

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

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



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

كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et
Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Dosage des polyphénols et flavonoïdes : étude de leur activité
antioxydante, antifongique et anti-inflammatoire dans les extraits de
plantes et les huiles essentielles d'Algérie**

Présenté par : KASSAMA Imène

Le 12/06/2024

AMIRA Serine

Jury d'évaluation :

Encadrant 1 : BEZZI T (MRB – CRBT Constantine).

Encadrant 2 : KITOUNI R (MCB – UFM Constantine)

Président : MEDOUKALI I (MCB – UFM Constantine)

Examineur : KHELALFA K (MCB – UFM Constantine).

Année universitaire

2023 – 2024

Remerciement

Remerciant tout d'abord Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force de réaliser ce travail.

Nous adressons toutes nos gratitude à notre promoteur du travail monsieur **KITOUNI RACHID** pour avoir accepté de nous encadrer, nous à aidés pour perfectionner nos compétences, pour son soutien, sa disponibilité et tous ses conseils pertinents, tout merci, respect et reconnaissance à vous.

Une grande reconnaissance et un sincère remerciement aux :

Dr BEZZI TAREK ainsi qu'à toute l'équipe du centre de Recherche en Biotechnologie soyez assuré de notre profond respect et de nos vives reconnaissances pour votre contribution à la réussite de ce travail Pour nous avoir accueillie au sein de leurs laboratoires, leur bon travail vu la qualité, leur précieuse assistance aussi leur serviabilité et gentillesse.

Nos vifs remerciements vont aussi aux membres de jury et **Dr MEDOUKALI IMENE** et **Dr KHELALFA KHAOULA** d'avoir accepté d'évaluer et examiner ce mémoire.

Enfin, notre reconnaissance s'adresse également à toute personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicace ...

Avec la générosité et l'aide d'**ALLAH** Le majestueux qui m'a donné la patience, le courage et la santé, j'ai pu réaliser ce modeste travail.

À présent, le stylo achève ses derniers mots, une dédicace exprimant mon profond respect, mon amour éternel et ma gratitude envers mes chers parents, ma mère **CHAHRAZED** et mon père **KAMEL EDDINE**, qui m'ont toujours encouragé et soutenu tout au long de mes études.

À mes très chers frères **Nabil** et **Mehdi** pour leurs encouragements.

A ma merveilleuse collègue et ma meilleure amie **Serine** pour tous les moments inoubliables qu'on a passé ensemble durant ces cinq ans.

A mes très chères amies **Imène, Racha, Nesrine , Hadil , Nada , Wissem , Nesrine.**

À toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la concrétisation de ce projet, je vous adresse cette dédicace.

IMENE...

Dédicace ...

À ma chère grand-mère **Malika** qui nous a quittés récemment et soudainement, tu resteras toujours dans mon cœur.

À mes chers parents **Djalil** et **Maya** et à ma sœur **Djihane**, qui ont toujours été là pour m'encourager, me conseiller et me réconforter, merci pour votre sacrifice et la confiance que vous m'avez accordée. Que Dieu vous préserve et vous accorde bonheur et santé.

À mes chers grands-parents **Fayçal** et **Stofa**, et à ma chère grand-mère **Nadia**, que Dieu vous protège. Je vous aime.

A mes chères tantes et oncles et toute ma famille.

À **Imène**, mon binôme et ma meilleure amie, je t'aime énormément.

À **Zahra**, **Racha**, **Hadile**, **Doha**, et à chaque ami que j'ai eu pendant ces cinq merveilleuses années, merci pour les beaux moments que nous avons partagés. Vous serez toujours dans mon cœur.

SERINE...

Table des matières

1. Stress oxydatif	3
1.1. Définition	3
1.2. Les maladies liées au stress oxydatif	3
2. les radicaux libres	4
2.1. Types des radicaux libres	4
2.2. Sources de radicaux libres	5
3. Les espèces réactives de l'oxygène	5
4. Les espèces réactives de l'azote	7
5. Les antioxydants	7
5.1. Classes des antioxydants	8
5.2. Mécanismes d'action des antioxydants	8
6. Activité antioxydante	9
7. L'inflammation	10
8. Activité anti fongique	11
8.1 Introduction sur les champignons phytopathogènes	12
8.2 Principales catégories de champignons phytopathogènes	12
8.2.1 Basidiomycètes	12
8.2.3 Oomycètes	12
8.2.4 <i>Fusarium oxysporum</i>	12
8.3 Cycle de vie et mode de transmission	13
8.3.1 Symptômes et diagnostics des infections	13
8.3.2 Lutte antifongique en cultures maraichères	13
8.3.3 Méthodes chimiques	13
8.3.4 Méthodes biologiques	13

8.3.5 Méthodes culturales	13
8.3.6 Impact économique	14
8.3.7 Méthodologies <i>in vitro</i>	14
8.3.8 Méthodologies <i>in vivo</i>	14
1. Matérielle biologique.....	13
1.1 Matérielles végétales :	13
2. méthodes d'extraction	13
2.1. Hydrodistillation avec système clevenger.....	13
2.2. Extraction.....	14
3. Activité antioxydante.....	14
3.1. Dosage des polyphénols totaux	14
3.2. Dosage des flavonoïdes	16
3.3. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits	17
3.3.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH	17
3.3.2. Pouvoir réducteur de FRAP	18
3.3.3 Test de l'activité ABTS.....	19
3.3.4. Test de l'activité phénanthroline.....	20
4. Méthodes de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> :.....	20
4.2. Activité anti hémolytique	21
4.2.1 Préparation de la suspension des globules rouges.....	21
4.2.2 La méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges.....	22
5. Evaluation de l'activité anti fongique des extraits.....	23
1. Activité anti oxydante <i>in vitro</i>	24
1.1 Teneur en polyphénols totaux	24
1.2 Les flavonoïdes totaux.....	26
1.3. Activité anti radicalaire au DPPH	27

1.4	Activité du piégeage du cation radical ABTS• +	29
1.5.	Evaluation de l'activité phénanthroline	31
1.6	Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)	32
2.	Activité anti inflammatoire <i>in vitro</i>	34
2.1.	Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA) :	34
2.2.	Teste Stabilisation Des Membranes Des Globules Rouges	36
3.	Activité antifongique	38

Liste des abréviations :

- **ABTS** : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **A_{0.5}** : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance
- **AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiennes
- **AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens
- **BHA** : Hydroxyanisole butylé
- **BHT** : Hydroxytoluène butylé
- **BSA** : Bovine Serum Albumine
- **CHCl₃** : Le chloroforme
- **CI 50** : La concentration inhibitrice 50 %
- **DPPH** : α, α -diphényl- β -picrylhydrazyl
- **EAG** : Acide gallique
- **EOA** : Espèces Oxygénées Activées
- **ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- **Ext AS CHCl₃** : Extrait AS CHCl₃
- **Ext HEAL** : Huile essentielle
- **Ext LC bu** : Extrait LC butanolique
- **Fe⁺²** : Fer ferreux
- **Fe⁺³** : Fer ferrique
- **FCR** : Réactif Folin Ciocalteu
- **FRAP** : Pouvoir antioxydant réducteur d'ions ferriques
- **FOL** : *Fusarium oxysporum* lycopersici
- **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène
- **Mg** : Milligramme
- **Min** : Minutes
- **mL** : Millilitre
- **mm** : Millimètre
- **MS** : Métabolites secondaires
- **NaCl** : Chlorure de sodium

□ **Na₂CO₃** : Carbonate de sodium

Liste de figures

Figure 1 : Stress oxydant déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants.....	3
Figure 2 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées.	6
Figure 3 : Structure chimique du radical libre DPPH.....	18
Figure 4 : Préparation du milieu de culture de l'activité anti fongique.....	23
Figure 5 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	24
Figure 6 : Teneur en polyphénols totaux des extraits.	25
Figure 7 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits.....	26
Figure 8 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits.....	28
Figure 9 : Courbe montre la valeur d'IC50 de test ABTS.....	30
Figure 10 : Courbe montre les valeurs de IC50 tu test FRAP.	33
Figure 11 : Courbe d'Inhibition de la dénaturation de BSA par les extraits.	35
Figure 12 : Histogramme montre les pourcentages de protection des hématies vis-à-u stress osmotique et thermique en fonction des concentrations.....	37
Figure 13 : Les pourcentages d'inhibition calculés de l'activité antifongique.....	39
Figure 14 : Résultats de l'activité antifongique des extraits As ether, LC butanolique, huile essentiel et As CHCl ₃ respectivement.	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les types de radicaux libres (Halliwell, 1996).....	5
Tableau 2 : Classes des antioxydants.	8
Tableau 3 : La gamme d'étalon d'acide gallique.	15
Tableau 4 : La gamme d'étalon de la quercétine.....	17
Tableau 5 : Le contenu total en polyphénols des extraits.....	25
Tableau 6 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits.	26
Tableau 7 : Inhibition du radicale DPPH par les extraits.	27
Tableau 8 : Inhibition de l'ABTS• + par les extraits.....	30
Tableau 9 : Absorbance du pouvoir reducteur par la formation du complexe Fe+2 Phénanthroline des extraits.....	31
Tableau 10 : Les absorbances du pouvoir réducteur FRAP.	32
Tableau 11 : Inhibition de la dénaturation de BSA par les extraits.....	35
Tableau 12 : Teste Stabilisation Des Membranes Des Globules Rouges.....	36
Tableau 13 : Les pourcentages d'inhibition calculés de l'activité antifongique.	39

Introduction générale

Introduction Générale

L'homme a appris à exploiter les ressources naturelles pour subvenir à ses besoins nutritionnels et garantir sa survie. Cela inclut la capacité à identifier les plantes bénéfiques et à éviter celles qui sont dangereuses, une compétence que l'on retrouve également chez d'autres espèces animales (**Thomas, 2016**).

Depuis des époques reculées, les grandes civilisations telles que la Chine, l'Égypte, la Babylonie, la Grèce, Rome, et autres, ont utilisé les plantes à des fins médicinales, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agroalimentaires, et industrielles en raison de leurs vertus thérapeutiques (**HL et al., 2009**).

La connaissance ancestrale des propriétés des plantes est toujours pertinente dans notre société moderne, grâce aux recherches scientifiques qui étudient les composants des plantes et leur impact sur le corps humain. La médecine contemporaine a éclairé les mécanismes des maladies, mettant en lumière notamment les effets néfastes du stress oxydatif sur les cellules. Pour se défendre, l'organisme recourt aux antioxydants, qu'ils soient naturels ou obtenus à partir de sources externes (**Thomas, 2016**).

Maintenir un équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants requiert une alimentation diversifiée, comprenant une variété de fruits, légumes, et boissons riches en antioxydants. Cependant, les récents changements dans nos habitudes alimentaires, comme l'augmentation de la consommation de fast-food et de produits surgelés, ont réduit notre apport en antioxydants, contribuant ainsi à l'apparition de certaines maladies (**Thomas, 2016**).

Les composés phénoliques, qui sont parmi les produits secondaires végétaux les plus répandus, se trouvent dans de nombreuses plantes consommées par les humains et les animaux. Récemment, leur rôle en tant qu'antioxydants a été reconnu (**Hagerman et al., 1998**). L'intérêt croissant pour les effets protecteurs des antioxydants a touché les domaines de la biologie, de la médecine, de la nutrition et de l'agrochimie, créant ainsi le besoin de méthodes simples, pratiques et fiables pour mesurer la capacité antioxydante (**Karadag et al., 2009**).

Les huiles essentielles sont des substances de structures organiques très diverses, composées de composés organiques naturels complexes (**Bouyahya et al., 2016**).

Introduction Générale

Elles sont fabriquées de manière biologique à partir de plantes aromatiques, utilisées comme métabolites secondaires. Différentes techniques sont employées pour extraire les huiles essentielles, mais les méthodes les plus couramment utilisées sont celles de la distillation (hydrodistillation, entraînement à la vapeur d'eau et hydro diffusion) **(Bouyahya et al., 2016)**.

Diverses huiles essentielles possèdent des propriétés antioxydantes, et l'utilisation des huiles essentielles en tant qu'antioxydants naturels est de plus en plus intéressante car certains antioxydants synthétiques sont moins efficaces. Pour prévenir l'auto-oxydation et prolonger la durée de conservation, l'incorporation d'huiles essentielles dans des produits comestibles, que ce soit par mélange direct ou dans des emballages actifs et des revêtements comestibles, peut donc constituer une option valable **(Amorati et al., 2013)**.

Les huiles essentielles sont employées dans les parfums, les savons, les cosmétiques et d'autres produits, pour parfumer l'encens et les produits ménagers, ainsi que pour aromatiser les aliments et les boissons **(An Bs et al., 2013)**.

Ce mémoire de master vise principalement à évaluer le potentiel biologique de trois espèces végétales : deux appartenant à la famille des Asteraceae et une à la famille des Liliaceae. Le manuscrit est divisé en trois parties :

- La première partie est dédiée aux études bibliographiques.
- Le deuxième chapitre aborde le matériel végétal, les méthodes d'extraction, ainsi que les diverses activités (antioxydantes, antifongiques, anti-inflammatoires).
- Le dernier chapitre présente les résultats et discussions concernant le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que les résultats et discussions des activités antioxydantes, antifongiques et anti-inflammatoires.

Etude

Bibliographique

1. Stress oxydatif

1.1. Définition

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Barouki, 2016**).

Le manque d'antioxydants peut entraîner une altération du contrôle et de la signalisation redox des cellules, ainsi que des dommages moléculaires. Le stress oxydatif peut être causé par des facteurs environnementaux favorables aux oxydants tels que le tabac, l'alcool, la pollution ou la prise de médicaments (**Vidé J, 2015**).

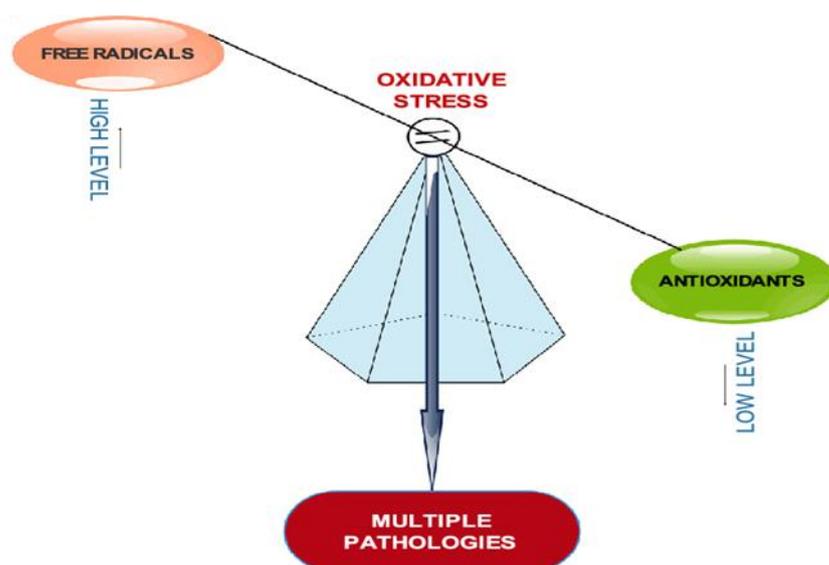


Figure 1 Stress oxydant déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants (Ighodaro et Akinloye., 2017).

