



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 : de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Étude phytochimique et évaluation *in vitro* des activités biologiques de deux plantes médicinales : *Bunium incrassatum* et *Dolomiaea costus*.**

---

Présenté par : MEZZOU Soundous Rihem

Le : 25/06/2024

MEGHOUACHE Belkis

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. MOUSSAOUI. Samira (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Encadrante : Dr.MADI Aicha (MCA- U Constantine 1 Frères Mentouri)

Co-encadrante : Dr. NAOUI Amira (MRA-CRBT Constantine)

Examinatrice : Dr. HALMI Sihem (MCA- U Constantine 1 Frères Mentouri)

**Année universitaire 2024-2025**

## *Remerciement*

Louange à Allah, le Très Clément, le Très Miséricordieux, pour la force, la patience et la guidance qu'Il nous a accordées tout au long de ce travail. C'est grâce à Sa volonté que nous avons pu surmonter les difficultés et parvenir à l'achèvement de ce mémoire.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadrante, Mme **MADI Aicha**, pour avoir accepté de diriger ce travail. Nous lui sommes profondément reconnaissants pour sa disponibilité, ses conseils avisés, son encadrement bienveillant et la confiance qu'elle nous a témoignée tout au long de cette recherche.

Nous exprimons également toute notre gratitude à notre co-encadrante, Mme **NAOUI Amira**, pour son accompagnement constant, sa précieuse aide et ses remarques pertinentes, qui ont contribué de manière significative à l'orientation de notre travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement Mme **MOUSSAOUI Samira** et Mme **HALMI Sihem** pour avoir accepté d'évaluer notre mémoire en tant que membres du jury, et pour la qualité de leurs remarques scientifiques.

Nos remerciements s'adressent aussi à M. **BENSOUICI Chaouki**, chef du laboratoire de biochimie au CRBT de Constantine, pour son accueil, son encadrement et sa précieuse disponibilité.

Nous n'oublions pas de remercier l'ensemble du personnel des laboratoires de biochimie et de bactériologie du Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBT), ainsi que ceux du laboratoire de biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Frères Mentouri – Constantine 1, pour leur accompagnement, leurs orientations et leur aide technique tout au long de notre expérimentation.

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance à toutes les personnes — familles, amis et collègues — qui nous ont soutenus, encouragés et motivés, de près ou de loin, dans la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

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

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas, **ma mère**,  
pour son amour inconditionnel, son appui constant durant toutes mes années d'études, ses sacrifices silencieux et son soutien indéfectible, qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

**À mon cher père**, le bonheur de ma vie,  
qui m'a appris le sens de la persévérance, m'a toujours soutenu par ses conseils, ses encouragements et ses sacrifices constants.

**À mon oncle Abdelhak**,  
pour son amour sincère et son soutien constant.  
Aucun mot ne saurait exprimer pleinement la gratitude que je ressens à son égard.

**À ma tante, Aouatif**,  
merci pour ton amour, ta tendresse et ton soutien.  
**À mes sœurs Nour Elhouda et Rabeb, et tous mes frères**  
pour leur soutien moral, leur tendresse, leur confiance et leurs mots qui m'ont toujours donné de la force.

**À mon amie Hanadi**, ma meilleure amie,  
pour son soutien précieux,  
sa fidélité, sa présence réconfortante, et tous les beaux moments partagés,  
et surtout, pour sa patience face à mes plaintes et à mes moments de découragement.

**À mon binôme Soundous**, qui ont partagé avec moi les moments difficiles  
Pour réaliser ce travail.

## *Dédicace*

C'est avec une grande fierté et une profonde gratitude que je dédie ce travail modeste à celles et ceux qui ont été la lumière de mon chemin et la force qui m'a permis d'avancer malgré la fatigue et les obstacles...

**À mes chers parents,**

**Mon père bien-aimé**, exemple de force et de dignité, soutien inconditionnel à chaque étape. Tes paroles ont été mon moteur dans les moments les plus difficiles.

**Ma mère tendre et aimante**, qui m'a transmis l'amour du savoir et qui a toujours veillé sur mes rêves avec patience et prières. Tout succès est d'abord le fruit de tes sacrifices.

À vous deux, je dois tout. Que ce mémoire soit le reflet de vos espoirs pour moi.

**À mes frères adorés :**

**Fadi et Maïssara**

Vous avez toujours été et restez ma source de bonheur. Votre amour et votre soutien ont été pour moi un réconfort dans les moments de fatigue et une compagnie précieuse dans la solitude. Vous apportiez la joie avec un sourire ou un mot d'encouragement, même dans mes moments les plus difficiles.

**À mes deux chères sœurs :**

**Souhâ et Manar,**

Mes confidents, mes piliers, celles vers qui je me tourne quand tout semble difficile. Votre affection m'a donné la force et vos paroles m'ont guidée comme une lumière douce.

À Mme **Madi Aïcha**, mon encadrante,

Je vous adresse mes plus sincères remerciements pour votre accompagnement bienveillant, vos conseils avisés et votre patience tout au long de ce parcours. Votre encadrement a été essentiel à la réalisation de ce travail.

À ma collègue et compagne de route **Belkis**

Partenaire de ce parcours, avec qui j'ai partagé des moments de sérieux et de fatigue, mais aussi de rires et de soutien mutuel. Merci d'avoir été à mes côtés. J'apprécie profondément tout ce que nous avons vécu ensemble durant cette aventure.

Et à tous ceux qui ont cru en moi, m'ont soutenue de près ou de loin, m'ont encouragée ou simplement offert un sourire dans les moments difficiles... merci du fond du cœur.

**Soundous**

# Sommaire

<b>Remerciements</b> .....	
<b>Dédicace</b> .....	
<b>Liste des abréviations :</b> .....	
<b>Introduction</b> .....	
<b>Chapitre 1 : Description botanique des plantes</b> .....	4
<b>1. <i>Bunium incrassatum</i></b> .....	5
1.1. Définition.....	5
1.2. Description botanique .....	5
1.3. Répartition géographique .....	6
1.4. Classification systématique .....	7
1.5. Utilisation traditionnelle .....	7
1.6. Propriétés pharmacologiques .....	8
1.7. Analyse de la composition chimique .....	8
<b>2. <i>Dolomiaea costus</i></b> .....	9
2.1. Définition.....	9
2.2. Synonymes.....	9
2.3. <i>Description botanique</i> .....	9
2.4. Classification systématique .....	10
2.5. Répartition géographique.....	11
2.6. Utilisation traditionnelle .....	12
2.7. Propriétés pharmacologiques .....	12
2.8. Phytochimie du <i>Dolomiaea costus</i> .....	13
<b>Chapitre 2 : Métabolites secondaires et Activités biologiques</b> .....	14
1.2. Composés phénoliques .....	15
1.2.1 Définition.....	15
1.2.2. Classification des composés phénoliques .....	16
1.3. Flavonoïdes.....	17
1.3.1. Définition.....	17
1.3.2. Classification des flavonoïdes .....	18
1.2.3. Rôle et intérêt des composés phénoliques .....	19
2. Le stress oxydant .....	21

2.1. Définition.....	21
2.2. Origine du stress oxydatif.....	21
2.2.1.Origines exogènes.....	21
2.2.2.Origines endogènes.....	21
2.3. Radicaux libres dans le système biologique .....	21
2.4. Types des radicaux libres.....	22
2.4.1. Espèces réactives de l'oxygène (ROS) .....	22
2.4.2. Espèces réactives de l'azote (RNS) .....	22
3.Origine de la production des radicaux libres .....	23
3.1. Production endogène .....	24
3.2. Production exogène .....	24
4.Système antioxydant.....	24
4.1. Classification des antioxydants.....	24
4.1.1.Antioxydants enzymatiques.....	24
4.1.2.Antioxydants non enzymatiques.....	26
6.Activité enzymatique 6.1. Diabète.....	31
6.2. Définition de l' $\alpha$ -amylase .....	31
6.2.1. Mécanisme d'action des inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase.....	32
6.2.2. Extrait de plantes comme source d'inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase .....	32
7.Activité antibactérienne .....	33
7.1. Différentes méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne .....	33
7.2. Effet bactéricide.....	34
7.3. Micro-organismes utilisés dans les tests antibactériens.....	34
<b>Partie pratique .....</b>	<b>36</b>
<b>Chapitre 1 : Matériel &amp; Méthodes .....</b>	<b>37</b>
I. Matériel .....	38
1. Matériel végétal .....	38
2.Matériel microbien.....	38
II. Méthodes .....	38
1.Extraction.....	38
2.Rendement d'extraction.....	39
3.Analyse quantitative des composées phénoliques .....	40
3.1.Dosage de polyphénols totaux .....	40
3.2.Dosage de Flavonoïdes totaux .....	40

4.Activités antioxydantes.....	41
4.1.Capacité de piégeage du radical libre DPPH .....	41
4.2.Capacité de réduire l'ion ferrique (pouvoir réducteur) (FRAP) .....	42
4.3.Capacité piégeage du radical-cation ABTS•+ .....	42
4.4.Activité de Phenanthroline .....	43
5.Activités enzymatiques .....	44
6.Activité antimicrobienne .....	45
<b>Chapitre 2 : Résultats et Discussion .....</b>	<b>47</b>
1.Rendement d'extraction.....	48
2.Analyse quantitative des composées phénoliques .....	50
2.1.Dosage des polyphénols totaux (TPC) .....	50
2.2.Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) .....	52
3.Activités biologiques .....	55
3.1 Activités antioxydantes.....	55
3.1.1 Test de piégeage du radical DPPH .....	55
3.1.2 Test de piégeage du radical ABTS .....	59
3.1.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP) .....	62
3.1.4 Activité de Phenanthroline .....	65
4.Activités enzymatiques .....	68
4.1 Activité inhibitrice de l'α amylase.....	68
5.Évaluation de L'activité Antibactérienne .....	72
<b>Conclusion.....</b>	<b>78</b>
<b>Les références.....</b>	
<b>Bibliographique.....</b>	
<b>Annexes.....</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des figures

Figure	Page
<b>Figure 1</b> : Fleurs et les tubercules de <i>B. incrassatum</i> « Talghouda »	<b>6</b>
<b>Figure 2</b> : Distribution géographique du genre <i>Bunium</i>	<b>6</b>
<b>Figure 3</b> : Partie florale de <i>D. costus</i>	<b>10</b>
<b>Figure 4</b> : Racines de <i>D. costus</i>	<b>10</b>
<b>Figure 5</b> : Distribution de <i>D. costus</i>	<b>111</b>
<b>Figure 6</b> : Classification des phénols végétaux en fonction de leur structure	<b>16</b>
<b>Figure 7</b> : Structure de base des flavonoïdes	<b>18</b>
<b>Figure 8</b> : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant	<b>26</b>
<b>Figure 9</b> : Interactions des enzymes antioxydantes	<b>20</b>
<b>Figure 10</b> : Moléculaire du glutathion réduit (GSH)	<b>27</b>
<b>Figure 11</b> : Cycle d'oxydo-réduction de la vitamine E	<b>28</b>
<b>Figure 12</b> : Structure moléculaire de l'acide L-ascorbique et l'acide déhydro-L-ascorbique	<b>28</b>
<b>Figure 13</b> : Action synergique des antioxydants non enzymatiques	<b>29</b>
<b>Figure 14</b> : Préparation de l'extrait éthanolique par macération.	<b>39</b>
<b>Figure 15</b> : Réaction représentative entre le DPPH et un antioxydant	<b>41</b>
<b>Figure 16</b> : Les antioxydants réduisent le complexe Fe(III)–TPTZ en Fe(II)–TPTZ, donnant une coloration bleu foncé..	<b>42</b>
<b>Figure 17</b> : Génération du cation radical ABTS et sa réaction avec un antioxydant	<b>43</b>
<b>Figure 18</b> : Formation du complexe coloré $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ entre le $\text{Fe}^{2+}$ et la 1,10-phénanthroline.	<b>44</b>
<b>Figure 19</b> : Rendements d'extraction des différents extraits de <i>B. incrassatum</i> et <i>D. costus</i>	<b>48</b>
<b>Figure 20</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.	<b>50</b>
<b>Figure 21</b> : Teneur en polyphénols des différents extraits.	<b>51</b>
<b>Figure 22</b> : Courbe d'étalonnage de la quercétine.	<b>53</b>
<b>Figure 23</b> : Teneur en flavonoïde des différents extraits	<b>54</b>
<b>Figure 24</b> : La plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits étudiés	<b>57</b>
<b>Figure 25</b> : Valeurs $\text{IC}_{50}$ des extraits étudiés dans la méthode de piégeage du DPPH	<b>57</b>
<b>Figure 26</b> : Microplaque de dosage de l'activité de piégeage du radical cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$	<b>60</b>
<b>Figure 27</b> : Résultats des $\text{IC}_{50}$ du radical ABTS	<b>61</b>
<b>Figure 28</b> : Plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des extraits	<b>63</b>
<b>Figure 29</b> : Valeurs des $\text{A}_{0,5}$ du test pouvoir réducteur (FRAP)	<b>64</b>



<b>Figure 30</b> : Plaque de phénantroline des d'extraits.	<b>66</b>
<b>Figure 31</b> : Valeurs des A0.5 dans le test phénanthroline	<b>67</b>
<b>Figure 32</b> : La plaque de dosage de l'activité inhibitrice de l'alpha amylase	<b>68</b>
<b>Figure 33</b> : Résultats de l'activité anti- $\alpha$ amylase des différents extraits étudiés	<b>69</b>

Liste des tableaux	
Tableau	Page
<b>Tableau 1</b> : Classification systématique de <i>B. incrassatum</i> .	<b>7</b>
<b>Tableau 2</b> : Classification systématique de <i>D. costus</i>	<b>11</b>
<b>Tableau 3</b> : Usages traditionnels et ethnopharmacologiques <i>D. costus</i>	<b>12</b>
<b>Tableau 4</b> : Squelettes structurels de base des composés phénoliques.	<b>17</b>
<b>Tableau 5</b> : Structures des différentes classes des flavonoïdes	<b>18</b>
<b>Tableau 6</b> : Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme	<b>20</b>
<b>Tableau 7</b> : Espèces réactives diversité de nature chimique	<b>23</b>
<b>Tableau 8</b> : Comparaison des tests antioxydants réalisés <i>in vitro</i>	<b>30</b>
<b>Tableau 9</b> : Informations générales sur les souches bactériennes étudiées	<b>35</b>
<b>Tableau 10</b> : Rendement d'extraction et les caractères de chaque extrait.	<b>48</b>
<b>Tableau 11</b> : Teneurs en polyphénols totaux des extraits	<b>51</b>
<b>Tableau 12</b> : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits.	<b>53</b>
<b>Tableau 13</b> : Inhibition du radical DPPH par les extraits de <i>Bunium incrassatum</i> et <i>Dolomiaea costus</i> .	<b>56</b>
<b>Tableau 14</b> : Pouvoir de piégeage du radical ABTS	<b>60</b>
<b>Tableau 15</b> : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits (FRAP)	<b>63</b>
<b>Tableau 16</b> : Réduction du fer par la méthode phenanthroline	<b>66</b>
<b>Tableau 17</b> : Pourcentage d'inhibition de l' $\alpha$ amylase des différents extraits étudiés	<b>69</b>
<b>Tableau 18</b> : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.	<b>72</b>
<b>Tableau 19</b> : Les Activité antibactérienne des différents extraits	<b>73</b>
<b>Tableau 20</b> : Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>74</b>
<b>Tableau 21</b> : Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits sur la croissance de <i>Escherichia Coli</i> .	<b>76</b>

## Liste des abréviations

- **MH** : Mueller Hinton.
- **%** : pourcentage.
- **G** : Gramme.
- **Mg** : Milligramme.
- **ml** : millilitre.
- **µl** : microlitre
- **ABTS** : acide 2,2'-azino-bis-3-éthyl benzthiazoline-6-sulfonique.
- **DPPH** : radical 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyle.
- **FRAP** : pouvoir réducteur/antioxydant ferrique.
- **TPC** : Teneur totale en phénols.
- **TFC** : Teneur totale en flavonoïdes.
- **EAG/g d'extrait** : Équivalent d'Acide Gallique par gramme d'extrait
- **EQ/g d'extrait** : Équivalent de quercétine par gramme d'extrait
- **R<sup>2</sup>** : coefficient de corrélation linéaire
- **IC50** : concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux libre.
- **A0,5** : la concentration à l'absorbance 0,5.
- **AL<sup>+3</sup>** : anion d'aluminium.
- **AL(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** : nitrate d'aluminium.
- **BHA** : Butyl-hydroxy-anisole
- **BHT** : Butyl-hydroxy-toluène
- **CH<sub>3</sub>COOK** : potassium acétate
- **Na<sub>2</sub>OH** : L'hydroxide de sodium.
- **AlCl<sub>3</sub>** : chlorure d'aluminium.
- **FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer.
- **MeOH** : Méthanol
- **Trolox** : acide 6-hydroxy-2, 5, 7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique.
- **EBI** : Extrait éthanolique de *B. incrassatum*.
- **ABI** : Extrait aqueux de *B. incrassatum*.
- **Aco** : Extrait aqueux de costus indien.
- **Eco** : Extrait éthanolique de costus indien.

# INTRODUCTION

### **Introduction**

Depuis toujours, l'humanité s'est appuyée sur la nature pour subvenir à ses besoins fondamentaux : production de nourriture, abris, vêtements, moyens de transport, engrais, arômes parfums, et surtout, les médicaments. Les plantes ont constitué le pilier de **systèmes** de médecine traditionnelle élaborés, en usage depuis des millénaires, et continuent à offrir à l'être humain de nouvelles solutions thérapeutiques. **(Gurib-Fakim, 2006)**

De nos jours, une grande partie de la population, notamment dans les pays en développement, continue de recourir à la médecine traditionnelle pour ses soins de santé quotidiens. Selon l'Organisation mondiale de la santé, environ 80 % des habitants de ces pays dépendent des remèdes à base de plantes, et un quart des médicaments modernes sont issus de composés végétaux ou de leurs dérivés synthétiques. **(Gurib-Fakim, 2006)**

Les plantes médicinales, qu'elles soient employées en médecine traditionnelle ou moderne, renferment généralement un ou plusieurs principes actifs à visée thérapeutique. Leur efficacité repose sur la présence de composés chimiques d'origine végétale qu'ils soient primaires, secondaires ou isolés, agissant seuls ou en synergie avec d'autres constituants présents dans la plante **(Ouedraogo, 2021)**.

Parmi ces plantes, on retrouve Talghouda «*Bunium incrassatum*.» est une plante importante qui pousse principalement dans le nord de l'Algérie. Ses racines, riches sur le plan nutritionnel, en font une espèce médicinale d'intérêt économique. Elle est largement mentionnée dans la pharmacopée traditionnelle algérienne. Elle présente de nombreux bienfaits qui suscitent l'intérêt aussi bien populaire que scientifique. **(Toul, 2022)**

La plante costus indien «*Dolomiaea costus* (Falc.)» est une plante médicinale utilisée dans la médecine ayurvédique. Elle est connue et employée depuis longtemps dans divers systèmes de médecine traditionnelle pour ses multiples propriétés thérapeutiques **(Abouelwafa et al, 2024)**.

L'objectif principal de cette étude est d'approfondir les connaissances chimiques et pharmacologiques sur ces deux plantes médicinales. Deux objectifs spécifiques sont fixés :

Quantification des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les quatre extraits (EBI, ABI, ECO, ACO).

Évaluation in vitro de leur activité antioxydante, enzymatique et antibactérienne.

Notre travail sera présenté comme suit :

La première partie de ce travail est dédiée à la recherche bibliographique, et s'articule autour de deux chapitres principaux :

✓ Le premier chapitre : traite de la description botanique des plantes *Bunium incrassatum* et *Dolomiaea costus* (Falc.), suivie de leurs propriétés biologiques, ainsi qu'un aperçu des principaux travaux phytochimiques réalisés sur ces espèces et de leurs usages en médecine traditionnelle.

✓ Le deuxième chapitre : portera sur les métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques, leur définition, leur classification ainsi que leur rôle thérapeutique. Il abordera également le stress oxydatif et les systèmes antioxydants. Enfin, il traitera de l'activité antibactérienne et de l'activité enzymatique, en particulier de l'inhibition de l'alpha-amylase, liée au diabète.

La deuxième partie est dédiée à nos travaux expérimentaux, répartis en deux chapitres :

**Chapitre 1** : consacré à la présentation du matériel et des méthodes d'extraction utilisées pour les plantes *Bunium incrassatum* et *Dolomiaea costus* (Falc.). Ce chapitre inclut également les méthodes d'évaluation de leurs activités antioxydante, enzymatique et antibactérienne.

**Chapitre 2** : porte sur la présentation et la discussion des résultats obtenus dans le cadre de cette étude phytochimique et biologique menée sur les deux espèces végétales.

**CHAPITRE 1**

**DESCRIPTION**

**BOTANIQUE DES**

**PLANTES**

## **1. *Bunium incrassatum***

### **1.1. Définition**

*Bunium incrassatum* (Boiss.) Batt. et Trab, connue localement sous le nom de "Talghouda", est une plante médicinale à valeur économique notable, appartenant à la famille des Apiacées (ou Ombellifères) (Berroukeche *et al.*, 2022), qui regroupe entre 45 et 50 espèces (Chentouh *et al.*, 2019). Le genre *Bunium* comprend sept espèces dans la flore algérienne, dont quatre sont endémiques (Berroukeche *et al.*, 2022).

*Bunium* figure parmi les plantes aromatiques et médicinales les plus importantes, ses graines ainsi que ses huiles essentielles étant utilisées depuis des siècles dans les domaines de l'alimentation et de la médecine à travers le monde (Hammoudi et Boulahbel, 2022).

