



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



Université Constantine 1 Frères Mentouri

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie moléculaire et cellulaire

كلية علوم الطبيعة والحياة قسم:

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 Appliquée

N°
d'ordre
: N° de
série :

Intitulé :

Contribution à l'étude phytochimique et biologique d'une plante
médicinale

Présenté par : Houcine malak
Bendjabar Ghada

Le :24/06/2024

Jury d'évaluation :

Présidente :	Dr. Ramli imane	MCA Université Constantine 1 Frères Mentouri
Encadrante :	Dr. Dersouni Chahrazed	MCB Université Constantine 3 Salah Boubnidar
Examinateuse :	Dr. Azzouzi Salima	MCA Université Constantine 3 Salah Boubnidar

Année universitaire :2024 - 2025



Remerciement

Avant tout nous remercierons ALLAH tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Nous remercierons notre encadrante de son grand aide durant la réalisation de ce travail, elle nous a orientés vers le succès avec ses connaissances et son encouragement. Elle été présente à tout moment qu'on besoin d'elle **Mme Dersouni.Chahrazed.**

Nos profonds remerciements vont à :

Madame **Ramli Imene** pour avoir accepté de présider ce Jury

Madame **Azzouzi Salima** pour l'honneur qu'elle nous a fait en

Acceptant d'examiner ce modeste travail.

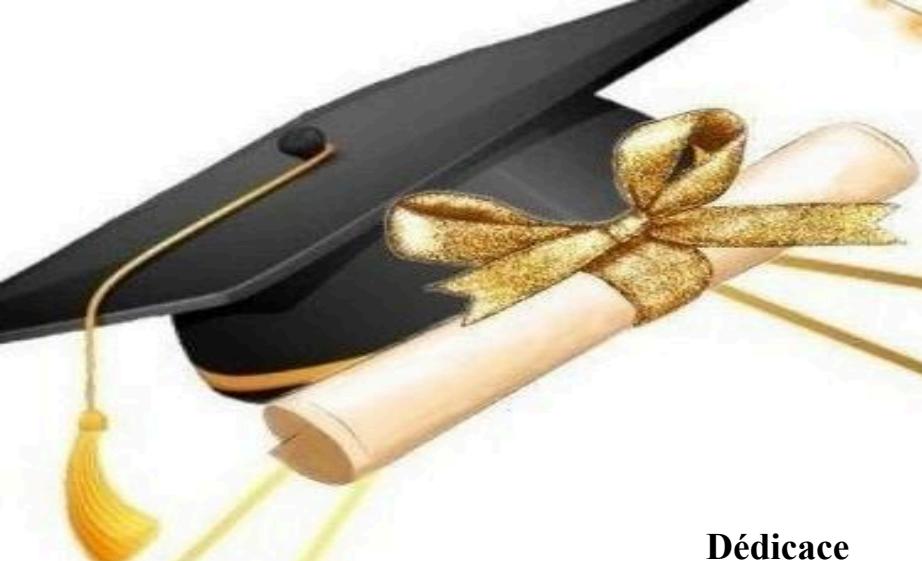
Nos remerciements vont à tous les enseignants du département de la
Biologie de l'université 1 des Frères mentouri.

Nous tenons à remercier chaleureusement toute l'équipes de laboratoire de chimie pour leurs aide et conseils précieux surtout **Mr. Lefahal Moustapha**

Nous tenons à remercier monsieur le fondateur de la spécialité Biochimie Appliquée professeur **Bensegueni.**

2025





Dédicace

Du profond de mon cœur, Je dédire ce travail a tous qui me sont chers

À mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Puisse dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et

longue vie.

À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié maman.

À celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection,

À mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et

m'encourager, à mon prince papa.

À mes merveilleux frère et sœur

Chacun de vos sourires a illuminé mon chemin

Chaque mot d'encouragement a nourri mes rêves

À travers ce travail, je célèbre notre lieu indéfectible

Merci d'avoir été mes anges gardiens, cette réussite est aussi pour vous.



Ghada



Dédicace

Dédicacer Au nom d'Allah, le Miséricordieux, le Compatissant

Un long chemin fait d'échecs et de réussites Fier de notre

Combat pour réaliser nos rêves

Un moment que j'ai toujours attendu et rêvé dans une histoire

Dont les chapitres sont terminés.

À celui qui m'a appris à donner sans attendre à celui dont je

Porte le nom avec fierté, à celui que Dieu a doté de prestige et

De dignité mon cher père

À ma chérie la prunelle de mes yeux, au cœur qui bat à

celle Dont les prières sincères ont été le secret de ma

réussite ma Chère mère

À ma sœur et à mes frères, mon soutien dans la vie

À tous les membres de ma famille et à tous mes amis sans

Exception

À tous les honorables professeurs qui nous ont donné un

coup De main

C'est à eux que je dédie ce travail que Allah m'aide et vous aide

À faire le bien

Malak

TABLEAU DE MATIERE

Table de matière :

Introduction	1
I. Famille des <i>Astéracées</i>	4
I.1. Présentation de la famille des <i>Astéracées</i>	4
I.1.1. Appareil végétatif	4
I.1.2. Répartition géographique des <i>Astéracées</i>	7
I.1.3. Classification des <i>Astéracées</i>	8
I.1.4. L'effet thérapeutique de la famille des <i>Astéracées</i>	9
I.1.5. L'intérêt des <i>Astéracées</i>	9
I.2. Présentation du chardon marie	10
I.2.1. Taxonomie du <i>Chardon-Marie (Silybum marianum)</i>	11
I.2.2. Morphologie de l'espèce	11
I.2.3. Caractéristiques botaniques	14
I.2.4. Composition chimique du chardon marie	15
I.2.5. L'utilisation traditionnelle de la plante	18
CHAPITRE II : Métabolites Secondaires	24
II. Métabolites secondaires	24
II.1. Généralité	24
II.2. Classification des métabolites secondaires	24
II.2.1. Composés phénoliques (Les polyphénols)	24
CHAPITRE III : Les activités biologiques	38
III. Les activités biologiques	38
III.1. Caractéristiques biologiques du chardon-Marie	38
III.1.1. Propriétés antioxydantes	40
III.1.2. Propriétés anti-inflammatoires	40
III.1.3. Propriétés anticancéreuses	41
III.1.4. Propriétés Hépatoprotectrice	42
III.1.5. Activités antidiabétiques	43
III.1.6. Activités antivirales	43
III.1.7. Activités antimicrobiennes	43
IV. Matériels et méthodes	48
IV.1. Objectif du travail	48

TABLEAU DE MATIERE

IV.2. Matériel végétal	48
IV.2.1. Récolte de la plante	48
IV.2.2. Séchage et broyage	49
IV.2.3. Préparation des extraits	49
IV.3. Méthodes	51
IV.3.1. Screening des métabolites secondaires	51
IV.3.2. Quantification des composés phénoliques	53
IV.3.3. Évaluation de l'activité antioxydante in vitro	55
IV.3.4. Évaluation de l'activité antibactérienne	59
Chapitre V : Résultats et discussions	64
V. Résultats et discussion	65
V.1. Screening phytochimique	65
V.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes	69
V.2.1. Teneur en polyphénols totaux	69
V.2.2. Teneurs en flavonoïdes totaux	71
V.3. Évaluation de l'activité antioxydante in vitro	72
V.3.1. Piégeage du radical 2-diphényl-picrylhydrazyl (DPPH)	72
V.3.2. Capacité antioxydant totale (TAC)	73
V.3.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénanthroline	74
V.4. Évaluation de l'activité antibactérienne	75
Conclusion	81
Résumé.....

LISTE DES FIGURES

Fig. 1 : Douze inflorescences de la famille des Astéracées	4
Fig. 2: Morphologie de la tige des Astéracées	5
Fig. 3: Fleurs femelles. Et fleurs males. D'Antennaria dioica.	6
Fig. 4: Type de fruits de la Famille des Astéracées	7
Fig. 5: Répartition de la famille des Astéracées dans le monde	8
Fig. 6: plante de chardon marie	10
Fig. 7: partie de la plante de Silybum Marianum	12
Fig. 8: Morphologie de racine de plante chardon marie	12
Fig. 9: Morphologie de tige de plant chardon marie	13
Fig. 10: Morphologie et Détail du feuillage du Chardon-Marie	13
Fig. 11: Morphologie de Fleur	14
Fig. 12: Graines de Chardon Marie	14
Fig. 13: Schéma de Flavanolignanes du Chardon- Marie	16
Fig. 14: Structures chimiques des sous-classes de flavonoïdes	17
Fig. 15: exemple de Structure de polyphénol	25
Fig. 16: Schéma de Principales classes de composés polyphénoliques	26
Fig. 17: Squelette de base des composés phénolique	27
Fig. 18: Voie de biosynthèse de l'acide phénolique	28
Fig. 19: Structures générales des acides benzoïques substitués par hydroxyle	29
Fig. 20: Structures générales des acides cinnamiques à substitution hydroxyle	29
Fig. 21: Structure de base des flavonoïdes	30
Fig. 22: Effets biologiques des polyphénols	32
Fig. 23: Échantillon du chardon-marie	49
Fig. 24: Les étapes de préparation de la solution hydro-alcoolique	50
Fig. 25: Évaporation de la solution hydro-alcoolique	51
Fig. 26: Mécanisme du test Folin-Ciocalteu	53
Fig. 27: Réaction entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes	54
Fig. 28: Protocole de dosage des flavonoïdes totaux	55
Fig. 29: Mécanisme du test DPPH	56
Fig. 30: Protocole L'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide du test DPPH	57
Fig. 31: Mécanisme du test phosphomolybdène	58

LISTE DES FIGURES

Fig. 32: Mécanisme du test phénanthroline	59
Fig. 33: Protocole de l'évaluation de l'activité antibactérienne	61
Fig. 34: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	70
Fig. 35: Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux de la partie aérienne du	71
Fig. 36: Courbe d'étalonnage de la Quercétine	71
Fig. 37: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique (test DPPH)	73
Fig. 38: Courbe d'étalonnage de l'acide Ascorbique (test TAC)	74
Fig. 39 :Courbe d'étalonnage de l'acide Ascorbique (test phénanthroline).....	74
Fig. 39: Capacité antioxydant totale (TAC) de l'extraits SM-MeOH	75
Fig. 40: Résultats de la technique de diffusion en milieu solide sur l'extrait	76
Fig. 41: Diamètres d'inhibitions (mm) de l'extraits vis à-vis des souches bactériennes testées.	77

LISTE DES TABLEAUX

Tab 1: la classification moderne du chardon-Marie (<i>Silybum marianum</i>)	11
Tab 2: les principales classes de flavonoïdes	31
Tab 3: Activités biologiques en fonction des composés actifs de <i>Silybum marianum</i>	39
Tab 4: Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires du <i>S.marianum</i>	65
Tab 5: Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux des parties aériennes <i>S.marianum</i>.	70
Tab 6: Capacité antioxydante (DPPH, TAC, PHE) de l'extrait <i>SM. MeOH</i>	73
Tab 7: Zone d'inhibition (mm) en relative à la croissance bactérienne <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i>	77
.	

LISTE DES ABREVIATIONS

	Cases
•	
% : Signe pour cent	01
°C : Degrés celsius	11
µl : Microlitres	53
4CL : 4-Coumarate COA ligase	28
AH : Antioxydant	56
Al : Aluminium	54
AlCl ₃ : Chlorure d'aluminium	54
APG : Angiosperms phylogeny group	08
C4H : Acide cinnamique 4-hydroxylase	28
CA : Acide caféïque	27
cm : Centimètre	13
CO : Monoxyde de carbone	54
CO ₂ : Dioxyde de carbone	61
COOH : Acide carboxylique	27
CRBT : Centre de recherche en Biotechnologie	48
DHPL : Dihydroxyphényllactique	28
DPPH : 2,2-diphénol-1 picrylhydrazyle	55
<i>E.coli</i> : <i>Escherichia coli</i>	59
EAG/g : Equivalent acide galique par un gramme	70
EMA : Agence européenne des médicaments	18
EMT : Epithélio-mésenchymateuse	41
EX : Example	04
Fe ²⁺ : Ion ferreux	58
Fe ³⁺ : Ions ferrique	58
FeCl ₃ : Chlorure ferrique	52
FIG : Figure	04
g : Gramme	49
h : Heure	49
HPPR : Hydroxyphénylpyruvate réductase	28
IP : Pourcentage d'inhibition	56
MAPK : MAP Kinases	42
MCV : Maladies cardiovasculaires	32
MeOH : Méthanol	52
mL : Millilitres	52
MMP : Métalloprotéinase matricielle	41
MPT : Transition de pérméabilité mitochondriale	43

**LISTE DES
ABBREVIATIONS**

Na ₂ CO ₃ : Carbonate de sodium	53
NaOH : Hydroxyde de sodium	52
NCCLS : National Committee of Clinical Laboratory Standards	60
NF-κB : Facteur nucléaire Kappa	43
nm : Nanomètre une unité de longueur du Système international.	53
NO : Oxyde nitrique	40
OH : Groupe hydroxyle	31
OMS : L'Organisation mondiale de la santé	01
PAL : Phénylalanine ammoniac-lyase	27
PGE-2 : Prostaglandine E2	40
pH : Potentiel hydrogène	53
RA : Acide rosmarinique	27
RAS : Acide rosmarinique synthase	28
<i>S. Marianum</i> : <i>Silybum Marianum</i>	65
<i>S. aureus</i> : <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Sal A : Salvianolique A	27
Sal B : Salvianolique B	27
SIL : Silymarine	18
Tab : Tableau	11
TAC : Capacité antioxydante totale	57
TAT : Tyrosine aminotransférase	28
TFC : Quantification des flavonoides totaux	54
TNF-α : Le facteur de nécrose tumorale alpha	43
TPC : Quantification des polyphenols totaux	53
UE : Union européenne	18
UV : Ultra violet	24
VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire	41
VHC : Virus de l'hépatite C	43
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine	43



Introduction

INTRODUCTION

Le problème de santé mondial de la résistance aux antibiotiques des micro-organismes pathogènes devient de plus en plus important. Par conséquent, il est devenu nécessaire de développer des moyens d'inhiber la croissance des bactéries. [1]

Les plantes médicinales sont une source majeure de produits utilisés en médecine alternative. L'utilisation des plantes comme médicament est reconnue pour sa simplicité, son efficacité et ses bienfaits incontestables. Ainsi, on peut prendre soin de soi avec les plantes et bénéficier de leurs propriétés préventives et curatives. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 65% des personnes utilisent la médecine traditionnelle [2]

En outre le fait que les plantes médicinales sont riches en principes actifs, elles sont également riches en composés phénoliques très utilisés en médecine comme agents protecteurs, antiinflammatoires, antibiotiques, antiseptiques et diurétiques, mais surtout comme antioxydants pour lutter contre le stress oxydatif [2]

Les métabolites secondaires des plantes sont reconnus comme de puissants piègeurs de radicaux libres et comme offrant divers avantages dans diverses voies biologiques. Ils sont présents dans presque toutes les parties de la plante, y compris les racines, les fruits, les graines, les feuilles et l'écorce [3]. Les terpénoïdes, les produits chimiques phénoliques et les composés contenant du soufre ou de l'azote sont les trois principales classes dans lesquelles ils peuvent être divisés. Ces métabolites secondaires améliorent considérablement la capacité de la plante à se défendre contre les infections, les herbivores et d'autres menaces environnementales [3][4]

L'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée représentée par des plantes aromatiques et médicinales dont la plupart existe à l'état spontané. La valorisation de ces plantes demeure un domaine de grande importance pour le pays [5]

Cependant, de nombreuses espèces aromatiques et médicinales comme celles appartenant à la famille des *Astéracées* nous voulions étudier les propriétés biologiques d'une

INTRODUCTION

plante médicinale caractéristique notre choix s'est porté sur la plante : chardon marie (*Silybum marianum*).

Cette étude visait à étudier la composition phytochimique, l'activité antioxydante et les propriétés antibactériennes de la partie aérienne du chardon-marie, car les recherches se sont principalement concentrées sur les graines du chardon-marie, bien que les extraits d'autres parties de la plante démontrent également une activité antioxydante significative [6]

Pour cela, nous avons organisé notre travail en deux parties :

- La partie I : comprend une partie bibliographique sur chardon marie ; sa taxonomie, ces caractéristiques botaniques, leur composition chimique et leurs activités biologiques.
- La partie II : représente la méthodologie de notre travail ainsi la présentation des résultats obtenus, la discussion et enfin une conclusion.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

1. **Organisation mondiale de la Santé.** (2020, 13 juillet). *Antibiorésistance*.
<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
2. **Nunes, M. R., Fernandes, F. H. A., Serafini, M. R., Guimarães, A. G., & Quintans, J. S. S.** (2020). Medicinal plants as sources of new therapeutic agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8432. <https://doi.org/10.3390/ijms21228432>
3. **Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A.** (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based- plant origin. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3266.
<https://doi.org/10.3390/ijms24043266>
4. **Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., Valko, M.** (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, 97(10), 2499-2574.
<https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>
5. **Bouzabata, A.** (2015). La flore médicinale algérienne : État des connaissances et perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*, 163, 90-99.
6. **Nowak, A., Florkowska, K., Zielonka-Brzezicka, J., Duchnik, W., Muzykiewicz, A., & Klimowicz, A.** (2021). The effects of extraction technique on the antioxidant potential of extracts of different parts of milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 20(1), 37-46.
<https://doi.org/10.17306/J.AFS.0817>



Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Famille des *Astéracées* :

I.1. Présentation de la famille des *Astéracées* :

La famille des *Astéracées*, l'une des plus diversifiées parmi les plantes à fleurs, englobe environ 1 600 genres et plus de 23 000 espèces. Plusieurs espèces appartenant à cette famille, telles que la camomille (*Matricaria recutita* L.), l'achillée millefeuille (*Achillea millefolium* L.) et l'absinthe (*Artemisia absinthium* L.), se distinguent par leurs propriétés aromatiques marquées et leurs usages traditionnels en phytothérapie [1] [2].

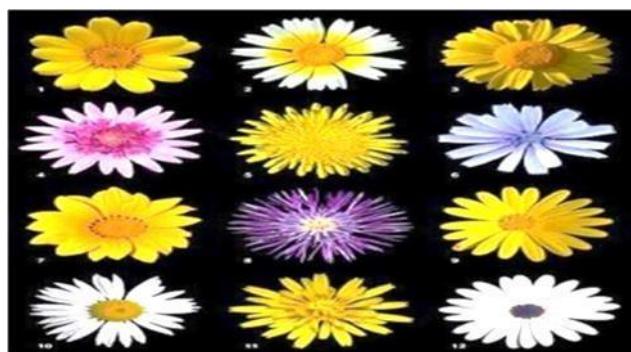


Fig. 1 : Douze inflorescences de la famille des *Astéracées*

[3]

La famille des *Astéracées* présente une diversité de formes biologiques, comprenant majoritairement des espèces herbacées, à l'instar *d'Arnica montana*. Toutefois, elle inclut également des représentants ligneux tels que des arbustes, illustrés par *Launaea arborescens*, des lianes, comme le Séneçon grimpant, et plus rarement, des espèces arborescentes, à l'exemple du Séneçon en arbre [4].

I.1.1. Appareil végétatif :

❖ Racine :

Les *Astéracées* présentent une diversité de formes biologiques, avec une prédominance d'espèces herbacées vivaces, dont la pérennité est assurée par des organes souterrains tubérisés (rhizomes, souches lignifiées ou racines accumulatrices). Cependant, certains taxons adoptent un cycle annuel (ex. : *Silybum marianum* (Chardon-marie) ou *Lactuca serriola* (Laitue sauvage)) ou bisannuel (ex. : *Senecio aquaticus* (Séneçon aquatique)). Chez les espèces annuelles ou bisannuelles, le système racinaire est généralement pivotant, optimisant l'ancrage et l'accès rapide aux ressources hydrominérales durant leur cycle court [5] [6].

❖ Tige : Chez les *Astéracées*, il existe deux grandes catégories [7]

- **Les tiges herbacées :**

Caractérisées par une texture non lignifiée et une couleur généralement verte, se desséchant et disparaissant en conditions hivernales défavorables (gel, sécheresse).

- **Les tiges ligneuses :**

Renforcées par une accumulation de lignine (polymère structural du bois), conférant rigidité et pérennité et elles sont généralement de couleur marron. Les *Astéracées* présentent majoritairement un port érigé avec des tiges aériennes dressées (ex. : *Helianthus annuus*), certaines plantes à rhizome comme le Topinambour, *Helianthus tuberosus*. Par ailleurs, certaines espèces sont qualifiées d'acaules, c'est-à-dire dépourvues de tige apparente. Chez ces plantes, comme la Pâquerette (*Bellis perennis*, Fig 2) ou le Pissenlit (*Taraxacum officinale*), l'axe caulinaire est extrêmement réduit, formant un plateau basal surmonté d'une rosette foliaire. Dans ce cas, les inflorescences sont portées par une hampe florale érigée, structure distincte dépourvue de feuilles et issue directement de la souche [7].



Fig. 2: Morphologie de la tige des Astéracées [8].

❖ **Feuille :**

Les feuilles sont généralement disposées de manière alterne. Cependant, elles peuvent également se présenter selon un arrangement opposé ou, dans certains cas, être regroupées en une rosette principale [9].

- **L'appareil reproducteur :**

L'appareil reproducteur des angiospermes se compose d'une ou plusieurs fleurs, dont la fonction principale est la production de graines, assurant ainsi la dissémination de l'espèce.

Chez ces plantes, sa différenciation intervient généralement en phase terminale du cycle de développement [10].

❖ **Le fruit :**

La majorité des fleurs chez les Angiospermes (environ 70 %) présentent une structure hermaphrodite, combinant à la fois les organes reproducteurs mâles et femelles. Les organes mâles, ou étamines, sont composés d'anthères (productrices de pollen) soutenues par des filets, tandis que les organes femelles consistent en un ovaire renfermant les ovules, surmonté d'un ou plusieurs styles terminés par des stigmates.

Au sein de la famille des *Astéracées*, la monoécie prédomine : les individus portent généralement des fleurs mâles et femelles sur le même pied. Toutefois, certaines espèces, comme *Antennaria dioica* (Fig 3), font exception en étant dioïques, avec des fleurs mâles et femelles réparties sur des pieds distincts. Enfin, certaines fleurs des *Astéracées* sont unisexuées, c'est-à-dire strictement mâles ou femelles [5].



Fig. 3: Fleurs femelles et fleurs mâles *D'Antennaria dioica* [11]. [12].

❖ **Fruit et graine :**

Le fruit est un akène, issu d'un ovaire infère. L'akène se définit comme un fruit sec indéhiscent à maturité, dérivant d'un carpelle unique et libre [13]. À maturité, la graine est libérée par désintégration de la paroi de l'akène. Celui-ci peut être surmonté, selon les espèces, d'un pappus – structure composée d'écaillles ou d'une aigrette favorisant la dissémination par le vent (anémochorie).