1.2. Les maladies liées au stress oxydatif

Dans de nombreuses maladies, le stress oxydant joue un rôle essentiel, en particulier avec l'âge, car il réduit les défenses antioxydantes et accroît la production de radicaux libres par les mitochondries. Ce stress contribue au développement de maladies comme le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, ainsi qu'à l'accélération du vieillissement en altérant les molécules biologiques et en suractivant certains gènes. Il intervient également dans des affections multifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires, en

oxydant les LDL et en affectant différents facteurs athérogènes. Le stress oxydant peut être causé par différentes raisons, telles qu'une mauvaise alimentation, un excès de pro-oxydants, des inflammations et des anomalies génétiques. Les maladies associées à des mutations de gènes antioxydants, telles que la sclérose latérale amyotrophique et la dégénérescence maculaire liée à l'âge, sont particulièrement affectées par les radicaux libres (**Favier, 2003**).

2. les radicaux libres

Un radical correspond à une molécule ou à un fragment moléculaire qui renferme un électron (ou plus) non lié. Sa structure spécifique lui permet d'attirer les électrons d'autres atomes et molécules afin d'accroître sa stabilité (**Paster, 2005**).

Les radicaux libres dérivés de l'oxygène se manifestent principalement lors du transfert des électrons à travers la membrane mitochondriale de toutes les cellules aérobies et se diffusent partiellement dans le cytosol, entraînant ainsi des réactions de peroxydation, à la base du stress oxydatif (**Sen S et al., 2010**).

2.1. Types de radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être classés en fonction de l'atome sur lequel se trouve l'électron non apparié. Lorsque cet électron est localisé sur un atome d'oxygène, on parle d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). En revanche, s'il est situé sur un atome d'azote, on les désigne comme espèces réactives de l'azote (ERA) (**Choteau-Mary, 2011**).

Tableau 1 : Les types de radicaux libres (Halliwell, 1996).

	Espèces radicalaires	Espèces non radicalaires
ERO	Superoxyde, $O_2^{\cdot-}$ Hydroxyle, OH^{\cdot} Peroxyl, RO_2^{\cdot} Alkoxyl, RO^{\cdot} Hydroperoxyl, HO_2^{\cdot}	Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 Ozone O_3 Acide hypochloreux $HOCl$ Oxygène singulier 1O_2
ERA	Oxyde nitrique NO^{\cdot} Dioxyde d'azote NO_2^{\cdot}	Acide nitreux HNO_2 Acide peroxy-nitreux $ONOOH$ Alkyl peroxy-nitrites $ROONO$ Cation nitronium NO_2^+ Peroxyde d'azote N_2O_4 Peroxy-nitrite $ONOO^{\cdot}$ Trioxyle d'azote N_2O_3

2.2. Sources de radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être générés à partir de sources endogènes telles que les mitochondries, le cytochrome P450, les peroxysomes et les cellules inflammatoires (Valko et al., 2006), ou de sources exogènes comme le tabagisme, les radiations ionisantes, les polluants industriels et la consommation d'alcool (Mena et al., 2009).

3. Les espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène, bien que vital pour la vie, peut également causer des dommages dans l'organisme en générant des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces ERO jouent des rôles complexes : à faible concentration, elles servent de messagers secondaires, régulant des processus tels que l'apoptose et l'activation des facteurs de transcription. Par exemple, lors de la fécondation, les spermatozoïdes produisent une

Etude bibliographique

grande quantité d'ERO pour pénétrer la membrane de l'ovule. Selon leur concentration, les ERO peuvent donc être bénéfiques ou nuisibles (**Haleng et al., 2007**).

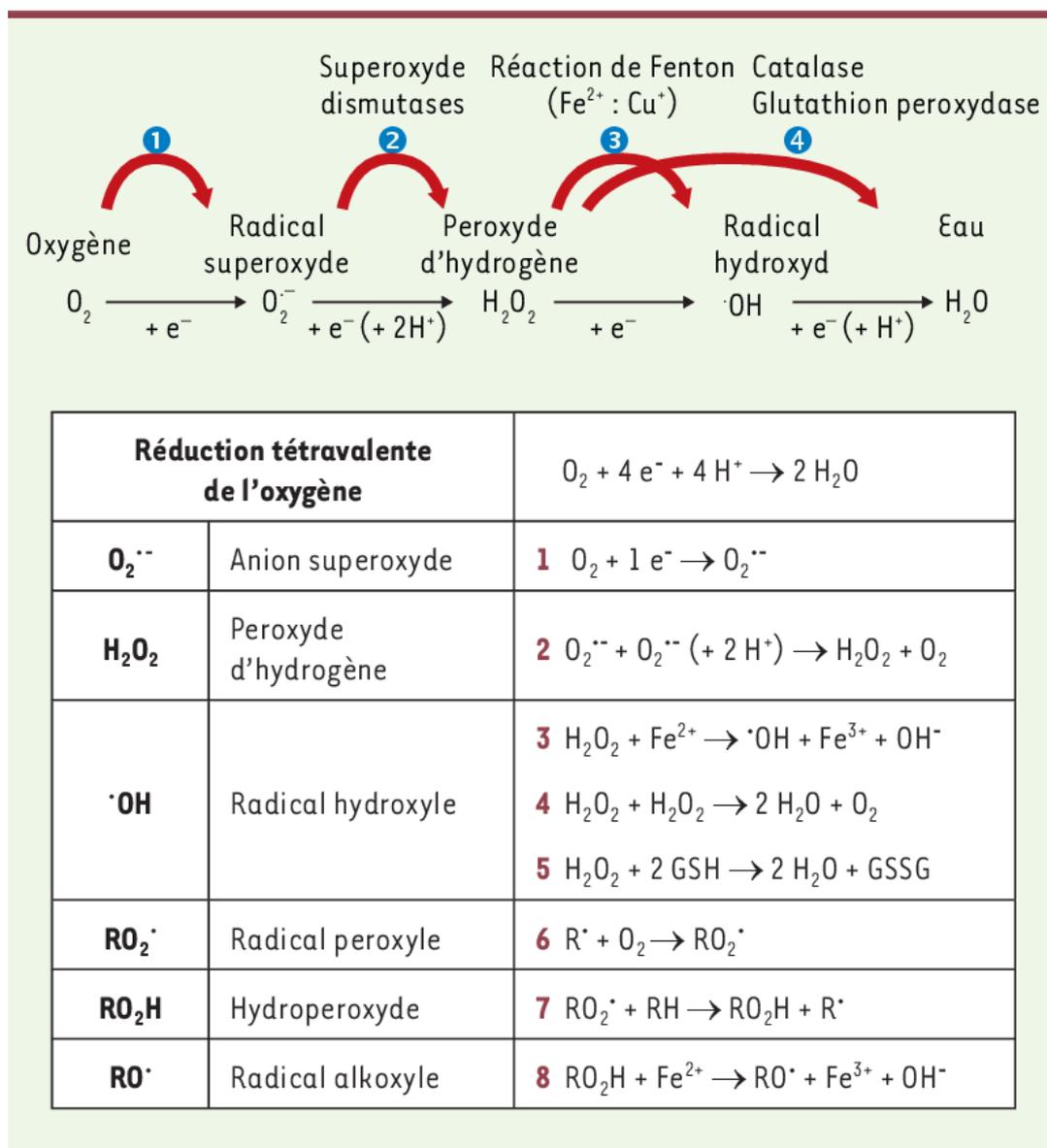


Figure 2 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées (Migdal et Serres, 2001).

4. Les espèces réactives de l'azote

Elles résultent de l'interaction entre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et le monoxyde d'azote (NO). Ces réactions sont catalysées par la NO synthase, qui existe sous trois formes : neuronale, endothéliale et inductible. En conditions physiologiques, le monoxyde d'azote est faiblement réactif. Cependant, l'interaction entre l'anion superoxyde et le monoxyde d'azote génère des composés hautement réactifs (**Thomas, 2016**).



5. Les antioxydants

Un antioxydant est une substance naturelle ou synthétique qui peut empêcher l'oxydation d'autres substances en intervenant à diverses étapes de l'oxydation (**Maurent, 2017**).

C'est une substance chimique plus ou moins complexe qui réduit le stress oxydant au sein du corps (**Bonnefont, 2004**).

Il peut se comporter de diverses manières : capturer les substances qui déclenchent la réaction radicalaire, capturer les ions métalliques comme le Fe^{2+} , éviter la formation de peroxydes en neutralisant l'anion superoxyde, inhiber la réaction de propagation dans la réaction radicalaire en cours ou diminuer la concentration en O_2 (**Maurent, 2017**).

Les propriétés bénéfiques attendues de ces molécules dans le cadre de la prévention du cancer sont leur potentiel à réduire les dommages à l'ADN et donc le taux de mutation, à réduire la prolifération cellulaire et à réduire la migration cellulaire (**Senss et al., 2012**).

5.1. Classes des antioxydants

Tableau 2 : Classes des antioxydants.

Antioxydant Synthétique :	buthylhydroxyanisole (BHA) butylhydroxytoluène (BHT) gallate de propyle (PG) tétrabutylhydroquinone (TBHQ)	(Wang et al., 2003)
Antioxydants Enzymatiques :	<i>Enzymes primaires :</i> SOD, Catalase, Glutathion, Peroxydase <i>Enzymes secondaires :</i> Glutathion réductase, déshydrogénase glucose-6, phosphate	(Ratnam et al., 2006)
Antioxydant d'origine végétale :	-caroténoïde : la lutéine, β carotènes, xanthophylles -polyphénol	(Sebei et al., 2007)

5.2. Mécanismes d'action des antioxydants

Il existe différents mécanismes d'action des antioxydants, qui sont de nature différente et agissent en synergie. Ils peuvent se sacrifier pour capturer l'électron non apparié d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant, ou bien réduire enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène. Ils ont également pour effet de capter l'oxygène singulet, de désactiver les radicaux par réaction d'addition covalente, de réduire les radicaux ou les peroxydes, de complexer les ions et les métaux de transition. Ces antioxydants d'origine naturelle, en tant que composants alimentaires, semblent jouer un rôle important dans la prévention de maladies comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires (Hellal Z, 2011).

6. Activité antioxydante

Ces dernières décennies ont vu une expansion significative des tests d'activité antioxydante pour mesurer l'efficacité de nouveaux composés. De nombreuses méthodologies ont été mises au point, permettant d'évaluer divers aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant dans différentes conditions (**Thomas, 2016**).

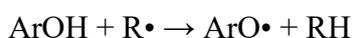
Les méthodes pour évaluer l'activité antioxydante de substances ou d'extraits naturels sont très variées. Puisque les mécanismes d'oxydation sont nombreux et complexes, il est très difficile de les standardiser et il n'y a pas de test idéal. Pour déterminer précisément le potentiel antioxydant d'un échantillon, il est possible de combiner différentes méthodes. Ces méthodes reposent sur l'emploi de radicaux libres (TEAC, DPPH, ORAC, TRAP) ou d'ions métalliques (Folin-Ciocalteu, FRAP) (**Merck, 2017**).

6.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont une catégorie de métabolites secondaires largement présents dans le règne végétal et donc dans notre alimentation, notamment via la consommation de fruits et de légumes. Leur structure chimique se caractérise par la présence d'un ou plusieurs groupes phénoliques (par exemple, un groupement OH attaché à un noyau aromatique). Leur étude a considérablement augmenté au cours des dernières décennies en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé, attribués principalement à leurs propriétés antioxydantes. De plus, les polyphénols jouent un rôle dans la prévention et le traitement de diverses maladies, y compris les cancers, les maladies cardiovasculaires et les maladies dégénératives.

Les polyphénols sont également employés comme additifs dans l'industrie agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Leur mécanisme de piégeage des radicaux libres s'effectue par le transfert de l'atome d'hydrogène (HAT).

Par transfert de l'atome d'hydrogène de l'antioxydant (ArO-H) vers le radical (R•), le radical libre est réduit :



Il sera possible de stabiliser le radical ArO^\bullet en délocalisant les électrons π , en effectuant un nouveau transfert d'atome d'hydrogène qui entraîne la formation d'une quinone, ou en réagissant avec un autre radical libre.

L'importance des polyphénols réside dans leur capacité à interagir avec les métaux de transition, en particulier le fer et le cuivre. Effectivement, les ROS sont générées en grande quantité par la réduction d' O_2 par Fe^{2+} ou Cu^+ , ce qui conduit à la formation de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène. Le mécanisme antioxydant consiste à créer des complexes chélateurs stables et inertes (**Merck, 2017**).

7. L'inflammation

L'inflammation correspond à la réaction du corps face à une blessure, à une infection, à une exposition à des toxines ou à d'autres traumatismes (**Singh et al., 2019**).

L'inflammation est un élément essentiel de la défense du corps. Le processus de guérison commence lorsque le système immunitaire reconnaît et élimine les stimuli nocifs et étrangers. On peut observer une inflammation aiguë ou chronique (**Pahwa et al., 2024**).

Le début de l'inflammation aiguë est rapide et dure quelques heures ou quelques jours, tandis que, si la réponse inflammatoire ne parvient pas à éliminer sa cause, une phase chronique se produit (**Lombardo et al., 2020**).

Si l'inflammation persiste ou si certains mécanismes de contrôle chargés d'arrêter le processus échouent, elle peut devenir chronique. Quand ces réponses inflammatoires se prolongent, il est possible que des mutations et une prolifération cellulaire se produisent, ce qui peut souvent favoriser le développement du cancer (**Singh et al., 2019**).

On considère que l'inflammation est une réaction physiologique essentielle qui contribue aux symptômes de différentes maladies chroniques, y compris les maladies auto-immunes comme l'arthrite et le diabète, la maladie d'Alzheimer et le cancer. En général, on utilise des médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens pour traiter les maladies inflammatoires, mais leur utilisation prolongée entraîne différents effets secondaires, ce qui limite leur utilisation dans des groupes spécifiques

de la population. Par conséquent, il est essentiel d'utiliser des ingrédients anti-inflammatoires d'origine végétale, qui sont naturels, sûrs et efficaces, et qui présentent des effets secondaires minimales (**Pereira et al., 2023**).

