawsonia inermis</i>	28
4.1. Préparation d'une gamme de dilution	28
4.2 Activité antioxydante	29
4.2.1 Activité DPPH	29
1. Principe de la réaction	29
2. Instruments utilisés	30
3. Réactifs utilisés	30
4. Mode opératoire	30
4.1. Préparation de la DPPH	30
4.2. procédure	30
4.2.2 Activité ABTS	30
1. Principe de la réaction	30
2. Instruments utilisés	30
3. Réactifs utilisés	31
4. procédure	31
4.2.3. Activité Phénantroline	31
1. Principe de la réaction	31

2. Instruments utilisés	31
3. préparation	32
4. procédure	32
4.2.4. Activité FRAP Pouvoir réducteur du fer (Reducing power)	32
1. Principe de la réaction	32
2. Instruments utilisés	33
3. Réactifs	33
4. procédure	33
4.3. Activité inhibitrice de l'α amylase	33
1. Principe de la réaction	33
2. Instruments utilisés	33
3. Réactifs utilisés	34
4. procédure	34
4.4. Détermination du contenu total en polyphénols et en flavonoïdes	34
4.4.1. Contenu total flavonoïque (TFC)	34
1. Principe de la réaction	34
2. Instruments utilisés	34
3. Réactifs utilisés	34
4. préparation de solution	35
5. Préparation d'extraits des plantes	35
6. procédure	35
6.1 pour l'extrait	35
6.2 pour l'étalon	35
7. Gamme d'étalonnage de Quercétine	35
4.4.2. Contenu total phénolique	36
1. Principe de la réaction	36
2. Instrument utilisé	36
3. Réactif utilisé	36
4. Mode opératoire	37
1. Préparation de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5%	37
2. Préparation de l'extrait de plante	37
3. Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois	37
5. Procédure	37
6. Gamme d'étalonnage	37
4.5. Méthodes de dosage des activités inflammatoires	38
4.5.1. L'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)	38
1. Principe	38
2. Mode opératoire	38
4.5.2. L'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par la méthode de stabilisation des membranes (Activité antihémolytique)	39
4.5.2.1. Préparation de la suspension des érythrocytes	39

4.5.2.2 Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire	40
1. Principe	40
2. procédure	40
4.5.2.3. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique	41
1. Principe	41
2. Mode opératoire	41
4.6. L'activité antimicrobienne	41
4.6.1. Préparation des milieux de culture et ensemencement des souches	42
4.6.2. Préparation de l'inoculum	43
5. analyse statistiques	44
Chapitre 3 : Résultat et Discussion	
1. Extraction des métabolites par l'éthanol	45
1.1.Rendement de l'extraction	45
2. Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes	46
2.1.Dosage des composées phénoliques	47
2.2. Dosage des composées flavonoïdes	48
3. Activité antioxydante	50
3.1. Activité anti-radicalaire au DPPH	50
3.2. L'activité de piégeage de radical-cation ABTS (scavenging activity)	52
3.3 Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)	53
3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline	55
4. Activité antimicrobienne	56
5. Activité anti-inflammatoire	69
5.1 Activité hémolytique	69
5.1.1 Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire	69
5.1.2. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique	60
5.2.Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)	61
6. Activité inhibitrice de l'alpha amylase	62
Conclusion Générale	63
Références bibliographiques	65
Annexe	75
Résumé	79

LISTE DES ABREVIATIONS

- **ABTS** : L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).
- **DPPH** : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle.
- **FRAP** : Pouvoir réducteur
- **CI50** : Concentration d'inhibition à 50%.
- **A0.5**: Concentration indiquant 0,50 d'absorbance
- **FCR** : Folin-Ciocalteu.
- **MeOH** : Méthanol.
- **TFC** : Contenu total flavonoïde.
- **RE** : rendement d'extraction en pourcentage.
- **PBE** : poids des boites pleines après séchage (contient l'extrait brut) en gramme.
- **PBV** : poids des boites vides en gramme.
- **PP** : poids des plantes sèches en gramme.
- **TPC** : Contenu Totale Phénolique.
- **DCM** : Dichlorométhane
- **AFa** : faible activité
- **AFo** : forte activité
- **AM** : Moyenne activité
- **PA** : pas d'activité
- **RL** : radicaux libres
- **EOA** : d'espèces oxygénées activées

Liste des figures

- **Figure 1** : les différentes parties de *L. Inermis*.
- **Figure 2**: Partie aérienne avec fruit.
- **Figure 3** : Arbuste de *Lawsonia Inermis*.
- **Figure 4** : Culture du henné et feuilles séchées.
- **Figure 5** : La répartition géographique de *Lawsonia inermis*.
- **Figure 6** : Effets du climat sur la teneur en Lawsonie du henné.
- **Figure 7** : Les feuilles de *L. Inermis*.
- **Figure 8** : Les tiges de *L. Inermis*.
- **Figure 9** : Les fleurs de *L. Inermis*.
- **Figure 10** : Les fruits de *L. Inermis*.
- **Figure 11** : Structure de base de Flavonoïde.
- **Figure 12** : Exemple d'un Alcaloïdes réels: Nicotine.
- **Figure 13** : Structures chimiques des alcaloïdes isolés des graines de *Lawsonia inermis*.
- **Figure 14** : Structures chimiques des terpènes non volatils présents dans *Lawsonia inermis*.
- **Figure 15** : Forme de base de Lawsonie.
- **Figure 16** : Préparation la solution aqueux.
- **Figure 17** : Filtration de l'extrait.
- **Figure 18** : Evaporation et récupération des extraits.
- **Figure 19** : Préparation d'une gamme de dilution d'extrait brute.
- **Figure 20** : Molécule DPPH.
- **Figure 21** : Réduction de radical DPPH en DPPH-H.
- **Figure 22** : Réaction de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les antioxydants.
- **Figure 23** : Mécanisme de réaction du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).
- **Figure 24** : La courbe d'étalonnage de la Quercétine.
- **Figure 25**: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.
- **Figure 26** : Ecoulement et séchage de la gélose et les disques.
- **Figure 27**: Incubation des souches testées.
- **Figure 28** : Teneur en polyphénols totaux de quatre extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 29**: Plaque de dosage des polyphénols des extraits (F, A, S et C) de *Lawsonia Inermis*
- **Figure 30** : Teneur en flavonoïdes totaux de quatre extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 31** : Plaque de dosage des flavonoïdes des extraits (F, A, S et C) de *Lawsonia Inermis*
- **Figure 32** : La plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 33** : Histogramme d'activité de piégeage du radical DPPH des extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 34** : La plaque de dosage de l'activité de piégeage de radical-cation ABTS des extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 35** : Histogramme d'activité de piégeage du radical ABTS des extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 36** : Activité de pouvoir réducteur de l'ion ferrique FRAP des extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 37** : Histogramme d'activité de pouvoir réducteur de l'ion ferrique FRAP des extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 38** : La plaque de dosage de l'activité phénantroline de 4 extraits

- **Figure 39** : Histogramme d'activité phénantroline des extraits de *Lawsonia inermis*
- **Figure 40** : Observation de l'activité antimicrobienne.
- **Figure 41** : Zone d'inhibition sur *Aspergillus niger*
- **Figure 42** : Zone d'inhibition sur *Candida albicans*

- **Figure 43**: Effet de l'extrait à l'état frais sur les souches cliniques à (Gram-) et (Gram+) et champignon.
- **Figure 44**: Effet de l'extrait sécher au séchoir sur les souches cliniques à (Gram-) et (Gram+) et champignon.
- **Figure 45** : Effet de l'extrait sécher à l'air libre de région de Bechar sur les souches cliniques à (Gram-) et (Gram+) et champignon
- **Figure 46** : Effet de l'extrait sécher à l'air libre de région de Zribet El Oued sur les souches cliniques à (Gram-) et (Gram+) et champignon.
- **Figure 47** : Pourcentage d'hémolyse du GR en fonction de la concentration des extraits testés
- **Figure 48** : Effet protectrice des extraits de *Lawsonia inermis* contre stress thermique et osmotique sur les cellules érythrocytaires
- **Figure 49** : La plaque de dosage de l'activité antidiabétique des 4 extraits de *Lawsonia inermis*

Liste des tableaux

- **Tableau 1** : Classification botanique de *Lawsonia inermis*.
- **Tableau 2** : Utilisations médicinales traditionnelles des parties de la plante henné dans divers pays
- **Tableau 3** : Criblage phytochimique des extraits bruts de *Lawsonia inermis*.
- **Tableau 4** : Les dilutions de la gamme d'étalon de la Quercétine.
- **Tableau 5** : Les dilutions de la gamme d'étalon de l'acide gallique.
- **Tableau 6**: Rendement des extraits éthanoliques des quatre échantillons testés de *Lawsonia Inermis*
- **Tableau 7** : Représente les calculs des zones d'inhibitions exprimés en mm des extraits de *Lawsonia inermis* sur les souches microbiennes.
- **Tableau 8** : Valeurs de CI50 test DPPH pour les extraits de *Lawsonia Inermis*.
- **Tableau 9** : Valeurs de CI50 test ABTS pour les extraits de *Lawsonia Inermis*
- **Tableau 10**: Valeurs de $A_{0,5}$ test FRAP pour les extraits de *Lawsonia Inermis*
- **Tableau 11**: Valeurs de $A_{0,5}$ tests Phénantroline pour les extraits de *Lawsonia Inermis*



Introduction

INTRODUCTION

La thérapie par les plantes médicinales est aussi ancienne que l'humanité elle-même, Les plantes médicinales sont utilisées depuis des milliers d'années dans les pratiques de la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections.

Les premières traces écrites de l'utilisation de plantes médicinales pour la préparation de médicaments remontent à la civilisation sumérienne, il y a environ 5 000 ans. Depuis lors, de nombreuses cultures, notamment les Chinois, les Égyptiens, les Indiens, les Grecs, les Romains et les anciens Slaves, ont utilisé un grand nombre de plantes médicinales. Aujourd'hui, des millions de personnes dans le monde utilisent des remèdes à base de plantes et des médecines traditionnelles **(Petrovska, 2012)**.

Ces dernières années, la médecine moderne a également reconnu le potentiel des plantes médicinales. A cause de leur action active due à la présence des composés bioactifs naturels appelés métabolites secondaires, Des nombreux médicaments utilisés pour traiter les infections, les maladies cardiovasculaires, les cancers et comme immunosuppresseurs proviennent de plantes, directement ou sous forme de dérivés **(Benaïche et al., 2019; Yuan et al., 2016)**.

La flore végétale en Algérie est diverse et abondante, Les secrets de la phytothérapie et de la chimiothérapie existent toujours au sein de la flore algérienne, attendant que nous les découvrons et les mettions en valeur.

L'un des plus anciens remèdes naturels originaires du sol algérien, nous avons le cas de Henné (*Lawsonia Inermis*), henné de Zribet El Oued ou " El Hanna Zribiya. C'est une plante endémique de l'Algérie avec un large éventail d'utilisations potentielles en médecine, en cosmétique et dans l'industrie **(Thana Singam et al., 2020)**.

Pour découvrir le potentiel biologique du henné, notre choix s'est porté sur l'étude de quatre différents extraits: henné récolté à l'état frais, henné séché à l'air libre, henné séché par un séchoir et henné commerciale.

Ce document est divisé en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique décrivant la composition chimique de la plante *Lawsonia inermis* à partir d'une étude phytochimique. Il étudie spécifiquement les métabolites secondaires: terpénoïdes, alcaloïdes, stérols et phénoliques....
- ✓ Le deuxième chapitre est réservé à la partie Matériels et méthode.

L'extraction et les dosages quantitatifs des taux de polyphénols et de flavonoïdes condensés.

- ✓ Différentes méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait organique de la plante sont réalisés (dosage de l'ABTS, DPPH, FRAP et Phenanthroline). L'activité antimicrobienne, l'activité anti-inflammatoire, hémolytique et le test de toxicité in vitro sont aussi effectués.
- ✓ Dans Le troisième chapitre nous avons rapporté les différents résultats obtenus, leurs interprétations et une discussion relative aux résultats obtenus. Une conclusion générale résumera l'ensemble des résultats issus de cette étude, et présentera les perspectives de recherche concernant toutes les étapes à réaliser dans l'avenir proche, afin de confirmer l'intérêt de cette étude.



Chapitre 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Historique

Lawsonia inermis, populairement connu sous le nom de Henna ou Mehndi dans le monde oriental, est un arbuste à feuilles persistantes de taille moyenne de la famille des Lythraceae. La pâte de feuilles de cette plante est traditionnellement utilisée pour teindre les cheveux (**Singh et al., 2015**).

Cet arbuste est accompagné de fortes traditions dans le monde oriental. Ce végétal tinctorial décore les mains et les ongles des jeunes mariés, c'est ce que l'on appelle « **la nuit du henné** ».

Il est cultivé au Maghreb depuis longtemps, en Inde ainsi que dans une grande partie de l'Afrique tropicale ; apporté par les égyptiens qui l'ont ensuite répandu en Afrique subsaharienne, en Mauritanie jusqu'au Mali et en Espagne andalouse.

La plante de henné est un arbuste ou un petit arbre glabre très ramifié, cultivé pour ses feuilles, bien que l'écorce de la tige, les racines, les fleurs et les graines aient également été utilisées en médecine traditionnelle (**Sahu et al., 2012**).

Le henné est un agent cosmétique traditionnel et est utilisé dans le monde entier. Il est utilisé dans le monde entier non seulement comme agent cosmétique pour colorer les cheveux, la peau et les ongles, mais également appliqué sur le corps sur les lésions dans le traitement de la dermatite séborrhéique ou des infections fongiques (**Kök et al., 2004**).

2. Présentation de la plante

Le mot henné qui désigne « devenir reine », est une preuve que la plante a une valeur d'élégance chez les civilisations qui l'utilisent. Pendant des siècles, les feuilles de la plante de henné ont été connues comme étant des agents colorants, utilisés dans plusieurs civilisations.

Forme de tatouage varié et éphémère, le rituel du henné se présente comme un phénomène à la fois esthétique, médicinal et spirituel (**Gallo, 2008**).

La littérature et l'art montrent que la *Lawsonia* a joué un rôle essentiel dans la vie quotidienne de certaines cultures anciennes, offrant des avantages psychologiques et médicaux, ainsi que des ornements personnels. Bien que le henné soit traditionnellement appliqué sur les mains et les pieds pour se protéger contre les agents pathogènes fongiques, et sur les cheveux pour lutter contre les poux et les pellicules, d'autres utilisations traditionnelles incluent le

traitement des troubles hépatiques et digestifs et la réduction de la perte de tissus due à la lèpre, au pied diabétique et aux ulcères (**Badoni Semwal et al., 2014**)

Lawsonia inermis crée une image plutôt terne qui ne fait rien pour refléter la lie inextricable et mystérieuse que le henné entretient avec la culture humaine depuis l'Antiquité. Le henné prospère dans les régions semi-arides et sans gel et peut tolérer une sécheresse prolongée et des sols pauvres (**Fernández-García et al., 2014**)

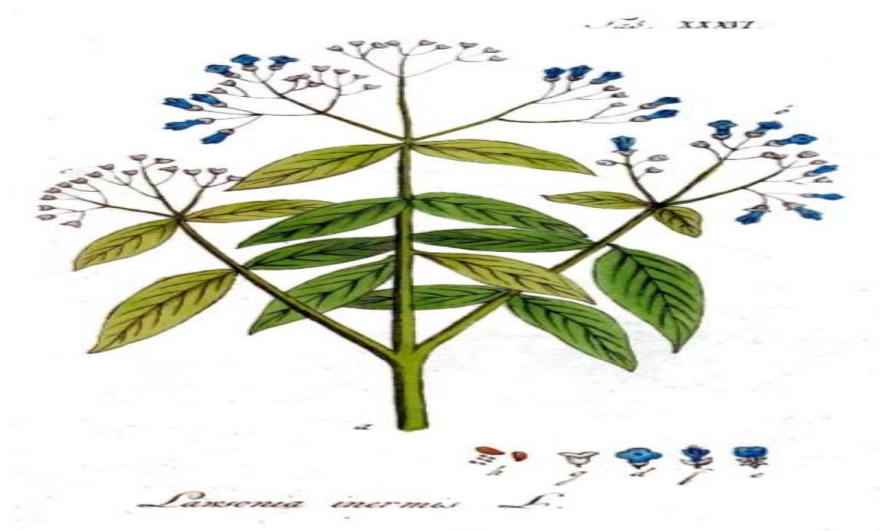


Figure 1: les différentes parties de *L. inermis* (Kurt, s. d.).

3. Description

- Type : Arbuste épineux
- Type de végétation : vivace
- Origine : Arabie saoudite, Émirats arabes du Moyen et Proche-Orient
- Rusticité : -5°C sur de courtes périodes
- Croissance : moyennement rapide
- Lieu de culture : serre chaude, véranda
- Exposition : chaude et ensoleillée
- Hauteur : 2 m à 6m
- Port : étalé, ramifié, buissonnant
- Feuillage : persistant
- Floraison : printemps, été – blanche, blanc rosé, rouge violacé
- Multiplication : semis, bouture, prélèvement des rejets, marcottage de tige



Figure 3: Arbuste de *Lawsonia Inermis* (karen, 2021).



Figure 2: Partie aérienne avec fruit (karen, 2021) .

3.1. Classification botanique

Tableau 01 : Classification botanique de *Lawsonia inermis* (Wong et Theng, 1995)

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledones
Sous classe	Archichlamydeae
Ordre	Myrtiflorae
Famille	Lythraeae
Genre	Lawsonia
Espèce	Inermis
Synonyme	L. ablalam
Nom Commun	Henne

3.2. Nom du henné

Français : Henne ; Alcanna ; troène d'Égypte.

Anglais : Henna plant ; Alcanna

Arabe : Héna le plurielle Hénane, les fleurs appelées Faghia et la plante el Héna et le fruit Tamer Héna.

Turc: Kina

Persan: Draht; Ihana

Sénégal: Fudon, Dabe, Fudal (**Ghileb, 1987**)

3.3. Culture et récolte du henné

La culture du henné nécessite une certaine écologie. Le henné a peur du sol froid et épais et de l'eau salée. Il nécessite de grandes quantités d'eau, de chaleur et de terres qui peuvent être profondément labourées et fortement fertilisées (**Lemordant et Forestier, 1983**). Le henné est pratiqué sur des plantes herbacées et cultivé depuis longtemps (une vingtaine d'années). Mais à partir de la 8ème ou 10ème année, la production commence à décliner. Cela signifie que les agriculteurs ont tendance à renouveler leurs plantations tous les 8 ou 10 ans (**Chattaoui, 1974**).

La propagation du henné peut être réalisée par boutures et graines. Surtout la dernière méthode, même si les graines de henné ont la réputation de pourrir dans le sol. Pour les boutures, on place une branche de henné dans un trou large et peu profond et on l'inonde d'eau pour former une sorte de boue. Pour semer, les graines sont d'abord trempées dans de l'eau chaude pendant environ une semaine, puis semées dans des planches imbibées de boue, ou maintenues humides dans des paniers jusqu'à la germination (**Lemordant et Forestier, 1983**).

Le henné est récolté à tout moment quand il est parvenu à maturité et après floraison. Il existe deux méthodes principales pour la récolte.

- La première consiste à l'effeuillage le long de la branche et faisant tomber les feuilles au sol et on les rassemble par la suite.
- La deuxième consiste à couper les tiges de henné au ras du sol à l'aide d'une courte faucille traditionnelle droite et dentelée

Le henné donne en général 3 coupes par an. Une 4ème coupe est possible dans des conditions très favorables. La première coupe à lieu deux mois environ après le repiquage (Juillet Août). La deuxième vers fin Septembre début Octobre et la dernière au cours du mois de Novembre.



Figure 4: Culture du henné et feuilles séchées (Kurt, s. d.).

4. Exigences de la culture

4.1. Besoin en eau

La taille des feuilles dépend également de la disponibilité de l'eau. Pendant la saison sèche et le lieu sec, les feuilles peuvent être 5-6 fois plus basses que les saisons pluviales ou les endroits humides (**Fernandes, 1978**).

4.2. Sol

La plante tolère des sol pauvres, pierreux et sableux, mais s'adapte aussi bien à des sols argileux lourds et fertiles, les sols qui conviennent le mieux sont les silice-argileux, d'alluvien et pour donner une meilleure teinte au henné c'est le sol argileux (**Kokwaro, 1993**)

4.3. Température

La région d'origine du henné correspond à la savane tropicale et aux régions arides des zones aux latitudes comprises entre 15° et 25° aussi bien Nord que Sud, depuis l'Afrique jusqu'à la zone ouest Pacifique. Elle a les meilleures qualités tinctoriales quand elle est cultivée dans les températures entre 35° et 45°C. Pendant la saison humide, la plante croît rapidement en émettant de nouvelles pousses, puis croît ensuite plus lentement (**Lemordant, 1983**)

4.4. Humidité

La culture du henné préfère les régions avec une faible humidité de l'air et elle tolère la sécheresse, ces conditions favorisent une bonne qualité de la couleur de patte de henné (**Aweke et al, 2005**).

5. Origine et répartition géographique

5.1. Origine

La zone géographique d'où est originaire le henné est la savane tropicale et les zones arides tropicales (Malekzadeh, 1968).

En Asie, *Lawsonia inermis* est cultivée dans tout le Proche Orient, Iran, Perse, l'Inde Occidentale et en Chine. En Afrique, elle est cultivée dans le Maghreb, le Sénégal, le Mali et le soudan (Lekouch et al. 2001).

La plante ne grandit pas lorsque les températures minimales sont inférieures à 1°C. La molécule responsable des propriétés colorantes de la plante, la Lawsone est produite à son haut niveau là où la température est entre 35°C et 45°C. Ses feuilles sont récoltées au cours de la saison du printemps (Paul, 2001).

5.2. Répartition géographique

En général, cette plante est cultivée dans les latitudes entre 15° et 25° N et S de l'Afrique à la bande pacifique occidentale. Elle supporte bien le climat subtropical. Originnaire d'Inde occidentale, la plante *L. inermis* s'est répandue aussi bien vers l'Ouest que vers l'Est (Wikipédia, 2008).

Aujourd'hui il est présent sous les tropiques, principalement dans les jardins familiaux, sa production commerciale est limitée à l'Inde, au Pakistan, Iran, Égypte, Libye, Niger et Soudan.

En Afrique, il est généralement originaire de Madagascar, il est très commun le long de certaines rivières et n'a pas besoin d'être planté (burkill, 1995).

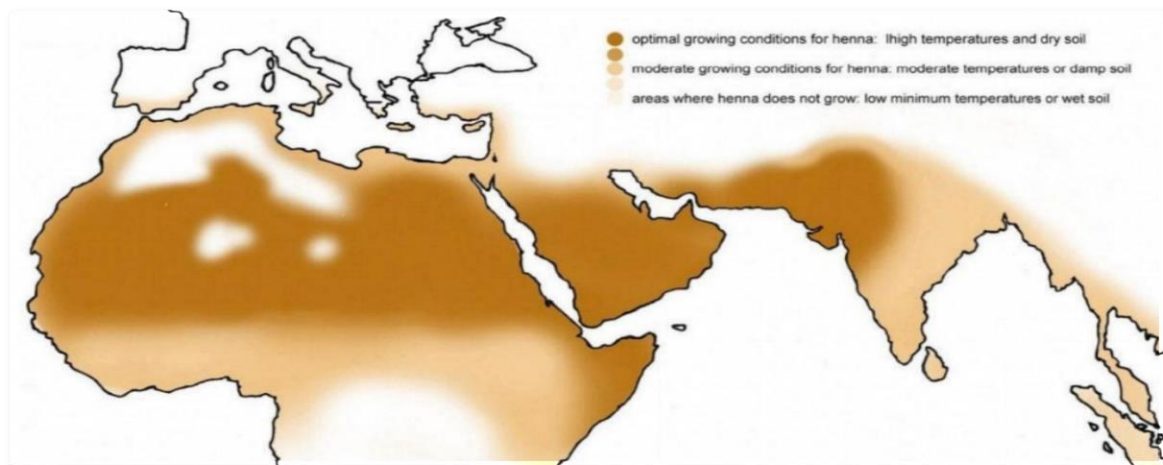


Figure 5: La répartition géographique de *Lawsonia inermis* (Lemordant & Forestier, 1983).

