



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : علم الأحياء الدقيقة

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques / Biotechnologies / Écologie et Environnement

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes.

N° d'ordre :/2025

N° de série :

Intitulé :

Exploration du pouvoir antioxydant et antibactérien d'une plante saharienne du genre *Achillea*

Présenté par :

Le : 25/06/2025

- ZENDAOUI Alaa Eddine
- DEBBABI Ahmed Mehdi

Sous la direction de : Dr. ALIOUCHE Lamia

Jury d'évaluation :

Dr. MEZIANI Meriem (MCA) Université des Frères Mentouri, Constantine1
Dr. ALIOUCHE Lamia (MCA) Université des Frères Mentouri, Constantine1
Dr. ZATER Hanène (MCA) Université Larbi Ben M'Hidi ,Oum El Bouaghi

Présidente
Encadrante
Examinatrice

Année universitaire
2024 - 2025

Remerciements

En premier lieu, nous remercions du fond du cœur Dieu Tout-Puissant – El-Hamdoullah – pour nous avoir donné la santé, la patience et la force nécessaires pour mener à bien ce travail.

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance à notre encadrante, **Dr Aliouche Lamia**, pour sa disponibilité, ses conseils précieux et son accompagnement tout au long de ce mémoire. Sa bienveillance et sa rigueur ont grandement contribué à la qualité de ce travail.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements au membre de jury, en particulier à Mme **Meziani Meriem présidente du jury**, pour son implication, ses remarques pertinentes, qui a enrichi notre réflexion scientifique et à Mme **Zater Hanène** pour avoir accepté d'évaluer notre travail. Leur contribution est grandement appréciée et nous témoignons ici de notre profond respect à leur égard.*

*Nous tenons également à exprimer notre gratitude à **Monsieur Bensouissi Chaouki**, chercheur au niveau du **Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine**, pour son aide précieuse, sa guidance éclairée et sa générosité. C'est un homme d'une grande noblesse, dont les conseils nous ont profondément inspirés et soutenus durant cette recherche.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à **Dr Arabet Dallel** et **Dr Oulmi Lamia**, pour leur aide, leur soutien pédagogique et leurs orientations précieuses qui nous ont guidés à plusieurs étapes de notre étude.*

*Nous remercions chaleureusement tous les membres de notre promotion **BMM 2024–2025** pour leur solidarité et les bons moments partagés.*

*Un grand merci à l'ensemble de nos enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et plus particulièrement ceux de la spécialité **Biologie Moléculaire des Microorganismes**, pour leur encadrement et leur engagement tout au long de notre formation.*

Enfin, gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu, Le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Je dédie ce mémoire à toutes les personnes chères à mon cœur, celles qui m'ont soutenu, encouragé, inspiré, et accompagné tout au long de ce parcours universitaire et personnel.

*À **mon père Hacene**, modèle de sagesse et de dévouement, dont les sacrifices silencieux, la droiture et la force morale ont tracé pour moi le chemin du courage et de l'effort. Ce mémoire est le fruit de ton soutien et de ton amour discret mais inestimable.*

*À **ma chère mère**, source inépuisable de tendresse et de prières. Ton amour pur, ta patience infinie, tes mots rassurants et ton regard bienveillant m'ont porté dans les moments les plus difficiles. Que Dieu te garde en santé et te récompense pour tout ce que tu représentes pour moi.*

*À **mes frères**, pour leur affection sincère, leur soutien constant et leur présence précieuse. Et tout particulièrement à **mon petit frère Abderrahim**, qui par son innocence, ses sourires, ses questions pleines de curiosité et ses gestes d'amour simples, a su m'apporter un réconfort unique. Que ce travail t'inspire, petit frère, et qu'il soit un repère pour tes propres rêves à venir.*

*À **mes cousins**, pour leur affection fraternelle, leurs encouragements et les souvenirs partagés qui ont enrichi ma vie.*

*À **mes amis**, pour leur fidélité, leur soutien moral et leurs encouragements. Merci d'avoir été présents dans les moments de doute comme dans les instants de joie. Vos paroles et votre amitié ont compté plus que vous ne pouvez l'imaginer.*

*À **Mehdi**, mon binôme et ami de cœur, avec qui j'ai partagé bien plus qu'un travail de fin d'études. Merci pour ton sérieux, ta loyauté, ton écoute et ta bonne humeur qui ont été indispensables à la réussite de ce projet. Ce mémoire est aussi le reflet de notre complicité, de notre patience mutuelle et de notre volonté commune d'avancer, ensemble.*

*À **Madame Aliouche Lamia**, mon encadrante respectée, pour son accompagnement constant, ses conseils judicieux, sa rigueur scientifique et sa bienveillance. Votre confiance m'a donné la force de toujours viser plus haut. Je vous exprime ici ma reconnaissance la plus sincère.*

Enfin, à toutes les personnes qui ont, de près ou de loin, contribué à ce travail et à mon évolution, je dis merci. Ce mémoire est un hommage à votre présence dans ma vie.

Alaa Eddine

Dédicace

Je dédie ce mémoire avec une profonde reconnaissance à toutes celles et ceux qui ont marqué mon chemin, tant sur le plan personnel qu'académique.

*À mes **parents**, pour votre amour inépuisable, votre patience infinie et vos innombrables sacrifices. Vous êtes ma force, mon refuge et ma plus grande source de motivation.*

*À mon père **Riadh**, pour sa discrétion pleine de courage, ses efforts silencieux, et sa présence constante dans chaque réussite.*

*À ma **mère**, Pour sa tendresse infinie, sa patience, et sa foi inébranlable en moi, même lorsque je doutais de moi-même.*

*Merci pour ses mots rassurants, ses prières silencieuses, et cet amour discret mais puissant qui m'a portée à chaque étape. À mes **frères et sœurs**, pour votre affection sincère, vos mots réconfortants, et votre soutien fidèle, dans les épreuves comme dans les moments de joie.*

*À mes **grands-parents**, pour les valeurs qu'ils m'ont transmises, et tout particulièrement à la mémoire de ma grand-mère et de mon grand-père : vos prières, votre sagesse et votre amour me portent encore aujourd'hui. Vous vivez à travers chacun de mes pas.*

*À **Dr Aliouche Lamia**, mon encadrante, pour son accompagnement bienveillant, sa rigueur scientifique et ses conseils avisés. Merci pour votre patience, votre confiance, et pour avoir su me guider avec exigence et respect.*

*À **Alaa**, mon binôme et partenaire tout au long de ce travail : merci pour ta sincérité, ton engagement et ton soutien durant les moments les plus exigeants. Ton sérieux, ta présence et ta complicité ont rendu ce parcours plus fort et plus humain.*

*À mes **amis, mes cousines et mes proches**, pour vos sourires, vos encouragements, vos présences parfois discrètes mais toujours sincères. Chacun de vos gestes, si petits soient-ils, a compté.*

Ce mémoire est aussi le vôtre.

Ahmed Mehdi

SOMMAIRE

Introduction :	1
1. Etude de la plante :	4
1.1. Les plantes médicinales :	4
1.2. Famille des Asteraceae :	4
1.3. Le genre <i>Achillea</i> :	7
2. Les métabolites secondaires :	10
2.1. Généralité :	10
2.2. Classification des métabolites :	11
3. Les activités biologiques :	12
3.1. L'activité antioxydante :	12
3.2. L'activité anti bactérienne :	12
Chapitre II Partie expérimentale :	13
1. Travaux antérieurs :	13
1.1. Préparation du matériel végétal :	13
1.2. Extraction :	13
2. Les tests préliminaires du screening phytochimique :	14
2.1. Les stérols :	14
2.2. Les saponosides :	14
2.3. Les flavonoïdes :	14
2.4. Les alcaloïdes :	15
2.5. Les tanins :	15
2.6. Les terpènes :	16
2.7. Test des protéines :	16
2.8. Les composés réducteurs (Les sucres) :	17
2.9. Les anthraquinones :	17
3. Analyse quantitative :	17
3.1. Dosage des polyphénols totaux :	17
3.2. Dosage des flavonoïdes totaux :	18
3.3. Dosage des tanins hydrolysables :	19
3.4. Dosage des tanins condensés :	20
4. Évaluation du pouvoir antioxydant :	21
4.1. Test DPPH :	21

4.2. Test ABTS :	22
4.3. Test de la phénanthroline :	23
5. Évaluation des activités enzymatiques :	24
5.1. Test de l'alpha-amylase :	24
5.2. Test de l'acétylcholinestérase :	25
6. Activité anti-inflammatoire :	25
6.1. Le principe de la réaction :	25
7. L'activité antibactérienne :	27
7.1. Le principe de l'activité antibactérienne (méthode des puits) :	27
Chapitre III : Résultats et discussions	29
1. Résultats du screening phytochimique :	29
1.1. Résultats du screening chimique de la phase chloroformique :	30
1.2. Résultats du screening chimique de la phase acétate d'éthyle :	32
1.3. Résultats du screening chimique de la phase butanolique :	34
2. Analyse quantitative :	37
2.1. Résultats de dosage des polyphénols et des flavonoïdes :	37
2.2. Résultats de dosage des tanins :	39
3. Résultats des activités biologiques	41
3.1. Résultats des activités antioxydantes :	41
3.2. Résultats des activités enzymatiques :	46
3.3. Résultats de l'activité anti-inflammatoire :	48
3.4. Résultats de l'activité antimicrobienne :	48
Conclusion :	511

Liste des figures

Figure 1 : Exemple de deux plantes de la famille Asteraceae.....	6
Figure 2 : Trois plantes du genre <i>Alchillea</i>	8
Figure 3 : La forme des fleurs et des feuilles de la plante	9
Figure 4 : Réaction de formation du complexe flavonoïde-chlorure d'aluminium	19
Figure 5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	37
Figure 6 : Courbe d'étalonnage de la quercetine	37
Figure 7 : Histogramme représente la quantité des polyphénols et des flavonoides en (µg) dans les trois extraits	38
Figure 8 : Histogramme représente la teneur des tanins hydrolysables en (µgEC /mg	39
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la catéchine	40
Figure 10 : Histogramme représente la teneur des tanins Condensés en (µgEC /mg	41
Figure 11 : Courbe représentative du pouvoir d'inhibition des trois extraits par le test DPPH	42
Figure 12 : Courbe représentative du pouvoir d'inhibition des trois extraits par le test ABTS	43
Figure 13 : Courbe représentative les absorbances des différents standards et extraits (phénanthroline).....	45
Figure 14: Courbe représentative le pouvoir d'inhibition des trois extraits et de standard (anticholinestérasique.....	47
Figure 15 : L'effet des quatre extraits (éther de pétrole,CHCl ₃ , AcOEt et <i>n</i> -BuOH) sur la souche bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus subtilis</i>	49
Figure 16 : L'effet de la gentamicine sur les deux souches testées (<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> .)	49
Figure 17 : L'effet de DMSO sur les deux souches bactérienne (<i>S. aureus</i> et <i>B. subtilis</i>)	50

Liste des tableaux

Tableau 1 : La classification taxonomique du genre <i>Achillea</i>	9
Tableau 2 : Résultats du screening chimique de phase Chloroformique	30
Tableau 3 : Résultats du screening chimique de phase Acétat	32
Tableau 4 : Résultats du screening chimique de phase Butanolique	34
Tableau 5 : Résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes	38
Tableau 6 : Résultats du dosage des tanins hydrolysables et Hydrolysables	39
Tableau 7 : Résultats du dosage des tanins hydrolysables et condensés	40
Tableau 8 : Inhibition du radical DPPH par les extraits CHCl ₃ , AcOEt, <i>n</i> -BuOH	41
Tableau 9 : Inhibition du cation ABTS ^{•+} par les extraits CHCl ₃ , AcOEt, <i>n</i> -BuOH	43
Tableau 10 : Absorbance du complexe Fe ²⁺ -phénanthroline des trois extraits	44
Tableau 11 : Résultats des IC ₅₀ des extraits et standards obtenus avec le test alphaamylase ..	46
Tableau 12 : Résultat de l'activité anticholinestérasique des trois extraits	47
Tableau 13 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire	48
Tableau 14 : Zone d'inhibition de l'activité antibactérienne des quatre extraits sur les <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus subtilis</i>	49

Liste d'abréviation

A_{0,5} :	Concentration donnant une absorbance de 0,5.
ABTS :	2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
AcOEt :	Acétate d'éthyle
AlCl₃ :	Chlorure d'aluminium
ATCC :	Collection américaine de souches microbiennes de référence
BSA :	Bovine Serum Albumin (Albumine sérique bovine)
CHCl₃ :	Chloroforme
CRBT :	Centre de Recherche en Biotechnologie
DPPH :	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
EC :	Équivalent catéchine
EtOH :	Éthanol
FeCl₃ :	Chlorure ferrique
GAE :	Équivalent d'acide gallique
HCl :	Acide chlorhydrique

H₂SO₄ :	Acide sulfurique
I₂ :	Iode moléculaire
IC₅₀:	Concentration inhibitrice à 50 %
IKI :	Solution d'iode (Iode + iodure de potassium)
KI :	Iodure de potassium
Na₂CO₃ :	Carbonate de sodium
NaNO₂ :	Nitrite de sodium
Na₂SO₄ :	Sulfate de sodium
NaOH :	Hydroxyde de sodium
n-BuOH :	n-Butanol
QE :	Équivalent quercétine
Tris-HCl :	Tampon Tris chlorhydrate
UFC :	Unité Formant Colonie
V/V :	Volume sur volume

Introduction

Introduction

Introduction :

Les plantes médicinales sont une source précieuse de molécules bioactives utilisées depuis des siècles en médecine traditionnelle. Parmi elles, le genre *Achillea* (famille des Asteraceae) est connu pour ses nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment ses activités antioxydantes et antimicrobiennes (Sahin *et al.*, 2003).

L'unité de recherche VARENBIOMOL se consacre à l'étude des plantes médicinales algériennes, en mettant particulièrement l'accent sur l'identification et l'évaluation des propriétés thérapeutiques de ces espèces, dont le potentiel reste encore largement inexploité. Dans un contexte où la résistance des microorganismes aux antibiotiques constitue une menace croissante pour la santé publique (WHO., 2022) et où le stress oxydatif est impliqué dans plusieurs maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Halliwell., 2007), l'identification de nouvelles sources naturelles bioactives devient une nécessité. Les plantes sahariennes, soumises à des conditions climatiques extrêmes (températures élevées, stress hydrique, fort ensoleillement), développent une forte accumulation de métabolites secondaires aux propriétés biologiques intéressantes, notamment les flavonoïdes, polyphénols et terpénoïdes (Gharibi *et al.*, 2016).

Dans ce cadre, l'exploration des extraits d'une espèce saharienne du genre *Achillea* représente un intérêt particulier pour identifier de nouvelles alternatives thérapeutiques naturelles. Cette étude se propose donc d'évaluer le potentiel antioxydant et antimicrobien de cette plante et d'identifier les principaux composés bioactifs responsables de ces effets.

Problématique :

Face aux défis croissants liés à la résistance aux antibiotiques et au stress oxydatif, il devient essentiel d'explorer de nouvelles sources naturelles dotées d'activités biologiques avérées. La question centrale de cette recherche peut donc être formulée ainsi: les extraits de notre plante sélectionnée du genre *Achillea* présentent-ils une activité biologique (antioxydante, anti-inflammatoire, antidiabétique, anti-Alzheimer ou antimicrobienne) ? Si oui, quelle est la nature de cette activité et quels sont les composés responsables de ces effets ?

Objectifs de la recherche :

L'objectif principal de ce travail est d'étudier l'activité antioxydante, anti-diabétique, anti-alzheimer et antimicrobienne des extraits d'une plante saharienne du genre *Achillea*. Pour cela, les objectifs spécifiques sont :

- Caractériser les métabolites secondaires présents dans chaque extrait.
- Évaluer l'activité antioxydante par des tests chimiques (DPPH, ABTS....).
- Analyser l'activité antimicrobienne contre différentes souches bactériennes

Hypothèses de travail :

Sur la base des études antérieures et des connaissances existantes, nous formulons les hypothèses suivantes :

- Les extraits d'*Achillea* ont une forte activité antioxydante en raison de leur richesse en polyphénols et en flavonoïdes.
- Ces extraits montrent une activité antimicrobienne significative, notamment contre des souches pathogènes résistantes aux antibiotiques.
- Les flavonoïdes et autres composés phénoliques sont les principaux contributeurs des effets bioactifs observés.

Méthodologie générale adoptée :

Pour répondre à la problématique, l'étude sera menée selon les étapes suivantes :

- Collecte et identification de la plante saharienne du genre *Achillea*.
- Extraction des métabolites secondaires par macération.
- Screening phytochimique qualitatif des extraits pour détecter la présence de familles chimiques telles que les stérols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, terpènes, etc.
- Dosages quantitatifs des composés phénoliques et flavonoïdiques totaux (méthode de Folin-Ciocalteu et AlCl_3).
- Évaluation de l'activité antioxydante par trois tests complémentaires : DPPH, ABTS, et phénanthroline.
- Évaluation de l'activité enzymatique par tests d'inhibition de l' α -amylase (potentiel antidiabétique) et de l'acétylcholinestérase (potentiel anti-Alzheimer).

- Évaluation de l'activité anti-inflammatoire par le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA).
- Évaluation de l'activité antimicrobienne contre des bactéries *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.
- Analyse et interprétation des résultats, incluant des comparaisons avec les standards.