7.1 Mécanisme d'action

Quand le corps est exposé à une infection, il déclenche une réponse immunitaire afin de détruire le pathogène. La réponse immunitaire se caractérise par une cascade inflammatoire qui peut aussi entraîner des dommages importants aux tissus de l'hôte. De nombreux événements vasculaires sont causés par l'inflammation, tels que la formation et la rupture de plaques athérosclérotiques, la formation d'anévrismes aortiques, l'angiogenèse et les dommages causés par l'ischémie/reperfusion. Les leucocytes circulants et résidents et les cellules avec lesquelles ils interagissent (endothélium vasculaire, cellules musculaires lisses) sont à la fois des médiateurs de la réponse immunitaire. Les médiateurs libérés et affichés sont responsables de l'organisation du processus. Cela englobe la production de molécules d'adhésion sur les leucocytes et l'endothélium vasculaire sous-jacent, ainsi que la libération de cytokines, de chimiokines, de métalloprotéases destructrices de tissus et d'espèces réactives de l'oxygène (**Pereira et al., 2023**).

8. Activité anti fongique

Au cours des deux dernières décennies, les infections fongiques sont devenues une cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients immunodéprimés et affaiblis. Une préoccupation majeure dans le traitement de ces infections réside dans le nombre restreint de médicaments antifongiques efficaces disponibles. De nombreux médicaments actuels sont toxiques, favorisent les récurrences car ils sont fongostatiques plutôt que fongicides, ou entraînent le développement de résistances, en partie en raison de la prolongation des périodes d'administration. Bien que de nouvelles alternatives telles qu'une nouvelle génération de triazoles, des polyènes formulés en lipides, l'utilisation d'échinocandines ou la thérapie combinée aient été introduites au cours des dix dernières années, les infections fongiques demeurent difficiles à éradiquer. Ainsi, il est clair qu'il est nécessaire de découvrir de nouvelles structures dotées de propriétés antifongiques, ce qui pourrait conduire au développement de nouveaux médicaments pour traiter ces infections (**Sortino et al., 2007**).

8.1 Introduction sur les champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes, ces petits micro-organismes, sont les responsables surnommés de nombreuses maladies fongiques qui ravagent les cultures agricoles partout dans le monde. (Cimanga *et al.*, 2002) Leur importance est immense, car ils peuvent provoquer des pertes économiques considérables et menacer la sécurité alimentaire mondiale (Laroui., 2021) Bien que les humains aient observé ces pathogènes depuis des siècles, ce n'est qu'au 19^{ème} siècle que les scientifiques, grâce à des pionniers comme Anton de Bary, ont vraiment commencé à comprendre leur rôle crucial dans les maladies des plantes. (Matta., 2010)

8.2 Principales catégories de champignons phytopathogènes

8.2.1 Basidiomycètes

Les basidiomycètes comprennent des agents pathogènes majeurs comme les rouilles et les charbons, qui affectent de nombreuses cultures.

8.2.2 Ascomycètes

Les ascomycètes, quant à eux, incluent des champignons comme les moisissures et les oïdiums, infectant une grande variété de plantes.

8.2.3 Oomycètes

Bien que souvent classés parmi les champignons, les oomycètes, tels que ceux responsables du mildiou, sont en réalité plus proches des algues. Ils jouent néanmoins un rôle crucial dans les maladies des plantes.

8.2.4 *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum est un champignon phytopathogène appartenant au genre *Fusarium*.

C'est l'un des agents causaux majeurs de la maladie connue sous le nom de flétrissement vasculaire ou fusariose vasculaire. (Srinivas *et al.*, 2019) Ce pathogène fongique cause des dommages importants sur de nombreuses cultures à travers le monde en raison de sa persistance dans les sols et de sa grande diversité d'hôtes. (Rahman *et al.*, 2021)

8.3 Cycle de vie et mode de transmission

Le cycle de vie d'un champignon phytopathogène comporte plusieurs étapes clés : l'infection initiale, la colonisation de l'hôte, la reproduction (sexuée ou asexuée) et la dissémination des spores. Ces champignons se propagent principalement par l'air (spores aériennes), par l'eau (éclaboussures, irrigation) ou par le sol (infection racinaire).

8.3.1 Symptômes et diagnostics des infections

Les symptômes typiques des infections fongiques incluent des taches sur les feuilles, des décolorations, des flétrissements et des pourritures. Ces infections peuvent réduire la photosynthèse, affaiblir les plantes et même causer leur mort, entraînant des pertes de rendement significatives. Le diagnostic repose sur l'observation visuelle des symptômes, ainsi que sur des techniques de laboratoire comme la culture de champignons et l'analyse moléculaire.

8.3.2 Lutte antifongique en cultures maraichères

Pour gérer les infections fongiques, diverses stratégies sont mises en œuvre, incluant des méthodes chimiques, biologiques et culturales.

8.3.3 Méthodes chimiques

Les fongicides agissent en inhibant des processus biologiques essentiels des champignons, comme la synthèse des parois cellulaires ou la respiration. Cependant, l'usage excessif de ces produits pose des problèmes de résistance chez les champignons et des impacts environnementaux négatifs.

8.3.4 Méthodes biologiques

Les méthodes biologiques utilisent des agents de biocontrôle tels que des bactéries antagonistes pour combattre les champignons pathogènes.

8.3.5 Méthodes culturales

Les pratiques culturales, comme la rotation des cultures et l'utilisation de variétés résistantes, visent à améliorer les conditions de croissance des plantes pour limiter les infections fongiques.

Focus sur les Moisissures Affectant les Tomates

Un exemple emblématique de maladie fongique est la moisissure grise des tomates, causée par *Fusarium oxysporum*. Les symptômes incluent des taches grises et aqueuses sur les feuilles, les tiges et les fruits, entraînant une pourriture extensive et une perte de qualité des récoltes.

8.3.6 Impact économique

Les champignons phytopathogènes ont un impact économique majeur. Ils causent des pertes de récoltes importantes et engendrent des coûts élevés liés à la gestion des maladies, incluant les fongicides, le diagnostic, et les pertes de rendement. Tout cela pèse lourdement sur l'économie agricole mondiale. (Lestari et al.,2023).

Évaluation de l'Activité Antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique des traitements est cruciale pour déterminer leur efficacité.

8.3.7 Méthodologies *in vitro*

Les tests de diffusion sur agar, les tests de dilution en milieu liquide, et la bio autographie sont utilisés pour mesurer l'inhibition de la croissance fongique.

8.3.8 Méthodologies *in vivo*

Les tests *in vivo* sur plantes permettent d'évaluer l'impact des traitements directement sur les cultures, en prenant en compte des critères tels que la réduction de la sporulation et la sévérité des symptômes.

Matériels et Méthodes

But et objectif du travail

Notre travail s'est concentré sur l'étude de trois espèces végétales, comprenant deux espèces de la famille des *Asteraceae* et une espèce de la famille des *Liliacées*.

Dans le but d'évaluer les activités antioxydantes, anti inflammatoire et antifongique dans les

Six extraits. (AS CHCl₃, Lc butanolique, Huile essentiel, As ether, Lc acétate, Lc ether).

1. Matérielle biologique

1.1 Matérielles végétales :

Pour notre évaluation biologique, nous avons sélectionné trois espèces végétales, comprenant deux espèces de la famille des *Asteraceae* et une espèce de la famille des *Liliaceae*. La famille des *Asteraceae*, également connue sous le nom de *Compositae*, est caractérisée par des inflorescences en capitule où de nombreuses petites fleurs sont regroupées pour former ce qui semble être une seule fleur. Cette famille est très diversifiée et cosmopolite, s'adaptant à une variété de conditions environnementales. Les plantes de cette famille sont souvent utilisées pour des raisons ornementales, alimentaires et médicinales. D'autre part, la famille des *Liliacées* comprend des plantes généralement bulbeuses avec de grandes fleurs voyantes ayant six tépales et six étamines. Ces plantes sont typiquement trouvées dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et sont reconnues pour leurs propriétés ornementales ainsi que leurs utilisations en phytothérapie. En combinant ces familles aux caractéristiques distinctes, notre étude vise à évaluer les réponses biologiques à divers traitements environnementaux et conditions de culture.

2. méthodes d'extraction

2.1. Hydrodistillation avec système clevenger

Pour réaliser une hydrodistillation à l'aide d'un système Clevenger, le matériel végétal fut préparé en le coupant en petits morceaux. Ce matériel fut placé dans un ballon de distillation, puis de l'eau distillée fut ajoutée pour immerger complètement les plantes. L'appareil de distillation fut monté en connectant le ballon à la colonne de distillation du système Clevenger et à un condenseur à reflux. Le ballon fut chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon pour porter le mélange à ébullition. La vapeur d'eau entraîna

les huiles essentielles qui se condensèrent dans le condenseur. Le distillat formé retourna dans le bras latéral du système Clevenger, où l'eau et les huiles essentielles se séparèrent naturellement. Les huiles essentielles, étant moins denses, flottèrent au-dessus de l'eau et furent recueillies dans la partie supérieure du bras du Clevenger. La distillation continua jusqu'à ce que la majeure partie des huiles essentielles soit extraite, ce qui prit plusieurs heures. Enfin, les huiles essentielles séparées furent récupérées, stockées dans des flacons ambrés pour les protéger de la lumière et conservées dans un endroit frais.

2.2. Extraction

Pour l'extraction des extraits hydroalcooliques des plantes, 400 g de matière végétale sèche broyée furent utilisés. Cette matière végétale fut mise en macération avec un mélange hydroalcoolique pour obtenir un extrait brut. L'extrait brut obtenu fut ensuite évaporé pour éliminer les solvants, laissant un résidu sèche. Ce résidu fut solubilisé dans 100 mL d'eau distillée, puis soumise à une extraction liquide-liquide avec différents solvants organiques de polarité croissante. Les solvants utilisés, à raison de 100 mL chacun en triplicata, furent : éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et butanol. Chaque extraction fut réalisée en trois étapes consécutives, permettant une séparation efficace des composés selon leur polarité. À la fin du processus, quatre extraits distincts furent obtenus pour chaque espèce de plante étudiée, correspondant aux solvants utilisés.

Activité biologique

3. Activité antioxydante

Ce travail a été réalisé au sein de laboratoire de biochimie (laboratoire 5) au niveau du centre de recherche en biotechnologie de Constantine (CRBT).

3.1. Dosage des polyphénols totaux

Principe

Le dosage des polyphénols totaux est effectué en suivant la méthode colorimétrique décrite par Muller et al. (2010) (**Muller et al., 2010**), qui utilise le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique

($H_3[P(W_3O_{10})_4]$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3[PMO_{12}O_{40}]$). Lors de l'oxydation des phénols, ce mélange est réduit en des oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration obtenue, qui est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux, est mesurée à une longueur d'onde comprise entre 725 et 750 nm (**Manon Bonnot, 2022**).

Mode opératoire

Pour effectuer le dosage, 1 mg d'extrait est dissous dans 1 mL de méthanol. Ensuite, 20 μ l de cette solution sont placés dans une microplaque à 96 puits, auxquels sont ajoutés 100 μ l de FCR à 10% et 75 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3). Le mélange est incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 2 heures, puis l'absorbance est mesurée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière, mais en remplaçant l'extrait par du méthanol.

Préparation de la gamme d'étalon d'acide gallique

Une courbe d'étalonnage standard a été établie simultanément dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant une solution mère préparée à partir d'acide gallique. Cette solution mère est obtenue en dissolvant 1 mg d'acide gallique dans 5 mL de méthanol (MeOH), ce qui donne une concentration de 200 μ g/mL. Ensuite, une série de dilutions a été réalisée à partir de cette solution mère.

Tableau 3 : La gamme d'étalon d'acide gallique.

Concentrations de la solution étalon (L'acide gallique)	Dilutions de la solution S1
25 μ g /mL	25 μ l de S1+ 175 μ l de MeOH
50 μ g /mL	50 μ l de S1+ 150 μ l de MeOH
75 μ g /mL	75 μ l de S1+ 125 μ l de MeOH
100 μ g /mL	100 μ l de S1+ 100 μ l de MeOH
125 μ g /mL	125 μ l de S1+ 75 μ l de MeOH
150 μ g /mL	150 μ l de S1+ 50 μ l de MeOH

175µg /mL	175µl de S1+ 25µl de MeOH
200µg /mL	200µl de S1

Après avoir déposé 20 µL de chaque dilution dans une microplaque, ajoutez 100 µL de FCR dilué à un rapport de 1:10, puis ajoutez 80 µL de Na₂CO₃ à 7,5%. Laissez l'incubation se poursuivre pendant 2 heures avant de lire l'absorbance à une longueur d'onde de 765 nm.

3.2. Dosage des flavonoïdes

Principe

La quantification des flavonoïdes a été réalisée en utilisant une méthode qui repose sur la formation d'un complexe stable entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène situés sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Ali-Rachedi et al., 2018**). Cette méthode est une version modifiée de celle décrite par Topçu et al. (2007).

Mode opératoire

Une quantité de 1 mg d'extrait est dissoute dans 1 mL de méthanol. Dans une microplaque à 96 puits, 50 µL de l'extrait sont ajoutés à 100 µL de méthanol. Ensuite, 20 µL de Nitrite de sodium et 20 µL de Chlorure d'aluminium sont ajoutés. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 40 minutes à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée à 415 nm. Un blanc est préparé en remplaçant les réactifs par du méthanol (50 µL d'extrait + 150 µL de méthanol).

Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine

Une solution mère (S1) de quercétine a été préparée en dissolvant 1 mg dans 5 mL de méthanol pour obtenir une concentration de 200 µg/mL. Les dilutions sont préparées dans des tubes Eppendorf comme décrit dans le tableau 4.

Tableau 4 : La gamme d'étalon de la quercétine.

Concentrations de la solution étalon (Quercétine)	Dilutions de la solution mère
25µg/mL	25µl de S2+ 175µLde MeOH
50µg/mL	50µl de S2+ 150µLde MeOH
75µg/mL	75µl de S2+ 125µLde MeOH
100µg/mL	100µl de S2+ 100µL de MeOH
125µg/mL	125µl de S2+ 75µL de MeOH
150µg/mL	150µl de S2+ 50µL de MeOH
175µg/mL	175µl de S2+ 25µl de MeOH
200µg/mL	200µl de S2

50 µL de chaque dilution sont transférés dans une microplaque, suivis de l'addition de 130 µL de méthanol, 10 µL d'acétate de potassium (CH_3COOK) et 10 µL de nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3, 9\text{H}_2\text{O}$).

Après une incubation de 40 minutes, la lecture est effectuée à 415 nm. Enfin, une courbe d'étalonnage de la quercétine est établie.

3.3. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

L'évaluation de l'activité antioxydante peut être réalisée à l'aide de diverses méthodes, telles que le test DPPH, le test FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power), le test ABTS de piégeage de radicaux et le test à la phénanthroline.

3.3.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH

Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α, α -diphényl- β -picrylhydrazyle), couramment appelé DPPH, a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour explorer la relation entre la structure des composés phénoliques et leur activité antioxydante (Figure)

(Popovici et al., 2009). Il s'agit d'un radical libre stable, susceptible d'être réduit par le transfert d'un atome d'hydrogène provenant d'autres composés (De Torre et al., 2019).