6. Utilisation de *Lawsonia inermis* en médecine traditionnelles

L' utilisation médicinales traditionnelles de *Lawsonia inermis* déferent selon la répartition géographique (**Badoni Semwal et al., 2014**).

Il existe plusieurs méthodes pour l' utilisation d'henné selon les déferentes zones géographiques.

Table 2 : Utilisations médicinales traditionnelles des parties de la plante henné dans divers pays. (**Badoni Semwal et al., 2014; Serakta et al., 2013**)

Pays/région	Usage médicale	Forme appliqué	Administration
Afrique du Nord	-Arthrite rhumatoïde, maux de tête, ulcères, diarrhée	-Feuilles, fleurs, graines, écorce de la tige et racines	Topique Orale
Égypte	-Douleurs et affections cutanées	-Pâte de feuilles	-Topique
Algérie	- Diarrhée, lèpre, fièvre	-Feuilles, fleurs	Topique, Orale
Cambodge	-Diurétique, gonorrhée et bronchite	-Racine	-Orale
Inde	-Jaunisse et autres troubles du foie -Démangeaisons et autres troubles cutanés	-Décoction de l'écorce de la tige - Poudre de feuilles seule ou mélangée	-Orale -Topique

6.1. Domaine tinctorial

Le henné est appliqué sur les cheveux pour les teindre ou leur apporter des nuances ; il est réputé anti pelliculaire et anti séborrhéique. Le résultat de son application dépend de l'origine géographique de la plante utilisée, de la couleur initiale du cheveu et du temps de pose de la pâte (**gast., 2000**).

Les propriétés colorantes du henné ont été utilisées dès les premiers temps de l'islam, il fut recommandé par le prophète Mohamed (paix et prière sur lui) qui l'utilisait pour colorer sa barbe (Forestier, 2007).

6.2. Domaine pharmacologique

Certains tests biologiques ont permis d'évaluer différentes activités biologiques telles que l'activité antihelminthique (l'ascaride lombricoïde), antiprotozoaire (contre la maladie de Sommeil), antispasmodique (Bakkalil et al., 1997 ; Rahmoun, 2009).

Même des propriétés antituberculeuses (Sharma, 1990). D'autres tests révèlent que l'extrait de la plante *L. Inermis* sert par voie externe comme antiparasitaire, antiseptique, antimycotique, contre la gale et comme traitement de l'abcès (Yogisha et al., 2002).

Par contre, l'utilisation interne de l'extrait de la plante sert contre la dysenterie amibienne, les ulcères gastro-intestinaux et comme anti- diarrhéique (Wichtl, 1999).

7. Effets secondaires

Dans certains cas, l'utilisation prophylactique ou cosmétique du henné peut être à l'origine de certaines affections telles que l'anémie hémolytique, ainsi que la nécrose tubulaire chez les animaux (Kok et al., 2004).

Quelques cas isolés de réactions d'hypersensibilité de type direct ont été signalés lorsque des teintures de préparations de henné mélangées à d'autres ingrédients ont été utilisées (Frosch et Hausen, 1986).

Lorsque ces ingrédients pénètrent dans la peau à travers le tatouage, il se fixe aux cellules de la peau. Au final, cette fixation est à l'origine de réactions allergiques aux préparations au henné. En revanche, la poudre de henné pur sans additif n'a eu aucun effet, rendant la sensibilisation à *L. inermis* inefficace (Le Coz, 2001).

8. Effets du climat sur la teneur en Lawsonie du henné

Lawsonie est la substance chimique qui est responsable de la couleur rouge et que l'on trouve également dans le henné (*Lawsonia inermis*) (Dweck, 2002).

La lawsone réagit chimiquement avec la protéine kératine de la peau et des cheveux, ce qui produit une forte coloration permanente qui dure jusqu'à ce que la peau ou les cheveux soient éliminés (Jordão, A et al, 2015).

La plante d'henné est très affectée par le climat chaud qui conduit à améliorer les niveaux de Lawsone dans la plante.

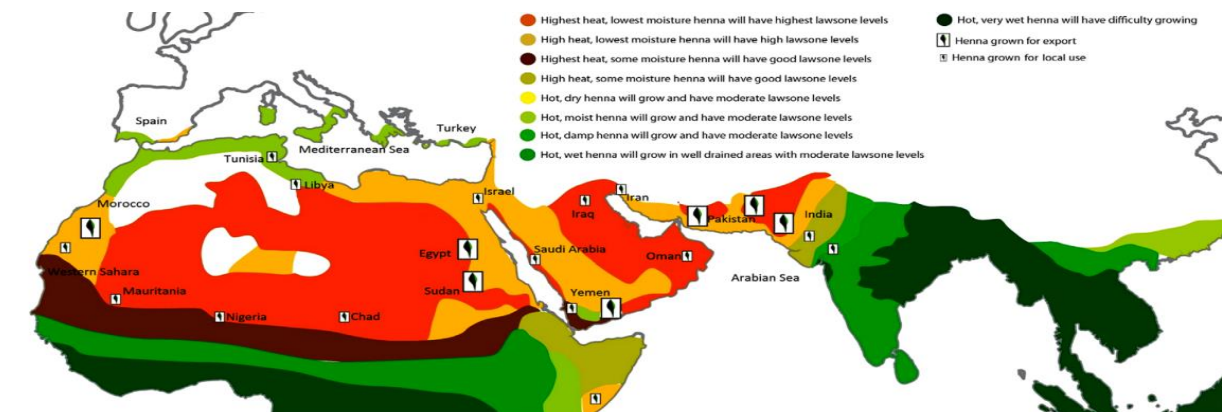


Figure 6: Effets du climat sur la teneur en Lawsone du henné (Badoni Semwal et al., 2014).

9. Composition chimique

Les composés isolés sont des dérivés de naphtoquinone, des composés phénoliques, des terpénoïdes, des stérols, des dérivés Aliphatiques, xanthones, coumarines, acides gras, acides aminés (Makhija et al., 2011).

9.1. Les feuilles

Selon Sarita (1991), les feuilles de henné contiennent :

- 7 à 8% de tanins, contenant des flavonoïdes.
- 6% de lipides, dont xanthones et coumarines.
- 2% de pigments résineux et flavonoïdes.
- 1% de pigments de naphtoquinone dont les plus importants sont le Lawson ou l'hydroxydinathoquinone 1.4. C'est ce Lawsone qui donne à l'acajou sa couleur brune par oxydation.



Figure 7: Les feuilles de *Lawsonia Inermis* (yands, 2016).

9.2. Les tiges

Les tiges des plantes contiennent différentes substances complexes. Il est rapporté que l'écorce de cette plante contient des dérivés de naphtoquinone, tels que : 2-Methyl-8hydroxy-1,4-naphtoquinone, de plus, deux triterpènes pentacycliques ont été isolés de l'écorce et identifiés comme 3,13,30-dihydroxylup-20(29)-ène (hennadiol) et (20S)-3,13,30-dihydroxylupane (Gupta, 1993).



Figure 8: Les tiges de *L.inermis* (yands, 2016).

9.3. Les fleurs

Quant aux fleurs elles contiennent une huile essentielle à ionone qui est responsable de leur parfum. Les graines contiennent : 5.8% d'une huile fixe composée d'acide arachidonique, d'acides, stéarique, palmitique, oléique et linoléique en plus d'une huile essentielle composée d'ionone principalement (Sarita, 1991).



Figure 9: Les fleurs de *L.inermis* (Garg, 2023).

9.4. Les fruits

Les fruits donnent des graines. Les graines contiennent 5.6 % d'une huile fixe renfermant 10.5 % de cire et d'insaponifiable, 37.7 % d'acides solides avec une matière colorante **(Bruneton, 1993)**.

Les acides de cette huile sont les acides béhénique (1.69 %), arachidique (9.6 %), stéarique (15.78 %), palmitique (9.07 %), oléique (34.66 %), et linoléique (29.31 %). La distillation des graines à la vapeur d'eau conduit à l'obtention de 0.01 à 0.02 % d'huile essentielle brune formées à 90 % d'ionone **(Paris et Moyse, 1965)**. Des coumarines et des xanthones sont aussi présents **(Bruneton, 1993)**.

Composition en stérols de la graine de *Lawsonia inermis* :

Cholestérol 0,1%, Δ 5-Avenastérol 4,8%, Campesterol 6,2%, Δ 7-Stigmastérol 4,8%, Δ 5-Stigmastérol 6,4%, Δ 7-Avenastérol 0,4%, β -Sitostérol 61.2% **(Nounah et al., 2017)**.



Figure 10: Les fruits de *L. Inermis* (Garg, 2023).

1. Définition des Métabolite secondaires

Les métabolites primaires sont les composés essentiels à la croissance, au développement et à la reproduction d'un organisme.

Ils sont généralement produits par des voies biochimiques essentielles et sont nécessaires aux fonctions métaboliques de base de l'organisme. Les acides aminés, les nucléotides et les acides organiques sont des exemples de métabolites primaires.

Les métabolites secondaires, Les métabolites secondaires sont des composés produits par les plantes et les micro-organismes qui ne sont pas essentiels à leur croissance ou à leur survie (Thirumurugan et al., 2018).

Ces composés sont généralement produits en réponse à des stress environnementaux, tels que la prédation ou la compétition, et ont souvent des fonctions spécifiques telles que la défense contre les herbivores, l'attraction des pollinisateurs ou l'inhibition des organismes concurrents (Wink, 2015).

Les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques sont des exemples de métabolites secondaires.

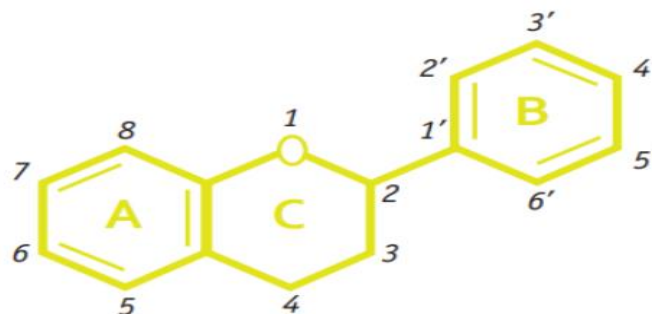


Figure 11: Structure de base de flavonoïde (Collin et al., 2011).

Notre plante d'étude pas une exception, les constituants naturels de *Lawsonia inermis* sont la Lawsone (2-hydroxy-1,4-naphtoquinone), l'huile essentielle, les tanins, les terpénoïdes, les lipides, les coumarines, les flavonoïdes et les acides phénoliques (Elansary et al., 2020).

2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour les protéger des rayons UV, des dommages mécaniques et de certaines infections et prédateurs. Les fruits, le café, le thé, les haricots noirs, la poudre de cacao et les légumes contiennent une gamme variée de polyphénols présentant une grande diversité chimique (Wu et al., 2021).

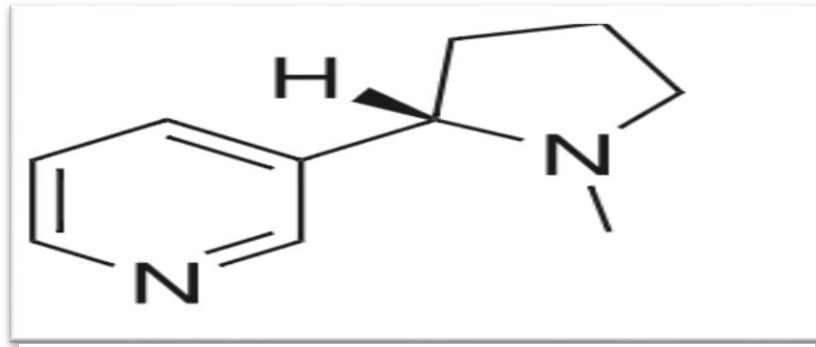


Figure 12: Exemple d'un Alcaloïdes réels: Nicotine (Verpoorte, R., 1997).

Ils sont caractérisés par la présence de groupements phénoliques: un ou plusieurs cycles aromatiques (benzéniques) porteurs d'un ou plusieurs OH.

En effet, *Lawsonia inermis* contiennent différents composés phénoliques : des quinones, des phénylpropanoïdes, des flavonoïdes, des terpénoïdes. Elle contient aussi des coumarines, des dérivés naphthaléniques et des xanthones. Par ailleurs, l'odeur piquante de l'huile essentielle isolée des fleurs est due à la présence d'un terpène, la β -ionone, trois composés (bicoumarine A, biflavonoïde A et biquinone A), ont été aussi isolés à partir des fleurs (Akbar, S., 2020).

Différents composés phénoliques chez le henné à savoir : les polyphénols (équivalents à l'acide gallique), tanins (équivalents aux catéchines), flavonoïdes (équivalents à la Quercétine) et anthocyanes (équivalents aux anthocyanes) et Autres dérivés de la naphthoquinone :

1,3-dihydroxy naphthalène, 1,4-naphthaquinone, 1,2-dihydroxy-4-glucosylnaphtalène ont également été isolés à partir des feuilles de *Lawsonia inermis* (Al-Snafi, 2019).

Autres composés phénoliques se trouvent dans les différentes parties de la plante l'obtusafurane, la lawsonicine, l'acide p-coumarique, l'acide gallique. Cependant la lawsochyline l'alcool dihydrodédihydrodiconyférylique ont été isolés à partir des tiges et les feuilles de la plante.

Par contre, les feuilles ont donné des composés phénoliques, et de lawsoniaside (Badoni Semwal et al., 2014).

2.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés basiques, principalement hétérocycliques et essentiellement d'origine botanique. En chimie biologique, les alcaloïdes sont souvent des dérivés des acides aminés. Ils sont présents en tant que métabolites secondaires dans les plantes, les champignons et quelques groupes d'animaux sous forme de combinaisons complexes, souvent basées sur plusieurs, voire des dizaines de molécules alcaloïdes distinctes et leurs prédécesseurs (Arnold, 1989).

Plusieurs études ont signalé la présence d'alcaloïdes dans *Lawsonia inermis*. Une étude a découvert des alcaloïdes dans la fraction chloroforme/méthanolique des feuilles de la plante (Manuja et al., 2021).

Une autre étude a examiné le contenu phytochimique des extraits bruts et fractionnés de *Lawsonia inermis* et a découvert que des alcaloïdes étaient présents dans toutes les parties de la plante.

Cependant Le criblage phytochimique des extraits bruts de racine, de tige et de feuille de plante a révélé la présence de plusieurs substances phytochimiques.

La présence d'alcaloïdes, glycosides cardiaques, de saponines, résines, des flavonoïdes, des phénols, des anthraquinones ont été découverte dans un extrait hexanique des racines et les feuilles de la plante. L'extrait de tige a révélé des flavonoïdes, des stérols qui ne sont pas présent chez les feuilles (Onuh et al., 2021).

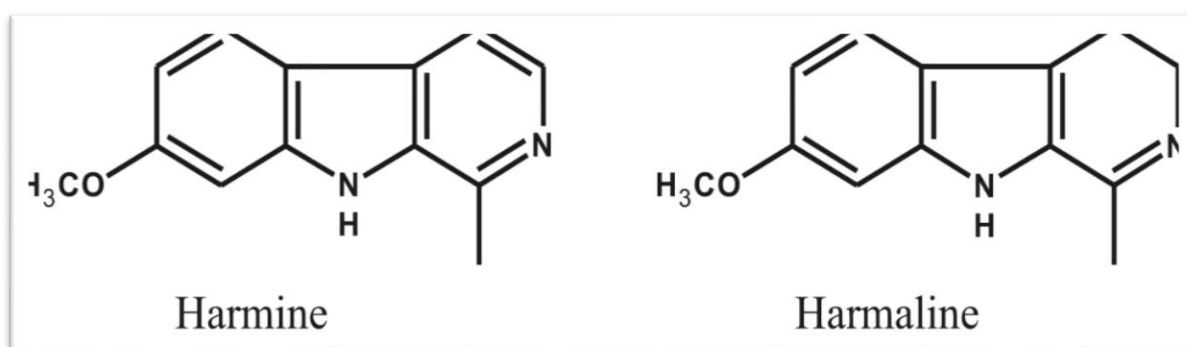


Figure 13: Structures chimiques des alcaloïdes isolés des graines de *Lawsonia inermis* (Badoni Semwal et al., 2014).

2.2. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, également connus sous le nom d'isoprénoïdes, sont une classe de produits chimiques organiques naturels dérivés du composé à 5 carbones isoprène et de ses

dérivés appelés terpènes, diterpènes, etc. Bien qu'ils soient parfois utilisés de manière interchangeable avec les "terpènes", les terpénoïdes contiennent des groupes fonctionnels supplémentaires, généralement contenant de l'oxygène (Chemistry (IUPAC), s. d.).

Ils constituent la plus grande classe de métabolites secondaires végétaux, représentant environ 60% des produits naturels connus. De nombreux terpénoïdes présentent une bioactivité pharmacologique importante et intéressent donc les chimistes médicaux (Ashour et al., 2010).

Diverses analyses phytochimiques ont confirmé la présence de terpénoïdes la plante.

Des terpénoïdes ont été découverts dans la plante, ainsi que des hydrates de carbone, des composés phénoliques, des tanins, des flavonoïdes, des protéines et des saponines, selon les recherches (Gull et al., 2013).

Ces composés contribuent aux propriétés médicinales et pharmacologiques de la plante (Ntaganda et al., 2022).

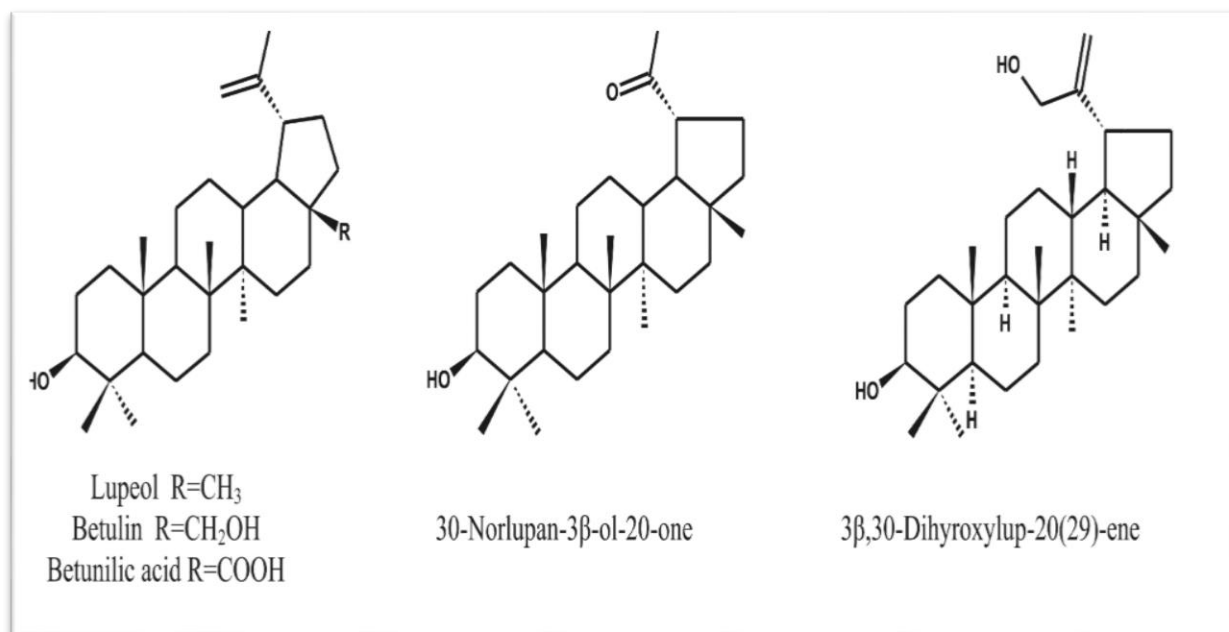


Figure 14: Structures chimiques des terpènes non volatils présents dans *Lawsonia inermis* (Badoni Semwal et al., 2014).

La révélation de ces métabolites secondaire à une relation avec le solvant utilisé pour traiter la plante.

Tableau 3 : Criblage phytochimique des extraits bruts de *Lawsonia inermis* (Onuh et al., 2021)

Produits phytochimiques	Hexane			Acétate d'éthyle			Méthanol			Aqueux		
	Racine	Tige	Feuille	Racine	Tige	Feuille	Racine	Tige	Feuille	Racine	Tige	Feuille
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Anthraquinones	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+
Terpènes	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
Tannins	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Saponines	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Stérols	-	+	-	-	-		-	-	+	-	-	-
Phénols	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

1. Généralités des activités biologiques

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, l'attention s'est portée ces dernières années sur l'activité antioxydante car elle prévient les maladies chroniques telles que les maladies cardiaques, le cancer, le diabète, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer en luttant contre le stress oxydatif (**Meddour, 2011**).

Lawsonia inermis, plus connue sous le nom de henné, est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle en raison de ses propriétés curatives.

Elle possède un spectre varié de composés chimiques, notamment des dérivés de la naphthoquinone, dont le principal constituant est la Lawsone, et la matière colorante des feuilles.

Parmi les autres composés chimiques qui contribuent à ses qualités thérapeutiques figurent les dérivés phénoliques, les coumarines, les xanthones, les tanins, les flavonoïdes, les terpènes et les stérols, ainsi que d'autres constituants chimiques tels que les acides aminés (**Oghenemaro et al., 2022**).

2. Définition de l'activité antioxydante

Les antioxydants sont des molécules qui inhibent, ralentissent ou empêchent l'oxydation des espèces réactives de l'oxygène ou d'autres molécules qui se produisent sous l'influence de l'oxygène atmosphérique (**Pisoschi et Negulescu, 2011**).

Les antioxydants protègent également le corps des radicaux libres et des ROS (espèces réactives de l'oxygène). Ils peuvent retarder la progression de nombreuses maladies chroniques et la peroxydation des lipides (**Gülçin, 2012**).

La plupart des antioxydants naturels sont des composés phénoliques tels que les tocophérols, les flavonoïdes et les acides phénoliques (**Gülçin, 2012**).

3. Les radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des atomes, des molécules ou des ions (dérivés de l'oxygène, de l'azote et du soufre) qui ont un ou plusieurs électrons non appariés sur leur enveloppe externe, sont très instables et actifs pour les réactions chimiques visibles (**Carocho et Ferreira, 2013**).

Il existe certains facteurs oxydatifs qui conduisent l'organisme à produire plus de radicaux libres, ce sont des facteurs endogènes tels que la chaîne respiratoire, la réponse

immunitaire, la traduction du signal, le système NADPH oxydase et des facteurs exogènes tels que l'alimentation (Morena et al., 2002).

4. Stress oxydatif

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme.

Les EOA peuvent attaquer les composants cellulaires en raison de leur structure électronique instable. Biomolécules : Les protéines, les lipides, les glucides et l'ADN sont attaqués par les radicaux libres, entraînant un dysfonctionnement des processus de la vie cellulaire, qui est à l'origine du développement de diverses maladies (Mohammed, 2013).

5. Définition de l'activité antimicrobienne

L'activité antibiotique correspond à l'activité d'une molécule ou d'un composé présent dans la plante qui, à de très faibles concentrations, inhibe le développement de la bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie peut varier selon la souche à laquelle elle appartient (Nicole et al., 1998).

L'une des approches courantes pour trouver des substances biologiquement actives est le criblage systématique de micro-organismes ou de plantes, qui sont la source de nombreux agents thérapeutiques utiles (Sagdic et al., 2002).

6. Les activités biologiques de *Lawsonia inermis*

6.1. Action antibactérienne

Lawsonia inermis possède des caractéristiques antibactériennes très importantes. Plusieurs études ont été menées pour étudier l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de henné contre diverses souches bactériennes. Des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques de feuilles de henné, par exemple, ont été testés contre 46 isolats de *Staphylococcus aureus* et ont démontré une activité antibactérienne (Al-iedani et al., 2013).

Lawsonia inermis tire ses activités antimicrobiennes de ses métabolites secondaires tels que les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes, les flavonoïdes, les tanins.