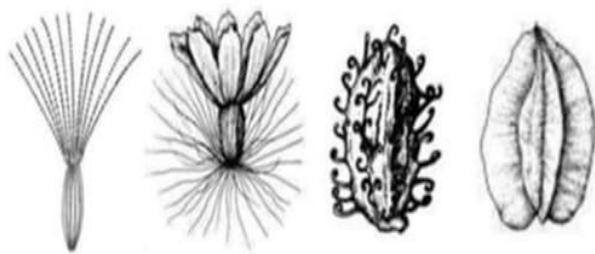


Fig. 4: Type de fruits de la Famille des *Astéracées*

[14].

La graine des *Astéracées* est généralement exalbuminée, c'est-à-dire dépourvue d'albumen (tissu nutritif entourant l'embryon). Par ailleurs, certaines espèces, comme *Taraxacum officinale* (Pissenlit), présentent une particularité reproductive : elles produisent des graines sans fécondation (par apomixie), un phénomène fréquent dans cette famille [5] [15].

I.1.2 Répartition géographique des *Astéracées* :

Les plantes appartenant à la famille des *Astéraceae* présentent une distribution géographique extrêmement étendue, couvrant pratiquement toute la surface du globe (Fig 1). Cette famille est considérée comme cosmopolite, avec une diversification particulièrement marquée dans les régions arides ou semi-arides. Parmi les zones géographiques où cette diversification est la plus notable, on peut citer le bassin méditerranéen, le sud de l'Afrique, le Mexique, l'Amérique du Sud ainsi que le sud-ouest des États-Unis.

En ce qui concerne la France, les principaux genres représentés au sein de cette famille incluent :

- ✓ Les Épervières (*Hieracium*), avec plus de 40 espèces recensées.
- ✓ Les Centaurées (*Centaurea*), comprenant 36 espèces.
- ✓ Les Séneçons (*Senecio*), avec 28 espèces identifiées.

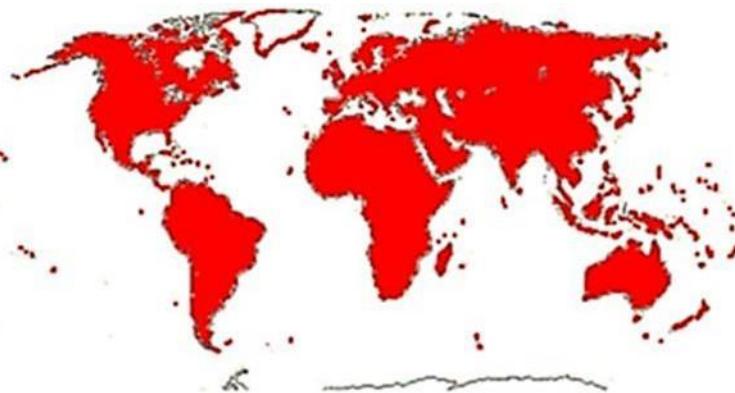


Fig. 5: Répartition de la famille des *Astéracées* dans le monde

[11].

D'autres genres de la famille des *Astéracées* occupent également une place significative dans la flore française. Parmi ceux-ci, *Artemisia*, *Achillea*, *Aster*, *Taraxacum*, *Carduus*, *Erigeron*, *Lactuca*, *Arctium* et *Bellis* [5].

I.1.3. Classification des *Astéracées* :

Selon la classification APG IV (Angiosperms Phylogeny Group), établie en 2016, les *Astéracées*, en tant que plantes à ovules, appartiennent au clade des Spermatophytes. Les *Astéracées* font partie des Dicotylédones, ce qui confirme leur appartenance à un groupe de plantes présentant une structure embryonnaire et une organisation morphologique spécifiques [16]. Cette classification souligne l'importance des critères phylogénétiques modernes dans la compréhension de l'évolution et de la diversité des plantes à fleurs. La famille des *Astéracées* est classée de la façon suivante :

- Plantae
- Embryophytes (Plantes terrestres)
- Trachéophytes (Plantes à vaisseaux)
- Embranchement des Spermatophytes (Plantes à graines)
- Sous-embranchement des Angiospermes (Plantes à fleurs)
- Clade des Dicotylédones vraies
- Clade des Dicotylédones vraies évoluées
 - Clade des Astéridées
 - Clade des Campanulidées
- Ordre des Astérales
- Famille des Astéracées

I.1.4. L'effet thérapeutique de la famille des *Astéracées* :

La famille des *Astéraceae* fournit des espèces très importantes d'un point de vue thérapeutique, ce qui n'est pas surprenant étant donné le nombre de genres qu'elle contient. De nombreuses espèces sont utilisées en médecine traditionnelle et sont associées à un panel.

D'activités thérapeutiques aussi large que la diversité de cette famille.

Les propriétés biologiques attribuées aux *Asteraceae* sont très nombreuses, notamment des propriétés antitumorale, cytotoxique, Immunosuppressive, antioxydante, antiacétylcholinesterase, antimicrobienne, antivirale, antifongique, leishmanicide, trypanocide, antipaludique, hépatoprotective, cytotoxique, larvicide, antiulcéreuse. Antiinflammatoire, antinociceptive, antitussive, expectorante, antidiabétique et hémolytique [17] [18] [19].

Les espèces appartenant à la famille des *Astéracées* sont reconnues pour leur potentiel allergène significatif, induisant des dermatites de contact. Ces réactions cutanées peuvent survenir à la suite d'un contact direct avec la plante, mais également par l'intermédiaire de la dispersion de certaines de ses structures desséchées, telles que les poils sécrétaires, ou encore par l'exposition au pollen. De plus, l'utilisation de cosmétiques ou de produits formulés à partir d'extraits de ces plantes représente une autre voie d'exposition susceptible de déclencher ces manifestations allergiques [20].

I.1.5. L'intérêt des *Astéracées* :

La famille des *Astéracées* occupe une place importante dans la pharmacopée traditionnelle turque, avec de nombreuses espèces employées pour leurs vertus thérapeutiques. Par exemple, les infusions *d'Achillea aleppica* et *d'Achillea biebersteinii* étaient traditionnellement prescrites pour soulager les douleurs abdominales. Les parties aériennes de *Chrysophthalmum montanum*, préparées par décoction, servaient de traitement topique pour les plaies et diverses lésions cutanées. Par ailleurs, l'administration orale de racines de certaines espèces était indiquée dans la prise en charge de l'hypertension artérielle, tandis que les graines de *Notobasis syriaca* étaient utilisées pour leurs propriétés hépatoprotectrices. Enfin, *Matricaria aurea*, sous forme de tisane prise deux fois quotidiennement, constituait un remède traditionnel contre les affections respiratoires telles que la bronchite, les pharyngites et la toux [21].

Les recherches ont mis en évidence que ces plantes manifestent des activités biologiques diversifiées, notamment : anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antioxydantes et hépatoprotectrices [22].

I.2. Présentation du chardon marie :

Silybum Marianum L. (*Gaertn.*), communément appelé chardon-Marie, représente une espèce notable au sein de la famille des *Astéracées*. Cette plante présente une distribution géographique étendue, se rencontrant à l'état indigène ou naturalisé dans diverses régions du globe. Son remarquable potentiel d'adaptation écologique lui permet de prospérer sous des conditions de croissance variées [23].

D'un point de vue agronomique, les cultivars de cette espèce font l'objet d'une culture spécialisée, principalement en Europe de l'Est et en Asie, où ils sont exploités pour leurs vertus médicinales [24] [25].



Fig. 6: plante de chardon marie [26]

Le chardon-Marie, *Silybum Marianum*, un membre éminent de la famille des *Astéracées*, se distingue par sa richesse en flavonolignanes regroupées sous le terme de silymarine. Ces composés bioactifs confèrent à la plante un éventail de propriétés pharmacologiques remarquables, incluant des actions anti-inflammatoires, antioxydantes, immunomodulatrices et hépatoprotectrices [27].

À l'état naturel, *Silybum Marianum L.* (chardon-Marie) présente un caractère rudéral marqué, colonisant préférentiellement :

- Des milieux fertiles soumis à des perturbations fréquentes, notamment les zones pastorales (pâturages, bergeries) caractérisées par des sols riches en azote.
- Des habitats fortement anthropisés tels que les marges routières et autres interfaces urbano-naturelles [28].

Dans de nombreux agroécosystèmes, *Silybum marianum* présente un caractère invasif et une forte compétitivité vis-à-vis des cultures. De ce fait, l'espèce est fréquemment catégorisée comme une adventice nuisible [28] dans les terres arables, et ce, aussi bien dans les zones à climat tempéré chaud (où les températures minimales excèdent rarement 0 °C) [29] [30] que dans les régions plus froides [31].

I.2.1 Taxonomie du Chardon-Marie (*Silybum marianum*) :

Tab. 1 : La classification phylogénétique du chardon-Marie (*Silybum marianum*) [32] [33] [34]

Niveau taxonomique	Classification
Phylum :	Phanérogames
Sous-phylum :	Angiospermes
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Asterales
Famille :	Astéracées (Composées)
Sous-famille	Tubuliflores
Genre :	<i>Silybum</i>
Espèce :	<i>Silybum marianum</i> (L). Gaerthn, 1791

I.2.2. Morphologie de l'espèce :

Les différents organes de la plante ainsi que leurs parties sont schématisés dans la figure1 suivante :



Fig. 7: Différents parties de *Silybum marianum* [35]



Racine : Le Chardon Marie a une racine dressée, ramifiée, de section ronde et striée, rigide et fortement épineuse. (Fig.8)



[36]



Fig. 8: Morphologie de racine de plante chardon marie



Tige : présente une tige pivotante qui est robuste, de grande longueur, épaisse et fibreuse, permettant à la plante de résister aux sols pauvres et secs (Fig 9) [37].



Fig. 9: Morphologie de tige de plant chardon marie

- ❖ **Feuille :** Le chardon Marie est caractérisé par ses grandes feuilles vert pâle brillantes, tachées de blanc lobées et ondulées, et bordées de dents épineuses à pointe jaune très acérée. Les feuilles de la base sont pétiolées, découpées en lobes à bords dentés épineux, en rosettes. Les feuilles supérieures sont plus petites et plus étroites réduites et embarrassantes, à bord moins découpé, mais très épineux, avec des marbrures laiteuses caractéristiques (fig 10) [38]

Fig. 10: Morphologie et Détail du feuillage du Chardon-Marie



- ❖ **Fleur :** Les fleurs sont toutes tubuleuses réunies en capitules terminaux, solitaires, dépassant souvent 6 cm de diamètre, la plupart sont pourvues d'une épine

atteignant jusqu'à 5 cm. La corolle est dentée, de couleur pourpre, 5 étamines forment un tube

autour du style. Elles fleurissent depuis le mois de juin jusqu'au mois d'août. (Fig 11) [39].



Fig. 11: Morphologie de Fleur

- ❖ **Fruit :** Les fruits sont obovoïdes acènes luisantes, marron ou jaune de couleur, avec une longue aigrette blanche qui est denticulée en anneau à sa base. Ces fruits contiennent des substances actives, comme la silymarine, utilisée en phytothérapie (Fig12) [37] [38].



Fig. 12: Graines de Chardon Marie

I.2.3. Caractéristiques botaniques :

Silybum marianum (L.) Gaertn., synonyme de *Carduus marianus* L., est une espèce végétale communément désignée sous le nom vernaculaire de chardon-Marie. Cette astéracée

est également connue sous une variété d'autres appellations, incluant chardon-Marie *béni*,

chardon vierge béni, couronne du Christ, chardon-marie, chardon sacré, chardon-Marie, chardon de Sainte-Marie, chardon de Notre-Dame, laiteron des champs, chardon panaché, chardon des champs ou artichaut sauvage [40] [29] Il s'agit d'une plante herbacée sauvage, annuelle ou, plus rarement, bisannuelle, appartenant à la famille des *Astéracées* [29] [41] [42]. Dans de nombreuses régions, elle est considérée comme une adventice en raison de son développement compétitif et de sa croissance agressive, atteignant généralement une hauteur comprise entre 90 et 200 cm, et pouvant exceptionnellement atteindre 300 cm [43] [44].

Silybum marianum se caractérise par ses capitules de couleur violette et ses feuilles vertes. Distinctivement, ses feuilles présentent des nervures blanc laiteux et des marges fortement épineuses. Le fruit est un akène de couleur noire, pourvu d'un éliosome riche en lipides, jouant un rôle significatif dans sa dispersion myrmécochore par les fourmis [44]. Originaire du bassin méditerranéen, l'espèce s'est naturalisée en Europe centrale, en Amérique et en Australie-Méridionale) [44], et sa distribution est aujourd'hui cosmopolite [29] [44].

I.2.4. Composition chimique du chardon marie :

Le *Silybum marianum* (chardon-marie) est une plante médicinale reconnue pour sa richesse en composés bioactifs, dont les propriétés thérapeutiques sont principalement attribuées à la présence de silymarine.

Flavonolignanes (Silymarine) :

Sont Les composés responsables de l'activité pharmacologique du *Silybum marianum* (chardon-marie) sont principalement des dihydroflavonolignanes. Ces molécules résultent de la réaction d'addition de l'alcool coniférylique à un 2,3-dihydro-flavonol, la taxifoline, formant ainsi un mélange complexe connu sous le nom de silymarine. Ce mélange, qui représente généralement entre 1,5 % et 3 % de la masse sèche du fruit, constitue le cœur des propriétés biologiques de la plante.

La silibinine (ou silybine), principal composant de la silymarine, en représente 60 % à 80 %. Il s'agit d'un benzodioxane existant sous la forme de deux diastéréoisomères, accompagnés de leurs régioisomères, les isosilybines A et B. Outre la silibinine, la silymarine comprend d'autres composés structuraux importants :

- La silydianine, un oxatricyclodécène résultant de la cycloaddition de l'alcool coniférylique à une o-quinone dérivée du taxiphone.
- La silychristine, qui possède une structure dihydrobenzofuranique. [45]

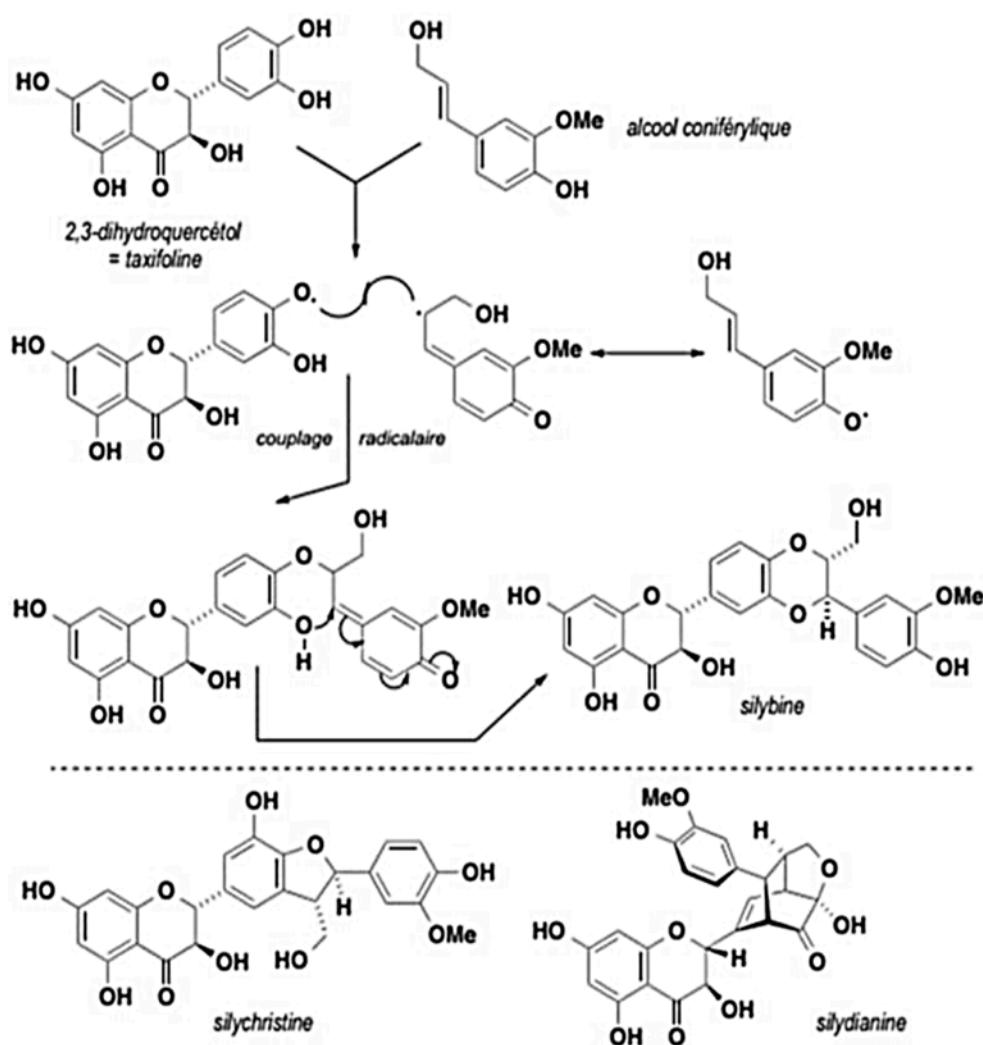


Fig. 13: Schéma de Flavanolignanes du Chardon- Marie [45]

Flavonoïdes :

Le *Silybum marianum* (chardon-marie) contient une diversité de composés phénoliques et flavonoïdes, qui contribuent à ses propriétés pharmacologiques. Parmi les flavonoïdes identifiés, on retrouve notamment la quercétine, la taxifoline, l'ériodictyol, la chrysoériol, la naringine, le kaempférol, le dihydrokaempférol, l'apigénol et le naringétol [46].

En parallèle, le *chardon-marie* renferme également des dérivés phénoliques, tels que les 5,7-dihydroxychromones et l'alcool dihydroniférylique [46]

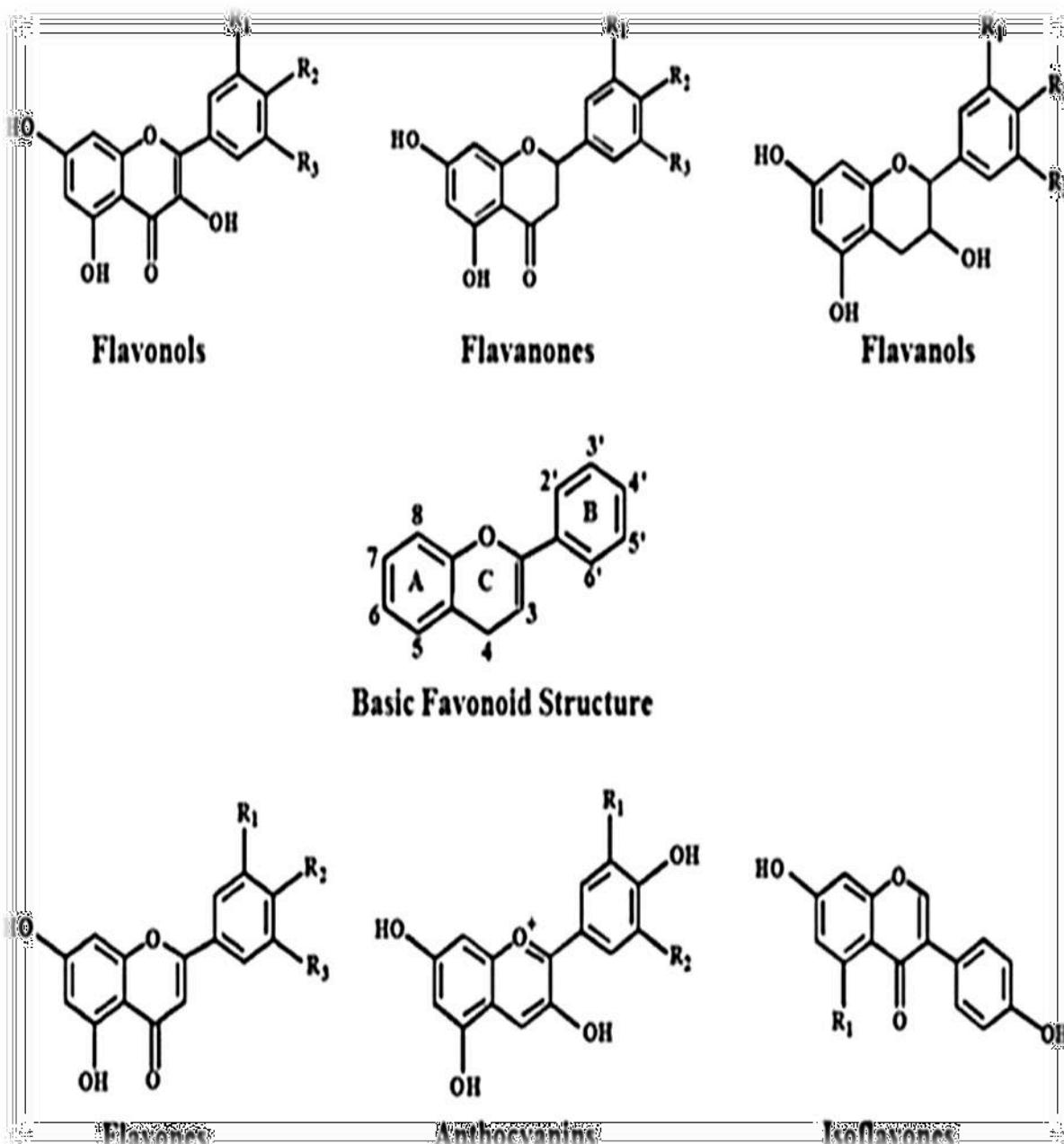


Fig. 14: Structures chimiques des sous-classes de flavonoïdes [47]

L'akène de *Silybum marianum (L.) Gaertn.* Révèle une composition biochimique complexe et significative. Son profil lipidique, représentant 15 à 30% de sa masse, est majoritairement constitué d'acides gras insaturés, avec une prédominance notable de l'acide linoléique (environ 60%), suivi de l'acide oléique (environ 30%). L'acide palmitique, un acide gras saturé, est présent en quantité minoritaire (environ 9%).

Outre sa richesse en lipides, l'akène renferme une fraction protéique substantielle, représentant 25 à 30% de sa composition. Cette fraction inclut notamment des composés azotés tels que la tyramine et la bétaïne.

Des composés mineurs, mais potentiellement actifs, sont également présents. On note la présence de tocophérol (environ 0.038%), un antioxydant de la famille de la vitamine E, ainsi qu'un ensemble de stérols (environ 0.063%), comprenant le campestérol, le stigmastérol et le β-sitostérol [48].

I.2.5. L'utilisation traditionnelle de la plante :

L'usage du chardon-Marie remonte à l'Antiquité, principalement pour son action de soutien dans la gestion des troubles hépatiques chez l'humain. De plus, il est traditionnellement employé en phytothérapie pour l'apaisement des symptômes liés aux troubles digestifs, incluant l'indigestion, pour favoriser une sensation de satiété et pour le maintien d'une fonction hépatique optimale. Les applications médicinales des fruits du *Silybum marianum* ont fait l'objet d'une publication officielle par l'Agence européenne des médicaments (EMA), s'appuyant sur une analyse rigoureuse de la littérature scientifique existante [49].