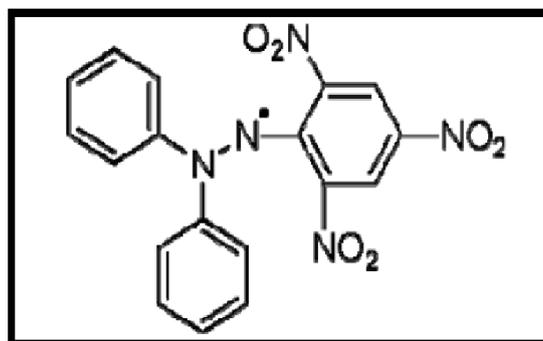


Figure 3 : Structure chimique du radical libre DPPH (Popovici et al., 2009).

Le test DPPH est basé sur la capacité des antioxydants à céder des électrons pour neutraliser le radical DPPH, provoquant un changement de couleur de violet à jaune (Munteanu et Apetrei, 2021). Ce changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517 nm, permettant ainsi de déterminer le potentiel antioxydant d'une substance ou d'un extrait de plante (Popovici et al., 2010).

Mode opératoire

Pour la préparation des échantillons ; une quantité de 4 milligrammes d'extrait a été dissoute dans 1 mL du méthanol, ensuite une série de dilution au ½ de la solution mère est préparée. Ces dilutions ont été utilisées pour toutes les méthodes. Le test de DPPH a été réalisé suivant la méthode décrite par Blois., (1958). Dans une microplaque à 96 puits, 40µL des différentes concentrations de l'échantillon sont ajoutés à 160 µL de solution de DPPH (0,004 %). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé par le mélange de 40 µL du méthanol et 160 µL de la solution méthanique de DPPH. Après une incubation de 30 min à température ambiante, l'absorbance a été lue à 517 nm.

3.3.2. Pouvoir réducteur de FRAP

Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait végétal est lié à son activité antioxydante. La méthode d'Oyaizu (1986) a été utilisée pour évaluer l'activité réductrice du fer, qui repose sur la transformation du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Hubert, 2006). Ce processus

de réduction se manifeste par un changement de couleur, passant du jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) au bleu-vert du fer ferreux (Fe^{2+}). L'intensité de cette coloration, mesurée à 700 nm, est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits analysés (**Jayaprakash et al., 2001**).

Mode opératoire

Sur une microplaque, une solution contenant 10 μL d'extrait, 40 μL de tampon phosphate (pH 6.6) et 50 μL de potassium ferricyanure (1%) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ a été préparée, suivie d'une incubation à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, 50 μL de TCA (10%), 40 μL d'eau et 10 μL de chlorure ferrique FeCl_3 (0.1%) ont été ajoutés avant de procéder à la lecture à 700 nm.

Parallèlement, un contrôle négatif est préparé par le mélange de 10 μL Méthanol et 40 μL de tampon et 50 μL de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ suivie d'une incubation à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, 50 μL de TCA (10%), 40 μL d'eau et 10 μL de chlorure ferrique FeCl_3 (0.1%) ont été ajoutés avant de procéder à la lecture à 700 nm aussi.

3.3.3 Test de l'activité ABTS

Principe Le test ABTS a été initialement développé par Miller et son équipe en 1993 comme une méthode pratique pour évaluer la capacité antioxydante totale. Ce test mesure la capacité des antioxydants à neutraliser le cation radical stable 2,2'-azinobis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique) ($\text{ABTS}^{\bullet+}$), qui est un chromophore bleu-vert absorbant à une longueur d'onde maximale de 734 nm. L'intensité de cette couleur diminue en présence d'antioxydants. Le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est produit à partir de l'ABTS en présence d'antioxydants puissants. La diminution de l'absorbance à 734 nm, mesurée comme une chute brusque de la couleur bleu-vert, est proportionnelle à la durée de la réaction, à l'activité antioxydante intrinsèque et à la concentration de l'échantillon.

Mode opératoire

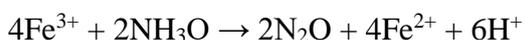
L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et al. (1999). Un volume de 160 μL de la solution ABTS et 40 μL d'extrait ont été déposés sur une microplaque. Après une incubation de 10min à température ambiante, une lecture est réalisée à 734 nm.

3.3.4. Test de l'activité phénanthroline

Principe

L'activité phénanthroline est évaluée selon la méthode décrite par Szydłowska-Czerniak en 2008. Le fer est dissous dans une solution, réduit à l'état ferreux par ébullition avec de l'acide et de l'hydroxylamine, puis traité avec de la 1,10-phénanthroline (C₁₂H₈N₂) à un pH de 3,2 à 3,3. Chaque atome de fer ferreux chélate avec trois molécules de phénanthroline pour former un complexe rouge orangé, connu sous le nom de complexe féroïen.

L'équation de réduction de l'ion Fe³⁺ en ion Fe²⁺ est la suivante (**Bhim Prasad Kafle., 2020**) :



Mode opératoire

Sur une microplaque à 96 puits, 10 µL d'extrait sont déposés, puis 50 µL de FeCl₃ (0.2%), 30 µL de phénanthroline (0.5%), et 110 µL de MeOH sont ajoutés. Après une incubation à l'obscurité pendant 20 minutes à 30°C, la lecture est effectuée à 510 nm. Le BHT est employé comme référence standard.

4. Méthodes de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* :

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA) :

Principe

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes, nous avons utilisé le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, tel que décrit par Kandikattu (2013). Ce test repose sur la capacité des extraits de plantes à empêcher la dénaturation de l'albumine de sérum bovin (BSA) induite par la chaleur à 72°C.

Mode opératoire

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire, nous avons préparé une gamme de concentrations pour chaque extrait végétal, allant de 0 à 80 mg/mL. Ensuite, 1 mL de

chaque dilution a été ajouté à 1 mL d'une solution de BSA à 0,2 %, préparée dans du Tris-HCl (0,05 M, pH 6,6). Le mélange obtenu a été incubé à 37°C pendant 15 minutes, puis à 72°C pendant 5 minutes. Après incubation, le mélange a été agité, refroidi rapidement et la turbidité a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour chaque concentration d'extrait, un blanc composé de 1 mL d'extrait et de 1 mL de Tris-HCl (0,05 M, pH 6,6) a été préparé pour soustraire l'absorbance de l'extrait et du Tris-HCl des résultats obtenus.

Le diclofénac a été utilisé comme anti-inflammatoire de référence dans ce test, et son activité a été évaluée dans les mêmes conditions expérimentales que celles appliquées aux échantillons.

4.2. Activité anti hémolytique

La méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) :

Cette approche s'est concentrée sur l'utilisation du sang, en particulier des globules rouges, pour étudier leurs membranes. En raison de leur similitude avec la membrane lysosomale, ils peuvent être considérés comme un moyen de stabiliser cette dernière. La stabilisation de la membrane lysosomale par des médicaments ou des échantillons peut être interprétée comme une mesure de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*.

L'effet inhibiteur de l'hémolyse des globules rouges par les extraits a été évalué en utilisant des globules rouges de rats Wistar, exposés à deux types de stress : osmotique et thermique. Lorsque les globules rouges sont soumis à des concentrations de sels hypotoniques et à la chaleur, la rupture de la membrane entraîne la libération de l'hémoglobine présente dans le cytoplasme.

4.2.1 Préparation de la suspension des globules rouges

Selon la méthode d'Abe et al avec une légère modification. (Abe et al., 1991)

- un prélèvement sanguin au niveau de la veine porte des rats Wistar albinos suivie par le mis dans les tubes héparinés pour empêcher la coagulation.

- centrifugation des tubes obtenus à 1300 g pendant 10 min à 4°C pour la séparation des hématies du sang aux autres constituants sanguins.
- juste après la centrifugation, le surnageant a été retiré, suivie par le lavage de culot avec de l'eau physiologique (0,9 % Na Cl) trois fois consécutifs où à chaque fois on centrifuge pendant 5 min à une vitesse de 1300 g à la centrifugeuse réfrigérée jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair.
- avec du tampon phosphate salin (PBS pH 7,5 ; 0,9 % Na Cl), la suspension de 10 % (v/v) des érythrocytes a été préparée en mesurant le volume des globules rouges.

4.2.2 La méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges

Cette méthode a été appliquée selon le protocole décrit par (**Ganesh et al., 2013**)

L'étude porte sur l'impact des différents extraits sur la stabilisation des érythrocytes après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique combinée à des températures élevées.

Protocole :

- Des tubes à essai ont été utilisés, dans lesquels 0,5 mL d'extraits d'acétate d'éthyle, de n-butanol et de bulbes (préparés dans une solution saline à 0,9%) ont été ajoutés à 1,5 mL de tampon phosphate (0,15 M, pH 7,4), suivis de l'ajout de 2 mL de solution hypotonique (Na Cl à 0,36%). Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 20 minutes.
- Après l'incubation, 0,5 mL de suspension d'érythrocytes à 10 % ont été ajoutés à chaque tube, suivi d'une incubation à une température légèrement élevée de 56 °C pendant 30 minutes. Les tubes ont ensuite été refroidis dans de l'eau du robinet pendant 20 minutes.
- Une fois l'incubation terminée, les tubes ont été centrifugés à 1300g pendant 5 minutes dans une centrifugeuse réfrigérée.
- Le contrôle consistait en un mélange de 2 mL de solution hypotonique, 2 mL de tampon PBS, 0,5 mL de suspension de globules rouges et 0,5 mL d'eau physiologique.

- L'acide gallique a été utilisé comme molécule standard de traitement *in vitro* pour les activités anti-inflammatoires, avec les mêmes concentrations que l'extrait.
- Un blanc a été préparé dans le but de soustraire l'absorbance de l'extrait pour chaque concentration d'extrait ou de standard et du PBS des résultats.
- La lecture de l'absorbance du surnageant a été effectuée à une longueur d'onde de 560 nm dans un spectrophotomètre.

5. Evaluation de l'activité anti fongique des extraits

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire de Mycologie du CRBt (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine).

L'analyse *in vitro* de l'activité antifongique vise à évaluer l'effet inhibiteur de la croissance du champignon « *Fusarium oxysporum* f. sp lycopersici » dans un milieu PDA (Pomme de terre, Dextrose, Agar), en présence du composé à tester (Song et al., 2004) .

Protocole et préparation du test anti fongique

Préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar) Le milieu PDA, utilisé pour les tests antifongiques, est préparé en suivant les étapes suivantes :

1. Faire bouillir 220 g de pommes de terre dans 900 mL d'eau distillée pendant 15 minutes.



Figure 4 : Préparation du milieu de culture de l'activité anti fongique.

2. Filtrer le mélange et compléter le volume à 1100 mL avec de l'eau distillée.

Matériels et méthodes

3. Ajouter 22 g de glucose et 16.5 g d'agar au filtrat sous agitation et chauffage jusqu'à obtenir une solution claire.
4. Stériliser la solution obtenue en autoclave à 100 °C pendant 2 heures.

Réalisation du test antifongique

1. Préparer des extraits dans du méthanol à des concentrations de 100 mg/mL, 50 mg/mL, et 25 mg/mL.
2. Ajouter 1 mL de chaque concentration à 100 mL de milieu PDA refroidi à 60 °C, obtenant ainsi des concentrations finales de 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, et 0,25 mg/mL respectivement.
3. Répartir le milieu PDA dans 3 boîtes de Pétri stériles.
4. Après solidification, déposer aseptiquement un disque de la souche FOL au centre de chaque boîte.
5. Déposer les extraits sur la souche FOL.
6. Incuber les boîtes à 25 °C pendant 48 heures.

Contrôles

- Contrôle positif : Déposer un disque de la souche sur un milieu contenant uniquement du méthanol.
- Contrôle négatif : Déposer un disque de la souche directement sur le milieu PDA sans ajout.

Lecture des résultats

Mesurer le diamètre du mycélium de FOL et comparer avec le contrôle positif pour calculer le pourcentage d'inhibition à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (C_p - E_c) / C_p * 100$$

Où :

C_p est le diamètre du mycélium dans le contrôle positif.

E_c est le diamètre du mycélium dans les boîtes contenant les extraits.

Résultats et discussions

1. Activité anti oxydante *in vitro*

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits : Lc Ether, Lc acétate, As Ether, Lc butanolique, As CHCl₃ et l'huile essentiel a été réalisée par l'utilisation de six méthodes.

Les standards utilisés comme contrôle positifs sont : le BHA, BHT, acide ascorbique, alpha-tocophérol.

1.1 Teneur en polyphénols totaux

Dans le but de déterminer la teneur en polyphénols totaux, un dosage a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont présentés dans le tableau 5 et la figure 5, et sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait.

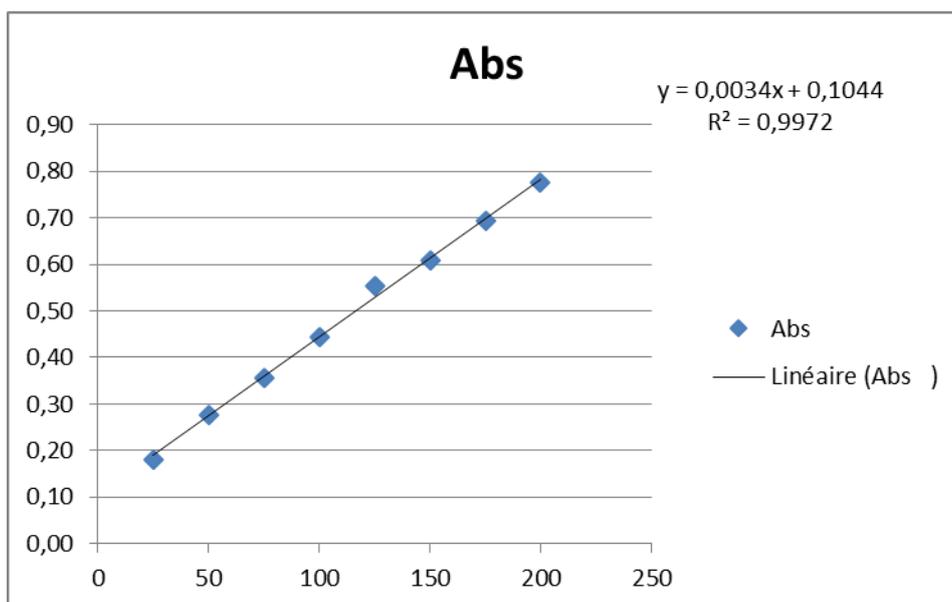


Figure 5 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 5 : Le contenu total en polyphénols des extraits.