Plan du mémoire :

Notre mémoire est structuré en trois chapitres :

- **Chapitre 1 :** Aperçu bibliographique sur les plantes du genre *Achillea*, leurs métabolites et leurs activités biologiques.
- **Chapitre 2 :** Présentation des méthodes expérimentales utilisées pour l'extraction et l'évaluation des activités biologiques.
- **Chapitre 3 :** Résultats obtenus, discussion et comparaison avec la littérature existante.

Étude de la plante

1. Etude de la plante :

1.1. Les plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont des espèces végétales dont certaines parties contiennent des métabolites secondaires ayant démontré des effets bénéfiques pour la santé. Elles constituent une source importante de médicaments traditionnels et suscitent un intérêt croissant dans la recherche moderne pour la découverte de nouveaux agents thérapeutiques (*Gurib-Fakim, 2006; Atanasov et al., 2015*). Ces plantes sont définies par la présence de substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques ou comme précurseurs pour la synthèse de médicaments (*Rates, 2001*). L'étude de leurs composés bioactifs, tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les terpénoïdes, est essentielle pour valider scientifiquement leurs usages traditionnels et explorer de nouvelles applications pharmacologiques (*Wink, 2015*). Cette définition englobe une grande variété de plantes, allant des simples herbes de jardin aux arbres majestueux, et chaque culture a développé ses propres méthodes d'utilisation. Actuellement, environ 70 % de la population mondiale utilise encore des plantes médicinales pour leurs soins de santé primaires, ce qui témoigne de leur importance dans la médecine de terrain (*Zhang et al., 2021*).

Les recherches scientifiques modernes se concentrent sur l'identification des composés bioactifs dans ces plantes, afin de valider et d'étendre leur utilisation thérapeutique. Par exemple, des phytocomposés comme les flavonoïdes, alcaloïdes et terpénoïdes ont montré des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, ouvrant la voie à de nouvelles applications dans le domaine médical (*Saini et al., 2020*). La garantie de la qualité, de la sécurité et de l'efficacité des médicaments à base de plantes est un aspect crucial, souligné par les cadres réglementaires en place. Ces cadres, bien que variant d'un pays à l'autre, visent à assurer que les produits à base de plantes répondent à des normes strictes avant d'être mis sur le marché (*Van Andel et al., 2015*).

1.2. Famille des Asteraceae :

1.2.1 Présentation de la famille Asteraceae :

Les Asteracées ou Composées comptent environ 23 000 espèces et plus de 1 600 genres, regroupant des plantes herbacées, des arbustes et quelques arbres (*Moore et al., 2017*). Elles sont reconnaissables par leurs inflorescences en capitules, où chaque fleur apparente est en réalité un ensemble de fleurs ligulées et tubulées (*Liu et al., 2015*). Les Asteraceae présentent

une grande variété de formes, allant de petites herbacées à de grandes espèces comme le tournesol (*Helianthus annuus*). Leurs feuilles sont généralement simples et alternées, et leur fruit, un akène, est souvent équipé d'un pappus (Liu et al., 2015).

1.2.2. Histoire et position taxonomique de la famille des Asteraceae :

➤ Histoire des Asteraceae :

Les Astéracées, l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs, ont évolué il y a environ 50 millions d'années, durant l'ère tertiaire. Leur apparition est confirmée par des études paléobotaniques et phylogénétiques qui suggèrent une origine dans les régions tempérées avant une diversification rapide vers différents écosystèmes (Bremer & Chaloner, 2020). Des fossiles du Crétacé supérieur attestent de l'existence précoce d'ancêtres des Asteraceae, soulignant leur ancienneté et leur capacité d'adaptation (Funk et al., 2018). Grâce à des mécanismes évolutifs efficaces, comme la dispersion des graines par le pappus, les Asteraceae ont pu coloniser un large éventail de milieux.

➤ Position systématique des Asteraceae :

Les Asteraceae appartiennent au règne Plantae, division Angiospermes, classe Magnoliopsida (Dicotylédones) et ordre Asterales (Carter et al., 2015). Elles forment un groupe monophylétique, ce qui signifie qu'elles partagent un ancêtre commun, confirmé par des études de phylogénie moléculaire (Funk et al., 2018). Deux grandes sous-familles sont reconnues : les Asteroideae, qui incluent des genres tels qu'Aster, Helianthus et Chrysanthemum, et les Cichorioideae, comprenant des plantes comme Taraxacum (pissenlit) et Cichorium (endive) (Bremer & Chaloner, 2020).

1.2.3. Les caractères botaniques de la famille des Asteraceae :

La famille des Asteraceae se caractérise par son inflorescence en capitule, une structure complexe où de nombreuses petites fleurs (floraisons) sont regroupées sur un réceptacle commun, souvent entouré de bractées involucriales (Zhang & Bremer, 2023). Ces capitules peuvent contenir des fleurs ligulées à la périphérie et des fleurs tubulées au centre, jouant des rôles distincts dans l'attraction des pollinisateurs (Jeffrey, 2017). Les feuilles des Asteraceae présentent une grande diversité de formes et d'arrangements, généralement sans stipules. Les tiges varient d'herbaceuses à ligneuses, permettant à la famille de s'adapter à divers habitats (Nesom, 2018). Le fruit typique est un akène, souvent équipé d'un pappus (une modification

du calice) qui facilite la dispersion (agiolochory), contribuant ainsi au succès écologique des Asteraceae à travers le monde (Pelser et al., 2007).



Figure 1 : Exemple de deux plantes de la famille Asteraceae (*Chrysanthemum* et *Achillée millefeuille*)(Benedek, B. et al 2007)

1.2.4. Intérêt nutritionnel, économique et pharmaceutique de la famille des Asteraceae :

➤ Intérêt nutritionnel :

Plusieurs espèces de la famille des Astéracées sont reconnues pour leur intérêt nutritionnel. Des légumes comme la laitue (*Lactuca sativa*) et l'artichaut (*Cynaracardunculus*) sont des sources importantes de fibres, de vitamines et de minéraux essentiels (García-Herrera et al., 2021). Les graines de tournesol (*Helianthus annuus*) fournissent une huile riche en acides gras insaturés, bénéfiques pour la santé cardiovasculaire. De plus, certaines Astéracées sauvages comestibles sont d'excellentes sources de vitamine A et d'autres nutriments importants, contribuant à une alimentation saine (Łuczaj et al., 2016).

➤ Intérêt économique :

Les Astéracées ont une importance économique notable. De nombreuses espèces sont cultivées pour des usages ornementaux, telles que les chrysanthèmes (Teixeira da Silva et al., 2020), les dahlias et les asters, contribuant ainsi à l'industrie horticole. D'autres, comme le tournesol (*Helianthus annuus*), sont cultivées pour la production d'huile végétale, utilisée tant dans l'alimentation que dans l'industrie (Gandhi et al., 2021). Cependant, certaines espèces de cette famille sont considérées comme des mauvaises herbes, pouvant entraîner des pertes économiques dans l'agriculture (Fernández-Moreno et al., 2017).

➤ **Intérêt pharmaceutique :**

De nombreuses espèces d'Astéracées sont reconnues pour leurs propriétés médicinales. Par exemple, la camomille allemande (*Matricaria chamomilla*) est utilisée pour ses effets anti-inflammatoires et digestifs, tandis que l'arnica (*Arnica montana*) est employée en usage externe pour traiter les contusions et les douleurs musculaires. Des recherches récentes ont mis en évidence le potentiel de certaines espèces d'Astéracées dans le développement de formulations pharmaceutiques, notamment pour le traitement du diabète, grâce à leurs composés bioactifs aux propriétés antidiabétiques (Mohanta et al., 2023). En somme, la famille des Astéracées joue un rôle essentiel dans divers secteurs, allant de l'alimentation à la médecine, en passant par l'économie, illustrant ainsi sa polyvalence et son importance pour l'humanité.

1.3. Le genre *Achillea* :

1.3.1. Présentation du genre :

Le genre *Achillea* (famille des Astéracées) comprend plus de 100 espèces de plantes herbacées vivaces, largement répandues dans l'hémisphère Nord, notamment en Europe, en Asie et en Amérique du Nord (Salehi et al., 2020). Ces plantes sont reconnues pour leurs propriétés médicinales et sont traditionnellement utilisées pour traiter divers troubles, tels que les affections gastro-intestinales, les douleurs menstruelles et les inflammations. Elles contiennent une grande variété de composés bioactifs, notamment des flavonoïdes, des terpènes et des lactones sesquiterpéniques, qui leur confèrent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Parmi les espèces les plus étudiées, *Achillea millefolium* (*achillée millefeuille*), *Achillea filipendulina* et *Achillea ptarmica*.

- Exemples de plantes médicinales du genre *Alchillea* :

- *Achillea millefolium* (*Achillée millefeuille*) : plante herbacée vivace atteignant généralement 30 à 60 cm de hauteur, caractérisée par des feuilles finement découpées et des inflorescences en corymbes de petites fleurs blanches ou roses, traditionnellement utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires, hémostatiques, cicatrisantes et antispasmodiques. Elle est employée dans le traitement des plaies, des saignements, des inflammations et des troubles gastro-intestinaux. *Achillea millefolium* contient divers composés bioactifs, notamment des flavonoïdes et des acides phénoliques (Kumar et al., 2023).

- *Achillea filipendulina* (*Achillée jaune*) : plante vivace atteignant jusqu'à 1,2 m de hauteur, avec des feuilles pennées et des inflorescences en corymbes de fleurs jaune vif. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Gulluce et al., 2021). Elle est également appréciée en horticulture pour ses qualités ornementales et renferme des flavonoïdes et des composés phénoliques, contribuant à ses effets bénéfiques sur la santé (Gulluce et al., 2021).
- *Achillea ptarmica* (*Achillée sternutatoire*) : plante vivace atteignant 30 à 60 cm de hauteur, caractérisée par ses feuilles étroites et ses inflorescences blanches en corymbes. Traditionnellement, cette plante est reconnue pour ses usages médicaux (Veryser et al., 2017). Le genre *Achillea* est connu pour contenir des composés tels que des huiles essentielles et des flavonoïdes, qui contribuent à ses activités thérapeutiques (Gulluce et al., 2021).



Figure 2 : Trois plantes du genre *Alchillea* (Benedek et.,al 2007)

1.3.2. Classification taxonomique du genre :

Tableau 1 : la classification taxonomique du genre *Achillea* (APG IV, 2016 ; Bonifacino et al., 2017 ; Oberprieler et al., 2009).

Règne	Plantae
Super-division	Angiospermes
Division	Dicotylédones vraies
Classe	Astéridées
Sous-classe	Campanulidées
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous-famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Sous-tribu	Matricariinae
Genre	<i>Achillea</i>

1.3.3. Description morphologique du genre *Alchillea* :

Le genre *Achillea* regroupe des plantes herbacées vivaces, souvent aromatiques, appartenant à la famille des Asteraceae. Ces plantes présentent généralement des tiges dressées et peuvent atteindre une hauteur variable, typiquement entre 20 et 80 cm (Maggi et al., 2020 ; Hayat et al., 2018). Les feuilles sont alternes et souvent finement divisées, leur donnant un aspect plumeux ou lancéolé (Hayat et al., 2018). Les inflorescences sont des corymbes ou des têtes aplaties composées de nombreux petits capitules (Maggi et al., 2020). Les fleurs périphériques sont ligulées et peuvent être blanches, roses ou jaunâtres, tandis que les fleurs centrales sont tubulaires et hermaphrodites (Stojković et al., 2013). Les fruits sont de petits akènes dépourvus de pappus (Stojković et al., 2013).



Figure 3 : La forme des fleurs et des feuilles de la plante *Achillée millefeuille*. (Benedek et al., 2007)

1.3.4. Localisation et répartition géographique du genre *Achillea* :

Le genre *Achillea* est largement distribué dans l'hémisphère Nord, couvrant une diversité de climats et d'écosystèmes. En Europe, il est présent du nord de la Scandinavie jusqu'au bassin méditerranéen, colonisant les prairies, les bords de chemins, les montagnes et les sols calcaires. Parmi les espèces les plus répandues figurent *Achillea millefolium*, *Achillea ageratum* et *Achillea ptarmica* (Guo et al., 2021 ; D'Andrea et al., 2020). En Asie, on retrouve ce genre en Asie centrale (Kazakhstan, Mongolie), en Chine, en Sibérie, ainsi que dans les zones montagneuses de l'Himalaya et du Tibet. La Turquie, l'Iran et le Caucase présentent une forte diversité d'espèces adaptées aux climats tempérés, semi-arides et alpins (Mahdavi et al., 2017 ; Shakeri et al., 2018). En Afrique du Nord, *Achillea* est signalé en Algérie, au Maroc, en Tunisie, en Libye et en Égypte, où il colonise principalement les montagnes de l'Atlas, les Hauts Plateaux et certaines zones sahariennes, parmi les espèces les plus courantes figurent *Achillea santolinoides* et *Achillea odorata*, souvent utilisées en médecine traditionnelle (Bekkara et al., 2018 ; Benmehdi et al., 2020). En Amérique du Nord, *Achillea millefolium* est l'espèce la plus répandue, occupe les prairies, les montagnes et les bords de routes au Canada, aux États-Unis et au Mexique (Guo et al., 2021). Enfin, en Océanie, certaines espèces ont été introduites en Australie et en Nouvelle-Zélande, où elles se sont adaptées aux sols secs et perturbés (D'Andrea et al., 2020). Ainsi, le genre *Achillea* est présent en Europe, Asie, Afrique du Nord, Moyen-Orient, Amérique du Nord et Océanie, démontrant une grande capacité d'adaptation aux climats tempérés, méditerranéens, alpins et semi-arides. Amérique du Nord et Océanie, démontrant une grande capacité d'adaptation aux climats tempérés, méditerranéens, alpins et semi-arides.

2. Les métabolites secondaires :

2.1. Généralité :

Les métabolites secondaires sont des composés organiques naturels produits par les plantes qui, contrairement aux métabolites primaires (glucides, lipides, protéines, acides nucléiques), ne sont pas directement impliqués dans les fonctions vitales telles que la croissance, le développement ou la reproduction. Cependant, ils jouent un rôle fondamental dans l'adaptation des plantes à leur environnement en contribuant à leur défense contre les

stress abiotiques (rayonnement UV, sécheresse, salinité) et stress biotiques (attaques de pathogènes, herbivores, interactions symbiotiques) (Ramawat&Mérillon, 2020).

2.2. Classification des métabolites :

Ils sont classés en trois grandes catégories selon leur structure chimique et leur voie de biosynthèse (Ramawat&Mérillon, 2020).

2.2.1. Les Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés dérivés d'acides aminés, souvent impliqués dans la défense contre les herbivores et les pathogènes en raison de leurs effets toxiques ou amers. Ces molécules présentent une grande diversité structurale et biologique (Facchini *et al.*, 2012), avec des exemples notables tels que la morphine extraite de *Papaver somniferum*, la quinine issue de *Cinchona officinalis*, la caféine retrouvée dans *Coffea arabica* et l'atropine provenant d'*Atropa belladonna*. Leurs propriétés biologiques incluent des effets analgésiques, stimulants du système nerveux et antimicrobiens, leur conférant une importance pharmaceutique majeure.

2.2.2. Les Composés Phénoliques et Polyphénols :

Les composés phénoliques et polyphénols constituent une autre classe importante, dérivant du métabolisme des phénylpropanoïdes et du shikimate. Ces métabolites, largement distribués dans le règne végétal, se caractérisent par leurs puissantes propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (Orav *et al.*, 2006). On distingue plusieurs sous-catégories, notamment les flavonoïdes comme la quercétine et le kaempférol, les tanins tels que les ellagitannins et les gallotannins, ainsi que les acides phénoliques comme l'acide caféique et l'acide chlorogénique. Ces molécules jouent un rôle protecteur contre les stress abiotiques et biotiques et sont impliquées dans la photoprotection, l'anti-inflammation et la modulation du microbiote.

2.2.3. Les Terpènes et Terpénoïdes :

Les terpènes et terpénoïdes constituent la plus vaste classe de métabolites secondaires, étant dérivée des voies du mévalonate et du méthylérythritol phosphate. Ces composés sont responsables des arômes et parfums caractéristiques de nombreuses plantes et participent à des mécanismes de défense contre les herbivores et les pathogènes (Ramawat&Mérillon, 2020). Ils se subdivisent en plusieurs sous-groupes, incluant les monoterpènes tels que le

menthol (*Mentha sp.*) et le limonène (*Citrus sp.*), les sesquiterpènes comme l'artémisinine (*Artemisia annua*) et le farnésol, ainsi que les diterpènes, représentés par des composés bioactifs comme le taxol (*Taxus brevifolia*) et les ginkgolides (*Ginkgo biloba*). Ces molécules présentent des propriétés antimicrobiennes, insecticides, anti-inflammatoires et même antitumorales, faisant d'elles des cibles privilégiées pour le développement de médicaments (Salehi et al., 2020).

3. Les activités biologiques :

3.1. L'activité antioxydante :

L'activité antioxydante correspond à la capacité d'une substance à neutraliser les radicaux libres ou à inhiber les réactions d'oxydation, protégeant ainsi les cellules et les biomolécules des dommages oxydatifs (Halliwell & Gutteridge, 2015). Les antioxydants agissent en interrompant les réactions en chaîne des radicaux libres, soit en les piégeant, soit en les réduisant, contribuant ainsi à la prévention du stress oxydatif et de ses effets délétères sur l'organisme (Sies, 2015). La mesure de cette activité repose sur des méthodes standardisées, permettant d'évaluer la capacité antioxydante des composés présents dans les aliments et les compléments alimentaires (Prior et al., 2005).