Au-delà de ses applications thérapeutiques en médecine humaine, *Silybum marianum* (chardon-Marie) et ses extraits présentent un intérêt significatif dans l'amélioration de la santé et des performances zootechniques chez diverses espèces animales [49].

L'administration de *Silybum marianum* ou de ses préparations standardisées en silymarine (SIL) à des fins thérapeutiques ou en raison de l'exercice d'un effet pharmacologique chez les animaux relève de la législation pharmaceutique européenne applicable aux médicaments vétérinaires, conformément au Règlement (UE) 2019/6 [50]. La complexité inhérente à l'enregistrement de la silymarine en tant que médicament vétérinaire constitue un facteur incitatif à son utilisation en tant qu'additif ou ingrédient alimentaire dans l'alimentation animale.

Dans la médecine traditionnelle de l'Antiquité grecque, *Silybum marianum* était employé pour ses propriétés curatives dans le traitement des affections digestives, hépatiques et biliaires [50].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

1. **Cabral, C., Silva, A. M. S., & Pedro, L. G.** (2013). *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link as a source of bioactive and fragrant oil. *Industrial Crops and Products*, 43, 484-488.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.052>
2. **Kenny, O., Brunton, N. P., Walsh, D., Hewage, C. M., McLoughlin, P., & Smyth, T. J.** (2014). Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts. *Food Chemistry*, 161, 79-86.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.126>
3. **Adli, B. Z., & Et Yousfi, I.** (2001). *Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Djelfa. Activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Pistacia atlantica Desf* [Mémoire d'Ingénieur, Université Ziane Achour].
4. **Filleul, E.** (2019). *Les Astéracées : description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxiques* [Thèse d'exercice, Université de Limoges]. Aurore.
<https://aurore.unilim.fr/ori-oai-search/notice/view/unilim-ori-107933>
5. **Botineau, M., & Pelt, J.-M.** (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Lavoisier.ISBN 978-2-7430-1112-3.
6. **Streeter, D.** (2011). *Guide Delachaux des fleurs de France et d'Europe*. Delachaux et Niestlé. ISBN 978-2-603-01674-9
7. **Blamey, M., & Grey-Wilson, C.** (2003). *La flore d'Europe occidentale*. Flammarion.
8. **Wikipedia.** (2019, 1 avril). *Pâquerette* [Planche botanique de Bellis perennis].
<https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=P%C3%A2querette&oldid=156916250>
9. **Tela Botanica.** (2020). *eFlore*.
<https://www.tela-botanica.org/eflore/>
10. **Harkati, B.** (2011). *Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille* [Thèse de doctorat, Université de Mentouri].
11. **Stevens.** (2008, juin). *Répartition géographique des Asteraceae* [En ligne].
HortiCal. https://hortical.com/spip.php?mot648&debut_mots_freres
12. **Wikipedia.** (2019, 6 juillet). *Illustration de Pied de chat dioïque* [Image en ligne].
https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Pied_de_chat_dio%C3%AFque&oldid=158730686
13. **Marouf, A., & Vallade, J.** (2000). *Dictionnaire de botanique : Les phanérogames*. Dunod.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

14. Yacine, N., Madani, S., & Abdelghani, Z. (s. d.). *Aperçu ethnobotanique et chimique des Astéracées* (p. 58).
15. DuPont, F., Guignard, J.-L., & Pelt, J.-M. (2015). *Botanique : les familles de plantes*. Elsevier Masson.
16. Tela Botanica. (2018). *eFlore*. Consulté le 12 juillet 2018.
<https://www.tela-botanica.org/eflore/>
17. Zheng, X., Wang, W., Piao, H., Xu, W., Shi, H., & Zhao, C. (2013). The genus *Gnaphalium* (Compositae) : Phytochemical and pharmacological characteristics. *Molecules*, 18(7), 8298-8318.
<https://doi.org/10.3390/molecules18078298>
18. Wang, G., Qin, J., Cheng, X., Shen, Y., Shan, L., Jin, H., & Zhang, W. (2014). *Inula* sesquiterpenoids : Structural diversity, cytotoxicity and anti-tumor activity. *Journal of Shanghai Jiao Tong University (Medical Science)*, 23(3), 317-345.
19. Hussain, H., Al-Harrasi, A., Abbas, G., Rehman, N. U., Mabood, F., Ahmed, I., Saleem, M., van Ree, T., Green, I. R., Anwar, S., Badshah, A., Shah, A., & Ali, I. (2013). The genus *Pluchea*: phytochemistry, traditional uses, and biological activities. *Chemistry & biodiversity*, 10(11), 1944–1971. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201200140>
20. Jack, A. R., Norris, P. L., & Storrs, F. J. (2013). Allergic contact dermatitis to plant extracts in cosmetics. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*, 32(3), 140-146. <https://doi.org/10.12788/j.sder.0019>
21. Eruygur, N., Koçyiğit, U. M., Taslimi, P., Ataş, M., Tekin, M., & Gülcin, İ. (2019). Screening the in vitro antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic Achillea cucullata (Asteraceae) ethanol extract. *South African Journal of Botany*, 120, 141-145. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.04.001>
22. Department of Chemistry, Ahmadu Bello University Zaria, I. Achika, J., Arthur, D. E., Gerald, I., & Adedayo, A. (2014). A Review on the Phytoconstituents and Related Medicinal Properties of Plants in the Asteraceae Family. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 7(8), 01-08. <https://doi.org/10.9790/5736-07810108>
23. Karkanis, A., Bilalis, D., & Efthimiadou, A. (2011). Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 825-830. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.03.027>
24. Martinelli, T., Potenza, E., Moschella, A., Zaccheria, F., Benedettelli, S., & Andrzejewska, J. (2016). Phenotypic Evaluation of a Milk Thistle Germplasm Collection : Fruit Morphology and Chemical Composition. *Crop Science*,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

56(6), 3160-3172. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.03.0162>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

25. **Martinelli, T., Fulvio, F., Pietrella, M., Focacci, M., Lauria, M., & Paris, R.** (2021). In *Silybum marianum* Italian wild populations the variability of silymarin profiles results from the combination of only two stable chemotypes. *Fitoterapia*, 148, 104797. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104797>
26. **Dubé, P.-A.** (s. d.). LA SILYMARINE DANS L'INTOXICATION AUX MATOXINES.
27. **Abenavoli, L., Izzo, A. A., Milić, N., Cicala, C., Santini, A., & Capasso, R.** (2018). Milk thistle (*Silybum marianum*): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and nutraceutical uses in liver diseases. *Phytotherapy research : PTR*, 32(11), 2202–2213. <https://doi.org/10.1002/ptr.6171>
28. **CABI - Centre for Agriculture and Bioscience International.** (2021). *Invasive Species Compendium : Silybum marianum* (Variegated Thistle). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/50304>
29. **Wianowska, D., & Wiśniewski, M.** (2015). Simplified procedure of silymarin extraction from *Silybum marianum* L. Gaertner. *Journal of chromatographic science*, 53(2), 366–372. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmu049>
30. **European Medicines Agency.** (2018). *Assessment report on Silybum marianum (L.) Gaertn., fructus* (No. EMA/HMPC/294188/2013). *Committee on Herbal Medicinal Products*, 44, 78.
31. **Andrzejewska, J., & Skinder, Z.** (2006). Yield and quality of raw material of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] grown in monoculture and in crop rotation. Part I. Reaction of milk thistle to the sowing date. *Herba Polonica*, 52, 11-17.
32. **Deysson, G.** (1979). *Organisation et classification des plantes vasculaires* (2e partie).
33. **Guignard, J.-L.** (1998). *Botanique* (11e éd.). Masson.
34. **Spichiger, R.-E., Savolainen, V., & Figeat, M.** (2000). *Botanique systématique des plantes à fleurs : Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*. Presses polytechniques et universitaires romandes.
35. **Wikipedia.** (2019, May 10). *Planche botanique de Silybum marianum* [Illustration]. Dans Wikipedia. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Silybum_marianum&oldid=892695828
36. **Ben Rahal, N.** (2012). *Extraction, identification et caractérisation des molécules bioactives de la graine et de l'huile de Silybum marianum* [Thèse de doctorat, Université de Lorraine & Université de Carthage].
37. **Sindel, B. M.** (1991). *A review of ecological studies on Silybum marianum (milk*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

thistle) in Australia. Plant Protection Quarterly, 6(3), 124–129.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

38. **Guemari, S.** (2022). *Étude phytochimique et activité biologique de Silybum marianum L. dans la région de Tébessa* [Mémoire de Master, Université de Tébessa].
39. **Adetuyi, A. O., Ibrahim, T. A., Adebisi, O. A., & Adetuyi, F. O.** (2021). *Morphological characterization and phytochemical profiling of Silybum marianum (L.) Gaertn.* Journal of Medicinal Plants Research, 15(8), 342–351.
40. **Abenavoli, L., Capasso, R., Milic, N., & Capasso, F.** (2010). Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytotherapy research : PTR*, 24(10), 1423–1432. <https://doi.org/10.1002/ptr.3207>
41. **Andrzejewska, J., Martinelli, T., & Sadowska, K.** (2015). *Silybum marianum* : Non-medical exploitation of the species: *Silybum marianum* : non-medical exploitation of the species. *Annals of Applied Biology*, 167(3), 285-297.
<https://doi.org/10.1111/aab.12232>
42. **Karkanis, A., Bilalis, D., & Efthimiadou, A.** (2011). Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 825-830. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.03.027>
43. **Bijak M.** (2017). Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.)-Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(11), 1942. <https://doi.org/10.3390/molecules22111942>
44. **Gresta, F., Avola, G., & Guarnaccia, P.** (2007). Agronomic Characterization of Some Spontaneous Genotypes of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) in Mediterranean Environment. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 12(4), 51–60. https://doi.org/10.1300/J044v12n04_05
45. **Bruneton, J.** (2016). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (5e éd., pp. 401-402). Lavoisier Tec & Doc.
46. **Charrié, J.-C., Chastel, B., Cieur, C., Combe, P., Damak, M., Hedayat, K., & Saigne Soulard, C.** (2017). *Plantes médicinales* : Phytothérapie clinique intégrative et médecine endobiogénique. Lavoisier Tec & Doc.
47. **Pandey, K. B., & Rizvi, S. I.** (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(5), 270–278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
48. **Mouillé-Richard, T. H. M.** (2014). Utilisation du chardon-marie (*Silybum marianum*) dans les affections hépatiques chez les oiseaux et le furet : *présentation de quelques cas cliniques* [Thèse de doctorat vétérinaire, École nationale vétérinaire d'Alfort].
49. **European Parliament & Council of the European Union.** (2019). *Regulation (EU)*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

*2019/6 of the European Parliament and of the Council of 11 December 2018 on
veterinary*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- medicinal products and repealing Directive 2001/82/EC. Official Journal of the European Union*, L 4, 43-167.
50. **Alaoui Ismaili, S.** (2016). *Valorisation de deux plantes marocaines Melia azedarach et Silybum Marianum* [Thèse de doctorat en Chimie et environnement, Université Mohammed V - Faculté des Sciences de Rabat].
https://toubkal.imist.ma/bitstream/handle/123456789/10552/THESE_ALAOUI%20ISMA ILI.pdf?sequence=3



CHAPITRE II : Métabolite Secondaire

II. Métabolites secondaires

II.1. Généralité :

Les composés métaboliques, tant primaires que secondaires, jouent un rôle essentiel dans le développement et la survie des espèces végétales [1]. Les métabolites primaires, incluant les lipides, les protéines, les sucres, les acides aminés et les vitamines, participent directement aux processus cellulaires fondamentaux tels que la division cellulaire, la respiration et la photosynthèse, toutes indispensables à la croissance et à l'évolution des plantes [2]. À l'inverse, les métabolites secondaires possèdent des fonctions variées, principalement dévolues à la défense et aux interactions avec leur milieu [3]. En outre, ils influencent la couleur, les arômes et les goûts particuliers des plantes, tout en jouant un rôle dans leurs réponses aux différents stress. Le concept des métabolites secondaires végétaux en biologie végétale a été lancée par Kossel et al. [1891] [4]. Ces métabolites secondaires sont très actifs et leur accumulation est affectée par les stress biotiques (phytopathogènes, herbivores) et abiotiques (UV, température), ce qui peut impacter négativement les caractéristiques physiologiques et morphologiques telles que le nombre et la surface des feuilles, la taille et la productivité des plantes [1]

II.2. Classification des métabolites secondaires :

D'après leur composition et leurs mécanismes de biosynthèse. Dans le règne végétal, ces composés secondaires englobent des dizaines de milliers de molécules distinctes, généralement classées en grandes familles chimiques telles que les terpènes (comme les composés volatils issus des plantes, les glycosides cardiotoniques, les caroténoïdes et les stérols), les composés phénoliques et les composés contenant de l'azote (comme les alcaloïdes et les glucosinolates). Plusieurs méthodes de séparation traditionnelles, utilisant différents systèmes de solvants et réactifs de pulvérisation, ont été décrites comme étant capables de séparer et d'identifier ces métabolites secondaires [5].

II.2.1. Composés phénoliques (Les polyphénols) :

II.2.1.1. Généralité :

Les polyphénols forment un groupe étendu et complexe de substances phytochimiques possédant au moins un cycle aromatique associé à un groupe hydroxyle en tant que dérivés fonctionnels [6]. À ce jour, plus de 8 000 polyphénols On les trouve dans presque toutes les espèces végétales et ils ont suscité un vif intérêt en raison de leurs usages nutritionnels et médicinaux [7]. Ces composés présentent une grande diversité structurelle,

intégrant des molécules simples (comme la vanilline, l'acide gallique, et l'acide caféïque) et des polyphénols (tels que les stilbènes, les flavonoïdes, et les polymères). Les composés phénoliques se retrouvent généralement dans les plantes sous une forme soluble ou liée, mais peuvent également être catégorisés en sous-groupes selon leur structure chimique. Les composés phénoliques solubles sont habituellement synthétisés dans le réticulum endoplasmique et stockés dans les vacuoles, alors que les composés phénoliques liés sont générés par la transformation de composés phénoliques solubles dans la paroi cellulaire, où ils se conjuguent avec des molécules de la paroi cellulaire via des liaisons glycosidiques et esters.

[8]. Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux [9].

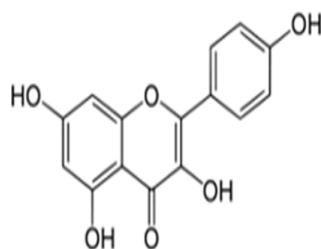


Fig. 15: exemple de Structure de de polyphénol [10]

II.2.1.2. Biosynthèse des polyphénols :

Les composés phénoliques sont synthétisés par deux voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate :

- La voie l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples. [11][12].
- La voie de l'acétate, qui conduit à des poly β-coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones. [13].

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine Biosynthétique, est encore amplifiée par la possibilité d'une implication simultanée des deux voies dans la création de composés d'origine mixte, tels que les flavonoïdes[14].

II.2.1.3. Classification des polyphénols :

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes. Qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...), enfin par les liaisons possibles de ces molécules[15].

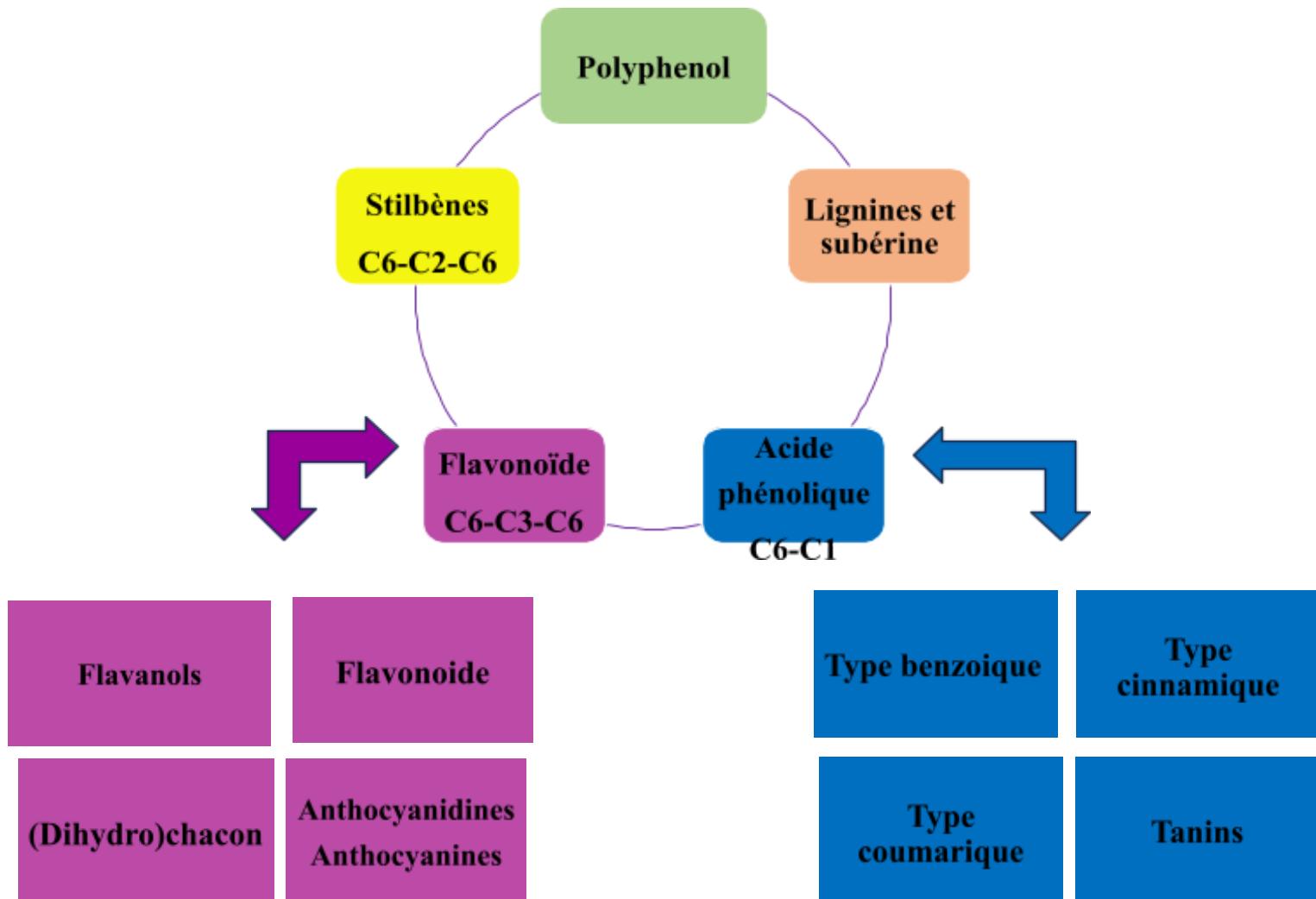


Fig. 16: Schéma de Principales classes de composés polyphénoliques

[16][17]

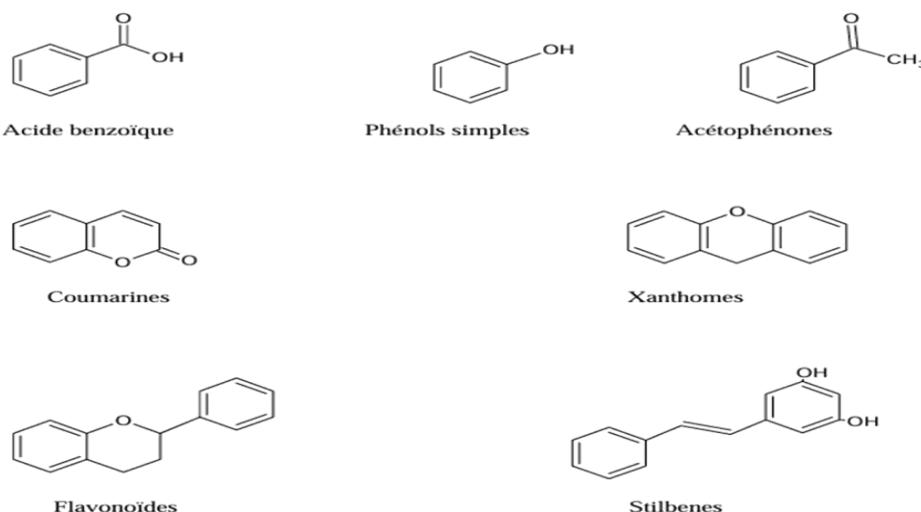


Fig. 17: Squelette de base des composés phénolique [18]

II .2.1.3.A. Acide phénoliques :

A.1. Généralité :

Les acides phénoliques sont des ingrédients actifs importants dans de nombreuses plantes médicinales [19]. Sont composés de cycles aromatiques avec un groupe acide carboxylique (-COOH).

Les bioactivités, la biosynthèse et la production biotechnologique d'acides phénoliques ont été bien révélées chez *Salvia miltiorrhiza* qui est une espèce de plante médicinale traditionnelle chinoise précieuse dont le nom commun est Danshen [20]. Les ingrédients bioactifs de *S. miltiorrhiza* comprennent des acides phénoliques hydrosolubles tels que l'acide salvianolique A (Sal A), l'acide salvianolique B (Sal B), l'acide caféique (CA) et l'acide rosmarinique (RA)[21][22][23][24][25]. Dans les décoctions commerciales de Danshen, le Sal B est le principal composant marqueur utilisé pour le contrôle de la qualité selon la pharmacopée chinoise officielle [26][27]. Ces composés ont attiré de plus en plus d'attention ces dernières années.

A.2. Biosynthèse :

La plupart des acides phénoliques sont synthétisés par deux voies parallèles :

- La voie générale des phénylpropanoïdes et de la voie dérivée de la tyrosine [26][28]. Dans la voie des phénylpropanoïdes, la phénylalanine est traitée comme substrat pour produire de l'acide cinnamique par la phénylalanine ammoniac-lyase (PAL) [29]. L'acide cinnamique est

ensuite catalysé en p-coumaroyl-CoA par deux enzymes : l'acide cinnamique 4-hydroxylase (C4H) et la 4-coumarate : CoA ligase(4CL) [30].

- Dans la voie de la tyrosine, la tyrosine aminotransférase (TAT) et l'hydroxyphénylpypyruvate réductase (HPPR) interviennent dans la conversion de la tyrosine en acide 3,4- dihydroxyphényllactique (DHPL) [31]. L'acide rosmarinique, précurseur important des acides phénoliques spécifiques aux espèces en aval, est ensuite synthétisé par l'acide rosmarinique synthase (RAS) et la monooxygénase (CYP98A14) dépendante du cytochrome P450 pour former RA15 [32][33]. La surexpression de l'acide rosmarinique synthase et du CYP98A14 a entraîné une teneur plus élevée en acides phénoliques dans les racines velues de *S. miltorrhiza* [34].