Autrefois, cette plante était utilisée à des fins alimentaires et médicinales dans la médecine traditionnelle. Actuellement, elle suscite un intérêt croissant dans le cadre de recherches scientifiques récentes visant à évaluer ses propriétés pharmacologiques et à envisager sa valorisation thérapeutique dans le domaine de la médecine moderne (Berroukeche *et al.*, 2022).

### **1.2. Description botanique**

*B. incrassatum* est une plante herbacée vivace, qui pousse à partir d'un bulbe et se caractérise par une hauteur variante entre 30 et 70 cm. Elle présente un port typique des Ombellifères, avec des fleurs blanches regroupées en ombelles de 5 à 7 cm de diamètre, portées par des pédicelles souples qui ne s'étalent pas en forme d'étoile.

Les feuilles sont disposées de manière alterne le long de la tige et sont divisées deux ou trois fois en lanières étroites, formant un contour général triangulaire.

Les fruits sont aromatiques, mesurent entre 3 et 4 mm de long et ont une forme allongée, environ deux fois plus longue que large. Ils sont bi-pennatiséqués, avec des segments linéaires à lancéolés aux bords bien marqués. Ils ne possèdent pas de rostre (ou bec) et présentent des côtes primaires fines, bien visibles, surtout lorsqu'ils sont secs.

La partie souterraine de la plante est généralement un tubercule arrondi de couleur brunâtre, mesurant entre 1 et 2 cm de diamètre. Ce tubercule est brun à l'extérieur et blanc à l'intérieur (Adoui *et al.*, 2022).



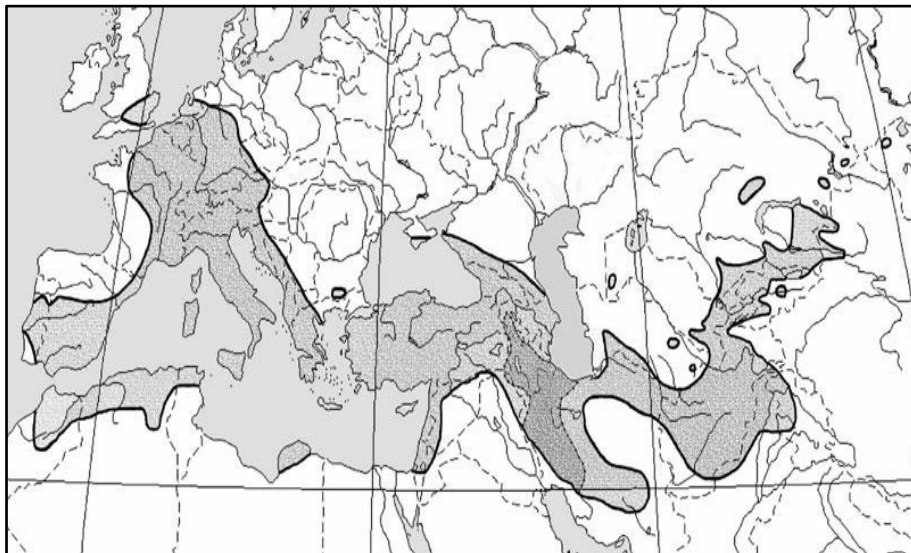


**Figure 1** : Fleurs et les tubercules de *B. incrassatum* « Talghouda »  
(Chentouh *et al.*, 2018).

### 1.3. Répartition géographique

Le genre *Bunium* comprend plus de 50 espèces réparties en Afrique, en Europe et en Asie (Hayet *et al.*, 2017).

*B. incrassatum* est une plante médicinale largement répandue dans le nord de l'Algérie, avec une présence marquée dans les zones rurales de toutes les régions telliennes du pays. Elle est également présente dans l'est de l'Algérie, notamment dans la région d'Oum El Bouaghi. (Berroukeche *et al.*, 2022 ; Benkhalifa, 2018 ; Chentouh *et al.*, 2018).



**Figure 2** : Distribution géographique du genre *Bunium* (Elkolli, 2017).

#### **1.4. Classification systématique**

Selon **Elkolli (2017)**, la classification taxonomique de *B. incrassatum* est présentée dans le tableau suivant (**Tableau1**).

**Tableau 1** : Classification systématique de *B. incrassatum*.

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Division</b>	Tracheophyta
<b>Subdivision</b>	Spermatophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Superordre</b>	Asteranae
<b>Ordre</b>	Apiales
<b>Famille</b>	Apiaceae
<b>Genre</b>	Bunium
<b>Espèce</b>	<i>Bunium incrassatum</i>

#### **1.5. Utilisation traditionnelle**

##### **➤ Comme aliment**

Les tubercules de *B. incrassatum* (racines tubéreuses) présentent une grande valeur nutritive. Ils sont traditionnellement cuits de manière similaire aux pommes de terre et souvent consommés frais (**Berroukeche et al., 2022**). Ils peuvent être consommés seuls ou en mélange avec du miel, de l'huile d'olive et du lait de chèvre (**Toul et Djendar, 2023**).

En outre, le tubercule de Talghouda est utilisé sous forme de farine pour la préparation de pain, de gâteaux, ou encore comme légume dans divers plats (**Aiouaz et Bitam, 2022**).

##### **➤ Comme médicament**

- En médecine traditionnelle, les tubercules de *B. incrassatum*, lorsqu'ils sont séchés et réduits en poudre, sont utilisés pour leurs propriétés astringentes, anti-diarrhéiques et anti-inflammatoires. Ils sont particulièrement employés pour soulager les hémorroïdes inflammatoires ainsi que pour le traitement de la bronchite et de la toux (**Hammoudi et al., 2020**).
- Cette plante a contribué d'une part au maintien d'un bon état de santé durant la guerre, et d'autre part au traitement de certaines affections telles que la cystite, la pyélonéphrite, les vers intestinaux et les plaies, en stimulant le système immunitaire et en jouant un rôle dans la relaxation nerveuse (**Aiouaz et Bitam, 2022**).

En agriculture *B. incrassatum* est reconnu pour son efficacité à favoriser l'augmentation du poids corporel et de la production laitière chez certains animaux de ferme (**Berroukeche et al., 2022**).

### **1.6. Propriétés pharmacologiques**

*B. incrassatum* est une plante dont les tubercules peuvent être valorisés comme source de produits nutraceutiques ou comme aliments fonctionnels, contribuant à la prévention des maladies chroniques grâce à leur valeur nutritionnelle et à leur richesse en composés bioactifs. Cette espèce est reconnue pour ses propriétés antioxydantes et anti-hémolytiques.

L'utilisation de la poudre de tubercules de *B. incrassatum* comme complément alimentaire dans un régime standard a permis de doubler le poids des animaux sans induire de perturbations du profil lipidique, ce qui constitue un avantage notable pour les animaux d'élevage. Elle a également entraîné une réduction des taux de triglycérides et de créatinine, ainsi qu'une augmentation du taux de HDL. Les résultats expérimentaux, appuyés par des recherches et études prometteuses, confirment l'usage traditionnel des tubercules de *B. incrassatum* en tant qu'aliment fonctionnel, tant pour l'homme que pour les animaux de ferme. Son activité antioxydante et anti-hémolytique serait vraisemblablement liée à la présence de composés polyphénoliques (**Berroukeche et al., 2022**).

Par ailleurs, dans l'Est algérien, cette plante est reconnue pour ses effets thérapeutiques sur les troubles de la thyroïde, notamment l'hypothyroïdie, l'hyperthyroïdie et les nodules thyroïdiens. Il est également important de souligner que plusieurs composés d'origine végétale, tels que les polyphénols et les alcaloïdes, peuvent influencer la régulation hormonale thyroïdienne et exercer des effets antiprolifératifs sur les cellules cancéreuses de la thyroïde (**Aiouaz et Bitam, 2022**).

### **1.7. Analyse de la composition chimique**

L'analyse phytochimique de *Talghouda* a révélé une richesse notable en polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes et coumarines. La quantification des composés bioactifs dans l'extrait révèle une concentration particulièrement élevée en polyphénols, suivie d'une teneur notable en coumarines.

Les flavonoïdes sont également présents en quantité significative, tandis que les alcaloïdes, bien que détectés en moindre proportion, confirment la diversité chimique de cette plante.

Cette analyse souligne le potentiel thérapeutique de *Talghouda* à travers la présence de différentes classes de métabolites secondaires, reconnues pour leurs propriétés pharmacologiques. (Aiouaz et Bitam, 2022).

Dans des études précédentes, l'analyse phytochimique de *B. incrassatum* a révélé la présence de nombreux composés bioactifs et nutritionnels tels que le saccharose, l'acide oléique, la scopolétine, le  $\beta$ -sitostérol et la scoparone. Par ailleurs, la présence de certaines molécules, même à de faibles concentrations, telles que le thymol et le carvacrol, peut également jouer un rôle significatif (Berroukeche *et al.*, 2022).

## **2. *Dolomiaea costus***

### **2.1. Définition**

*Dolomiaea costus*, anciennement connue sous le nom de *Saussurea costus* (Falc) lipsch (Abdelwafa *et al.*, 2023), communément appelé costus indien (Aldholmi, 2024) est une plante vivace, aromatique et médicinale appartenant à la famille des Astéracées.

Elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle et possède d'importantes activités pharmacologiques. Elle présente un fort potentiel pour la découverte de nombreuses substances bioactives. (Kumar et Pundir, 2022).

### **2.2. Synonymes**

- **Synonymes homotypiques** : *Aucklandia costus* Falc, *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch, *Theodorea costus* (Falc.).
- **Synonymes hétérotypiques** : *Aplotaxis lappa* Decne, *Aucklandia lappa* (Décné.) Décné, *Saussurea lappa* (Decne.) Sch.Bip (Kasana et Pandey, 2020).

### **2.3. Description botanique**

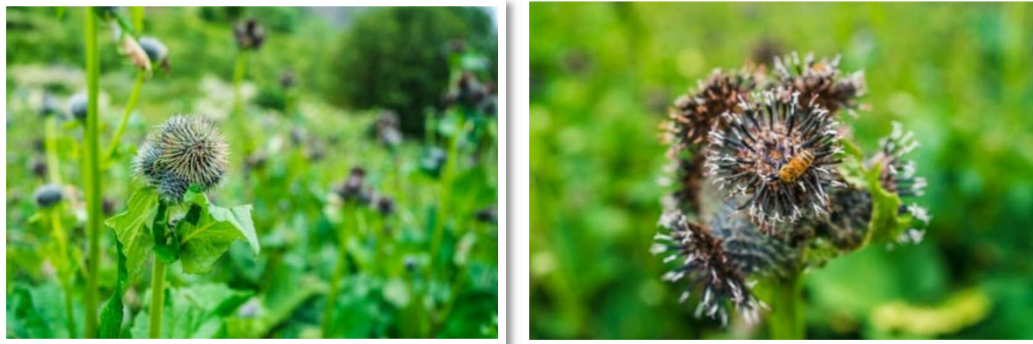
*D. costus* est une plante herbacée vivace, robuste et dressée, recouverte de poils courts et doux (pubescente), avec une tige atteignant une hauteur de 1 à 2 mètres.

Les feuilles basales sont grandes, mesurant de 0,5 à 1,25 mètre, membraneuses, dentées de manière irrégulière, rugueuses sur la face supérieure et lisses sur la face inférieure, avec une base auriculée. Les feuilles supérieures sont plus petites et principalement subsessiles.

Les fleurs sont arrondies, dures, de couleur pourpre, mesurant de 2,4 à 4,0 cm de diamètre, regroupées par groupes de 2 à 5 à l'extrémité ou à l'aisselle des feuilles.

La corolle mesure environ 2 cm de long, tubulaire, avec un pappus long et duveteux d'environ 1,7 cm sur le capitule en fructification.

Le fruit est courbé, velu, comprimé et en forme de coupe (*Nadda et al., 2020*), et les racines mesurent environ 40 cm de long et sont de couleur brun foncé (figure3 et 4).



**Figure 3 : Partie florale de *D. costus* (Anonyme, 2023).**



**Figure 4 : Racines de *D. costus* (Nadda et al., 2020).**

#### **2.4. Classification systématique**

La position systématique du *D. costus* est présentée dans le tableau suivant (**Tableau2**) (*Kasana et Pandey, 2020*)

**Tableau 2** : Classification systématique de *D. costus*

Royaume	Plantes
Phylum	Streptophytes
Classe	Equisetopsida
Sous classe	Magnoliidae
Commande	Astéries
Famille	Astéracées
Genre	Dolomées
Espèces	<i>Dolomiaea costus</i>

## 2.5. Répartition géographique

La population de *D. costus* est localisée dans les régions himalayennes de l'Inde, notamment au Cachemire (Jammu-et-Cachemire), à Uttar Kashi et Barsu (Uttarakhand), ainsi qu'à Lahaul-Spiti (Himachal Pradesh). Elle est également présente dans le nord de l'Himalaya pakistanais et en Chine, dans le village de Xinzhu, la ville de Ludian, le district de Yulong, province du Yunnan, à une altitude comprise entre 3300 et 4000 mètres.

Les premiers relevés floristiques indiquent qu'il s'agit d'une espèce endémique du Cachemire, considérée comme le "Costus" des temps anciens. Elle pousse notamment dans les forêts de bouleaux (*Betula*) sur les pentes montagneuses de régions comme Kalapani, Kamari, Thanknala, Mapno et Kilshai, à des altitudes variantes entre 2438 et 3657 mètres (Nadda *et al.*, 2020).



**Figure 5** : Distribution de *D. costus* (Nadda *et al.*, 2020).

## 2.6. Utilisation traditionnelle

Il a été traditionnellement utilisé comme antiseptique, sédatif, carminatif, stimulant, astringent et bronchodilatateur. Dans la population localisées ses racines sont employées pour traiter la fièvre légère, la toux et les douleurs gastriques. Par ailleurs, elles sont appliquées sous forme de pâte, mélangée à de l'huile de moutarde, afin de soulager les douleurs rhumatismales, notamment durant les périodes hivernales (**Kumar et Pundir, 2022**).

Les racines séchées de la plante, appelées racines de costus, sont bien connues pour leur utilisation dans les systèmes traditionnels des pays asiatiques comme la Corée, l'Inde, la Chine et le Japon. *D. costus* était utilisé dans le folklore indien et par différentes tribus comme agent efficace contre les diabétiques obèses (**Abouelwafa et al., 2024**).

**Tableau 3 : Usages traditionnels et ethnopharmacologiques *D. costus* (Nadda et al., 2020).**

Maladie traitée	Partie utilisée	Usages traditionnels / problème de santé	Méthode d'utilisation
Problèmes gastriques	Poudre de racine	Maux d'estomac	Pris avec de l'eau ou chauffé avec de l'huile de moutarde et appliqué sur l'estomac
	Poudre de racine	Hémorroïdes	Pris avec des racines d' <i>Acorus calamus</i>
Douleurs et inflammation	Poudre de racine / racine	Maux de tête	Chauffée avec de l'huile et appliquée sur la tête, ou pâte de racine appliquée sur la tête.
		Douleurs dorsales et thoraciques	Pris avec du lait, ou chauffé avec de l'huile et appliqué sur la zone affectée.
		Douleurs articulaires	Chauffée avec du ghee ou de l'huile et appliquée sur la zone, ou prise avec du lait.

## 2.7. Propriétés pharmacologiques

Les racines de *D. costus* présentent plusieurs activités pharmacologiques, notamment un effet dépresseur sur le système nerveux central, ainsi que des actions antimicrobiennes,



antiulcéreuse, anti-inflammatoire, hépatoprotectrice, antinématodienne, antiprotozoaire et cytotoxique (**Kumar et Pundir, 2022**).

Elles possèdent également des propriétés antioxydantes, anticancéreuses et antidiabétiques. Les résultats des études récentes viennent conforter l'usage traditionnel de *D. costus* comme agent antidiabétique, et suggèrent le potentiel thérapeutique de ses extraits dans le développement de nouveaux médicaments contre le diabète.

Ces données offrent également une base prometteuse pour la formulation de préparations phytothérapeutiques standardisées, fondées sur les pratiques de guérison traditionnelles, ainsi que pour l'exploration de nouvelles entités chimiques en vue du développement futur de traitements antidiabétique (**Abouelwafa et al., 2024**).

## **2.8. Phytochimie du *Dolomiaea costus***

Les vastes applications médicinales du *D. costus* indien sont attribuées à la présence de divers métabolites secondaires bioactifs, notamment des stérols, des flavonoïdes, des coumarines, des phénylpropanoïdes, des lignanes, des alcaloïdes, des monoterpènes, des triterpènes, des sesquiterpènes et des lactones sesquiterpéniques. Les principales lactones sesquiterpéniques bioactives présentes dans l'huile et l'extrait de racine de costus sont le costunolide et la lactone déhydrocostus (**Aldholmi, 2024**).



**CHAPITRE 2**

**MÉTABOLITES**

**SECONDAIRES**

**ET**

**ACTIVITÉS BIOLOGIQUES**

## **Métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires, issus du métabolisme primaire, sont des composés spécifiques à certaines espèces végétales. Leur production est influencée par l'environnement (facteurs biotiques et abiotiques). Contrairement aux métabolites primaires, ils ne sont pas directement impliqués dans la croissance de la plante, mais jouent un rôle clé dans ses mécanismes d'adaptation et de défense.

Les métabolites secondaires bioactifs des plantes se répartissent en trois grandes classes chimiques : les terpénoïdes, les composés phénoliques et les alcaloïdes (composés contenant de l'azote) (Dhaniaputri *et al.*, 2022).

### **1.2. Composés phénoliques**

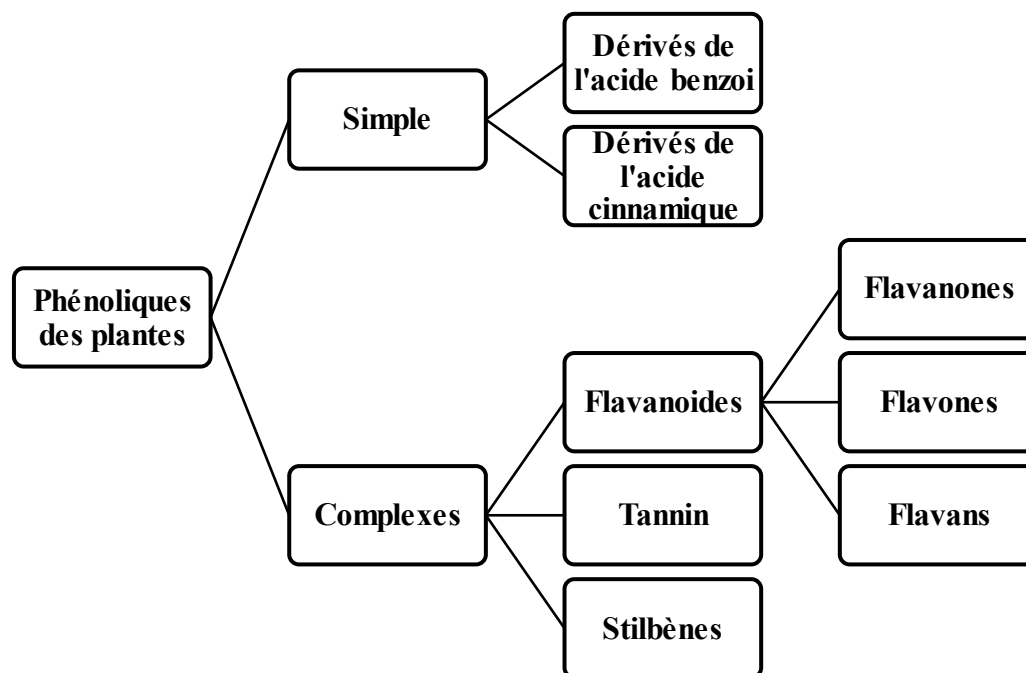
#### **1.2.1 Définition**

Les composés phénoliques (ou polyphénols), en particulier les phénylpropanoïdes (comme les acides phénylpropioniques, les lignines et les coumarines) ainsi que les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires essentiels produits par les plantes (Zhou *et al.*, 2025).

Leur structure contient au moins un cycle aromatique (comme le benzène) lié à un ou plusieurs groupes hydroxyle (-OH). Le groupe hydroxyle peut se trouver à l'état libre ou être engagé dans des liaisons avec d'autres fonctions chimiques, telles que les éthers, les esters ou les glycosides (Élie, 2022).

Ces composés phénoliques présentent d'importantes activités antioxydantes et anti-inflammatoires, ainsi que des propriétés anti-infectieuses (antivirales, antibactériennes), antiallergiques, antihémorragiques et immunostimulantes. En outre, les composés phénoliques jouent un rôle fondamental dans le métabolisme des plantes horticoles et dans leurs interactions écologiques. (Zhou *et al.*, 2025).

Ils peuvent présenter une structure simple, comme c'est le cas pour les acides phénoliques, ou une structure plus complexe, comme celle des flavonoïdes (Arfaoui, 2021).

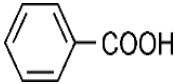
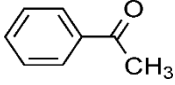
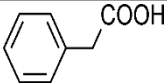
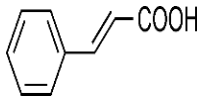
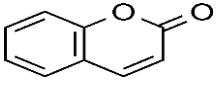
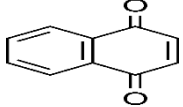
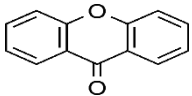
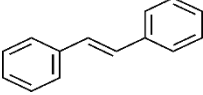
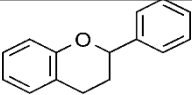


**Figure 6 :** Classification des phénols végétaux en fonction de leur structure (Banothu et Uma, 2022).

### 1.2.2. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols constituent un vaste groupe de plus de 8 000 composés différents, largement répandus dans l'ensemble du règne végétal. Ils peuvent être classés en fonction du nombre et de la disposition de leurs atomes de carbone, et se présentent souvent sous forme conjuguée, associés à des sucres ou à des acides organiques (Tableau) (Crozier *et al.*, 2009).