3.2. L'activité anti bactérienne :

L'activité antibactérienne correspond à la capacité d'une substance à inhiber la croissance bactérienne ou à les éliminer. Elle repose sur plusieurs mécanismes d'action, tels que l'altération de la paroi cellulaire, l'inhibition de la synthèse des protéines ou la perturbation des fonctions métaboliques essentielles (Kumar et al., 2016).

Les composés naturels, notamment les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes, possèdent des propriétés antibactériennes en ciblant la membrane bactérienne et en augmentant sa perméabilité, entraînant ainsi la mort cellulaire (Cushnie & Lamb, 2011). L'évaluation de cette activité se fait principalement à l'aide de tests *in vitro*, comme la méthode de diffusion en gélose (test de Kirby-Bauer) et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricide (CMB), permettant de mesurer l'efficacité et le spectre d'action des agents antibactériens (Balouiri et al., 2016).

Partie

Expérimentale

Chapitre II Partie expérimentale :

Nos études photochimiques et biologiques ont été réalisées au niveau de l'unité de recherche *VARENBIOMOL* et le Centre de Recherche en Biotechnologie (*CRBT*).

1. Travaux antérieurs :

La récolte et le séchage de la plante ont été réalisés antérieurement par Dr. Aliouche Lamia.

1.1.Préparation du matériel végétal :

La plante étudiée a été récoltée de la région d'Ouargla au mois de mai 2024. Les parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de cette plante ont été séchées dans un endroit sec et aéré à l'abri de l'humidité puis bien broyées, pulvérisées et pesées (350g).

1.2. Extraction :

La quantité de matériel végétal obtenue (350g).Elle a subi une macération dans un mélange hydro-alcoolique (EtOH / H₂O ; 70 : 30 ; V/V) pendant 24 heures. Le premier extrait récupéré est concentré sous pression réduite et à une température modérée (entre 35-40°C). La macération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. Les trois extraits hydro-alcooliques récupérés sont réunis et concentrés à la solution concentrée obtenue, on ajoute de l'eau distillée et du tétra acétate de plomb Pb(OAc)₄. La solution ainsi obtenue est laissée au repos à froid pendant une nuit pour décantation. Cette décantation permet le dépôt de la chlorophylle. Après filtration on obtient une solution aqueuse. Cette phase aqueuse subit une extraction de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante, on commence par l'éther de pétrole ensuite chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. Les quatre phases organiques récupérées sont séchées avec du Na₂SO₄ anhydre puis filtrées, concentrées sous pression réduite à sec et pesées. On obtient 0,16 g d'extrait pour la phase éther de pétrole, 3,16 g d'extrait pour la phase chloroforme, 4,12g d'extrait pour la phase acétate d'éthyle et 6,01 g pour la phase *n*-butanol.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés aux trois extraits obtenus (extrait chloroformique, extrait acétate d'éthyle et l'extrait butanolique). Ces derniers ont été soumis à un dosage spectrophotométrique en vue d'évaluer leur taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux et d'examiner leur pouvoir antioxydant, anti-Alzheimer, antidiabétique, anti-inflammatoire, antifongique et antibactérien.

2. Les tests préliminaires du screening phytochimique :

2.1. Les stérols :

➤ Définition :

Ce sont dérivés des phytostérols qui sont des composés naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes. Ils ne sont pas synthétisés par l'homme et l'animal et ne peuvent être apportés que par l'alimentation. Plusieurs études ont démontré que les phytostérols et les phytostanols réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle (*Goad, J. 1991*).

➤ Test de Salkowski :

Quelques mg de l'extrait est mis dans 2mL chloroforme ensuite on rajoute 2mL d' H_2SO_4 concentré dans le tube à essai. On le secoue et on le laisse quelques minutes. L'apparition de la couleur rouge dans la couche chloroforme indique la présence des stérols (*William, G.2003*).

2.2. Les saponosides :

➤ Définition :

Le saponoside est un hétéroside généralement d'origine végétale formé d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine. Possédant un ou des groupements osidiques. Les saponosides sont un vaste groupe de glycosides, largement distribués chez les plantes supérieures, leurs propriétés tensioactives les distinguent des autres glycosides. Ils se dissolvent dans l'eau pour former des solutions moussantes colloïdales par agitation.

➤ Test à la mousse :

Quelque mg de l'extrait est mis (*Robert, J.,2002*). Dans le tube à essai ensuite on rajoute une quantité de bicarbonate de sodium et de l'eau, si la mousse prend l'aspect d'alvéoles de miel stable indique la présence des saponosides

2.3. Les flavonoïdes :

➤ Définition :

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasi universels de

végétaux. Ils interviennent comme des composés de défense ainsi que dans la signalisation de la reproduction, de la pathogenèse et de la symbiose. Les flavonoïdes végétaux sont impliqués dans le mécanisme d'intervention contre l'infection par des micro-organismes ou l'attaque par les herbivores.

➤ **Test de Shinoda :**

Une petite quantité de l'extrait a été dissoute dans 5mL d'éthanol à 95% (v/v) puis traitée avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique HCl concentré et 0,5g de copeaux de magnésium. L'apparition d'une couleur rose ou magenta en 1 ou 2min indique la présence des flavonoïdes (Harborne J.B. *et al.*, 1999).

2.4. Les alcaloïdes :

➤ **Définition :**

Le mot alcaloïde dérive du mot alcalin qui était utilisé pour décrire les bases de Lewis contenant les hétérocycles azotés. Les alcaloïdes sont définis aujourd'hui comme des composés azotés plus ou moins basique (Bruneton, J.1993). Selon leur structure chimique, ils ont été classés en plusieurs catégories les indoles, les pyrrolidines, les pyridines et les quinoléines.

➤ **Réactif de Wagner :**

Quelque mg d'extrait est mis dans 5mL de 1,5% d'HCl ensuite on filtre. Le filtrat est utilisé pour la détection des alcaloïdes. 1,7 g d'iode et 2 g d'iodure de potassium KI sont dissout dans 5 mL d'eau et complété avec l'eau jusqu'à obtenir 100 mL de solution. Ce réactif est ajouté au filtrat de test, s'il y a l'apparition d'un précipité brun cela indique la présence d'alcaloïdes (Bruneton, J.2009).

2.5. Les tanins :

➤ **Définition :**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure complexe, ils ont des propriétés tannantes, ils ont astringentes, cytostatiques et bactéricides car ils interfèrent également avec les protéines du protoplasme, c'est pour ça elle est utilisable dans les préparations à usage local (cas de blessures, brulures) (Wallace, R.J.2004).

➤ **Test au chlorure de fer 5% :**

Une solution de chlorure de fer à 5% est diluée dans l'éthanol à 90%. Une petite quantité de chaque extrait est mis dans l'eau chauffée ensuite on filtre. On place quelques gouttes de cette solution au-dessus du filtrat, l'apparition de la couleur verte ou bleu profond indique la présence des tanins.

2.6. Les terpènes :

➤ **Définition :**

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. Leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs de 1 à 8 sauf dans les polyterpènes qui comprennent plus de cent unités isopréniques comme dans le cas du caoutchouc. La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 . Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette terpénique avec une ou plusieurs fonctions chimiques (Alcool, Aldéhyde, Cétone, Acide, Lactone, etc.) (*Qureshi, N.1981*).

➤ **Le test utilisé pour détecter la présence des terpènes :**

Les extraits des trois variétés sont additionnés chacun de 0,5mL d'anhydride acétique puis 0,5mL de chloroforme, après dissolution, les solutions sont transformées dans des tubes à essai auxquels sont ajoutés 1mL d'acide sulfurique concentré. La réaction est effectuée à froid, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet avec coloration de la couche surnageante de vert ou de violet indique la présence des terpènes (*Crete, P.1965*).

2.7. Test des protéines :

➤ **Définition :**

Les protéines sont des macromolécules biologiques présentes dans toutes les cellules vivantes. Elles sont formées d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques. Chacune de ces chaînes est constituée de l'enchaînement de résidus d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.

➤ **Test de Biuret :** Quelques mg d'extrait sont mis dans l'eau et 1 mL de sulfate de cuivre ($CuSO_4$) à 4% est ajouté, si la couleur violet clair à rose apparaît ceci indique la présence de protéines.

2.8. Les composés réducteurs (Les sucres) :

➤ Définition :

Le terme sucres désigne tous les glucides ayant un pouvoir sucrant, essentiellement le fructose, saccharose, glucose, maltose et lactose. Les glucides sont des constituant universels des organismes vivants, Parfois appelés hydrates de carbonate. Ce sont, en approximation, des composés organiques carbonylés (aldéhydiques ou cétoniques) polyhydroxylés.

➤ Test de Fehling :

Dans un tube à essai on met 1mL de la liqueur de Fehling puis on lui rajoute 1mL de l'extrait. L'ensemble est incubé pendant 8min dans un bain marie bouillant, l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (*Bruneton, J.2009*).

2.9. Les anthraquinones :

➤ Définition :

L'anthraquinone appartient à la famille chimique des hydrocarbures aromatique polycycliques. C'est un dérivé de l'anthracène. Présent à l'état naturel chez un certain nombre d'animaux et de plantes, il est aussi une substance active de produit phytosanitaire (ou produit phytopharmaceutique, ou pesticide).

➤ Le test utilisé pour détecter la présence des anthraquinones :

Quelque mg d'extrait est dilué dans un mélange chloroforme / éther de pétrole (1 :1, v/v) ensuite on rajoute la soude (NaOH 10%), la présence d'une couleur rouge indique la présence d'anthraquinone (*Rizk, A.M.1982*).

3. Analyse quantitative :

3.1 Dosage des polyphénols totaux :

3.1.1. Le Principe de la réaction :

Le dosage des polyphénols totaux repose sur la réaction d'oxydoréduction entre les composés phénoliques présents dans l'extrait et le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier contient des ions phosphomolybdate et phosphotungstate qui, en présence de

polyphénols, sont réduits en un complexe bleu mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 765 nm. L'intensité de la coloration bleue est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques totaux dans l'échantillon. Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait sec, à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec une solution standard d'acide gallique (*Singleton et al., 1999*).

3.1.2. Protocole :

- ✓ Une solution mère d'acide gallique a été préparée (1 mg/mL).
- ✓ Une série de dilutions (200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25 µg/mL) a été réalisée.
- ✓ Pour chaque dilution, 20 µL de solution ont été mélangés à 100 µL de réactif Folin-Ciocalteu (dilué 5 fois) et 80 µL de solution de Na₂CO₃ (0,4%).
- ✓ Après incubation pendant 2 heures à température ambiante, l'absorbance a été relevée à 765 nm.
- ✓ Le même protocole a été appliqué aux extraits (1 mg d'extrait est dissous dans 1 mL de méthanol, prélèvement de 20 µL).
- ✓ Les résultats sont exprimés en µg d'acide gallique équivalent par mg d'extrait (µg EAG•mg⁻¹).

3.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

3.2.1. Le principe de la réaction :

Le dosage des flavonoïdes totaux repose sur la capacité des flavonoïdes présents dans l'extrait à former un complexe coloré avec l'aluminium (III) en milieu alcalin. Ce complexe stable présente une coloration jaune mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde spécifique (généralement 415 nm). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes totaux dans l'échantillon. Les résultats sont exprimés en équivalent quercétine (QE) par gramme d'extrait sec, en utilisant une courbe d'étalonnage réalisée avec une solution standard de quercétine (*Türkoğlu et al. 2007*).

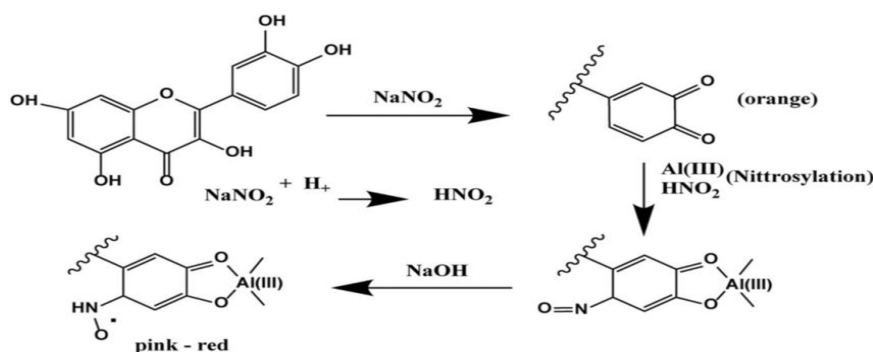


Figure 4 : Réaction de formation du complexe flavonoïde-chlorure d'aluminium (Shi *et al.*, 2022)

3.2.2. Protocole :

- ✓ Une solution mère de quercétine (0,4 mg/mL) a été préparée, suivie d'une série de dilutions (200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25 $\mu\text{g/mL}$).
- ✓ Pour chaque extrait (CHCl_3 , AcOEt , $n\text{-BuOH}$) une solution mère et une série de solutions diluées aux concentrations de 200, 100, 50, 25, 12,5 et 6,25 $\mu\text{g/mL}$ ont été préparées.
- ✓ Pour chaque dilution, 50 μL de chaque dilution ont été mélangés avec 20 μL de NaNO_2 , 20 μL d' AlCl_3 et 20 μL de NaOH .
- ✓ Après une incubation de 40 minutes, l'absorbance est relevée à 415 nm.
- ✓ Le protocole est identique pour les extraits : 1 mg d'extrait dans 1 mL de méthanol, prélèvement de 50 μL .
- ✓ La teneur en flavonoïdes est exprimée en μg équivalents de quercétine par mg d'extrait

3.3. Dosage des tanins hydrolysables

3.3.1. Le principe de la réaction

Le dosage des tanins hydrolysables repose sur leur capacité à réagir avec une solution alcaline de carbonate de potassium (K_2CO_3), formant un complexe coloré mesuré généralement à 760 nm. Ce test permet de quantifier la teneur en tanins hydrolysables dans les extraits végétaux (Hagerman, 2002).

3.3.2. Protocole

- ✓ Une courbe d'étalonnage est préparée à partir de solutions standard d'acide gallique à différentes concentrations.
- ✓ Pour chaque extrait (CHCl_3 , AcOEt, *n*-BuOH) une solution mère et une série de solutions diluées de concentrations (400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25) $\mu\text{g/mL}$ ont été préparées.
- ✓ Dans une microplaque de 96 puits, 50 μL d'extrait ou de solution étalon sont introduits dans chaque puits.
- ✓ On ajoute ensuite 150 μL de carbonate de potassium (K_2CO_3) à 2,5 %.
- ✓ Le mélange est incubé pendant 15 minutes à température ambiante.
- ✓ L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque.
- ✓ Les résultats sont exprimés en μg équivalents d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg).

3.4. Dosage des tanins condensés

3.4.1. Le principe de la réaction

Le dosage des tanins condensés repose sur leur capacité à former un complexe coloré avec la vanilline en milieu acide. La vanilline réagit spécifiquement avec les noyaux catécholiques des flavan-3-ols présents dans les tanins condensés, formant ainsi un complexe rouge mesurable par spectrophotométrie. Cette réaction est communément appelée réaction vanilline-HCl. L'intensité de la coloration rouge développée est proportionnelle à la concentration des tanins présents dans l'échantillon. La lecture se fait généralement à une longueur d'onde de 500 nm (*Broadhurst et Jones, 1978*).

3.4.2. Protocole

- ✓ Une solution mère de catéchine (standard) est préparée à une concentration de 4 mg/mL dans du méthanol. À partir de cette solution, une série de dilutions est réalisée aux concentrations suivantes : 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 et 200 $\mu\text{g/mL}$.
- ✓ La courbe d'étalonnage est obtenue en mélangeant pour chaque dilution : 500 μL de solution de catéchine, 3 mL de réactif de vanilline (1 % vanilline dans le méthanol), 1,5 mL d'acide chlorhydrique concentré (HCl, 8 % dans le méthanol)

- ✓ Le mélange est incubé à température ambiante pendant 20 minutes à l'obscurité.
- ✓ L'absorbance est mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- ✓ Pour les extraits végétaux : 4 mg de chaque extrait (CHCl_3 , AcOEt, *n*-BuOH) est dissous dans 1 mL de méthanol.
- ✓ 500 μL de cet extrait est ensuite traité de la même manière que le standard.
- ✓ Un blanc est préparé en remplaçant l'échantillon par 500 μL de méthanol.
- ✓ La teneur en tanins condensés est exprimée en équivalents catéchine ($\mu\text{g EC/mg}$ d'extrait) en se basant sur la courbe d'étalonnage.

4. Évaluation du pouvoir antioxydant

4.1. Test DPPH

4.1.1. Principe de la réaction

Le test DPPH repose sur la capacité des antioxydants présents dans un extrait à piéger le radical libre stable DPPH• (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle). Ce radical, de couleur violette en solution, présente une forte absorbance à 517 nm. Lorsqu'un antioxydant donne un électron ou un atome d'hydrogène au DPPH•, ce dernier est réduit et sa couleur vire au jaune pâle, entraînant une diminution de l'absorbance. Cette diminution est proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon. Le pourcentage d'inhibition est calculé pour chaque concentration testée, ce qui permet de déterminer l'IC₅₀, correspondant à la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux DPPH (Blois, 1958).