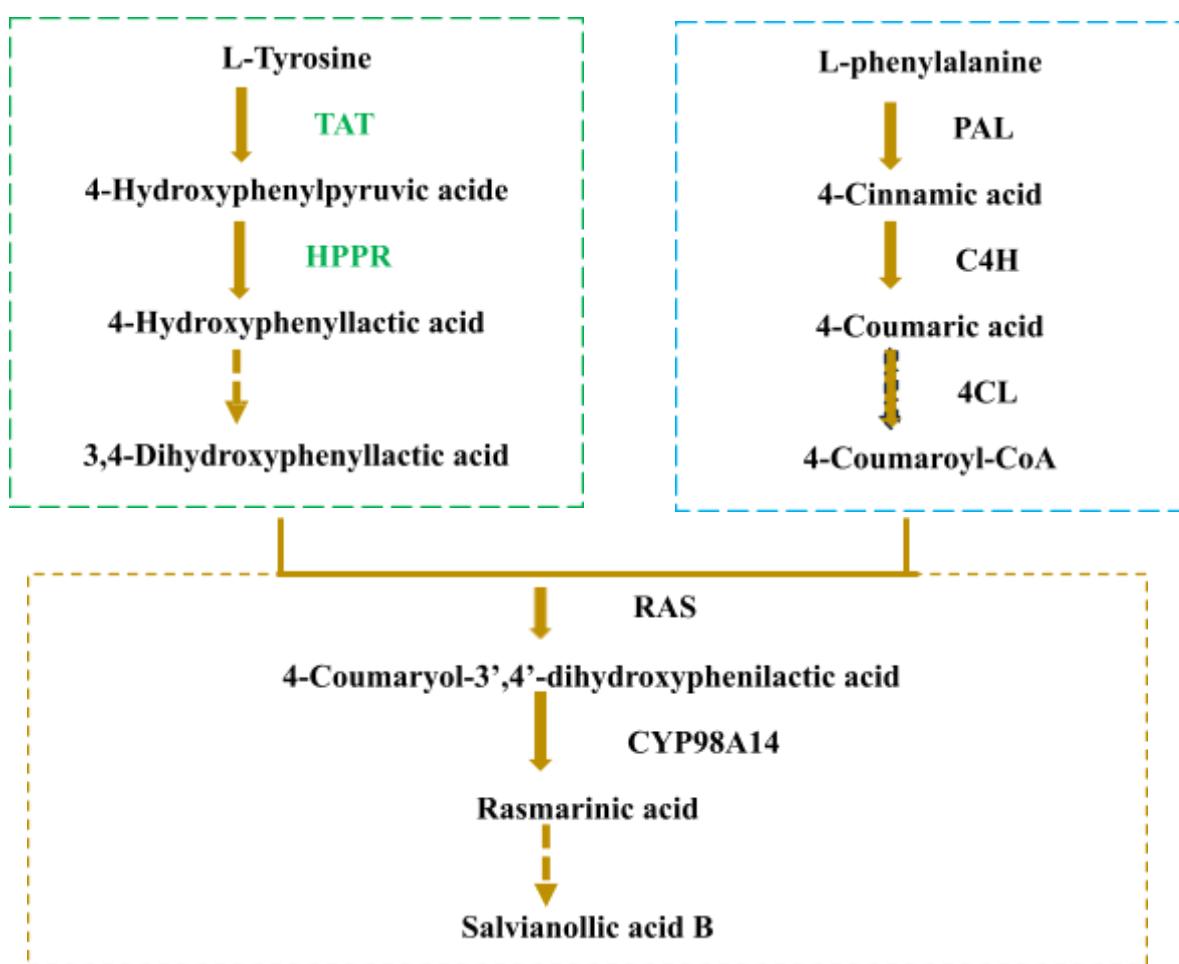


Fig. 18: Voie de biosynthèse de l'acide phénolique

A.3. Classification des acides phénoliques :

Sur la base du nombre de structures cycliques aromatiques, Ces composés phénoliques sont divisés en deux groupes : Acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques

]35[

- Acides hydroxybenzoïque (acides gallique, protocatéchuique, p-hydroxybenzoïque et syringique).

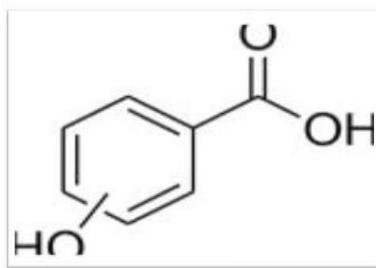


Fig. 19: Structures générales des acides benzoïques substitués par hydroxyle]35[.

- hydroxycinnamique (acides p-coumarique, caféique, férulique et sinapique).

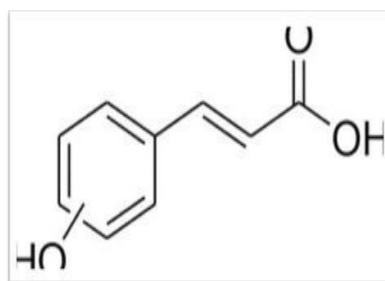


Fig. 20: Structures générales des acides cinnamiques à substitution hydroxyle]35[

II .2.1.3.B. Flavonoïdes :

B.1. Généralité :

Le terme « flavonoïde, dérivant du grec *flavus* (jaune en latin) » fait référence à un vaste éventail de composés naturels appartenant à la classe des polyphénols]6|. Ces substances jouant souvent un rôle dans la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Dans leur état naturel, les flavonoïdes se rencontrent le plus souvent sous forme d'hétérosides]36|.

Les flavonoïdes sont une classe de pigments hydrosolubles stockés dans les vacuoles cellulaires [37]. Chez les plantes, plus de 9 000 flavonoïdes ont été identifiés et classés en différents groupes en fonction du nombre de groupes hydroxyle/méthyle sur leur cycle hétérocyclique ou benzénique. Leur structure chimique est généralement constituée d'un squelette de 15 carbones [38].

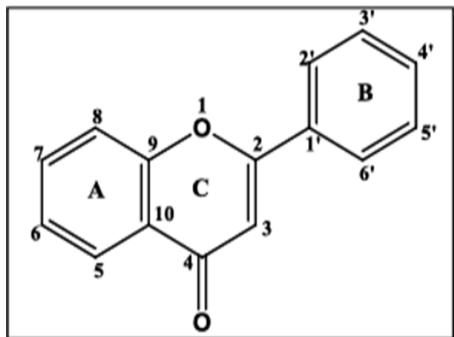


Fig. 21: Structure de base des flavonoïdes [39]

B.2. Biosynthèse :

En tant que composés phénoliques, les flavonoïdes proviennent également de la voie des phénylpropanoïdes [40]. La biosynthèse spécifique des flavonoïdes commence dérivant de la voie de l'acide shikimique [41], commence par la conversion du p-coumaroyl-CoA, ainsi que du malonyl-CoA et de l'acétyl-CoA, en naringénine chalcone par la chalcone synthase, qui est la première enzyme limitant la vitesse de la voie de biosynthèse des flavonoïdes [42]. La chalcone naringénine, squelette de base de la voie en aval, est convertie en naringénine par la catalyse de la chalcone isomérase, ou en 2'-glucoside de naringénine par la catalyse de la chalcone 2'-glucosyltransférase [43].

La chalcone est un produit intermédiaire central dans différentes voies ramifiées, telles que la biosynthèse des flavanones, des isoflavones et des flavonols [44].

B.3. Classification des flavonoïdes :

Les différentes classes de flavonoïdes varient selon la cyclisation, le niveau d'insaturation et l'oxydation du cycle C, tandis que les composés spécifiques au sein d'une catégorie se distinguent par les substitutions des cycles A et B. Parmi les multiples catégories de flavonoïdes, se trouvent celles présentées dans le tableau:

Tab 2: les principales classes de flavonoïdes

]45[

Flavonoïdes	Exemple	Structure	Caractéristique
Flavonols	Quercétine Kaempférol Myricétine		Le groupes le plus abondants des composés phénoliques.
Flavones	Utéoline Apigénine Chrysine		Les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration.
Flavanone	Genisteine Daidzeine Naringénine		Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée
Flavan3-ols	Catéchine Epicatéchine Epigallocatéchine		Flavan3ols ainsi que flavan3,4diols sont tout les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques
Anthocyanidines	Cyanidine Delphénidine Cyanidol		Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.

II.2.1.4. Effets biologiques des polyphénols :

- Les composés phénoliques sont impliqués de manière dynamique dans les interactions de la plante avec son environnement, jouant soit le rôle de signaux de reconnaissance entre les végétaux (allélopathie)]9[.

- Les composés phénoliques ont des propriétés antioxydants en raison de leur capacité à piéger, Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène, ce mécanisme repose sur des réactions radicalaires.]11[.
- Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs en popularité dans le domaine thérapeutique]11[. De nombreuses études indiquent que les polyphénols jouent un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires. Leur ingestion entraîne une augmentation temporaire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures suivant le repas.]46[.
- Grâce à ses propriétés antioxydantes, l'acide phénolique protège contre les maladies cardiovasculaires.]47[.]48[.]49[Le cycle aromatique peut perdre son électron, formant ainsi un radical libre hydrogène qui agit comme réducteur et neutralise les radicaux libres. Ce mécanisme protège contre les maladies cardiovasculaires (MCV). Les aliments d'origine végétale, notamment les graines, la peau des fruits et les légumes à feuilles, constituent la principale source d'acides phénoliques. Ces acides phénoliques représentent un large éventail d'applications cosmétiques, alimentaires et thérapeutiques]50[.
- Les flavonoïdes sont cruciaux pour les mécanismes de défense et la coloration des végétaux. En outre, ils présentent une multitude d'effets bénéfiques pour la santé et constituent un composant fondamental des remèdes, traitements médicaux et produits cosmétiques. Par exemple, leurs propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancéreuses et antimutagènes leur permettent de modifier des fonctions enzymatiques cellulaires essentielles, et ils agissent comme de puissants inhibiteurs de diverses enzymes]51[

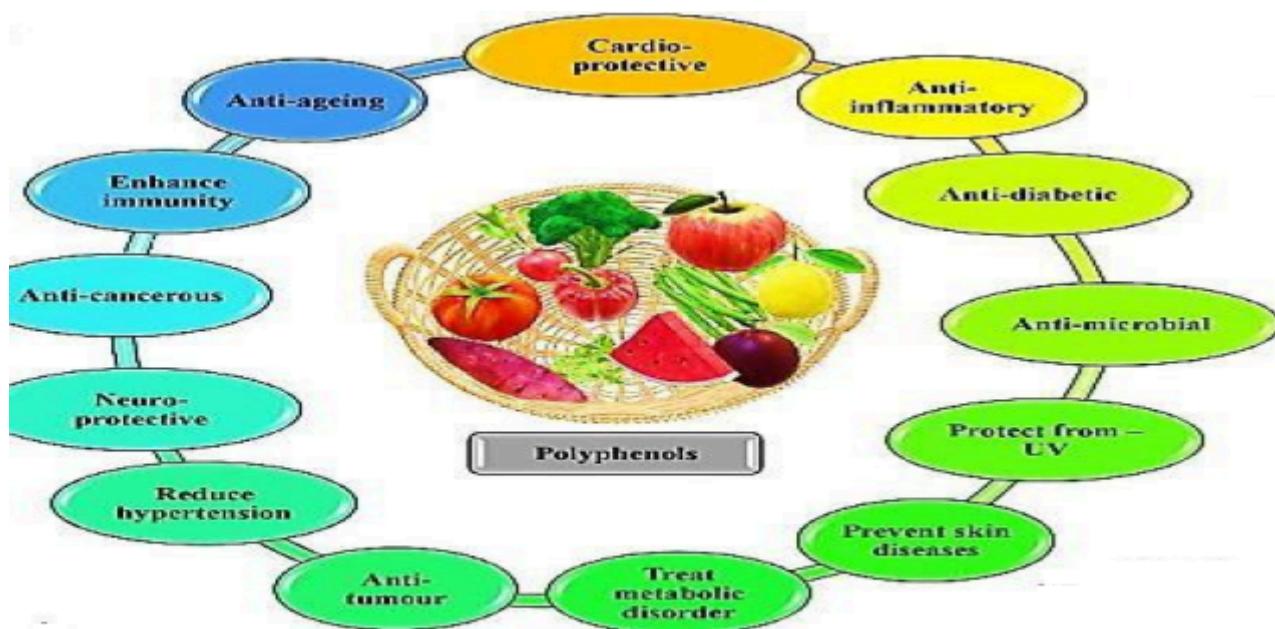


Fig. 22: Effets biologiques des polyphénol

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

1. **Jeyasri, R., Muthuramalingam, P., Karthick, K., Shin, H., Choi, S. H., & Ramesh, M.** (2023). Methyl jasmonate and salicylic acid as powerful elicitors for enhancing the production of secondary metabolites in medicinal plants: An updated review. *Metabolites*, *13*(8), 895. <https://doi.org/10.3390/metabo13080895>
2. **Tariq, A., Zeng, F., Graciano, C., Ullah, A., Sadia, S., Ahmed, Z., & Zhang, Z.** (2023). Regulation of metabolites by nutrients in plants. In *Plant ionomics: Sensing, signaling, and regulation* (pp. 1-18). John Wiley & Sons.
3. **Chen, D., Mubeen, B., Hasnain, A., Rizwan, M., Adrees, M., Naqvi, S. A. H., Shahzad, S. M., Hussain, M., Alharby, H. F., Irshad, M. K., & al.** (2022). Role of promising secondary metabolites to confer resistance against environmental stresses in crop plants: Current scenario and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 13, 881032. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.881032>
4. **Li, Y. Q., Kong, D. X., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H.** (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiol. Biochem*, 148, 80-89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
5. **Chiocchio, I., Mandrone, M., Tomasi, P., Marincich, L., & Poli, F.** (2021). Plant secondary metabolites: An opportunity for circular economy. *Molecules*, 26(2), 495. <https://doi.org/10.3390/molecules26020495>
6. **Bruneton, J.** (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.). Lavoisier.
7. **Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S.** (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
8. **Gan, R. Y., Chan, C. L., Yang, Q. Q., Li, H. B., Zhang, D., Ge, Y. Y., Gunaratne, A., Ge, J., & Corke, H.** (2019). Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains. In *Sprouted grains* (pp. 191–246). AACC International Press.
9. **Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.** (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Presses polytechniques et universitaires romandes.
10. **Amaechina, F. C., Ayida, B. A., & Omagbai, E. K.** (2007). Pharmacognosy and hypotensive evaluation of *Ficus exasperata* Vahl leaf. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 64, 543-546.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

11. **Boubekri, C.** (2014). *Étude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques* [Thèse de doctorat en chimie, Université Mohamed Khider - Biskra].
12. **Knaggs, A. R.** (2003). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*, 20, 119-136.
13. **Naczk, M., & Shahidi, F.** (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111
14. **Martin, S., & Andriantsitohaina, R.** (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51(5), 304-315.
15. **Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V.** (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Lavoisier.
16. **Collin, S., & Crouzet, J.** (2011). *Polyphénols et procédés*. Lavoisier.
17. **Deayf, F., & Lattanzio, V.** (2009). *Recent advances in polyphenol research* (Vol. 1). Wiley- Blackwell.
18. **Harborne, J. B.** (2012). *Methods in plant biochemistry: Volume 1, Plant phenolics* (Vol. 1). Academic Press.
19. **Chen, R., Cao, Y., Wang, W., Li, Y., Wang, D., Wang, S., & al.** (2021). Transcription factor SmSPL7 promotes anthocyanin accumulation and negatively regulates phenolic acid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza*. *Plant Science*, 310, 110993. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.110993>
20. **Shi, M., Huang, F., Deng, C., Wang, Y., & Kai, G.** (2019). Bioactivities, biosynthesis and biotechnological production of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 953-964. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1474170>
21. **Liao, P., Zhou, W., Zhang, L., Wang, J., Yan, H., & Xu, X.** (2009). Molecular cloning, characterization and expression analysis of a new gene encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase from *Salvia miltiorrhiza*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 565-572. <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0266-z>
22. **Deng, C., Hao, X., Shi, M., Fu, R., Wang, Y., Zhang, Y., Zhou, W., & Kai, G.** (2020). ABA-responsive transcription factor bZIP1 is involved in modulating biosynthesis of phenolic acids and tanshinones in *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Experimental Botany*, 71, 5948-5962. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa295>
23. **Kai, G., Xu, H., Zhou, C., Liao, P., Xiao, J., Luo, X., You, L., & Zhang, L.** (2011). Metabolic engineering tanshinone biosynthetic pathway in *Salvia miltiorrhiza* hairy root cultures. *Metabolic Engineering*, 13(3),

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

319-327.<https://doi.org/10.1016/j.ymben.2011.02.003>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

24. **Guo, J., Zhou, Y. J., Hillwig, M. L., Shen, Y., Yang, L., Wang, Y., Zhang, X., Liu, W., Peters, R. J., & Chen, X.** (2013). CYP76AH1 catalyzes turnover of miltiradiene in tanshinones biosynthesis and enables heterologous production of ferruginol in yeasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(29), 12108-12113. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218061110>
25. **Huang, Q., Sun, M., Yuan, T., Wang, Y., Shi, M., Lu, S., Tang, B., Pan, J., Wang, Y., & Kai, G.** (2019). The AP2/ERF transcription factor SmERF1L1 regulates the biosynthesis of tanshinones and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza*. *Food Chemistry*, 274, 368-375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.119>
26. **Zhang, Y., Yan, Y.-P., Wu, Y.-C., Hua, W.-P., Chen, C., Ge, Q., & Wang, Z.-Z.** (2014). Pathway engineering for phenolic acid accumulations in *Salvia miltiorrhiza* by combinational genetic manipulation. *Metabolic Engineering*, 21, 71-80. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2013.10.009>
27. **Sun, M., Shi, M., Wang, Y., Huang, Q., Yuan, T., Wang, Q., Wang, C., Zhou, W., & Kai, G.** (2019). The biosynthesis of phenolic acids is positively regulated by the JA-responsive transcription factor ERF115 in *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Experimental Botany*, 70(1), 243-254. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery349>
28. **Di, P., Zhang, L., Chen, J., Tan, H., Xiao, Y., Dong, X., Zhou, X., & Chen, W.** (2013). ¹³C tracer reveals phenolic acids biosynthesis in hairy root cultures of *Salvia miltiorrhiza*. *ACS Chemical Biology*, 8(7), 1537-1548. <https://doi.org/10.1021/cb3006962>
29. **Reyes Jara, A. M., Gomez Lobato, M. E., Civello, P. M., & Martinez, G. A.** (2022). Phenylalanine ammonia lyase is more relevant than chalcone synthase and chalcone isomerase in the biosynthesis of flavonoids during postharvest senescence of broccoli. *Journal of Food Biochemistry*, 46(3), e14054. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14054>
30. **Huang, B., Yi, B., Duan, Y., Sun, L., Yu, X., Guo, J., Chen, W.** (2008). Characterization and expression profiling of tyrosine aminotransferase gene from *Salvia miltiorrhiza* (Dan-shen) in rosmarinic acid biosynthesis pathway. *Molecular Biology Reports*, 35(4), 601-612. <https://doi.org/10.1007/s11033-007-9130-2>
31. **Rizi, M. R., Azizi, A., Sayyari, M., Mirzaie-Asl, A., & Conti, L.** (2021). Increased phenylpropanoids production in UV-B irradiated *Salvia verticillata* as a consequence of altered genes expression in young leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 167, 174-184. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.07.037>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

32. **Deng, C., Wang, Y., Huang, F., Lu, S., Zhao, L., Ma, X., & Kai, G.** (2020). SmMYB2 promotes salvianolic acid biosynthesis in the medicinal herb *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 62(10), 1688-1702. <https://doi.org/10.1111/jipb.12943>
33. **Chen, R., Cao, Y., Wang, W., Li, Y., Wang, D., Wang, S., & [et al.]** (2021). Transcription factor SmSPL7 promotes anthocyanin accumulation and negatively regulates phenolic acid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza*. *Plant Science*, 310, 110993. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.110993>
34. **Fu, R., Shi, M., Deng, C., Zhang, Y., Zhang, X., Wang, Y., & Kai, G.** (2020). Improved phenolic acid content and bioactivities of *Salvia miltiorrhiza* hairy roots by genetic manipulation of RAS and CYP98A14. *Food Chemistry*, 331, 127365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127365>
35. **Al-Mamri, H.** (2021). *Composés phénoliques : classification, chimie et techniques d'analyse et de synthèse mises à jour*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98958>
36. **Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., & Orecchioni, A. M.** (2001). *Le préparateur en pharmacie* (2^e éd.). Lavoisier.
37. **Dong, N. Q., & Lin, H. X.** (2021). Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(2), 180-209. <https://doi.org/10.1111/jipb.13054>
38. **Noda, N., Yoshioka, S., Kishimoto, S., Nakayama, M., Douzono, M., Tanaka, Y., & Fukui, Y.** (2017). Generation of blue chrysanthemums by anthocyanin B-ring hydroxylation and glucosylation and its coloration mechanism. *Science Advances*, 3(7), e1602785. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1602785>
39. **Merghem, R.** (2000). *Rôle des polyphénols et tanins condensés dans l'alimentation*. Université de Constantine.
40. **Wang, Z. L., Wang, S., Kuang, Y., Hu, Z. M., Qiao, X., & Ye, M.** (2018). A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of *Scutellaria baicalensis*. *Pharmaceutical Biology*, 56(1), 465-484. <https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1492620>
41. **Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1(1), 3-6.
42. **Zhang, X., Abrahan, C., Colquhoun, T. A., & Liu, C. J.** (2017). A proteolytic regulator controlling chalcone synthase stability and flavonoid biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 29(5), 1157-1174. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00855>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

43. Miyahara, T., Sugishita, N., Ishida-Dei, M., Okamoto, E., Kouno, T., Cano, E. A., & Oda, A. (2018). Carnation I locus contains two chalcone isomerase genes involved in orange flower coloration. *Breeding Science*, 68(4), 481-487. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.18029>
44. Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J., & Zhang, H. (2021). The flavonoid biosynthesis network in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12824. <https://doi.org/10.3390/ijms222312824>
45. Effendi, A., Gerhauser, H., & Bridgwater, A. V. (2008). Production of renewable phenolic resins by thermochemical conversion of biomass: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 12(8), 2092-2116.
46. Manach, C., Mazur, A., & Scalbert, A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 16(1), 1-8.
47. Behl, T., Bungau, S., Kumar, K., Zengin, G., Khan, F., Kumar, A. (2020). Pleotropic effects of polyphenols in cardiovascular system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110714. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110714>
48. Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 1700-41.
49. Shahidi, F., & Yeo, J. (2018). Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1573.
50. Rashmi, H. B., & Negi, P. S. (2020). Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Research International*, 136, 109298. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109298>
51. Walker, E. H., Pacold, M. E., Perisic, O., Stephens, L., Hawkins, P. T., Wymann, M. P., & Williams, R. L. (2000). Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Molecular Cell*, 6(5), 909-919.