**Tableau 4 :** Squelettes structurels de base des composés phénoliques (Crozier *et al.*, 2009).

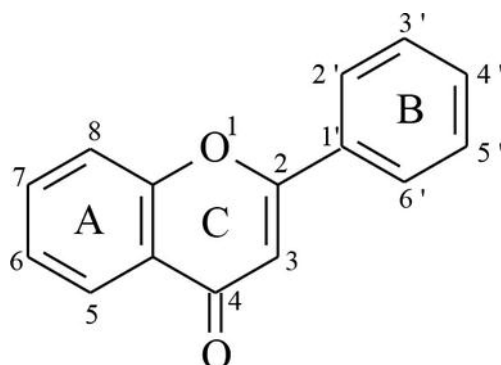
Nombre de carbone	Squelette	Classification	Structure de base
7	C6-C1	Acides phénols	
8	C6-C2	Acétophénone	
8	C6-C2	Acides phénylacétique	
9	C6-C3	Acides hydroxycinnamique	
9	C6-C3	Coumarines	
10	C6-C4	Naphtoquinones	
13	C6-C1-C6	Xanthones	
14	C6-C2-C6	Stilbénes	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	

## 1.3. Flavonoïdes

### 1.3.1. Définition

Les flavonoïdes appartiennent à la vaste famille des composés phénoliques, également appelés polyphénols, et regroupent plus de 6 000 structures différentes. Ce sont des métabolites secondaires largement répandus dans les plantes, les fruits et les graines, où ils jouent un rôle essentiel dans la détermination de la couleur, du parfum et de la saveur.

Chez l'être humain, ces composés sont reconnus pour leurs nombreux effets bénéfiques sur la santé, grâce à leurs propriétés bioactives (**Kaurinovic et vastag, 2019**).



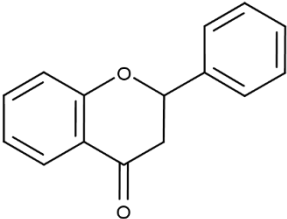
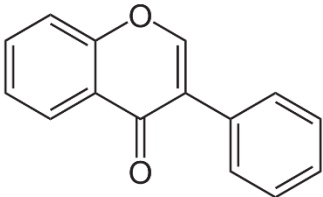
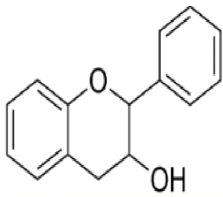
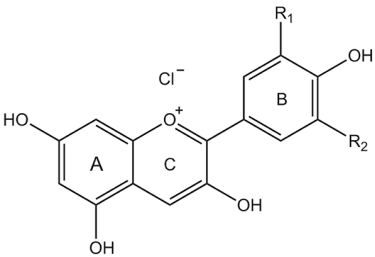
**Figure 7** : Structure de base des flavonoïdes (**Kaurinovic et vastag, 2019**).

### 1.3.2. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes selon les types de substitutions chimiques qu'ils présentent, notamment l'hydroxylation, la O-méthylation, la C-méthylation, l'isoprénylation ou encore la substitution par un groupement méthylènedioxy (**Oroian et Escriche, 2015**). Parmi ces sous-classes, les plus représentatives sont : les flavones, les flavanones, les flavonols, les anthocyanidines et les isoflavones (**Figure 8**) (**Ziberna et al., 2014**).

**Tableau 5** : Structures des différentes classes des flavonoïdes (**Oroian et Escrich, 2015**).

Classes	Structures	Molécules	Sources alimentaires majeures
Flavonols		quercetin, kaemferol. myricetin. isorhamnetin, pachypodol	Persil Oignon Thé vert Vin
Flavones		Luteonin. Apigenin. tangeritin	Écorces d'agrumes Oignon Persil Soies de maïs

<b>Flavanones</b>		Hesperetin naringenin, eriodictyol	Citrons Citrons verts. Oranges douces mandarine Espèces de tangor d'agrumes Olive dégraissée Soja dégraissé
<b>Isoflavones</b>		Genistein. Daidzein. Glycitein.	Soja Lentilles vertes, jaunes et rouges, haricots rouges, haricots blancs, pois chiches
<b>Flavanols</b>		catechins epicatechins	Cacao, thé, pomme, fruits
<b>Anthocyanes</b>		Cyanidin delphinidin, malvidin. peonidin petunidin pelargonidin.	Baies, Raisins Tomates Grenades Carottes violettes Chou rouge Patates douces Vin

### 1.2.3. Rôle et intérêt des composés phénoliques

Les composés phénoliques jouent un rôle double et essentiel, tant chez les plantes que chez l'être humain.

Chez les végétaux, ils interviennent dans divers processus physiologiques tels que la régulation de la croissance, la protection contre les rayons UV et la résistance aux agents pathogènes. Ils influencent également la qualité des produits végétaux, notamment en ce qui

concerne la couleur, la saveur et la valeur nutritionnelle, en particulier lors du stockage et des traitements technologiques.

Chez l'homme, ces composés sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, leur conférant ainsi de nombreux effets bénéfiques sur la santé. Ils contribuent à la prévention des maladies cardiovasculaires, de certains cancers, ainsi que du vieillissement prématuré. Les flavonoïdes, en particulier, se distinguent par leur capacité à renforcer les vaisseaux sanguins, à réduire l'agrégation plaquettaire, à limiter l'oxydation des lipides sanguins et à protéger contre l'athérosclérose, tout en jouant un rôle dans la régulation hormonale.

Des exemples de composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le **(Tableau 6) (Oroian et Escrich, 2015)**.

**Tableau 6 : Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme (Oroian et Escrich, 2015).**

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités biologiques</b>
<b>Acides phénols (Cinnamiques et benzoïques)</b>	Antibactériennes, antiviraux, anticancéreux, antioxydants, anti-inflammatoire, vasodilatateurs.
<b>Flavonoïdes</b>	Antitumorales, antiparasitaires, vaso, dilatoires, antibactériennes, anti- carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, antithrombotique, antiallergique, antiprolifératives
<b>Tannins</b>	Antioxydantes, anti-thrombotiques, anti-athérogènes, antimutagènes, Antiprolifératifs, anti-inflammatoires, antiviraux, antibactériens
<b>Saponines</b>	Antitumorale, anticancérigène, antioxydante et antimicrobienne, préviennent les maladies cardiovasculaires, l'artériosclérose, anti-inflammatoires
<b>Phytostérols</b>	Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons

Les composés phénoliques jouent un rôle fondamental dans la lutte contre le stress oxydatif grâce à leur forte activité antioxydante. À travers plusieurs mécanismes, ils protègent les cellules contre les dommages oxydatifs pouvant affecter les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques, contribuant ainsi à la prévention des maladies chroniques liées au stress oxydatif. **(Kaurinovic et Vastag, 2019).**

## **2. Le stress oxydant**

### **2.1. Définition**

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre les espèces oxydantes et les systèmes de défense antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire **(Barouki, 2006)**. Autrement dit, il survient lorsque les cellules ou les tissus sont exposés à une production excessive de radicaux libres oxygénés, d'origine interne ou externe, dépassant les capacités du système antioxydant **(Favier, 2006)**.

Ce déséquilibre peut être aggravé par des facteurs environnementaux, des habitudes de vie néfastes ou certaines conditions physiologiques. Si ces radicaux libres ne sont pas efficacement neutralisés, ils peuvent, à long terme, provoquer des dommages importants aux macromolécules cellulaires, favorisant ainsi l'apparition de diverses pathologies **(Durand, 2018)**.

### **2.2. Origine du stress oxydatif**

#### **2.2.1. Origines exogènes**

- L'alimentation : Intoxication aux métaux lourds (mercure, plombs)
- La consommation excessive d'alcool, le tabagisme, ainsi que l'exposition à divers xénobiotiques toxiques.
- Les irradiations ionisantes, telles que les rayons ultraviolets (UV) et les rayons X.

#### **2.2.2. Origines endogènes**

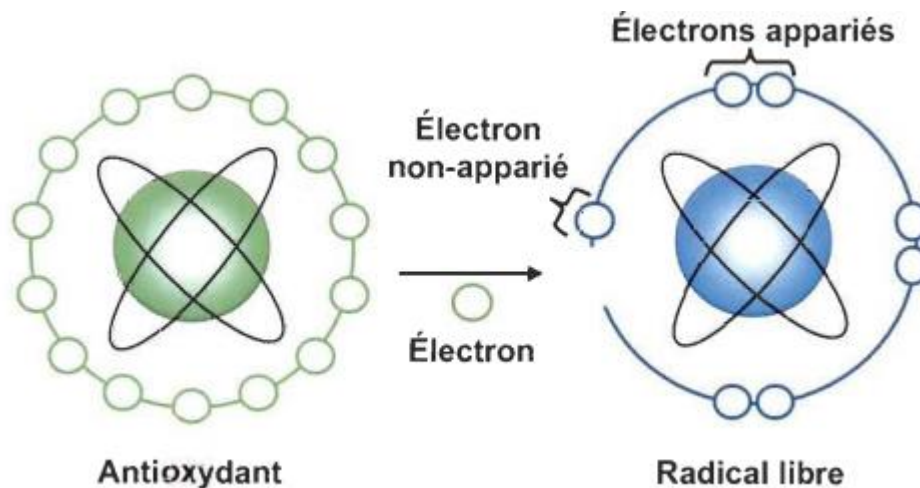
- Inflammation
- Carence nutritionnelle en vitamines à pouvoir antioxydant et oligoéléments.
- Phénomènes d'ischémies, reperfusions (thromboses, exercice).
- Anomalies génétiques (mauvais codage pour une protéine) **(Milan, 2004)**.

## **2.3. Radicaux libres dans le système biologique**

Un radical libre est une substance chimique qui possède un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui rend cette molécule très instable **(Gilgun-Sherkiet al, 2001)**. Bien que les radicaux libres soient présents en très faible quantité dans l'organisme, ils peuvent provoquer d'importants déséquilibres. En effet, grâce à un mécanisme de réaction en chaîne, un seul



radical libre peut altérer des milliers de molécules, endommageant ainsi l'ADN, l'ARN et les enzymes des membranes cellulaires. Cela conduit à la formation de produits issus de la lipoxygénation, avant que le radical ne soit neutralisé (**Kaurinovic et Vastag, 2019**).



**Figure 8 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Carange, 2010).**

## **2.4. Types des radicaux libres**

### **2.4.1. Espèces réactives de l'oxygène (ROS)**

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des molécules produites lors du métabolisme de l'oxygène. Bien qu'elles aient longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques capables d'endommager les cellules, il est maintenant reconnu qu'elles jouent également un rôle important dans les fonctions physiologiques.

À des concentrations modérées, les ROS participent à la signalisation intracellulaire en modulant plusieurs voies impliquées dans la prolifération, la différenciation, la migration cellulaire et l'apoptose. Ce mécanisme, appelé signalisation redox, permet aux cellules de s'adapter de manière contrôlée à divers stimuli internes ou externes.

Cependant, une production excessive de ROS peut entraîner un stress oxydatif, provoquant des lésions des biomolécules et des dysfonctionnements cellulaires, ce qui contribue au développement de nombreuses maladies, notamment cardiovasculaires et neurodégénératives (**Zhou et al., 2013**).

### **2.4.2. Espèces réactives de l'azote (RNS)**

Les espèces réactives de l'azote (RNS) sont produites naturellement dans l'organisme à partir de l'arginine, de l'oxygène et du NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) grâce à l'action de plusieurs enzymes appelées oxyde nitrique synthases (NOS).

Cette production intervient en réponse à divers stimuli physiologiques. Le monoxyde d'azote ( $\text{NO}\bullet$ ), une molécule hautement réactive, joue un rôle clé dans la régulation de nombreuses fonctions essentielles telles que la pression artérielle, l'activité des phagocytes et leurs propriétés antimicrobiennes, l'équilibre fonctionnel de l'endothélium et du système nerveux, l'adhérence des plaquettes et des leucocytes, ainsi que l'initiation du processus d'apoptose (Marco, 2013).

**Tableau 7 :** Espèces réactives diversité de nature chimique (Sies *et al*, 2017).

Espèces réactives	Formes radicalaires	Formes non radicalaires
De l'oxygène	Radical hydroxyle ( $\text{OH}\bullet$ )  Anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )  Radical alkoxyl ( $\text{RO}\bullet$ )  Radical peroxy ( $\text{ROO}\bullet$ )	Peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )  Oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ )  Hydroperoxide organique ( $\text{ROOH}$ )  Acide hypochloreux ( $\text{HOCl}$ )
De l'azote	Oxyde nitrique = monoxyde d'azote ( $\text{NO}\bullet$ )  Dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2\bullet$ )	Peroxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ )  Acide peroxynitreux ( $\text{ONOOH}$ )

Les ROS et les RNS peuvent également se transformer en espèces non radicalaires mais toujours réactives, telles que : le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), l'acide hypobromeux ( $\text{HOBr}$ ), et le nitroperoxyde ( $\text{ONOOH}$ ). Il est important de noter que ces molécules, bien qu'elles ne soient pas radicalaires, restent très réactives et peuvent servir de précurseurs à la formation de nouveaux radicaux libres (Fang *et al*, 2002 ; Favier, 2006).

### **3. Origine de la production des radicaux libres**

Les radicaux libres nocifs sont générés naturellement dans l'organisme au cours du métabolisme cellulaire normal. Leur production augmente proportionnellement à la

consommation en oxygène (**Gauche et Hausswirth, 2006**). On distingue deux principales origines de production : endogène et exogène (**Bendif, 2017**).

### **3.1. Production endogène**

Elle résulte de fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale (**Aurausseau, 2002**). Des processus inflammatoires induits par l'activation des cellules phagocytaires (**Milan, 2004**).

### **3.2. Production exogène**

Elle est liée à l'exposition à des agents environnementaux agressifs tels que : les agents infectieux, la pollution, les rayons UV, la fumée de cigarette et divers types de radiations (**Tamer, 2003**).

## **4. Système antioxydant**

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, ralentit ou empêche de manière significative l'oxydation de ce substrat (**Corset, 2024**). Ils agissent principalement en neutralisant les agents oxydants, soit en les transformant en molécules moins réactives, soit en les inactivant par addition d'un ion hydrogène ( $H^+$ ). Ils peuvent également bloquer les réactions en chaîne d'oxydation ou réparer les biomolécules déjà endommagées. La nature et l'efficacité des systèmes de défense antioxydante varient d'un tissu à l'autre et selon le type cellulaire (**Kiran et al., 2023**).

### **4.1. Classification des antioxydants**

Les systèmes antioxydants peuvent être constitués d'antioxydants enzymatiques ou non enzymatiques.

#### **4.1.1. Antioxydants enzymatiques**

Pour maintenir l'équilibre homéostatique cellulaire face aux radicaux libres réactifs, les êtres vivants utilisent différents moyens de défense, notamment enzymatiques, visant à réguler ou à neutraliser ces molécules en cas de production excessive. Les principaux systèmes enzymatiques identifiés comprennent les superoxyde dismutases (SOD), les catalases (CAT), ainsi que les enzymes liées au glutathion, telles que les glutathion peroxydases (GPX), les glutathion réductases (GR) et les glutathion S-transférases (GST) (**Port-Lougarre, 2023**).

➤ **Superoxyde dismutase (SOD)**

Les superoxyde dismutases (SOD) sont des métalloprotéines capables de catalyser la conversion (ou dismutation) de l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), constituant ainsi une source cellulaire de  $H_2O_2$  (**équation**).

Ces enzymes détoxifient les anions superoxydes, empêchant leur réaction avec le monoxyde d'azote (NO) et la formation de peroxynitrite. Chez l'homme, on distingue trois isoformes de superoxyde dismutase : la superoxyde dismutase cuivrique-zinc (Cu,Zn-SOD ou SOD1) présente dans le cytosol, la superoxyde dismutase manganésienne (MnSOD ou SOD2) localisée dans la matrice mitochondriale, et la superoxyde dismutase extracellulaire (SOD3) située dans l'espace extracellulaire (**Kiran *et al.*, 2023**).



➤ **Catalase (CAT)**

L'enzyme catalase est une hémoprotéine (**Kiran *et al.*, 2023**). Elle possède un groupe hème au niveau de son site actif, au sein d'une structure dimérique, lui permettant de catalyser la dismutation du  $H_2O_2$  en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ), lorsque sa concentration est élevée, selon l'équation suivante (**Port-Lougarre, 2023**)



Chez les mammifères, cette enzyme peut également catalyser des réactions de type peroxydase, lorsque l'accès des substrats au groupe hème est limité. Cette enzyme est principalement localisée dans les peroxysomes, organites cellulaires spécialisés dans la dégradation des espèces réactives de l'oxygène (**Kiran *et al.*, 2023**).

➤ **Glutathion peroxydase (GPx) et réductase (GR)**

Le glutathion est un antioxydant intracellulaire majeur et un régulateur essentiel de l'équilibre redox au sein des cellules. En plus de son rôle fondamental dans l'homéostasie redox, il agit comme cofacteur pour de nombreuses enzymes. L'enzyme glutathion peroxydase (GPx), découverte en **1957 par Mills**, utilise le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur pour détoxifier le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau, ce qui génère du glutathion oxydé (GSSG).



Ensuite, la glutathion réductase (GR) intervient pour réduire le GSSG en GSH, en utilisant le NADPH comme donneur d'électrons, ce qui permet de maintenir un rapport élevé de GSH par rapport à GSSG. Ce rapport GSSG/GSH est un marqueur sensible des variations de l'état redox des thiols cellulaires, reflétant à la fois la signalisation redox en cours et l'état fonctionnel global de la cellule (**Kotha *et al.*, 2022**).

Les enzymes GPx catalysent également la réduction, dépendante du GSH, des hydroperoxydes d'acides gras (autres que le  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ainsi que de divers hydroperoxydes synthétiques, tels que le cumène et le t-butyl hydroperoxydes (Kiran *et al.*, 2023).

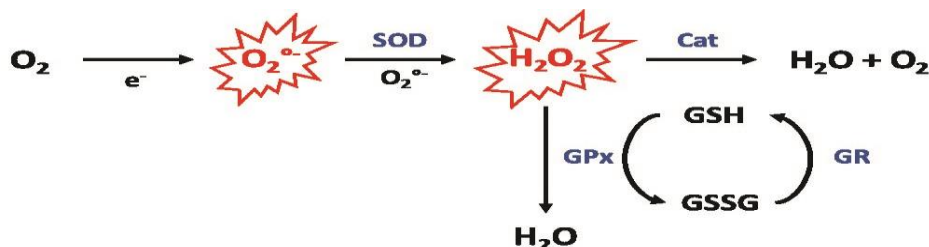
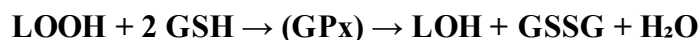


Figure 9 : Interactions des enzymes antioxydantes (Mury, 2018).

SOD, superoxyde dismutase ; Cat, catalase ; GPx, glutathion peroxydase ; GR, glutathion réductase

#### 4.1.2. Antioxydants non enzymatiques

##### A. Système antioxydants endogènes

###### ➤ Glutathion

Le glutathion (GSH), ou  $\gamma$ -L-glutamyl-L-cystéinyl-glycine, est le principal antioxydant intracellulaire, essentiel à la défense contre les radicaux libres. Il existe sous deux formes : une forme réduite (GSH), active et majoritaire, et une forme oxydée (GSSG), en faible quantité en conditions normales (Sghaier, 2019). Sa synthèse cellulaire implique l'assemblage du glutamate, de la cystéine et de la glycine, catalysé par la  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (GGT) (Aromatario, 2023).

Le rapport GSH/GSSG est un indicateur clé de l'équilibre redox cellulaire. Le GSH joue de multiples rôles : cofacteur enzymatique dans la détoxification, transporteur d'acides aminés, neutralisant direct des radicaux libres, régénérateur des vitamines C et E, et modulateur de l'apoptose (Al-Dalaen et Al-Qtaitat, 2014). Il protège les cellules contre le stress oxydatif notamment en activant la glutathion peroxydase (GPx) et en complexant les métaux de transition (Haleng *et al.*, 2007).

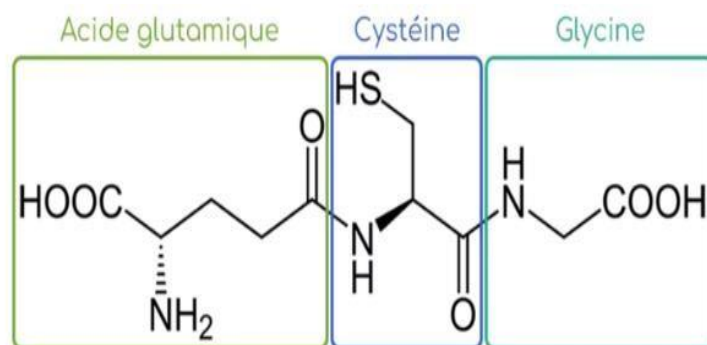


Figure 10 : Moléculaire du glutathion réduit (GSH) (Aromatario, 2023).