Extraits	Contenues totales de composés phénoliques (en mg EAG/1g EXT)
LC Ether	83.90 ± 24.53
LC acétate	341.55 ± 75.16
AS Ether	24.29 ± 4.95
LC butanolique	64.20 ± 7.17
AS CHCl ₃	166.35 ± 25.48

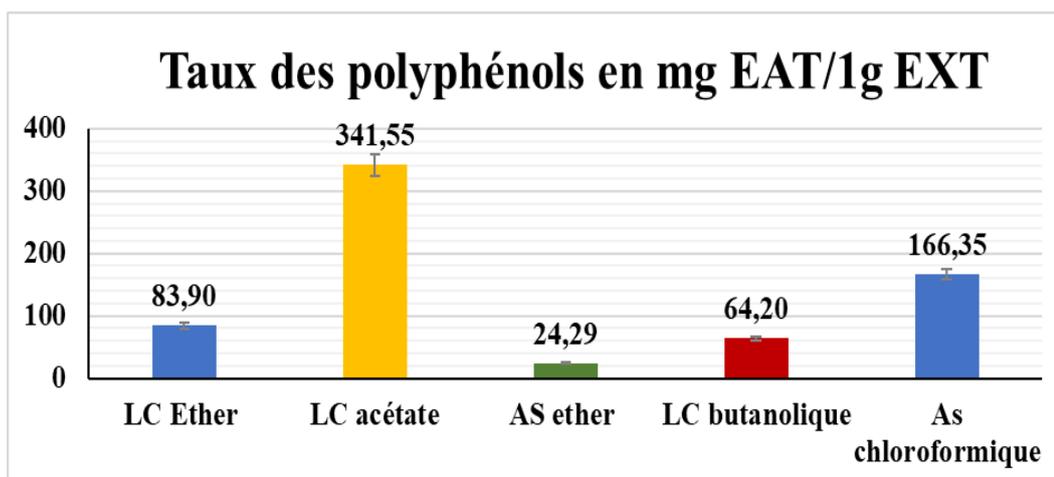


Figure 6 : Teneur en polyphénols totaux des extraits.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats montrent que l'extrait LC acétate est le plus riche en polyphénols avec une teneur de (**341.55 ± 75.16**Mg EAG/mg), suivi par l'extrait AS CHCl₃ (**166.35 ± 25.48**mg EAG/mg), après l'extrait LC Ether (**83.90 ± 24.53**mg EAG/mg) et le LC butanolique (**64.20 ± 7.17**mg EAG/mg), alors que l'extrait AS éther a montré la teneur la plus faible des polyphénols (**24.29 ± 4.95** mg EAG/mg).

1.2 Les flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été effectué en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3), adaptée de BAHROUM et ses collègues (1996). La quercétine a été utilisée comme étalon et l'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 415 nm. Les résultats sont représentés dans le tableau 6 et la figure 7.

Tableau 6 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits.

Extraits	Contenues totales de flavonoïdes (en mg EQU/1g EXT)
LC Ether	25.50 ± 5.89
LC Acétate	213.44 ± 16.45
AS Ether	46.42 ± 14.44
LC butanolique	92.30 ± 7.24
AS CHCl_3	23.94 ± 8.36

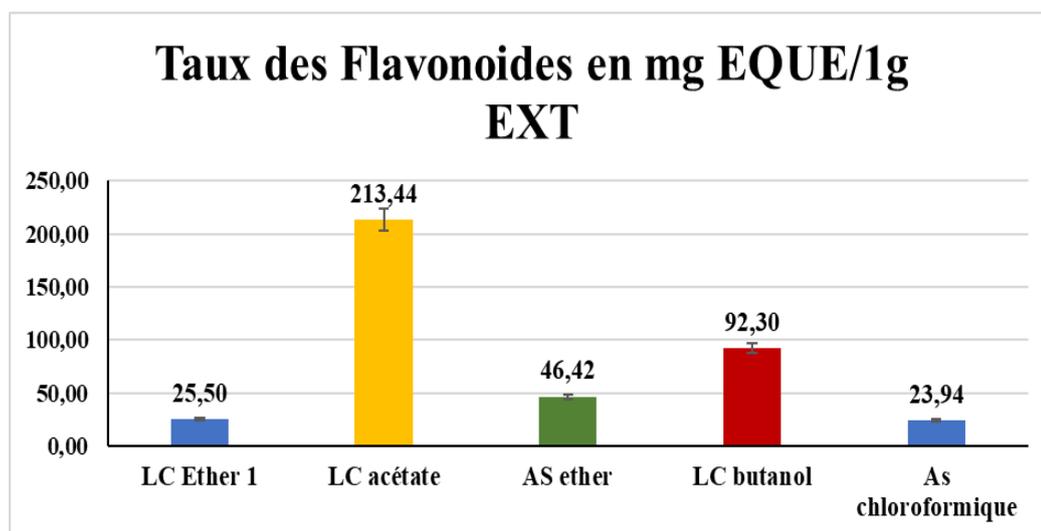


Figure 7 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits.

Les résultats montrent que l'extrait LC Acétate est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de ($213,44 \pm 16,45$ mg EQU/g EXT), suivi par l'extrait LC

Résultats et discussions

butanolique ($92,30 \pm 7,24$ mg EQUÉ/g EXT). Ensuite, il y a l'extrait AS éther ($46,42 \pm 14,44$ mg EQUÉ/g EXT), tandis que l'extrait LC éther et l'extrait AS CHCl_3 ont montré les teneurs les plus faibles de ($25,50 \pm 5,89$ mg EQUÉ/g EXT) et ($23,94 \pm 8,36$ mg EQUÉ/g EXT) respectivement.

1.3. Activité anti radicalaire au DPPH

L'activité anti-radicalaire de l'extrait sur le radical DPPH' a été estimée par spectrophotométrie à 517 nm après réduction de ce radical. Cela implique un changement de couleur du violet au jaune.

Les résultats ont été comparés aux standards BHA, BHT et α -Tocopherol

Tableau 7 : Inhibition du radicale DPPH par les extraits.

Extraits	Pourcentage Inhibition (%) de DPPH							
	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	400 μg	800 μg	IC ₅₀ $\mu\text{g/mL}$
Ext LC buta	19.03 \pm 3.53	24.14 \pm 2.93	37.36 \pm 1.88	50.64 \pm 4.33	70.86 \pm 6.35	90.21 \pm 0.56	99.83 \pm 0.58	134.47 \pm 26.68
Ext AS chlorformique	33.68 \pm 4.88	50.55 \pm 1.47	82.52 \pm 1.26	90.41 \pm 7.45	98.01 \pm 0.92	116.20 \pm 3.59	128.45 \pm 0.33	32.18 \pm 3.86
EXT Huile E AL	17.09 \pm 5.33	14.35 \pm 0.16	18.78 \pm 7.43	17.47 \pm 16.57	30.76 \pm 5.72	44.64 \pm 1.05	60.37 \pm 0.51	58.53 \pm 1.33
Ext LC Ether	26.11 \pm 14.33	31.5 \pm 1.42	60.56 \pm 1.08	89.28 \pm 2.30	93.00 \pm 0.44	100.83 \pm 1.17	114.16 \pm 0.73	46.73 \pm 0.53
Ext LC acétate	56.57 \pm 3.55	88.29 \pm 1.63	91.96 \pm 0.24	93.45 \pm 0.48	94.67 \pm 0.40	99.47 \pm 1.22	110.06 \pm 1.11	13.44 \pm 0.83
Ext AS éther	16.52 \pm 1.80	16.31 \pm 0.66	29.67 \pm 1.92	40.81 \pm 12.48	64.41 \pm 3.11	95.67 \pm 0.95	110.14 \pm 0.42	170.13 \pm 9.97
BHA	76,55 \pm 0,48	79,89 \pm 0,26	81,73 \pm 0,10	84,18 \pm 0,1	87,13 \pm 0,17	89,36 \pm 0,19	90,14 \pm 0,00	6.14 \pm 0.41
BHT	49,09 \pm 0,76	72,63 \pm 2,06	88.73 \pm 0,89	94.00 \pm 0,31	94.97 \pm 0,08	95.38 \pm 0,41	95.02 \pm 0,23	12.99 \pm 0.41
α -Tocopherol	37,21 \pm 1,82	81,53 \pm 1,51	89,23 \pm 0,12	89,38 \pm 0,19	89,45 \pm 0,22	89,99 \pm 0,23	89,52 \pm 0,33	13.02 \pm 5,17

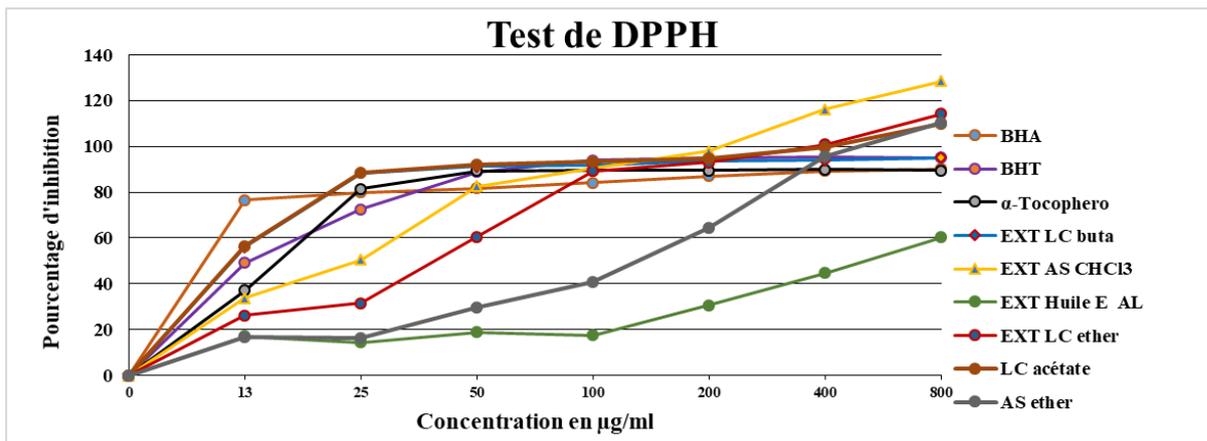


Figure 8 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits.

Résultats et discussions

Les résultats du test DPPH montrent que l'extrait LC acétate ($IC_{50} = 13,44 \pm 0,83 \mu\text{g/mL}$) possède l'activité anti-radicalaire la plus élevée, suivi de l'extrait AS CHCl_3 ($IC_{50} = 32,18 \pm 3,86 \mu\text{g/mL}$), qui présente la deuxième meilleure activité par rapport aux autres extraits. L'activité de l'extrait LC acétate est presque deux fois plus faible que celle du BHA ($IC_{50} = 6,14 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$). Cependant, il démontre une très bonne activité antioxydante par rapport aux standards BHT ($IC_{50} = 12,99 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$) et α -tocophérol ($IC_{50} = 13,02 \pm 5,17 \mu\text{g/mL}$). En revanche, l'extrait AS CHCl_3 a montré une activité cinq fois plus faible que celle du standard BHA ($IC_{50} = 6,14 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$) et presque trois fois plus faible que celle des standards BHT ($IC_{50} = 12,99 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$) et α -tocophérol ($IC_{50} = 13,02 \pm 5,17 \mu\text{g/mL}$).

Par ailleurs, l'extrait d'huile ($IC_{50} = 58,53 \pm 1,33 \mu\text{g/mL}$) et l'extrait LC éther ($IC_{50} = 46,73 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$) ont montré une activité environ neuf fois plus faible que celle du standard BHA ($IC_{50} = 6,14 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$) et presque quatre fois plus faible que celle des standards BHT ($IC_{50} = 12,99 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$) et α -tocophérol ($IC_{50} = 13,02 \pm 5,17 \mu\text{g/mL}$).

Enfin, les extraits LC butanolique ($IC_{50} = 134,47 \pm 26,68 \mu\text{g/mL}$) et AS éther ($IC_{50} = 170,13 \pm 9,97 \mu\text{g/mL}$) ont montré une activité antioxydante très faible, incomparable avec celle du BHA, BHT et α -tocophérol.

1.4 Activité du piégeage du cation radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$

Le test ABTS repose sur l'interaction entre un antioxydant et le cation radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (I. R. Ilyasov, 2020). En présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène, le cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$ subit une réduction, changeant ainsi sa couleur de bleu-vert à un état neutre incolore. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 734 nm.

L'ABTS a été analysé à l'aide d'un spectrophotomètre afin de surveiller la réduction de ce radical, marquée par un changement observable de la couleur bleu-vert à la décoloration de la solution. Trois répétitions ont été réalisées.

Les résultats sont représentés dans le tableau 8 et la figure 9 ont été comparés aux standards BHA et BHT.

Tableau 8 : Inhibition de l'ABTS⁺ par les extrais.

Extraits	Pourcentage Inhibition (%) d'ABTS							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
Ext buta LC	46.25±1.88	66.55±1.46	81.09±0.54	90.99±0.69	98.38±1.84	107.16±1.03	119.63±1.37	13.28±1.16
Ext CHCl ₃ AS	54.84±3.28	81.77±1.26	99.10±0.19	100.83±0.16	102.67±0.16	109.25±0.25	123.24±0.29	16.26±0,99
EXT Huile E AL	15.43±2.75	27.27±0.34	46.00±2.14	76.46±2.56	95.86±2.56	108.05±0.29	116.71±1.21	75.11±2.73
Ext Ether LC	26.11±14.33	31.5±1.42	60.56±1.08	89.28±2.30	93.00±0.44	100.83±1.17	114.16±0.73	37.41±1.10
Ext acétate LC	56.57±3.55	88.29±1.63	91.96±0.24	93.45±0.48	94.67±0.40	99.47±1.22	110.06±1.11	99.69±1.11
Ext éther AS	16.52±1.80	16.31±0.66	29.67±1.92	40.81±12.48	64.41±3.11	95.67±0.95	110.14±0.42	42.07±1.03
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62	1.03±0.00
BHT	49.22±0.75	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	1.59±0.03

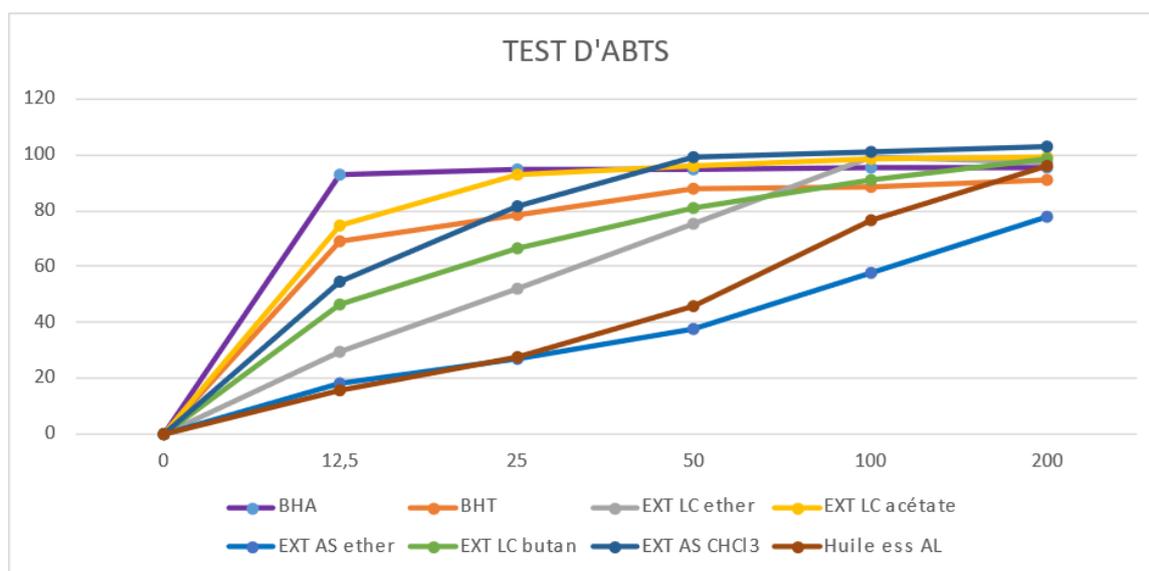


Figure 9 : Courbe montre la valeur d'IC₅₀ de test ABTS.