CHAPITRE III : Activités biologiques

III. Activités biologiques

III.1 Caractéristiques biologiques du chardon-Marie :

Les flavonoïdes, absents chez les microorganismes tels que les champignons et les lichens, sont des métabolites secondaires spécifiques aux plantes. Ils jouent un rôle essentiel dans la protection des végétaux contre le stress oxydatif, une réaction principalement induite par l'exposition au rayonnement solaire. Ils peuvent attirer les insectes polliniseurs grâce à leurs propriétés visuelles ou chimiques, ou au contraire, servir de mécanisme de défense en éloignant les prédateurs par des motifs spécifiques ou par leur toxicité. En effet, certaines molécules flavonoïdiques présentent une action毒ique pour les insectes, comme l'ont démontré [1].

La silymarine possède une propriété inhibitrice de la fibrose, un mécanisme pathologique impliqué dans la progression de la cirrhose. Cette affection hépatique résulte souvent d'une inflammation chronique du foie, causée par des maladies hépatiques, une consommation excessive d'alcool ou des infections telles que l'hépatite [2] [3].

La silymarine présente des propriétés antioxydantes marquées, inhibant la peroxydation lipidique des membranes cellulaires et neutralisant les radicaux libres. Elle agit également en supprimant la production de cytokines pro-inflammatoires, contribuant ainsi à réduire l'inflammation. De plus, la silymarine exerce un effet stabilisateur sur les membranes cellulaires, notamment en présence de dommages induits par des xénobiotiques. Dans le cas spécifique de la toxine des amanites, elle interagit de manière compétitive avec les sites de fixation de cette toxine, limitant ainsi ses effets délétères. Par ailleurs, la silymarine stimule l'activité de l'ARN-polymérase, favorisant la synthèse protéique et augmentant la capacité de régénération du tissu hépatique. [4] [5]

Silybum Marianum est une plante médicinale. Elle présente des effets antiémétiques et antispasmodiques, atténuant notamment les crampes digestives. En outre, elle possède une fonction veinoprotectrice et hypotensive, contribuant à la protection du système vasculaire et à la régulation de la pression artérielle. La plante est également galactogène, et antidépressive. [6].

Silybum Marianum est une plante particulièrement riche en composés actifs, dont les propriétés thérapeutiques sont principalement attribuées à la présence de silymarine. Cette molécule, qui représente environ 70 à 80 % des substances actives de la plante, confère à

Silybum marianum ses effets biologiques et pharmacologiques significatifs, comme l'ont démontré [1].

Les activités biologiques de *Silybum marianum*, liées à ses composés actifs, sont synthétisées dans le tableau suivant :

Tab 3: Activités biologiques en fonction des composés actifs de *Silybum marianum* [7]

Composés actifs du Chardon Marie	Activités Biologiques
Flavonoïdes	-Diurétique, anti-azotémique, antispasmodique. -anti-ulcère gastrique, anti-inflammatoire -inhibe l'agrégation plaquettaire in vitro.
Flavonols Catéchols	-Propriétés antioxydants. -Réduit les risques coronariens.
Silymarine	-Réduit l'accumulation de collagène dans le foie chez les rats. -Effet positif sur le diabète induit par l'alloxane chez les rats. -Traitement des maladies hépatiques. -Neutralise l'hépato-toxicité de la phalloïdien et l'amantidine.
Flavonolignanes: Silandrine3deoxysilychristine. Silibinine, Silymonine. Silvodianine Quercétol.	-Provoque la peroxydation membranaire. Responsable de l'activité antioxydante.
Quercétol	Propriétés de protection cellulaire

III.1.1. Propriétés antioxydantes :

La silybine joue un rôle protecteur en prévenant les dommages tissulaires induits par un excès de fer. Une accumulation excessive de fer dans l'organisme peut s'avérer nocive, car le fer catalyse la formation de radicaux libres, entraînant une peroxydation des lipides membranaires et des dommages cellulaires. Le foie, en particulier, est très sensible à ces effets destructeurs. Grâce à ses propriétés antioxydantes, la silybine contribue à atténuer la toxicité du fer en protégeant les tissus contre ces dommages oxydatifs. Par ailleurs, des études scientifiques indiquent que la silybine agit également comme un chélateur du fer, en se liant au fer libre et en favorisant son élimination par voie biliaire [8]

La silymarine est reconnue pour son puissant potentiel antioxydant, agissant par la séquestration des radicaux libres (espèces réactives de l'oxygène) et l'inhibition de la peroxydation lipidique, conférant ainsi une protection contre le stress oxydatif. De plus, elle module positivement les systèmes de défense antioxydants cellulaires, tant non enzymatiques (notamment le glutathion réduit) qu'enzymatiques (supéroxyde dismutase et catalase). Cette capacité à prévenir la peroxydation lipidique et à restaurer les niveaux de glutathion réduit suggère un rôle protecteur de la silymarine contre les dommages oxydatifs dans des organes vitaux tels que le foie, le cerveau et le cœur. La silibinine, un de ses principaux constituants, exhibe également des propriétés protectrices membranaires et pourrait ainsi prémunir les composants sanguins des atteintes oxydatives [9] [10]

III.1.2 Propriétés anti-inflammatoires :

La silybine exerce un effet inhibiteur sur la production d'oxyde nitrique (NO), une molécule dont la surproduction est impliquée dans des processus destructeurs, notamment l'induction de l'inflammation chronique et la potentialisation de la formation de radicaux libres. De plus, la silybine module la voie des prostaglandines, en freinant la synthèse de la prostaglandine E2 (PGE-2), un médiateur pro-inflammatoire. Il est important de noter que cet effet sur la PGE-2 semble concentration-dépendant, n'étant significatif qu'à des concentrations élevées.

Cependant, un aspect particulièrement pertinent d'un point de vue clinique réside dans la capacité de la silybine à réduire la production de leucotriènes, des composants inflammatoires puissants, et ce, même à de faibles concentrations. Cette forte inhibition de la synthèse des leucotriènes confère à la silybine un intérêt thérapeutique considérable dans la prise en charge de diverses pathologies inflammatoires. [11]

III.1.3 Propriétés anticancéreuses :

De nombreuses études ont démontré les effets anticancéreux de la silymarine et de ses composés, aussi bien *in vitro* que *in vivo*, à différentes étapes du processus de cancérisation.

Ces effets incluent : [12]

Inhibition de la carcinogenèse : La silymarine a montré une activité préventive contre divers types de cancers, tels que le cancer de la vessie induit par la nitrosamine chez la souris, ainsi que les cancers de la peau, du côlon, du poumon, de la prostate, du foie et de la langue. Ces résultats suggèrent un rôle protecteur de la silymarine dans la phase d'initiation tumorale.

Inhibition de la croissance tumorale : La silymarine inhibe la prolifération des cellules cancéreuses dans des modèles de cancer de la prostate, du poumon non à petites cellules), de l'ovaire, du sein, de la vessie, du foie, et du côlon. Les mécanismes proposés incluent le blocage du cycle cellulaire et l'induction de l'apoptose.

Inhibition de l'angiogenèse : La silymarine réduit la formation de microvaisseaux dans des modèles de cancers du sein, du côlon et du poumon. Cet effet est associé à une diminution de l'expression du VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), un facteur clé de la formation des vaisseaux sanguins tumoraux.

Inhibition des métastases : La silymarine diminue la mobilité et l'invasion des cellules cancéreuses dans des modèles de cancer de la prostate, du sein, du poumon, de l'ostéosarcome et de la cavité buccale. Cet effet est lié à l'inhibition des métalloprotéinases (MMP), des enzymes qui favorisent l'invasivité tumorale.

Potentialisation des traitements anticancéreux : La silymarine potentialise l'effet de certaines chimiothérapies, comme la doxorubicine, le paclitaxel, le cisplatine et le carboplatine. Elle augmente la rétention des agents toxiques dans les cellules cancéreuses et induit l'apoptose. Cependant, des résultats contradictoires ont été observés avec le docétaxel et la mitomycine C, où la silymarine réduit l'efficacité de ces médicaments,

Résistance aux traitements : La silymarine s'oppose aux mécanismes de résistance, notamment dans des cellules résistantes à la doxorubicine.

- Un nombre croissant d'études met en lumière l'activité inhibitrice de la silymarine sur les étapes clés de la progression tumorale, notamment l'invasion et la formation de métastases. Au niveau moléculaire, plusieurs mécanismes ont été élucidés pour expliquer ces effets. Parmi ceux-ci figure une interaction avec le processus de transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), un phénomène crucial dans l'acquisition des propriétés invasives par les cellules cancéreuses. De plus, la silymarine exerce une inhibition sur

CHAPITRE III :

ACTIVITES BIOLOGIQUES

l'activité des

métalloprotéinases matricielles (MMPs), une famille d'enzymes impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire, facilitant ainsi l'invasion tissulaire. Enfin, une interférence avec la voie de signalisation des MAP kinases (MAPK), connues pour leur rôle dans la régulation de la migration et de l'invasion cellulaires, a également été mise en évidence.

- Des données précliniques suggèrent un potentiel effet synergique de la silymarine en association avec des agents chimiothérapeutiques conventionnels, tels que la doxorubicine, les taxanes, les sels de platine et la mitoxantrone, pouvant se traduire par une augmentation de leur efficacité antitumorale. Les mécanismes d'action potentiels sous-jacents à cette synergie incluent une perturbation du cycle cellulaire et une augmentation de la rétention intracellulaire des molécules cytotoxiques. En particulier, il a été démontré que la silibinine, un constituant majeur de la silymarine, induit une accumulation de cellules cancéreuses en phase G2-M du cycle cellulaire et favorise l'apoptose. De plus, l'inhibition de la voie de signalisation du facteur nucléaire kappa B (NF-κB) pourrait également contribuer à cet effet de potentialisation

III.1.4 Propriétés Hépatoprotectrice :

Le chardon-Marie (*Silybum marianum*) se distingue par sa richesse en composés bioactifs d'intérêt thérapeutique. Notamment, il est reconnu pour ses vertus hépatoprotectrices, lesquelles sont principalement attribuées à la silymarine. Cette dernière constitue un mélange complexe de flavonolignanes, incluant la silybine A, la silybine B, l'isosilybine A, l'isosilybine B, la silychristine, l'isosilychristine et la silydianine, ainsi qu'au flavonoïde taxifoline. Parmi ces constituants, la silybine est identifiée comme le composant majoritaire et celui qui présente la plus forte activité biologique [13] [14]

La silymarine, un complexe flavonoïde, est reconnue depuis des siècles pour ses propriétés hépatoprotectrices. Ces effets bénéfiques sur la fonction hépatique sont principalement attribués à son activité antioxydante, qui s'exerce à la fois directement par la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène, et indirectement par le piégeage de radicaux spécifiques tels que le radical cétyle phénylglyoxylique, agissant ainsi comme un antioxydant inhibiteur de la propagation des réactions radicalaires [8]

La silymarine a également démontré un effet protecteur contre les lésions mitochondrielles dans le foie de rat, notamment dans des contextes de transplantation hépatique ou de chirurgie du foie. Elle prévient les altérations structurelles et fonctionnelles des mitochondries, réduit la

peroxydation lipidique membranaire et diminue la sensibilité à la transition de perméabilité mitochondriale (MPT) [15]

III.1.5 Activités antidiabétiques :

Outre ses effets hépatoprotecteurs, la silymarine a démontré une capacité à réduire la glycémie à jeun et les niveaux d'insuline, étayant ainsi son potentiel en tant qu'agent antihyperglycémique. Des études modèles animaux de diabète menées sur des ont également mis en évidence les activités hypoglycémiantes et antihyperglycémiantes significatives d'un extrait aqueux de chardon-Marie [8]

III.1.6 Activités antivirales :

Des études in vitro ont mis en évidence les propriétés antivirales de la silymarine et de certains de ses composés isolés, tels que la silybine, l'isosilybine A et la taxifoline, contre plusieurs virus, notamment le virus de la grippe A, le virus de l'hépatite C (VHC) et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Dans le cas du VHC, la silymarine et la silybine ont démontré une capacité à inhiber la réPLICATION virale dans des cultures d'hépatocytes, en modulant les niveaux d'expression du TNF- α (Tumor Necrosis Factor alpha) et du NF- κ B (Nuclear Factor kappa B), deux facteurs clés impliqués dans la réponse inflammatoire et la réPLICATION virale.

Concernant le VIH, l'application de la silymarine pendant la phase d'adsorption du virus a permis d'inhiber l'infection des lymphocytes T CD4+. Par ailleurs, la silybine a montré une capacité à atténuer les fonctions cellulaires liées à l'activation, à la prolifération des lymphocytes T et à la réPLICATION du VIH-1. Enfin, la silymarine interfère avec le mécanisme d'endocytose, retardant ainsi la pénétration du virus dans les cellules et empêchant son internalisation via la transferrine [16]

III.1.7 Activités antimicrobiennes :

Le traitement des infections bactériennes repose principalement sur l'utilisation d'antibiotiques. Cependant, leur prescription à grande échelle, souvent inappropriée, a conduit à l'émergence de souches bactériennes multi-résistantes, posant un défi majeur pour la santé publique. Face à cette problématique, il est essentiel d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles approches thérapeutiques. Les plantes médicinales, en tant que sources de métabolites secondaires, représentent une voie prometteuse pour l'innovation pharmacologique. Parmi ces métabolites, les composés phénoliques, largement utilisés dans

les industries alimentaire et cosmétique, sont également reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes dans la médecine traditionnelle [17]

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

1. **Svobodová, A., Walterová, D., & Psotová, J.** (2006). Influence of silymarin and its flavonolignans on H₂O₂-induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 32(8), 973–979. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2006.04.004>
2. **Heratchian, A.** (2007). Le chardon-marie protecteur hépatique. *Naturo*, 43, 18-20
3. **Conan, M.** (2016). Milk thistle heals and protects the liver and acts as poison antidote. *Epoch Times*, 2.
4. **Baud, F., Philippe, H., & Hafedh, T.** (2013). *Intoxications aiguës*. Springer
5. **Bruneton, J.** (2016). *Pharmacognosie-phytochimie, plantes médicinales* (5e éd.). Tec & Doc Lavoisier.
6. **Mouzali, I.** (2016). *Le chardon-marie (Silybum marianum): une plante aux multiples vertus*. Société Algérienne de Nutrition et de Médecine Ortho Moléculaire.
7. **Alaoui Ismaili, S.** (2016). *Valorisation de deux plantes marocaines Melia azedarach et Silybum marianum* [Thèse de doctorat, Université Mohammed V]. https://toubkal.imist.ma/bitstream/handle/123456789/10552/THESE_ALAOUI%20ISMAILI.pdf?sequence=3
8. **Qavami, N., Naghdi Badi, H., Labbafi, M. R., & Mehrafarin, A.** (2013). A review on pharmacological, cultivation and biotechnology aspects of milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) *Journal of Medicinal Plants*, 12(20), 25, 28-31.
9. **Das, S. K., Mukherjee, S., & Vasudevan, D. M.** (2008). Medicinal properties of milk thistle with special reference to silymarin: An overview. *Natural Product Radiance*, 7(2), 182-192.
10. **Kshirsagar, A., Ingawale, D., Ashok, P., & Vyawahare, N.** (2009). Silymarin: A comprehensive review. *Pharmacognosy Reviews*, 3(5), 116-124
11. **Carel, Y.** (2003). La silymarine, de puissantes propriétés hépatoprotectrices. *Nutra News*, 5(2), 2-5
12. **Huet, M., & Fleurentin, J.** (2013). Curcuma, thé vert et chardon-marie : Quelle stratégie adopter en prévention du cancer ou en complément des traitements ?: *Hegel*, N° 4(4), 268-281. <https://doi.org/10.4267/2042/51835>
13. **Begum, S. A., Sahai, M., & Ray, A. B.** (2010). Non-conventional Lignans : Coumarinolignans, Flavonolignans, and Stilbenolignans. In A. D. Kinghorn, H. Falk,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- & J. Kobayashi (Éds.), Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, (Vol. 93, p. 1-70). Springer Vienna.
https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0140-7_1
14. **Biedermann, D., Vavříková, E., Cvak, L., & Křen, V.** (2014). Chemistry of silybin. *Natural product reports*, 31(9), 1138–1157. <https://doi.org/10.1039/c3np70122k>
15. **Rolo, A. P., Oliveira, P. J., Moreno, A. J., & Palmeira, C. M.** (2003). Protection against post-ischemic mitochondrial injury in rat liver by silymarin or TUDC. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*, 26(3), 217–224. [https://doi.org/10.1016/s1386-6346\(03\)00108-6](https://doi.org/10.1016/s1386-6346(03)00108-6)
16. **Charrié, J. C., Chastel, B., Cleur, C., Combe, P., Damak, M., Hedayat, K., & Saigne Soulard, C.** (2017). *Plantes médicinales*, phytothérapie clinique intégrative et médecine endobiogénique. Lavoisier Tec & Doc.
17. **Sienneau, P.** (2001). *La phytothérapie chinoise moderne*



Chapitre IV : Matériels et Méthodes

IV. Matériels et méthodes

IV.1. Objectif du travail

Notre étude s'inscrit dans l'objectif de la caractérisation phytochimique et biologique d'un extrait végétal de chardon marie (*Silybum marianum*).

L'étude phytochimique de notre extrait est déterminée par la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, tandis que l'activité antioxydante et antibactérienne a été évaluée par des tests biologiques.

Ce travail a été mené à l'Unité de Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physico-Chimiques et Biologiques (Laboratoire de Chimie n°11, Faculté des Sciences Exactes) ainsi au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) là Constantine.

IV.2. Matériel végétal

IV.2.1. Récolte de la plante

Le matériel végétal étudié dans ce travail est constitué de plantes de l'espèce *Silybum marianum* (chardon-Marie). Les prélèvements d'échantillons ont été effectués durant les mois de novembre 2024 et janvier 2025, dans la région d'Echaaba située sur le campus de l'Université Frères Mentouri- Constantine1-, et identifiées par Dr Dersouni chahrazed Botaniste à l'Université de Salah Boubnidar-Constantine 3-, Faculté de médecine.

La période de collecte est étroitement liée au stade de développement de la plante (phase II), une étape clé durant laquelle sont synthétisés des métabolites secondaires et des composés bioactifs spécifiques, tels que les flavonoïdes notamment la silybine.

Ce phénomène a également été observé dans d'autres études portant sur la variabilité saisonnière des composés actifs chez *Silybum marianum*.



Fig. 23 : Échantillon du chardon-marie

IV.2.2. Séchage et broyage

Les échantillons sont séchés à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur, dans un endroit sec. Après séchage, le matériel végétal a été finement broyé jusqu'à l'obtention d'une poudre afin de procéder à l'extraction.

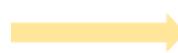
IV.2.3. Préparation des extraits

□ Extraction hydro-alcoolique

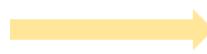
Pour l'extraction, 50g de matière végétale (après broyage) est mise à macérer dans un mélange hydro-alcoolique (Méthanol 80 %) pendant 72h, la solution obtenue est filtrée.

**Préparation de la solution****L'ajout de l'eau chauffée**

Conserve
Pendant
72h

**Solution prête****Macération**

Filtration

**Fig. 24: Les étapes de préparation de la solution hydro-alcoolique**

□ Évaporation

Le filtrat est versé dans un ballon (solvant plus matières solubilisées) et évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température qui ne dépasse pas 60 °C pour éliminer tous le solvant (méthanol-eau).

Enfin, on a obtenu un extrait brut de masse égale à 210g.

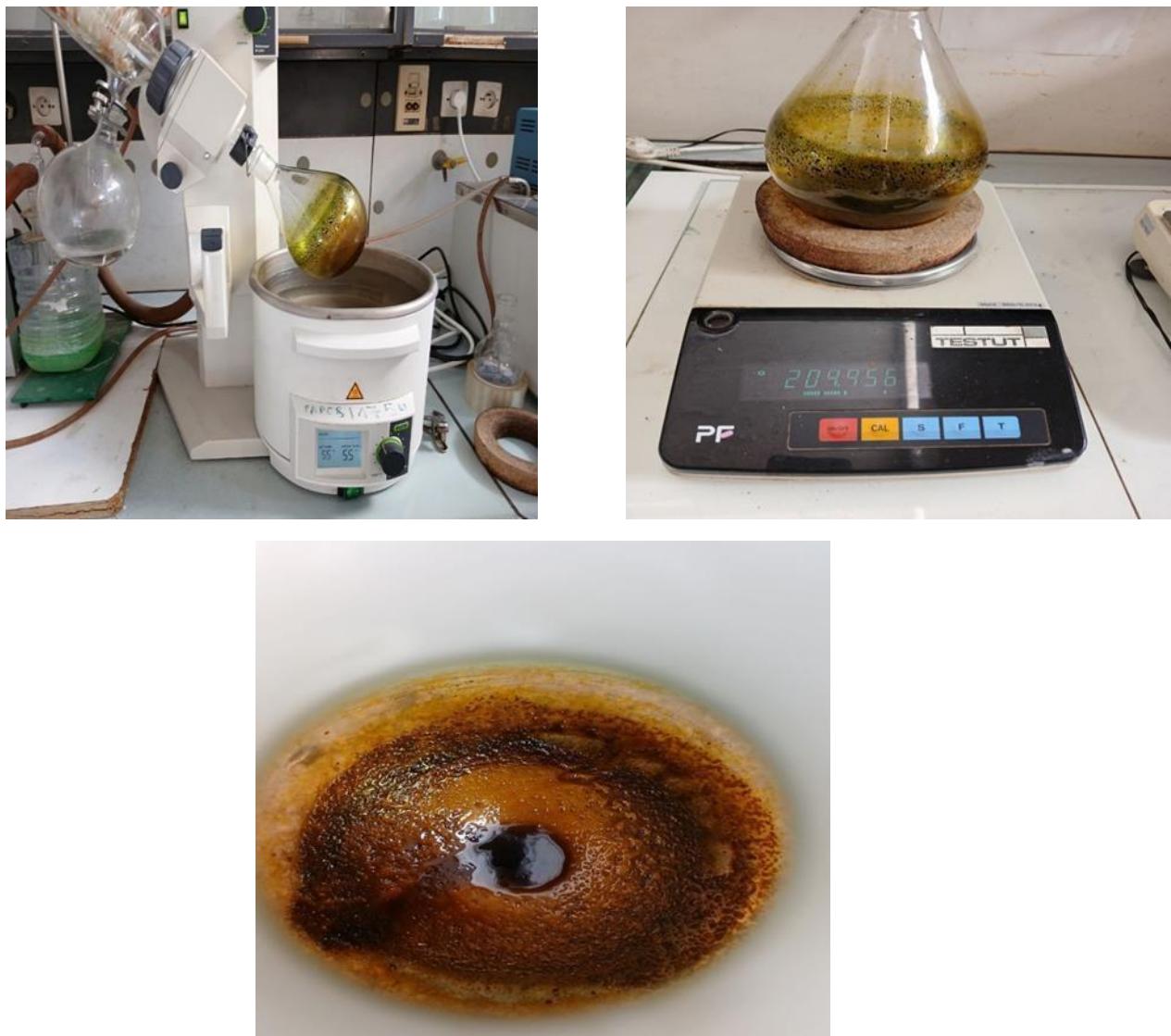


Fig. 25: Évaporation de la solution hydro-alcoolique.