Ces derniers lui confèrent des propriétés antimicrobiennes contre un large éventail de micro-organismes tels que *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus niger* (Malekzadeh, 1968).

Selon les différentes espèces microbiennes, l'extrait éthanol possède une caractéristique antimicrobienne très étendue (Gull et al., 2013).

Cette activité antibactérienne est attribuée aux composés phénoliques, principalement en raison de la Lawsone, de l'acide gallique et du 1,4-naphtoquinone (Ali et al., 2001)

En outre, les activités antimicrobiennes de la 2-hydroxy-1,4-naphtoquinone, un composé actif isolé des feuilles de henné, et de ses analogues ont été évaluées contre des bactéries d'origine alimentaire (Yang & Lee, 2015).

6.2. Activité antifongique

L'activité antifongique est l'une des nombreuses caractéristiques thérapeutiques de *Lawsonia inermis*. Le henné contient des glucides, des protéines, des flavonoïdes, des tanins, des composés phénoliques, des alcaloïdes, des terpénoïdes, des quinones, des coumarines, des xanthones et des acides gras, qui contribuent tous aux propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes, antimicrobiennes et antifongiques de la plante. (Kamal & Jawaid, 2011).

Mais la principale substance chimique responsable des activités antifongiques de *Lawsonia inermis* est la 2-hydroxynaphtoquinone, souvent connue sous le nom de Lawsone (Rahmoun et al., 2013).

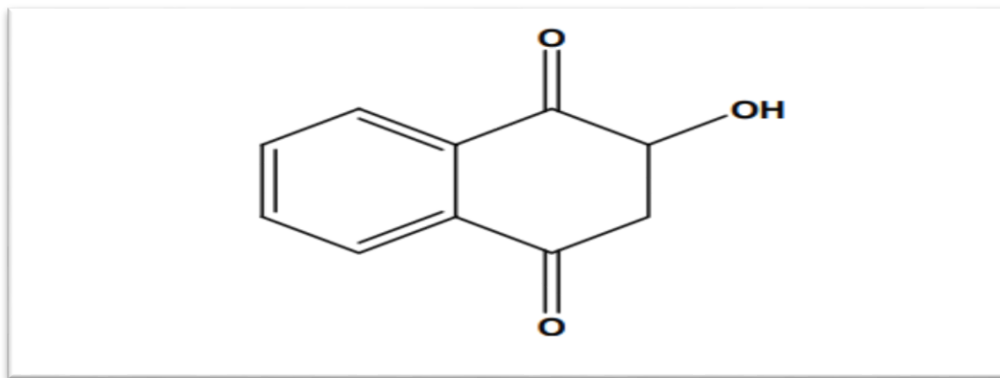


Figure 15: Forme de base de Lawsone (Kamal & Jawaid, 2011).

De plus, les feuilles de henné sont efficaces contre *Pityrosporum* (effet inhibitrice totale), *Alternaria*, *Aspergillus*, *Absidia*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Circinella*..., La puissance antifongique est due à la lawsone et à son isomère, le Juglon (Kathem et al., 2008).

6.3. L'Activité antioxydante de *Lawsonia inermis*

Les antioxydants assurent une protection grâce à leur capacité à éliminer les espèces réactives de l'oxygène telles que les radicaux superoxydes, hydroxyles, peroxydes et acides nitriques créés au cours de processus métaboliques aberrants.

Des études récentes ont montré que de nombreux flavonoïdes et polyphénols apparentés contribuent de manière significative à l'activité de piégeage du phosphomolybdate des plantes médicinales. Un nouveau composé isolé de la fraction d'acétate d'éthyle des feuilles de *L. inermis*, le 1,2,4-trihydroxynaphtalène-2-O- β Dglucopyranoside, a eu un effet puissant sur l'activité antioxydante (**Pasandi Pour & Farahbakhsh, 2020**).

Une autre étude a cherché à explorer la composition de l'huile de graines de *Lawsonia inermis* et à évaluer certaines de ses actions en vue d'une application potentielle en cosmétique. Bien que l'étude ait découvert que les phytostérols sont des constituants précieux de l'huile de henné, elle a conclu que l'huile de henné a une activité antioxydante intéressante et un effet anti-peroxydation des lipides (**Elaguel et al., 2019**).

6.4. L'Activité anti-inflammatoire de *Lawsonia inermis*

L'inflammation peut être caractérisée comme un échec de la résolution, le processus complexe et actif de l'arrêt de la réaction inflammatoire et la restauration de l'équilibre homéostatique (**Ahmed, 2011**).

D'un point de vue biologique, l'inflammation survient lorsque le système immunitaire est sous stress. par exemple en cas d'infections microbiennes et virales, d'exposition à des composés toxiques, de maladies auto-immunes et chroniques, d'obésité et d'alimentation riche en calories, de sorte que les facteurs de stress sont éliminés et que le processus de réparation et l'homéostasie tissulaire sont déclenchés (**Rahaman et al., 2020**).

Lawsonia inermis est utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle, Le criblage phytochimique et l'étude des effets anti-inflammatoires soulignent ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires (**Manuja et al., 2021**).

Ce potentiel anti-inflammatoire est le résultat de nombreux composés présents dans les différentes parties de la plante.

L'étude sur les propriétés analgésiques et anti-inflammatoires de la lawsone, ont montrent que cette molécule bioactive possède des propriétés analgésiques et anti-inflammatoires significatives, ce qui en fait un candidat prometteur pour des recherches plus approfondies et des applications thérapeutiques potentielles (**Talab et al., 2022**).

À côté de la Lawsone, l'huile du henné contient des différents composés (lipides, composés phénoliques) ayant un effet anti-inflammatoire, notamment : β sitostérols, glycosides,

flavonoïdes, quinones, acide gallique, coumarines, xanthones et lawsoniasides (Alia et al., 2008; Zouhri et al., 2017).

6.5. Action diurétique

Une action diurétique est envisagée pour le henné du fait de la présence de mannitol et de polyols dans les feuilles (Bezanger et al., 1986)

6.6. Action anti-diarrhéique

Lawsonie diminue la force et l'ampleur des contractions intestinales. Il sera également un puissant antispasmodique en inhibant les selles (Abulyazid et al., 2010 ; Makhija, 2017).

6.7. Action analgésique

En 1988, Bagi et ses collaborateurs étudient l'activité pharmacologique de l'huile provenant des graines de Lawsonia. Ils découvrent alors que celle-ci possède une certaine action analgésique.

6.8. Action anticancéreuse

Le cancer est un problème de santé majeur dans le monde entier, et les traitements traditionnels du cancer peuvent être associés à des effets secondaires graves. C'est pourquoi l'utilisation de produits naturels, tels que les composés d'origine végétale, peuvent constituer une alternative. Plusieurs plantes contiennent de nombreux composés bioactifs, tels que les polyphénols, qui se sont révélés avoir des propriétés anticancéreuses, y compris des effets inhibiteurs sur la prolifération des cellules cancéreuses, la croissance tumorale et la mort cellulaire (Bhosale et al., 2020).

Pour effet anti-cancéreux de notre plante. La Lawsonie un constituant majeur de *Lawsonia inermis* testé in vivo prouve d'être actif contre le sarcome de souris 180. Il était moins efficace contre le sarcome de Yoshida chez le rat. Les feuilles et les fleurs sont traditionnellement utilisées pour traiter les tumeurs inflammatoires et la racine pour traiter le cancer de la peau (Dhananjay et Luqman. 2014).



Chapitre 2

Matériel et méthode

Notre présente étude porte sur l'évaluation *in vitro* des activités biologiques attachée à l'espèce végétale *Lawsonia inermis* séchée par deux différentes méthodes de séchages. A cet effet, une investigation phytochimique est réalisée sur les feuilles de la plante. Ceci dans le but d'extraire les métabolites secondaires responsables de l'activité antioxydante, antimicrobienne, enzymatique et de l'activité anti-inflammatoire de la plante endémique : feuille a l'état frais, séché a l'air libre, séché par un séchoir (région de Bechar), feuilles séchés à l'air libre (région de Zerebet el oued) et faire une étude comparative entre les 4 échantillons de *Lawsonia inermis*.

L'étude est réalisée aux Laboratoires de Microbiologie et de Biochimie Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université Frères Mentouri Constantine. Ainsi, que le laboratoire de Génie Enzymatique et Application Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Université Frères Mentouri Constantine et les Laboratoires de Biochimie du Centre de Recherche Nationale en Biotechnologie (CRBT) de Constantine.

1. Matériel végétal

Des échantillons ont été étudiés sur la plante "*Lawsonia inermis*" dont les feuilles ont été séchées de différentes manières. La plante a été récoltée dans deux régions différentes l'extrait « F, A, S » a été récolter au niveau de la région de BECHAR et extrait « C » au niveau de la région EL OUED.

Nous avons étudié quatre échantillons : La plante à l'état frais (F) ; plante séchée au séchoir (S) et plante séchée a l'air libre (A) ; plante séchée à l'air libre de région Zribet el oued(C).

1.1. Broyage et tamisage

Les feuilles de *Lawsonia inermis* sont nettoyées et dépoussiérée des autres impuretés, puis séchez dans un endroit frais et bien aéré à l'abri de l'humidité et à température ambiante pendant 15 jours pour mieux préserver les molécules thermosensibles et la lumière. Après séchage, les feuilles sont récupérées pour la préparation des extraits éthanoliques.

Dans notre travail, nous nous intéressons à l'évaluation des paramètres suivants :

- Extraits bruts obtenus par macération par une solution d'éthanol des feuilles de *Lawsonia Inermis*.
- Evaluation de l'activité antioxydante, antibactérienne et antifongique, anti-inflammatoire, enzymatiques, dosage phénolique et flavonoïde des feuilles de *Lawsonia Inermis*.

2. Les Méthodes

2.1. Macération et extraction

Une masse de 250g de feuille de chaque extrait a été ajoutée à 1L de liquide éthanolique (80% éthanol ,20% Eau) pendant 3 jours à l'obscurité à température ambiante.



Figure 16: Préparation de la solution éthanolique.

L'extrait éthanolique a été initialement récupéré après filtration du mélange sur coton absorbant (hydrophile). Le résidu obtenu est soumis à une deuxième extraction avec un volume différent du même mélange pour augmenter le rendement de l'extrait.



Figure 17: Filtration d'extrait.

Récupérer les deux filtrats en évaporant le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C. Les extraits secs obtenus sont ensuite stockés dans l'hôte jusqu'à ce qu'ils soient finalement séchés et utilisés.

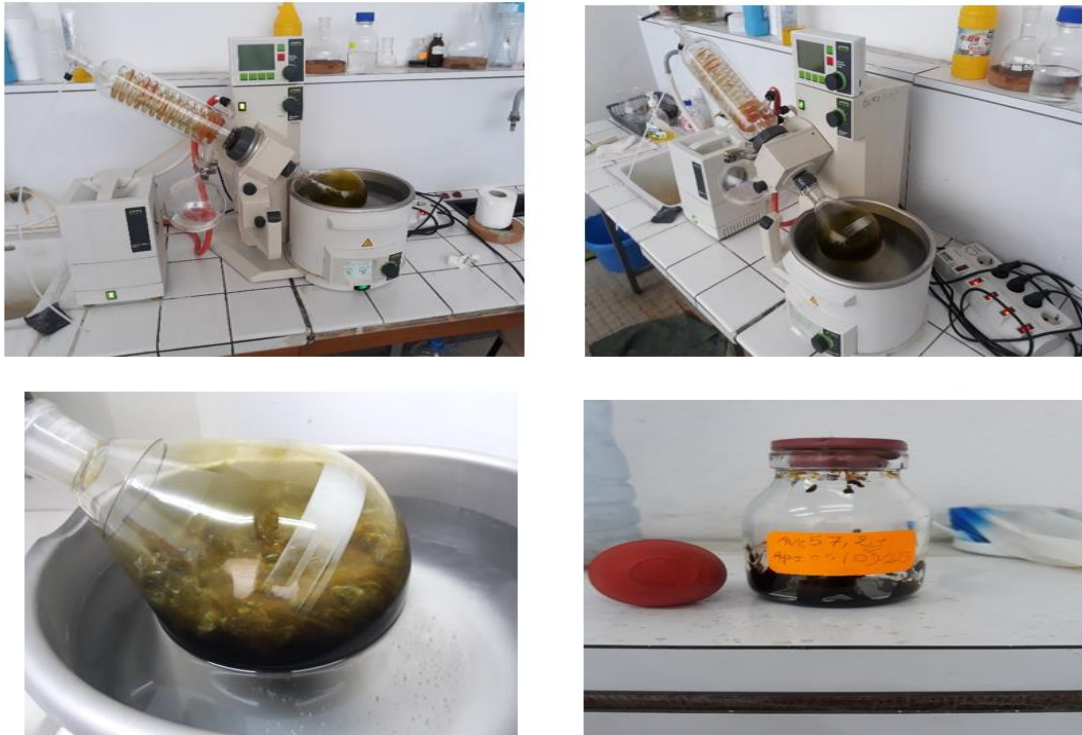
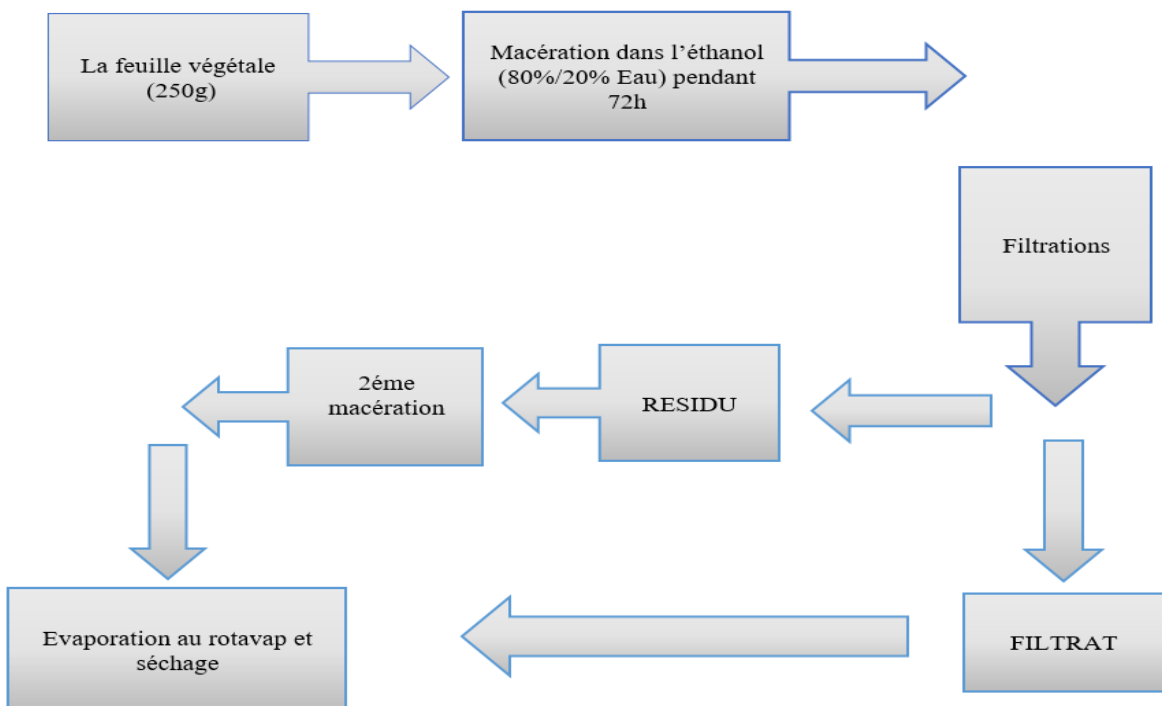


Figure 18: Evaporation et récupération des extraits.



3. Détermination des rendements d'extraction

Le rendement d'extraction a été estimé par rapport au poids de l'extrait brut et de la masse de la matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$\text{RE (\%)} = \frac{\text{PBE} - \text{PBV}}{\text{PP}} \times 100$$

4. Activités biologiques de *Lawsonia inermis*

4.1. Préparation d'une gamme de dilution

On a pesé 4 mg d'extrait et on le dissout dans 1 ml d'éthanol (solution mère) (Tube 01)

Dans chaque Eppendorf nous avons 0,5 ml de solution précédente et ajouter 0,5 ml d'éthanol comme plage de dilution.

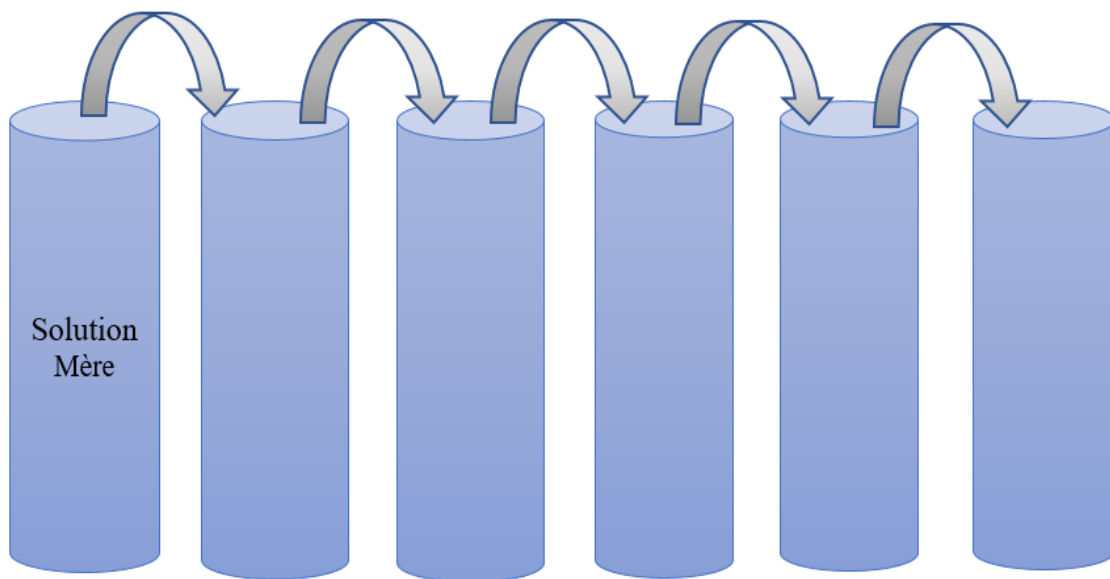


Figure 19: Préparation d'une gamme de dilution d'extrait brute.

4.2. Activité antioxydante

L'activité anti oxydante des extraits des feuilles de *Lawsonia inermis* est réalisée à l'aide de plusieurs méthodes :

- Piégeage du radical libre DPPH.
- Piégeage du cation radical ABTS.
- Pouvoir réducteur (FRAP) (Reducing power).
- Activité phénanthroline.

4.2.1. Activité DPPH

1. Principe de la réaction

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois, 1958). Le Trolox et acide ascorbique utilisés comme standards antioxydants.

Dans ce test, la molécule ou l'antioxydant réagit avec le radical libre stable DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) en transférant de l'hydrogène, ce qui fait changer la couleur de la molécule, DPPH• initialement violet puis se transformant en DPPH -H, qui est jaune pâle après réduction (Fofié et al., 2017 ; Nagarajan et al., 2017).

2. Instruments utilisés

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 µl pour chaque puits

3. Réactifs utilisés

- 1- Ethanol
- 2- DPPH
- 3- A-tocophérol
- 4- Quercétine ou Catéchine
- 5- Extrait de plante

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de la DPPH

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

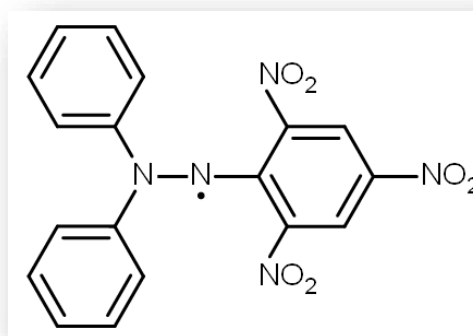


Figure 20: Molécule de DPPH

4.2. Procédure

160 μ l (DPPH) + 40 μ l (extrait) + lecture 517 nm

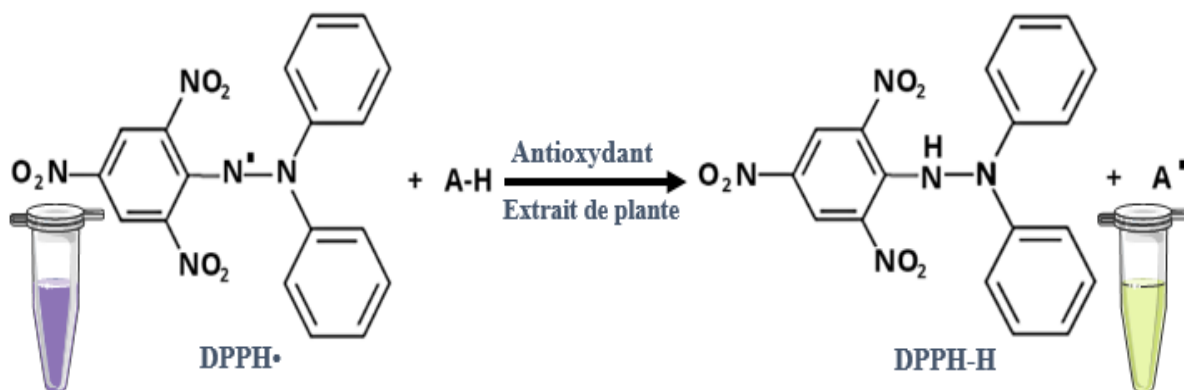


Figure 21: Réduction de radical DPPH en DPPH-H.

4.2.1. Activité ABTS

1. Principe de la réaction

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al. (1999)**

2. Instrument utilisé

Un spectrophotomètre à cuve de volume 3 ml ou un lecteur à microplaque.

3. Réactifs utilisés

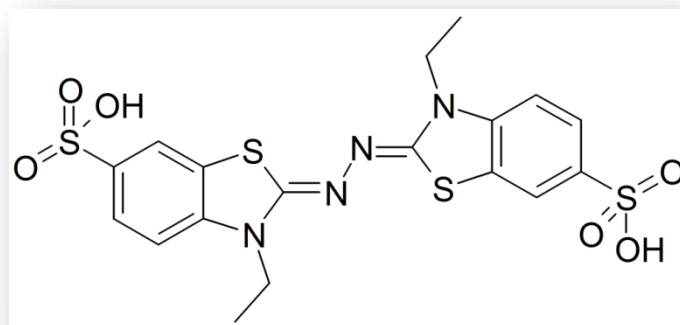
- 1- $K_2S_2O_8$
- 2- ABTS
- 3- Eau distillé
- 4- Ethanol
- 5- Acide ascorbique et Trolox

4. Procédure

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

$(ABTS^+) \rightarrow 19,2 \text{ mg (7 mM) ABTS} + 5 \text{ ml } H_2O + 3,3 \text{ mg (2.45 mM) } (K_2S_2O_8) + 5 \text{ ml } H_2O +$
attendre 16 heure à l'abri de la lumière

160 μ l ($ABTS^+$) + 40 μ l (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm



4.2.3. Activité Phénantroline

La méthode à la phénanthroline est basée sur la réduction des ions Fe^{3+} en Fe^{2+} par des antioxydants. Les ions Fe^{2+} formés réagissent ensuite avec la 1,10-phénanthroline pour former le complexe rouge orangé de la triphénanthroline, qui a un maximum d'absorption à 508-510 nm (Mukhopadhyay et al., 2016 ; Yefrida et al., 2018). Selon Mukhopadhyay et al (2016), si du peroxyde d'hydrogène est ajouté au tube avant d'ajouter de la 1,10-phénanthroline, H_2O_2 oxydera les ions ferreux en ions ferriques, qui ne pourront alors pas se former avec le complexe 1,10 Rouge orangé - phénanthroline. Ce test est utilisé depuis longtemps pour mesurer quantitativement le fer dans une variété d'échantillons.

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniaka (2008)**.