## B. Systèmes antioxydants exogènes

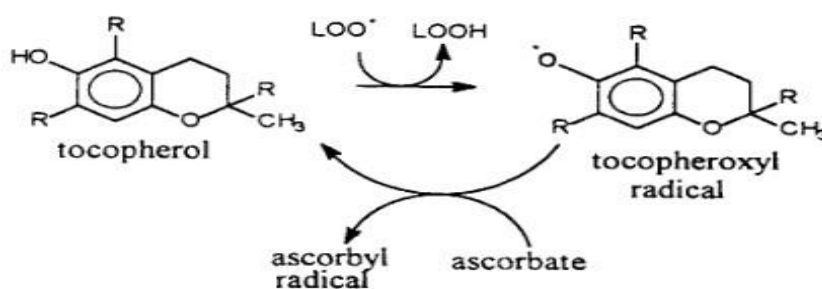
### ➤ Vitamines

Les vitamines sont des composés organiques indispensables que l'organisme ne peut produire en quantité suffisante. Elles se classent en vitamines liposolubles, stockées dans les graisses, et hydrosolubles, éliminées par les reins. Elles remplissent diverses fonctions, notamment comme coenzymes, et certaines, comme les vitamines A, B, C et E, agissent comme antioxydants exogènes essentiels (Port-Lougarre, 2023).

### ➤ Vitamine E

La vitamine E regroupe un ensemble de huit composés organiques liposolubles, comprenant deux grandes familles : les tocophérols, parmi lesquels l' $\alpha$ -tocophérol est le plus connu et le plus biologiquement actif, et les tocotriénols, qui sont présents en plus faible quantité dans l'organisme (Port-Lougarre, 2023).

Cette vitamine liposoluble est reconnue comme un antioxydant majeur des membranes cellulaires, jouant un rôle crucial dans la protection contre la peroxydation des lipides. Lors de son action antioxydante, l' $\alpha$ -tocophérol cède un hydrogène labile à un lipide ou à un radical peroxyde lipidique, ce qui le transforme en radical  $\alpha$ -tocophérol. Ce radical peut ensuite être régénéré en  $\alpha$ -tocophérol actif grâce à la réduction par l'acide ascorbique (Al-Dalaen et Al-Qaitat, 2014).

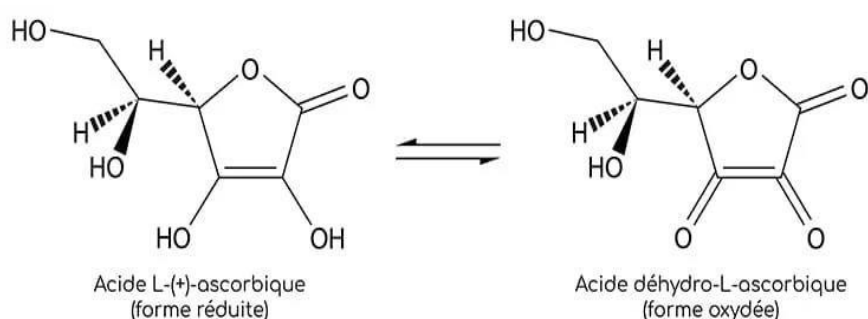


**Figure 11 :** Cycle d'oxydo-réduction de la vitamine E (Aromatario, 2023).

Le passage à l'état oxydé de la vitamine E permet la protection des lipides membranaires vis-à-vis des espèces oxydantes ( $\text{LOO}^\bullet$ ). La réduction de ce radical tocophéroxyde est permis par la vitamine C, qui en s'oxydant, permet régénérer le tocophérol sous sa forme active (Aromatario, 2023).

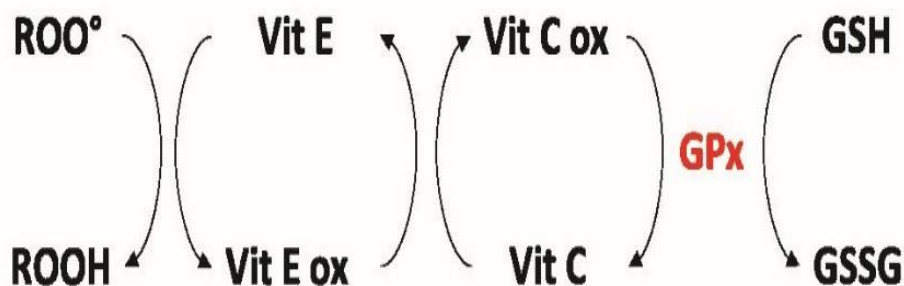
#### ➤ Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C, ou acide L-ascorbique, est un antioxydant hydrosoluble qui agit principalement dans les milieux aqueux de l'organisme, en association avec les enzymes antioxydantes (Al-Dalaen et Al-Qtaitat, 2014). Son action antioxydante consiste à fournir des ions hydrogène aux radicaux libres  $\text{OH}^\bullet$  et  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , les convertissant ainsi en eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) (Mury, 2018).



**Figure 12 :** Structure moléculaire de l'acide L-ascorbique et l'acide déhydro-L-ascorbique (Aromatario, 2023).

Elle participe à la régénération de la vitamine E au sein des membranes cellulaires et des lipoprotéines. Par ailleurs, en augmentant les niveaux intracellulaires de glutathion, la vitamine C contribue à protéger les groupes thiol des protéines contre l'oxydation. Elle réduit également la production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS), ainsi que les lésions de l'ADN. De plus, elle diminue les concentrations de  $\text{TNF-}\alpha$  et d'IL-6 dans les cellules sanguines complètes de ces patients (Said et Aiman, 2014).



**Figure 13 :** Action synergique des antioxydants non enzymatiques (Mury, 2018).

ROO°, radical peroxyde oxydé ; ROOH, radical peroxyde réduit ; Vit E, vitamine E ; Vit E ox, vitamine E oxydée ; Vit C, vitamine C ; Vit C ox, vitamine C oxydée ; GPx, glutathion peroxydase ; GSH, glutathion réduit ; GSSG, glutathion oxydé.

## 5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des polyphénols, qu'ils appartiennent à la famille des flavonoïdes ou non-flavonoïdes, s'exprime par divers mécanismes. Ils inhibent certaines enzymes productrices d'espèces réactives de l'oxygène et neutralisent directement les radicaux libres en leur transférant un atome d'hydrogène ou un électron, ce qui stabilise ces radicaux et constitue l'un des modes d'action les plus efficaces des polyphénols (Port-Lougarre, 2023).

Plusieurs techniques sont employées pour mesurer les capacités antioxydantes, notamment la spectroscopie UV-Vis, la fluorescence, la chimioluminescence, la résonance paramagnétique électronique (RPE), ainsi que des dosages enzymatiques et en culture cellulaire. Des méthodes électrochimiques, comme les techniques à potentiel contrôlé et les biocapteurs, sont également utilisées. Cependant, les techniques spectrométriques restent les plus courantes pour évaluer la capacité des antioxydants à piéger des radicaux libres (ABTS+, DPPH) ou leur pouvoir de réduction totale (FRAP).

Ces méthodes, largement appliquées aux extraits végétaux, aliments et compléments. Les radicaux sont généralement neutralisés par deux mécanismes principaux : soit par transfert d'un électron (SET), soit par transfert d'un atome d'hydrogène (HAT), ce qui permet de convertir le radical en une espèce plus stable. Ces deux réactions se déroulent souvent simultanément, leur mécanisme dépendant de la structure et de la solubilité de l'antioxydant, ainsi que des propriétés du solvant, telles que sa polarité et son coefficient de partage (Flieger *et al.*, 2021).



**Tableau 8 :** Comparaison des tests antioxydants réalisés *in vitro* (TLILI, 2021).

Test	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
<b>Mécanismes réactionnels</b>	Transfert d'électron majoritaire	Transfert d'électron et de proton	Transfert d'électron	Transfert de proton
<b>Nature des molécules testées</b>	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles	Hydrophiles et lipophiles
<b>Expression des résultats</b>	CI50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent d'une molécule de référence	CI50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent d'une molécule de référence	En mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent $\text{Fe}^{2+}$	CI50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent d'une molécule de référence
<b>Avantages</b>	Très facile à mettre en œuvre, peu coûteux.	Très facile à mettre en œuvre, cinétique de réaction très rapide, peu coûteux.	Très facile à mettre en œuvre, peu coûteux	Facile à mettre en œuvre, couteux (nécessité d'un fluorimètre), Utilisation d'un générateur de radicaux ( $\text{ROO}\bullet$ )
<b>Inconvénients</b>	Très sensible à des facteurs externes tels que le pH, l'oxygène, la lumière ou le solvant, radical inexistant <i>in vivo</i>	Produits de dégradation antioxydants, radical inexistant <i>in vivo</i> .	Le pH non physiologique peut provoquer des interférences optiques et électrochimiques.	Mécanismes de génération des $\text{ROO}\bullet$ non physiologique, interférences possibles des protéines. .

## 6. Activité enzymatique

### 6.1. Diabète

Le diabète sucré est un trouble endocrinien métabolique caractérisé par une élévation anormale du taux de glucose sanguin. Sa prévalence ne cesse d'augmenter à l'échelle mondiale, principalement en raison de modes de vie peu sains, et le nombre de personnes atteintes pourrait atteindre 578 millions d'ici 2030.

L'insuline, hormone produite par la cellule bêta du pancréas, joue un rôle essentiel dans la régulation de la glycémie et du métabolisme énergétique, notamment en facilitant l'absorption du glucose, la synthèse du glycogène, des acides gras et des protéines. Une carence en insuline ou une résistance à son action perturbe l'homéostasie du glucose, menant à une hyperglycémie persistante, à l'origine de complications graves telles que les neuropathies, les maladies cardiovasculaires et l'insuffisance rénale.

On distingue deux formes principales de diabète :

- ❖ Le type 1, souvent diagnostiqué chez l'enfant, résulte d'un processus auto-immun détruisant les cellules pancréatiques productrices d'insuline.
- ❖ Le type 2, quant à lui, est la forme la plus fréquente et résulte d'une résistance à l'insuline associée à une sécrétion insuffisante. Cette résistance se traduit par une diminution de l'absorption du glucose par les muscles et une production hépatique accrue. Les principaux facteurs de risque incluent l'obésité, la sédentarité et une carence en vitamine D (**Dirir et al., 2021**).

Jusqu'à présent, il n'existe aucun traitement définitif permettant de moduler efficacement le dysfonctionnement métabolique associé au diabète. Dans cette optique (**Dirir et al., 2021**).

Les inhibiteurs des enzymes digestives des glucides (tels que l' $\alpha$ -amylase) d'origine naturelle représentent une option prometteuse pour entraver l'absorption des glucides alimentaires, avec moins d'effets secondaires que les médicaments synthétiques (**Kashtoh et Baek, 2023**).

### 6.2. Définition de l' $\alpha$ -amylase

L' $\alpha$ -amylase pancréatique (EC 3.2.1.1) est l'enzyme digestive la plus essentielle. C'est une métalloenzyme à base de calcium qui agit comme catalyseur et facilite l'hydrolyse des liaisons glycosidiques  $\alpha$ -1,4 des molécules de polysaccharides telles que l'amylose, l'amylopectine, le glycogène et d'autres maltodextrines et est responsable de la majorité de la digestion de l'amidon chez l'homme. Elle contribue également à l'augmentation de la glycémie et à l'hyperglycémie postprandiale.

Les scientifiques sont incités à cibler l'alpha-amylase et à créer des inhibiteurs capables de ralentir la libération du glucose des chaînes glucidiques et de prolonger son absorption, entraînant ainsi une baisse de la glycémie plasmatique postprandiale. Les inhibiteurs naturels de l'alpha-amylase dérivés de plantes ont gagné en popularité en tant qu'alternatives sûres et économiques (Kashtoh et Baek, 2023).

### **6.2.1. Mécanisme d'action des inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase**

L'amidon constitue une source majeure d'énergie dans l'alimentation humaine. Pour être absorbé par l'organisme, il doit être dégradé en glucose à travers l'action d'enzymes digestives, notamment l' $\alpha$ -amylase.

L' $\alpha$ -amylase appartient à la famille des hydrolases glycosidiques GH13 et est classée parmi les métalloenzymes, car elle nécessite un ion calcium pour maintenir sa structure tridimensionnelle et est activée par les ions chlorure. Elle est produite par deux principales sources dans le corps humain : les glandes salivaires ( $\alpha$ -amylase salivaire) et le pancréas ( $\alpha$ -amylase pancréatique), jouant chacune un rôle dans les différentes étapes de la digestion de l'amidon.

La digestion commence dans la bouche, où l' $\alpha$ -amylase salivaire hydrolyse les liaisons  $\alpha$ -1,4 de l'amidon pour produire des oligosaccharides tels que le maltose, le maltotriose et les dextrines limites. Ensuite, dans l'intestin grêle, l' $\alpha$ -amylase pancréatique poursuit cette hydrolyse, réduisant davantage ces polymères glucidiques en molécules plus simples.

Les produits finaux de cette hydrolyse sont ensuite transformés en glucose, qui est absorbé par les entérocytes de l'intestin grêle via des transporteurs spécifiques, pour être libéré dans la circulation sanguine et fournir de l'énergie à l'organisme.

L'inhibition de l' $\alpha$ -amylase est considérée comme une approche potentielle pour limiter l'élévation rapide de la glycémie, notamment chez les patients atteints de diabète. (Kashtoh et Baek, 2023).

### **6.2.2. Extrait de plantes comme source d'inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase**

Les plantes médicinales traditionnelles représentent une source prometteuse de composés naturels capables d'inhiber l'activité de l'enzyme  $\alpha$ -amylase, responsable de la digestion de l'amidon et de sa conversion en glucose. Cette inhibition contribue à réduire l'absorption du glucose, entraînant ainsi une diminution de la glycémie, ce qui fait de ces plantes des outils potentiels dans la gestion du diabète (Kashtoh et Baek, 2023).

## **7. Activité antibactérienne**

Les bactéries sont des organismes unicellulaires dépourvus de noyau, dont le matériel génétique est constitué d'ADN. Elles présentent une grande variété de formes, les plus courantes étant : les coques (de forme sphérique), les bacilles (en forme de bâtonnet) et les spirilles (de forme hélicoïdale). Il existe également des formes intermédiaires appelées coccobacilles, qui varient aussi par leur taille (**El Kihel, 2022**).

Les bactéries possèdent une paroi cellulaire rigide principalement composée de peptidoglycanes. On distingue deux grandes catégories selon la structure de cette paroi : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (**Sidaoui, 2022**).

Les infections bactériennes, provoquées par divers micro-organismes, sont à l'origine de nombreuses maladies graves et d'épidémies largement répandues. Bien que de nombreux antibiotiques aient été développés pour les combattre, leur utilisation excessive a favorisé l'apparition de bactéries multirésistantes (**Abdallah et al., 2019**).

Les antibiotiques sont des substances chimiques, d'origine naturelle ou synthétique, capables d'inhiber la croissance des bactéries ou de les éliminer à forte concentration, sans nuire à l'hôte. Ils agissent au niveau moléculaire, en ciblant une ou plusieurs étapes essentielles du métabolisme bactérien (**Nirwoth et al., 2024**).

L'activité antimicrobienne d'un agent repose principalement sur deux mécanismes : une interférence chimique avec la synthèse ou le fonctionnement des composants vitaux des bactéries, ou bien la capacité à contourner les mécanismes classiques de résistance antibactérienne (**Vaou et al., 2021**).

### **7.1 Différentes méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne**

#### **➤ Méthodes de diffusion**

Le test de diffusion sur disque d'agar, mis au point dans les années 1940, est une méthode de référence en microbiologie clinique pour évaluer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Il consiste à ensemencer une gélose avec une suspension bactérienne, puis à y déposer des disques imprégnés d'antibiotiques. Après incubation, on mesure les zones d'inhibition formées autour des disques.

Ce test, appelé antibiogramme, fournit des résultats qualitatifs permettant de classer les bactéries comme sensibles, intermédiaires ou résistantes, selon leur profil de résistance (Balouiri *et al.*, 2016).

➤ **Méthode de dilution en milieu liquide**

En milieu liquide, la croissance bactérienne se manifeste par un trouble ou la formation d'un culot. On prépare une série de dilutions successives d'antibiotique avec des concentrations décroissantes (Tili, 2021).

➤ **Méthode E-test**

La méthode du gradient antimicrobien, représentée par les Etests (BioMérieux), associe les principes des méthodes de dilution et de diffusion afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un agent antimicrobien.

Elle consiste à appliquer une bandelette imprégnée d'un gradient croissant de concentration de l'agent antimicrobien sur une géloseensemencée avec le micro-organisme ciblé. Ce gradient, qui se diffuse de manière stable dans le milieu, inhibe la croissance bactérienne en fonction de la sensibilité du micro-organisme testé.

Cette technique est largement utilisée en milieu clinique pour évaluer l'efficacité des antibiotiques, des antifongiques et des antimycobactériens (Balouiri *et al.*, 2016).

➤ **Effet bactéricide**

L'effet bactéricide correspond à la destruction d'une partie de la population bactérienne d'une souche donnée. Pour évaluer le pouvoir bactéricide d'un antibiotique sur cette souche isolée, il est nécessaire de déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB), qui est toujours supérieure à la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Tili, 2021).

## **7.2 Micro-organismes utilisés dans les tests antibactériens**

Les souches testées sont couramment impliquées dans diverses infections chez l'être humain (Mouas *et al.*, 2017) voir (tableau 9).

**Tableau 9 :** Informations générales sur les souches bactériennes étudiées (Mouas *et al.*, 207).

Souches bactériennes testées	Type Gram	Milieux de vie	Capacité pathogène
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les fosses nasales</li> <li>- La gorge</li> <li>- Le tube digestif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Infection hospitalière.</li> <li>- Responsable des abcès, des plaies, des septicémies, de pneumonie et de l'intoxication alimentaire</li> </ul>
<i>Escherichia coli</i>	Gram -	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Le tube digestif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastroentérites.</li> <li>- Douleurs abdominales et des diarrhées sanglantes</li> </ul>
<i>Bacillus cereus</i>	Gram +	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Les sols et eaux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Un contaminant des aliments d'origine végétale (riz, épices)</li> <li>- Un contaminant des drogues et de médicaments.</li> <li>-Toxi-infection alimentaire</li> <li>- Infections urinaires</li> </ul>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram +	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eau et sols humides</li> <li>-Surface des végétaux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Infections nosocomiales (personnes fragilisées ou immunodéprimées)</li> <li>- Infections urinaires, oculaires et pulmonaires.</li> </ul>

# **PARTIE PRATIQUE**

# **CHAPITRE 1**

## **MATÉRIEL & MÉTHODES**



Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de biochimie dans l'université des Frères Mentouri, Constantine 1, laboratoire d'analyses biochimiques, et par le laboratoire de bactériologie, dans le Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT).

## **I. Matériel**

### **1. Matériel végétal**

Notre étude a été menée sur des plantes appartenant aux familles des Apiaceae, et Asteraceae à savoir : *Bunium incrassatum* et *Dolomiaea indica*. Ces plantes ont été achetées sous forme de poudre fine chez un herboriste situé dans la wilaya de Constantine, à l'est de l'Algérie.

### **1. Matériel microbien**

Pour évaluer l'activité antibactérienne de nos extraits, deux souches bactériennes ont été utilisées : l'une à Gram positif et l'autre à Gram négatif. Elles ont été fournies par le laboratoire de bactériologie du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT).

Les bactéries pathogènes étudiées sont des souches de référence issues de l'ATCC (American Type Culture Collection), à savoir : *Escherichia coli* (ATCC 8739) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

## **II. Méthodes**

### **1. Extraction**

Pour chaque plante (*Bunium incrassatum* et le *Dolomiaea costus*), deux extraits ont été préparés hydroalcooliques et aqueux.