Les différents résultats de ce test montrent que l'Ext LC bu a une forte capacité de piéger le radical ABTS (IC₅₀ = 13.28 ± 1.16 µg/mL), suivie par l'Ext AS CHCl₃ (IC₅₀ = 16.26 ± 0,99 µg/mL) suivie par l'Ext LC ETHER (IC₅₀ = 37.41 ± 1.10 µg/mL), puis l'Ext AS ETHER (IC₅₀ = 42.07 ± 1.03 µg/mL) et ensuite l'Ext HEAL (IC₅₀ = 75.11 ± 2.73 µg/mL), et enfin l'Ext LC acétate (IC₅₀ = 99.69 ± 1.11 µg /mL), qui ont une faible activité en comparant avec les valeurs des références, cet extrait acétate Ext LC bu est

Résultats et discussions

faible 13 fois que BHT ($IC_{50} = 1.59 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$) BHA ($IC_{50} = 1.03 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$).
Alor l'extrait LC buta à une bonne activité antioxydante.

1.5. Evaluation de l'activité phénanthroline

Cette méthode simple repose sur la formation d'un complexe appelé féroïen, résultant de la réaction du fer aqueux sous forme ferreuse réduite (Fe^{2+}) avec la phénanthroline. Ce complexe présente une couleur rouge-orangée foncée et son absorbance est mesurée à 510 nm.

Les résultats sont présentés dans le tableau 9 ont été comparés avec les standards BHA et BHT.

Tableau 9 : Absorbance du pouvoire reducteur par la formation du complexe Fe+2 Phénanthroline des extraits.

Extraits	Absorbances de Phenanthroline							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	$A_{0.5}$ $\mu\text{g/mL}$
Ext ether LC	0.067±0.025	0.041±0.016	0.105±0.013	0.116±0.006	0.274±0.113	0.328±0.025	0.850±0.13	117.14±15.19
Ext acétate LC	0.244±0.003	0.257±0.036	0.274±0.008	0.431±0.024	0.650±0.023	0.870±0.062	0.941±6.38	450.17±42.65
Ext buta LC	0.244±0.008	0.214±0.009	0.249±0.008	0.351±0.034	0.403±0.020	0.540±0.036	0.781±0.073	174.55±23.73
Ext $CHCl_3$ AS	0.021±0.058	0.106±0.197	0.061±0.054	0.202±0.062	0.275±0.075	0.444±0.067	12.849±1.733	41.15±3.23
Ext Huile Ess AL	0.266±0.017	0.244±0.013	0.266±0.002	0.292±0.031	0.298±0.038	0.324±0.026	0.389±0.013	731.17±68.67
Ext Ether AS	18.793±0.982	11.654±0.241	0.708±0.056	0.582±0.030	0.419±0.016	0.363±0.028	0.304±0.021	16.50±4.44
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
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

D'après les résultats, l'extrait AS Éther exerce la meilleure activité de réduction du fer par rapport aux autres extraits, avec une valeur de ($A_{0.5} = 16,50 \pm 4,44 \mu\text{g/mL}$). Il est suivi de l'extrait AS $CHCl_3$ avec une valeur de ($A_{0.5} = 41,15 \pm 3,23 \mu\text{g/mL}$). L'activité de l'extrait AS Éther est 8 fois plus faible que celle du standard BHT ($A_{0.5} = 2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$) et 16 fois plus faible que celle du standard BHA ($A_{0.5} = 0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$). En revanche, l'extrait AS $CHCl_3$ est 20 fois plus faible que le standard BHT

Résultats et discussions

($A_{0.5} = 2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$) et 40 fois plus faible que le standard BHA ($A_{0.5} = 0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$).

Cependant, les extraits LC Éther, LC Butanolique, LC Acétate et l'huile essentielle ont montré les plus faibles activités, avec des valeurs respectives de ($A_{0.5} = 117,14 \pm 15,19 \mu\text{g/mL}$), ($A_{0.5} = 174,55 \pm 23,73 \mu\text{g/mL}$), ($A_{0.5} = 450,17 \pm 42,65 \mu\text{g/mL}$) et ($A_{0.5} = 731,17 \pm 68,67 \mu\text{g/mL}$), qui sont incomparables aux résultats des standards BHT ($A_{0.5} = 2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$) et BHA ($A_{0.5} = 0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$).

1.6 Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) est basé sur l'évaluation de la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}), de couleur jaune, en fer ferreux (Fe^{2+}), de couleur bleu vert en mesurant la valeur de $A_{0.5}$ et par comparaison avec les standards l'acide ascorbique et l' α -tocophérol (figure 10, tableau 10). Les absorbances sont mesurées à 700 nm.

Tableau 10 : Les absorbances du pouvoir réducteur FRAP.

Extraits	Absorbances de FRAP							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	$A_{0.5}$ $\mu\text{g/mL}$
Ext LC ether	0.031±0.005	0.047±0.013	0.042±0.014	0.090±0.022	0.073±0.022	0.182±0.221	0.602±0.117	146.85± 4.16
Ext LC acétate	0.026±0.005	0.063±0.036	0.147±0.039	0.154±0.021	0.464±0.128	0.442±0.164	0.406±0.121	34.87±2 3.78
Ext AS ether	0.006±0.005	0.005±0.008	0.023±0.004	0.036±0.018	0.047±0.031	0.081±0.038	0.143±0.059	202.96± 3.72
Ext LC buta	0.050±0.003	0.054±0.009	0.084±0.014	0.110±0.014	0.172±0.031	0.246±0.067	0.609±0.024	168.87± 6.95
Ext As CHCl_3	0.051±0.003	0.061±0.036	0.080±0.008	0.240±0.024	0.446±0.023	0.653±0.062	0.667±0.954	671.34± 43.16
Ext Huile Ess AL	0.002±0.002	0.016±0.022	0.012±0.009	0.058±0.007	0.110±0.015	0.081±0.105	0.163±0.108	191.44± 16.57
Acide ascorbique	0.35±0.05	0.46±0.03	0.84±0.12	0.93±0.30	1.18±0.34	1.37±0.20	1.44±0.21	6.77±1. 15
α -Tocopherol	0.11±0.00	0.16±0.00	0.21±0.03	0.35±0.03	0.73±0.03	1.37±0.08	1.81±0.09	34.93±2 .38

*

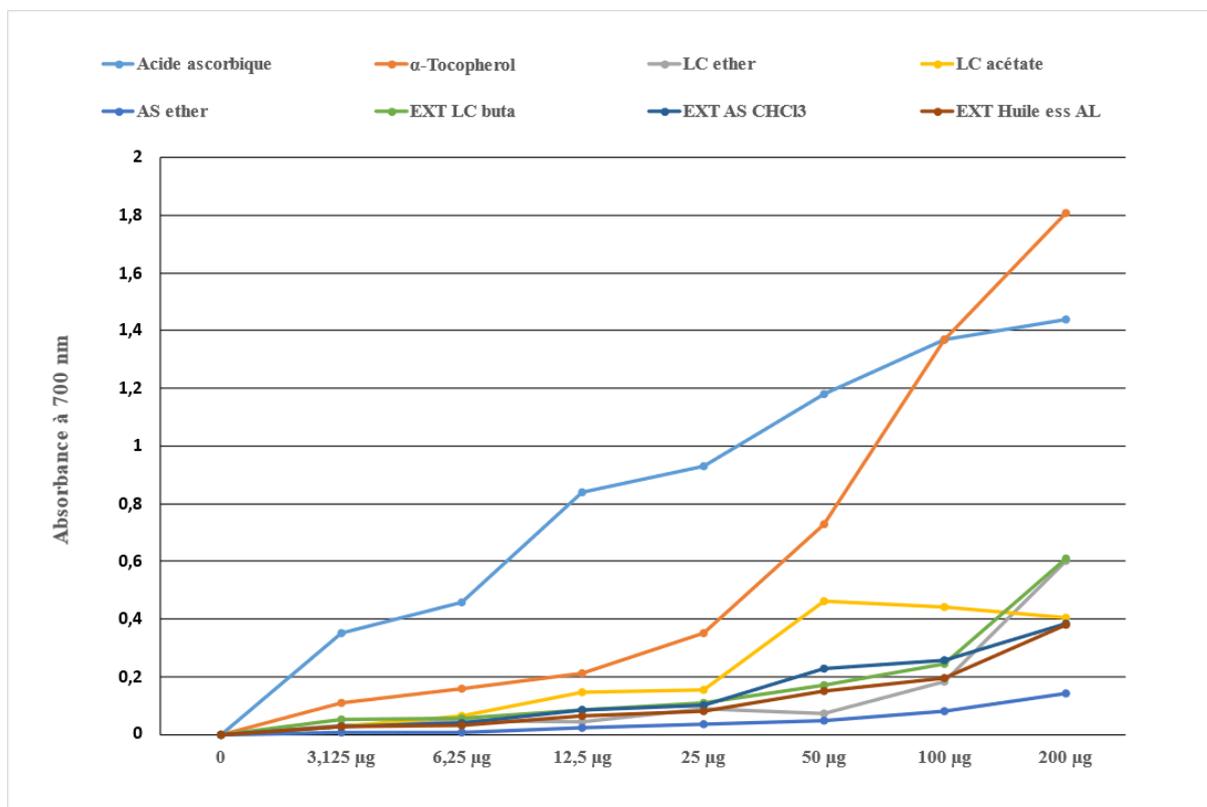


Figure 10 : Courbe montre les valeurs de $A_{0.5}$ du test FRAP.

Les résultats du test pouvoir réducteur montrent que l'extrait LC acétate a le meilleur résultat d'absorbance ($A_{0.5} = 34.87 \pm 23.78 \mu\text{g/mL}$) par rapport aux extraits Ext LC ETHER, Ext LC bu, huile Ess Al, AS ETHER et AS CHCl_3 qui ont les absorbances suivantes respectivement ($A_{0.5} = 146.85 \pm 4.16 \mu\text{g/mL}$), ($A_{0.5} = 168.87 \pm 6.95 \mu\text{g/mL}$), ($A_{0.5} = 191.44 \pm 16.57 \mu\text{g/mL}$), ($A_{0.5} = 202.96 \pm 3.72 \mu\text{g/mL}$), ($A_{0.5} = 671.34 \pm 43.16 \mu\text{g/mL}$). Cet extrait LC acétate est comparable avec le standard acide ascorbique ($A_{0.5} = 6.77 \pm 1.15 \mu\text{g/mL}$) qui est plus faible cinq fois, mais il est faible une fois seulement par rapport au standard α -Tocopherol ($A_{0.5} = 34.93 \pm 2.38 \mu\text{g/mL}$). Ces résultats sont peut-être à cause de la présence de substances donneuses d'électron.

2. Activité anti inflammatoire *in vitro*

2.1. Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA) :

La modification des protéines, qui peut être causée par différents facteurs dont la chaleur, peut contribuer à l'inflammation selon plusieurs études (**Barros et al., 2008 ; Bagad et al., 2011**). Cette altération des protéines peut conduire à la production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires, mettant en jeu des mécanismes complexes incluant la perturbation des liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobes et disulfures qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines (**Mizushima, 1964 ; Barros et al., 2008**).

Des médicaments anti-inflammatoires, tels que le phénylbutazone et l'indométacine, ont été démontrés non seulement pour inhiber la synthèse de prostaglandines pro-inflammatoires, mais aussi pour prévenir la dénaturation des protéines (**Sangeetha et al., 2011**). Ils agissent en empêchant la dénaturation de l'albumine sous l'effet de la chaleur à un pH physiologique.

Résultats et discussions

Tableau 11 : Inhibition de la dénaturation de BSA par les extraits.

Concentration	Ext HEAL	EXT LC Buta	EXT LC Ether	As Ether	Diclofénac
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.0312	9.69	5.83	10.95	75.60	66.81
0.0625	16.66	2.41	15.22	78.37	91.39
0.125	15.53	3.88	-13.59	83.45	99.58
0.25	14.02	0.17	11.22	88.17	99.74
0.5	10.98	-10.60	18.85	85.71	99.84
1	16.40	-25.54	25.65	65.39	98.49
2	2.00	-43.20	20.97	30.79	103.15
4	4.61	-52.50	-10.32	27.04	

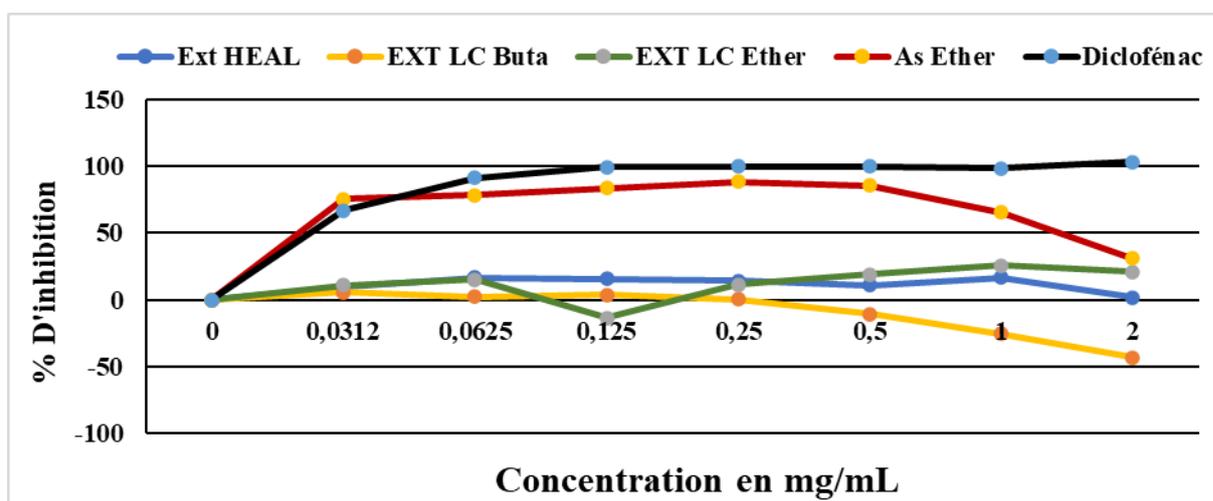


Figure 11 : Courbe d'inhibition de la dénaturation de BSA par les extraits.