1. Instrument utilisés

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 μ l pour chaque puits

2. Réactifs utilisés

- 1- Phénantroline
- 2- Chlorure de fer ($FeCl_3$)
- 3- MeOH, Eau distillée

3. Préparation

- **Phenanthroline (0.5%)**

0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH

- **Chlorure de fer $FeCl_3$ (0.2%)**

0.02g de $FeCl_3$ dans 10ml de H_2O

4. Procédure

- 10 μ l extrait + 50 μ l $FeCl_3$ (0.2%) +30 μ l Phenanthroline (0.5%) + 110 μ l MeOH+ incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C + lecture à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard.

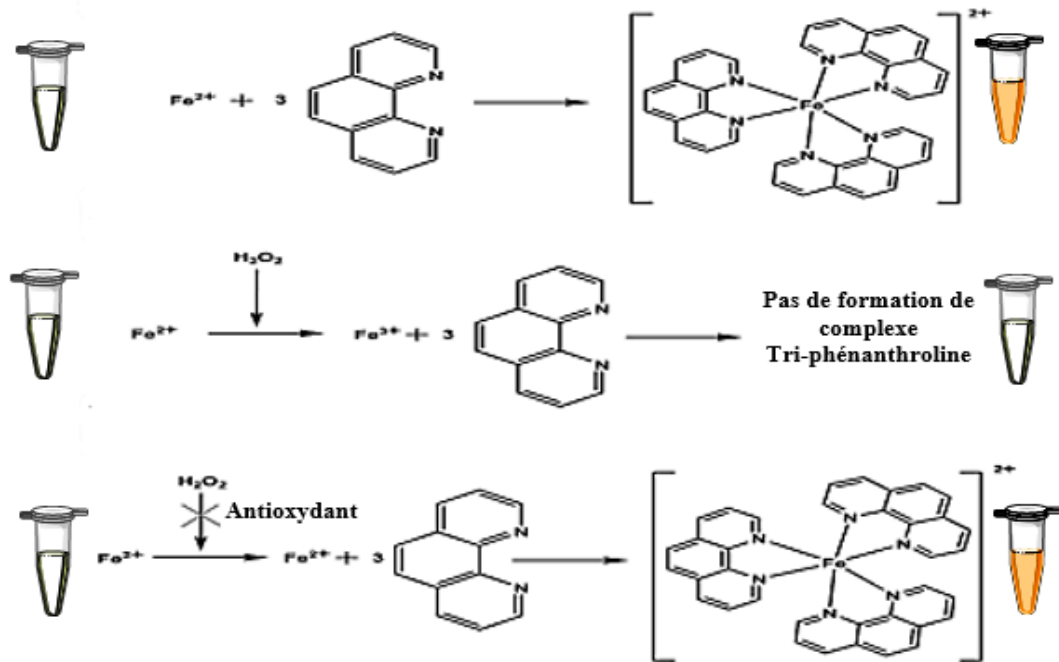


Figure 22: Réaction de la capacité de piégeage du peroxyde.

4.2.4. Activité FRAP Pouvoir réducteur du fer (Reducing power)

1. Principe de la réaction

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode de **Oyaizu, (1986)** avec une légère modification

Les substances ayant un potentiel de réduction réagissent avec le ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) pour former du ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}), qui lui-même réagit avec le chlorure ferrique pour former un complexe ferreux bleu cyan avec une absorption maximale à 700 nm (**Jayanthi et Larisa, 2011**).

2. Instrument utilisés

Lecteur de microplaque

4. Réactifs utilisés

- 1- TCA
- 2- $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$
- 3- FeCl_3
- 4- Tampon phosphate
- 5- Eau distillée

5. Procédure

10 μl extrait + 40 μl tampon phosphate (pH 6.6) + 50 μl Ferricyanure de potassium (1%) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dans 100 ml H_2O) + incubé a 50°C pendant 20mn +50 μl Acide trichloroacétique (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 ml H_2O) + 40 μl H_2O + 10 μl Chlorure de fer FeCl_3 (0.1%) (0,1 g de FeCl_3 dans 100 ml H_2O) + lecture à 700 nm.

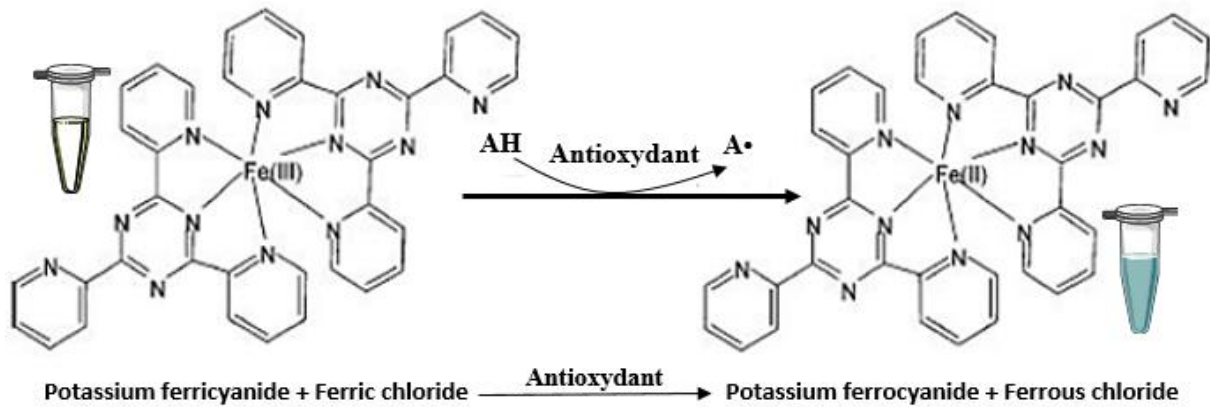


Figure 23: Mécanisme de réaction du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).

4.3. Activité inhibitrice de l' α amylase

4.1.1. Principe de la réaction

L'activité inhibitrice de la α -amylase a été réalisée à l'aide de la méthode iode / iodure de potassium (IKI) (G. Zengin et al. 2014) avec quelques modifications.

4.2.1. Instrument utilisé

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 250 μl pour chaque puits.

4.3.1. Réactifs

- 1- Enzyme α -amylase 1U.
- 2- Amidon 0.1% (mettre la solution dans la microonde à plusieurs cycles de 15 sec)
- 3- HCl 1M : Ajouter doucement à 45.83 ml d'eau, un volume de 4.17 ml d'HCL pure.
- 4- Solution IKI : -Dissoudre 3 gr de KI dans 100 ml d'eau ;
-Ajouter 127 mg d'iode (5mM), agiter jusqu'à dissolution complète.
- 6- Tampon phosphate (PH 6.9) avec 6mM NaCl (35.1 mg NaCl pour 100 ml de tampon).

4.4.1. Procédure

25 μl extrait + 50 μl (solution α amylase 1U) : incubation pendant 10 min à 37°C + 50 μl d'amidon 0.1% : incubation pendant 10 min à 37°C + 25 μl HCl (1M) + 100 μl IKI + lecture à 630 nm.

Calcul de pourcentage d'inhibition :

$$\%INH=1-[(A_c-A_e)-(A_s-A_b)/(A_c-A_e)]$$

A_c =Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

A_e =Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

A_s =Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

A_b =Absorbance [Extrait+IKI+125 μ l de tampon]

4.4. Détermination du contenu total en polyphénols et en flavonoïdes

4.4.1. Contenu total flavonoïque (TFC)

1. Principe de la réaction

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. La méthode de **Topçu et al., 2007** est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

2. Instrument utilisés

Un lecteur microplaque (Perkin Elmer, Enspire) est utilisé pour la mesure de l'absorbance

3. Réactifs utilisés

- 6- Méthanol
- 7- Eau distillé
- 8- 10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$)
- 9- 1 M Acétate de potassium (CH_3COOK)
- 10- Quercétine (Flavonoïde)
- 11- Extrait de plante

4. Préparation des solutions

Pour 1 M Acétate de potassium (CH_3COOK) on dissolvé 9.80 gramme de (CH_3COOK) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S_1

Pour 10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

5. Préparation de l'extrait de plante

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution (S_2).

6. Procédure

6.1. Pour l'extrait

50 μ l (S_2) (extrait de plante) + 130 μ l (MeOH) + 10 μ l (S_1) (CH_3COOK) + 10 μ l ($Al(NO_3)_2 \cdot 9H_2O$) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 μ l extrait + 150 μ l méthanol).

6.2. Pour l'étalon

7. Préparation de la gamme d'étalon de la Quercétine

On prend 1 mg de la Quercétine et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml S_m .

Les dilutions sont préparées dans des Eppendorfs comme la suite :

Tableau 4 : Les dilutions de la gamme d'étalon de la Quercétine

Dilutions	SM (μ l)	Méthanol (μ l)
25 μ g/ml	25	175
50 μ g/ml	50	150
75 μ g/ml	75	125
100 μ g/ml	100	100
125 μ g/ml	125	75
150 μ g/ml	150	50
175 μ g/ml	175	25
200 μ g/ml	200	0

50 μ l de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 μ l (MeOH) + 10 μ l (S_1) (CH_3COOK) + 10 μ l ($Al(NO_3)_2 \cdot 9H_2O$) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm.

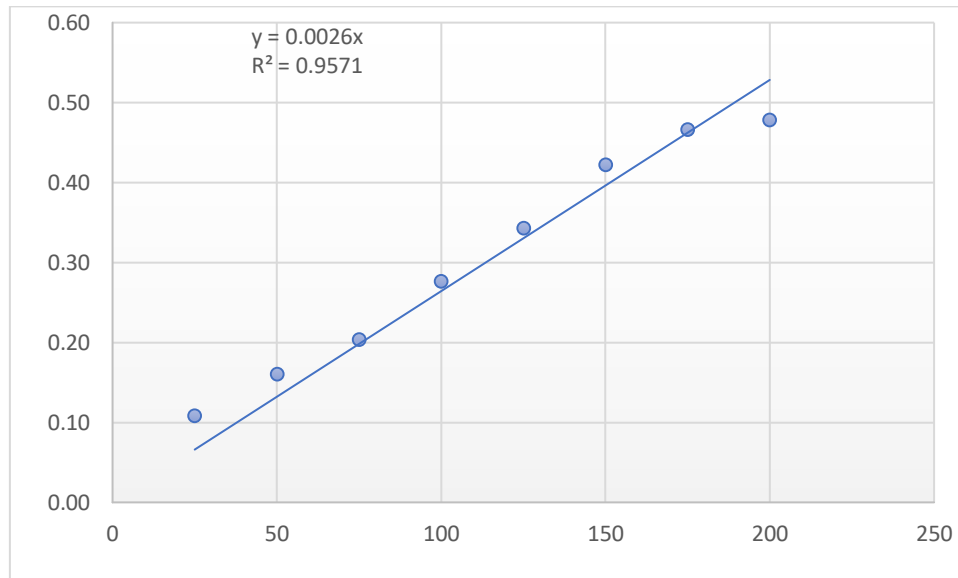


Figure 24: La courbe d'étalonnage de la Quercétine.

4.4.2. Contenu total phénolique (TPC)

1. Principe de la réaction

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al. (2010).

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

2. Instrument utilisés

Un lecteur microplaque

3. Réactifs utilisés

- Eau distillé, Méthanol
- FCR (Folin-Ciocalteu réactif)
- Na₂CO₃ de 7,5% (Carbonate de sodium)
- Acide Gallique
- Extrait de plante

4. Mode opératoire

1- Préparation de Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5%

7,5 gramme de Na_2CO_3 et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

2- Préparation de l'extrait de plante

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée (ou Méthanol)

3- Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

5. Procédure

20 μl d'extrait de plante + 100 μl de FCR dilué (1 :10) + 75 μl de carbonate de sodium (7,5%) + mettre le mélange à l'obscurité pendant 2h + lecture à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

6. Gamme d'étalonnage

Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissolvé dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S_1 (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des Eppendorfs comme la suite:

Tableau 5 : Les dilutions de la gamme d'étalon de l'acide gallique

Dilutions	SM (μl)	Méthanol (μl)
25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	25	175
50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	50	150
75 $\mu\text{g}/\text{ml}$	75	125
100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	100	100
125 $\mu\text{g}/\text{ml}$	125	75
150 $\mu\text{g}/\text{ml}$	150	50
175 $\mu\text{g}/\text{ml}$	175	25
200 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200	0

20 μl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque + 100 μl FCR (1 :10) + 75 μl de Na_2CO_3 (7,5%)+ incubation 2h + lecture à 765nm.

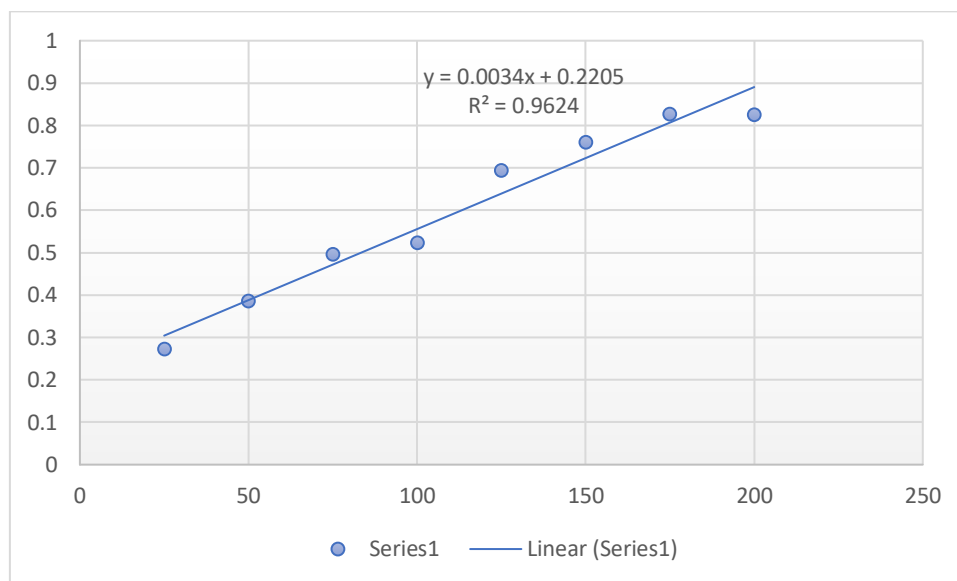


Figure 25: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

4.5. Méthodes de dosage des activités inflammatoires

4.5.1. L'activité anti-inflammatoire *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)

1. Principe

La dénaturation des protéines est l'une des causes bien documentées de l'inflammation conduisant à diverses maladies inflammatoires. Ainsi, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines suggère un potentiel clair d'activité anti-inflammatoire (**Habibur et al., 2015 ; Osman et al., 2016**). Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes, nous avons appliqué le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines décrit par Karthik et ses collègues (2013). Le principe consiste à inhiber la dénaturation de la BSA provoquée par la chaleur à 72°C par les extraits végétaux.

2. Mode opératoire

Afin de déterminer l'activité anti-inflammatoire, une série de concentrations de chaque extrait végétal est effectuée, variant de 0 à 8 mg/ml. 1 ml de la solution de BSA à (0,2%) préparée dans le Tris-Hcl (0,05 M à pH 6,6) est ajouté à 1ml de chaque dilution. Ensuite, le mélange est incubé à 37°C pendant 15 minutes, puis à 72°C pendant 5 minutes. A la fin de l'incubation, et après l'avoir vortexé, le mélange est refroidi rapidement, puis la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour chaque concentration d'extrait, un blanc est préparé dans le but de retirer l'absorbance de l'extrait et du Tris-Hcl des résultats obtenus. Ce blanc était constitué de 1ml d'extrait et de 1ml de Tris-Hcl (0,05 M à pH 6,6). Dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour les échantillons, le diclofénac a été utilisé dans ce test comme anti-inflammatoire de référence.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Protection (\%)} = \frac{[\text{DO Control} - \text{DO blanc}] - (\text{DO échantillon} - \text{DO blanc})}{(\text{DO controle} - \text{DO blanc})} \times 100$$

- **DO Blanc** : Absorbance de l'extrait sans BSA.
- **DO Echantillon** : Absorbance de l'échantillon ou standard (test).
- **DO Contrôle** : Absorbance solvant utilisé pour les extraits et du BSA

4.5.2. L'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de stabilisation des membranes (Activité antihémolytique)

Cette étude visait à évaluer la capacité d'extraits de plantes (*Lawsonia inermis*) à prévenir l'hémolyse des globules rouges (GR) induite par le stress osmotique et le stress thermique. Le choix des érythrocytes était justifié car ils sont acceptés comme modèles cellulaires dans la recherche scientifique et ils présentent des analogies avec d'autres membranes cellulaires, notamment celle du lysosome. En effet, lorsque les globules rouges sont exposés à des concentrations de sels hypotoniques et à la chaleur, leurs membranes se rompent et leur contenu cytoplasmique (hémoglobine) est libéré. On pense que l'intensité de l'hémolyse est déterminée en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine libérée.

4.5.2.1. Préparation de la suspension des érythrocytes

Du sang fraîchement prélevé à l'aide d'une seringue graduée sur rats mâles de souche *Wistar albinos*, a été mis dans des tubes héparines ensuite centrifugé à 1300g pendant 10 min (4°C), pour séparer les globules rouges des autres éléments constitutifs du sang. Après élimination du surnageant, le culot a été récupéré et lavé 3 fois avec une solution d'eau physiologique (0,9%) à température ambiante, et chaque lavage consiste à une centrifugation à 1300 g pendant 5min. Le culot après la dernière centrifugation est re-suspendu à nouveau dans Une solution constituée de tampon phosphate salin (PBS) à PH= 7,4, à raison d'un volume du culot et 9 volumes de PBS, permettant alors d'obtenir un hématocrite à 10% (v/v).

4.5.2.2. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire

1. Principe

Avant de nous concentrer sur les pouvoirs de stabilisation des membranes des extraits de plantes, un test d'innocuité sur des cellules érythrocytaires est requis afin de déterminer les concentrations à utiliser.

2. Mode opératoire

Pour ce test, une gamme de concentrations des extraits allant de 0 à 8 mg/ml a été préparée dans un tampon phosphate salin (pH 7,4 ; 0,9% NaCl). 1.6 ml de différentes concentrations des deux extraits à tester a été mélangée avec 0.4 ml de la suspension de globules rouges à 10 %. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 30 min, puis centrifugé à 1300g pendant 10 min. L'absorbance du surnageant a été lu à 540 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. En respectant les mêmes conditions expérimentales, un contrôle incluant 0.4 ml de la suspension de globules rouges et 1.6 ml d'eau physiologique ou de l'eau distillé, à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse, respectivement. Le diclofénac est utilisé comme molécule de référence dans cette expérience, préparer dans les mêmes conditions.

Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, un blanc constitué de 1.6 ml d'extrait et de 0,4 ml de tampon phosphate salin (PBS pH 7,5 ; 0,9 % NaCl) est préparé, qui a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats obtenus. Les pourcentages d'hémolyses de chacune des concentrations utilisées sont calculés :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO blanc}}{\text{DO contrôle} - \text{DO blanc}} \times 100$$

- **DO blanc** : Absorbance de l'extrait
- **DO échantillon** : Absorbance de l'échantillon ou du standard (test).
- **DO contrôle** : Absorbance du contrôle (100 % d'hémolyse).

4.5.2.3. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique

1. Principe

L'objectif de cette étude est basé sur l'évaluation de la capacité des extraits de plantes à empêcher l'hémolyse des globules rouges des rats après induction de l'hémolyse par une

solution hypotonique associée à une température élevée en même temps suivant le protocole de Ganesh et ses collaborateurs (2013). L'intensité de l'hémolyse est estimée par la mesure de l'absorbance de l'hémoglobine libérée à 540nm.

2. Mode opératoire

Dans des tubes à essais, 0,5 ml d'extraits aqueux des plantes (dissous dans NaCl 0,9%), 1.5 ml du tampon phosphate non salin (0,15 M, pH 7,4) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0,36%) ont été mélangés et incubés à 37 °C pendant 20 min. Après cela, un volume de 0,5ml de la suspension des érythrocytes (10 %) a été rajouté dans chaque tube, suivi d'une incubation à 56 °C pendant 30 min. Les tubes ont été mis dans de l'eau ambiante pendant 20 min, afin de bloquer la réaction ensuite centrifugé à 1300g pendant 10 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite alors à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le contrôle consiste d'un mélange de 1 ml de la solution hyposaline, 1 ml du tampon PBS, 0,5 ml de la suspension de globules rouges et 0,5 ml d'eau physiologique. Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, un blanc est préparé pour éliminer l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats obtenus. L'acide gallique est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait (0-800 µg/ml). Le pourcentage d'hémolyse est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO blanc}}{\text{DO contrôle} - \text{DO blanc}} \times 100$$

4.6 L'activité antimicrobienne

Les tests de l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits bruts aqueux de *Lawsonia inermis* ont été réalisés dans le Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Constantine. Les trois souches bactériennes testées sont fournies par Mme ABDELAAZIZ WIDED du laboratoire de l'Université de Constantine. Les bactéries utilisées sont les suivantes :

- **Bactéries à Gram négatif** : *Escherichia coli*. (ATCC 25922)
- **Bactéries à Gram négatif** : *Pseudomonas aeruginosa*. (ATCC 27853)
- **Bactéries à Gram positif** : *Staphylococcus aureus*. (ATCC 25923)
- **Fungi** : *Aspergillus niger*.
- **Levure** : *Candida albicans*

Dans cette activité, nous utilisons la technique de l'aromagraphe développée par Schroeder et Messing en 1949 et citée par (**Rhayour, 2002**). Dans cette méthode, un disque de papier Whatman de 6 mm de diamètre est imprégné d'un volume connu de l'extrait brut à évaluer et déposé à la surface d'un milieu gélosé (Muller Hinton "AMH agar") versé dans une boîte de pétri standard 4 mm épais, puis inoculé avec des cotons-tiges et incubé à 36°C pendant 24 heures, les résultats ont été lus en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en mm (Ponce et al., 2003). Cette activité est réalisée en suivant les étapes suivantes :

4.6.1. Préparation des milieux de culture et ensemencement des souches

Après stérilisation du milieu Mueller Hinton, verser 20 ml du milieu dans une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre et qui doit avoir 6 mm d'épaisseur. Dans des conditions stériles, laisser le milieu se solidifier sur une surface froide. Pour éviter la formation de gouttelettes d'eau à la surface de la gélose, ce phénomène modifie la qualité de diffusion du milieu.

Ensemencer par écouvillonnage 3 fois en stries serrées sur toute la surface du milieu en faisant tourner la boîte de 60° après chaque écouvillon. L'inoculum doit être uniformément réparti sur la surface de la gélose pour une bonne reproductibilité.

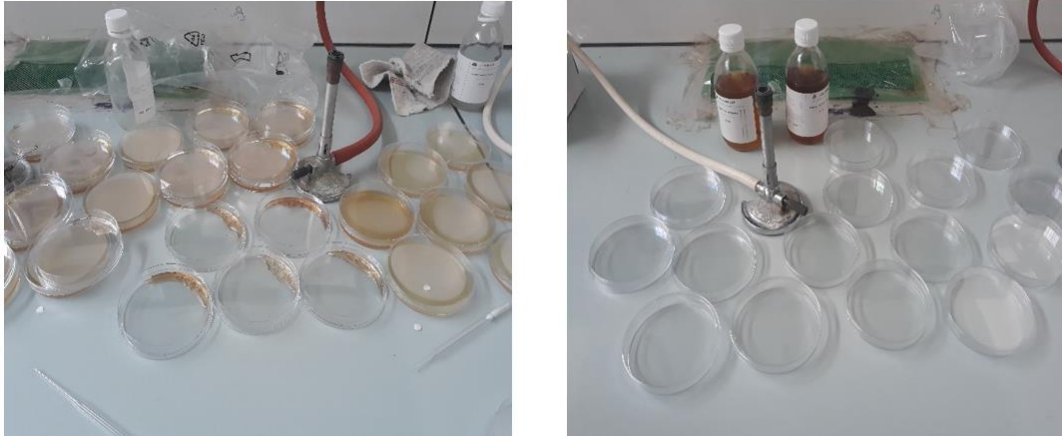


Figure 26: Ecoulement et séchage de la gélose.