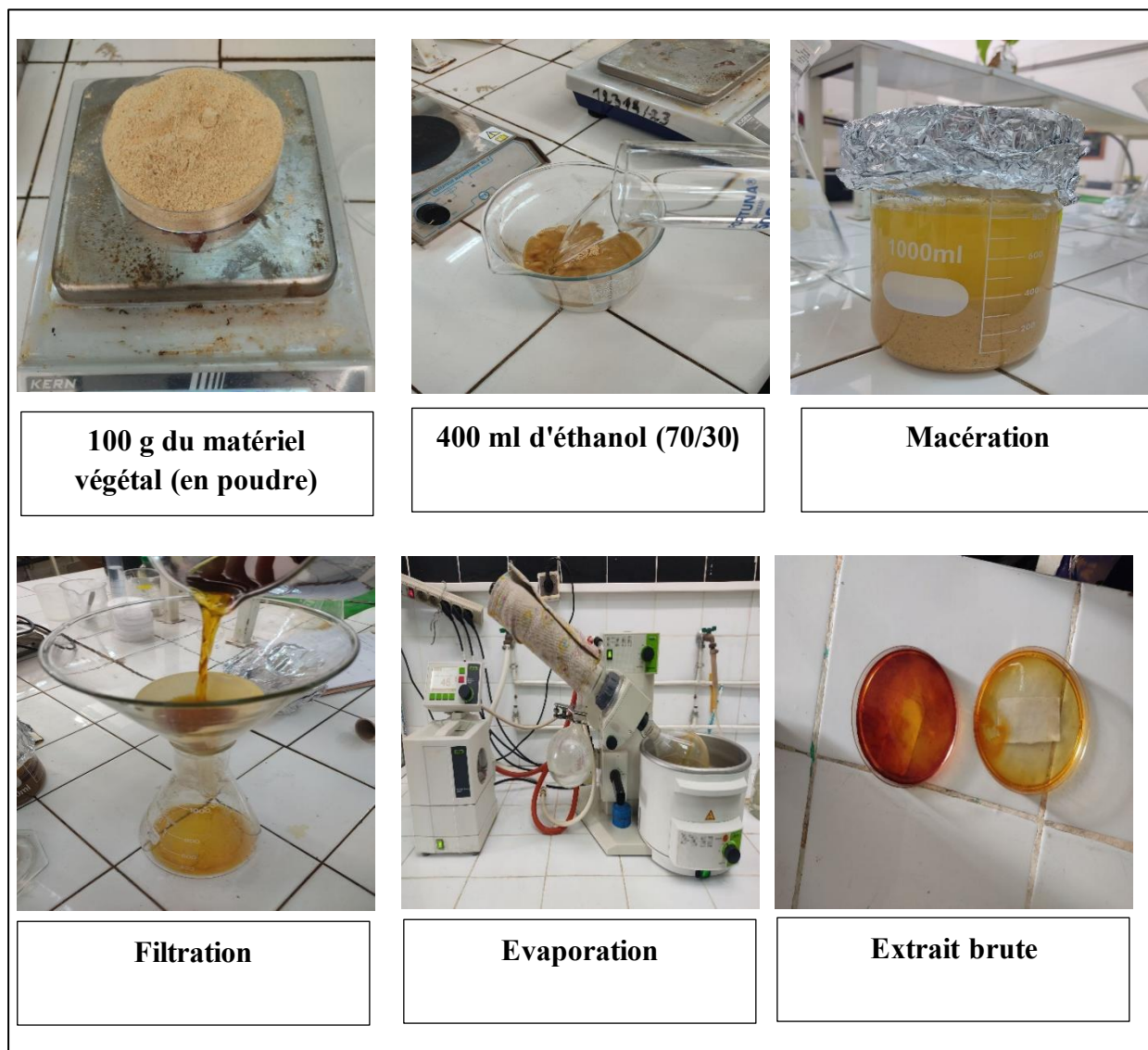
L'extraction des deux extraits était réalisée par macération, afin d'obtenir les composés bioactifs contenus dans la poudre végétale. Cette méthode a été répétée trois fois en renouvelant le solvant chaque 24H pour une extraction optimale, suivant le protocole ci-dessous :

Peser 100 g de poudre végétale sèche à l'aide d'une balance de précision.

Transférer la poudre dans un bécher en verre contenant 400 ml de solvant hydroalcoolique, composé de 70 % d'éthanol et 30 % d'eau distillée (v/v) pour l'extrait hydroalcooliques et 100% eau pour l'extrait aqueux.

- Laisser macérer à température ambiante pendant 24 heures, en agitant de temps à autre.
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre (Whatman n°1) pour séparer l'extrait liquide du résidu végétal.
- Répéter cette opération d'extraction trois fois, en renouvelant le solvant à chaque fois, afin d'optimiser le rendement d'extraction.

- Regrouper les trois filtrats obtenus.
- Concentrer le filtrat obtenu à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI) à 45°C sous pression réduite jusqu'à élimination complète du solvant.
- Transférer l'extrait concentré dans des boîtes de Pétri stériles.
- Sécher les extraits dans une étuve réglée à 37 °C jusqu'à évaporation totale des traces résiduelles du solvant.
- Conserver les extraits secs dans un réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.



**Figure 14 :** Préparation de l'extrait éthanolique par macération.

## **2. Rendement d'extraction**

Le rendement représente la quantité d'extrait obtenue à partir de la poudre de plante utilisée. Correspond à la masse d'extrait obtenue, exprimée en pourcentage par rapport à la

masse initiale de la matière végétale utilisée. Il a été déterminé sous forme d'extrait sec à partir du calcul du rapport (**Ranebaye et al., 2023**).

$$R (\%) = (M1-M2/M3) *100.$$

**M1** : masse de bécher contenant le filtrat concentré séché à la température ambiante.

**M2** : masse de bécher vide.

**M3** : masse de la matière végétale

### **3. Analyse quantitative des composées phénoliques**

#### **3.1 Dosage de polyphénols totaux**

La détermination des polyphénols totaux dans les différents extraits a été réalisée en suivant la méthode de Folin-Ciocalteu adaptée par **Muller et al., (2010)**. Cette méthode repose sur la réduction, en milieu alcalin, du réactif de Folin-Ciocalteu par les composés phénoliques, entraînant la formation d'un complexe bleu mesurable (**Enneb et al., 2015**).

##### **➤ Protocole**

Un volume de 20 µl d'extrait de plante (préparé en dissolvant 1 mg d'extrait sec dans 1 ml de méthanol) est mélangé avec 100 µl de réactif Folin-Ciocalteu dilué (1:10) et 80 µl de carbonate de sodium. Ce mélange est incubé à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 2 heures. L'absorbance est ensuite mesurée à 765 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol) L'acide gallique est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (µg EAG/ mg d'extrait) (**Muller et al., 2010**).

#### **3.2 Dosage de Flavonoïdes totaux**

La méthode de **Topçu et al.,** publiée en **2007**, a été utilisée pour déterminer la quantité de flavonoïdes présents dans les extraits.

##### **➤ Protocole**

Un volume de 50 µl d'extrait est mélangé à 130 µl de méthanol, 10 µl de la solution 1 (acétate de potassium, CH<sub>3</sub>COOK) et 10 µl de la solution 2 (nitrate d'aluminium).

Après incubation du mélange pendant 40 minutes, l'absorbance est mesurée à 415 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Un blanc est réalisé en remplaçant les réactifs par du méthanol (50 µl d'extrait et 150 µl de méthanol).

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents de quercétine ou de rutine par gramme d'extrait sec (µg QE/mg).

#### 4. Activités antioxydantes

Plusieurs méthodes existent pour évaluer l'activité antioxydante d'un produit. Dans le cadre de cette étude, nous avons sélectionné les tests suivants :

##### 4.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH est une méthode colorimétrique basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical DPPH en hydrazine, entraînant un changement de couleur de la solution du violet au jaune (El-Lateef *et al.*, 2023). Les résultats sont exprimés soit en CI<sub>50</sub> (concentration inhibitrice 50), soit en pourcentage de piégeage du DPPH•, mesuré à une concentration fixe d'antioxydant pour l'ensemble des échantillons (Xiao *et al.*, 2020).

Le taux d'inhibition (%) a été obtenu à partir de l'équation suivante :

$$\text{Inhibition ratio (\%)} = (A1 - A2) \times 100 / A1$$

A1 : est l'absorbance de l'ajout d'éthanol au lieu de l'échantillon de test.

A2 : est l'absorbance de la solution d'échantillon de test.

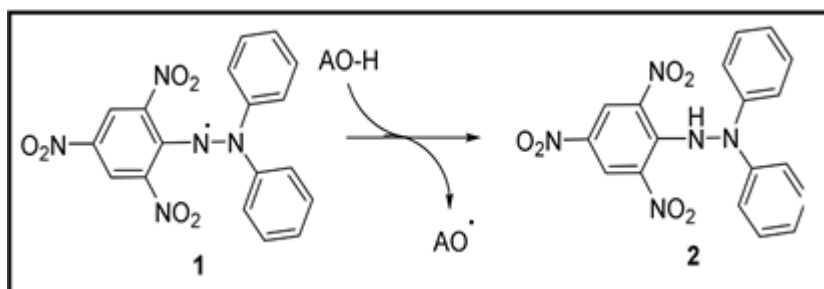


Figure 15 : Réaction représentative entre le DPPH et un antioxydant

(Bērziņa et Mieriņa, 2023).

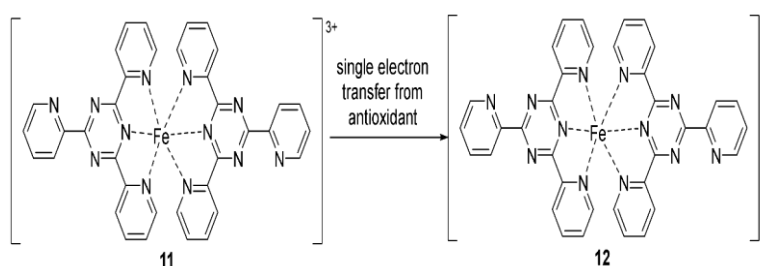
##### ➤ Protocole

L'activité antioxydante des extraits (éthanolique et aqueux) a été évaluée en mélangeant 40 µL de chaque extrait avec 160 µL de la solution de DPPH dans une microplaque de 96 puits. Ce processus a été répété trois fois pour chaque extrait. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité.

L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Blois, 1958).

## 4.2 Capacité de réduire l'ion ferrique (pouvoir réducteur) (FRAP)

La méthode FRAP repose sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) en présence d'un ligand spécifique, le TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl) -1,5,5-triazine). Cette réaction, basée sur un mécanisme de transfert monoélectronique (SET), implique que l'antioxydant transfère un électron pour transformer  $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$  en  $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ . Ce processus redox s'accompagne d'un changement de couleur de la solution, passant du bleu clair au bleu foncé (El-Lateef *et al.*, 2023).



**Figure 16 :** Les antioxydants réduisent le complexe Fe(III)–TPTZ en Fe(II)–TPTZ, donnant une coloration bleu foncé. (Bērziņa et Mieriņa, 2023).

### ➤ Protocole

Dans chaque puits d'une microplaque de 96 puits, 10  $\mu\text{L}$  de la solution d'échantillon, préparée à différentes concentrations, sont ajoutés à 40  $\mu\text{L}$  de tampon phosphate (pH 6,6) et 50  $\mu\text{L}$  de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ , 1 %). Le mélange est ensuite incubé à 50  $^\circ\text{C}$  pendant 20 minutes. Après incubation, 50  $\mu\text{L}$  d'acide trichloroacétique (TCA, 10 %) sont ajoutés, suivis de 40  $\mu\text{L}$  d'eau distillée et de 10  $\mu\text{L}$  de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ , 0,1 %).

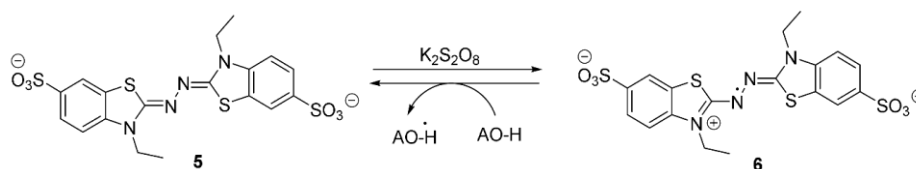
L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Oyaizu, 1986).

## 4.2 Capacité piégeage du radical-cation ABTS•+

Le test ABTS, aussi appelé TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), est une méthode spectrophotométrique couramment utilisée pour évaluer la capacité antioxydante d'un composé. Il repose sur la réaction entre un antioxydant et le radical libre ABTS. Ce protocole se déroule en deux étapes : Dans un premier temps, l'ABTS est oxydé par le persulfate de potassium, produisant le radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , de couleur bleu-vert. Dans un second temps, après l'ajout d'un antioxydant, celui-ci transfère un électron au radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , ce qui permet sa réduction en une forme incolore (Haqu *et al.*, 2021).

Le pouvoir antioxydant de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> :

$$\% \text{ d'inhibition du radical ABTS} = ((\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Extrait}) / \text{Abs Contrôle}) \times 100$$



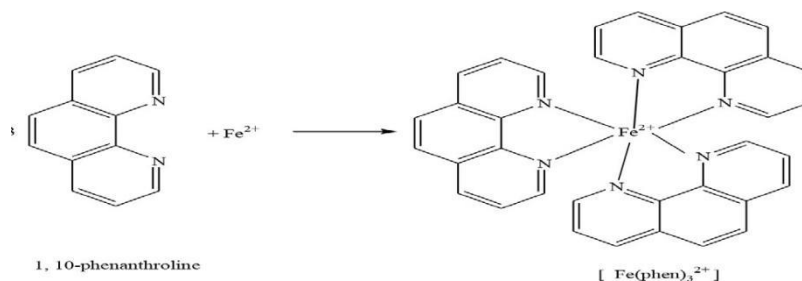
**Figure 17 :** Génération du cation radical ABTS et sa réaction avec un antioxydant (**Bêrziņa et Mierīņa, 2023**).

### ➤ Protocole

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante par le test ABTS, 160 µl de la solution d'ABTS<sup>+</sup> sont mélangés à 40 µl d'extrait. Après une incubation de 10 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 734 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (**Re et al., 1999**).

### 4.2 Activité de Phenanthroline

La 1,10-phénanthroline (C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>), également appelée orthophénanthroline ou o-Phen, est un composé azoté hétérotricyclique capable de former des complexes colorés avec le fer (**Mahajan et Patil, 2020**). Cette méthode repose sur la réduction de l'ion Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> par un antioxydant (**Yef et al., 2018**). L'ion Fe<sup>2+</sup> ainsi formé réagit ensuite avec trois molécules de 1,10-phénanthroline pour former un complexe [Fe(phen)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> de couleur orange-rouge intense (figure 19) (**Mahajan et Patil, 2020**).



**Figure 18 :** Formation du complexe coloré [Fe(phen)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> entre le Fe<sup>2+</sup> et la 1,10-phénanthroline.

➤ **Protocole**

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test à la phénanthroline a été réalisée selon la méthode de (Szydlowska *et al.*, 2008). 10 µl d'extrait sont mélangés à 50 µl de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>, 0,2 %), 30 µl de phénanthroline (0,5 %) et 110 µl de méthanol. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 20 minutes à 30 °C, puis l'absorbance est mesurée à 510 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Le BHT est utilisé comme standard de référence.

## **5. Activités enzymatiques**

L'étude de l'activité inhibitrice de l'α-amylase par les différents extraits a été réalisée selon la méthode à l'iode/iodure de potassium (IKI) décrite par Zeing *et al.*, (2014), avec quelques modifications.

25 µL de la solution d'échantillon ont été mélangés à 50 µL de solution d'α-amylase dans un tampon phosphate (pH 6,9, contenant 6 mM de chlorure de sodium), dans une plaque à 96 puits. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 10 minutes.

La réaction enzymatique a ensuite été déclenchée par l'ajout de 50 µL de solution d'amidon (0,05 %). Un échantillon blanc a été préparé en suivant le même protocole, à l'exception de l'ajout de l'enzyme.

Après une nouvelle incubation de 10 minutes à 37 °C, la réaction a été stoppée par l'ajout de 25 µL d'HCl (1 M), suivi de 100 µL de solution d'iode/iodure de potassium.

L'absorbance des échantillons et des blancs a été mesurée à 630 nm. L'activité inhibitrice a été calculée en soustrayant l'absorbance du blanc de celle de l'échantillon, puis exprimée en équivalents d'acarbose.

Selon Kazeem *et al.*, (2013), la propriété antidiabétique de l'extrait a été évaluée à travers son activité inhibitrice de l'α-amylase, exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de } \alpha\text{-amylase (\%)} = [(A - B) / A] \times 100$$

**A** : Absorbance de l'enzyme avec l'extrait.

**B** : Absorbance de l'enzyme sans l'extrait.

La concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité enzymatique (CI<sub>50</sub>) a été déterminée à partir de la courbe d'inhibition obtenue graphiquement (Kazeem *et al.*, 2013).



## **6. Activité antimicrobienne**

L'activité antibactérienne de nos extraits a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque.

### **➤ Protocole**

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée selon le protocole de **Mouas *et al.* (2017)**, avec quelques adaptations.

#### **A. Préparation du milieu de culture**

- Couler de la gélose Mueller-Hinton stérile dans des boîtes de Pétri.
- Refroidir à température ambiante jusqu'à solidification.

#### **B. Préparation de l'inoculum bactérien**

- Les souches de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 ont été cultivées sur gélose nutritive pendant 24 h à 37 °C.
- À l'aide d'une anse de platine stérile, une colonie isolée de chaque souche a été prélevée puis suspendue dans 9 ml d'eau distillée stérile.
- La suspension bactérienne a été homogénéisée à l'aide d'un vortex.
- La densité optique (DO) a été ajustée à une valeur comprise entre 0,08 et 0,1 à 660 nm, ce qui correspond à une concentration bactérienne estimée entre  $10^7$  et  $10^8$  UFC/ml.

#### **C. Ensemencement des boîtes**

- Un volume de 100 µl de la suspension bactérienne a été réparti de manière homogène par stries serrées à l'aide d'un écouvillon stérile sur la surface de la gélose Mueller-Hinton.
- Les boîtes ont été laissées quelques minutes à température ambiante pour permettre l'adhésion du liquide sur le milieu.

#### **D. Préparation et application des disques**

- Des disques de papier filtre Wathman n°1 de 6 mm de diamètre ont été stérilisés à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Chaque disque a été imprégné de 10 µl d'extrait aqueux ou éthanolique, à des concentrations de 8 mg/ml, 4 mg/ml, et 2 mg/ml.
- Les disques imprégnés ont été déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface des boîtes ensemencées (trois disques par boîte).



**E. Diffusion et incubation**

- Les boîtes ont été laissées 30 minutes à température ambiante pour permettre la diffusion des extraits dans le milieu.
- Ensuite, elles ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

**F. Lecture des résultats**

Après incubation, l'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle millimétrée. Les résultats sont exprimés en millimètres (mm).

**CHAPITRE 2**

**RÉSULTATS**

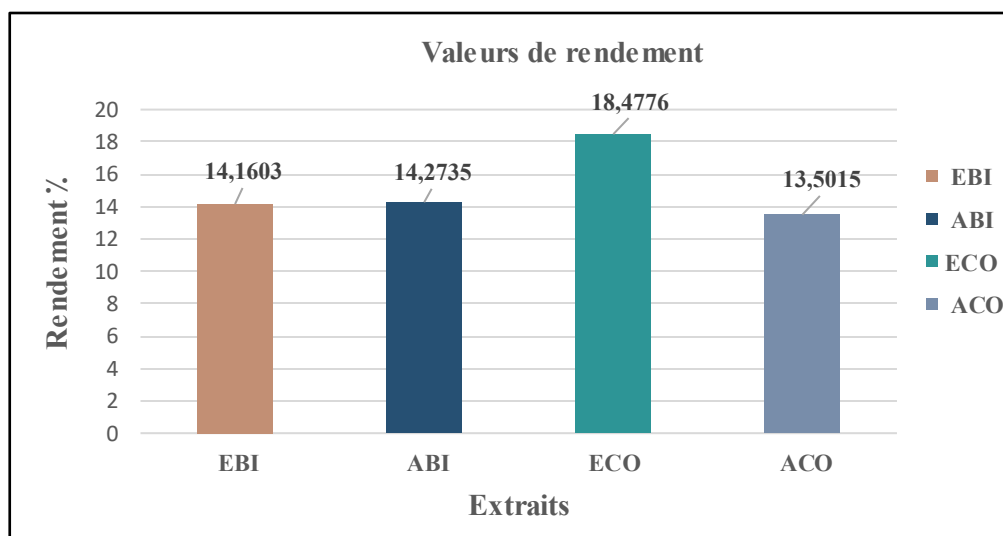
**ET DISCUSSION**

## 1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction ont été calculé pour les 4 extrait (tableau 10).

**Tableau 10** : Rendement d'extraction et les caractères de chaque extrait.

Extrait	Masse de la matière végétale	Couleur /Aspect	Masse de l'extrait (g)	Rendement (%)
<i>B. incassatum</i> Éthanolique (EBI)	100g	Marron/collante	14,1603g	14,1603%
<i>B. incassatum</i> Aqueux (ABI)	100g	Marron/collante	14,2735g	14,2735%
<i>D. Costus</i> Ethanolique (ECO)	100g	Marron/collante	18,4776g	18,4776%
<i>D. Costus</i> Aqueux (ACO)	100g	Marron/collante	13,5015g	13,5015%



**Figure 19** : Rendements d'extraction des différents extraits de *B. incassatum* et *D. costus*

D'après les données présentées dans la **Figure 19**, les rendements d'extraction pour la plante *B. incassatum* sont relativement proches entre les deux solvants : l'extrait aqueux présente un rendement légèrement plus élevé 14,27 % que l'extrait éthanolique 14,16 %.

En ce qui concerne le *Costus*, le rendement le plus élevé est obtenu avec l'extrait éthanolique, atteignant 18,48 %, tandis que l'extrait aqueux affiche un rendement inférieur, de 13,50 %.

Cette observation permet de comparer les performances d'extraction des deux plantes en fonction du solvant utilisé.

- Avec l'éthanol, le rendement d'extraction du *D. Costus* est nettement supérieur (18,48 %) à celui du *B. incassatum* 14,16 %.
- Avec l'eau, en revanche, le *B. incassatum* présente un rendement légèrement supérieur (14,27 %) à celui du *Costus* (13,50 %).

Ces résultats suggèrent que le *D. Costus* réagit mieux à l'extraction par l'éthanol, tandis que le *B. incassatum* offre un rendement aqueux légèrement plus élevé.

D'après **Bentahar et al., (2025)**, le rendement de l'extrait éthanolique est de 12,26 %. Ce rendement est légèrement inférieur à celui obtenu dans cette étude. Les deux travaux portent sur la même espèce, *Bunium incrassatum*, ce qui suggère que la variation observée pourrait être liée à la différence des méthodes d'extraction, de condition de culture.

Par comparaison avec l'étude de **Nassima et al., (2022)** portant sur les tubercules de *B. pachypodum* une espèce différente mais appartenant au même genre le rendement en extrait aqueux (6,65 %) et en extrait éthanolique (11,5 %) est inférieur à celui obtenu dans cette étude. Les deux travaux concernent la même partie de la plante, à savoir les tubercules, ce qui suggère que les écarts observés peuvent être liés aux conditions d'extraction, aux paramètres expérimentaux ou à l'origine géographique des échantillons.