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la méthode d'inhibition de la dénaturation de la protéine BSA (Bovine Serum Albumin). Les résultats sont exprimés en pourcentages d'inhibition, comme présentés dans le Tableau 1 et la Figure 1.

Il est à noter que l'extrait LC buta présente des pourcentages d'inhibition négatifs, ce qui indique que cet extrait provoque en réalité la dénaturation du BSA. Cela suggère qu'il possède un effet pro-inflammatoire plutôt qu'anti-inflammatoire.

D'autre part, les extraits LC éther et Huile Essentielle HEAL ont des pourcentages d'inhibition très faibles, voire négligeables, démontrant qu'ils n'ont

Résultats et discussions

pratiquement aucun effet inhibiteur de la dénaturation du BSA, et donc aucune activité anti-inflammatoire notable.

Le meilleur effet d'inhibition a été observé avec l'extrait As éther à la concentration de 0,25 mg/mL, présentant un pourcentage d'inhibition de 88,17%. Ce résultat suggère que cet extrait possède une activité anti-inflammatoire significative, similaire à celle du diclofénac à cette dose.

En conclusion, parmi les extraits testés, seul l'extrait As éther a démontré une activité anti-inflammatoire prometteuse, tandis que l'extrait LC buta semblait avoir un effet pro-inflammatoire et les autres extraits n'ont pas montré d'effet notable. Des études complémentaires seraient nécessaires pour confirmer ces résultats et explorer davantage le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait As éther.

2.2. Teste Stabilisation Des Membranes Des Globules Rouges

Concentration en µg/mL	Acide Gallique	EXT HE AL	EXT LC Bu
6.25	30.62	3.66	8.00
12.5	65.40	5.57	13.10
25	72.63	5.81	19.78
50	77.12	6.50	18.08
100	78.11	7.46	19.83
200	78.74	7.64	20.17
400	71.56	7.35	27.31
800	68.83	13.82	35.31

Tableau 12: Teste Stabilisation Des Membranes Des Globules Rouges.

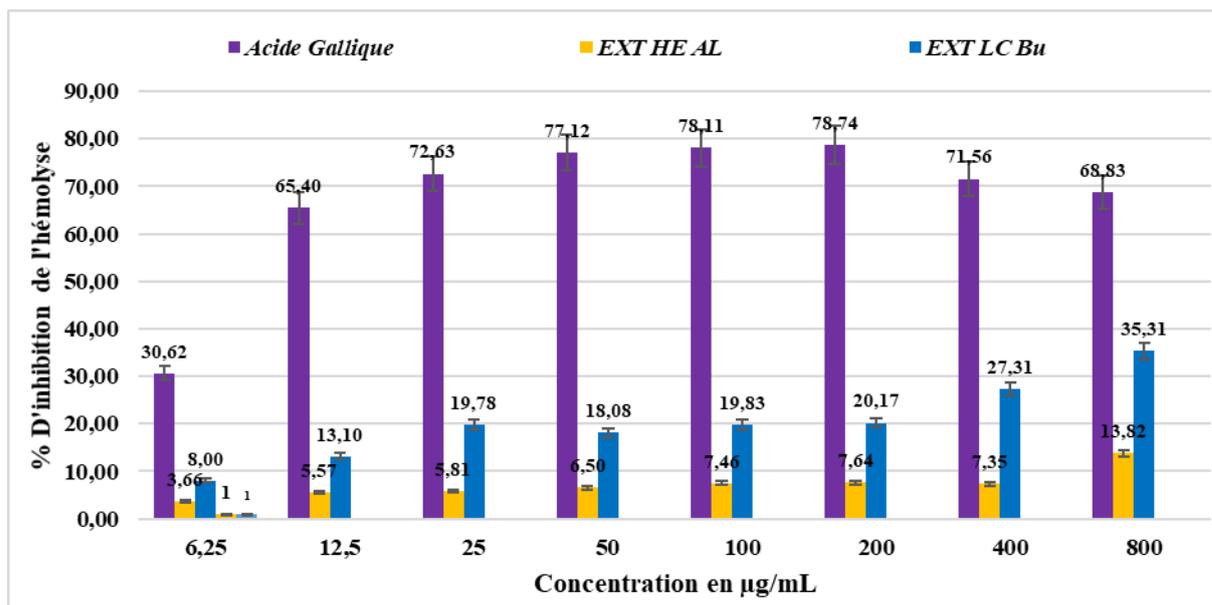


Figure 12 : Histogramme montre les pourcentages de protection des hématies vis-à-u stress osmotique et thermique en fonction des concentrations.

Le test de stabilisation des membranes des globules rouges contre l'hémolyse a été utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire. L'acide gallique, utilisé comme contrôle positif, a montré un effet protecteur maximal de 78,74% à une concentration de 200 µg/mL. Cependant, cet effet diminue à partir de 400 µg/mL, avec un taux d'inhibition de 68,83% à 800 µg/mL.

Les deux extraits testés, LC buta et Huile essentielle HEAL, ont présenté des effets inhibiteurs de l'hémolyse des globules rouges similaires dans la gamme de concentrations de 6,25 µg/mL à 800 µg/mL. À la concentration de 800 µg/mL, l'extrait LC buta a montré une efficacité supérieure (35,31%) dans la stabilisation de la membrane des érythrocytes par rapport à l'extrait Huile essentielle HEAL (13,82%).

Cependant, l'acide gallique a démontré une inhibition de l'hémolyse nettement supérieure à celle obtenue avec les deux extraits dans la gamme de concentrations de 6,25 à 400 µg/mL.

Ces résultats indiquent que les deux extraits, LC buta et Huile essentielle HEAL, ont une faible capacité de protection des membranes érythrocytaires, avec une légère supériorité pour l'extrait LC buta par rapport à l'Huile essentielle HEAL.

Bien que les deux extraits présentent une certaine activité anti-inflammatoire, leur efficacité semble limitée en comparaison avec le contrôle positif, l'acide gallique. Des études complémentaires seraient nécessaires pour optimiser l'extraction ou la formulation de ces extraits afin d'améliorer leur activité anti-inflammatoire

3. Activité antifongique

Fusarium oxysporum f. sp lycopersici (FOL) est un champignon pathogène qui attaque la tomate, causant son flétrissement et une baisse de rendement. Il pénètre par les racines et obstrue les vaisseaux de l'xylème, entraînant un stress hydrique sévère. Les symptômes incluent des feuilles jaunes et une production réduite de tomates (Srinivas et al., 2019). Les traitements incluent des pesticides et des plantes génétiquement modifiées, mais l'intérêt pour des solutions naturelles croît en raison des risques des pesticides.

L'activité antifongique a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en millimètres, les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition .

$$\text{Inhibition (\%)} = (C_p - E_c) / C_p * 100$$

Où :

C_p est le diamètre du mycélium dans le contrôle positif.

E_c est le diamètre du mycélium dans les boîtes contenant les extraits.

Les extraits testés sur la souche FOL ont montré une activité inhibitrice très intéressante qui dépend de la concentration de l'extrait utilisée.

Les pourcentages d'inhibition calculés par rapport au contrôle sont rapportés dans la figure 13 et le tableau 13. Les images des zones d'inhibition des 4 extraits à différentes concentrations sont également présentés dans la figure 14.

Résultats et discussions

Tableau 13 : Les pourcentages d'inhibition calculés de l'activité antifongique.

		PI (%)			
Souche testée	Répétition	As CHCl ₃	As éther	Huile essentielle	Lc butanolique
<i>Fusarium oxysporum</i>	1mg/mL	-	51	28	28
	0.5mg/mL	-	65	70	12.6
	0.25mg/mL	84	40	45	17

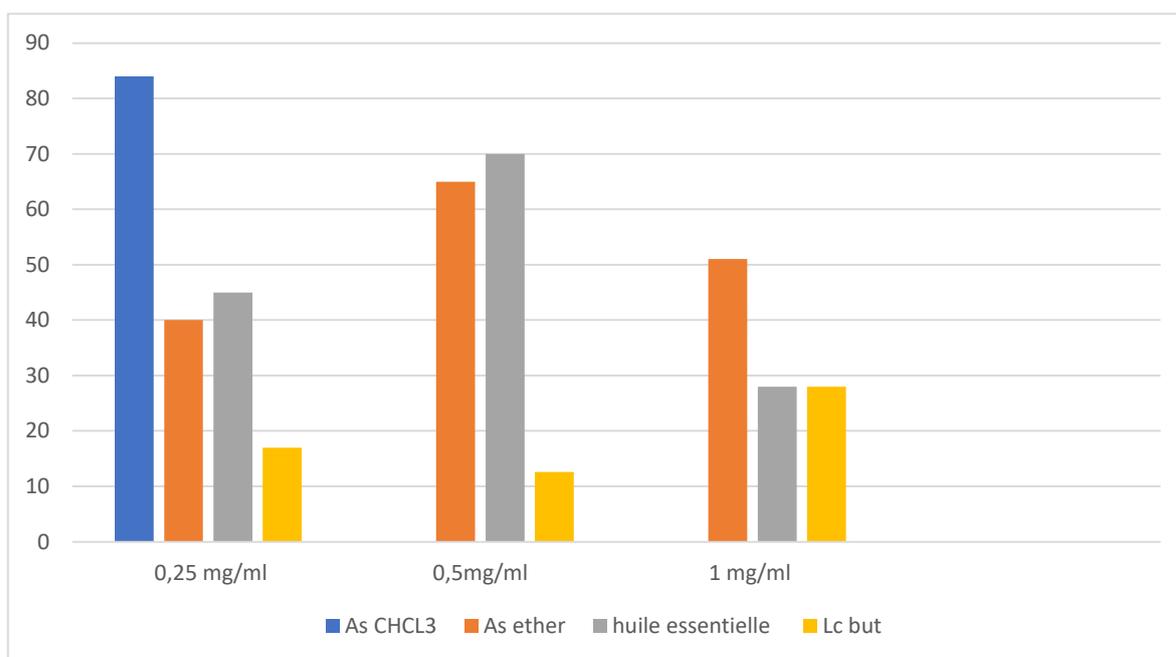


Figure 13 : Les pourcentages d'inhibition calculés de l'activité antifongique.

Les différents résultats observés permettent de suggérer que l'extrait As CHCl₃ est le plus efficace contre le champignon, car il montre l'effet antifongique le plus important. À 0,25 mg/mL, il présente la meilleure capacité inhibitrice de la souche fongique, réduisant le diamètre du mycélium de 84 %. On remarque une absence de croissance à des concentrations de 0,5 et 1 mg/mL, ce qui indique que l'extrait As

Résultats et discussions

CHCl₃ possède une activité antifongique efficace contre ce champignon. En comparaison, l'huile essentielle et l'extrait As éther ont montré des activités proches avec des pourcentages d'inhibition de 70 % et 65 %, respectivement. Par contre, l'extrait Lc butanolique a été inactif vis-à-vis de ce champignon.

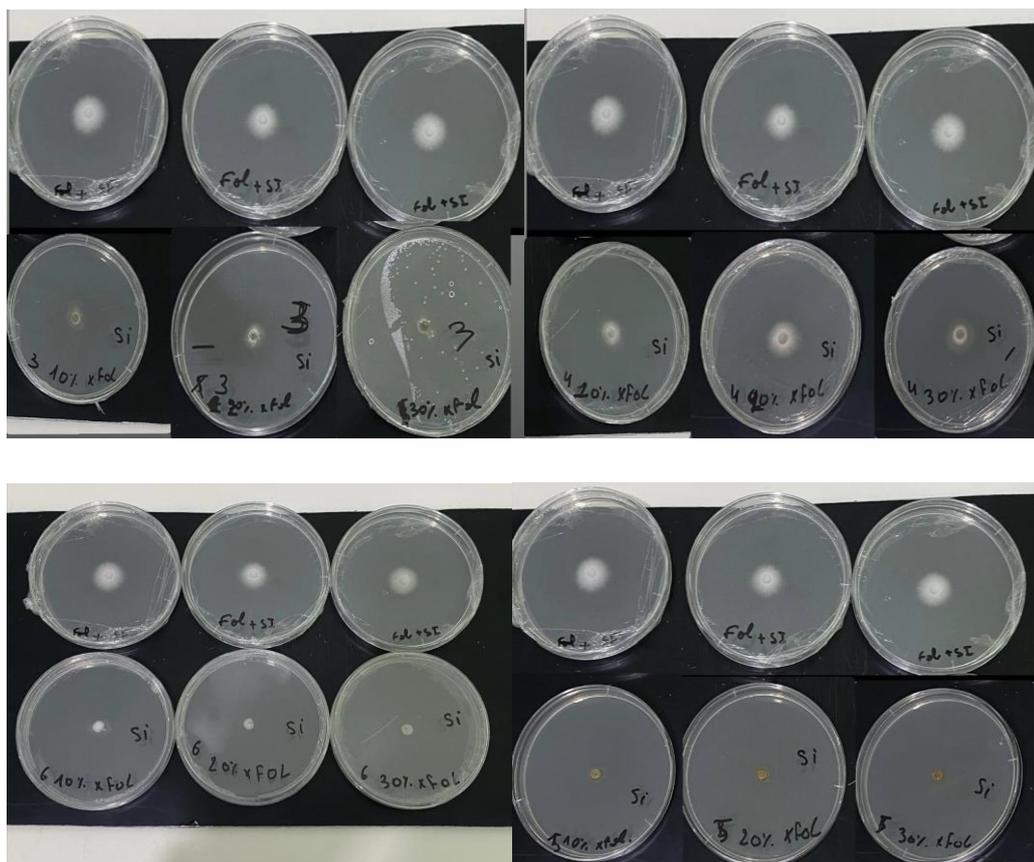


Figure 14 : Résultats de l'activité antifongique des extraits As éther, LC butanolique, huile essentiel et As CHCl₃ respectivement.

Conclusion

Conclusion

L'intérêt pour l'étude des plantes médicinales a grandi grâce à leur utilisation croissante dans le traitement de diverses maladies. Les plantes médicinales, en tant que pharmacie naturelle, renferment une multitude de substances bioactives qui sont utilisées pour traiter naturellement toute une gamme de maladies. Elles renferment des métabolites secondaires aux effets biologiques variés, en plus de posséder de nombreux mécanismes efficaces. Cependant, des tests *in vitro* sont essentiels pour valider l'usage de ces espèces en médecine pratique.