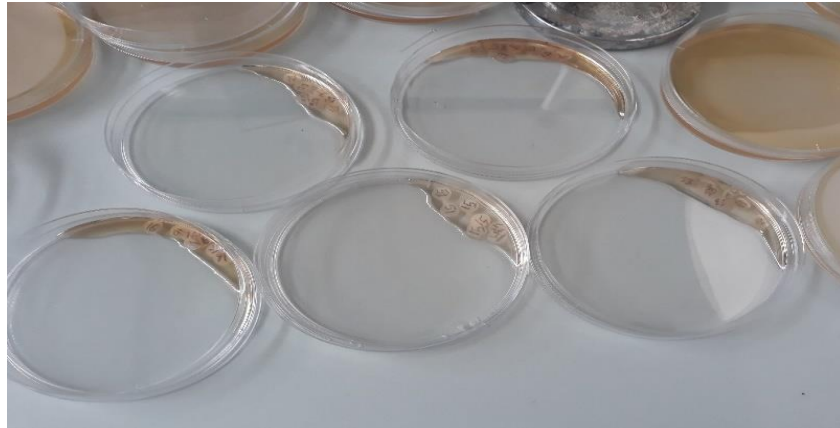


Figure 27: Séchage des disques.

4.6.2.2. Préparation de l'inoculum

Ensemencer les souches sur gélose nutritive et incubé à 36°C pendant 24 heures pour optimiser leur croissance. Utiliser une pipette Pasteur pour gratter plusieurs colonies bien séparées et identiques de chaque souche à tester. Homogénéiser les suspensions bactériennes et fongiques en pipétant 10 ml d'eau distillée stérile avec une pipette Pasteur.



Figure 28: Incubation des souches testées

5. Analyses statistiques

Pour l'étude in vitro, les résultats ont été exprimées en moyennes \pm S.D ($p < 0.05$) pour trois réplicas pour chaque échantillon pour l'activité anti-inflammatoire. Les valeurs A0.5 (puissance réductrice et dosage FRAP et Phénantroline) et IC50 (DPPH, ABTS).



Chapitre 3

Résultas et Discussion

Dans cette partie, l'extraction des métabolites secondaires et de leur analyse quantitative par dosage colorimétrique est réalisée pour la plante *Lawsonia inermis* provenant de deux régions différentes du sud Algérien : région de Bechar et de Zribet El Oued. Les feuilles de la plante sont séchées par deux différents types de séchages.

Les résultats de l'évaluation des différentes activités biologiques (antioxydants, antiinflammatoires et enzymatique) et antibactériennes. Ainsi que la quantification des polyphénols et des flavonoïdes est testée sur les différents échantillons de la plante.

1. Extraction des métabolites par l'éthanol

L'extraction par un solvant est une technique sélective qui repose sur la solubilité des espèces à extraire dans un solvant donné. Le solvant doit alors être non miscible à l'eau, dissoudre facilement l'espèce à extraire et être liquide à la température de l'extraction.

D'après la bibliographie et afin d'obtenir une meilleure extraction des molécules bioactives nous avons choisis l'éthanol à 80%.

En effet, selon l'étude de **Al Snafi, 2019** l'extraction de feuille de *Lawsonia inermis* par l'éthanol a donné les meilleurs résultats par rapport aux autres solvants testés (éthyle acétate, n-hexane et méthanol).

1.1. Rendement de l'extraction

Le but de cette étape est de connaître la quantité et le pourcentage d'extrait éthanolique obtenu par extraction. Les rendements d'extraction ont été estimés en fonction du poids d'extrait brut et de la masse de matière sèche végétale. Exprimé en pourcentage, calculé selon la formule suivante :

$$RE (\%) = \frac{PBE - PBV}{PP} \times 100$$

RE : rendement d'extraction en pourcentage.

PBE : poids des boîtes pleines après séchage (contient l'extrait brut) en gramme.

PBV : poids des boîtes vides en gramme.

PP : poids des plantes sèches en gramme.

PBE – PBV : poids de l'extrait sec.

Tableau 6: Rendement des extraits éthanoliques des quatre échantillons testés de *Lawsonia inermis*

	<i>Lawsonia inermis</i>			
	F	S	A	C
Poids des plantes sèches (g)	250	250	250	250
Poids des boîtes vides en (g)	57,20	57,20	57,30	143,38
Poids de l'extrait sec (g)	29,0987	31,94	34,8	17,3
Rendement (%)	11,64	12,7	13,92	9,65

Les résultats du tableau 6 montrent que l'extrait (A) donne le meilleur rendement 13.92 %, suivi par l'extrait (S) avec un rendement de 12.7%. Cependant l'extrait à l'état frais de la région de Bechar a donné le plus faible rendement de 11.64%.

Par ailleurs l'extrait de la région de Zribet el Oued, extrait (C) à le plus faible rendement (9.65%).

2. Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur en flavonoïdes

Une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation d'un spectrophotomètre UV-Visible a été utilisée pour déterminer la quantité de composés phénoliques et flavonoïdes totaux dans les différents extraits étudiés de *Lawsonia inermis* (F, S, A et C).

2.1. Dosage des composées phénoliques

Le dosage quantitatif des polyphénols dans les extraits de *Lawsonia inermis* est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (FCR).

Les polyphénols totaux (TPC) ont été calculés en comparant la densité optique observée à celle obtenue avec une concentration connue d'acide gallique de référence. Le coefficient de corrélation obtenu pour la courbe standard est $R^2 = 0,9624$.

Les résultats obtenus de la teneur en polyphénols totaux pour nos extraits sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (EAG /g Ms) et sont présentés dans la figure 28 qui se décline de $137,72 \pm 1,77$ jusqu' à $265,37 \pm 14,28$ mg EAG/g.

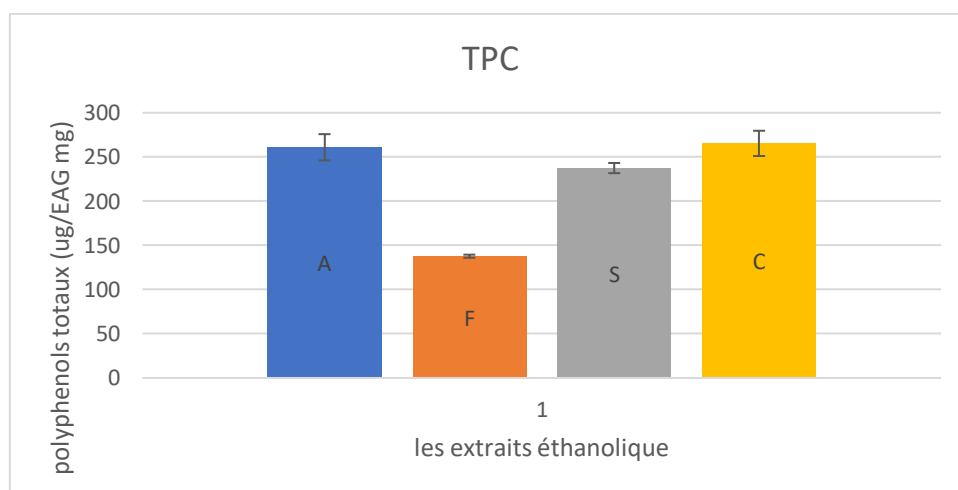


Figure 28: Teneur en polyphénols totaux de quatre extraits de *Lawsonia inermis*.

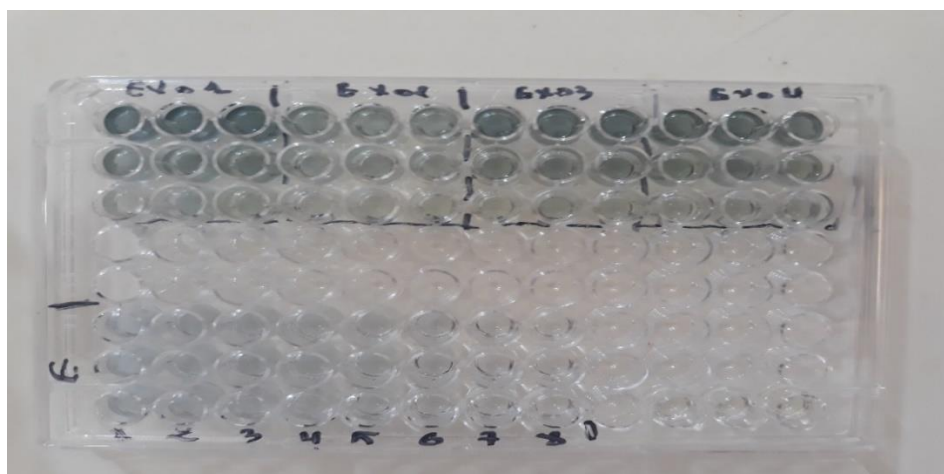


Figure 29: Plaque de dosage des polyphénols des extraits (F, A, Set C) de *Lawsonia Inermis*.

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué une variation entre les différents extraits testés.

Bien que les extraits proviennent de la même espèce '*Lawsonia inermis*', la teneur en polyphénols totaux varie de $137,72 \pm 1,77$ à $265,37 \pm 14,28$ mg EAG/g.

Ces variations dépendent du type de séchage et de la région de la plante étudié. La teneur en polyphénols la plus élevée appartient à l'extrait (C) de la région de Zribet el oued qui a été séché à l'air libre avec une valeur de $265,37 \pm 14,28$ mg EAG/g.

Pour la région de Bechar, l'extrait séché à l'air libre (A) est également le plus élevé des trois échantillons avec un taux de $260,96 \pm 14,85$ mg EAG/, suivi par l'extrait séché au séchoir(s) $237,43 \pm 5,75$ mg EAG/g. On note un taux faible en polyphénols pour l'extrait (F) avec une valeur de $137,72 \pm 1,77$ mg EAG/g.

Une étude menée par (Elansary et al., 2020) sur un extrait éthanolique des feuilles lyophilisées de *Lawsonia inermis* provenant de la région d'el Riyad de Saudi Arabia, montre que l'extrait éthanolique présente une teneur en polyphénols de 81 ± 13.2 mg EAG/g MS inférieur à ceux trouvés dans notre étude.

Une autre étude menée par (Hsouna et al., 2011) sur un extrait éthanolique des feuilles de *Lawsonia inermis* de la région de Sfax du Tunisie, qui été fractionné par extraction séquentielle avec des solvants de polarité croissante : acétate d'éthyle et l'eau montre que ces deux extraits présentent des teneurs en polyphénols de 367 ± 19 mg EAG/g, 444 ± 38 mg EAG/g (respectivement) supérieur aux nos extraits de la plante étudiée.

Dans le même contexte d'évalué le contenu phénolique, une autre étude menée par (Nounah et al., 2017) sur les huiles des grains de *Lawsonia inermis* de Maroc, présente une faible teneur en polyphénols 0.13 ± 0.04 mg EAG/g.

Donc on peut conclure que les feuilles de *L. inermis* sont plus riche en polyphénole que les grains.

2.2. Dosage des composées flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de Topçu et al., 2007, La teneur totale en flavonoïdes a été calculée en mg d'équivalent de Quercétine par g de l'extrait sec (mg EQU/g EXT), par référence à la courbe d'étalonnage ($y = 0,0026 x$) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9571$.

La Figure 30 montrent les résultats de l'analyse colorimétrique par spectrophotomètre de dosage des flavoïde totaux de nos extraits varie de $232,17 \pm 8,6$ à $108,07 \pm 1,38$ mg EQU/g.

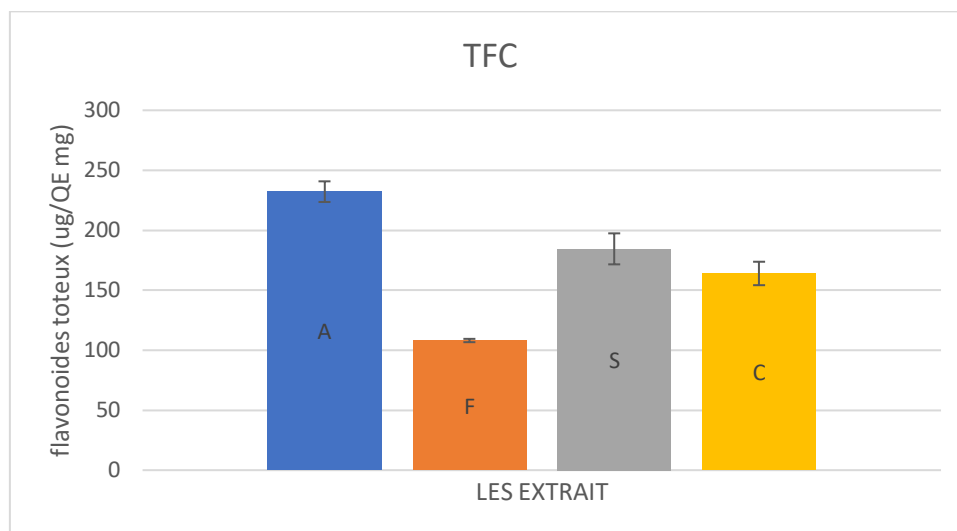


Figure 30: Teneur en flavonoïdes totaux de quatre extraits de *Lawsonia inermis*.

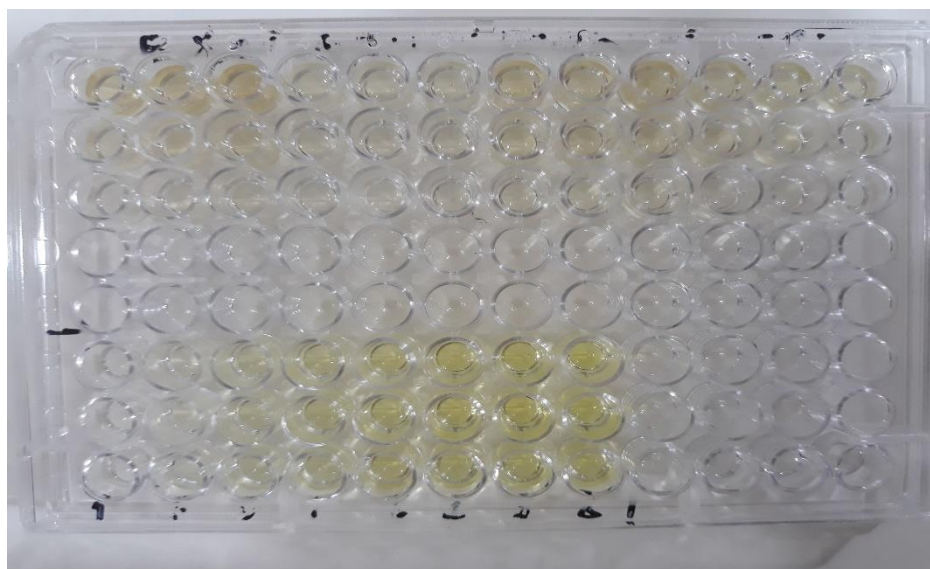


Figure 31: Plaque de dosage des flavonoïdes des extraits (F, A, S et C) de *Lawsonia Inermis*.

Les quatre extraits de la même espèce *Lawsonia inermis* présentent des teneurs différentes en flavonoïdes totaux. L'extrait séché à l'air libre de la région de Bechar étant le plus élevé des quatre extraits étudiés des deux régions avec une valeur de $232,17 \pm 8,6$ mg EQU/g, suivi de l'extrait S de la même région avec $184,48 \pm 12,92$ mg EQU/g. l'extrait (F) provenant de la région de Bechar a enregistré la plus faible valeur par rapport à la région et au mode de séchage avec $108,07 \pm 1,38$ mg EQU/g. Cependant, l'extrait séché à l'air libre de la région de Zribet El Oued a donné une valeur relativement proche de celle de Bechar avec un taux de $163,97 \pm 9,77$ mg EQU/g.

Selon L'étude de **Onuh et al., 2021** sur un extrait méthanolique de *Lawsonia inermis* Linn nigérienne, Les résultats sont exprimés en pourcentage moyen (%) de $0,56 \pm 0,01\%$.

Il a été démontré que l'extraction par les différents solvants n'influe pas sur la quantité de flavonoïdes présentent dans les feuilles de *Lawsonia inermis* (**Gull et al., 2013.**)

- La différence dans les teneurs totaux en polyphénols et en flavonoïdes est liée aux plusieurs facteurs : les conditions du sol, le climat ou la région, ou des variations génétiques spécifiques, temps de récolte qui était prouvé par une étude menée par (**Hosseiny et al., 2023**).

3. Activité antioxydante

3.1. Activité anti-radicalaire au DPPH

L'activité anti-radicalaire de quatre extraits de *Lawsonia inermis* a été examinée dans cette étude en évaluant la concentration inhibitrice à 50 % (IC50), basée sur la capacité d'une substance à diminuer le radical DPPH, par rapport à un standard, le Trolox, et à l'acide Ascorbique (vitamine c). Les résultats sont les suivants :

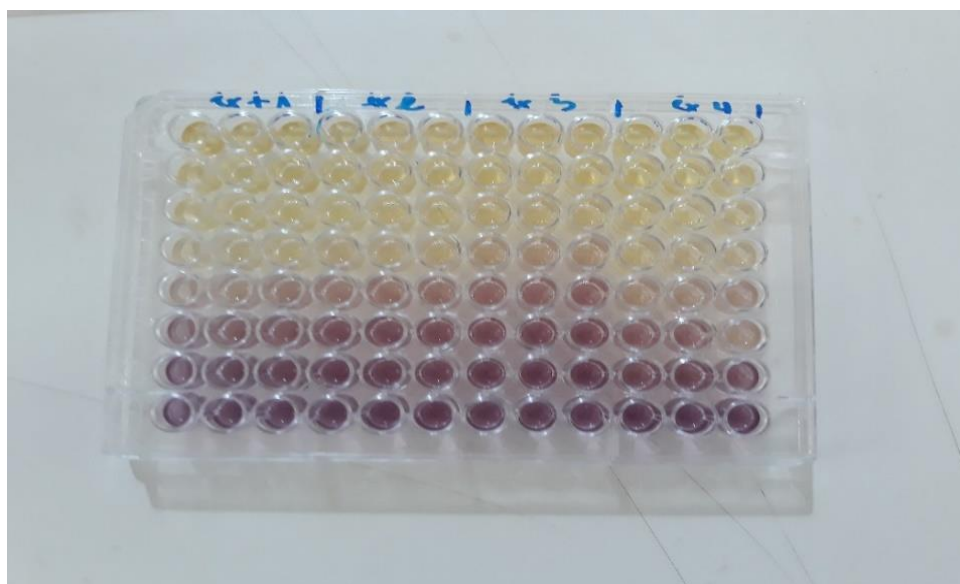


Figure 32: La plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits de *Lawsonia inermis*.

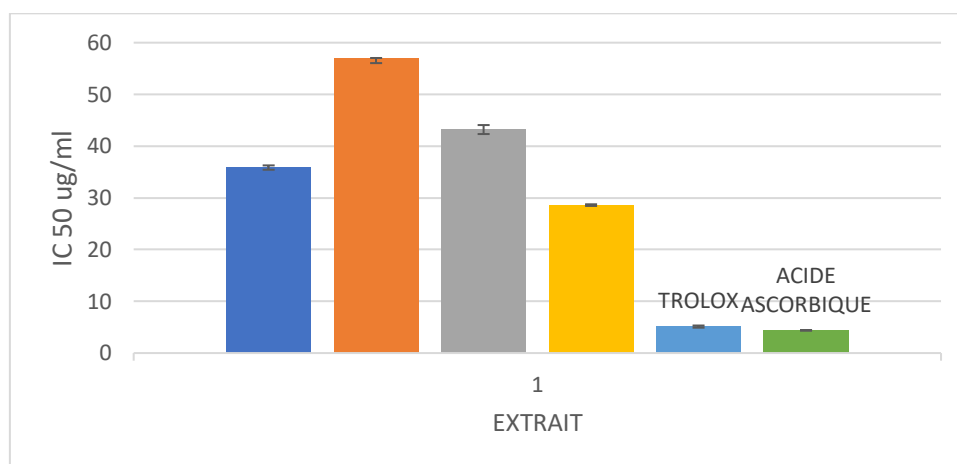


Figure 33: Histogramme d'activité de piégeage du radical DPPH des extraits de *Lawsonia inermis*.

D'après les valeurs d'IC₅₀ obtenues dans notre étude : on constate que les extraits (C) possèdent une meilleure activité anti-radicalaire au DPPH de (IC₅₀= 28,60±0,16µg/ml), suivie par l'extrait (A) avec un (IC₅₀= 35,86±0,42µg/ml). Les deux extraits séchés à l'air libre et provenant de deux régions différentes (Bechar et Zribet El Oued) montrent une activité importante proche à celle des standards 'Trolox (IC₅₀= 5.12±0.21µg/ml), Acide ascorbique (IC₅₀= 4.39±0.01µg/ml)'. On remarque que les extraits séchés à l'air libre sont les meilleurs en terme d'activité anti-radicalaire suivis par l'extrait (S) avec un (IC₅₀= 43,21±0,87µg/ml). Alors que l'extrait frais (F) possède la plus faible activité en DPPH.

En effet, les extraits peu actifs contiennent des composants phénoliques dont le potentiel de neutralisation des radicaux DPPH est limité, et vice versa. Ceci est dû au fait que les polyphénols sont structurellement définis par des groupes hydroxyles. Ceux-ci agissent en donnant des électrons ou des atomes d'hydrogène pour neutraliser les radicaux libres.

Dans le même but de déterminer l'activité antioxydante, une étude a été réalisée par (Ling et al., 2010) sur l'extrait éthanolique et aqueux des feuilles de *Lawsonia inermis* de la région de Malaisie, à partir des résultats IC₅₀ de l'activité anti radicalaire (DPPH), dans cette étude a montré une activité inférieure à notre plante avec 1.26±5,55 mg/ml pour extrait éthanolique et 3.72±94 mg/ml d'extrait aqueux.

C'est différence dans l'activité anti-radicalaire peuvent s'expliquer à la composition des extraits de *Lawsonia inermis* et leur richesse en composés phénoliques et flavonoïdes (Ling et al., 2010).

3.2.L'activité de piégeage de radical-cation ABTS (scavenging activity)

L'activité antioxydante de l'ABTS a été mesurée dans cette expérience par le pourcentage d'inhibition des extraits de Henna examinés à 50%. La réduction de l'ABTS par les extrait de *Lawsonia inermis* vire du bleu-vert à l'incolore. Les données obtenues nous permettent de tracer un histogramme du pourcentage d'inhibition pour nos quatre extraits en comparaison avec les antioxydants standards (Trolox et acide ascorbique).

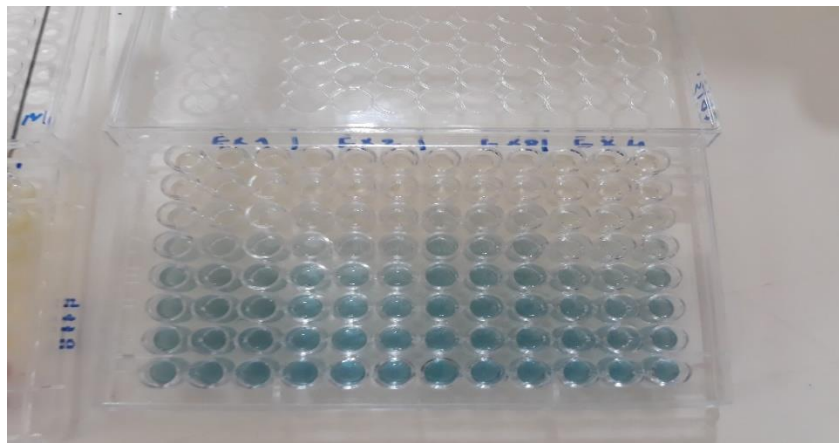


Figure 34: La plaque de dosage de l'activité de piégeage de radical-cation ABTS des extraits de *Lawsonia inermis*.