De même, dans l'étude de **Karouche et al., (2020)** réalisée sur les tubercules de *Bunium mauritanicum*, une espèce différente appartenant au même genre, le rendement de l'extrait aqueux (6,79 %) a été inférieur à celui obtenu dans cette étude.

En comparaison avec l'étude de **Premalatha et Lakshmi (2020)**, qui rapportent un rendement d'extraction aqueuse des racines de *D. costus* compris entre 7 % et 19 % p/p, le rendement obtenu dans notre étude est intermédiaire, se situant à l'intérieur de cette plage, mais inférieur à la valeur maximale rapportée.

Par ailleurs, notre rendement d'extraction éthanolique, de 18,48 %, est très proche de celui rapporté par **Mammate et al., (2022)**, qui est de 18,79%.

Selon **Nassima et al., (2022)**, l'association de l'eau avec un solvant organique peut améliorer l'extraction des composés solubles dans l'eau ou dans des solvants organiques tels que l'éthanol, l'acétone ou le méthanol.

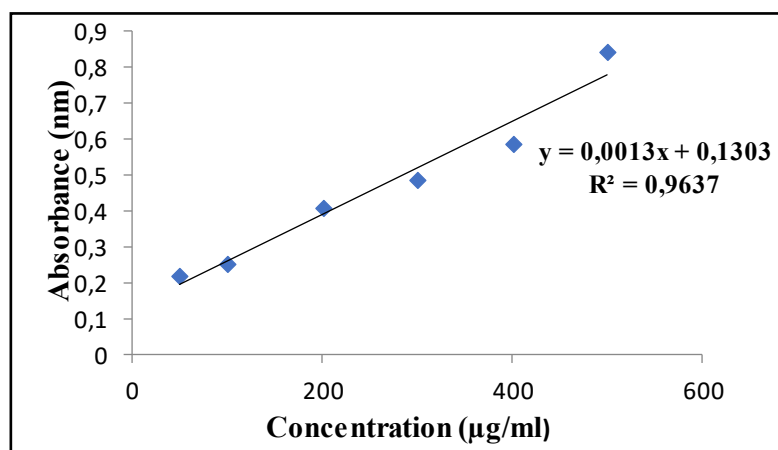
D'après Do *et al.*, (2014), l'efficacité de l'extraction dépend de plusieurs facteurs, notamment la nature chimique des composés phytochimiques, la méthode d'extraction utilisée, la granulométrie de l'échantillon, le type de solvant employé, ainsi que la présence de substances interférentes. Le rendement d'extraction est influencé par divers paramètres tels que la polarité du solvant, le pH, la température, la durée d'extraction et la composition de l'échantillon. À température et durée constantes, le choix du solvant et la composition de l'échantillon sont considérés comme les facteurs les plus déterminants.

## 2. Analyse quantitative des composées phénoliques

### 2.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC)

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé à l'aide de la méthode spectrophotométrique, adaptée de Müller *et al.* (2010), reposant sur l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu.

Les teneurs ont été calculées à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (**Figure 20**) et exprimées en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g GAE/mg}$ ). Le calcul s'appuie sur l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :  $y = 0,0013x + 0,1303$ , avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9637$ , à une longueur d'onde de 765 nm.

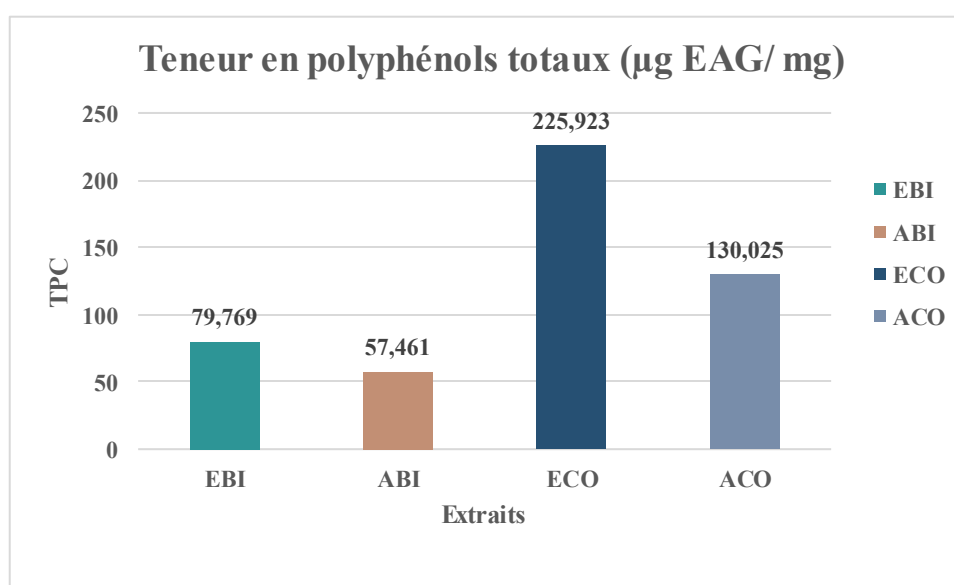


**Figure 20** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

Les résultats du dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux sont présentés dans la **figure 21** et le **tableau 11**

**Tableau 11** : Teneurs en polyphénols totaux des extraits

Extraits	Teneur en polyphénols totaux ( $\mu\text{g EAG/ mg}$ )
<i>B. incrassatum</i> Éthanolique	$79,769 \pm 6,527$
<i>B. incrassatum</i> Aqueux	$57,461 \pm 0,543$
<i>D. Costus</i> Éthanolique	$225,923 \pm 3,807$
<i>D. Costus</i> Aqueux	$130,025 \pm 9,246$



**Figure 21** : Teneur en polyphénols des différents extraits.

Selon la figure et le tableau, les extraits de *B. incrassatum* et de *Costus* présentent une teneur variable en polyphénols totaux selon le type de solvant utilisé. Pour le *B. incrassatum*, l'extrait éthanolique enregistre la teneur la plus élevée en polyphénols totaux avec  $79,769 \pm 6,527 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, suivi par l'extrait aqueux, qui présente une teneur inférieure, avec  $57,461 \pm 0,543 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait.

En ce qui concerne le *D. Costus*, l'extrait éthanolique présente la teneur la plus élevée avec  $225,923 \pm 3,807 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, suivi par l'extrait aqueux, qui présente une teneur de  $130,025 \pm 9,246 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait. Ainsi, les teneurs en polyphénols totaux varient en fonction du type d'extrait et de la plante analysée.

En comparaison avec les résultats de **Toul et al., (2023)**, portant sur les ombellules de *Bunium incrassatum*, la teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux rapportée ( $17,46 \pm 0,43$  mg EAG/g) est nettement inférieure à celle obtenue dans notre étude à partir des **tubercules** de la même espèce ( $57,461 \pm 0,543$  µg EAG/ mg). Cette différence pourrait s'expliquer par la variation de la **partie de la plante** utilisée ainsi que par des facteurs tels que les conditions de culture, la période de récolte ou la méthode d'extraction.

De même, **Nassima et al., (2022)** rapportent une teneur de  $2,30 \pm 0,07$  mg EAG/g dans l'extrait aqueux de *Bunium pachypodium*, une espèce du **même genre**, mais différente, ce qui est très inférieur à nos résultats.

Concernant l'extrait éthanolique, **Bentahar et al., (2025)** ont obtenu 19,25 mg EAG/g dans *Bunium incrassatum*, soit une teneur inférieure à celle obtenue dans notre étude.

Ces écarts peuvent être liés à des différences d'espèces, aux conditions environnementales ou aux protocoles d'extraction utilisés.

D'après **Elshaer et al., (2022)**, l'extrait aqueux de *D.costus* présente une teneur totale en polyphénols de  $53,50 \pm 4,57$  mg EAG/g soit  $53,50 \pm 4,57$  µg EAG/mg, ce qui est inférieur à celle enregistrée dans notre étude.

De même, l'extrait éthanolique d'**Elshaer et al (2022)** affiche une teneur de  $88,17 \pm 4,35$  µg EAG/mg valeur également inférieure à celle obtenue dans notre travail.

Ces différences pourraient s'expliquer par la variation des caractéristiques des extraits ainsi que la polarité des solvants utilisés lors de l'extraction, qui influencent la composition phénolique obtenue (**Elshaer et al., 2022**).

Cependant, d'autres facteurs peuvent également expliquer cette disparité, tels que le pH, la durée et la température d'extraction, ainsi que la composition chimique de l'échantillon. Toutefois, lorsque le temps et la température sont maintenus constants, le choix du solvant et les propriétés chimiques de l'échantillon restent les facteurs les plus influents (**Toul et Djendar, 2023**).

### 2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC)

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par spectrophotométrie, en suivant une méthode adaptée de **Topçu et al., (2007)**. Les concentrations ont été calculées à partir d'une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide quercétine (**Figure 22**) et exprimées en microgrammes équivalents d'acide quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

L'évaluation quantitative repose sur l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage :  $y = 0,0048x$ , avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9994$ , mesurée à une longueur d'onde de 415 nm.

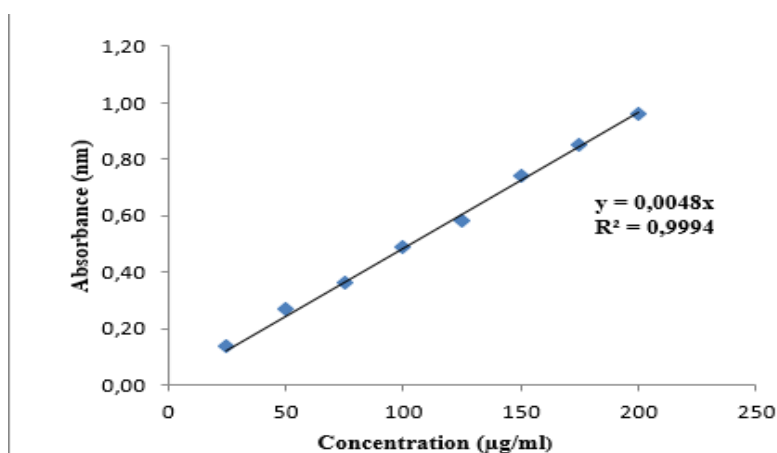


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 12 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits

Extraits	Teneur en flavonoïdes totaux (µg EQ/mg)
<i>B. incrassatum</i> Éthanolique	18,472 ± 1,272
<i>B. incrassatum</i> Aqueux	22,430 ± 2,686
<i>D. Costus</i> Éthanolique	25,416 ± 2,894
<i>D. Costus</i> Aqueux	24,583 ± 2,610

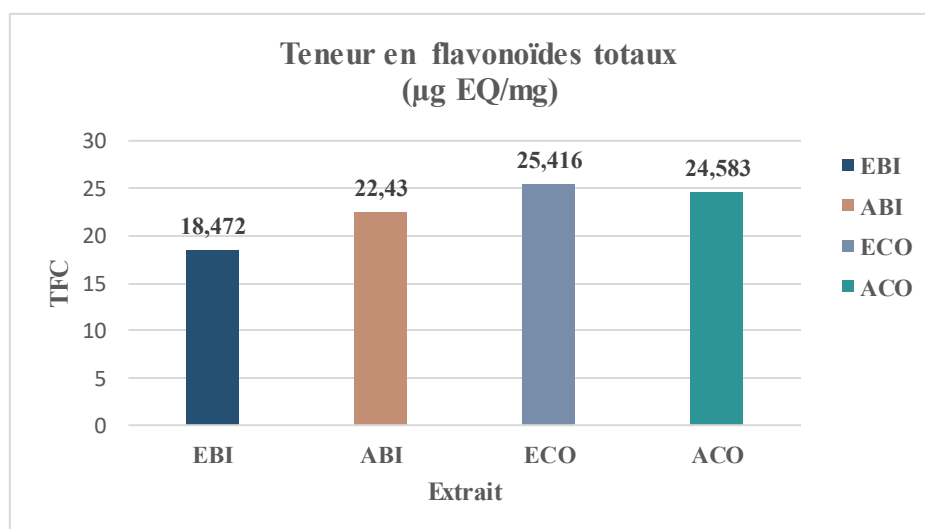


Figure 23 : Teneur en flavonoïde des différents extraits



Selon les données obtenues, les extraits de *B. incrassatum* et de *D. Costus* présentent des teneurs variables en flavonoïdes totaux selon le solvant utilisé. Pour *B. incrassatum*, l'extrait aqueux (ABI) affiche la teneur la plus élevée avec  $22,430 \pm 2,686 \mu\text{g EQ/mg}$ , contre  $18,472 \pm 1,272 \mu\text{g EQ/mg}$  pour l'extrait éthanolique (EBI).

En revanche, pour *D. Costus*, c'est l'extrait éthanolique (ECO) qui présente une teneur légèrement supérieure en flavonoïdes ( $25,416 \pm 2,894 \mu\text{g EQ/mg}$ ) par rapport à l'extrait aqueux (ACO) qui en contient  $24,583 \pm 2,610 \mu\text{g EQ/mg}$ .

Selon **Toul et al., (2023)**, la teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux des ombellules de *Bunium incrassatum* est de  $9,93 \pm 0,12 \text{ mg CE/g d'extrait}$ . Cette valeur, mesurée sur une autre partie de la plante, est inférieure à celle obtenue dans notre étude sur les tubercules de la même espèce.

Par ailleurs, **Nassima et al., (2022)** ont rapporté des teneurs de  $1,15 \pm 0,15 \text{ mg CAE/g MS}$  (extrait aqueux) et de  $0,70 \pm 0,09 \text{ mg CAE/g MS}$  (extrait éthanolique) pour le tubercule de *B. pachypodum*, une espèce différente appartenant au même genre, avec des valeurs inférieures à celles observées dans notre étude sur *B. incrassatum*.

De même, selon **Bentahar et al., (2025)**, la teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique des tubercules de *B. incrassatum* est de  $3,82 \pm 0,03 \mu\text{g Eq Qu/g}$ , ce qui demeure nettement plus faible que celle rapportée dans cette étude, malgré l'analyse d'une même espèce et d'un même organe végétal.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de *D. costus* analysés dans cette étude était de  $25,416 \mu\text{g EQ/mg}$  pour l'extrait éthanolique et de  $24,583 \mu\text{gEQ/mg}$  pour l'extrait aqueux. Ces valeurs sont nettement inférieures à celles rapportées par **Elshaer et al., (2022)**, qui ont indiqué des teneurs de  $103,75 \text{ mg EQ/g}$  et  $98,60 \text{ mg EQ/g}$  pour les extraits éthanolique et aqueux respectivement, ce qui correspond à  $103,75 \mu\text{g EQ/mg}$  et  $98,60 \mu\text{gEQ/mg}$ . Cette différence met en évidence une variation notable du contenu en flavonoïdes entre les deux études.

### **3. Activités biologiques**

#### **3.1 Activités antioxydantes**

##### **3.1.1 Test de piégeage du radical DPPH**

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée en mesurant leur capacité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, à une longueur d'onde de 515 nm. Les standards utilisés sont le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT) et l' $\alpha$ -tocophérol.

Les résultats obtenus pour les extraits et les standards sont présentés dans l'histogramme illustré dans la **figure 25** ainsi que dans le **tableau 13**.

**Tableau 13 :** Inhibition du radical DPPH par les extraits de *Bunium incrassatum* et *Dolomiaea costus*.

Extracts	% Inhibition in DPPH assay							
	12.5	25	50	100	200	400	800	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>Ethanolique</b> <i>B. incrassatum</i>	2,07±0,61	2,59±2,46	4,98±1,37	7,83±0,87	29,10±0,28	38,95±0,46	60,11±0,28	607,05±5,27
<i>Aqueux</i> <i>B. incrassatum</i>	1,73±0,46	6,35±0,46	11,40±1,21	17,79±0,46	37,97±0,87	43±0,57	46,57±0,39	1030,98±1,62
<b>Ethanolique</b> <i>Costus</i>	7,94±1,39	5,87±0,97	8,67±1,28	27,03±1,82	57,98±1,73	75,31±2,35	77,38±2,70	125,52±1,62
<i>Aqueux Costus</i>	6,11±1,75	5,44±0,56	13,41±0,82	16,02±0,64	34,81±0,56	64,61±1,14	72,58±0,56	305,35±5,33
<b>BHA<sup>b</sup></b>	76,55± 0,48	79,89± 0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	6.14±0.41
<b>BHT<sup>b</sup></b>	49,09± 0,76	72,63± 2,06	88.73±0,89	94.00±0,31	94.97±0,08	95.38±0,41	95.02±0,23	12.99±0.41
<b>α-Tocopherol<sup>b</sup></b>	37,21±1,82	81,53±1,51	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33	13.02±5,17

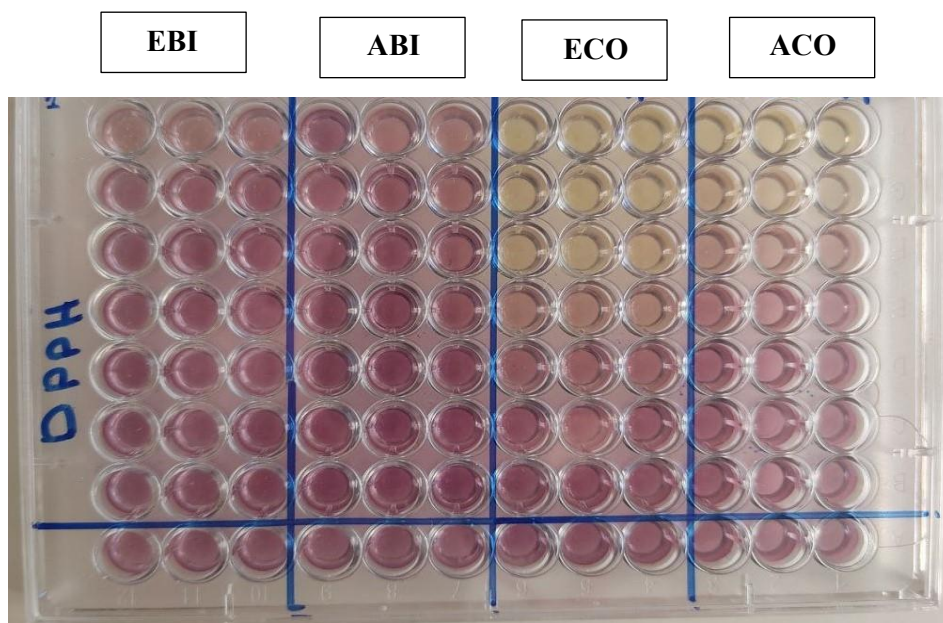


Figure 24 : La plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits étudiés.

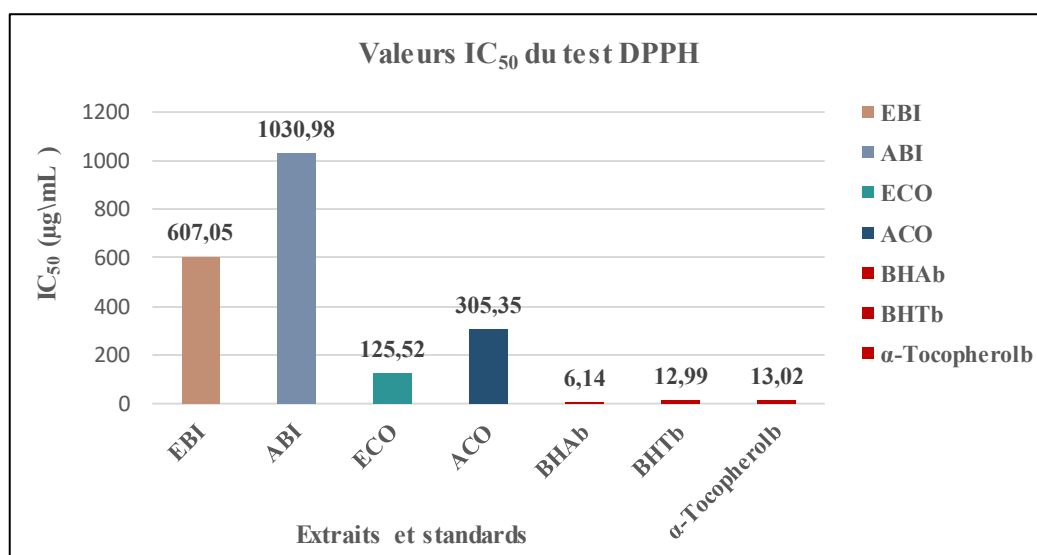


Figure 25 : Valeurs IC<sub>50</sub> des extraits étudiés dans la méthode de piégeage du DPPH.

La figure 25 présente les valeurs de IC<sub>50</sub> (μg/ml) pour les différents extraits de plantes (*B. incrasatum* et *D. costus*) ainsi que pour des antioxydants standards (BHAb, BHTb, α-Tocopherol).

Le IC<sub>50</sub> représente la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres : plus cette valeur est faible, plus l'activité antiradicalaire est importante.

L'activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique de *Costus* (ECO) est la plus élevée parmi les extraits testés, avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 125,52 ± 1,62 μg/ml, suivie par celle de l'extrait aqueux de *Costus* (ACO) qui présente une activité moins significative avec un IC<sub>50</sub> de

305,35±5,33 µg/ml, soit une activité 2,4 fois plus faible que celle de l'extrait éthanolique mais qui restent plus importante que celle des autres extraits.

En ce qui concerne *B.incrassatum*, l'extrait éthanolique (EBI) affiche une activité antioxydante relativement faible ( $IC_{50} = 607,05 \pm 5,27$  µg/ml), tandis que l'extrait aqueux (ABI) est le moins actif, avec une valeur  $IC_{50}$  très élevée  $> 800$  µg/ml.