4.1.2. Protocole

- ✓ Une solution de DPPH est préparée et conservée à l'abri de la lumière.
- ✓ Une série de dilutions de chaque extrait (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625 $\mu\text{g/mL}$) est réalisée.
- ✓ Dans une microplaque 96 puits, 40 μL de chaque dilution sont mélangés avec 160 μL du DPPH.
- ✓ Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm.
- ✓ Le pourcentage d'inhibition est calculé, et la concentration d'extrait nécessaire pour atteindre 50 % d'inhibition (IC₅₀) est déterminée.

$$I\% = [(A_{DPPH} - A_{ECH}) / A_{DPPH}] \times 100$$

- I % :pourcentage d'inhibition
- A_{DPPH} :absorbance du contrôle négatif
- A_{ECH} : absorbance de l'échantillon.

4.2. Test ABTS

4.2.1. Le principe de la réaction

Le test ABTS repose sur la capacité des composés antioxydants à neutraliser le radical cationique $ABTS^{+}$ (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). Ce radical, formé par l'oxydation du ABTS avec un agent oxydant (généralement le persulfate de potassium), présente une coloration bleu-verte intense, avec une absorbance maximale à 734 nm. En présence d'antioxydants, ce radical est réduit, entraînant une diminution de l'absorbance. La baisse de l'intensité colorée est proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon (*Re et al., 1999*).

4.4.2. Protocole

- ✓ Le radical $ABTS^{+}$ est généré par la réaction de l'ABTS avec du persulfate de potassium, puis la solution est laissée réagir pendant 16 heures à l'abri de la lumière.
- ✓ Une série de dilutions de chaque extrait (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 $\mu\text{g/mL}$) est réalisée.
- ✓ 160 μL de solution $ABTS^{+}$ sont mélangés avec 40 μL d'extrait dans une microplaque.
- ✓ Après une incubation de 10 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 734 nm.
- ✓ L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition.

4.3. Test de la phénanthroline

4.3.1. Le principe de la réaction

La méthode de la phénanthroline repose sur la capacité des antioxydants à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). Ces derniers forment un complexe stable et coloré (rouge orangé) avec la phénanthroline, mesurable par spectrophotométrie à 510 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la capacité réductrice de l'échantillon, traduisant son activité antioxydante (*Szydlowska et al., 2008*)

4.3.2. Protocole

- ✓ Une solution de phénanthroline (0,5 %) est préparée en dissolvant 0,05 g dans 10 mL de méthanol.
- ✓ Une solution de chlorure ferrique (FeCl_3 à 0,2 %) est préparée en dissolvant 0,02 g dans 10 mL d'eau distillée.
- ✓ Une série de dilutions des extraits est préparée aux concentrations suivantes : 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, et 3,125 $\mu\text{g/mL}$.
- ✓ Dans chaque puits d'une microplaque de 96 puits, on introduit le mélange suivant :
 - 10 μL de l'extrait,
 - 30 μL de phénanthroline,
 - 110 μL de méthanol,
 - 50 μL de FeCl_3 .
- ✓ Le mélange est incubé pendant 20 minutes à 30°C.
- ✓ L'absorbance est mesurée à 510 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque.
- ✓ Un blanc est préparé en remplaçant l'extrait par du méthanol.
- ✓ Le pourcentage d'activité antioxydante est calculé à partir de la différence d'absorbance entre le témoin et l'échantillon selon la formule suivante :

$$I\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition

$A_{\text{témoin}}$: absorbance du contrôle négatif / A_{extrait} : absorbance de l'échantillon.

5. Évaluation des activités enzymatiques

5.1. Test de l'alpha-amylase

5.1.1. Le principe de la réaction

L'alpha-amylase est une enzyme digestive clé impliquée dans l'hydrolyse de l'amidon en sucres simples. L'inhibition de cette enzyme permet de ralentir l'absorption du glucose, ce qui constitue une stratégie efficace dans la gestion du diabète de type 2. Le test consiste à mesurer la diminution de l'activité enzymatique en présence d'extraits végétaux, à l'aide d'un dosage colorimétrique en utilisant l'iode (*Zengin et al., 2014*).

5.1.2. Protocole

- ✓ Une solution d'alpha-amylase (1 U/mL) est préparée dans un tampon phosphate(0,1 M ; pH 6,9).
- ✓ Les extraits sont dilués à différentes concentrations.
- ✓ Dans une microplaque, on mélange 25 µL de l'extrait avec 50 µL de la solution d'alpha-amylase, puis on incube à 37°C pendant 10 minutes.
- ✓ Ensuite, on ajoute 100 µL de solution d'amidon soluble (1 %) et on incube de nouveau 20 minutes.
- ✓ Pour arrêter la réaction et révéler l'amidon non hydrolysé, on ajoute 100 µL d'une solution d'iode (I₂/KI).
- ✓ L'absorbance est mesurée à 620 nm.
- ✓ Le blanc est préparé sans enzyme, et le contrôle sans extrait.
- ✓ Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule :

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

A_c : Absorbance (Amidon + IKI + HCl + volume de solvant d'extrait + volume de 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+125µL de tampon).

5.2. Test de l'acétylcholinestérase

5.2.1. Le principe de la réaction

L'inhibition de l'acétylcholinestérase est évaluée afin de mesurer l'effet des extraits sur l'enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine. La réduction de l'activité enzymatique est souvent déterminée par la formation d'un produit coloré après réaction avec l'acétylthiocholine (*Ellman et al., 1961*).

5.2.2. Protocole

- ✓ Une solution de l'enzyme acétylcholinestérase et du substrat acétylthiocholine iodure est préparée.
- ✓ Pour chaque extrait (CHCl_3 , AcOEt, *n*-BuOH) une solution mère et une série de solutions diluées de concentrations (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125) $\mu\text{g/mL}$ ont été préparées.
- ✓ Des dilutions d'extraits sont incubées avec l'enzyme, puis le substrat est ajouté.
- ✓ La formation du produit coloré est mesurée à une longueur d'onde appropriée (souvent autour de 412 nm).
- ✓ Le pourcentage d'inhibition est déterminé en comparant l'absorbance des échantillons traités à celle d'un contrôle sans extrait.

6. Activité anti-inflammatoire

6.1. Le principe de la réaction

L'activité anti-inflammatoire des extraits est évaluée *in vitro* par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. Les agents inflammatoires induisent souvent la dénaturation de l'albumine bovine, et la capacité d'un extrait à inhiber ce phénomène est utilisée comme indicateur de son potentiel anti-inflammatoire (*Kandikattu et al., 2013*) avec modification.

6.2. Protocole

➤ Préparation des solutions :

- ✓ Solution tampon Tris-HCl 0,05 M, pH 6,6 : 1,2144 g de Tris ont été dissous dans 200 mL d'eau bidistillée. Le pH a été ajusté à 6,6 à l'aide d'acide chlorhydrique.
- ✓ Solution de BSA à 0,2 % : 0,2 g de BSA ont été dissous dans 100 mL de solution de Tris-HCl.
- ✓ Préparation des extraits : différentes concentrations ont été préparées à partir d'une solution mère 16mg/mL.
- ✓ Solutions standard (diclofénac sodique): préparer différentes concentrations à partir d'une solution mère à 500 ppm.
- ✓ Blanc d'extrait : 1 mL d'extrait + 1 mL de tampon Tris-HCl (sert à corriger l'absorbance spécifique de l'extrait).
- ✓ Blanc BSA : 1 mL de BSA 0,2 % + 1 mL de solvant (évalue la dénaturation totale de la BSA sans inhibiteur).

➤ Procédure :

- ✓ La solution d'albumine bovine préparée est mélangée avec différentes concentrations d'extrait.
- ✓ Le mélange est chauffé à une température déterminée (70 °C pendant 10 minutes) afin d'induire la dénaturation.
- ✓ Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 660 nm.
- ✓ Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation est calculé en comparant l'absorbance des échantillons à celle d'un contrôle (albumine sans extrait).

Calcul du pourcentage d'inhibition :

$$I\% = [(Absorbance\ du\ témoin - Absorbance\ de\ l'échantillon) / Absorbance\ du\ témoin] \times 100$$

- Absorbance du contrôle = absorbance du blanc BSA
- Absorbance corrigée de l'échantillon = absorbance corrigée de l'extrait ou du standard
- L'absorbance du témoin correspond à la valeur obtenue sans extrait végétal (contrôle sans extrait).

7. L'activité antibactérienne

7.1. Le principe de l'activité antibactérienne (méthode des puits)

Nous avons étudié l'activité antibactérienne en suivant la méthode de diffusion en milieu solide. Cet essai a été mené au laboratoire de génie microbiologique et application.

La mise en évidence de l'activité antibactérienne des extraits de la plante saharienne du genre *Achillea* a été réalisée par la méthode des puits à l'aide de billes de verre (Boudmeh et al., 2013). Cette technique permet d'estimer le pouvoir inhibiteur d'un extrait en mesurant la zone d'inhibition de croissance bactérienne autour de la source d'extrait diffusé dans le milieu solide.

7.2. Protocole

➤ Souches bactériennes testées :

Deux souches bactériennes ont été utilisées :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positif),
- Une souche du genre *Bacillus subtilis* (ATCC 6633).

➤ Préparation du milieu et de l'inoculum :

Le milieu utilisé est Mueller-Hinton, ce dernier est fondu puis coulé dans chaque boîte de Pétri stérile. Après solidification, les boîtes sont pré-séchées à 37 °C avant utilisation. L'inoculum a été préparé à partir de cultures bactériennes jeunes (18 h à 37°C). Quatre colonies isolées ont été suspendues dans de l'eau physiologique stérile jusqu'à obtention d'une turbidité équivalente à 0,5 unité McFarland ($\approx 1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

➤ Ensemencement :

Le semis en surface a été effectué à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de l'inoculum. La surface entière de milieu a été ensemencée selon la méthode des trois quadrants afin d'obtenir un tapis bactérien homogène.

➤ Réalisation des puits :

Chaque boîte de Pétri a été divisée en quatre quarts, un par extrait. Trois puits ont été réalisés dans chaque quart à l'aide de billes de verre stérilisées, correspondant aux trois concentrations des extraits. Après solidification complète du milieu, les billes ont été retirées aseptiquement à l'aide d'une pince stérile.

➤ **Dépôt des extraits :**

Dans chaque puits, 15 μL de l'extrait correspondant ont été déposés à l'aide d'une micropipette stérile calibrée. Ainsi, pour chaque extrait, trois concentrations ont été testées dans des puits distincts sur la même boîte.

➤ **Incubation et lecture :**

Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne s'est manifestée par la formation de zones d'inhibition circulaires de croissance bactérienne autour des puits. Les diamètres ont été mesurés avec une règle en mm.

Résultats

Et

Discussions

Chapitre III : Résultats et discussions

1. Résultats du screening phytochimique

Les résultats rassemblés dans les tableaux 2, 3 et 4 sont obtenus après la réalisation des tests phytochimique des trois extraits, selon les protocoles cités dans la partie précédente au niveau de l'unité *VARENBIOMOL*. Ces résultats sont classés en fonction des différents critères d'observation :

- Réaction très positive +++ : présence confirmée.



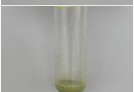
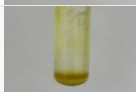
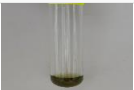

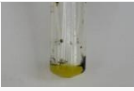






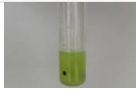
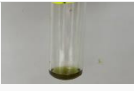



- Réaction positive ++ : présence modérée.

- Réaction positive + : présence en tant que trace.

- Réaction négative - : absence.

1.1. Résultats du screening chimique de la phase chloroformique

Tableau 2: Résultats du screening chimique de la phase chloroformique

Les métabolites secondaires	Observation		Résultats Extrait CHCl ₃
	Avant	Après	
Stérols			+++
Saponosides			–
Flavonoïdes			+
Alcaloïdes			–
Tanins			–
Terpènes			–
Protéines			–
Sucre			–
Anthraquinones			–

- **Stérols**

Le test de détection des stérols a donné une réaction fortement positive, indiquant une présence importante de ces composés dans la phase chloroformique. Les stérols, sont des substances lipophiles, sont bien extraites par les solvants organiques apolaires tels que le chloroforme. Leur abondance dans cet extrait suggère un potentiel pharmacologique, notamment en matière d'activités anti-inflammatoires, hypocholestérolémiques ou anticancéreuses.

- **Saponosides**

Les saponosides n'ont pas été détectés dans la phase chloroformique. Ce résultat est cohérent avec leur nature hydrophile et leur structure glycosidique, qui les rend préférentiellement solubles dans les solvants polaires comme l'éthanol ou l'eau. Le chloroforme, de polarité faible, ne permet donc pas leur extraction efficace.

- **Flavonoïdes**

Une réaction légèrement positive a été observée au test de Shinoda, indiquant une faible présence de flavonoïdes. Bien que ces composés soient généralement mieux extraits par des solvants polaires, certains flavonoïdes contenant peu de groupes hydroxyles ou méthoxyles peuvent présenter une certaine affinité pour des solvants moins polaires comme le chloroforme. Cette observation justifie leur détection partielle dans cet extrait.

- **Alcaloïdes**

Le test de dépistage des alcaloïdes a donné un résultat négatif. Les alcaloïdes étant des bases azotées, leur extraction nécessite en général des solvants polaires ou légèrement acides. L'absence de ces composés dans l'extrait chloroformique s'explique donc par l'inadéquation de ce solvant à leur solubilisation.

- **Tanins**

Les tanins n'ont pas été révélés dans l'extrait chloroformique. Il s'agit de polyphénols de haut poids moléculaire, connus pour leur bonne solubilité dans des solvants polaires tels que l'eau ou l'éthanol. Leur absence dans cette phase confirme l'incompatibilité du chloroforme pour leur extraction.

- **Terpènes**

Malgré leur nature lipophile, les terpènes n'ont pas été détectés dans la fraction chloroformique. Cette absence pourrait résulter soit d'une concentration inférieure au seuil de détection, soit d'une absence réelle dans l'échantillon analysé.

- **Protéines**

Le test protéique est négatif, ce qui est attendu. Les protéines sont de grosses molécules solubles dans l'eau et ne sont pas extraites par des solvants organiques non polaires. Ce résultat confirme que l'étape au chloroforme n'est pas adaptée à l'extraction des protéines.

- **Sucres**

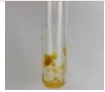
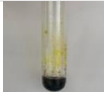






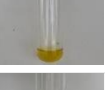
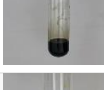
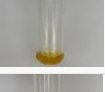
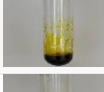
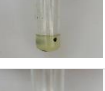
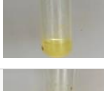
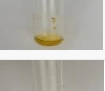



Les sucres n'ont pas été détectés dans l'extrait chloroformique. Compte tenu de leur polarité élevée, ils sont habituellement extraits dans des milieux aqueux ou dans des solvants polaires. Leur absence ici confirme l'exclusion des composés hydrophiles lors de l'extraction au chloroforme.

- **Anthraquinones**

Le test de dépistage des anthraquinones a donné un résultat négatif. Les anthraquinones sont des composés aromatiques oxygénés, généralement solubles dans des solvants organiques polaires à semi-polaires comme l'éthanol, le méthanol ou l'acétate d'éthyle. Leur nondétection dans l'extrait chloroformique peut être expliquée par leur faible affinité pour ce solvant apolaire. En outre, leur présence dans la plante étudiée pourrait être marginale ou concentrée dans d'autres fractions plus polaires.

1.2. Résultats du screening chimique de la phase d'acétate d'éthyle

Tableau 3: Résultats du screening chimique de la phase acétate d'éthyle

Les métabolites secondaires	Observation		Résultats Extrait AcOEt
	Avant	Après	
Stérols			+++
Saponosides			–
Flavonoides			+++
Alcaloides			++
Tanins			+
Terpènes			–
Protéines			–
Sucre			++
Anthraquinones			+

L'analyse phytochimique de l'extrait acétate d'éthyle a révélé la présence ou l'absence de plusieurs métabolites secondaires. Chaque résultat est discuté individuellement ci-dessous, en fonction de la réactivité observée dans les tests qualitatifs.

- **Stérols**

Le test de détection des stérols a révélé une réaction fortement positive, traduisant une concentration significative de ces composés dans cet extrait. Les stérols, appartenant à la famille des lipides, sont connus pour leur rôle dans la régulation de la fluidité membranaire et leurs effets potentiels hypocholestérolémiants.

- **Saponosides**

Aucune réaction n'a été observée pour les saponosides, suggérant soit leur absence dans l'extrait étudié, soit une concentration trop faible pour être détectée. Ce résultat peut également s'expliquer par la polarité plus élevée de ces composés, qui les rend généralement plus solubles dans des solvants aqueux ou hydro-alcooliques que dans l'acétate d'éthyle.

- **Flavonoïdes**

Le test de Shinoda a donné une réponse très positive, confirmant une richesse notable en flavonoïdes dans l'extrait AcOEt. Ces composés phénoliques sont bien connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses. L'acétate d'éthyle est un solvant approprié pour l'extraction de flavonoïdes aglycones, ce qui justifie leur présence marquée dans l'extrait.

- **Alcaloïdes**

La détection des alcaloïdes a donné un résultat modérément positif. Ces composés azotés sont généralement bioactifs et peuvent présenter des propriétés pharmacologiques intéressantes, telles que des effets analgésiques, antiparasitaires ou neuroactifs. Leur extraction partielle par l'acétate d'éthyle est compatible avec la diversité de leurs structures et de leur polarité.

- **Tanins**

Les tanins ont été faiblement détectés, ce qui peut s'expliquer par leur nature hautement polaire, rendant leur solubilité dans l'acétate limitée. Cependant, même en petites quantités, leur présence peut contribuer à des propriétés biologiques telles que l'activité antioxydante ou astringente.