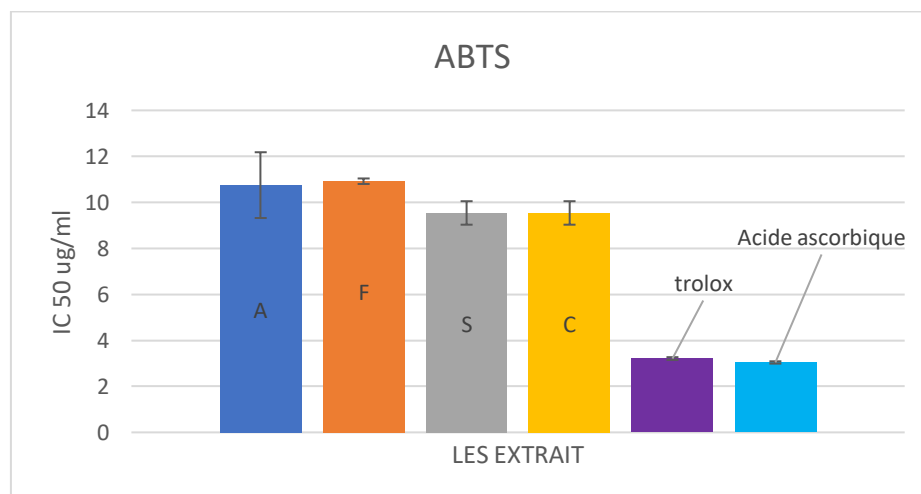


Figure 35: Histogramme d'activité de piégeage du radical ABTS des extraits de *Lawsonia inermis*.

Les résultats des IC50 obtenus dans notre étude montrent que tous les extraits de henné ont des valeurs approximatives même si la région et les modes de séchage ne sont pas les mêmes.

L'extrait séché à l'air libre de la région de Zribet El Oued et l'extrait séchée au séchoir de Bechar présentent les meilleurs résultats en terme d'IC50 avec ($IC_{50} = 9,54 \pm 0,51 \mu\text{g/ml}$), suivi par l'extrait (A) de Bechar avec une valeur d' $IC_{50} = 10,75 \pm 1,43 \mu\text{g/ml}$. Le résultat le plus faible de cette étude appartient à l'extrait des feuilles à l'état frais avec un $IC_{50} 10,92 \pm 0,112 \mu\text{g/ml}$.

Dans une autre étude réalisée par (Ling et al., 2010) pour évaluer l'activité de l'ABTS sur l'extrait éthanolique et les feuilles aqueuses de *Lawsonia inermis* de Malaisie, les résultats ont montré un IC50 inférieur à nos résultats avec $IC_{50} = 0.11 \pm 25 \text{ mg/ml}$ et $0.92 \pm 14.2 \text{ mg/ml}$ respectivement.

En effet, l'étude de Al-Snafi, 2019 sur L'extrait éthanolique de *Lawsonia inermis* Linn a montré une IC50 de $6,9 \pm 0,1 \text{ mg/l}$ très faible par rapport à nos résultats. Aussi, l'étude de Mikhaeil et al., 2004 sur un extrait méthanolique de la même famille donnent une valeur de IC50 en [mM] équivalent à 83.3 mg/ml.

A partir des résultats obtenus, on confirme que la plante endémique de l'Algérie a un effet largement supérieur à celle des autres régions à savoir Malaisie et Egypte.

3.3. Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

Le test FRAP est une méthode colorimétrique de transfert d'électrons permettant de mesurer la capacité d'un antioxydant à réduire le Fe^{3+} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+} en donnant une couleur bleu-vert.

Dans ce travail, nous avons mesuré A 0,5 dans quatre extraits de *Lawsonia inermis* pour déterminer l'activité du pouvoir réducteur de l'ion ferrique FRAP. L'analyse du pourcentage d'inhibition par rapport aux antioxydants standards (Trolox et acide ascorbique) est représentée dans la Figure 37.

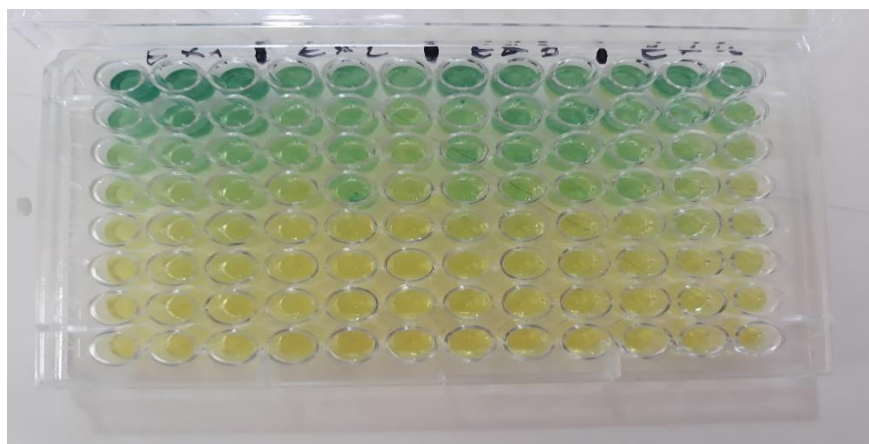


Figure 36: Activité de pouvoir réducteur de l'ion ferrique FRAP des extraits de *Lawsonia inermis*.

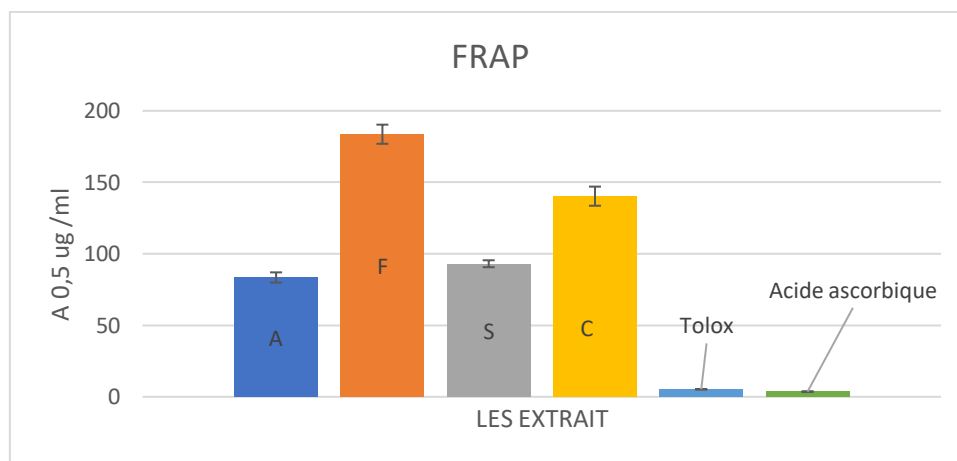


Figure 37: Histogramme d'activité de pouvoir réducteur de l'ion ferrique FRAP des extraits de *Lawsonia inermis*.

En se basant sur la mesure d'A_{0,5} obtenue pour les extraits testés, la plupart des extraits de *Lawsonia inermis* réduit faiblement le fer en complexe. Selon les résultats de la Figure 36 montre que l'extrait séché à l'air libre (A) de la région de Bechar a le pouvoir réducteur le plus important (A_{0,5} = 83,47 ± 3,58 µg/ml) suivi par l'extrait séché au séchoir avec un valeur (A_{0,5} = 93,07 ± 2,43 µg/ml.). Les autres extraits présentent un taux faible par rapport aux autre extraits et aux standards

Par ailleurs, les résultats obtenus par **Elansary et al., 2020** sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Lawsonia inermis* (Henna) avec une valeur d'IC₅₀ = 36 µg/ml sont très proche à nos résultats.

En effet, selon l'étude menée par (Nounah et al., 2017) qui utilise l'extrait hexanique de l'huile de graines de *Lawsonia inermis* de Maroc, cette étude a montré une valeur plus élevée de IC50 (IC50= 1.8±0.01 mg ET/g) résultant en une faible activité FRAP que notre extrait.

Dans le même contexte d'évaluation du pouvoir réducteur de l'ion ferrique de Henna mais cette étude est basée sur les grains d'une espèce de la même famille que nos extraits : *Lawsonia inermis* L de l'Inde avec un IC50= 2.62 µmol/g (Surveswaran et al., 2007).

3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe+2- phénantroline de couleur rouge-orangé est formé (Figure 37). Cette réduction est déterminée par les valeurs de A_{0,5} des extraits de la plante et celles des standards Trolox et Acide ascorbique, les résultats de cette activité sont présentés dans la Figure 39.

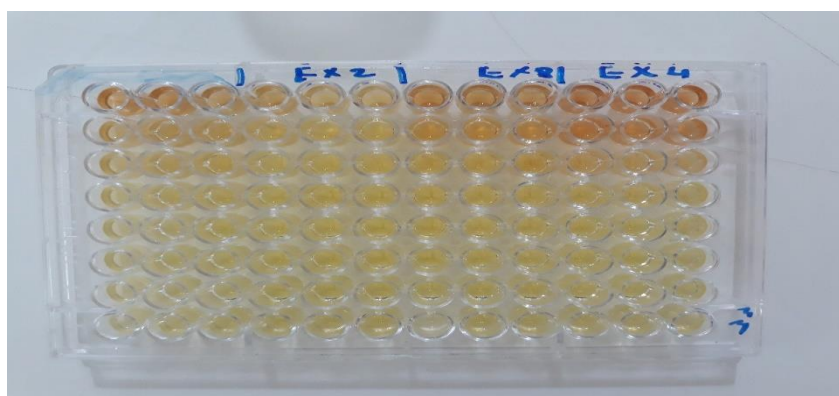


Figure 38: la plaque de dosage de l'activité phénantroline de 4 extraits.

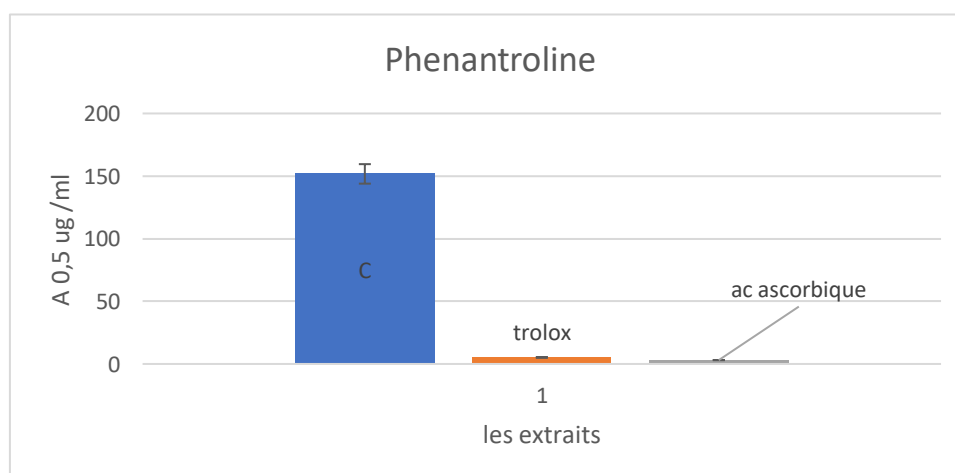


Figure 39: Histogramme d'activité phénantroline des extraits de *Lawsonia inermis*.

L'analyse de la figure montrent une très faible activité phénantroline de l'extrait C avec une valeur de $A_{0.5}=151,74\pm 7,78$. Alors que l'activité dans autres échantillons est nulle.

Les résultats obtenus par la méthode de phénantroline sont plus faibles par rapport aux autres méthodes (DPPH, ABTS, FRAP) cela peut être dû à plusieurs facteurs tels que la sensibilité de la méthode. Chaque méthode d'évaluation de l'activité antioxydante a sa propre sensibilité et son seuil de détection. Il est possible que la méthode phénantroline soit moins sensible que les autres méthodes utilisées, ce qui pourrait conduire à des résultats plus faibles.

4. Activité antimicrobienne

La méthode de diffusion a été utilisée pour caractériser l'activité antimicrobienne des différents extraits de *Lawsonia inermis*. C'est une technique basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition apparents autour des disques chargés d'extraits végétaux.

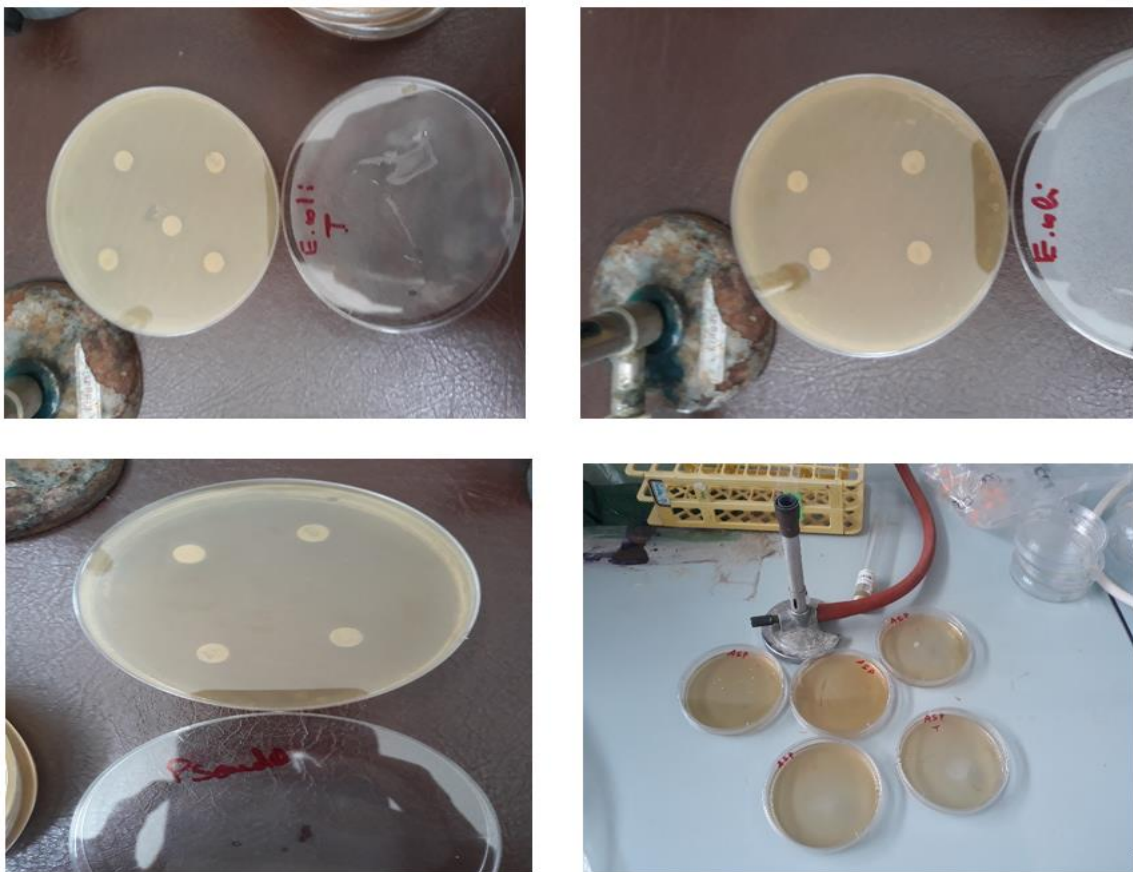


Figure 40: Observation de l'activité antimicrobienne.

Après 24 heures d'incubation à 37°C. Les résultats obtenus de nos souches sont illustrés dans les figures ci-dessous :

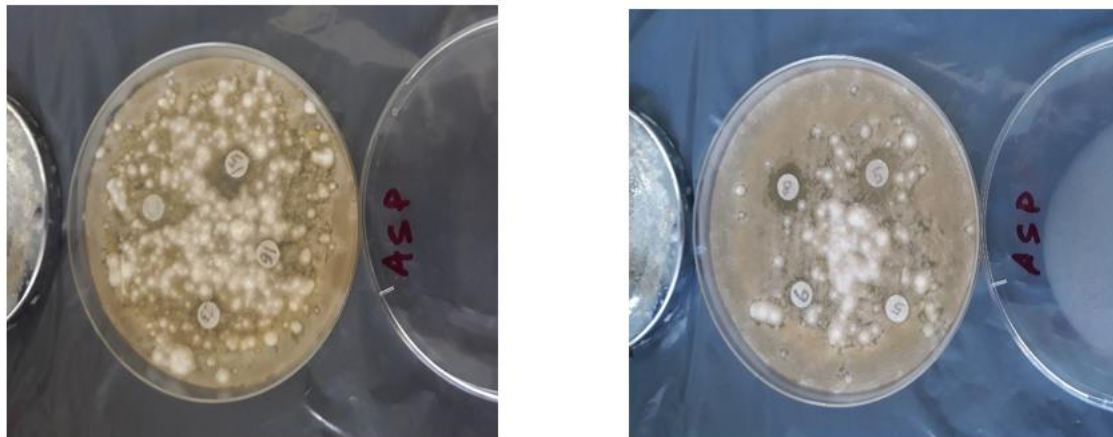


Figure 41: Zone d'inhibition sur *Aspergillus niger*.



Figure 42: Zone d'inhibition sur *Candida albicans*.

Le résultat de l'activité antibactérienne est considérée comme positive lorsque le diamètre dépasse 6 mm.

AFa : faible activité / AFo : forte activité / AM : Moyenne activité / PA : pas d'activité

On a utilisé plusieurs concentrations :

[C1] = 0,5mg/ml , [C2] = 1mg/ml, [C3] = 1,5mg/ml , [C4] = 2mg/ml

↓
E

↓
E'

↓
E''

↓
E'''

D'après les figures 41 et 42 On constate que les extraits utilisés (F, A et S) de la région de Bechar, ainsi que l'extrait (C) présentent des activités variables, vis-à-vis des différentes souches bactériennes (Gram + et Gram -) et des champignons (levure et moisissure).

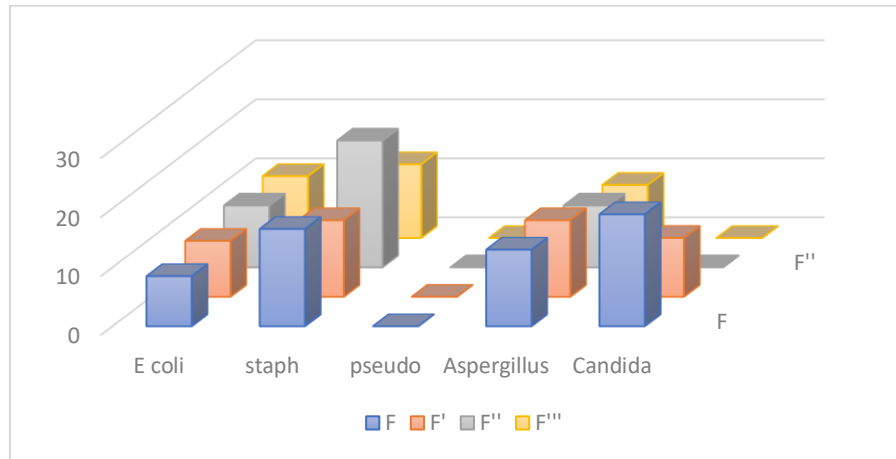


Figure 43: Effet de d'extrait à l'état frais sur les souches cliniques à (Gram-) et (Gram+) et champignon.

D'après les résultats de la Figure 42, nous avons constaté un taux d'inhibition faible à modéré sur les bactérie *E. coli* et *Staphylococcus aureus*.

Pour les champignons les activités de cet extrait montrent une activité inhibitrice moyenne contre *A. niger* et forte activité pour *Candida albicans*.

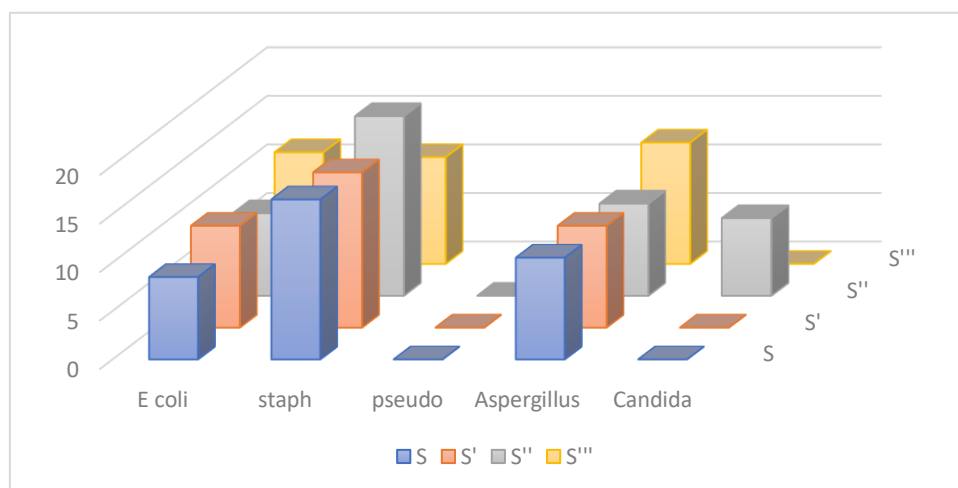


Figure 44: Effet de d'extrait sécher au séchoir sur les souches cliniques à (Gram-) et (Gram+) et champignon.

Pour l'extrait séché au séchoir, on note une activité inhibitrice modéré contre *E. coli*, et une forte activité pour les staphylocoques.

Pour l'activité d'inhibition fongique de cet extrait, nous avons enregistré une activité d'inhibition moyenne à faible contre *A. niger* et *C. albicans*.

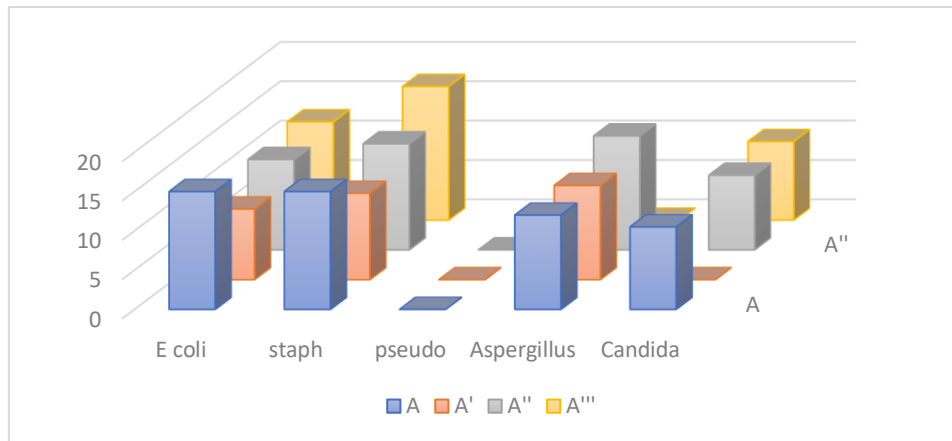


Figure 45: Effet de l'extrait séché à l'air libre de région de Bechar sur les souches cliniques à (Gram-) et (Gram+) et champignon.

En ce qui concerne l'extrait (A) l'effet inhibiteur était moyen contre *E. coli* et *S. aureus*.

Pour l'activité antifongique, nous notons une activité inhibitrice moyenne concernant l'*Aspergillus niger* et *C. albicans*.

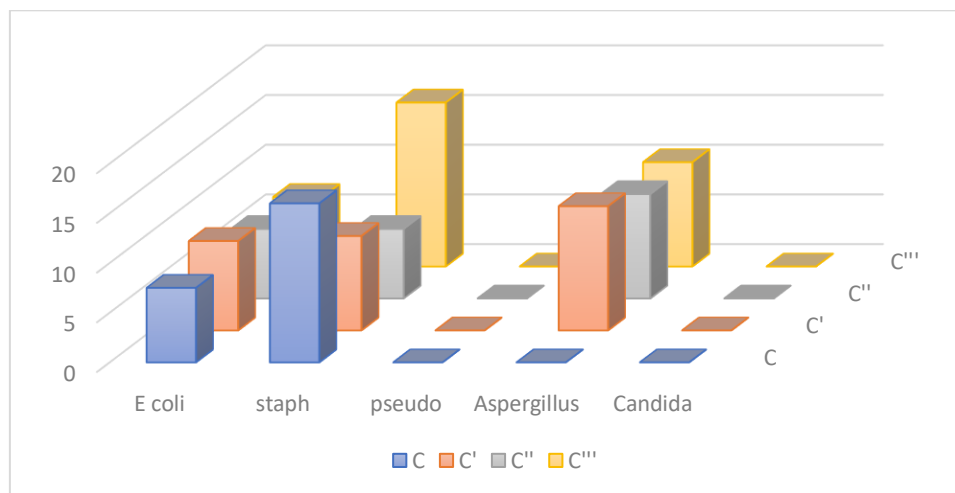


Figure 46: Effet de d'extrait séché à l'air libre de région de Zribet El Oued sur les souches cliniques à (Gram-) et (Gram+) et champignon.