Par conséquent, il est déduit que l'éthanol permet une extraction plus efficace des composés antioxydants pour les deux plantes. Toutefois, *Costus* reste plus riche en composés antiradicalaires, notamment dans son extrait éthanolique, comparé à celui de la plante *B. incrassatum*, quelle que soit la nature du solvant utilisé.

Ordre des extraits testés est comme suit :

ECO > ACO > EBI > ABI

Les standards testés ont présenté des  $IC_{50}$  plus importantes que celle de tous les extraits, BHT ( $IC_{50} = 12,99 \pm 0,41$  µg/ml), BHA ( $IC_{50} = 6,14 \pm 0,41$  µg/ml), et l'α-tocophérol avec une  $IC_{50} = 13,02 \pm 5,17$  µg/ml.

Selon **Toul et al., (2023)**, l'extrait aqueux des ombellules de *B. incrassatum* présente une activité antioxydante modérée avec une valeur d' $IC_{50}$  de  $2050 \pm 0,09$  µg/mL. En comparaison, notre étude, portant sur les tubercules de la même espèce, montre une  $IC_{50}$  de  $1030,98 \pm 1,62$  µg/mL, soit une valeur environ deux fois plus faible, indiquant une activité antioxydante plus élevée.

De même, pour l'extrait méthanolique des ombellules, **Toul et al., (2023)**, rapportent une  $IC_{50}$  de  $1650 \pm 0,18$  µg/mL, alors que notre extrait éthanolique (tubercules, même espèce) affiche une valeur significativement plus faible, à  $607,05 \pm 5,27$  µg/mL, traduisant une meilleure capacité antioxydante.

Ces écarts pourraient s'expliquer par la différence de parties de la plante utilisées (tubercules vs ombellules), ainsi que par la nature des solvants et d'autres facteurs expérimentaux.

En revanche, **Berroukech et al., (2022)** rapportent une  $IC_{50}$  de 0,19 mg/mL (soit 190 µg/mL) pour l'extrait éthanolique de *B. incrassatum*, une valeur inférieure à celle obtenue

dans notre étude ( $607,05 \pm 5,27 \mu\text{g/mL}$ ), suggérant une activité antioxydante plus forte dans leur cas, bien qu'il s'agisse de la même espèce.

Par ailleurs, selon **Nassima et al., (2022)**, les extraits de *Bunium pachypodum* une espèce différente appartenant au même genre présentent des  $\text{IC}_{50}$  de  $2520 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$  (extrait éthanolique) et  $1500 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$  (extrait aqueux). Ces valeurs sont nettement supérieures à celles obtenues dans notre étude, que ce soit pour l'extrait éthanolique ou aqueux, indiquant une meilleure activité antioxydante de nos extraits issus de *B. incrassatum*.

Le résultat obtenu par **Mammate et al., (2022)** indique que l'extrait éthanolique de *D. Costus* présente une activité antiradicalaire avec une valeur d' $\text{IC}_{50}$  de  $0,12325 \text{ mg/mL}$ , soit  $123,25 \mu\text{g/mL}$  et en revanche, l'extrait aqueux a montré une faible activité antiradicalaire. Ce résultat est très proche de celui obtenu dans notre étude, qui est de  $125,52 \pm 1,62 \mu\text{g/mL}$ . Et de *D. Costus* aqueux est  $305,35 \pm 5,33 \mu\text{g/mL}$ .

D'après **Elshaer et al., (2022)**, l'extrait éthanolique présente une activité antioxydante plus élevée que l'extrait aqueux, ce qui met en évidence l'influence de la polarité du solvant sur l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs. Cette activité serait probablement due à la présence de phytochimiques capables de céder des électrons, agissant ainsi comme piègeurs de radicaux libres

Selon **Mammate et al., (2022)**, la forte activité antioxydante de l'extrait éthanolique pourrait être attribuée à la nature des flavonoïdes qu'il renferme. De plus, **Toul et al. (2023)** soulignent que l'activité antioxydante des extraits de plantes est souvent liée à leur teneur en composés phénoliques, indiquant une corrélation entre la quantité de ces composés (TPC) et leur pouvoir antioxydant.

De plus, il a été démontré que des facteurs tels que la stéréosélectivité des radicaux ainsi que la solubilité de l'extrait dans différents milieux de test influencent la capacité des extraits à réagir avec et à neutraliser divers radicaux libres (**Aissani, 2022**).

### 3.1.2 Test de piégeage du radical ABTS

Les radicaux libres  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , de couleur bleue, sont réduits en leur forme incolore ( $\text{ABTS}^+$ ) en présence d'un antioxydant. Cette décoloration, traduisant l'activité antioxydante, est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 734 nm. L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée en utilisant le BHA et le BHT comme composés de référence. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous.

Tableau 14 : Pouvoir de piégeage du radical ABTS.

Extraits	Inhibition %							
	12.5	25	50	100	200	400	800	IC <sub>50</sub> μg/mL
<b>Aqueux <i>B. incrassatum</i></b>	2,87± 1,55	9,17±1 ,22	14,47± 1,49	26,22± 1,85	41,40± 0,54	42,62± 0,57	60,32± 0,54	523,26 ±1,75
<b>Ethanoliqu e <i>B. incrassatum</i></b>	8,38± 3,94	16,26± 3,22	27,22± 2,00	51,22± 1,72	76,07± 2,67	89,26± 1,14	89,97± 0,54	117,17 ±3,17
<b>Ethanoliqu e <i>Costus</i></b>	17,69± 2,61	31,81± 1,79	57,81± 1,64	87,54± 0,21	88,61± 0,21	89,54± 0,33	90,83± 0,54	42,59± 1,16
<b>Aqueux <i>Costus</i></b>	17,77± 0,12	18,12± 0,21	33,74± 0,97	58,52± 0,21	88,32± 0,45	88,90± 0,69	89,18± 0,12	83,13± 0,65
<b>BHT</b>	69.21± 0,40	78.23± 1,34	88.12± 1,28	88,76± 3,07	90.85± 1,74	90.95± 0,51	96.68± 0,39	1.29± 0.30
<b>BHA</b>	92.83± 1,42	94.68± 0,42	94.95± 0,90	95.32± 0,25	95.59± 0,47	95.83± 0,15	95,86± 0,10	1.81± 0.10

La figure suivante présente la plaque réalisée du test ABTS des extraits

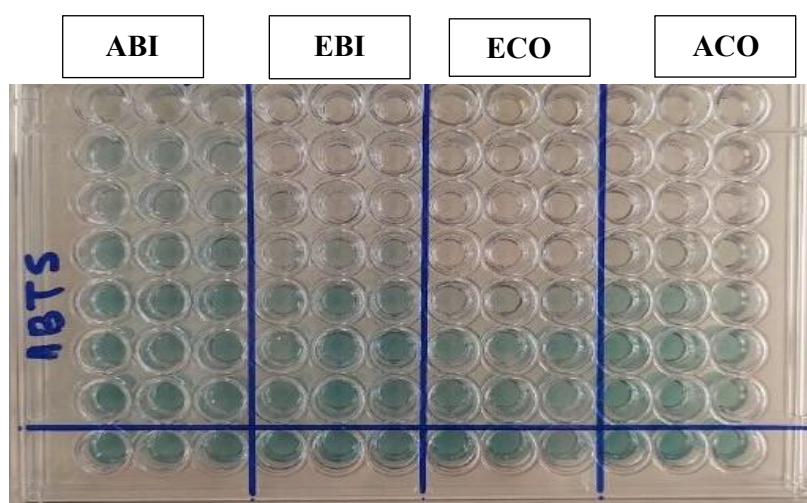
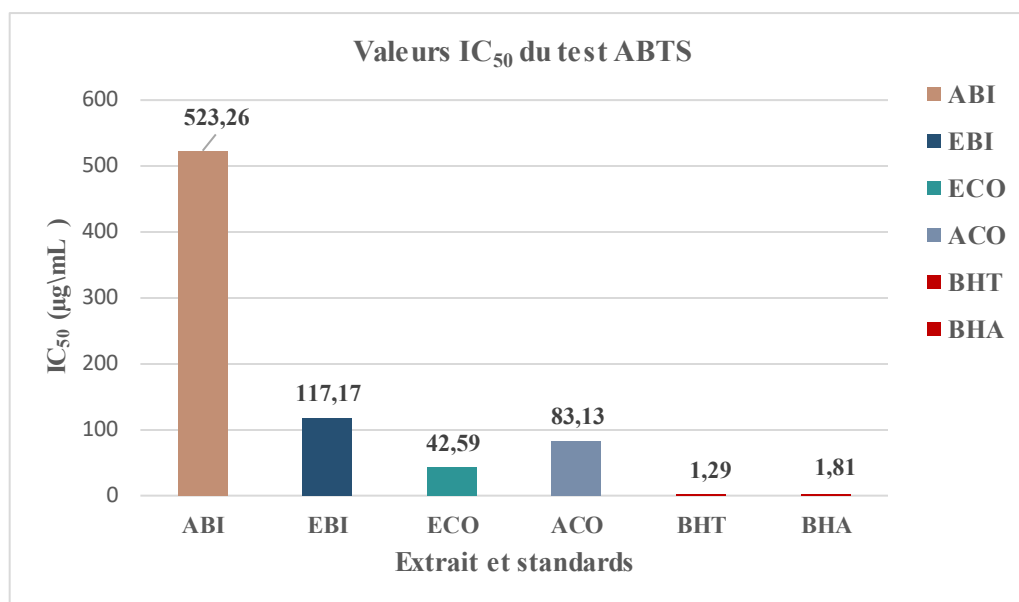


Figure 26 : Microplaque de dosage de l'activité de piégeage du radical cation ABTS.



**Figure 27 :** Résultats des IC<sub>50</sub> du radical ABTS.

Selon l'histogramme, les extraits de *B. incrassatum* (ABI, EBI) et de *Costus* (ECO, ACO) présentent des activités antioxydantes variables en fonction du solvant d'extraction, comme en témoignent les valeurs d'IC<sub>50</sub> (µg/ml). Une valeur d'IC<sub>50</sub> plus faible indique une meilleure capacité antioxydante.

Pour *B. incrassatum*, l'extrait aqueux (ABI) présente la plus faible activité antioxydante, avec une IC<sub>50</sub> élevée de  $523 \pm 1,75$  µg/ml. À l'inverse, l'extrait éthanolique (EBI) montre une meilleure efficacité, avec une IC<sub>50</sub> de  $117 \pm 3,17$  µg/ml, indiquant un pouvoir antioxydant modéré.

En ce qui concerne *Costus*, l'extrait éthanolique (ECO) se distingue par la meilleure activité antioxydante, avec une IC<sub>50</sub> de  $42,59 \pm 1,16$  µg/ml, suivi de l'extrait aqueux (ACO), qui présente une activité aussi importante avec une IC<sub>50</sub> de  $83,13 \pm 0,65$  µg/ml.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait de *Costus* est un extrait doué d'une activité antioxydante très importante.

L'ordre des extraits selon leurs activités est comme suit :

ECO > ACO > EBI > ABI.

Les antioxydants standards BHT et BHA présentent les IC<sub>50</sub> les plus faibles (respectivement 12,5 µg/mL et 18,3 µg/mL), ce qui indique une activité antioxydante très puissante et confirme leur efficacité bien connue dans ce domaine.



**Meriem et Bitam (2022)** ont rapporté une  $IC_{50}$  de  $0,744 \pm 0,0001$  mg/mL (soit 744  $\mu$ g/mL) pour l'extrait méthanolique de *B. incrassatum* dans le test ABTS. Cette valeur est plus élevée que celle obtenue dans notre étude pour l'extrait éthanolique ( $117,17 \pm 3,17$   $\mu$ g/mL), indiquant une activité antioxydante plus importante de notre extrait.

En revanche, l'extrait aqueux de *B. incrassatum* présente une  $IC_{50}$  de  $523,26 \pm 1,75$   $\mu$ g/mL, ce qui reste inférieur à la valeur rapportée par **Meriem et Bitam (2022)**, traduisant une meilleure activité antioxydante dans notre cas.

Les résultats obtenus dans notre étude à une concentration de 4 mg/mL (correspondant à 200  $\mu$ g/mL dans le tableau) montrent une activité antioxydante nettement plus élevée que celle rapportée par **Hussien et al., (2024)** pour les extraits de *D. costus*. En effet, le pourcentage d'inhibition du radical ABTS par notre extrait éthanolique atteint  $90,83 \pm 0,54$  %, contre seulement  $13,44 \pm 0,01$  % dans l'étude de **Hussien et ses collaborateurs**. De même, l'extrait aqueux présente un taux d'inhibition de  $89,18 \pm 0,12$  %, alors que celui rapporté par ces auteurs ne dépasse pas  $15,79 \pm 0,02$  %.

Certains composés capables de piéger le radical  $ABTS^{\bullet+}$  ne présentent pas nécessairement une activité similaire vis-à-vis du radical DPPH $\bullet$ . Dans cette étude, l'activité de piégeage du radical  $ABTS^{\bullet+}$  par les extraits s'est avérée légèrement supérieure à celle observée pour le DPPH $\bullet$ .

Cette différence pourrait s'expliquer par la présence de composés réducteurs de haut poids moléculaire, tels que les tanins, qui peuvent interférer avec le persulfate de potassium en inhibant sa capacité à générer le radical  $ABTS^{\bullet+}$ . L'efficacité antioxydante de ces composés dépend notamment de leur poids moléculaire, du nombre de cycles aromatiques et de la nature des groupements hydroxyles ou autres substituants fonctionnels (**Aissani, 2022**).

### 3.1.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le suivi de cette activité s'appuie sur la capacité des extraits testés à transformer le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ), de teinte jaune, en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ), de couleur bleu-vert, dont l'absorbance maximale est observée à 700 nm.

Cette transformation est quantifiée par la détermination des valeurs d' $A_{0.5}$  qui sont ensuite comparées à celles des standards tels que l'acide ascorbique et l' $\alpha$ -tocophérol. Les résultats sont présentés au-dessous :

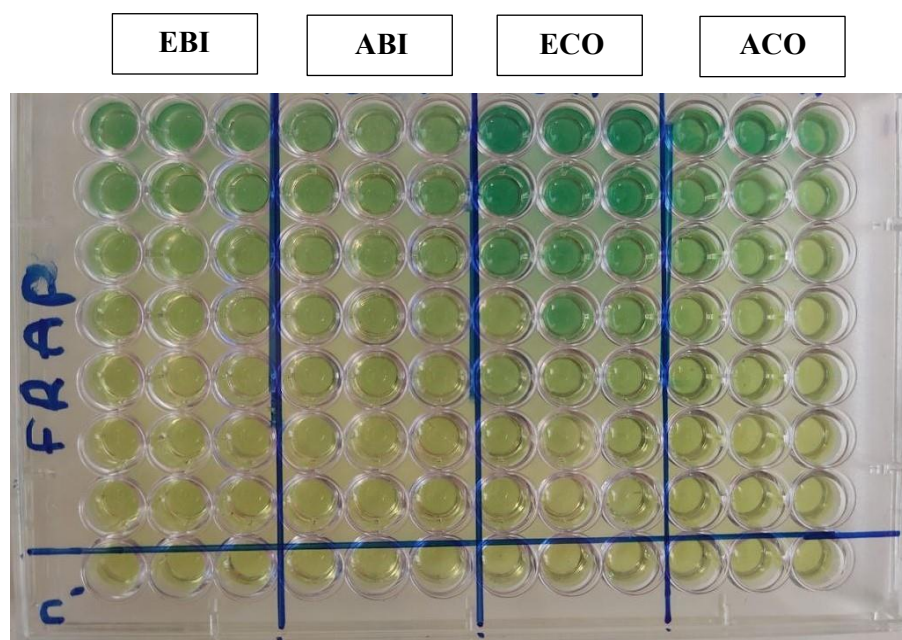
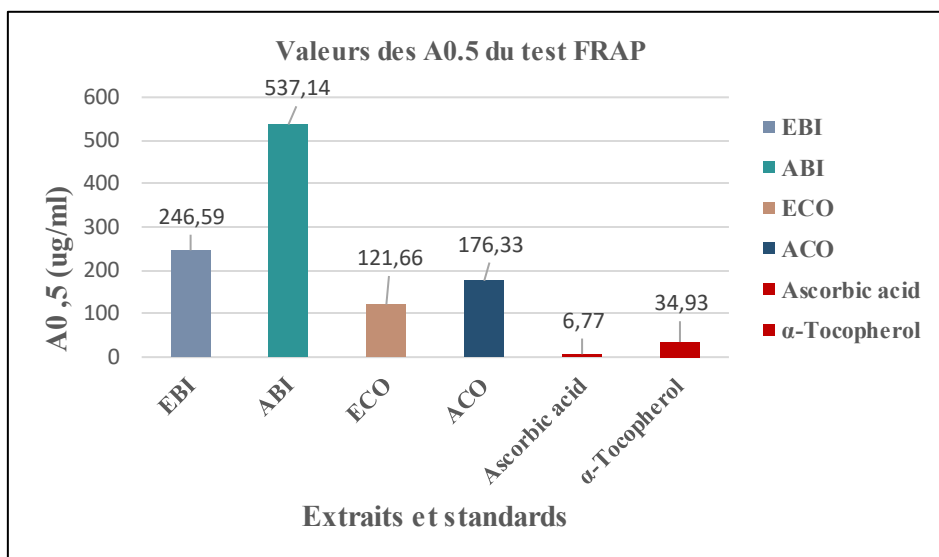


Figure 28 : Plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des extraits.

Tableau 15 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits (FRAP).

Extraits	Inhibition %							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A0.5 $\mu\text{g/mL}$
Ethanolique B. incrassatum	0.11 $\pm$ 0.00	0.11 $\pm$ 0.00	0.13 $\pm$ 0.00	0.16 $\pm$ 0.00	0.19 $\pm$ 0.00	0.27 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.01	246.59 $\pm$ 15.15
Aqueux B. incrassatum	0.11 $\pm$ 0.00	0.11 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.00	0.18 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.02	0.28 $\pm$ 0.00	537.14 $\pm$ 35.35
Ethanolique Costus	0.12 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.03	0.26 $\pm$ 0.04	0.33 $\pm$ 0.01	0.49 $\pm$ 0.00	0.66 $\pm$ 0.05	121.66 $\pm$ 11.04
Aqueux Costus	0.11 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.00	0.14 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.02	0.25 $\pm$ 0.00	0.35 $\pm$ 0.02	0.55 $\pm$ 0.02	176.33 $\pm$ 7.51
Ascorbic acid	0,35 $\pm$ 0,05	0,46 $\pm$ 0,03	0,84 $\pm$ 0,12	0,93 $\pm$ 0,30	1,18 $\pm$ 0,34	1,37 $\pm$ 0,20	1,44 $\pm$ 0,21	6.77 $\pm$ 1.15
Tocopherol	0.11 $\pm$ 0,00	0.16 $\pm$ 0.00	0,21 $\pm$ 0,03	0,35 $\pm$ 0,03	0,73 $\pm$ 0,03	1,37 $\pm$ 0,08	1,81 $\pm$ 0,09	34.93 $\pm$ 2.38

La figure ci-dessous présente l'histogramme des IC<sub>50</sub> des différents extraits



**Figure 29 :** Valeurs des A<sub>0,5</sub> du test pouvoir réducteur (FRAP).

Selon l'histogramme et le tableau, les extraits de *B. incrassatum* et de *Costus* présentent une activité réductrice variable, mesurée par la valeur de A<sub>0,5</sub>. Plus la valeur de A<sub>0,5</sub> est faible, plus l'activité antioxydante est importante.

Pour *B. incrassatum*, l'extrait éthanolique (EBI) présente une activité modérée avec une valeur de A<sub>0,5</sub> de 246,59±15.15 µg/ml, tandis que l'extrait aqueux (ABI) présente la plus faible activité antioxydante parmi tous les extraits testés, avec une valeur A<sub>0,5</sub> élevée de 537,14±35.35 µg/ml.

En ce qui concerne *Costus*, l'extrait éthanolique (ECO) montre la meilleure activité réductrice avec une valeur A<sub>0,5</sub> de 121,66±11.04 µg/ml, suivi par l'extrait aqueux (ACO) avec 176,33±7.51 µg/ml.

Les standards de référence, à savoir l'acide ascorbique et l'α-tocophérol, présentent respectivement des valeurs de 6,77±1.15 µg/ml et 34,93±2.38 µg/ml, confirmant leur activité réductrice.

L'ordre des extraits selon leurs activités est comme suit :

ECO > ACO > EBI > ABI

Selon Nassima *et al.*, (2022), le pouvoir réducteur des extraits aqueux, éthanoliques et acétoniques de *B. pachypodum*, à une concentration de 2,5 mg/mL, a donné des valeurs

d'absorbance comprises entre 0,50 et 0,80. En comparaison, nos résultats pour les extraits aqueux et éthanoliques de *B. incrassatum*, à une concentration de 4 mg/mL (soit 200 µg/mL dans le tableau), ont montré des valeurs d'absorbance plus faibles, variant entre 0,28 et 0,43. Cette différence pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la différence d'espèce, la nature des composés bioactifs présents dans chaque extrait, ainsi que les concentrations testées.

Bien que la concentration utilisée dans notre étude soit plus faible, ces résultats suggèrent que *B. pachypodum* possède une capacité antioxydante plus élevée dans les conditions testées par Nassima *et al.*, (2022).

En comparaison avec les résultats de Mmmatte *et al.*, (2022), notre extrait éthanolique de *D. costus* présente une densité optique plus élevée ( $0,66 \pm 0,05$  contre  $0,39 \pm 0,01$ ), malgré l'utilisation de concentrations plus faibles (3,125–200 µg/mL contre 50–400 µg/mL), indiquant une meilleure activité antioxydante.