IV.3. Méthodes :

IV.3.1. Screening des métabolites secondaires

L'extrait brut préparé auparavant a été utilisé pour effectuer diverses analyses, qui sont des méthodes et techniques permettant d'identifier qualitativement la présence simultanée de

différentes familles de produits naturels dans les plantes. L'identification de cette famille engendre le criblage phytochimique.

Ces tests de caractérisation se basent sur des réactions de précipitation et/ou de coloration, ainsi que sur des inspections à la lumière UV.08/05/2025

□ **Alcaloïdes :**

0.05 g de l'extrait MeOH a été dissous dans de l'acide chlorhydrique dilué, puis filtré.

Le filtrat obtenu a été ensuite traité avec le réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité brun ou brun-rougeâtre révèle la présence d'alcaloïdes. [1]

□ **Flavonoïdes :**

L'extrait MeOH a été combiné avec quelques morceaux de ruban de magnésium, puis de l'acide chlorhydrique concentré a été ajouté goutte à goutte. Après quelques minutes, une coloration rose ou rouge magenta est apparue, indiquant la présence de flavonoïdes [2]

□ **Phénols :**

Une quantité de 0,05 g de l'extrait MeOH a été traitée avec quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 5 %. L'apparition d'une couleur bleu noirâtre, bleue ou verte, révèle la présence de composés phénoliques. [1]

□ **Coumarines :**

Un millilitre d'extrait MeOH a été mélangé avec quelques gouttes de NaOH, puis 1 ml d'alcool a été ajouté. La formation d'une couleur jaune indique la présence de coumarines [3]

□ **Saponines :**

Une masse de 0,05 g de l'extrait a été diluée dans 20 mL d'eau distillée, puis agitée énergiquement dans une éprouvette graduée pendant 15 minutes. L'apparition d'une mousse stable d'environ 1 cm d'épaisseur révèle la présence de saponines [1]

□ **Tannins :**

L'extrait MeOH a été mélangé à 2 ml d'une solution de FeCl₃ à 2 %. Une coloration bleu-vert ou bleu-noir est apparue, indiquant la présence de polyphénols et de tanins. [2]

□ **Terpenoïdes :**

Un millilitre d'extrait MeOH a été ajouté à deux millilitres de chloroforme, puis traité avec de l'acide sulfurique concentré. Une coloration allant du jaune au rouge brique indique la présence de terpènes. [4]

□ Quinones :

Une petite quantité d'extrait a été traitée avec de l'acide chlorhydrique concentré et examinée pour détecter la formation d'un précipité jaune ou d'une coloration. [5]

IV.3.2. Quantification des composés phénoliques :

IV.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC) :

□ Le principe :

La méthodologie de Folin-Ciocalteu est le test le plus couramment utilisé pour déterminer la teneur totale en composés phénoliques de diverses plantes.

Au cours de cette méthode, l'interaction entre le réactif Folin-Ciocalteu et les composés phénoliques se produit en milieu alcalin ($\text{pH}=10$), que l'on atteint en ajoutant du carbonate de sodium (Na_2CO_3). Dans cette condition de base, la dissociation d'un proton phénolique conduit à la formation d'un ion phénolate, qui est responsable de la réduction du réactif F-C. Lors de la réduction, la couleur jaune intense du réactif F-C se transforme en une couleur bleue (Figure 26), [6]

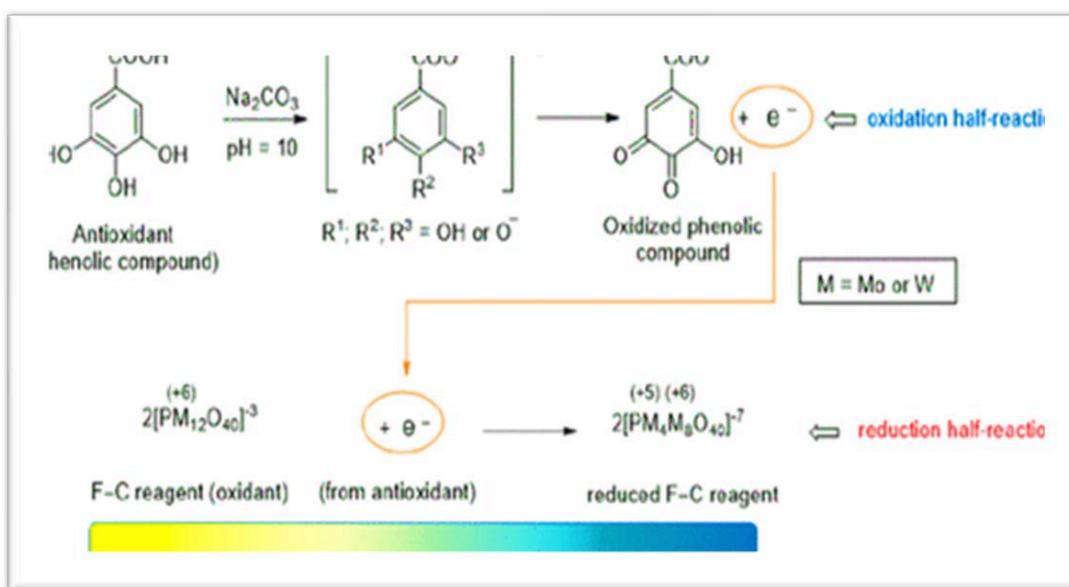


Fig. 26 : Mécanisme du test Folin-Ciocalteu

□ Mode opératoire :

La teneur en polyphénols de l'extrait est déterminée par la méthode de (Boulacel et al., 2019) [7]. Brièvement, $300\mu\text{l}$ de l'extrait (dissous dans le méthanol) a été ajoutés à $1500\mu\text{l}$ de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué). La solution a été mélangée et incubée pendant 4 minutes. Après l'incubation, $1200\mu\text{l}$ d'une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5%) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

IV.3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) :

Le principe :

La technique du chlorure d'aluminium (AlCl_3), est employée pour mesurer la concentration en flavonoïdes dans notre extraits [8]

Les flavonoïdes possèdent un groupe hydroxyle (-OH) libre, en position 5, susceptible de former un complexe coloré avec son groupe -CO et le chlorure d'aluminium. L'apparition de la teinte jaune signale la formation de ce complexe.

Cela indique que le métal (Al) a cédé deux électrons pour se lier à deux oxygènes provenant de la molécule phénolique, jouant le rôle de donneurs d'électrons. La représentation du complexe entre le chlorure d'aluminium et le composé phénolique est illustrée dans la figure ci-dessous :

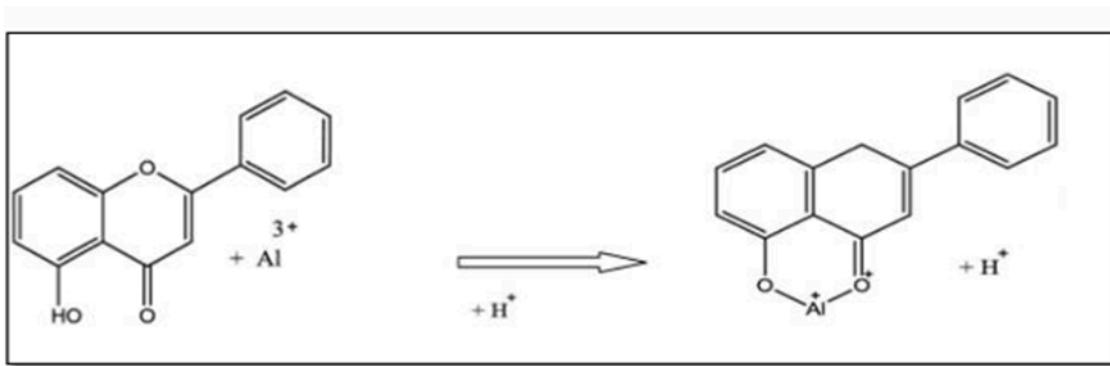


Fig. 27: Réaction entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes

[9]

Ce dernier affiche une absorption optimale à 420 nm, où son intensité est proportionnelle à la concentration de flavonoïdes contenue dans l'échantillon.

Mode opératoire Mode opératoire :

La teneur en flavonoïdes de l'extraits obtenus est déterminée par la méthode de (Ayad et al., 2018) [10]. Un volume de 1 ml de notre extrait (1mg/ ml dans le MeOH) a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 10 min dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre à 430 nm.

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait sec (mg EQ/mg d'extrait sec).



Fig. 28 : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux

IV.3.3. Évaluation de l'activité antioxydante in vitro :

IV.3.3.1. Piégeage du radical 2-diphényl-picrylhydrazyl (DPPH) :

Principe :

Le test DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) constitue une méthode couramment employée dans l'évaluation de l'activité antioxydante. En effet, le DPPH se distingue par sa capacité à générer des radicaux libres stables, cette stabilité découlant de la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH entraîne une coloration d'un violet intense de la solution.

La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant occasionne une décoloration de la solution, et cette variation de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm, permettant ainsi de déterminer le potentiel antioxydant d'une substance ou d'un extrait de plante [6]

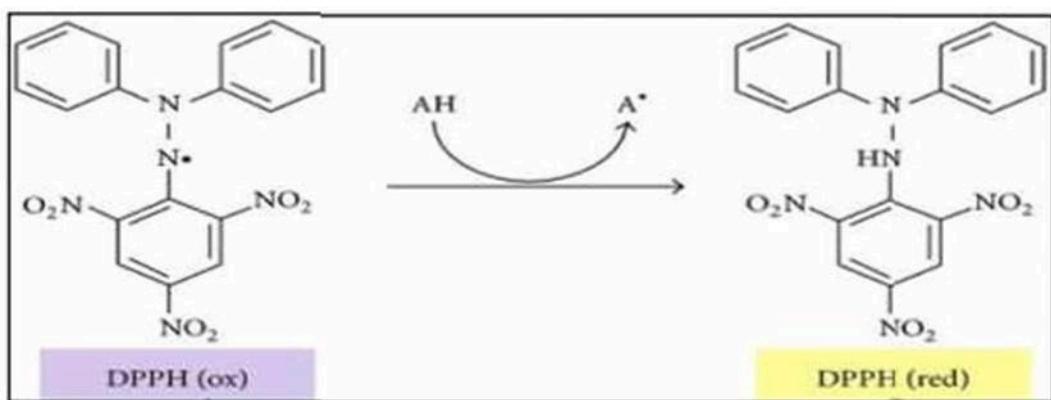


Fig. 29: Mécanisme du test DPPH

Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante



□ Mode opératoire :

L'évaluation de l'effet scavenger de l'extrait vis-à-vis au radical DPPH a été réalisée selon le protocole décrit par (Lefahal et al., 2022) [11]. Pratiquement, 400µl de l'extrait, à une concentration de 1mg/ mL dans le MeOH ,est mélangées avec 1600µl d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%). L'absorbance est lire à 517nm après une période d'incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière et à une température ambiante. L'effet de piégeage du radical DPPH est exprimé en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/ g). Le pourcentage d'inhibition (IP) du radical DPPH est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{PI \%} = [(\text{A control} / \text{A échantillon}) / \text{A control}] \times 100$$

A control : Absorbance du control (1600µl de DPPH+ 400µl d'éthanol).

A échantillon : Absorbance de l'échantillon ou standard.

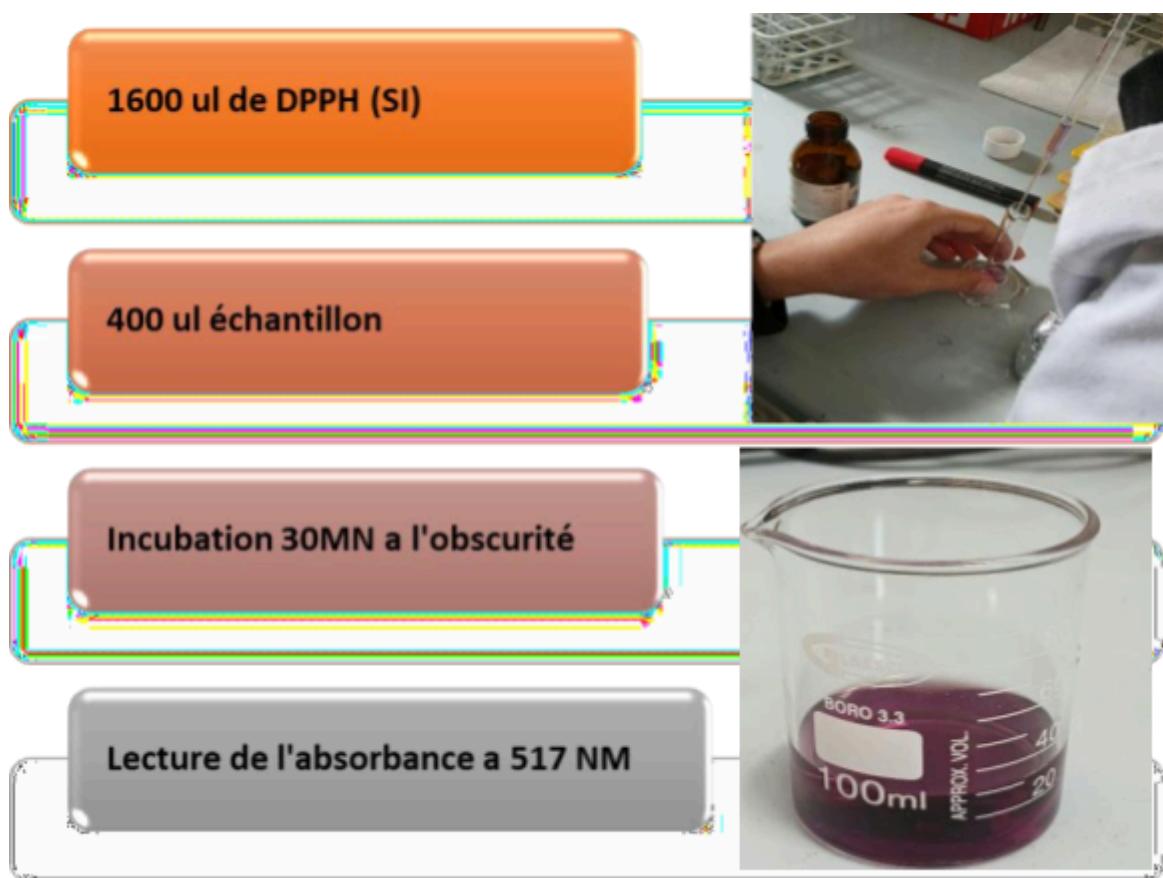


Fig. 30: Protocole L'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide du test DPPH

IV.3.3.2. Capacité antioxydante totale (TAC) par le test phosphomolybdène :

Le principe :

Le test phosphomolybdène a été utilisé à l'origine pour quantifier la vitamine E dans les graines, mais compte tenu de sa simplicité et de sa sensibilité, son application a été étendue aux extraits de plante [12] Ce test largement utilisé par de nombreux chercheurs est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO₄2- à molybdène Mo (V) MoO₂⁺ en présence d'un antioxydant pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide, l'absorbance du complexe vert-bleu peut être lue à 695 nm [6]

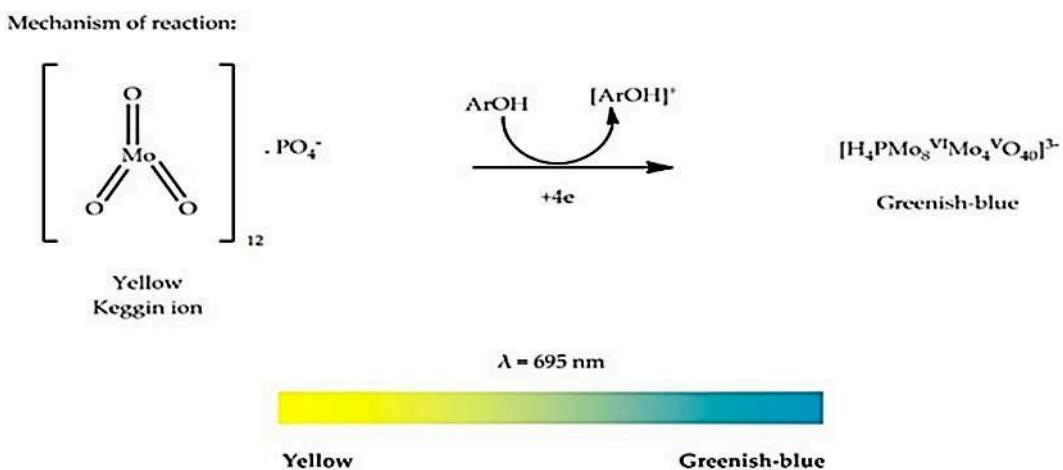


Fig. 31: Mécanisme du test phosphomolybdène

Mode opératoire :

La capacité antioxydante totale (TAC) de l'extrait méthanolique a été déterminée selon la méthode de phosphomolybdène [13]. Un volume de 300 μ l de l'extrait (1mg/ mL dans le MeOH) est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mm de phosphate de sodium et 4 mm de molybdate d'ammonium). Les tubes contenant le mélange réactionnel sont incubés à 95C° pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm.

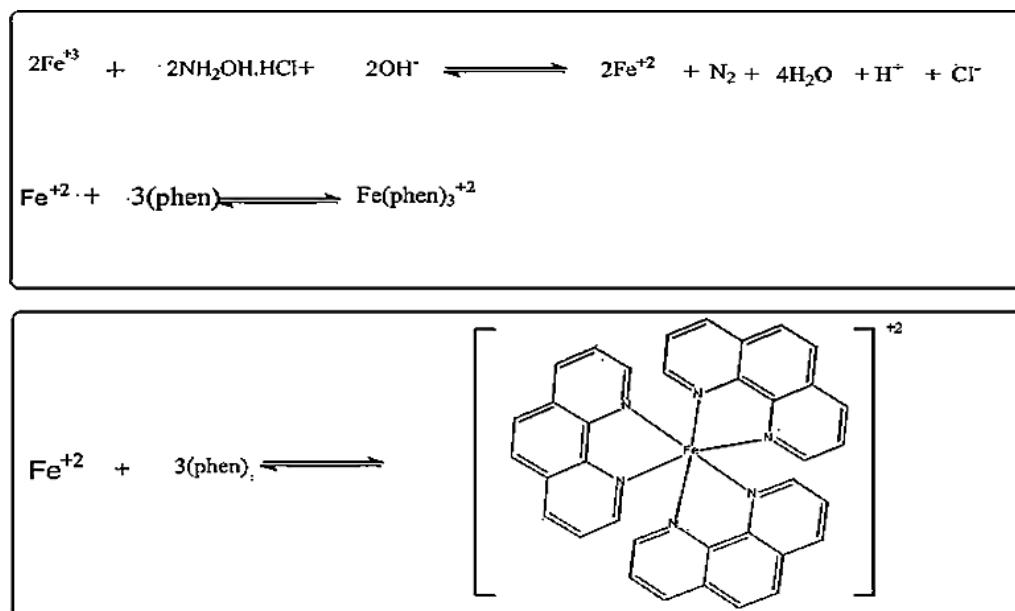
La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/ g).

IV.3.3.3. Activité de réduction par la formation du complexe

Fe⁺²- phénanthroline :

Le principe :

La méthode de la phénanthroline est basée sur la réduction de l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} par un antioxydant, l'ion Fe^{2+} formé réagit ensuite avec l'ortho-phénanthroline pour former un complexe rouge orangé.**[14]**

**Fig. 32: Mécanisme du test phénanthroline**

□ **Mode opératoire :**

L'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénanthroline a été réalisée selon la méthode décrite par (**Yefrida et al., 2018**) [15] avec de quelques modifications.

Un volume de 0,6 mL de l'extrait (1mg/ mL dans le MeOH) a été ajouté à un volume de 1 mL de FeCl_3 (0.2%) et 0,5 mL phénanthroline (0.5%), ensuite le volume est complété à 10 mL par le méthanol. Le mélange a été agité vigoureusement et incubé pendant 20 min à température ambiante. L'absorbance a été déterminée à 510 nm.

L'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénanthroline est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/ g).

IV.3.4. Évaluation de l'activité antibactérienne :

L'étude de l'activité antibactérienne a été effectuée au niveau du laboratoire de biochimie du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) à Constantine sur les souches bactérienne suivantes : *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E.coli* ATCC) et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S.aureus* ATCC).

□ Mode opératoire :

L'efficacité antibactérienne de l'extrait est évaluée selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé standardisée par le NCCLS [16]

• Les milieux de culture :

Le milieu de culture utilisé est Mueller Hinton pour les deux bactéries.

• Préparation des solutions :

L'extrait est dilué dans de l'éthanol (60%). Deux dilutions, à savoir 1/2, 1/4, ont été élaborées à partir d'une solution mère (100 mg/mL).

• Repiquage des espèces bactériennes :

Les différentes espèces bactériennes ont été transférées en utilisant la méthode des stries, puis incisées à 37°C pour obtenir des colonies isolées servant à l'élaboration de l'inoculum.

• Préparation de l'inoculum :

Des colonies bien distinctes des espèces bactériennes en question ont été prélevées avec une anse de platine et homogénéisées dans un tube contenant une solution d'eau physiologique stérile, afin d'atteindre une densité cellulaire initiale ou une turbidité similaire à celle de Mc Farland 0,5 (106 UFC/mL). Cette comparaison a été réalisée à l'aide d'un densitomètre.

• Ensemencement :

Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la suspension servant d'inoculum, un écouvillon a été immergé dans la suspension et la surface entière de la gélose (gélose Muller Hinton et gélose Muller Hinton au sang) a été intégralement ensemencée à trois reprises, en faisant pivoter la boîte d'environ 60° après chaque application, dans le but d'assurer une répartition uniforme de l'inoculum.

• Incubation :

Des disques de papier Wattman n° 3 de 6mm de diamètre stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 minutes par autoclavage) ont été imprégnés d'extraits à hauteur de 40 µL par disque, puis déposés de manière stérile à l'aide de pinces sur la surface de la gélose. Des témoins, uniquement imbibés d'Ethanol (60%), ainsi que le témoin positif (gentamicine) ont également été préparés.

Les boîtes ont été incubées pendant 24 heures à 37°C dans une atmosphère normale pour le développement du germe concerné.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque espèce bactérienne.

• **Lecture :**

L'efficacité antibactérienne a été déterminée par la mesure, à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle, du diamètre de la zone d'inhibition résultant des différentes concentrations des extraits entourant les disques.