- **Terpènes**

Les terpènes n'ont pas été détectés dans cet extrait. Ce résultat peut être attribué à leur caractère très lipophile, qui nécessite des solvants non polaires comme l'hexane pour une extraction

efficace. Par conséquent, leur absence dans cet extrait ne signifie pas son absence dans la plante d'origine.

- **Protéines**

Le test de détection des protéines s'est révélé négatif, ce qui était attendu, car les protéines, de nature très polaire et de haut poids moléculaire, ne sont pas solubles dans l'AcOEt. Ce résultat confirme la spécificité de cette extraction vis-à-vis les métabolites secondaires de faible masse molaire.

- **Sucres**












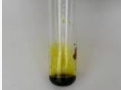
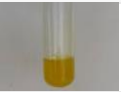

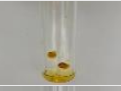



Les sucres ont été détectés de manière modérée. Bien que ces composés soient généralement hydrophiles, la présence de sucres faiblement polaires ou associés à d'autres structures (par exemple sous forme de glycosides) pourrait justifier leur solubilité partielle dans l'AcOEt.

- **Anthraquinones**

Le test des anthraquinones a révélé une faible présence de ces composés.

1.3 Résultats du screening chimique de la phase butanolique

Tableau 4 : Résultats du screening chimique de la phase butanolique

Les métabolites secondaires	Observation		Résultats Extrait <i>n</i> -BuOH
	Avant	Après	
Stérols			+++
Saponosides			—
Flavonoïdes			+++
Alcaloïdes			++
Tanins			+
Terpènes			—
Protéines			—
Sucre			++
Anthraquinones			++

- **Stérols**

Le test de détection des stérols s'est révélé fortement positif, traduisant une présence marquée de ces composés. Les stérols sont des lipides complexes jouant un rôle crucial dans la stabilité membranaire des cellules. Ils sont également reconnus pour leurs propriétés hypocholestérolémique, anti-inflammatoires et immunomodulatrices. La présence de ces composés peut contribuer aux propriétés biologiques de cet extrait, telles que l'activité anti-inflammatoire.

- **Saponosides**

Aucune réaction n'a été observée pour les saponosides, indiquant son absence apparente ou sa concentration insuffisante pour être détectée par les méthodes utilisées.

- **Flavonoïdes**

Le test de Shinoda a mis en évidence une abondance élevée de flavonoïdes dans cet extrait. Ces composés phénoliques sont réputés pour leurs effets antioxydants puissants, ainsi que pour leurs activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Ce résultat suggère un potentiel bioactif significatif de l'extrait.

- **Alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont été détectés à un niveau modéré, traduisant la présence de composés azotés bioactifs. Ces substances sont connues pour leurs propriétés pharmacologiques diverses : analgésiques, stimulantes ou encore antiparasitaires. Leur extraction partielle par le butanol s'explique par leur polarité intermédiaire et leur affinité pour les solvants polaires organiques.

- **Tanins**

Les tanins ont été faiblement détectés, ce qui indique une présence modeste. Ces polyphénols sont en général très solubles dans les solvants polaires, mais leur faible abondance ici pourrait résulter d'une répartition préférentielle dans les phases plus hydrophiles. Malgré leur faible concentration, les tanins peuvent tout de même contribuer à l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait.

- **Terpènes**

Le test des terpènes a donné un résultat négatif, suggérant une absence de ces composés dans l'extrait butanolique. Les terpènes, en raison de leur nature très lipophile, sont généralement extraits par des solvants apolaires comme l'hexane ou le chloroforme. Leur non-détection ici est donc cohérente avec leur faible affinité pour le butanol.

- **Protéines**

Aucune trace de protéines n'a été détectée. Cela est attendu, car les protéines, en raison de leur masse molaire élevée et de leur structure tridimensionnelle et leur solubilité restreinte, sont peu solubles dans les solvants organiques comme le butanol. Elles nécessitent des milieux très polaires, souvent aqueux, pour être extraites et détectées.

- **Sucres**

Le test des sucres a révélé une présence modérée, ce qui peut être attribué à l'extraction de certains sucres simples ou d'oligosaccharides faiblement polaires. Le butanol étant un solvant polaire organique, il permet l'extraction de sucres ayant une affinité modérée avec des solvants organiques ou associés à d'autres structures organiques comme les glycosides.

- **Anthraquinones**

Le test de détection des anthraquinones a donné un résultat modérément positif, suggérant une présence significative de ces composés dans l'extrait butanolique. Les anthraquinones sont particulièrement reconnues pour leurs propriétés laxatives, antibactériennes, antifongiques, antitumorales et antioxydantes. L'extraction efficace de ces composés à l'aide du *n*-butanol peut s'expliquer par leur structure relativement polaire, en particulier lorsqu'elles sont présentes sous forme de glycosides. Cette solubilité justifie leur migration

vers la phase butanolique lors du fractionnement. La détection positive des anthraquinones dans l'extrait étudié renforce l'intérêt pharmacologique de la plante, notamment pour ses potentiels effets laxatifs et antimicrobiens potentiels. Cependant, il est important de rappeler que certaines anthraquinones peuvent être irritantes ou toxiques à fortes doses, ce qui implique une évaluation rigoureuse de leur profil toxicologique dans une perspective de développement thérapeutique.

2. Analyse quantitative

2.1. Résultats de dosage des polyphénols et des flavonoïdes

Une droite d'étalonnage est réalisée avec de l'acide gallique dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser.

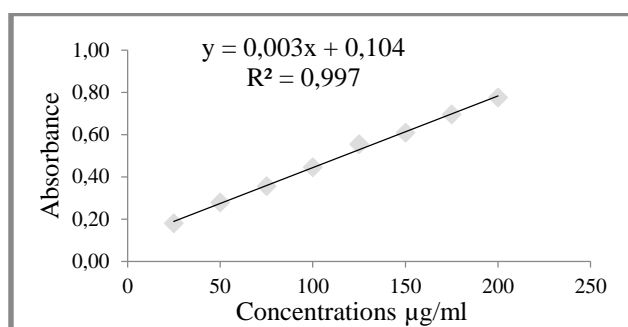


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux estimée pour chaque extrait est calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en microgrammes en acide gallique par milligramme.

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard (la quercétine).

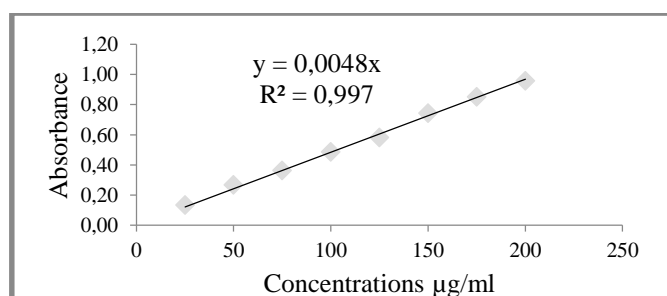


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et a été exprimée en microgrammes équivalent en quercétine par milligramme d'extrait.

La teneur en polyphénols et en flavonoïdes de chaque extrait est représentée dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes.

Extrait	CHCl ₃	AcOEt	<i>n</i> -BuOH
Teneur en polyphénols (µgEAG / mg)	163,42±0,23	180,22±0,11	450,23±0,25
Teneur en flavonoïdes (µg EQ / mg)	65,23±1,03	67,12±1,24	333,24±0,96

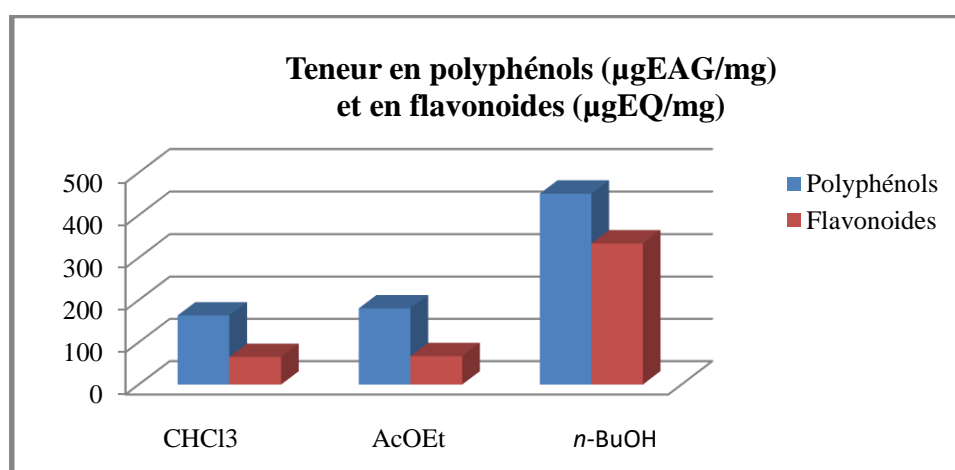


Figure 7 : L'histogramme représente la quantité des polyphénols et des flavonoïdes en (µg) dans les trois extraits.

- Le dosage des polyphénols totaux a montré que l'extrait butanolique possède la teneur la plus élevée ($450,23 \pm 0,25 \mu\text{g EAG/mg}$), suivi de l'extrait acétate d'éthyle ($180,22 \pm 0,11 \mu\text{g EAG/mg}$) et enfin l'extrait chloroformique ($163,42 \pm 0,23 \mu\text{g EAG/mg}$).
- Concernant les flavonoïdes, l'extrait butanolique présente également la concentration la plus importante ($333,24 \pm 0,96 \mu\text{g EQ/mg}$), suivi respectivement par les extraits acétate d'éthyle ($67,12 \pm 1,24 \mu\text{g EQ/mg}$) et l'extrait chloroformique présente une teneur faible en composés phénoliques ($65,23 \pm 1,03 \mu\text{g EQ/mg}$). Ces résultats confirment la richesse en composés antioxydants des extraits polaires.

2.2. Résultats de dosage des tanins

2.2.1. Résultats du dosage des tanins hydrolysables

La quantification des tanins hydrolysables a été réalisée à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec une solution standard de l'acide gallique (la courbe précédente ; figure 5), permettant ainsi d'estimer la teneur en tanins condensés dans chacun des extraits analysés en microgrammes en acide gallique par milligramme d'extrait.

Tableau 6 : Résultats du dosage des tanins hydrolysables

Extrait	CHCl ₃	AcOEt	<i>n</i> -BuOH
Tanins hydrolysables (μ gEAG /mg)	6,8 \pm 0,3	>50	>35

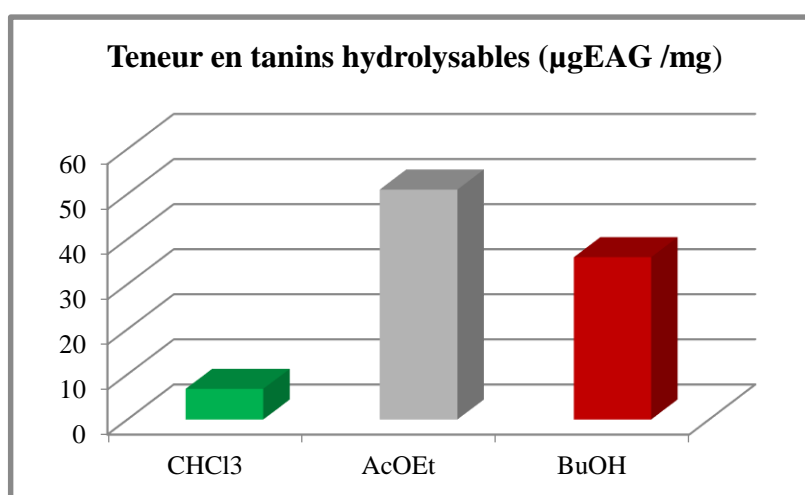


Figure 8 : Histogramme représente la teneur des tanins hydrolysables en (μ gEAG /mg) dans les trois extraits.

Le tableau ci-dessus montre les résultats des dosages de tanins hydrolysables à partir d'extraits obtenus à l'aide de solvants organiques de polarité croissante : chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol. L'analyse montre une différence marquée dans la teneur en tanins selon les extraits.

- La teneur totale en tanins hydrolysables a montré que l'espèce étudiée présente une teneur élevée en ces composés pour l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait butanoïque avec un taux plus élevé pour l'extrait acétate supérieur à 50 μ gEAG /mg, tandis que

l'extrait chloroformique présente une faible teneur en ces composés avec un taux de $6,8 \pm 0,3 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$.

2.2.1. Résultats du dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été réalisée à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec une solution standard de catéchine, permettant ainsi d'estimer la teneur en tanins condensés dans chacun des extraits analysés.

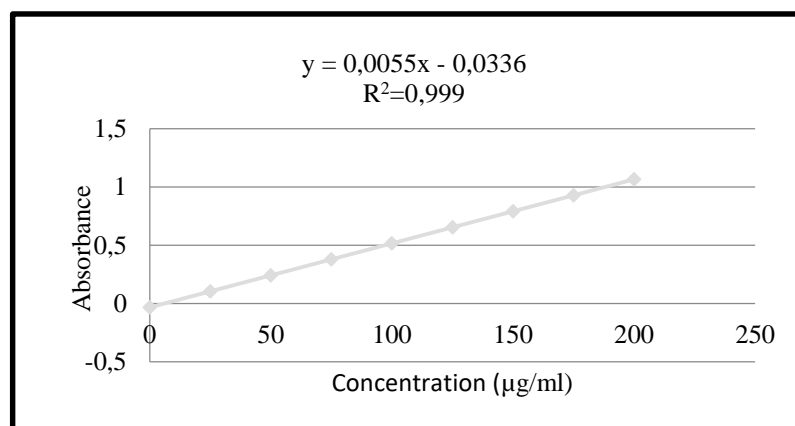


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/mg}$) et sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7: Résultats du dosage des tanins condensés

Extrait	CHCl_3	AcOEt	<i>n</i> -BuOH
Tanins condensés			
($\mu\text{g EC/mg}$)	$28 \pm 1,5$	$>60 \mu\text{g EC} / \text{mg}$	$40 \pm 2,3 \mu\text{g EC} / \text{mg}$

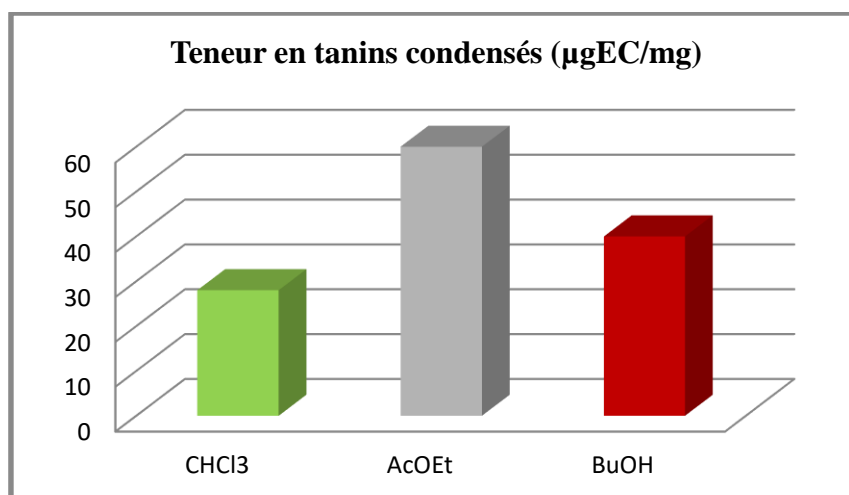


Figure 10 : L'istogramme représente la teneur des tanins condensés en µg EC /mg dans les trois extraits.

➤ Le taux calculé de tanins condensés a montré que les trois extraits contenaient une concentration élevée de ces composés . Pour l'extrait de chloroforme, le taux était de $28 \pm 1,5$ µg EC/mg, pour l'extrait d'acétate d'éthyle, la teneur était supérieure à 50 µg EC/mg et pour l'extrait butanolique, le taux était égal à $40 \pm 2,3$ µg EC/mg.

3. Résultats des activités biologiques

3.1 Résultats des activités antioxydantes

3.1.1 Résultat du test DPPH

Dans cet essai, l'activité anti-radicalaire des trois extraits CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH a été évaluée en mesurant les concentrations inhibitrices à 50 % (IC₅₀) selon la formule décrite dans la partie précédente, en fonction de la capacité de réduction du radical DPPH comparée au standard antioxydant (BHA). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau :

Tableau 8 : Inhibition du radical DPPH par les extraits CHCl₃, AcOEt, *n*-BuOH

Concentration Extraits (µg/mL)	% d'inhibition							IC ₅₀ (µg/mL)
	1,5625 µg	3,125 µg	6,25 µg	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	
CHCl₃	NA	6,84±1,40	11,93±2,03	25,94±3,23	51,05±1,30	77,47±0,55	80,16±1,55	34,35±0,21
AcOEt	NA	NA	7,53±0,30	24,34±7,05	49,68±4,31	76,67±2,09	78,04±0,51	37,34±0,82
<i>n</i>-BuOH	9,42±1,95	13,71±5,29	32,12±5,58	69,29±4,72	74,67±1,24	76,27±0,65	78,10±0,60	6,29±0,47
BHA	22,21±1,24	31,73±1,22	54,89±3,60	67,60±1,13	76,77±0,54	78,67±1,31	79,01±0,89	5,73±0,41

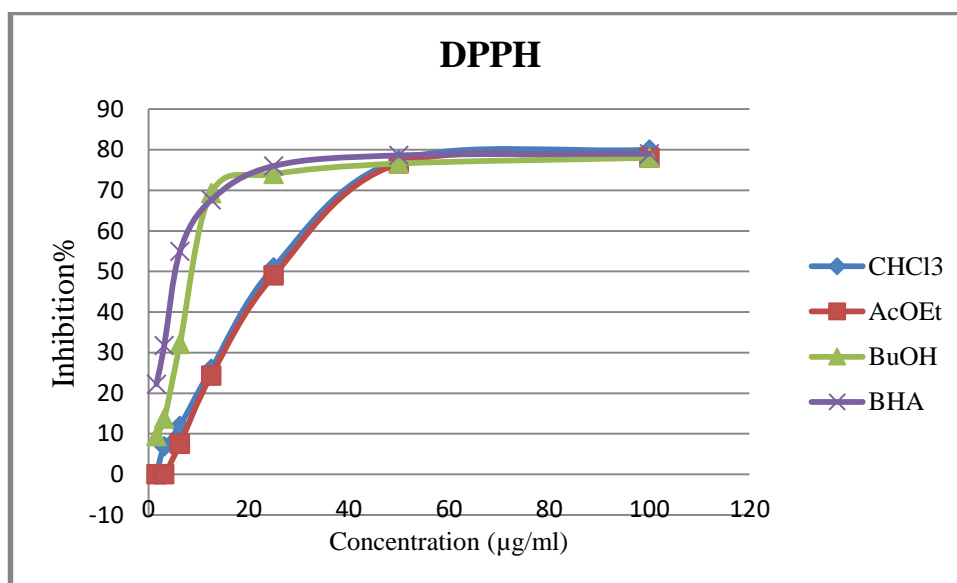


Figure 11: Courbe d'inhibition des trois extraits (test DPPH).