L'extrait séché à l'air libre de Zribet El Oued a une faible activité contre *E. coli*.

Et une moyenne activité concernant *S. aureus*. L'activité antifongique de cet extrait était moyenne de contre *Aspergillus* et sans effet du tout anti *C. albicans*.

- Concernant l'activité inhibitrice de tous les extraits étudiés contre *Pseudomonas aeruginosa*, aucun effet n'a été constaté.

Dans une étude similaire à la nôtre, menée par (Ghazy et al., 2023) sur l'extrait éthanolique de feuilles de *Lawsonia inermis* d'Égypte, sur les mêmes espèces que celles que nous avons utilisées, les résultats ont montré un taux d'inhibition sur *E coli* plus élevé que les nôtres, mais un taux similaire contre *Staphylococcus aureus*.

Et pour les champignons, les résultats étaient meilleurs que les nôtres.

Dans une autre étude similaire sur *Lawsonia inermis* L menée par (Jeyaseelan et al., 2012) sur différentes parties de la plante (fleur, fruit et feuilles) en utilisant différents solvants (DCM, éthanol, acétate d'éthyle), les résultats ont montré que l'extrait d'éthanol de la feuille avait la meilleure activité inhibitrice contre les bactéries étudiées.

Ces résultats ont montré une activité similaire à celle de notre étude contre *E. coli*, mais pour l'activité inhibitrice sur staphylocoque, notre plante a obtenu des résultats supérieurs et meilleurs.

5. L'Activité anti-inflammatoire

Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques des feuilles de *Lawsonia inermis* est réalisée selon deux méthodes : la stabilisation de la membrane érythrocytaire contre l'hémolyse et l'inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA).

5.1 Activité antihémolytique

5.1.1 Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire

L'activité antihémolytique n'a pu être étudiée sans évaluer au préalable l'innocuité des extraits sur les érythrocytes afin de déterminer les quantités à employer. Les niveaux d'hémolyse obtenus après incubation d'érythrocytes en présence d'extraits éthanoliques des feuilles de *Lawsonia inermis* soumis à différents types de séchage sont calculés en comparaison avec un contrôle positif (hémolyse totale) utilisant les 'GR avec de l'eau distillée' et un contrôle négatif (pas d'hémolyse) utilisant les GR avec un tampon de phosphate saline. Les résultats sont consignés dans la Figure 47.

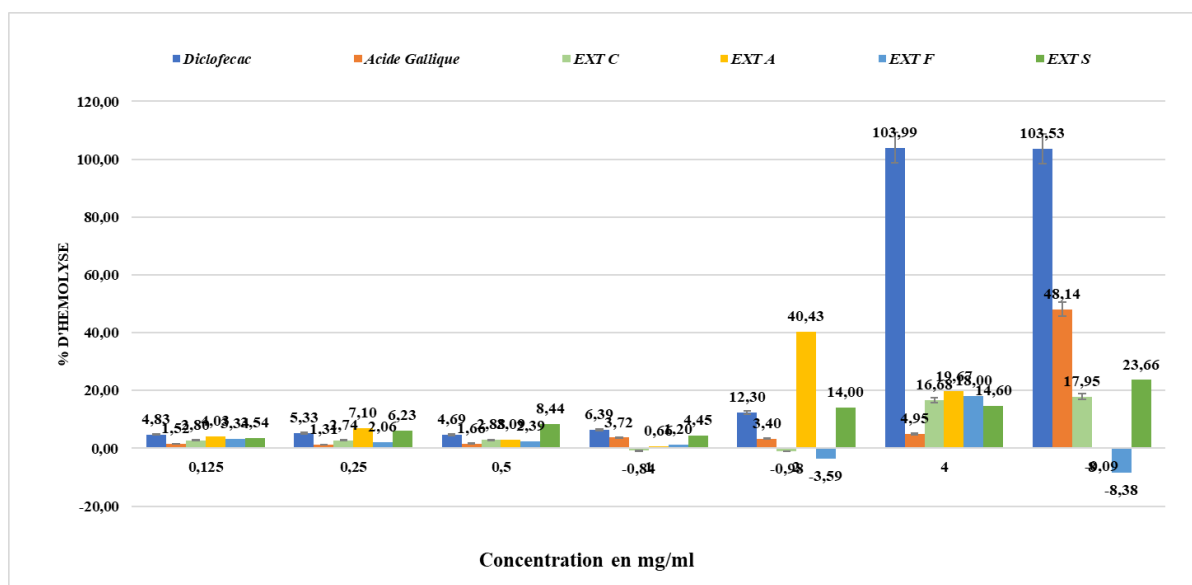


Figure 47: Pourcentage d'hémolyse du GR en fonction de la concentration des extraits testés.

L'analyse des résultats montrent que Le diclofénac a une plus grande activité hémolytique que l'acide gallique, avec une lyse érythrocytaire proportionnelle à l'augmentation des concentrations.

Les résultats montrent que tous les extraits ont une activité hémolytique faible. Ce qui montre que la plante en question ne présente aucun effet toxique sur les cellules érythrocytaires. Les extraits ayant le taux d'hémolyse le plus faible. Aucune étude aux préalables n'est entretenue d'après la littérature sur la plante *Lawsonia inermis*

On remarque la lyse érythrocytaire et proportionnelle à la concentration d'extrait de *Lawsonia inermis*.

La faible activité hémolytique de l'extrait de *Lawsonia inermis* est due à sa richesse en composés protecteurs tels que les glucosides de Lawson et d'hennoside (Maslovarić et al., 2021; McMillan et al., 2004).

5.1.2 Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique

Un test de stabilisation de la membrane des globules rouges a été effectué pour évaluer l'effet anti-inflammatoire (antihémolytique) des extraits éthanolique de *Lawsonia inermis*. Dans ce test, l'hémolyse est induite dans les érythrocytes de rat en utilisant une solution

hypotonique et de la chaleur, ce qui provoque la rupture de la membrane et la libération d'hémoglobine, entraînant un surnageant rouge proportionnel à la quantité d'hémolyse.

Les résultats de l'effet anti-inflammatoire de nos extraits sont présentés dans l'histogramme de la Figure 48 ci-dessous.

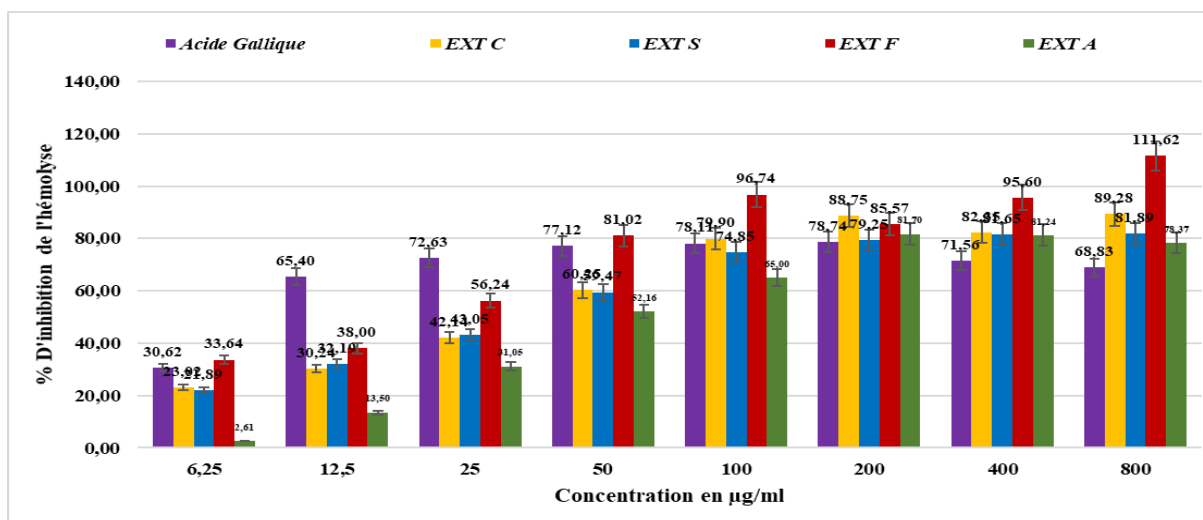


Figure 48: Effet protectrice des extraits de *Lawsonia inermis* contre stress thermique et osmotique sur les cellules érythrocytaires.

A partir des résultats présentés, nous constatons un fort taux d'inhibition hémolytique des globules rouges par les quatre extraits étudiés.

L'effet protecteur s'est avéré être augmenté proportionnellement par rapport aux concentrations de l'extrait qui varie de 6,25 à 800 µg/ml.

L'extrait frais de Bechar a montré la meilleure activité $111,62 \pm 1,02\%$, suivi de par extrait de Zribet el Oued $89,28 \pm 4,43\%$ et l'extrait séchée aux séchoir de Bechar avec un moyenne d'inhibition de $81,89 \pm 0,59\%$ et la plus faible activité appartient $78,39 \pm 2,77\%$.

5.2. Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des feuilles de *Lawsonia inermis* par une méthode basée sur la dénaturation thermique des protéines (BSA). La dénaturation des protéines est l'une des causes de l'inflammation, qui se traduit par une variété de maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'un médicament à diminuer la dénaturation des protéines indique un potentiel évident pour un effet anti-inflammatoire (Rahman et al., 2015). Après la réalisation de la méthode décrite par Karthik et ses collègues (2013) et mesure.

L'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre avec une longueur d'onde de 660nm, les résultats obtenus montrent que nos extraits ne possèdent aucune activité inhibitrice de la dénaturation des protéines (anti-inflammatoire).

6. Activité inhibitrice de l'alpha amylase

L'alpha-amylase est une enzyme importante qui décompose l'amidon en sucres plus simples. Les inhibiteurs de l'alpha-amylase ont été étudiés pour leur utilisation potentielle dans le développement d'agents antidiabétiques. Les inhibiteurs de l'alpha-amylase peuvent bloquer l'activité de l'enzyme qui décompose l'amidon en sucres plus simples et peuvent être efficaces pour contrôler l'hyperglycémie postprandiale chez les patients atteints de diabète de type 2 (Imam et al., 2013).

Dans cette expérience, le pourcentage d'inhibition à 50 % (IC50) de l'extrait *Lawsonia inermis* a été utilisé pour déterminer l'activité alpha-amylase. Cette méthode a été effectuée à l'aide de la méthode iode/iodure de potassium (IKI). Les résultats obtenus peuvent être utilisés pour tracer un histogramme du pourcentage d'inhibition de quatre extraits basé sur l'inhibition de l'enzyme alpha-amylase par l'extrait de henné, qui change de couleur de la lumière à l'obscurité.

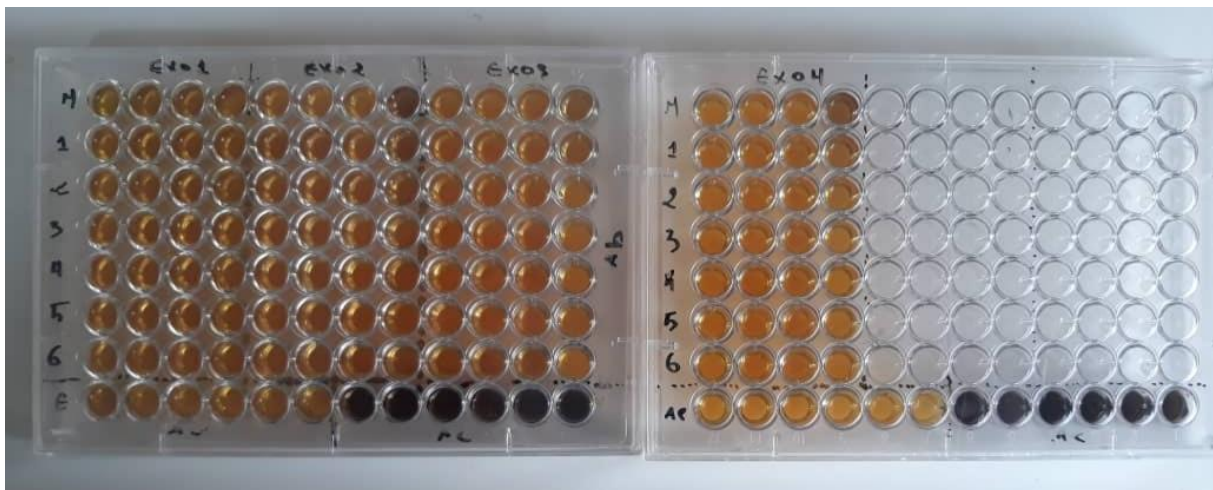


Figure 49: La plaque de dosage de l'activité antidiabétique des 4 extraits de *Lawsonia inermis*.

Les résultats obtenus après la mesure d'absorbance avec un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 250 µl pour chaque puits, montre que les quartes extraites de *Lawsonia inermis* ne possède pas aucun effet inhibiteur sur l'alpha-amylase.



Conclusion générale

Conclusion

Lawsonia inermis une plante endémique de la flore Algérienne. Elle est très utilisée en médecine traditionnelle, en cosmétique et dans l'industrie par sa richesse en molécules bioactives.

Pour cela, le présent travail vise à évaluer l'activité antioxydante des différents extraits éthanoliques issus de différents échantillons de la plante séché naturellement et séché par un séchoir à convection naturelle, et la quantification de leur teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

De plus, les dosages des polyphénols et des flavonoïdes ont révélé que la plante est riche en ces composés, bien que les quantités diffèrent entre la région de récolte de la plante et les deux types de séchages. Les résultats du dosage des composés phénoliques dévoilent, d'une part, que l'extrait C ($265,37 \pm 14,28$ mg EAG/g) a la teneur la plus élevée en polyphénols totaux par rapport aux extraits F ($137,72 \pm 1,77$ mg EAG/g). D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que l'extrait A possède la teneur la plus élevée ($232,17 \pm 8,6$ mg EQU/g) alors que, l'extrait F ($108,07 \pm 1,38$ mg EQU/g) contient une teneur plus ou moins faible.

L'activité antioxydante des extraits éthanoliques des feuilles de notre espèce a été évaluée à différentes échelles par le test DPPH, ABTS, FRAP ainsi que le test de phénantroline ce qui nous a permis de confirmer leur pouvoir scavenger de radicaux libres. Cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits et leur richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes.

En outre, l'évaluation de l'activité enzymatique amylolytique des extraits éthanoliques des feuilles de *Lawsonia inermis* a montré une absence de l'activité antidiabétique.

L'étude du pouvoir antibactérien des extraits a montré une activité antibactérienne vis-à-vis de la souche Gram positif (*Staphylococcus aureus*), et Gram négatif *E. coli*. Cependant, les extraits sont dotés d'une activité antifongique.

Les résultats du test d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro (test d'hémolyse des globules rouges et test de stabilisation membranaire) ont montré que la plante présente un effet anti-inflammatoire très significatif, l'inhibition a atteint 95%. Cette valeur est supérieure à celle obtenue pour l'acide gallique qui est de 68%.

Le test de toxicité révèle que la plante *Lawsonia inermis* n'est pas toxique et peut être utilisée dans la médecine moderne.

En perspectives, dont le but de compléter ce travail, il est recommandé :

- D'utilisée un séchoir de convection naturelle et utilisé une température inférieure à 50°C pour garder les propriétés antioxydantes.
- Réalisation d'une étude phytochimique approfondie qui consiste à la purification, l'identification et la caractérisation des composés actifs.
- Faire des études expérimentales « *in vivo* » sur des espèces animales.
- Utilisation d'autres solvants d'extraction et comparaison des résultats.
- Approfondir l'étude avec d'autres activités biologiques (bêta-carotène, anti-cholinestérase et anticancéreuse).



Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

- **Abulyazid, elSayed ME Mahdy, Ragaa M. Ahmed (2010):**Étude biochimique pour l'effet du henné(*Lawsonia inermis*) sur *Escherichia coli* . Université King Saud Arabian Journal of Chemistr
- **Ali Na, Julich Wd, Kusnick C, Lindequistu ,** 2001Screening of Yemenimedical plants for antibacterial an cytotoxicact*Ethnopharmacol*; 74: 173-179
- **Alia, B. H., Bashir, A. K., & Tanira, M. O. M. (1995).** Anti-Inflammatory, Antipyretic, and Analgesic Effects of *Lawsonia inermis* L.(Henna) in Rats. *Pharmacology*, 51(6), 356–363. doi:10.1159/000139347
- Al-Snafi, A. (2019b). A REVIEW ON *LAWSONIA INERMIS*: A POTENTIAL MEDICINAL PLANT. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 11, 1-13.
- **Amin Pasandi Pour & Hassan Farahbakhsh (2019):** *Lawsonia inermis* L. leaves aqueous extract as a natural antioxidant and antibacterial product, *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2019.1569006
- **Anthony C. Dweck. (2002).** "Natural ingredients for colouring and styling". *International Journal of Cosmetic Science*. 24 (5): 287–302
- **Ashour, M., Wink, M., & Gershenzon, J. (n.d.).** Biochemistry of Terpenoids: Monoterpenes, Sesquiterpenes and Diterpenes. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*, 258–303. doi:10.1002/9781444320503.ch5

B

- **Badoni Semwal, R., et al.,** *Lawsonia inermis* L. (henna): Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Ethnopharmacology* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.042>
- **Bagi MK , Kakrani HK, Kalyany GA, Denis T, Jagdale M H.,(1988).** Experimentalevaluation of pharmacologicalactivity of *Lawsonia alba* seedoil. *Fitoterapia* 59, 39–42
- **Bezanger etBeauQuesne L, Pinkas M, Torck M ;(1986).**Les plantes dans la thérapeutique moderne . Paris; 296-297

- Bhosale, P. B., Ha, S. E., Vetrivel, P., Kim, H. H., Kim, S. M., & Kim, G. S. (2020). Functions of polyphenols and its anticancer properties in biomedical research: A narrative review. *Translational Cancer Research*, 9(12), 7619-7631. <https://doi.org/10.21037/tcr-20-2359>
- **Blois M.S., 1958.** Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.
- **Burkill, 1995:** The useful plants of West Tropical Africa. 2nd Edition. Volume 3, P 3

C

- **Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy : natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*.
- **Collin S and Crouzet J.2011.** Polyphénols et procédés. Lavoisier, Paris.336

D

- **D. K. Singh, S. Luqman, et A. K. Mathur,** « Lawsonia inermis L. – A commercially important primaeval dying and medicinal plant with diverse pharmacological activity: A review », *Ind. Crops Prod.*, vol. 65, p. 269-286, mars 2015, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.11.025.

E

- **Elaguel, A., Kallel, I., Gargouri, B. et al.** *Lawsonia inermis* essential oil: extraction optimization by RSM, antioxidant activity, lipid peroxydation and antiproliferative effects. *Lipids Health Dis* **18**, 196 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1141-1>
- Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., A. Al-Mana, F., & Al-Yafarsi, M. A. (2020a). Antioxidant and Biological Activities of *Acacia saligna* and *Lawsonia inermis* Natural Populations. *Plants*, 9(7), 908. <https://doi.org/10.3390/plants9070908>

F

- **FERNANDES P .,1978.** Lythraceae. In :Launert,E.(editor).Flora Zambesiaca. Volume4,p16
- **Fofié, N., Yao, K., Traoré-Koné, K., Sanogo, R., et Koné-Bamba, D. (2017).** Évaluation des activités antioxydante et anti-hyperglycémiantes des feuilles de *Ocimum gratissimum* L (*Lamiaceae*). 2. 19-30.

- **Forestier J.P. 1981.** Un séné, cassia obovata, utilisé comme cosmétique : le henne neutre International Journal of cosmetic science, 3 : 211-226.
- **Forestier J.P.; 2007.** Henna. Sorption of lawsone by hair. International Journal of cosmetic science, 4: 153 – 174
- **Francesca Gallo,** « Chemical fingerprinting of Lawsonia inermis L. using HPLC, HPTLC and densitometry - Gallo - 2008 - Phytochemical Analysis - Wiley Online Library», 2008. <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/pca.1084> (consulté le 14 février 2023).
- **Frosch P.J. et Hausen B.M., 1986.,** Allergologie 9 (8), 351, In Wichtl Max, 1999. Plantes thérapeutiques: Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique 3ème édition. Edition française par Robert Anton. Technique et documentation.

G

- **G. Zengin et al. (2014).** A comprehensive study on phytochemical characterization of Haplophyllum myrtifolium Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products* 53, 244–251.
- Garg, j. m. (2023). Henné. In *Wikipédia*. <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Henn%C3%A9&oldid=203521136>
- **Ghazy, O. A., Fouad, M. T., Morsy, T. A., & Kholif, A. E. (2023).** Nanoemulsion formulation of Lawsonia inermis extract and its potential antimicrobial and preservative efficacy against foodborne pathogens. *Food Control*, 145, 109458. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109458>
- **Gülçin, I. (2012).** Antioxidant activity of food constituents : an overview. Archives of toxicology.
- **Gull, I., Sohail, M., Aslam, M. S., & Amin Athar, M. (2013).** Phytochemical, toxicological and antimicrobial evaluation of Lawsonia inermis extracts against clinical isolates of pathogenic bacteria. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 12, 36. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-12-36>.

H

- **Habibur, R., Eswaraih, M. C., et Dutta, A. M. (2015).** In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritic Activity of *Oryza sativa* Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 15. 115-121.
- **Hosseiny, Z., , Heidar Meftahizadeh a*, , Mansour Ghorbanpour b*, , Jalal Gholamnejad a, & Rahele Zareshahi. (2023).** *Influence of harvesting dates and genotypes on secondary metabolites status and antioxidant activity in Lawsonia inermis L. (Henna).* <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2023.01.003>
- **Hsouna, A. B., Trigui, M., Culioli, G., Blache, Y., & Jaoua, S. (2011).** Antioxidant constituents from *Lawsonia inermis* leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 125(1), 193-200. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.060>

J

- **Jayanthi, P., et Lalitha, P.R. (2011).** Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 3. 126-128.
- **Jeyaseelan, E. C., Jenothiny, S., Pathmanathan, M., & Jeyadevan, J. (2012).** Antibacterial activity of sequentially extracted organic solvent extracts of fruits, flowers and leaves of *Lawsonia inermis* L. from Jaffna. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10), 798-802. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60232-9](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60232-9)
- **Jordão, A.; Vargas, M.; Pinto, A.; da Silva, F.; Ferreira, V.** Lawsone in organic synthesis. *RSC Adv.* 2015, 5, 67909-67943

k

- **Kamal, M., & Jawaid, T. (2011).** PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES OF *LAWSONIA INERMIS* LINN.: A REVIEW. *International journal of biomedical research*, 1, 37-43.
- **karen.** (2021, novembre 26). *Plants of the Bible: Henna (Lawsonia inermis).* <https://www.karens Gardentips.com/plant-profiles-how-to-grow/plants-of-the-bible-henna-lawsonia-inermis/>
- **Kathem K. Al-Rubiay, Nawres N Jaber, Al-Mhaawebh, laith K. Alrubaiy. (2008).** Antimicrobial Efficacy of Henna Extracts
- **Kok A. N., Ertekin M. V., Ertekin V. et Avci B.,(2004).** Henna (*Lawsonia inermis* Linn.) induced haemolytic anaemia in siblings. *Ltd In! J Clin Pract*; 58: 530-532.