Selon Ponce et al, (2003) l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne et classé comme suit :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm.



Fig. 33: Protocole de l'évaluation de l'activité antibactérienne

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

1. **Hussen, A. A., & Endalew, S. A.** (2023). *In vitro antioxidant and free-radical scavenging activities of polar leaf extracts of Vernonia amygdalina*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), Article 146.
<https://www.google.com/search?q=https://doi.org/10.1186/s12906-023-03923-y>
2. **Shrestha, P., Adhikari, S., Lamichhane, B., & Shrestha, B. G.** (2015). Phytochemical screening of the medicinal plants of Nepal. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 1(6), 11–17.
3. **Senthilmurugan, G., Vasanthe, B., & Suresh, K.** (2013). Screening and antibacterial activity analysis of some important medicinal plants. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2(2), 146–152
4. **Mascarenhas, M. E., Mandrekar, C. R., Marathe, P. B., & Morais, L. J.** (2017). Phytochemical screening of selected species from Convolvulaceae. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 9(6), 94–98. <https://doi.org/10.22159/ijcpr.2017v9i6.23438>
5. **Raj, S.** (2017). Preliminary phytochemical screening of Lantana camara, L., a major invasive species of Kerala, using different solvents, *Annals of Plant Sciences*, 6(11), 1794. <https://doi.org/10.21746/aps.2017.6.11.13>
6. **Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F.** (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants*, 9(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
7. **Boulacel, I., Harkati, B., Ayad, R., Demirtas, I., Laouer, H., & Akkal, S.** (2019). Phytochemical Studies Antibacterial and Antioxidant Activities of Aerial Parts of *Ferula lutea* (Poir.) Maire. *Acta* <https://doi.org/10.2478/asn-2019-0003>
8. **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N.** (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
9. **Ribéreau-Gayon, P.** (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Dunod.
10. **Ayad, R., Cakmak, Y. S., Ozusaglam, M. A., Mediroubi, K., & Akkal, S.** (2017). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of aerial parts of Algerian *Jurineg humilis* DC (Asteraceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 16(12), 2903-2909.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

11. **Lefahal, M., Makhloifi, E., Ayad, R. Boussetta, A., Elhattab, M., KeskiN, M., & Akkal, S.** (2023). Highlighting the Cosmeceutical Potential of the Edible *Bunium alpinum*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Waldst& Kit (Apiaceae) Growing in Algeria : In vitro Antioxidant and Photoprotective Effects. *Gazi University Journal of Science*, 36(1), 108-118
<https://doi.org/10.35378/gujs.1052131>
12. **Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M.** (1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex : Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337- 341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
13. **Cherfia, R., Zaiter, A., Akkal, S., Chaimbault, P., Abdelwahab, A. B., Kirsch, G., & Kacem Chaouche, N.** (2020). New approach in the characterization of bioactive compounds isolated from *Calycotome spinosa* (L.) Link leaves by the use of negative electrospray ionization LITMS, LC-ESI-MS/MS, as well as NMR analysis. *Biogorganic Chemistry*, 96, 103535. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103535>
14. **Hammad, MA., Omar, MA., Awad, M.** (2017). Validation of sensitive spectrophotometric method for determination of Salmeterol xinafoate and Fenoterol hydrobromide via o-Phenanthroline and iron complexation. (2017). *Journal of Applied Pharmaceutical Science* <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70607>
15. **Yefrida, Y., Suyani, H., Aziz, H., & Efdi, M.** (2018). Comparison of Iron Reduction Methods on the Determination of Antioxidants Content in Vegetables Sample. *Oriental Journal of Chemistry*, 34(5), 2418- 2424.
<https://doi.org/10.13005/ojc/340525>
16. **Celiktas, O. Y., Hames Kocabas, E. E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., & Baser, K. H. C.** (2007a). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Resmarius officinalis, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100(2), 553-559
17. **Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I.** (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679-684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)



Chapitre V : Résultats et Discussions

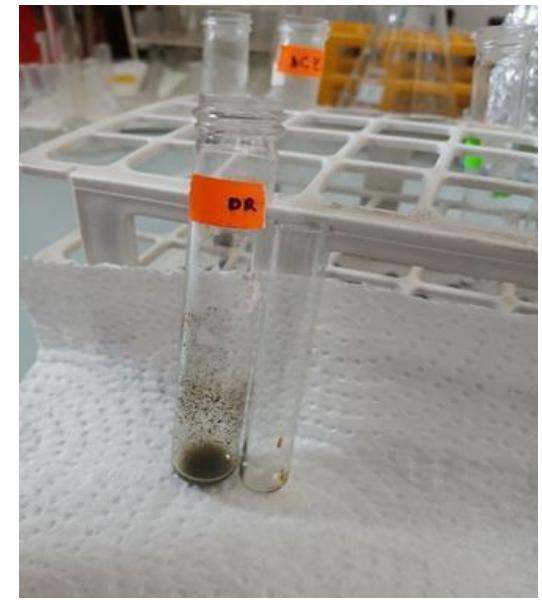
V. Résultats et discussion :

V.1. Screening phytochimique :

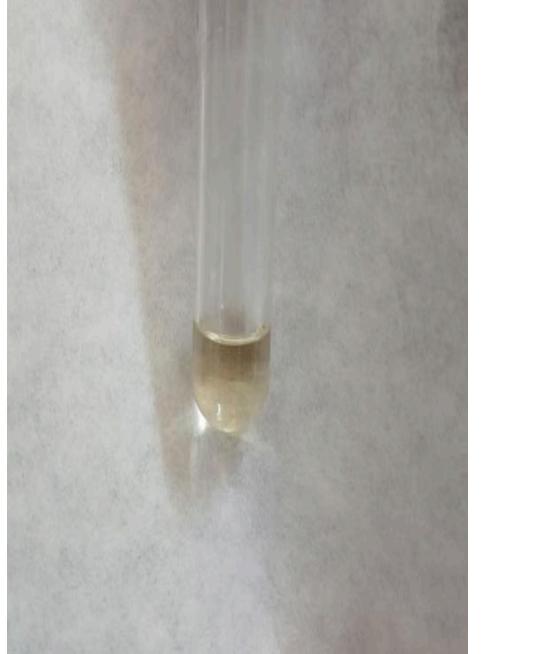
Les résultats de la mise en évidence de quelques classes de métabolites secondaires présents dans l'extrait MeOH de la partie aérienne du *S. marianum* traduisent dans le (Tab 4).

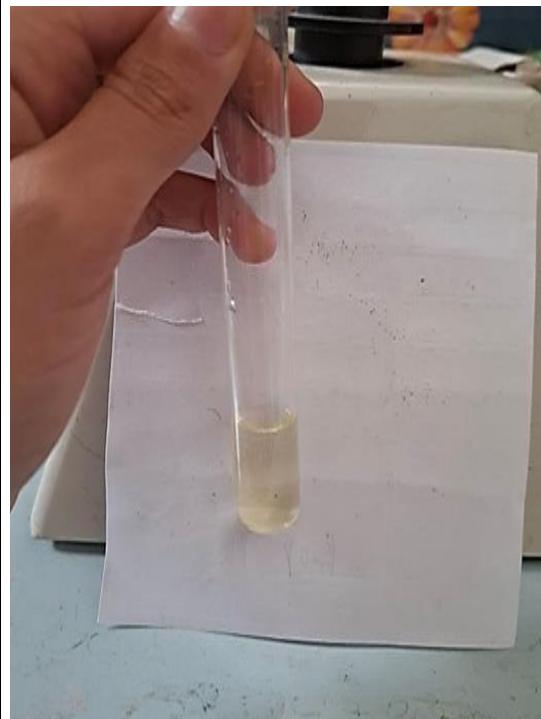
Tab 4: Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires du *S.marianum*.

Test	SM-MEOH	Résultats
Alcaloïdes	+	

Flavonoïdes	+	
Phénols	+	

Tannins	+	
Terpenoïdes	-	

Coumarines	+	
Quinones	-	

Saponines	-	
-----------	---	--

+ : Présent, - : Absent

L'analyse par criblage phytochimique de l'extrait méthanolique de *S.marianum* a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires d'intérêt pharmacologique. Les investigations qualitatives ont révélé la présence significative d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de composés phénoliques, de tanins. Tous ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Meelad, F. M et ces collaborateurs en 2023 [1]**, ainsi que de coumarines au sein de cet extrait.

V.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes

V.2.1. Teneur en polyphénols totaux :

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, une approche largement reconnue et fréquemment appliquée pour l'estimation de cette classe de composés. En effet, les résultats sont exprimés en µg

Équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (Fig 34)

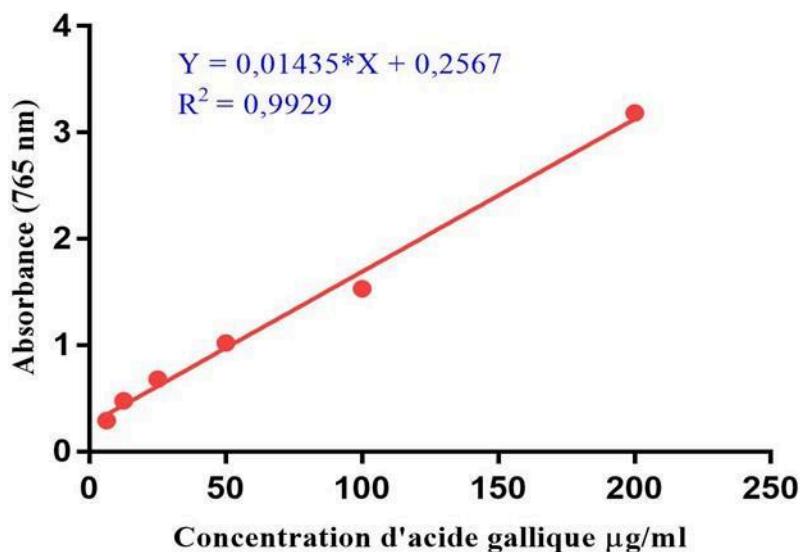


Fig. 34: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats obtenus de cette étude (Tab 5, Fig35) montrent que l'extrait *SM-MeOH* est très riche en polyphénols ($41.55 \pm 1.81 \text{ mg EAG/g}$) que les flavonoïdes ($20.86 \pm 0.1 \text{ mg EAG/g}$) [2].

Tab 5: Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux des parties aériennes *S.marianum*

Extrait	Polyphénols totaux (mg AGE /g)	Flavonoïdes totaux (mg AGE /g)
<i>SM-MEOH</i>	41.55 ± 1.81	20.86 ± 0.1

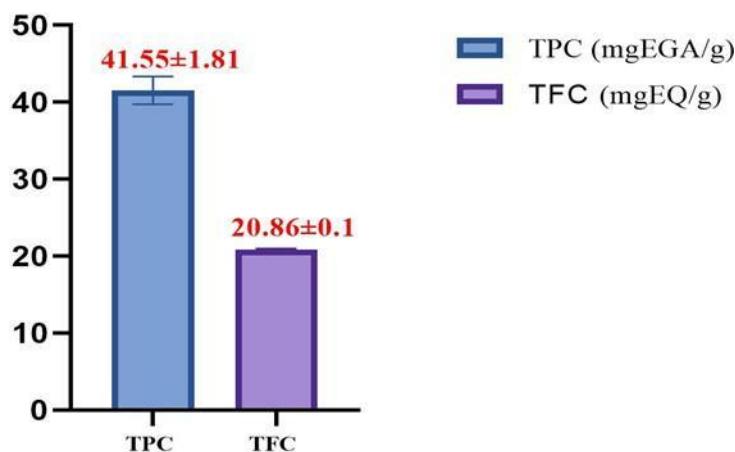


Fig. 35: Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux de la partie aérienne du *S.marianum*

V.2.2. Teneurs en flavonoïdes totaux :

La teneur en flavonoïdes totaux a été estimée par la méthode colorimétrique à base de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), où la quercétine utilisée comme standard. Les résultats obtenus sont représentés dans (fig35, Tab5).

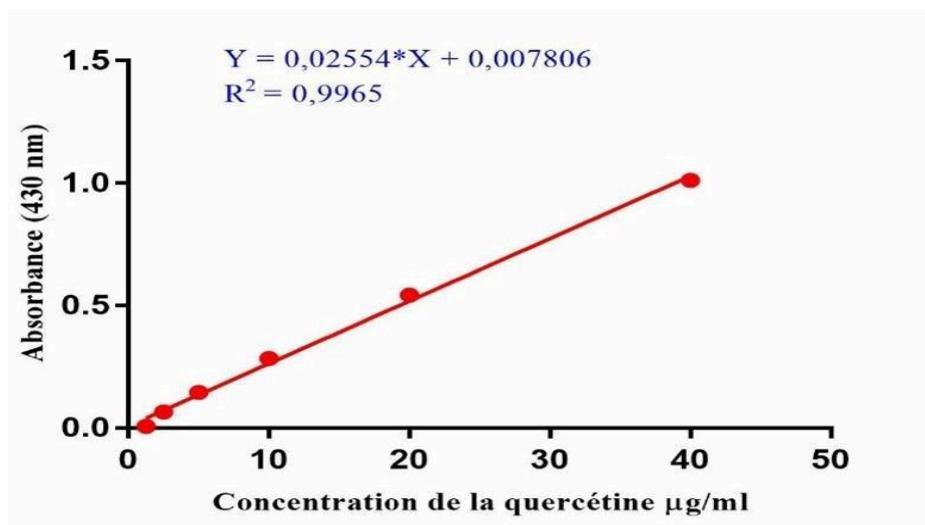


Fig. 36: Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

Ces résultats sont en accord avec ceux communiqués par Zhao et al. (2020) [2].

Ces derniers ont étudié des extraits de *Silybum Marianum* issus de différentes localités en Chine. Dans leur analyse, les concentrations en flavonoïdes totaux variaient de 15,2 à 24,8

µg EGA/mg, en fonction de l'origine géographique et des conditions de culture des plantes. En conséquence, la concentration de flavonoïdes obtenue dans notre extrait (20,86 µg QE/mg) se situe dans la moyenne des valeurs recensées dans la littérature actuelle [2]. Ce résultat confirme la richesse en flavonoïdes de l'espèce examinée et suggère une bonne qualité de l'extrait analysé. Les résultats de l'analyse révèlent la présence significative de métabolites secondaires antioxydants dans l'extrait étudié. Cette concentration élevée en composés phénoliques peut être attribuée à la richesse de la plante en acides phénoliques, tannins et autres hydroxylés, dont les effets positifs sur la santé humaine sont reconnus [3]. En effet, il ressort de cette analyse que la teneur en flavonoïdes est environ deux fois inférieure à celle des polyphénols totaux. Ce résultat permet de mettre en exergue le fait que les flavonoïdes constituent ainsi une sous-fraction spécifique de l'ensemble des polyphénols. [4]

V.3. Évaluation de l'activité antioxydante in vitro :

V.3.1. Piégeage du radical 2-diphényl-picrylhydrazyl (DPPH)

L'activité antioxydante d'extrait *SM-MeOH* a été étudiée par sa capacité à réduire le DPPH. L'interaction des composés antioxydants avec le DPPH est basée sur le transfert d'un atome d'hydrogène ou d'un électron au radical DPPH et le convertit en 1, 1- diphényl-2-picrylhydrazine [5] [6]. Le résultat de la réduction des radicaux DPPH provoque une Décoloration de la couleur pourpre à la couleur jaune pâle, ce qui démontre l'activité de piégeage du radicale DPPH [7]. Les valeurs équivalents grammiques élevées correspondent à une activité antioxydante élevée [8].

Les résultats sont exprimés en µg EAA/mg (Tab6.). Les résultats obtenus démontrent que l'extrait *SM-MeOH* manifeste une activité antioxydante significative, avec un résultat de $(21,58 \pm 0,23)$, dépassant de manière significative les valeurs enregistrées pour le témoin positif BHT, qui s'établit à $(17,151 \pm 1,01)$, ainsi que pour l'acide ascorbique, avec une concentration de 10,76 µg/ml. Cette observation suggère une capacité effective à capturer les radicaux libres.

Cette propriété peut être reliées à la richesse en substances phénoliques et flavonoïdes des molécules renommées pour leur efficacité antioxydante par transfert d'électrons et de protons [9]

L'efficacité des flavonoïdes à neutraliser les radicaux libres via la réaction avec le DPPH dépend de leur capacité à donner des atomes d'hydrogène, laquelle est influencée par leur structure chimique [10]. Les flavonoïdes les plus actifs possèdent notamment des groupes

ortho-dihydroxyle, un hydroxyle en position 3, une double liaison C2-C3 conjuguée à un groupe 4-oxo, ainsi que des hydroxyles en positions 3, 5 et 7, ce qui renforce leur pouvoir antioxydant [11] [12]

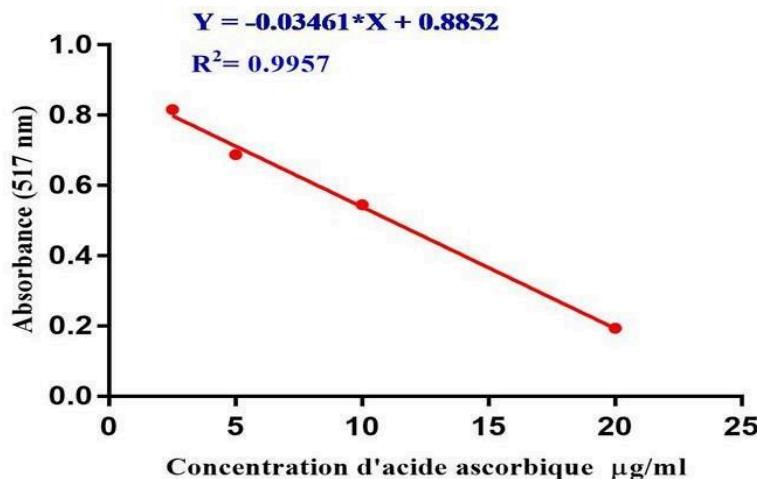


Fig. 37: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique (test DPPH)

Tab 6: Capacité antioxydante (DPPH, TAC, PHE) de l'extrait *SM. MeOH*

Test	Extrait	MEOH	BHT
DPPH (mg EAA/g)		21,58±0,23	17,151±1,01
Phénanthroline (EAA/g)		32,49±0,25	111,51±0,92
TAC (mg EAA/g)		52,33±1,03	127,039±7,034

V.3.2. Capacité antioxydant totale (TAC)

L'activité antioxydante de l'extrait *SM-MeOH* a été évaluée par la méthode au phosphomolybdène. Ce test mesure la capacité d'un extrait à détruire un radical libre par transfert d'un électron [13] [14]. La capacité antioxydante totale (TCA) d'extraits de *S. marianum* a été mesurée sur la base de la réduction du molybdate (VI) en molybdate (V) [15]. Dans ce test l'acide ascorbique est pris comme standard dont la courbe d'étalonnage est sous représentée. (Fig 38).

Les résultats de ce test révèlent que l'extrait méthanolique présente un pouvoir réducteur significatif $52,33 \pm 1,03 \mu\text{g EAA/mg}$. Ce résultat est inférieur à celui enregistré pour le BHT $127,39 \pm 7,034 \mu\text{g EAA/mg}$ (Tab 6). [16]

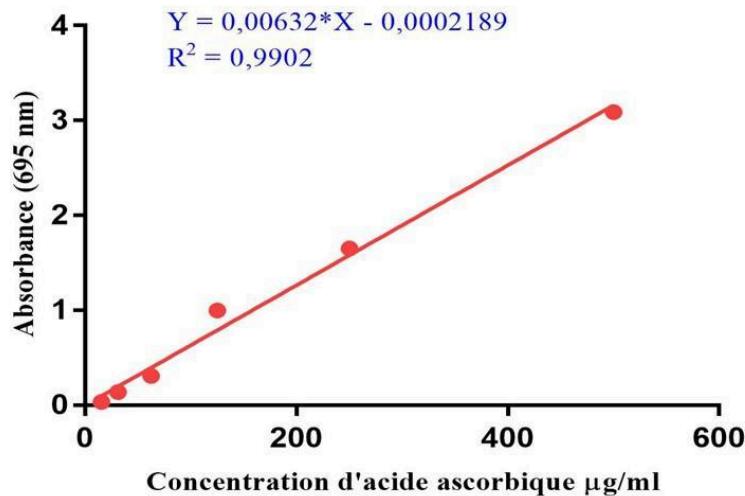


Fig. 38: Courbe d'étalonnage de l'acide Ascorbique (test TAC)

V.3.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénanthroline

Le pouvoir réducteur de l'extrait étudié a été évalué par le test Phénanthroline. Dans ce Test l'acide ascorbique est pris comme standard dont la courbe d'étalonnage est sous Représentée (Fig39), et les résultats Sont exprimés en $\mu\text{g EAA /mg}$.

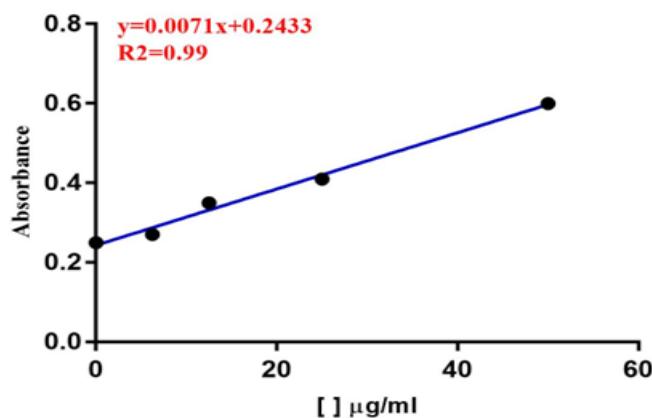


Fig.39 : Courbe d'étalonnage de l'acide Ascorbique (test Phénanthroline).

Les résultats de ce test révèlent que l'extrait méthanolique présente un pouvoir réducteur Significatif $32,49 \pm 0,25 \mu\text{g EAA/mg}$. Ce résultat est inférieur à celui enregistré pour le BHT $(111,51 \pm 0,92 \mu\text{g EAA/mg})$ (Tab6).