Dans ce cadre, nous avons entrepris des recherches pour étudier biologiquement deux espèces de plantes membres des familles des *Asteraceae* et *Liliaceae*. Abordée dans une évaluation *in-vitro* des activités biologiques anti oxydantes, nous avons aussi confirmé l'activité antioxydante des différents extraits des deux plantes. Nous avons évalué dans cette activité des divers extraits à travers cinq méthodes distinctes : le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur (FRAP), la réduction par formation du complexe Fe^{2+} phénanthroline, ainsi que le piégeage de l'ABTS.

L'extrait LC acétate a démontré la meilleure capacité antioxydante dans la majorité des tests.

Alors que dans les activités anti inflammatoire *in vitro*, les résultats indiquent que les deux extraits, LC buta et Huile essentielle HEAL, ont une faible capacité de protection des membranes érythrocytaires, avec une légère supériorité pour l'extrait LC buta par rapport à l'Huile essentielle HEAL

Nous avons testé les extraits. Pour leur activité antifongique contre *Fusarium oxysporum*, et nous avons trouvé une forte activité chez l'extrait chloroforme (AS $CHCl_3$).

Références

bibliographiques

Références bibliographique

A

- Abe, Hiroko, Keiko Katada, Machiko Orita, et Masaru Nishikibe. (1991). Effects of Calcium Antagonists on the Erythrocyte Membrane. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 43(1), 2226.
- Amorati R, Foti MC, Valgimigli L. (2013, novembre 20). Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 1083547.
- An BS, Kang JH, Yang H, Jung EM, Kang HS, Choi IG, et al. (2013, juillet). Anti-inflammatory effects of essential oils from *Chamaecyparis obtusa* via the cyclooxygenase-2 pathway in rats. *Molecular Medicine Reports*, 8(1), 2559.
- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., Mesbah, S., 2018. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bull. Société R. Sci. Liège*

B

- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *M/S : médecine sciences*, 22(3), 266–272.
- Bhavaniramya S, Vishnu Priya S, al aboody M, Vijayakumar R, Dharmar B. (2019, juin 1). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain Oil Sci Technol*, 2.
- Bonnefont-Rousselot D. (2004). The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. *Treat Endocrinol*, 3(1), 41-52.

C

- C. Matta. (2010, août). Spontaneous Generation and Disease Causation: Anton de Bary's Experiments with *Phytophthora infestans* and Late Blight of Potato. *Journal of the History of Biology*, 43(3), 459491. doi: 10.1007/s10739-009-9220-1.
- C. Srinivas et al. (2019, novembre). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 13151324. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.06.002.
- Choteau-Mary, F. (2011). Développement de nouveaux agents anti-radicalaires de type nitroxyde et nitrone utilisables comme sondes et agents thérapeutiques [Thèse de doctorat, Université d'Avignon].

F

- Favier A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.

G

- Gadamsetty, Ganesh, et Saurabh Maru. (2013). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops Elengi* L. *Journal of Pharmaceutical Sciences*.

H

- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. (1998). High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887-1892.

Références bibliographique

- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant.
- Halliwell B. (1996, juillet). Antioxidants in Human Health and Disease. Annual Review of Nutrition, 16(1), 3350.
- Hellal Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.
- H L, A K, M. & T, S H. (2009). CATALOGUE DES PLANTES MEDICINALES UTILISÉES DANS LA RÉGION DE ZAËR (MAROC OCCIDENTAL). Lejeunia Rev Bot [Internet].

/

- Ighodaro O.M., Akinloye O.A. (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine.
- I. R. Ilyasov, V. L. Beloborodov, I. A. Selivanova, et R. P. Terekhov. (2020, janvier). ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. International Journal of Molecular Sciences, 21(3). doi: 10.3390/ijms21031131.

κ

- Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. Food Analytical Methods, 2(1), 41 - 60. 7
- K. Cimanga et al. (2002, septembre). Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils of Some Aromatic Medicinal Plants Growing in the Democratic Republic of Congo. Journal of Essential Oil Research, 14(5), 382387. doi: 10.1080/10412905.2002.9699894.

ℓ

- Laroui, S. (2021). Classification et modélisation de la croissance du champignon *Botrytis cinerea* à partir d'imagerie microscopique : vers l'établissement de liens entre phénotypes et molécules antifongiques [Thèse de doctorat, Université Côte d'Azur]. Consulté le: 28 mai 2024.
- Lombardo GE, Cirimi S, Musumeci L, Pergolizzi S, Maugeri A, Russo C, et al. (2020, juin 1). Mechanisms Underlying the Anti-Inflammatory Activity of Bergamot Essential Oil and Its Antinociceptive Effects. Plants Basel Switz, 9(6), 704.

ℓ

- Maurent K. (2017). Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde : évaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. [Thèse de doctorat, Toulouse 3].
- Mena, S., Ortega, A., & Estrela, J. M. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 674(1 - 2), 36- 44.
- MERCK, F. (2017). La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels: Étude des propriétés antim
- Laroui, S. (2021). Classification et modélisation de la croissance

Références bibliographique

du champignon *Botrytis cinerea* à partir d'imagerie microscopique : vers l'établissement de liens entre phénotypes et molécules antifongiques [Thèse de doctorat, Université Côte d'Azur]. Consulté le: 28 mai 2024.

P

- Pahwa, R., Goyal, A., & Jialal, I. (2024). Chronic Inflammation. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Pastre, J. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques [Autre].
- Pereira, R. B., Rahali, F. Z., Nehme, R., Falleh, H., Jemaa, M. B., Sellami, I. H., ... & Souid, S. (2023, mai). Anti-inflammatory activity of essential oils from Tunisian aromatic and medicinal plants and their major constituents in THP-1 macrophages. *Food Research International*, 167, 112678.
- Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. Vol 4. P: 25-39. Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, (4), 1-8.

R

- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113(3), 189-207.
- Rahman, M. Z., et al. (2021, juin). Biology, Diversity, Detection and Management of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* Causing Vascular Wilt Disease of Watermelon (*Citrullus lanatus*): A Review. *Agronomy*, 11(7), 1310.
- Rolland, Y. (2004, novembre). Antioxydants naturels végétaux. *Ol Corps Gras Lipides*, 11(6), 41924.

S

- Sebei, K., Boukhchina, S., & Kallel, H. (2007). Évolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des graines de colza de printemps (*Brassica napus* L.). *Comptes Rendus Biologies*, 330(1), 55-61.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y., & De, B. (2010, juillet). Free radicals, antioxidants, Diseases and phytomedicines: Current status and Future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3, 91100.
- Senesse, P., Bachmann, P., BENSADOUN, R. J., Besnard, I., Bourdel-Marchasson, I., Bouteloup, C., ... & Carli, P. (2012, décembre). Nutrition chez le patient adulte atteint de cancer : introduction. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 26, 14950.
- Singh, N., Baby, D., Rajguru, J. P., Patil, P. B., Thakkannavar, S. S., & Pujari, V. B. (2019). Inflammation and cancer. *Annals of African Medicine*, 18, 121-6.
- Song, W., Zhou, L., Yang, C., Cao, X., Zhang, L., & Liu, X. (2004). Tomato *Fusarium* Wilt and Its Chemical Control Strategies in a Hydroponic System. *Crop Protection*, 23(3), 24347.

Références bibliographique

- Sortino, M., et al. (2007, janvier). Synthesis and antifungal activity of (Z)-5-arylidenerhodanines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(1), 484494.

- Sullivan, G. W., Sarembock, I. J., & Linden, J. (2000, mai). The role of inflammation in vascular diseases. *Journal of Leukocyte Biology*, 67(5), 591602.

T

- Thomas, D. (2016). *Les antioxydants de nos jours: Définition et applications*. 88.

V

- Vidé, J. (2015). *Effets potentiels et mécanismes d'action antioxydant et anti-inflammatoire d'un apport nutritionnel de spirulines enrichies en silicium* [Thèse de doctorat, Université Montpellier].

W

- Wang, L., Yen, J. H., Liang, H. L., & Wu, M. J. (2003). Antioxidant effect of methanol extracts from lotus plumule and blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.). *Journal of Food and Drug Analysis*, 11(1), 60-66.

Résumé

Résumé

Le présent travail concerne l'étude de l'activité biologique des extraits de plantes et des huiles essentielles d'Algérie. L'activité biologique des extraits et des huiles essentielles a été évaluée *in vitro* en utilisant quatre méthodes pour mesurer l'activité antioxydante : DPPH, ABTS, Phénanthroline et FRAP ainsi que le dosage des polyphénols et flavonoïdes. Les résultats ont montré que l'activité antioxydante la plus importante a été observée avec l'extrait LC acétate. Les concentrations obtenues pour le dosage des polyphénols et flavonoïdes, ainsi que pour les méthodes DPPH et FRAP, étaient respectivement de $341,55 \pm 75,16$ mg EAG/g, $213,44 \pm 16,45$ mg EQU/g, $13,44 \pm 0,83$ $\mu\text{g/mL}$ et $34,87 \pm 23,78$ $\mu\text{g/mL}$.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, par le test de protection de la membrane des globules rouges vis-à-vis du stress osmotique, indique que les extraits LC butanolique et huile essentielle HEAL ont une faible capacité de protection des membranes érythrocytaires, avec une légère supériorité pour l'extrait LC butanolique par rapport à l'huile essentielle HEAL.

Dans l'évaluation de l'activité antifongique, les extraits ont montré une grande capacité antifongique contre *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici, avec l'extrait AS CHCl_3 étant le plus actif, affichant une inhibition de 84 % à 0,25 mg/mL.

Mots clés : Liliaceae, Asteraceae, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antifongique, anti inflammatoire.

Abstract

This work concerns the study of the biological activity of plant extracts and essential oils from Algeria. The biological activity of the extracts and essential oils was evaluated *in vitro* using four methods to measure antioxidant activity: DPPH, ABTS, Phénanthroline, and FRAP, as well as the quantification of polyphenols and flavonoids. The results showed that the highest antioxidant activity was observed with the LC acetate extract. The concentrations obtained for the quantification of polyphenols and flavonoids, as well as for the DPPH and FRAP methods, were 341.55 ± 75.16 mg GAE/g, 213.44 ± 16.45 mg QE/g, 13.44 ± 0.83 $\mu\text{g/mL}$, and 34.87 ± 23.78 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

The evaluation of anti-inflammatory activity, through the red blood cell membrane protection test against osmotic stress, indicated that the LC butanol extract and HEAL essential oil had a low capacity for protecting erythrocyte membranes, with the LC butanol extract showing slightly better results compared to HEAL essential oil.

In the evaluation of antifungal activity, the extracts demonstrated significant antifungal capacity against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici, with the AS-CHCl₃ extract being the most active, showing an 84% inhibition at 0.25 mg/mL.

Keywords: Liliaceae, Asteraceae, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antifungal activity, anti-inflammatory activity.

ملخص

يتناول هذا العمل دراسة النشاط البيولوجي لمستخلصات النباتات والزيوت الأساسية من الجزائر. تم تقييم النشاط البيولوجي للمستخلصات والزيوت الأساسية في المختبر باستخدام أربع طرق لقياس ، بالإضافة إلى قياس FRAP، فينانثرولين، و ABTS، DPPH: النشاط المضاد للأكسدة البولي فينولات والفلافونويدات. أظهرت النتائج أن النشاط المضاد للأكسدة الأكثر فعالية كان مع كانت التركيزات المحصل عليها لقياس البولي فينولات والفلافونويدات، LC مستخلص الأسيتات غ، 16.45 ± 213.44 ملغ/EAG، هي 75.16 ± 341.55 ملغ FRAP و DPPH وكذلك لطرق غ، 0.83 ± 13.44 ميكروغرام/مل، و 23.78 ± 34.87 ميكروغرام/مل على التوالي/EQUE.

أشار تقييم النشاط المضاد للالتهابات من خلال اختبار حماية غشاء كريات الدم الحمراء ضد الإجهاد الأسموزي إلى أن مستخلص البوتانول LC والزيت الأساسي HEAL لديهما قدرة منخفضة على حماية أغشية كريات الدم الحمراء، مع تفوق طفيف لمستخلص البوتانول LC مقارنةً بالزيت الأساسي HEAL.

في تقييم النشاط المضاد للفطريات، أظهرت المستخلصات قدرة كبيرة على مكافحة الفطريات ضد *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici، حيث كان مستخلص AS-CHCl₃ هو الأكثر نشاطاً، حيث أظهر تثبيطاً بنسبة 84% عند 0.25 ملغ/مل.

المفتاحية

الكلمات

الزنبقيات، النجمية، البولي فينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للالتهابات.

AMIRA Serine et KASSAMA Imene

Dosage des polyphénols et flavonoïdes : étude de leur activité antioxydante, antifongique et anti-inflammatoire dans les extraits de plantes et les huiles essentielles d'Algérie

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du diplôme de Master

Résumé

Le présent travail concerne l'étude de l'activité biologique des extraits de plantes et des huiles essentielles d'Algérie.

L'activité biologique des extraits et des huiles essentielles a été évaluée *in vitro* en utilisant quatre méthodes pour mesurer l'activité antioxydante : DPPH, ABTS, Phénanthroline et FRAP ainsi que le dosage des polyphénols et flavonoïdes. Les résultats ont montré que l'activité antioxydante la plus importante a été observée avec l'extrait LC acétate. Les concentrations obtenues pour le dosage des polyphénols et flavonoïdes, ainsi que pour les méthodes DPPH et FRAP, étaient respectivement de $341,55 \pm 75,16$ mg EAG/g, $213,44 \pm 16,45$ mg EQU/g, $13,44 \pm 0,83$ µg/mL et $34,87 \pm 23,78$ µg/mL.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, par le test de protection de la membrane des globules rouges vis-à-vis du stress osmotique, indique que les extraits LC butanolique et huile essentielle HEAL ont une faible capacité de protection des membranes érythrocytaires, avec une légère supériorité pour l'extrait LC butanolique par rapport à l'huile essentielle HEAL. Dans l'évaluation de l'activité antifongique, les extraits ont montré une grande capacité antifongique contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, avec l'extrait AS CHCl₃ étant le plus actif, affichant une inhibition de 84 % à 0,25 mg/mL.

Mots clés : Liliaceae, Asteraceae, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antifongique, anti inflammatoire.

Laboratoires de recherche : laboratoire de biochimie laboratoire 5, mycologie laboratoire 9 (CRBT Constantine). Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (Université Frères Mentouri, Constantine

Encadreur 1 : BEZZI T (MRB – CRBT Constantine).

Encadreur 2 : KITOUNI R (MCB – UFM Constantine).

Président : MEDOUKALI I (MCB – UFM Constantine)

Examineur : KHELALFA K (MCB – UFM Constantine)