L'évaluation du potentiel antioxydant par la méthode DPPH a mis en évidence une activité antioxydante élevée de l'extrait butanolique, avec une valeur d' IC_{50} de $6,29 \pm 0,47 \mu\text{g/mL}$, très proche de celle du standard BHA ($5,73 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$). Cette similitude indique une forte capacité de neutralisation des radicaux libres par l'extrait.

À l'inverse, les extraits chloroformique et acétate d'éthyle ont montré une efficacité inférieure, avec des IC_{50} de $34,35 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$ et $37,34 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$, respectivement, indiquant une activité antioxydante modérée.

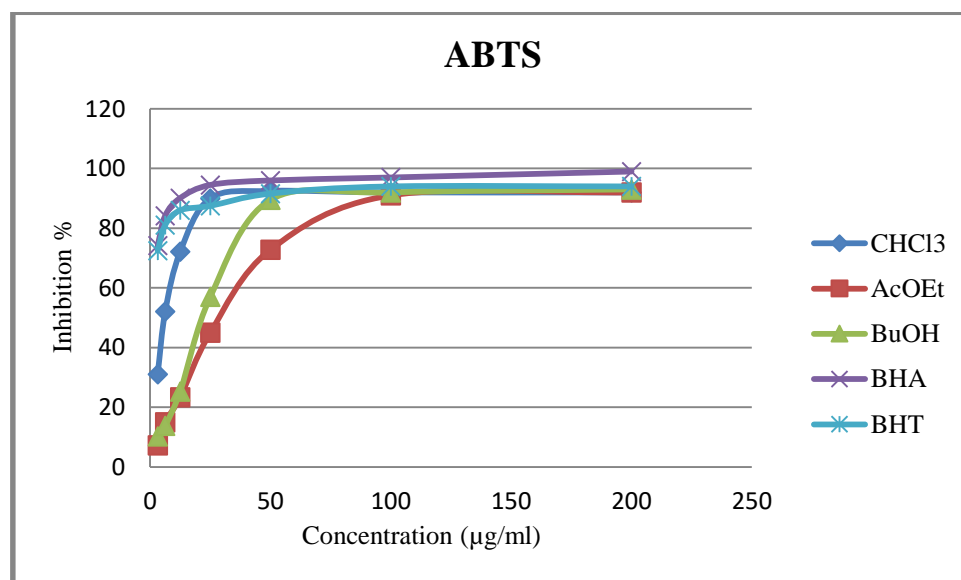
Comme illustré dans la courbe représentative du pouvoir d'inhibition (figure 11), l'extrait butanolique atteint rapidement un taux élevé d'inhibition, comparable à celui du BHA, dès les faibles concentrations. Cette dynamique confirme la présence probable de composés réducteurs puissants dans cet extrait.

3.1.2 Résultat du test ABTS

Dans ce test l'antioxydant réagit avec le cation radical $ABTS^{+}$, de couleur bleue, où les électrons sont transférés pour former $ABTSH^{+}$, qui est incolore. La réduction est mesurée et permet de déterminer la concentration inhibitrice des extraits testés, par rapport aux standards tels que le BHT et le BHA. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 9.

Tableau9: Inhibition du cation $ABTS^{+}$ par les extraits $CHCl_3$, AcOEt, n -BuOH

Concentration Extraits ($\mu\text{g/mL}$)	% d'inhibition							IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	
$CHCl_3$	31,13 \pm 3,04	52,1 \pm 1,77	72,17 \pm 0,38	90,04 \pm 1,04	92,53 \pm 0,57	92,31 \pm 1,11	92,48 \pm 0,94	17,93 \pm 0,27
AcOEt	7,23 \pm 1,00	15,08 \pm 1,89	23,49 \pm 1,30	45,29 \pm 1,66	72,89 \pm 0,77	91,04 \pm 2,46	92,20 \pm 1,48	31,31 \pm 0,85
n-BuOH	10,27 \pm 2,59	13,87 \pm 1,96	25,32 \pm 9,41	57,24 \pm 3,22	89,54 \pm 2,88	92,64 \pm 0,69	93,09 \pm 0,25	16,93 \pm 0,46
BHA	83.42 \pm 4.09	93.52 \pm 0.09	93.58 \pm 0.09	93.63 \pm 0.16	93.63 \pm 0.95	94.20 \pm 0.90	95.39 \pm 2.62	1.81 \pm 0.10
BHT	72.52 \pm 0.81	59.22 \pm 0.59	78.55 \pm 3.43	90.36 \pm 0.00	92.18 \pm 1.27	93.37 \pm 0.86	94.87 \pm 0.87	1.24 \pm 0.00

**Figure 12 :** Courbe représentative du pouvoir d'inhibition des trois extraits par le test ABTS.

Le test ABTS a permis de mettre en évidence une activité antioxydante significative pour les trois extraits étudiés. L'extrait butanolique s'est révélé le plus actif, affichant la plus faible valeur d'IC₅₀ = 16,93 \pm 0,46 $\mu\text{g/mL}$, suivi des extraits chloroformique (17,93 \pm 0,27 $\mu\text{g/mL}$) et acétate d'éthyle (31,31 \pm 0,85 $\mu\text{g/mL}$). Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus lors du test DPPH.

La courbe d'inhibition radicalaire ABTS•⁺ (Figure 12) montre que les deux extraits, butanolique et chloroformique atteignent rapidement un taux d'inhibition élevé similaire à celui du BHA et du BHT à des concentrations élevées.

Les standards BHA et BHT ont, quant à eux, présenté une activité antioxydante nettement supérieure, avec des valeurs d'IC₅₀ respectives de $1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$ et $1,24 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$. Ces résultats soulignent non seulement la puissance antioxydante de ces références, mais également la sensibilité et la fiabilité du test utilisé.

Bien que moins puissants que les standards de référence, les extraits naturels testés démontrent une capacité appréciable à neutraliser le radical ABTS•⁺, notamment les fractions butanolique et chloroformique. Ces observations suggèrent la présence de composés phénoliques ou d'autres métabolites secondaires bioactifs dans ces extraits, contribuant à leur activité antioxydante.

3.1.3 Résultat du test Phénanthroline

Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le Fe³⁺ en Fe²⁺ qui ensuite réagit avec la phénanthroline pour donner un complexe de couleur rouge-orangé, et qui absorbe à 510 nm. Les résultats obtenus avec les trois extraits sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 10: Absorbance du complexe Fe²⁺-phénanthroline des trois extraits

Concentration ($\mu\text{g/mL}$) Extraits	Absorbance							A _{0.5}
	0.78125	1.5625	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	A _{0.5} ($\mu\text{g/mL}$)
CHCl ₃	NA	NA	0,36±0,02	0,42±0,03	0,54±0,01	0,76±0,1	1,07±0,02	10,35±0,45
AcOEt	NA	NA	0,33±0,01	0,36±0,01	0,48±0,04	0,64±0,02	0,99±0,08	14,86±0,64
<i>n</i> -BuOH	NA	NA	0,37±0,02	0,46±0,03	0,75±0,25	1,04±0,09	1,69±0,12	6,19±0,82
BHA	0,49±0,01	0,59±0,01	0,73±0,02	0,93±0,01	1,25±0,04	2,10±0,05	4,89±0,06	0,93±0,07
BHT	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01	2,24±0,17

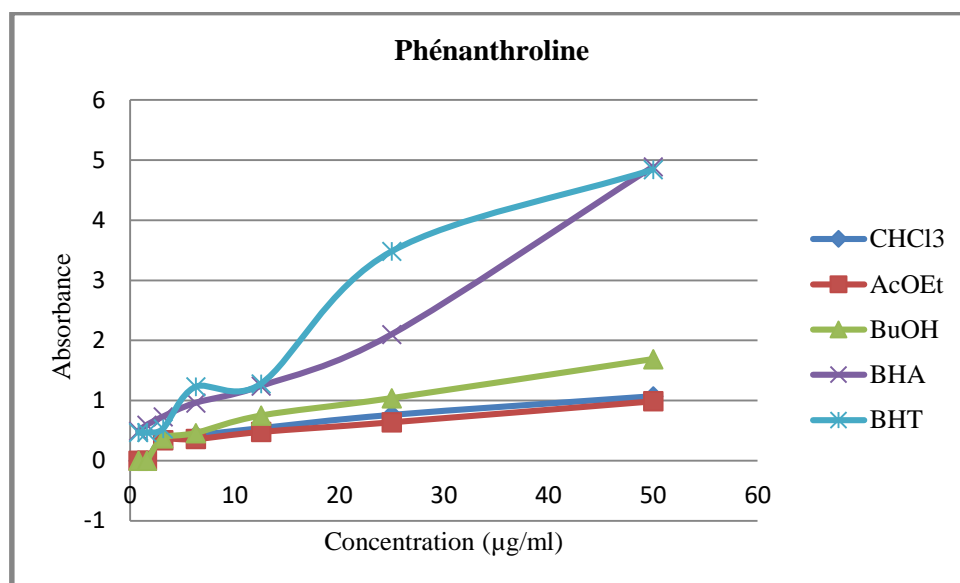


Figure 13: Courbe représentant les absorbances des différents standards et extraits (phénanthroline)

Nos résultats obtenus par la méthode du complexe fer(III)-phénanthroline confirment l'activité antioxydante des extraits testés, avec une efficacité variable selon les extraits. L'extrait au *n*-butanol s'est révélé le plus actif, avec une valeur de $A_{0,50} = 6,19 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$, suivi de l'extrait chloroformique ($10,35 \pm 0,45 \mu\text{g/mL}$) et de l'extrait acétate d'éthyle ($14,86 \pm 0,64 \mu\text{g/mL}$).

Ces valeurs indiquent une capacité réductrice importante, notamment pour l'extrait butanolique, et ces résultats peuvent être attribués à la richesse de cet extrait en composés phénoliques et flavonoïdes.

3.2. Résultats des activités enzymatiques

3.2.1. Résultats du test d'inhibition de l' α -amylase (antidiabétique)

Les résultats de l'activité alpha amylase sont illustrés ci-dessous :

Tableau 11: Résultats des IC_{50} des extraits et standards obtenus avec le test alpha amylase.

% d'inhibition du test alpha amylase								
Extraits	6,25 μ g	12,5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g	200 μ g	400 μ g	IC_{50} (μ g/mL)
$CHCl_3$	27,83 \pm 1,90	28,09 \pm 1,71	16,95 \pm 1,60	5,01 \pm 0,56	3,35 \pm 0,28	2,24 \pm 0,26	NA	>400
AcOEt	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>n</i> -BuOH	2,37 \pm 0,22	1,15 \pm 0,14	1,58 \pm 0,05	1,19 \pm 0,22	1,09 \pm 0,089	1,58 \pm 0,32	1,36 \pm 0,43	>400
Acarbose	62,5 μ g	125 μ g	250 μ g	500 μ g	1000 μ g	2000 μ g	4000 μ g	IC_{50} (μ g/mL)
	7,76 \pm 0,17	8,08 \pm 0,30	9,46 \pm 0,11	10,70 \pm 0,96	31,81 \pm 2,89	37,21 \pm 3,54	53,05 \pm 1,59	3650,93 \pm 10,70

Nos résultats indiquent que l'activité antidiabétique évaluée par l'inhibition de l'enzyme α -amylase est très faible pour l'ensemble des extraits testés. L'extrait chloroformique ainsi que l'extrait butanolique présentent des valeurs d' IC_{50} supérieures à 400 μ g/mL, traduisant une faible capacité inhibitrice. L'extrait acétate d'éthyle ne montre aucune activité détectable dans les conditions expérimentales.

À titre comparatif, le standard Acarbose affiche une IC_{50} = 3650,93 \pm 10,70 μ g/mL, confirmant la validité du test et soulignant l'écart d'efficacité entre les extraits végétaux et le composé de référence.

Ainsi, aucun des extraits testés ne présente une inhibition significative comparable à celle de l'Acarbose. Les faibles activités observées pour les deux extraits, chloroformique et butanolique suggèrent soit une absence de composés bioactifs capables d'inhiber l' α -amylase, soit une concentration insuffisante de ces composés dans les extraits obtenus.

Ces résultats mettent en évidence la faible potentialité antidiabétique des extraits dans ce modèle enzymatique, et indiquent qu'ils ne constituent pas une source prometteuse d'inhibiteurs de l' α -amylase, du moins dans les conditions et les concentrations testées.

3.2.2. Résultats du test anticholinestérasique (anti-Alzheimer)

Tableau 12: Résultat de l'activité anti-cholinestérase des trois extraits

Concentration	% d'inhibition du test anticholinestérase (Acetylcholinestérase)							
	3,125 µg	6,25 µg	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/mL
CHCl ₃	0,85±0,21	0,86±0,11	0,95±0,17	0,77±0,89	0,63±0,28	0,39±0,21	0,15±0,44	NA
AcOEt	1,06±0,74	0,88±0,46	1,08±0,13	0,42±0,54	0,72±0,11	0,73±0,51	0,68±0,15	NA
<i>n</i> -BuOH	1,01±0,25	0,93±0,23	0,96±0,56	1,09±0,19	1,02±0,24	1,17±0,19	1,16±0,31	NA
Galantamine	35,93 ±2,28	43,77 ±0,00	68,50 ±0,31	80,69 ±0,41	85,78 ±1,63	91,80 ±0,20	94,77 ±0,34	6.27±1.15

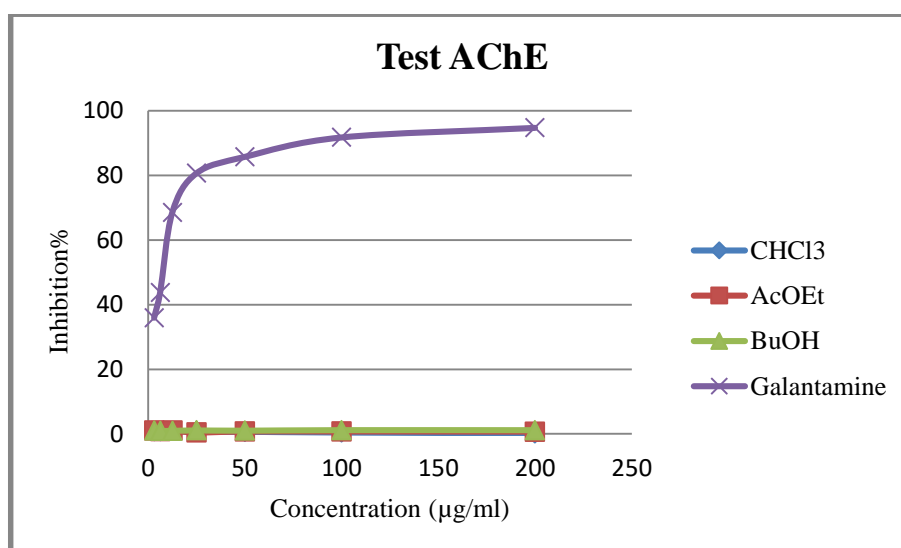


Figure 14: Courbe représentative le pouvoir d'inhibition des trois extraits et de standard (anticholinestérasique).

Les résultats indiquent que les extraits CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH ne présentent aucune activité significative d'inhibition de l'acétylcholinestérase. Les pourcentages d'inhibition restent très faibles, sans qu'aucune IC₅₀ exploitable ne puisse être déterminée dans les conditions expérimentales.

En comparaison, la galantamine, utilisée comme standard, montre une forte activité inhibitrice (IC₅₀ = 6,27 ± 1,15 µg/mL), confirmant la validité du test. La courbe d'inhibition illustre

clairement cette différence, soulignant l'efficacité du composé de référence face à l'inactivité des extraits testés.

3.3. Résultats de l'activité anti-inflammatoire

Tableau 13 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire.