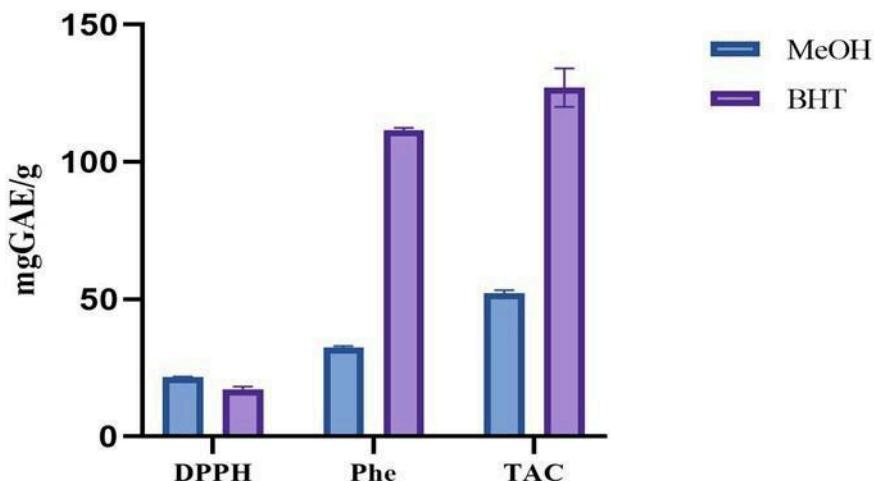
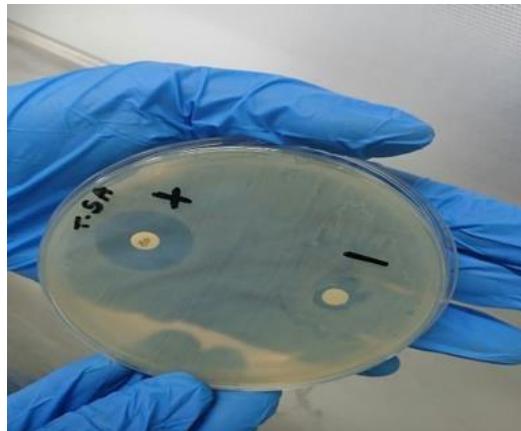
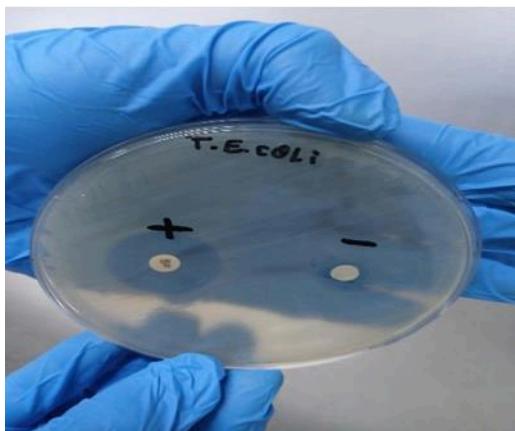
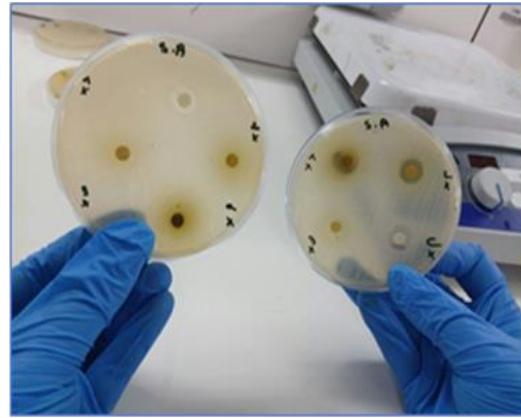
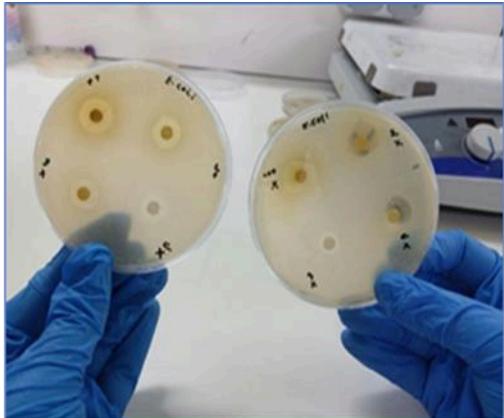


Fig. 40: Capacité antioxydant totale (TAC) de l'extraits SM-MeOH

V.4. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait de *S. Marianum* sur deux souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*) par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton) est évaluée en fonction du diamètre de la zone d'inhibition qui entoure les disques testés contre ces deux pathogènes. Cette évaluation est réalisée après 24 heures

D'incubation à une température appropriée de 37 °C. Les résultats de deux lectures obtenues sont présentés par la suite (Fig 41,42, Tab 7)



Antibiotique tétracycline utilisée pour
E. coli

Antibiotique tétracycline utilisée pour
S. aureus

Fig. 41 : Résultats de la technique de diffusion en milieu solide sur l'extrait

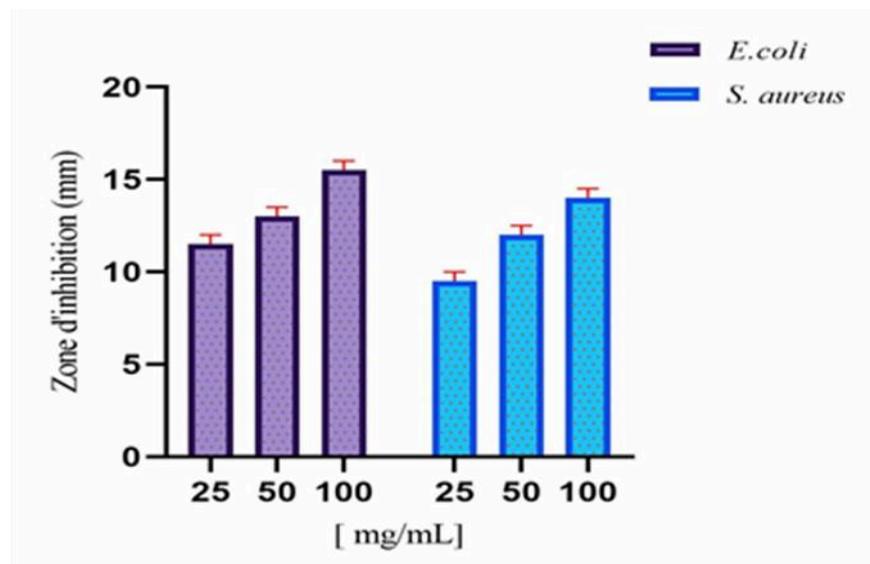


Fig. 42 : Diamètres d'inhibitions (mm) de l'extraits vis à-vis des souches bactériennes testées.

Tab 7 : Zone d'inhibition (mm) en relative à la croissance bactérienne

Microorganisme	Extrait MeOH			Gentamicine (0.01mg/ml)
	100	50	25	
<i>E.coli</i>	15.5±0.5 mm	13.2±0.5 mm	11.8±0.5 mm	23 mm±0.5 mm
<i>S.aureus</i>	13.8±0.5 mm	12.4.0.0 mm	9.54 ±0.5mm	22mm±0.5 mm

Selon la (Fig 42, Tab7) on observe :

- ✓ Une inhibition bactérienne pour *E. coli* (en violet) et *S. aureus* (en bleu), exposées à trois dosages croissants de l'extrait de *Silybum marianum* (25, 50 et 100 mg/ml).
- ✓ Les zones d'inhibition augmentent proportionnellement avec la concentration de l'extrait pour les deux souches, indiquant une corrélation dose-réponse positive. Cela révèle une efficacité étendue à des concentrations plus élevés.

L'extrait est donc considéré comme actif, car son diamètre d'inhibition est supérieur à 8 mm [17]

- ❖ *E. coli* présente une sensibilité plus marquée à toutes les concentrations, avec des zones d'inhibition constamment plus larges que celles de *S. aureus*. Cela peut s'expliquer par la composition de la paroi cellulaire [18]
- ❖ La paroi cellulaire de *E. coli*, possède avec une fine couche de peptidoglycane entre deux membranes et la membrane externe, riche en lipopolysaccharides, agit comme barrière contre certaines substances, notamment des antibiotiques. Toutefois, la présence de porines permet le passage de molécules hydrophiles, facilitant ainsi l'entrée de certains antibiotiques et pouvant entraîner des zones d'inhibition plus larges.
- ❖ *E. coli* étant une bactérie Gram négative, tandis que certains extraits végétaux, en particulier les flavonoïdes et les composés phénoliques, peuvent altérer les membranes Lipopoly-saccharidique [19]
- ❖ En revanche, les bactéries à Gram positif, telles que *S. aureus*, présentent une paroi cellulaire constituée d'une épaisse couche de peptidoglycane sans membrane externe. Cette structure dense peut offrir une résistance accrue à la diffusion de certains agents antimicrobiens, ce qui peut se traduire par des zones d'inhibition plus réduites lors des tests de sensibilité.
- ❖ *S. aureus*, bien que Gram-positive, montre aussi une sensibilité, ce qui révèle une activité à large spectre de l'extrait SM-MeOH. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude de Cowan M.M. (1999) [20], qui a démontré que les extraits végétaux, contenant des composés tels que les flavonoïdes, les tanins ou les huiles essentielles, peuvent posséder une activité antimicrobienne à la fois contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Cette propriété expliquerait leur efficacité à large spectre, y compris contre *S. aureus*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

1. **Meelad, F. M., Alsadi, H., & Edrah, S. M.** (2023). The bio-constituents extracted from *Silybum marianum* L. plant and their effects as antimicrobial agent. *Journal of Pharmacy & Allied Medicine*, 1 (2), 106-112.
<https://doi.org/10.58985/jpam.2023.v01102.14>
2. **Zhao, J., Deng, J., Chen, Y., & Li, S.** (2020). Comparative analysis of flavonoid compounds in *Silybum marianum* (L.) Gaertn. from different regions using HPLC and UPLC-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 177, 112873. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.112873>
3. **Singleton, V. L., & Rossi, J. A.** (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
4. **Dai, J., & Mumper, R. J.** (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352; <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
5. **Sreelatha, S., & Padma, P. R.** (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(4), 303-311. <https://doi.org/10.1007/s11130-009-0141-0>
6. **Rahman, M. M., Islam, M. B., Biswas, M., & Khurshid Alam, A. H. M.** (2015). In vitro antioxidant and free radical scavenging activity of different parts of *Tabebuia pallida* growing in Bangladesh. *BMC Research Notes*, 8, 621. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1618-6>
7. **Akar, Z., Küçük, M., & Doğan, H.** (2017). A new colorimetric DPPH (•) scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 640-647. <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1284068>
8. **Tariq, S., Umbreen, H., Noreen, R., Petitbois, C., Aftab, K., Alasmary, F. A., Almalki, A. S., & Mazid, M. A.** (2022). *Comparative Analysis of Antioxidants Activity of Indigenously Produced Moringa Oleifera Seeds Extracts [Article rétracté]*. *BioMed Research International*, 2022, 4987929. <https://doi.org/10.1155/2022/4987929>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

9. **Pisoschi, A. M., & Pop, A.** (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress : A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

10. **Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., and Dommes, J.** (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, 113(4), 1226-1233. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.013
Tongkasee, P., Srithat, D., Sriyasak, P., Jitcharerntham, A., Piwgern, T.
11. **Ammar, R. B., Bhouri, W., Sghaier, M. B., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., et al.** (2009). Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry*, 116(1), 258-264. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.043
12. **Olszowy, M.** (2019). What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.014>
13. **Wan, C., Yuan, T., Li, J., Tang, Y., & Shen, Y.** (2011). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of *Gynura divaricata* leaf extracts at different temperatures. *Pharmacognosy Magazine*, 7(25), 40-45.
<https://doi.org/10.4103/0973-1296.75903>
14. **Mamta, K., Rajeev, K., & Praveen, R.** (2014). Antioxidants. In S. K. Brar, G. S. Dhillon, & C. R. Soccol (Eds.), *Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals* (pp. 117-138). Springer.
https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4520-6_6
15. **Shen, G.-B., Lin, C.-H., Chen, Y.-J., & Liao, C.-C.** (2021). Quantitative estimation of the hydrogen-atom-donating ability of 4-substituted Hantzsch ester radical cations. *ACS Omega*, 6(36), 23621-23629.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02776>
16. **Hussen, E. M., & Endalew, S. A.** (2023). In vitro antioxidant and free-radical scavenging activities of polar leaf extracts of *Vernonia amygdalina*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23, Article 146. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03923-y>
17. **Tsirinirindravo, L., & Andrianarisoa, B.** (2009). Activités antibactériennes de l'extrait des feuilles de *Dalechampia clematidifolia* (Euphorbiaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(5)
18. **Delcour, A. H.** (2009). Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1794(5),

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

808-816. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.11.005>

19. **Ababsa, Z. E. A., Souilah, N., & Bellil, I.** (2024). Evaluation of the biological activities of several species of the family *Asteraceae*: *Centaurea papposa bleu* and

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hypochaeris laevigata var. hippomensis. African *Journal of Biological Sciences*, 6(16), 1176-1197.
20. **Cowan, M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>



Conclusion

CONCLUSION

Les plantes médicinales présentent des propriétés biologiques et pharmacologiques remarquables, ce qui explique leur utilisation diversifiée dans des secteurs tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture. Cet engouement croissant s'explique par leur teneur élevée en métabolites secondaires, composés actifs reconnus pour leur potentiel antioxydant et antibactérien.

Le présent travail est consacré à l'étude phytochimique et biologique d'une plante Algérienne appartenant à la famille des *astéracées*. Il s'agit de *Silybum marianum* (L).

Un screening phytochimique ainsi qu'une quantification des phénols et flavonoïdes ont été faite. Les résultats enregistrés lors de cette étude ont mis en évidence la présence de Différentes classes de métabolites secondaires tels que les phénols, les flavonoïdes et les Tannins, Alcaloïdes, Coumarines. Il a noté aussi que l'extrait brut *SM-MeOH* a enregistré un taux significatif en polyphénols et flavonoïdes.

L'activité antioxydante de l'"extrait brut (*SM-MeOH*) a été réalisée par trois méthodes (DPPH, TAC et phénanthroline). Les résultats obtenus ont révélé que l'extrait brut étudie Présente une bonne activité antioxydante.

L'activité antibactérienne de l'extrait de *S. marianum* sur deux souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*) est effectuée par la méthode de diffusion sur disques. Les résultats indiquent que les zones d'inhibition augmentent proportionnellement avec la concentration de l'extrait pour les deux souches, révélant une activité antibactérienne significative.

ملخص

يتطلب استخدام نبات الخرشوف المريمي في كبار السن، بسبب فوائده الصحية الملموسة، مزيداً من الدراسة في الطب التقليدي شوك الجمل، نبات طبي يستخدم على نطاق واسع لمواده النشطة ببوليوجيا ذات خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات يستكشف هذا العمل المواد الكيميائية النباتية المضادة للبكتيريا وإمكانات مضادات الأكسدة في

Silybum marianum بهدف تقييم تطبيقاتها العلاجية ضد مسببات الأمراض البشرية

تم استخلاص المركبات النباتية عن طريق النقع الساخن باستخدام الميثanol كمذيب استخلاص

أظهر الاستهداف الكيميائي النباتي للمستخلص وجوداً ملحوظاً من المستقلبات الثانوية للفلافونويات والكومارين والعفص والفالوبيات والمركبات الفينولية تم تحديد جرعات المركبات الفينولية المختلفة، وأظهرت القيم المستخلصة غنى هذا النبات بمجموع البوليفينولات والفالفونويات. حدد محتوى البوليفينولات (AICI) باستخدام طريقة إيجلين سوكالتيو، بينما حددت الفلافونويات باستخدام تقنية ثلاثي كلوريد الألومنيوم

أظهرت التحاليل الكيميائية محتوى من الفلافونويات بلغ

(ملغ/EGA ملغ) بينما بلغ تركيز البوليفينول 20.86 ± 0.1 ميكروغرام/EQ ميكروغرام 41.55 ± 1.81

تشير هذه النتائج إلى غلبة المركبات الفينولية على أحماض الكتان

بعد ذلك، قُيس النشاط المضاد للأكسدة في المستخلص بثلاث طرق، وهي اختبار

DPPH واختبار phenantreling.

وقد أظهرت النتائج نشطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً في المستخلص وفقاً لطرق التقييم الثلاث

الذهبية والإشريكية القولونية

(ATCC 25923) (ATCC 25922) أظهرت النتائج أن مستخلصنا يعتبر فعالاً

وفي الختام، تؤكد الدراسة الإمكانيات العلاجية لمستخلصات شوك الحليب

تسليط الضوء على الحاجة إلى إجراء أبحاث موسعة حول مركباتها النشطة، وطرق الاستخلاص، والاختبارات الحيوية من أجل التطبيق السريري الأمثل

الكلمات المفتاحية:

TAC، فينانثرونلين، Silybum، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة

RÉSUMÉ

Silybum marianum chez les seniors est principalement motivé par ses bénéfices santé perçus, nécessite une étude approfondie en médecine traditionnelle. Cette plante médicinale est largement utilisée pour ses substances bioactives aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires puissantes.

Ce travail explore les composés phytochimiques antibactériens et le potentiel antioxydant du *Silybum marianum*, en vue d'évaluer ses applications thérapeutiques contre des pathogènes humains.

L'extraction des composés de la plante a été réalisée par macération à chaud en utilisant le méthanol comme solvant extracteur.

Le criblage phytochimique de l'extrait a révélé une présence remarquable de métabolites secondaires des flavonoïdes, des coumarines, des tanins, des alcaloïdes et des composés phénoliques.

Le dosage des différents composés phénoliques a été réalisé et les valeurs trouvées ont montré la richesse de cette plante en polyphénols totaux et en flavonoïdes. La teneur en polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu, tandis que les flavonoïdes sont déterminés par la technique du trichlorure d'aluminium (AlCl_3).

Les analyses chimiques ont révélé une teneur en flavonoïdes de $(20,86 \pm 0,1 \mu\text{g EQ/mg})$, tandis que la concentration en polyphénols s'établit à $(41,55 + 1,81 \mu\text{g EGA/mg})$. Ces résultats indiquent une prépondérance des composés phénoliques par rapport aux flavonoïdes.

Ensuite, l'activité antioxydante de l'extrait est mesurée par trois méthodes, à savoir le test du DPPH, de TAC et le test de phenantroline. Les résultats ont démontré une activité antioxydante significative pour l'extrait selon les trois méthodes d'évaluation.

Enfin, l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Mueller-Hinton) sur les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Escherichia coli* (ATCC 25922). Les résultats obtenus ont montré que notre extrait est considéré comme actif,

En résumé, L'étude confirme le potentiel thérapeutique de l'espèce *Silybum marianum*, soulignant la nécessité de recherches approfondies sur leurs composés actifs, méthodes d'extraction, et essais *in vivo* pour une application clinique optimale.

Mots-clés : Silybum, Activité antibactérienne, Activité antioxydante, DPPH, TAC, Phénanthroline,

ABSTRACT

Silybum marianum in seniors, motivated by its perceived health benefits, requires further study in traditional medicine.

Milk thistle, a medicinal plant widely used for its bioactive substances and potent antioxidant and anti-inflammatory properties.

This work explores the antibacterial phytochemicals and antioxidant potential of *Silybum marianum*, with a view to evaluating its therapeutic applications against human pathogens.

Extraction of the plant compounds was carried out by hot maceration using methanol as the extracting solvent.

Phytochemical targeting of the extract revealed a remarkable presence of secondary metabolites of flavonoids, coumarins, tannins, alkaloids, and phenolic compounds

The various phenolic compounds were assayed, and the values found demonstrated the plant's richness in total polyphenols and flavonoids. The polyphenol content was determined spectrophotometrically using the Folin Ciocalteu method, while the flavonoids were determined using the aluminum trichloride (AICI) technique.

Chemical analyses revealed a flavonoid content of $(20.86 \pm 0.1 \mu\text{g EQ/mg})$, while the polyphenol concentration was $(41.55 + 1.81 \mu\text{g EGA/mg})$. These results indicate a preponderance of phenolic compounds over flaxsnoids.

Then, the antioxidant activity of the extract was measured by three methods, namely the DPPH test, TAC test, and the phenanthroline test. The results demonstrated significant antioxidant activity for the extract according to the three evaluation methods.

Finally, the antibacterial activity was carried out by the disk diffusion method on a solid agar medium (Mueller-Hinton) on the two bacterial strains *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922). The results obtained showed that our extract is considered active.

In summary, the study confirms the therapeutic potential of the species *Silybum marianum*, highlighting the need for further research on their active compounds, extraction methods, and in vivo testing for optimal clinical application.

Keywords: Silybum, Antibacterial activity, Antioxidant activity, DPPH, TAC, Phenanthroline,

Année universitaire : 2024-2025	Présenté par : Houcine malak , Bendjabar ghada
Intitulé :	
Contribution à l'étude phytochimique et biologique d'une plante médicinale	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Sciences biologique et appliquée	
<p>Résumé</p> <p>Silybum marianum chez les seniors est principalement motivé par ses bénéfices santé perçus, nécessite une étude approfondie en médecine traditionnelle. Cette plante médicinale est largement utilisée pour ses substances bioactives aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires puissantes. Ce travail explore les composés phytochimiques antibactériens et le potentiel antioxydant du <i>Silybum marianum</i>, en vue d'évaluer ses applications thérapeutiques contre des pathogènes humains. L'extraction des composés de la plante a été réalisée par macération à chaud en utilisant le méthanol comme solvant extracteur. Le ciblage phytochimique de l'extrait a révélé une présence remarquable de métabolites secondaires des flavonoïdes, des coumarines, des tanins, des alcaloïdes et des composés phénoliques. Le dosage des différents composés phénoliques a été réalisé et les valeurs trouvées ont montré la richesse de cette plante en polyphénols totaux et en flavonoïdes. La teneur en polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu, tandis que les flavonoïdes sont déterminés par la technique du trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Les analyses chimiques ont révélé une teneur en flavonoïdes de $(20,86 \pm 0,1 \mu\text{g EQ/mg})$, tandis que la concentration en polyphénols s'établit à $(41,55 + 1,81 \mu\text{g EGA/mg})$. Ces résultats indiquent une prépondérance des composés phénoliques par rapport aux flavonoïdes. Ensuite, l'activité antioxydante de l'extrait est mesurée par trois méthodes, à savoir le test du DPPH, de TAC et le test de phénanthroline. Les résultats ont démontré une activité antioxydante significative pour l'extrait selon les trois méthodes d'évaluation. Enfin, l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Mueller-Hinton) sur les deux souches bactériennes <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) et <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922). Les résultats obtenus ont montré que notre extrait est considéré comme actif. En résumé, L'étude confirme le potentiel thérapeutique des extraits de <i>Silybum marianum</i>, soulignant la nécessité de recherches approfondies sur leurs composés actifs, méthodes d'extraction, et essais <i>in vivo</i> pour une application clinique optimale.</p>	
<p>Mots-clés : <i>Silybum</i>, Activité antibactérienne, Activité antioxydante, DPPH, TAC, Phénanthroline,</p>	
<p>Laboratoires de recherche : Laboratoire de valorisation des ressources naturelles molécules bioactives analyses physico-chimiques et biologiques, et centre de recherche en Biotechnologie (CRBT) à Constantine.</p>	
<p>Président du jury : Dr. Ramli Imane MCA Université Constantine 1 Frères Mentouri</p>	
<p>Encadrant : Dr. Dersouni Chahrazed MCB Université Constantine 3 Salah</p>	
<p>Boubnidar Examinatrice : Dr. Azzouzi Salima MCA Université Constantine 1 Frères Mentouri</p>	