- **KOKWARO,1993.** Médicinal plants of East Africa.2ndEdition .Kenya Literature Bureau,Nairobi,Kenya,p401.
- **Kurt, S.** (s. d.). *File:Lawsonia inermis Ypey36.jpg—Wikimedia Commons*. Consulté 10 juillet 2023, à l'adresse https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lawsonia_inermis_Ypey36.jpg

L

- **L. Sahu, A. Roy, et T. Satapathy,** « A Phytopharmacological Review on Lawsonia Inermis L. », *Res. J. Sci. Technol.*, vol. 4, n° 3, p. 93-107, juin 2012.
- **Le coz c. J.,(2001).**Risques des peintures cutanées ou tatouages labiles au « henné noir ' ». *Rev Fr AllergoImmunol Clin* ; 41: 504-9.
- **Lemordant Denis, Forestier J.P.(1983).** Commerce et henné. Identification, contrôle, fraudes, additifs. In: *Journal d'agriculturetraditionnelle et de botanique appliquée*, 30^eannée, bulletin n°3-4, Juillet-décembre. pp. 283-310;
- **Ling, L. T., Radhakrishnan, A. K., Subramaniam, T., Cheng, H. M., & Palanisamy, U. D. (2010).** Assessment of antioxidant capacity and cytotoxicity of selected Malaysian plants. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(4), 2139-2151. <https://doi.org/10.3390/molecules15042139>

M

- **M. Gast. 2000.** Encyclopedie Berbere. Vol. (22) : 3437-3440
- **M. Gast,** « Henné », *Encycl. Berbère*, n° 22, Art. n° 22, janv. 2000, doi: 10.4000/encyclopedieberbere.1717.
- **Makhija IK., Dhananjaya DR., Kumar VS Devkar R., Khamar D., Manglani N., Chandakar S., 2011.** Lawsonia inermis -from traditional use to scientific assessment. *African Journal of pharmaceutical Sciences and Pharmacy*, 2: 148- 165.
- **Malekzadeh, F. (1968).** Antimicrobial activity of Lawsonia inermis L. *Applied microbiology*.
- **Manuja A, Rathore N, Choudhary S, Kumar B.** Phytochemical Screening, Cytotoxicity and Anti-inflammatory Activities of the Leaf Extracts from *Lawsonia inermis* of Indian Origin to Explore their Potential for Medicinal Uses. *Med Chem*. 2021;17(6):576-586. doi: 10.2174/1573406416666200221101953. PMID: 32081108.
- **Maslovarić, I., Ilić, V., Drvenica, I., Stančić, A., Mojsilović, S., Kukolj, T., Bugarski, D., Saso, L., & Nicoletti, M. (2021).** Insight into the Biological Activity of

Hennoisides—Glucosides Isolated from Lawsonia inermis (henna) : Could They Be Regarded as Active Constituents Instead. *Plants*, 10(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/plants10020237>

- **McMillan, D. C., Sarvate, S. D., Oatis, J. E., & Jollow, D. J. (2004).** Role of oxidant stress in lawsone-induced hemolytic anemia. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 82(2), 647-655. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh288>
- **Meddour A., Yahia M., Benkiki1 N., Ayachi A. 2011.** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparispinosa L. *Lebanese Science Journal* 14(1) :49-
- **Mikhaeil, B. R., Badria, F. A., Maatooq, G. T., & Amer, M. M. A. (2004).** Antioxidant and immunomodulatory constituents of henna leaves. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 59(7-8), 468-476. <https://doi.org/10.1515/znc-2004-7-803>
- **MOHAMMEDI., 2013-** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 169 p.
- **Morena, M., Cristol, J. P., Bosc, J. Y., Tetta, C., Forret, G., Leger, C. L., & Canaud, B. (2002).** Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration : a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*.
- **Mukhopadhyay, D., Dasgupta, Sinha, D., Roy, Palchoudhuri, S., Chatterjee, I., Ali, S., et Dastidar, S. (2016).** A Sensitive In vitro Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10-Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants*. 6. 123-131.
- **Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. 2010.** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992–999.

N

- **N. Fernández-García, E. Olmos, E. Bardisi, J. García-De la Garma, C. López-Berenguer, et J. S. Rubio-Asensio,** « Intrinsic water use efficiency controls the

adaptation to high salinity in a semi-arid adapted plant, henna (*Lawsonia inermis* L.) », *J. Plant Physiol.*, vol. 171, n° 5, p. 64-75, mars 2014, doi: 10.1016/j.jplph.2013.11.004.

- **n. Kök, M. v. Ertekin, V. Ertekin, et B. Avci**, « Henna (*Lawsonia inermis* Linn.) induced haemolytic anaemia in siblings », *Int. J. Clin. Pract.*, vol. 58, n° 5, p. 530-532, 2004, doi: 10.1111/j.1368-5031.2004.00048.x.
- **Nagarajan, J., Ramanan, R. N., Raghunandan, M. E., Galanakis, C. M., et Galanakis, C. M. (2017)**. Chapter 8 - Carotenoids. In N. P. Krishnamurthy (Ed.), *Nutraceutical and Functional Food Components* (2nd ed., pp. 259–296). *Academic Press*.
- **Nounah, I., Hajib, A., Harhar, H., Madani, N. E., Gharby, S., Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2017)**. Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Lawsonia inermis* Seed Extracts from Morocco. *Natural Product Communications*, 12(4), 1934578X1701200405. <https://doi.org/10.1177/1934578X1701200405>

O

- **Onuh, O. A., Odugbo, M., Oladipo, O. O., & Olobayotan, I. W. (2021b)**. *Phytochemical Investigation of the Crude and Fractionated Extracts of two Nigerian Herbs, Mitragyna Inermis (Wild) and Lawsonia Inermis (Linn)*. <https://doi.org/10.1101/2021.06.02.446752>
- **Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A., et Rezali, N. I. (2016)**. *In vitro* xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 5(4), 343–349.
- **Oyaizu, M. (1986)**. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.

P

- **Paris R. R et Moysse. (1965)**. Précis de matière médicale Edition Paris : Masson.
- *Phytochemical Investigation of the Crude and Fractionated Extracts of two Nigerian Herbs, Mitragyna Inermis (Wild) and Lawsonia Inermis (Linn)*
O.A. Onuh, M. Odugbo, O.O. Oladipo, I.W. Olobayotan
bioRxiv 2021.06.02.446752; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.06.02.446752>

- **Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011).** Methods for total antioxidant activity determination : a review. *Biochem Anal Biochem*.

R

- **R. Badoni Semwal, D. K. Semwal, S. Combrinck, C. Cartwright-Jones, et A. Viljoen,** « Lawsonia inermis L. (henna): Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 155, n° 1, p. 80-103, août 2014, doi: 10.1016/j.jep.2014.05.042.
- **R.Randhir and K. Shetty (2007).** Improved α -amylase and Helicobacter pylori inhibition by fenugreek extracts derived via solid-state bioconversion using *Rhizopus oligosporus*. *Asia Pac J Clin Nutr* 16 (3),382-392
- **Rahmoun Mohamed. Nadjib. (2009).** Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des produits dérivés de la LAWSONE. Thèse de doctorat. P 104.PP14
- **Rahmoun, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Benabdallah, M., & Choukchou-Braham, N. (2012).** Antifungal activity of the Algerian Lawsonia inermis(henna). *Pharmaceutical Biology*, 51(1), 131–135. doi:10.3109/13880209.2012.715166
- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.
- **Robert Verpoorte (1997).** "Cyclopeptide alkaloids". *Nat. Prod. Rep.* 14 (1): 75–82. doi:10.1039/NP9971400075

S

- **Sagdic O., Kuscü A., Özcan M. and Özcelik S. (2002).** Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of Escherichia coli O157:H7. *Food Microbiology*, 19, 473-480.
- **Sarita.G. – Mohd.A .-Sarwar.A.(1991).** Ethycholest 4 en 3 b olfrom the roots of Lawsonia inermis. *Phytochemistry*, vol 31 n° 7 PP 2558-2560.
- **Sharma V. K. (1990).** Tuberculostatic activity of henna (Lawsonia Inermis Linn).71: 293295.henna remedy for candida yeast infections. Article in candida hub review. The Best Natural Henna Yeast Infection Cure

- **Singleton V.L and Rossi J.A.J. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58.
- Surveswaran, S., Cai, Y.-Z., Corke, H., & Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102(3), 938-953. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.033>
- **Szydłowska-Czerniaka A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, Szlyk E.** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* 2008;76:899-905.

T

- **-Talab, Tayseer A., et al.** "The Analgesic and Anti-inflammatory Effect of Lawsone Isolated From Lawsonia Inermis." *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, no. 1, 2022, pp. 77-84, doi:10.15587/2519-4852.2022.253555.
- **Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A.** 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103: 816–822
- Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103: 816–822

W

- **wichtl M., 1999.** Plante therapeutiques : Tradition, pratique officinale. Science et therapeutique 3éme edition. Edition française par Robert Anton. Technique et documentation, 262-264
- **Wong .K.C- ThengY.E (1995).** Volatile component of Lawsonia inermis L.Fowers. *Jou- Essent – Oil- Res- vol 7* pp 425-428.
- **Wu, M., Luo, Q., Nie, R., Yang, X., Tang, Z., & Chen, H. (2020).** Potential implications of polyphenols on aging considering oxidative stress, inflammation, autophagy, and gut microbiota. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–19. doi:10.1080/10408398.2020.1773390

Y

- **yands.** (2016, juillet 21). 300+ Henné Plante Photos, tableaux et images libre de droits— *IStock* / *Henné poudre, Kiwi, Henna.*

<https://www.istockphoto.com/fr/photos/henn%C3%A9-plante>

- **Yang, JY., Lee, HS.** Antimicrobial activities of active component isolated from *Lawsonia inermis* leaves and structure-activity relationships of its analogues against food-borne bacteria. *J Food Sci Technol* **52**, 2446–2451 (2015). <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1245-y>
- **Yefrida, Suyani, H., Alif, A., Efdi, M., et Hermansyah, A. (2018).** Modification of phenanthroline method to determine antioxidant content in tropical fruits methanolic extract. *Research Journal of Chemistry and Environment*. 22. 28-35.
- **Yogisha S., Samiulla S. D., Prashanth D., Padmaja R., Amit A., (2002).** Trypsininhibitqyactivity of *Lawsonia inermis*. *Filoterapia* ; 73 :690-691.

Z

- **Zouhri, A., Bousfiha, A., & Aarab, L. (2016).** Évaluation des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et photoprotectrices des lipides de *Lawsonia inermis* . *Phytothérapie*, 15(2), 67–71. doi:10.1007/s10298-016-1052-5



Annexe

Annexe

Tableau 7 : Représente les calculs des zones d'inhibitions exprimés en mm des extraits de *Lawsonia inermis* sur les souches microbiennes.

Extrait	F				S				A				C				
	[C]	F	F'	F''	F'''	S	S'	S''	S'''	A	A'	A''	A'''	C	C'	C''	C'''
<i>Escherichia coli</i>		8,5	9,5	10,5	10,5	8,5	10,5	8,5	11,5	15	9	11,5	12,5	7,5	9	7	7
		AFa	AFa	AFa	AFa	AFa	AFa	AFa	AM	AM	AFa	AM	AM	AFa	AFa	AFa	AFa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
		PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA
<i>Staphylococcus aureus</i>		16,5	13	21,5	12,5	16,5	16	18,5	11	15	11	13,5	17	16	9,5	7	16,5
		AM	AM	AFo	AM	AM	AM	AFo	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AFa	AFa	AM
<i>Aspergillus niger</i>		13	13	10,5	9	10,5	10,5	9,5	12,5	12	12	14,5	/	/	12,5	10,5	10,5
		AM	AM	AM	AFa	AM	AM	AFa	AM	AM	AM	AM	PA	PA	AM	AM	AM

Tableau 8 : Valeurs de CI50 test DPPH pour les extraits de *Lawsonia Inermis*.

	12.5	25	50	100	200	400	800	IC ₅₀ (µ/ml)
A	13,26± 0,31	35,32± 2,48	67,58± 4,07	81,96± 0,94	81,09± 0,39	79,85± 3,65	70,42±0,50	35,86±0,42
S	13,52± 5,19	26,04± 0,94	58,98± 1,59	83,87±0,45	82,53± 0,46	80,98± 0,27	72,99± 2,57	43,21±0,87
F	10,38± 2,33	25,22± 0,54	47,59±1,55	80,26± 1,67	84,02±0,62	80,26± 1,44	66,24± 1,25	56,92±0,12
C	24,34± 4,27	48,00± 2,77	80,16± 1,83	85,41± 0,09	84,07± 1,11	80,52± 0,27	75,62± 1,24	28,60±0,16
	0.78125 µg	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	IC₅₀ (µ/ml)
Trolox	6.42±0.91	13.33±2.14	30.19±0.67	61.48±2.98	87.16±0.28	88.46±0.11	87.72±0.47	5.12±0.21
Ascorbic acid	0.31±1.02	12.90±0.28	29.69±0.39	76.67±0.37	84.94±0.84	87.78±0.49	86.36±0.21	4.39±0.01

Tableau 9 : Valeurs de CI50 test ABTS pour les extraits de *Lawsonia Inermis*

	12.5	25	50	100	200	400	800	IC ₅₀ (µg/ml)
A	12,83±3,80	22,79±2,36	34,42±5,30	56,76±4,79	81,81±7,07	89,76±1,73	90,52±0,12	10,75±1,43
F	12,63±0,62	21,90±2,50	32,62±2,76	55,86±0,63	80,98±1,22	90,66±1,10	90,80±0,84	10,92±0,12
S	8,06±4,08	10,55±2,39	21,48±0,96	36,56±4,08	69,01±3,46	85,89±2,24	90,94±0,84	9,54±0,51
C	10,69±1,22	21,00±2,79	33,10±8,42	64,23±1,18	82,57±1,36	91,14±0,43	91,14±0,43	9,54±0,51
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC₅₀ (µg/ml)
Trolox	14.74±0.37	26.15±0.65	51.70±1.51	89.72±0.67	92.89±0.19	92.89±0.19	91.84±1.19	3.21±0.06
Ascorbic acid	13.43±0.82	28.76±0.67	52.94±0.94	93.21±0.11	93.08±0.19	92.40±0.88	92.96±0.11	3.04±0.05

Tableau 10: Valeurs de $A_{0,5}$ test FRAP pour les extraits de *Lawsonia Inermis*

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	$A_{0,5}(\mu\text{g/ml})$
A	0,08±0,00	0,11±0,01	0,14±0,02	0,21±0,02	0,35±0,01	0,58±0,02	0,87±0,12	83,47±3,58
F	0,07±0,01	0,07±0,00	0,10±0,01	0,23±0,12	0,27±0,08	0,32±0,06	0,54±0,06	183,64±6,70
S	0,08±0,01	0,11±0,01	0,14±0,02	0,27±0,01	0,37±0,05	0,52±0,02	0,65±0,18	93,07±2,43
C	0,06±0,01	0,09±0,01	0,16±0,03	0,23±0,08	0,28±0,03	0,39±0,03	0,71±0,09	140,32±6,68
	0.0976	0.195	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	$A_{0,5}(\mu\text{g/ml})$
Trolox	0.07±0.00	0.08±0.00	0.09±0.01	0.13±0.00	0.19±0.02	0.28±0.05	0.60±0.04	5.25±0.20
Ascorbic acid	0.07±0.00	0.09±0.01	0.12±0.01	0.17±0.01	0.25±0.02	0.47±0.03	0.79±0.09	3.62±0.29

Tableau 11: Valeurs de $A_{0,5}$ test Phénantroline pour les extraits de *Lawsonia Inermis*

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	$A_{0,5}(\mu\text{g/ml})$
A	0,15± 0,01	0,16± 0,00	0,15± 0,00	0,18± 0,00	0,21± 0,01	0,25±0,03	0,43± 0,03	>200
F	0,15± 0,01	0,15± 0,01	0,15± 0,01	0,16± 0,00	0,17± 0,02	0,19±0,01	0,27± 0,02	>200
S	0,14± 0,01	0,13± 0,00	0,14± 0,00	0,15± 0,01	0,18± 0,00	0,25± 0,01	0,43± 0,02	>200
C	0,11± 0,01	0,11± 0,01	0,12± 0,00	0,14± 0,01	0,18± 0,02	0,32± 0,01	0,67± 0,07	151,74±7,78
	0.0976	0.195	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	$A_{0,5}(\mu\text{g/ml})$
Trolox	0.25±0.01	0.24±0.01	0.26±0.01	0.26±0.00	0.32±0.01	0.38±0.01	0.56±0.02	5.21±0.27
Ascorbic acid	0.26±0.01	0.29±0.00	0.29±0.02	0.31±0.01	0.37±0.01	0.50±0.00	0.80±0.00	3.08±0.02

Les appareils et matériels

- Evaporateur rotatif
- Balance de précision
- Agitateur magnétique avec plaque chauffante
- Ampoule à décanté
- Tubes à essais, éppendorfs et héparinés.
- Entonnoir
- Coton hydrophile
- Eprouvette
- Bécher
- Spatule
- Microplaques
- Spectrophotomètre UV visible
- Spectrophotomètres de microplaques
- Micropipettes
- Ph mètre
- Centrifugeuse avec réfrigérateur
- Bain marie
- Etuve
- Vortex
- Barreau magnétique Méthodes



Résumés

Résumé

La flore Algérienne est diversifiée et contient de nombreuses plantes médicinales traditionnellement utilisées à des fins thérapeutiques. Il est nécessaire de poursuivre les recherches pour étudier la diversité, l'écologie et la biogéographie de la flore Algérienne et pour identifier de nouvelles espèces de plantes médicinales.

Ce travail est porté sur l'évaluation des activités biologiques des extraits éthanoliques de la plante *Lawsonia inermis* provenant de la région de Béchar en comparaison avec celle vendue dans le marché. L'effet du séchage (séchage naturel et séchage par un séchoir) a été aussi testé.

En effet, L'originalité de cette étude repose sur le fait qu'aucune étude n'a été entamée sur l'évaluation des extraits de *Lawsonia inermis* en utilisant un séchage par un séchoir de convection naturelle.

L'étude du pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques a montré une grande activité antioxydante vis-à-vis des tests effectués. Ce potentiel antioxydant de la plante est le résultat de la grande teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux.

L'étude du pouvoir antibactérien des extraits a montré une activité antibactérienne vis-à-vis des souches Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli*), cependant les extraits n'ont montré aucune activité antibactérienne pour la souche (*Pseudomonas aeruginosa*). Pour le pouvoir antifongique les extraits de *Lawsonia inermis* montrent une activité inhibitrice vis-à-vis de la levure (*Candida albicans*) et la moisissure (*Aspergillus niger*).

L'effet antiinflammatoire montre une forte activité protectrice contre un stress osmotique associé à un stress thermique. Pour l'activité antidiabétique aucun effet n'a été trouvé.

Mots clés : *Lawsonia inermis*, activité biologique, activité antimicrobienne, polyphénols, flavonoïdes, séchage.

Abstract

The Algerian flora is diverse and contains many medicinal plants traditionally used for therapeutic purposes. Further research is needed to study the diversity, ecology and biogeography of the Algerian flora, and to identify new medicinal plant species.

This work focused on evaluating the biological activities of ethanolic extracts of the *Lawsonia inermis* plant from the Béchar region, in comparison with that sold on the market. The effect of drying (natural drying and drying with an electric dryer) was also tested.

The originality of this study lies in the fact that no study has ever been undertaken on the evaluation of *Lawsonia inermis* extracts using natural convection drying.

The study of the antioxidant power of ethanolic extracts showed high antioxidant activity in relation to the tests carried out. This antioxidant potential is the result of the plant's high total polyphenol and flavonoid content.

A study of the antibacterial power of the extracts showed antibacterial activity against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) strains, but the extracts showed no antibacterial activity for the (*Pseudomonas aeruginosa*) strain. For antifungal activity, *Lawsonia inermis* extracts showed inhibitory activity against yeast (*Candida albicans*) and mold (*Aspergillus niger*).

The anti-inflammatory effect shows strong protective activity against osmotic stress associated with thermal stress. For the anti-diabetic activity, no effect was found.

Key words: *Lawsonia inermis*, biological activity, antimicrobial activity, polyphenols, flavonoids, drying.

ملخص

الثروة النباتية في الجزائر متنوعة وتحتوي على العديد من النباتات الطبية المستخدمة تقليدياً للأغراض العلاجية. هناك حاجة إلى مزيد من البحث لدراسة التنوع والبيئة والجغرافيا الحيوية للنباتات الجزائرية، وتحديد أنواع النباتات الطبية الجديدة.

ركز هذا العمل على تقييم الأنشطة البيولوجية للمستخلصات الإيثانولية لنبته *Lawsonia inermis* (الحناء كما هي معروفة عامة) من منطقة بشار مقارنة بالمباعة في السوق. كما تم اختبار تأثير التجفيف (التجفيف الطبيعي و التجفيف بإستعمال مجفف كهربائي).

تكمن أصالة هذه الدراسة في حقيقة أنه لم يتم إجراء أي دراسة على الإطلاق حول تقييم مستخلصات *Lawsonia inermis* باستخدام مجفف كهربائي.

أظهرت دراسة القوة المضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية نشاطاً عالياً لمضادات الأكسدة فيما يتعلق بالاختبارات التي تم إجراؤها. هذه الإمكانيات المضادة للأكسدة هي نتيجة ارتفاع إجمالي محتوى النبات من البوليفينول والفلافونويد.

أظهرت دراسة للقوة المضادة للبكتيريا للمستخلصات نشاطاً مضاداً للبكتيريا ضد سلالات موجبة للجرام (*staphylococcus aureus*) وسلبية الغرام (*Escherichia coli*)، لكن المستخلصات لم تظهر أي نشاط مضاد للبكتيريا لسلالة (*Pseudomonas aeruginosa*). بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات، أظهرت مستخلصات النبتة نشاطاً مثبطاً ضد الخميرة (*Candida albicans*) والعفن (*Aspergillus niger*).

يُظهر التأثير المضاد للالتهابات نشاطاً وقائياً قوياً ضد الإجهاد التناضحي المرتبط بالإجهاد الحراري. بالنسبة للنشاط المضاد لمرض السكري، لم يتم العثور على أي تأثير.

الكلمات المفتاحية: *Lawsonia inermis*، نشاط بيولوجي، تأثير مضاد للميكروبات، بوليفينول، فلافونويد، تجفيف

<p align="center">Année universitaire : 2022-2023</p>	<p align="center">Présenté par : Mekki Mancef Lemoualdi Mounder</p>
<p align="center">Contribution à l'étude phytochimique et biologique de plante endémique <i>Lawsonia inermis</i> : comparaison entre deux types de séchages.</p>	
<p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie.</p>	
<p align="center">Résumé</p> <p>La flore Algérienne est diversifiée et contient de nombreuses plantes médicinales traditionnellement utilisées à des fins thérapeutiques. Il est nécessaire de poursuivre les recherches pour étudier la diversité, l'écologie et la biogéographie de la flore Algérienne et pour identifier des nouvelles espèces de plantes médicinales.</p> <p>Ce travail est porté sur l'évaluation des activités biologiques des extraits éthanoliques de la plante <i>Lawsonia inermis</i> provenant de la région de Béchar en comparaison avec celle vendu dans le marché. L'effet du séchage (séchage naturel et séchage par un séchoir) a été aussi testé.</p> <p>En effet, L'originalité de cette étude repose sur le fait qu'aucune étude n'a été entamée sur l'évaluation des extraits de <i>Lawsonia inermis</i> en utilisant un séchage par un séchoir de convection naturelle.</p> <p>L'étude du pouvoir antioxydants des extraits éthanolique a montré une grande activité antioxydantes vis-à-vis des tests effectués. Ce potentiel antioxydant de la plante est le résultat de la grande teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux.</p> <p>L'étude du pouvoir antibactérien des extraits a montré une activité antibactérienne vis-à-vis des souches Gram positif (<i>Staphylococcus aureus</i>) et Gram négatif (<i>Escherichia coli</i>), cependant les extraits n'ont montré aucune activité antibactérienne pour la souche (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>). Pour le pouvoir antifongique les extraits de <i>Lawsonia inermis</i> montrent une activité inhibitrice vis-à-vis de la levure (<i>Candida albicans</i>) et la moisissure (<i>Aspergillus niger</i>).</p> <p>L'effet antiinflammatoire montrent une forte activité protectrice contre un stress osmotique associé à un stress thermique. Pour l'activité antidiabétique aucun effet n'a été trouvé.</p>	
<p align="center">Mots clés : <i>Lawsonia inermis</i>, activité biologique, activité antimicrobienne, polyphénols, flavonoïdes, séchage.</p>	
<p>Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biochimie (Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	
<p>Président : Mme KLIBET F. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1). Rapporteur : Mme. BENNAMOUN L. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur : Mme. DAKHMOUCHE S. (MCA – ENS Assia Djebar, Constantine).</p>	