Extraits	% d'inhibition (Diclofénac IC ₅₀ =21,6 µg/mL)							
	125 µg	250 µg	500 µg	1000 µg	2000 µg	4000 µg	8000 µg	IC ₅₀ (µg/mL)
AcOEt	1,16± 0,12	1,33± 0,32	1,16± 0,33	1,01± 0,84	0,88± 0,62	0,90± 0,44	1,19± 0,65	1,32
<i>n</i> -BuOH	1,39±0,17	1,41±0,64	1,31±0,12	1,36±0,65	1,33±0,71	1,42±0,21	1,72±0,33	1,27

Les Résultats obtenus montrent que l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait butanolique de notre plante présentent une activité inhibitrice significative.

En effet, l'extrait butanolique (IC₅₀= 1,27µg/mL) et l'extrait acétate d'éthyle (IC₅₀=1,32 µg/mL) sont beaucoup plus efficaces que le diclofénac (IC₅₀= 21,6µg/mL) un anti-inflammatoire non stéroïdien de référence. Ces résultats montrent que ces deux extraits sont environ 16 à 17 fois plus puissants que le diclofénac. Cela suggère la présence de composés bioactifs puissants dans ces extraits, pouvant justifier leur potentiel thérapeutique. Ces résultats ouvrent la voie à une valorisation pharmacologique potentielle en vue d'isolation de composés actifs dans la recherche de nouvelles molécules anti-inflammatoires naturelles.

3.4. Résultats de l'activité antimicrobienne

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition autour des puits ont été mesurées pour évaluer l'activité antibactérienne des quatre différents extraits d'*Achillea* sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

Tableau 14 : Zone d'inhibition de l'activité antibactérienne des quatre extraits sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

	Zone d'inhibition (mm)					
Souche bactérienne	Staphylococcus aureus (ATCC 25923)			Bacillus subtilis (ATCC 6633)		
[C]mg/mL	0,625	1,25	2,5	0,625	1,25	2,5
Extrait éther de pétrole	/	5 mm	/	/	2 mm	/
Extrait CHCl ₃	/	/	/	/	/	/
Extrait AcOEt	/	9 mm	/	/	/	/
Extrait <i>n</i> -BuOH	/	/	/	/	3 mm	
Témoin négative DMSO (20 µL)	/			/		
Témoin positive Gentamicine	39 mm			17 mm		

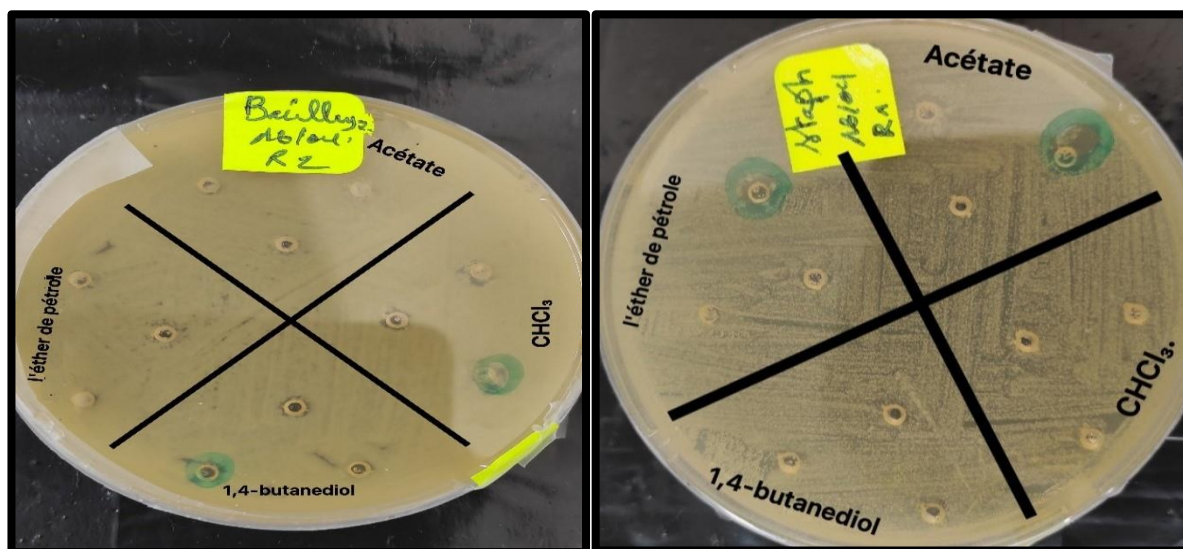


Figure 15 : L'effet des quatre extraits (éther de pétrole, CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH) sur la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.



Figure 16 : L'effet de la gentamicine sur les deux souches testées (*S. aureus*, *B. subtilis*)

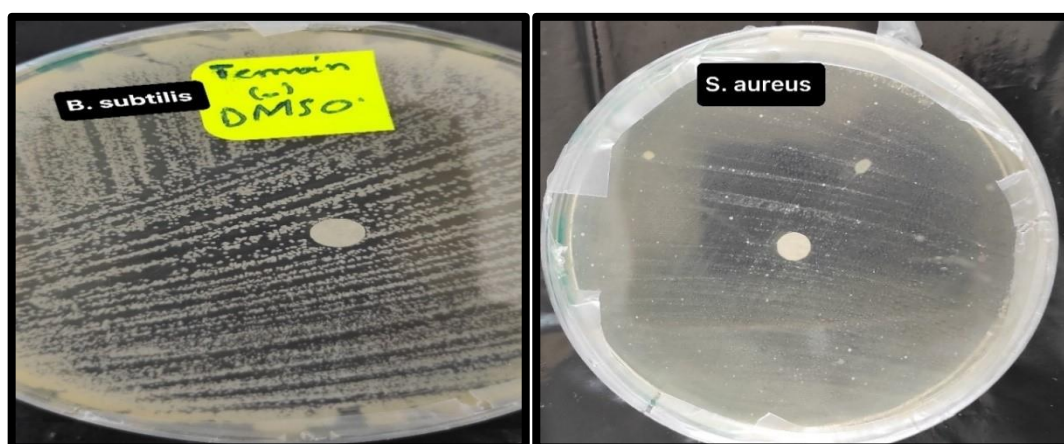


Figure 17 : L'effet de DMSO sur les deux souches bactériennes (*S. aureus* et *B. subtilis*)

Les résultats de cette étude permettent de conclure que :

Les extraits de *Achillea* ont présenté une activité antibactérienne différente selon le type d'extrait et la souche bactérienne testée. Contre *Staphylococcus aureus*, l'extrait d'acétate d'éthyle a montré une bonne activité avec une zone d'inhibition de 9 mm à 1,25 mg/mL, probablement grâce à sa richesse en flavonoïdes et composés phénoliques. L'extrait à l'éther de pétrole a aussi montré une activité modérée (5 mm), ce qui pourrait être lié à la présence de terpènes. En revanche, les extraits butanolique et chloroformique n'ont montré aucune activité contre cette souche.

Concernant *Bacillus subtilis*, seule une faible inhibition a été observée : 3 mm avec l'extrait butanolique et 2 mm avec l'extrait à l'éther de pétrole, ce qui peut s'expliquer par la présence de saponines ou de composés faiblement actifs. Les extraits d'acétate d'éthyle et chloroformique n'ont montré aucun effet sur cette souche.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales, utilisées depuis l'Antiquité, constituent une source majeure de composés bioactifs présentant un large éventail d'activités thérapeutiques. Face aux enjeux actuels liés à la résistance aux antibiotiques et au stress oxydatif, l'exploration de ces ressources naturelles s'avère particulièrement pertinente. Dans ce contexte, notre étude se propose d'évaluer les activités biologiques d'une espèce saharienne du genre *Achillea*, traditionnellement utilisée en médecine populaire en Algérie.

Les travaux effectués sur cette plante ont débuté par une macération des parties aériennes dans de l'éthanol à 70 %, suivie d'une extraction liquide-liquide à l'aide de solvants de polarité croissante, permettant d'obtenir trois extraits distincts : CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH. Ces extraits ont ensuite été soumis à un criblage phytochimique, révélant une richesse en métabolites secondaires. Cette richesse a été confirmée par des dosages quantitatifs des polyphénols et des tanins.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée à l'aide de trois méthodes complémentaires : DPPH, ABTS et phénanthroline, **extraits acétate d'éthyle et éther de pétrole** **page 50** Conclusion en utilisant le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) comme contrôles positifs. Les résultats ont révélé que l'extrait butanolique présentait l'activité antioxydante la plus marquée. En effet, cet extrait a affiché des valeurs d' IC_{50} significativement ($\text{IC}_{50} = 6,29 \pm 0,47 \mu\text{g/mL}$ pour le test DPPH, $\text{IC}_{50} = 16,93 \pm 0,46 \mu\text{g/mL}$ pour l'ABTS et une $\text{A}_{0,50} = 6,19 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$ pour le test à la phénanthroline). En comparaison, l'extrait CHCl_3 a présenté une activité antioxydante modérée, se plaçant en deuxième position après cet extrait.

L'activité enzymatique a également été évaluée pour les trois extraits. Les résultats ont montré que ces extraits présentaient une activité inhibitrice très faible de l' α amylase (antidiabétique) avec des valeurs d' IC_{50} supérieures à $400 \mu\text{g/mL}$, ce qui indique une capacité d'inhibition négligeable. Par ailleurs, l'évaluation de l'inhibition de l'acétylcholinestérase (activité anti-Alzheimer) n'a révélé aucun effet significatif ; aucune valeur d' IC_{50} exploitable n'a pu être déterminée dans les conditions expérimentales appliquées.

L'activité anti-inflammatoire, évaluée par la méthode de dénaturation des protéines, a révélé que les extraits *n*-BuOH et AcOEt présentaient une activité particulièrement élevée, surpassant même celle du composé de référence, le diclofénac ($\text{IC}_{50} = 21,6 \mu\text{g/mL}$). Les valeurs d' IC_{50} ont

Conclusion

été estimées à 1,27 µg/mL pour l'extrait butanolique et à 1,32 µg/mL pour l'extrait acétate d'éthyle, indiquant une forte capacité inhibitrice.

Enfin, l'activité antibactérienne, testée sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, a montré une zone d'inhibition de 9 mm contre *Staphylococcus aureus* avec l'extrait acétate d'éthyle, tandis que l'extrait butanolique a présenté une zone de 3 mm contre *Bacillus subtilis*, à la concentration de 1,25 mg/mL. Ces résultats indiquent une activité antibactérienne faible à modérée, dirigée principalement contre les souches Gram positif.

En résumé, cette étude met en évidence le potentiel de notre plante en tant que source naturelle de molécules bioactives présentant diverses propriétés pharmacologiques. Les trois extraits analysés (CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH) ont révélé une activité antioxydante notable. Parmi eux, l'extrait acétate d'éthyle et *n*-butanol se sont distingués par une puissante activité anti-inflammatoire, accompagnée d'un effet antibactérien modéré. Ces résultats prometteurs ouvrent la voie à des investigations plus approfondies, visant notamment l'isolement puis caractérisation des composés actifs, ainsi que la réalisation d'essais biologiques *in vitro*. L'objectif à terme serait de valoriser ces extraits dans le domaine de la phytothérapie ou dans le développement de formulations médicamenteuses naturelles.

Références bibliographiques

A

APG IV. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20. **DOI** : 10.1111/boj.12385

Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E. H., Rollinger, J. M., Schuster, D., Breuss, J. M., Bochkov, V., Mihovilovic, M. D., Kopp, B., Wang, C. C., Huck, S., Peikov, V., & Schuster, M. (2015). Discovery and development of plant-derived anticancer drugs. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1582–1614. **DOI** : 10.1016/j.biotechadv.2015.10.001

B

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. **DOI** : 10.1016/j.jpha.2015.11.005.

Bekkara, F. A., Jay, M., & Sokovic, M. (2018). Chemical composition and antifungal activity of *Achillea santolinoides* essential oils. *Phytochemistry*, 153, 24–32. **DOI** : 10.1016/j.phytochem.2018.06.002

Benmehdi, H., Hasnaoui, O., & Benali, O. (2020). Ethnobotanical study of medicinal plants used in traditional medicine in Algeria. *South African Journal of Botany*, 130, 120–132. **DOI**: 10.1016/j.sajb.2019.12.012

Benedek, B., Kopp, B., & Melzig, M. F. (2007). *Achillea millefolium* L. s.l. – Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 312–317. **DOI**: 10.1016/j.jep.2007.06.007

Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200. **DOI** : 10.1038/1811199a0

Bonifacino, V., Funk, V. A., Susanna, A., & Illarionova, N. (2017). Tribe Barnadesieae (Asteraceae). In V. A. Funk, A. Susanna, T. F. Stuessy, & R. J. Bayer (Eds.), *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae* (pp. 171–202). CRC Press. **DOI :** 10.1201/b10860-9 (Ceci est le DOI pour le livre entier ou le chapitre spécifique)

Boudmegh, A., Kitouni, M., Benyahia, S., & Kabouche, Z. (2013). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(10), 602-607. **DOI:** 10.5897/JMPR12.1009

Bremer, K., & Chaloner, W. G. (2020). Evolution and classification of Asteraceae: Insights from fossil evidence. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 193(3), 456–473. **DOI:** 10.1111/boj.12879

Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788–794. **DOI:** 10.1002/jsfa.2740290908

Bruneton, J. *Pharmacognosie, Phytochimie plantes médicinales*, Lavoisier, 4ème Edition, 2009.

Bruneton, J. *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*, 2ème Edition. Lavoisier, Londres, New-york, 1993, 625-642.

C

Carter, J. M., Watson, L. E., & Funk, V. A. (2015). Phylogenetic classification and biogeography of Asterales. *Plant Systematics and Evolution*, 301(7), 1801–1815. **DOI :** 10.1007/s00606-015-1202-0

Crete, P. *Précis de botanique*, Masson, 2ème Edition, Paris, 1965, 429.

Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107. **DOI :** 10.1016/j.ijantimicag.2011.09.006

D

D'Andrea, A., Raus, R., & Reale, L. (2020). Diversity and distribution of *Achillea* species in the Mediterranean region. *Mediterranean Botany*, 41(2), 132–145. **DOI** : 10.5209/mbot.68725

Denning, D. W., Bromley, M. J., & Percival, A. (2020). Echinocandins and their role in antifungal therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 71(5), e1145–e1154. **DOI** : 10.1093/cid/ciaa292

E

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Feather-Stone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95. **DOI** : 10.1016/0006-2952(61)90145-9

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherston, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88–95.

F

Facchini, P. J., Hagel, J. M., & Zulak, K. G. (2012). Enzymes for alkaloid biosynthesis. *Trends in Plant Science*, 17(3), 122–133. **DOI** : 10.1016/j.tplants.2011.11.002

Fernández-Moreno, J. L., Ferrero, A., & Barroso, J. G. (2017). The economic impact of invasive alien weeds in agriculture: A global review. *Weed Research*, 57(5), 327–341. **DOI** : 10.1111/wre.12270

Funk, V. A., Susanna, A., Stuessy, T. F., & Bayer, R. J. (2018). Systematics, evolution, and biogeography of Compositae. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 611–638. **DOI** : 10.1146/annurev-arplant-042817-040217

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. **DOI** : 10.1016/j.indcrop.2013.12.046

Gandhi, A. P., Zhou, Y., White, P. J., & Bhatnagar, D. (2021). Sunflower oil: Processing, composition, and potential health benefits. *Food Bioscience*, 43, 101259. **DOI** : 10.1016/j.fbio.2021.101259

García-Herrera, P., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Fernández-Ruiz, V., & Morales, P. (2021). The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3009. **DOI** : 10.3390/ijms22063009

Goad, J. Phytosterols in “Methods in plants biochemistry, 7, terpenoids”, (B. V. Charlwood, B. ET D. V. Banthorpe, éds), Academic press, Londres, 1991, 369-434.

Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Adiguzel, A., Ozer, H., Daferera, D., & Sokmen, A. (2021). Bioactivity assays and phytochemical analysis upon *Achillea filipendulina*, focusing on xanthine oxidase inhibitory and antimalarial properties. **DOI** : 10.3390/molecules26041076

Guo, Q., Wang, Y., & Li, X. (2021). Ecological distribution and adaptive evolution of *Achillea* species in North America. *Journal of Biogeography*, 48(3), 435–448. **DOI** : 10.1111/jbi.13994

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), 1–93. **DOI** : 10.1016/j.mam.2005.10.007

H

Hagerman, A.E. (2002). Tannin Hand book. Miami University, Oxford OH 45056

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). Free radicals in biology and medicine (5th ed.). Oxford University Press.

Harborne, J. B.; Baxter, H.; Wiley. Chichester, The handbook of natural flavonoids, phytochemical analysis, 1999, 1838.

Hayat, M. Q., Ashraf, M. A., Jabeen, S., & Batool, R. (2018). *Achillea millefolium*: Traditional uses and pharmacological activities – A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 225, 1–9. **DOI** : 10.1016/j.jep.2018.06.007

J

Jeffrey, C. (2017). The structure and evolution of Asteraceae: A comprehensive review. *Kew Bulletin*, 72(4), 1–30. **DOI** : 10.1007/s12225-017-9706-3

K

Kandikattu K, BharathRathna Kumar P, Venu Priya R, Sunil Kumar K, RanjithSingh.B.Rathore. EVALUATION OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF CANTHIUM PARVIFLORUM BY IN-VITRO METHOD. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology* 2013; 1(5): 729-730. (Avec Modification) **DOI**: 10.15579/ijrpbt.v1i5.47

Kumar, A., Panda, M., & Sharma, S. (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance and approaches to combat it. *MicrobialPathogenesis*, 95, 123–132. **DOI** : 10.1016/j.micpath.2016.03.003.

Kumar, P., Shruthi, R., Bindu, I., &Raghavendra, P. (2023). Pharmacognosy, phytochemistry, and molecular studies of an important medicinal herb *Achillea millefolium* L. **DOI**: 10.1007/978-981-99-3171-8_3

L

Liu, H., Wu, J., & Zhang, W. (2015). Taxonomy and phylogeny of the Asteraceae family based on molecular markers. *Plant Biology*, 17(2), 450–463. **DOI** : 10.1111/plb.12267

Łuczaj, Ł., Pieroni, A., Tardío, J., Pardo-de-Santayana, M., Sõukand, R., Svanberg, I., ... & Kalle, R. (2016). Wild food plants of Europe: A comparative ethnobotanical study. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 12(1), 4. **DOI** : 10.1186/s13002-016-0077-x

M

Maggi, F., Caprioli, G., Dall'Acqua, S., & Sut, S. (2020). *Achillea* species: A comprehensive review on their botany, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Molecules*, 25(22), 5320. **DOI** : 10.3390/molecules25225320

Mahdavi, A., Yazdani, D., & Najafian, S. (2017). Chemical composition and pharmacological properties of *Achillea* species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16(1), 34–46. **DOI** : 10.22037/ijpr.2017.20967.1517

Mohanta, T. K., Mishra, K. K., Nongbet, H. M., Chakrabartty, A., Mahanta, J., Sarma, S. K., & Panda, P. K. (2023). Potential use of the Asteraceae family as a cure for diabetes: A review of ethnopharmacology to modern day drug and nutraceuticals developments. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1153600. **DOI** : 10.3389/fphar.2023.1153600

Moore, R. J., Smith, J., & Jones, L. (2017). A global perspective on the biodiversity of Asteraceae. *Journal of Plant Research*, 130(6), 789–805. **DOI** : 10.1007/s10265-017-0941-0

N

Nesom, G. L. (2018). Generic conspectus of the tribe Astereae (Asteraceae) in North America, Central America, the Antilles, and Hawaii. *Phytoneuron*, 2018-39, 1–87. **DOI** : 10.7410/P.2018.1408

O

Oberprieler, C., Himmelreich, S., & Vogt, R. (2009). A new classification of subtribe Anthemideae (Compositae). *Willdenowia*, 39(1), 89–114. **DOI** : 10.3372/wi.39.39106

Odds, F. C., Brown, A. J. P., & Gow, N. A. R. (2018). Antifungal agents: Mechanisms of action. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4), e00037-17. **DOI** : 10.1128/CMR.00037-17

Orav, A., Raal, A., & Arak, E. (2006). Essential oil composition of *Achillea* species. *Journal of Essential Oil Research*, 18(2), 204–209. **DOI** : 10.1080/10412905.2006.9699071

P

Pelser, P. B., Nordenstam, B., Kadereit, J. W., & Watson, L. E. (2007). The Compositae subtribe Vicoinae (Asteraceae, Inuleae): Systematic and biogeographical

implications of ITS nuclear DNA sequence data. *Taxon*, 56(4), 1035–1048. **DOI :** 10.2307/25065910

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. **DOI :** 10.1021/jf050269x

Qureshi, N.; Porte, J. W.; Spurgeon, S. L. *Biosynthesis of isoprenoid Compounds*, EdsWiley, New York, 1981, 1, 47-94.

R

Ramawat, K. G., & Mérillon, J. M. (2020). *Secondary metabolites: Sources and applications*. Springer. **DOI :** 10.1007/978-3-030-22442-2

Rates, S. M. K. (2001). Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39(5), 603–613. **DOI :** 10.1016/S0041-0101(00)00154-9

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. **DOI :** 10.1016/S0891-5849(99)00189-5

Rizk, A.M. Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*, 1982, 52 (2), 35-42. **DOI :** 10.1016/S0367-326X(81)80053-9

Robert, J. Medicinal natural products A biosynthetic approach. *J. Med. Chem.* DOI: 10, 1021/jm020128m, American Chemical Society 2002, 45(10), 2120-2120. **DOI :** 10.1021/jm020128m

S

Saini, R., Sharma, S., & Prasad, R. (2020). Flavonoids: Potential therapeutic agents against microbial infections. *Frontiers in Microbiology*, 11, 583396. **DOI :** 10.3389/fmicb.2020.583396

- Salehi, B., et al. (2020). *Achillea* spp.: A comprehensive review on its ethnobotany, phytochemistry, phytopharmacology and industrial applications. *Cellular and Molecular Biology*, 66(4), 693–718. **DOI** : 10.14715/cmb/2020.66.4.24
- Salehi, B., Mishra, A. P., Nigam, M., & Sharifi-Rad, J. (2020). Terpenes: Natural compounds with promising therapeutic properties. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2020, 1–21. **DOI** : 10.1155/2020/8254278
- Salehi, B., Zucca, P., Yurchenko, T., Sharifi-Rad, M., Putnik, P., Kostić, M., ... & Martins, N. (2019). Plant-derived bioactives against fungal pathogens: The role of plant extracts, essential oils, and secondary metabolites. *Biomolecules*, 9(11), 791. **DOI** : 10.3390/biom9110791
- Shakeri, A., Hazeri, N., & Monsef-Esfahani, H. R. (2018). Antioxidant and antimicrobial activity of *Achillea* species. *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(7), 109–117. **DOI** : 10.5897/JMPR2017.6534
- Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180–183. **DOI** : 10.1016/j.redox.2015.01.002
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. **DOI** : 10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Stojković, D., et al. (2013). Morphological variability and differentiation of selected *Achillea* species (sections *Achilleasensulato* and *Anthemoideae*) from Serbia. *Bionys*, 14(1), 1–12. **DOI** : 10.2298/BIONYS1301001S
- Szydlowska-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. **DOI** : 10.1016/j.talanta.2008.04.053

T

- Teixeira da Silva, J. A., Pinker, I., Omayio, D., & GondimTomaz, M. A. (2020). *Chrysanthemum* cut flower production: Present status and future challenges. *Journal of Environmental Horticulture*, 38(1), 1–15. **DOI** : 10.24266/0738-2898-38.1.1

Turkoglu A., Emin Duru M., Mercan N., Kivrak I., Gezer K., 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Food Chemistry 101: 267–273 **DOI** : 10.1016/j.foodchem.2006.01.036

V

van Andel, T., Carine, P., & Heinrich, M. (2015). Regulatory frameworks for herbal medicines: A global review. Journal of Ethnopharmacology, 168, 66–75. **DOI** : 10.1016/j.jep.2015.03.023

Veryser, L., Taevernier, L., Wynendaele, E., Verheust, Y., Dumoulin, A., & De Spiegeleer, B. (2017). N-alkylamide profiling of *Achillea ptarmica* and *Achillea millefolium* extracts by liquid and gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical Analysis, 7(1), 34–47. **DOI** : 10.1016/j.jpha.2016.09.005

W

Wallace, R.J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites, Proceedings of Nutrition Society, 2004, 63, 621–629. **DOI**: 10.1079/PNS2004396

William, G. Physiologie végétale 2^{ème} Edition américaine par serge Rambour Révision scientifique de Charles Marie, Algérie, 2003.

Wink, M. (2015). Plant secondary metabolites with impact in human health: Structure, activity, and synthesis. Planta Medica, 81(13), 1025–1052. **DOI** : 10.1055/s-0035-1546125

Z

Zhang, H., Liu, X., & Li, Y. (2021). The global use of medicinal plants: A systematic review. Phytotherapy Research, 35(4), 1752–1770. **DOI** : 10.1002/ptr.6938

Zhang, T., & Bremer, K. (2023). Development and evolution of the Asteraceae capitulum. New Phytologist, 242(1), 33–48. **DOI** : 10.1111/nph.19230

Zupkó, I., Hohmann, J., Rédei, D., & Falkay, G. (2001). Antiproliferative activity of essential oils and plant extracts from *Achillea* species on human cancer cell lines. Planta Medica, 67(6), 575–577. **DOI** : 10.1055/s-2001-17482

Résumé

Notre travail repose sur l'étude phytochimique et biologique d'une plante saharienne algérienne appartenant au genre *Achillea*. Nos investigations phytochimiques ont porté sur les trois extraits chloroforme (CHCl_3), acétate d'éthyle (AcOEt), *n*-butanol (*n*-BuOH) de cette plante. Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de différents métabolites secondaires tels que les stérols, flavonoïdes, alcaloïdes, saponosides, tanins, terpènes, anthraquinones, protéines et composés réducteurs. Les taux des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins hydrolysables et condensés totaux ont été déterminés par les méthodes colorimétriques, les résultats ont montré une richesse de l'extrait butanolique en polyphénols avec un taux de $450,23 \pm 0,25 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait et en flavonoïdes avec un taux de $333,24 \pm 0,96 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait. L'activité antioxydante de ces extraits a été évaluée par trois méthodes : DPPH, ABTS, et phénanthroline. Les résultats ont montré que l'extrait butanolique était le plus actif par rapport à l'extrait acétate d'éthyle et chloroformique. Les tests d'inhibition enzymatique ont montré que l'ensemble des extraits possède une faible activité inhibitrice vis-à-vis α -amylase ($\text{IC}_{50} > 400 \mu\text{g/mL}$), ce qui traduit une absence d'effet antidiabétique notable. De même, aucun des extraits n'a présenté d'inhibition significative de l'acétylcholinestérase, suggérant un potentiel thérapeutique limité contre la maladie d'Alzheimer. L'activité anti-inflammatoire, évaluée par inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine, a montré un effet notable pour l'extrait butanolique, avec une IC_{50} de $1,27 \mu\text{g/mL}$, bien meilleure que celle du diclofénac ($21,6 \mu\text{g/mL}$). Enfin, l'activité antibactérienne a été testée *in vitro* contre deux souches Gram positif ; *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* par la méthode de diffusion en milieu solide par puits. L'extrait acétate d'éthyle a présenté une zone d'inhibition de 9 mm contre *S. aureus*, sans effet sur *B. subtilis*.

Mots-clés : *Achillea*, screening phytochimique, dosage des polyphénols, activité antioxydante, activité enzymatique, activité anti-inflammatoire et antibactérienne.

Abstract

Our study is based on the phytochemical and biological investigation of a Saharan Algerian plant belonging to the *Achillea* genus. Phytochemical analyses were carried out on three extracts of the plant: chloroform (CHCl₃), ethyl acetate (AcOEt), and n-butanol (n-BuOH). Phytochemical screening revealed the presence of various secondary metabolites, including sterols, flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, terpenes, anthraquinones, proteins, and reducing compounds. The contents of total polyphenols, flavonoids, hydrolysable tannins, and condensed tannins were determined using colorimetric methods. The results indicated that the butanolic extract was particularly rich in polyphenols ($450.23 \pm 0.25 \mu\text{g GAE/mg}$) and flavonoids ($333.24 \pm 0.96 \mu\text{g QE/mg}$). The antioxidant activity of these extracts was evaluated using three methods: DPPH, ABTS, and phenanthroline. The results indicated that the butanolic extract exhibited the highest activity compared to the ethyl acetate and chloroformi extracts. Enzyme inhibition assays showed that all extracts displayed low inhibitory activity against α -amylase ($\text{IC}_{50} > 400 \mu\text{g/mL}$), indicating no relevant antidiabetic activity. Similarly, none of the extracts exhibited notable inhibition of acetylcholinesterase, suggesting limited therapeutic potential against Alzheimer's disease. Anti-inflammatory activity assessed via BSA denaturation inhibition, revealed a marked effect for the butanolic extract, with an IC_{50} of $1.27 \mu\text{g/mL}$ significantly higher than diclofenac ($21.6 \mu\text{g/mL}$). Finally, antibacterial activity was tested *in vitro* against two Gram-positive strains, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, using the agar well diffusion method. The ethyl acetate extract showed an inhibition zone of 9 mm against *S. aureus*, with no effect observed on *B. subtilis*.

Keywords: *Achillea*, phytochemical screening, polyphenol content determination, antioxidant activity, enzymatic activity, anti-inflammatory and antibacterial activity.

الملخص

يرتكز عملنا على دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبات صحراوي جزائري ينتمي إلى جنس إشبيليا، وقد شملت تحاليلنا الفيتوكيميائية و البيولوجية مستخلصاته الثلاث (مستخلص الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل والبيوتانول) ، حيث أظهرت إختبارات الكشف الفيتوكيميائي وجود عدد من المركبات الثانوية النشطة بيولوجيًا، مثل الستيرويدات، الفلافونويدات، القلويدات، الصابونينات، التانينات، التربينات، الأنتراكينونات، المركبات المختزلة والبروتينات. أجري التحليل الكمي للفينولات المتعددة والفلافونويدات للمستخلصات الثلاثة باستعمال الطرق اللونية حيث أظهرت النتائج ثراء وغنى مستخلص البوتانول أين قدر المحتوى الكلي للمركبات الفينولية ب $450,23 \pm 0,25$ ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ملغ من المستخلص والمحتوى الكلي للفلافونويدات ب $333,24 \pm 0,96$ ميكروغرام مكافئ للكرستين لكل ملغ من المستخلص. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام ثلاث إختبارات DPPH ، ABTS والفينانثرولين. حيث بينت النتائج أن مستخلص البوتانول يمتلك فعالية مضادة للأكسدة جد معتبرة مقارنة بمضادات الأكسدة المرجعية ومقارنة بمستخلصي الكلوروفورم و أسيتات الإيثيل. أظهرت إختبارات التثبيط الإنزيمي أن جميع المستخلصات كانت غير فعالة في تثبيط إنزيم ألفا أميلاز ، مما يشير إلى غياب التأثير المضاد للسكري. كما لم تُظهر المستخلصات أي فعالية معتبرة في تثبيط إنزيم أسيتيل كولين أستييراز، مما يشير إلى قدرة علاجية محدودة في علاج مرض الزهايمر. تم تقييم النشاط المضاد للإلتهاب عن طريق إختبار تثبيط تحلل الألبومين وقد أظهر مستخلص البوتانول فعالية معتبرة تفوق فعالية الديكلوفيناك وهو:مضاد إلتهاب أستعمل كمرجع . في النهاية، تم إختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الثلاثة ضد سلالتين بكتيريتين *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus*، باستخدام طريقة الأوساط المثقبة، أين أظهر مستخلص خلات الإيثيل منطقة تثبيط قطرها 9 مم ضد *S. aureus*، دون تسجيل أي تأثير ضد *B. subtilis*.

الكلمات المفتاحية: جنس إشبيليا ، المسح الكيميائي، معايرة الفينولات المتعددة، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط الإنزيمي، النشاط المضاد للإلتهابات والمضاد للبكتيريا.

Année universitaire : 2024-2025	Présenté par : Debbabi Ahmed Mehdi Zendaoui Alaa Eddine
Exploration du pouvoir antioxydant et antibactérien d'une plante saharienne du genre <i>Achillea</i>.	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Micro Biologie	
<p>Notre travail repose sur l'étude phytochimique et biologique d'une plante saharienne algérienne appartenant au genre <i>Achillea</i>. Nos investigations phytochimiques ont porté sur les trois extraits chloroforme (CHCl₃), acétate d'éthyle (AcOEt), <i>n</i>-butanol (n-BuOH) de cette plante. Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de différents métabolites secondaires tels que les stérols, flavonoïdes, alcaloïdes, saponosides, tanins, terpènes, anthraquinones, protéines et composés réducteurs. Les taux des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins hydrolysables et condensés totaux ont été déterminés par les méthodes colorimétriques, les résultats ont montré une richesse de l'extrait butanolique en polyphénols avec un taux de 450,23 ± 0,25 µg EAG/mg d'extrait et en flavonoïdes avec un taux de 333,24 ± 0,96 µg EQ /mg d'extrait. L'activité antioxydante de ces extraits a été évaluée par trois méthodes : DPPH, ABTS, et phénanthroline. Les résultats ont montré que l'extrait butanolique était le plus actif par rapport à l'extrait acétate d'éthyle et chloroformique. Les tests d'inhibition enzymatique ont montré que l'ensemble des extraits possède une faible activité inhibitrice vis-à-vis α-amylase (IC₅₀ > 400 µg/mL), ce qui traduit une absence d'effet antidiabétique notable. De même, aucun des extraits n'a présenté d'inhibition significative de l'acétylcholinestérase, suggérant un potentiel thérapeutique limité contre la maladie d'Alzheimer. L'activité anti-inflammatoire, évaluée par inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine, a montré un effet notable pour l'extrait butanolique, avec une IC₅₀ de 1,27 µg/mL, bien meilleure que celle du diclofénac (21,6 µg/mL). Enfin, l'activité antibactérienne a été testée <i>in vitro</i> contre deux souches Gram positif : <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus subtilis</i> par la méthode de diffusion en milieu solide par puits. L'extrait acétate d'éthyle a présenté une zone d'inhibition de 9 mm contre <i>S. aureus</i>, sans effet sur <i>B. subtilis</i>.</p>	
Mots-clefs : <i>Achillea</i> , screening phytochimique, dosage des polyphénols, activité antioxydante, activité enzymatique, activité anti-inflammatoire et antibactérienne.	
Laboratoires de recherche : laboratoire de VARENBIOMOL (U Constantine 1 Frères Mentouri). Centre de recherche biotechnologie CrBT Constantine	
Présidente du jury : Dr. Meziani Meriem (M.C.A - UFM Constantine 1). Encadrante : Dr. Aliouche Lamia (M.C.A - UFM Constantine 1). Examinatrice : Dr. Zater Hanène (M.C.A - Univ. Larbi Ben M'Hidi , Oum El Bouaghi).	