Pour l'extrait aqueux, des valeurs similaires ont été obtenues ( $0,55 \pm 0,02$  contre  $0,56 \pm 0,05$ ), mais à des concentrations plus basses dans notre étude, ce qui suggère une plus grande efficacité. Ainsi, nos extraits, en particulier l'éthanolique, montrent une activité antioxydante supérieure à celle rapportée par Mmmatte *et al.*, (2022).

Selon Mmmatte *et al.*, (2022) L'activité réductrice détectée dans les extraits est très probablement due à la présence de groupes hydroxyles au sein des tanins, ceux-ci jouant un rôle de donneurs d'électrons et participant ainsi à leur pouvoir antioxydant.

### 3.1.4 Activité de Phenanthroline

Le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) est réduit en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) sous l'effet d'un antioxydant. Ce dernier réagit ensuite avec la phénanthroline pour former un complexe stable de couleur rouge orangé (**figure 31**), dont l'absorbance maximale est enregistrée à 510 nm.

Les résultats obtenus à partir des extraits ainsi que des standards BHT BHA sont présents dans la figure ci-dessous.

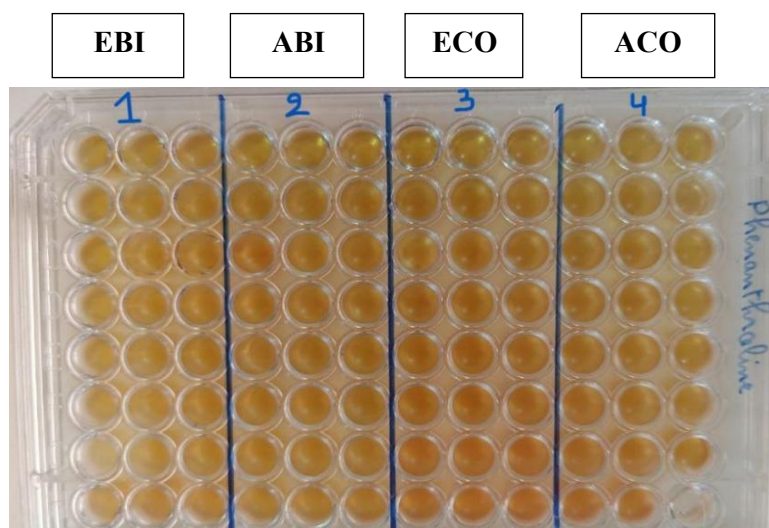


Figure 30 : Plaque de phénanthroline des d'extraits.

Tableau 16 : Réduction du fer par la méthode phénanthroline.

Extraits	Inhibition %									
	0.7812	1.562	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200µg	A <sub>0.5</sub> µg/mL
Ethanolique <i>B. incrassatum</i>	/	/	0.36±0.0 0	0.37±0.0 0	0.37±0.0 0	0.37±0.0 0	0.38±0.0 0	0.42±0.0 1	0.52±0.0 0	185.80 ±10.82
Aqueux <i>B. incrassatum</i>	/	/	0.33±0.0 0	0.33±0.0 0	0.33±0.0 0	0.34±0.0 0	0.34±0.0 0	0.34±0.0 0	0.44±0.0 0	293.81± 2.31
Ethanolique <i>Costus</i>	/	/	0.36±0.0 0	0.38±0.0 0	0.39±0.0 0	0.44±0.0 0	0.52±0.0 1	0.64±0.0 0	0.82±0.0 1	44.47± 1.82
Aqueux <i>Costus</i>	/	/	0.35±0.0 0	0.35±0.0 0	0.37±0.0 0	0.39±0.0 0	0.46±0.0 0	0.53±0.0 0	0.79±0.0 0	80.29 ± 0.78
BHA	0,49±0 ,01	0,59±0,0 1	0,73±0,0 2	0,93±0,0 1	1,25±0,0 4	2,10±0,0 5	4,89±0,0 6	/	/	0,93 ± 0,07
BHT	0,47±0 ,01	0,47±0,0 1	0,53±0,0 3	1,23±0,0 2	1,84±0,0 1	3,48±0,0 3	4,84±0,0 1	/	/	2,24 ± 0,17

La figure ci-dessous présente les  $A_{0,5}$  en forme d'histogramme

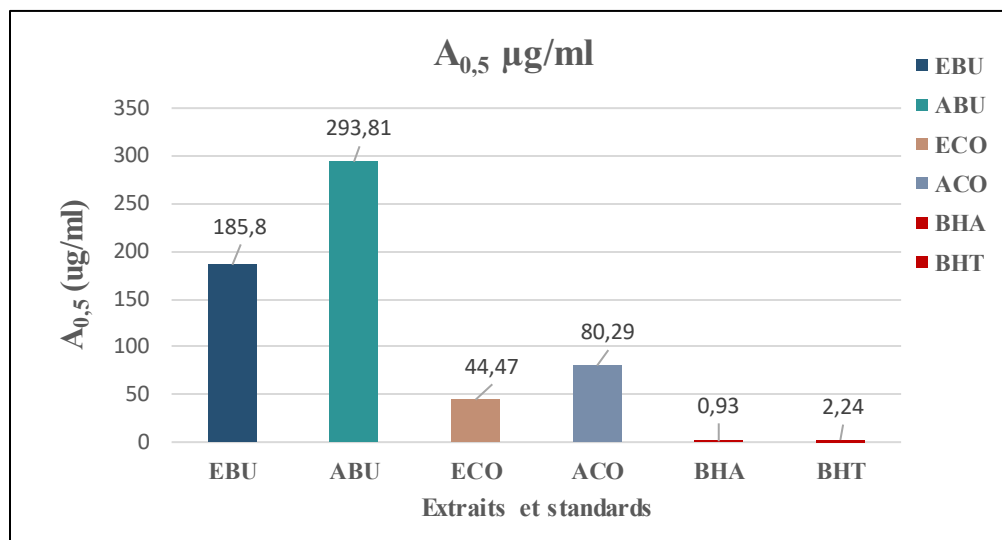


Figure 31 : Valeurs des  $A_{0,5}$  dans le test phénanthroline.

Les résultats de l'histogramme et le tableau révèlent une variation significative de l'activité antioxydante entre les extraits des deux plantes étudiées. Les extraits de *B. incrassatum* présentent une activité relativement faible, avec l'extrait aqueux (ABU) affichant la plus haute valeur de  $A_{0,5}$  ( $293,81 \pm 2,31$  µg/ml), suivi par l'extrait éthanolique (EBU) avec une valeur de  $185,8 \pm 10,82$  µg/ml, indiquant une faible capacité antioxydante.

En revanche, les extraits de *Costus* montrent une activité nettement plus importante, en particulier l'extrait éthanolique (ECO) avec une valeur de  $44,47 \pm 1,82$  µg/ml, suivi de l'extrait aqueux (ACO) avec  $80,29 \pm 0,78$  µg/ml.

Ces résultats suggèrent que *Costus*, surtout sous forme d'extrait éthanolique, possède un meilleur potentiel antioxydant par rapport la plante *B. incrassatum*.

Par ailleurs, les antioxydants standards BHA et BHT présentent les valeurs de  $A_{0,5}$  les plus faibles (respectivement 0,93 et 2,24 µg/ml), confirmant leur forte activité antioxydante et servant de références positives dans cette étude.

L'ordre des extraits selon leurs activités est comme suit :

ECO > ACO > EBU > ABU

Selon Ghosh et Indra, (2014), l'extrait éthanolique des feuilles de *Centella asiatica*, une espèce appartenant à la même famille (Apiaceae) que *Bunium incrassatum*, présente une activité antioxydante avec une valeur d' $EC_{50}$  de  $68,13 \pm 7,9$  µg/mL. En comparaison, l'activité antioxydante observée dans notre étude, tant pour l'extrait éthanolique que pour l'extrait aqueux des tubercules de *B. incrassatum*, est inférieure.



Par comparaison avec les résultats de **Namous et Bougaada, (2024)**, les valeurs de  $A_{0.5}$  rapportées dans leur étude sont de  $79,01 \pm 4,65 \mu\text{g/mL}$  pour l'extrait éthanolique de *Costus* et  $125,22 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$  pour l'extrait aqueux. Ces valeurs sont significativement plus élevées que celles obtenues dans notre étude, ce qui indique que nos extraits présentent une activité antioxydante plus forte. En effet, plus la valeur de  $A_{0.5}$  est faible, plus le pouvoir antioxydant est élevé ainsi, nos extraits, qu'ils soient éthanoliques ou aqueux, se montrent plus efficaces que ceux de **Namous et Bougaada, (2024)**.

D'après **Loucif, (2022)**, une corrélation significative a été établie entre la teneur en composés phénoliques et la capacité antioxydante observée, ce qui suggère que cette dernière est probablement attribuable à la présence de polyphénols.

La réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  constitue un indicateur couramment utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques.

Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que ces composés sont également capables de chélater les ions métalliques libres, contribuant ainsi à leurs effets antioxydants..

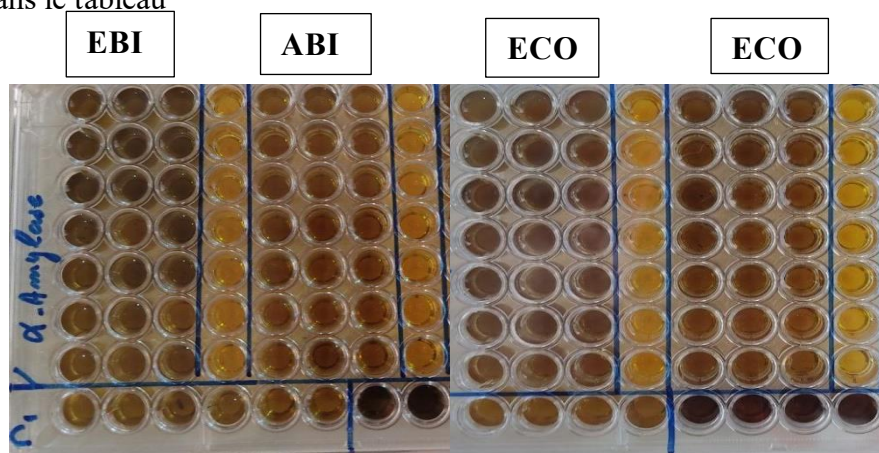
## 4. Activités enzymatiques

### 4.1 Activité inhibitrice de l' $\alpha$ amylase

Dans le but d'identifier un inhibiteur naturel de l' $\alpha$ -amylase, nous avons examiné l'effet des extraits éthanoliques et Aqueux de deux plantes médicinales sur l'activité enzymatique, à différentes concentrations.

L'amidon a été utilisé comme substrat, principalement en raison de sa disponibilité, de son faible coût, et surtout de la facilité qu'il offre pour le dosage par des méthodes photométriques.

Les pourcentages d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase obtenus pour les différents extraits sont présentés dans le tableau



**Figure 32 :** La plaque de dosage de l'activité inhibitrice de l'alpha amylase

Tableau 17 : Pourcentage d'inhibition de l'α amylase des différents extraits étudiés.

Extraits	Inhibition %								
	6,25	12.5	25	50	100	200	400	800	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>Ethanolique</b> <b>B.</b> <b>incrassatum</b>	/	39,13± 0,24	46,12± 0,72	59,84± 0,56	71,01± 0,16	75,93± 0,16	79,06± 0,51	84,46± 0,40	<b>32,14± 0,83</b>
<b>Aqueux</b> <b>B.</b> <b>incrassatum</b>	/	18,43± 1,38	31,45±0,4 2	33,57± 0,56	35,37± 0,33	37,33± 0,57	40,40± 0,24	44,16± 0,42	<b>1311,18 ± 40,14</b>
<b>Ethanolique</b> <b>Costus</b>	/	48,18± 0,64	56,93± 0,17	63,41± 0,23	69,65± 1,48	80,60± 0,15	92,53± 0,15	129,62± 0,81	<b>13,11± 1,11</b>
<b>Aqueux</b> <b>Costus</b>	/	37,77± 2,45	39,24± 1,85	46,07± 0,76	46,46± 0,23	49,80± 0,15	55,45± 0,47	62,92± 0,15	<b>214,06± 3,20</b>
<b>Acarbose</b>	7,76± 0,17	8,08± 0,30	9,46± 0,11	10,70± 0,96	31,81± 2,89	37,21±3,5 4	53,05±1,59	/	<b>3650,93±10,7 0</b>

La figure dessous illustre les IC<sub>50</sub> des différents extraits obtenus dans l'activité inhibitrice de l'alpha amylase

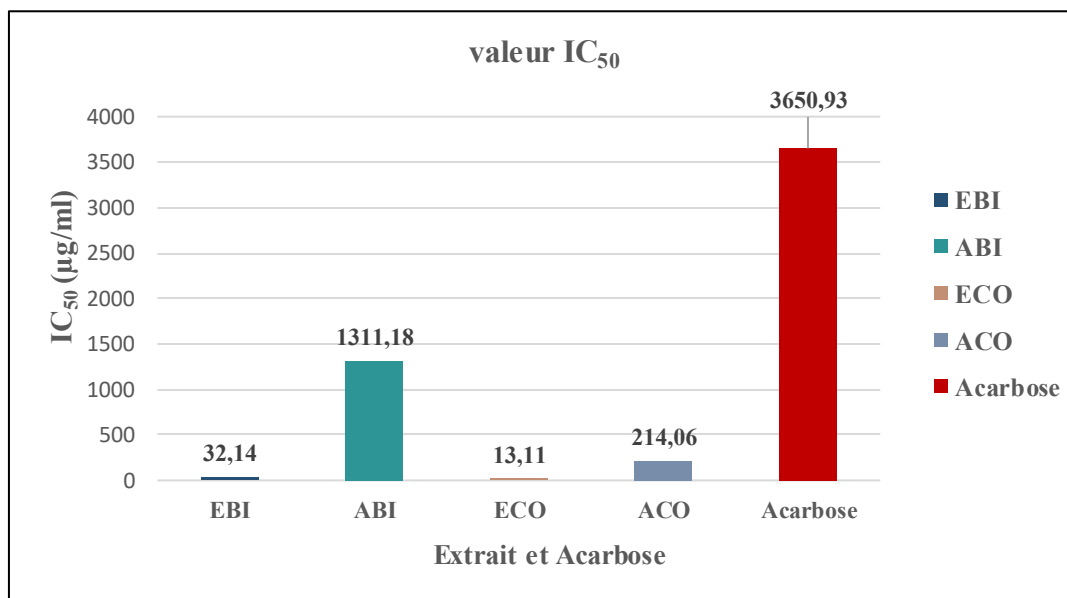


Figure 33 : Résultats de l'activité anti-α amylase des différents extraits étudiés.



D'après les données du tableau, on observe que l'activité inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -amylase est dose-dépendante. La concentration inhibitrice permettant de réduire 50 % de l'activité enzymatique ( $IC_{50}$ ) a été déterminée et présentée dans **la figure 33**.

Selon les résultats obtenus, les extraits des deux plantes étudiées, *D.Costus* et *B. incrassatum*, montrent des capacités d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase variables selon le type de l'extrait. Pour le *Costus*, l'extrait éthanolique (ECO) présente l'activité inhibitrice la plus élevée avec une  $IC_{50}$  minimale égale à  $13,11 \pm 1,11 \mu\text{g/ml}$ , ce qui le rend environ deux cent soixante-dix-neuf fois plus actif que le standard Acarbose ( $IC_{50} = 3650,93 \pm 10,70 \mu\text{g/ml}$ ).

L'extrait aqueux de *D.Costus* (ACO), bien qu'ayant une activité plus modérée ( $IC_{50} = 214,06 \pm 3,20 \mu\text{g/ml}$ ), reste environ dix-sept fois plus efficace que l'Acarbose.

En ce qui concerne *B. incrassatum*, l'extrait éthanolique (EBI) présente une bonne activité inhibitrice avec une  $IC_{50}$  de  $32,14 \pm 0,83 \mu\text{g/ml}$ , soit une efficacité environ cent quatorze fois supérieure à celle de l'Acarbose.

En revanche, l'extrait aqueux de *B.incrassatum* (ABI) montre la plus faible activité parmi les extraits testés, avec une  $IC_{50}$  de  $1311,18 \pm 40,14 \mu\text{g/ml}$ , mais reste toutefois environ 2,8 fois plus actif que l'Acarbose.

Ainsi, pour les deux plantes, les extraits éthanoliques présentent des activités inhibitrices nettement supérieures à celles des extraits aqueux, ce qui souligne l'influence déterminante du solvant sur l'efficacité des composés extraits.

Le *D.Costus*, notamment sous forme éthanolique, se démarque comme l'inhibiteur le plus puissant de l'enzyme  $\alpha$ -amylase, bien au-delà du standard utilisé.

L'ordre des extraits selon leurs activités est comme suit :

ECO > EBI > ACO > ABI >

Selon **Loucif, (2022)**, l'extrait aqueux d'*Ammi atlantica* présente une activité d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase avec une valeur d' $IC_{50}$  de  $2169,12 \pm 65,81 \mu\text{g/mL}$ , tandis que celui d'*Ammi sicula* L. atteint  $3991,25 \pm 22,46 \mu\text{g/mL}$ . Ces deux espèces, issues de la même famille (Apiaceae) que *Bunium incrassatum*, montrent une efficacité inhibitrice plus faible que celle

observée dans cette étude pour l'extrait aqueux de *B. incrassatum*, indiquant une activité supérieure de ce dernier.

Les résultats obtenus dans notre étude à une concentration de 8 mg/mL (soit 800 µg/mL) montrent une activité inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -amylase plus marquée que celle rapportée par **Hussien et al., (2024)** pour les extraits de *D. costus*.

En effet, l'extrait éthanolique de *D.costus* a présenté un pourcentage d'inhibition de  $129,62 \pm 0,81$  %, contre  $27,08 \pm 0,02$  % dans l'étude de **Hussien et ses collègues en 2024**.

De même, l'extrait aqueux issu de ce travail a montré une inhibition de  $62,92 \pm 0,15$  %, alors que l'extrait aqueux de *D. costus* rapporté par **Hussien et son équipe en 2024**, affiche une inhibition de seulement  $33,10 \pm 0,02$  %.

Les effets inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase sont étroitement liés à la présence de composés phénoliques. Les résultats de cette étude ont mis en évidence une inhibition marquée de l' $\alpha$ -amylase, en particulier dans les extraits riches en polyphénols, ce qui concorde avec les observations rapportées par **Loucif, (2022)**.

En effet, les extraits riches en polyphénols agissent sur le métabolisme des glucides et la régulation de la glycémie à travers divers mécanismes, notamment en inhibant l'activité des enzymes responsables de l'hydrolyse des glucides, ce qui permet de limiter leur digestion et, par conséquent, d'atténuer l'hyperglycémie postprandiale (**Loucif, 2022**).

## **5. Évaluation de L'activité Antibactérienne**

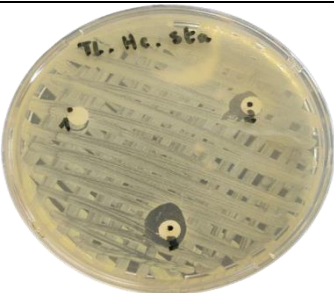


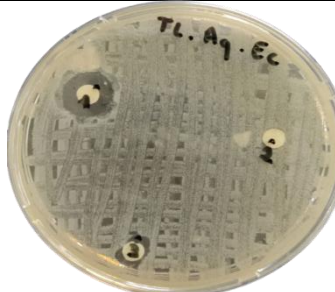




L'activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques de *B. incrassatum* et *D. costus* a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (en mm) autour des disques imprégnés d'extrait , contre deux souches bactériennes de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC et *Escherichia coli* ATCC, Le diamètre des zones inhibant la croissance bactérienne a été catégorisé comme suit :

**Tableau 18 :** Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.

<b>Sensibilité</b>	<b>Zone d'inhibition</b>
<b>Non sensible ou résistante (-)</b>	Diamètre < 8mm
<b>Sensible (+)</b>	Diamètre compris entre 9 à 14 mm
<b>Très sensible (++)</b>	Diamètre compris entre 15 à 19 mm
<b>Extrêmement sensible (+++)</b>	Diamètre > 20 mm

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau 19 : Les Activité antibactérienne des déférents extraits

Extraits	Souche Bactérienne	
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)
Ethanolique <i>B. incrassatum</i>		
Aqueux <i>B. incrassatum</i>		
Ethanolique <i>Costus</i>		
Aqueux <i>Costus</i>		

**Tableau 20 :** Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

*Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)

Extrait	Concentration (mg/ml)	Apparition de la zone d'inhibition	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<b>Ethanolique</b> <i>B. incrassatum</i>	8	-	7
	4	+	11
	2	+	12
<b>Aqueux</b> <i>B. incrassatum</i>	8	+	9
	4	-	-
	2	-	7
<b>Ethanolique</b> <i>Costus</i>	8	-	6
	4	-	7
	2	-	8
<b>Aqueux</b> <i>Costus</i>	8	-	7
	4	+	9
	2	+	9

- (-) absence de zones d'inhibitions

Selon le **tableau 20**, l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits sur la souche *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) a révélé que l'extrait éthanolique de *B. incrassatum* est actif à faibles concentrations (2 et 4 mg/mL), avec des diamètres d'inhibition de 11 mm

et 12 mm, indiquant une sensibilité modérée. En revanche, à 8 mg/mL, cet extrait s'avère inactif, avec un diamètre d'inhibition de seulement 7 mm.

L'extrait aqueux de *B. incrassatum* montre une activité modérée uniquement à 8 mg/ml (9 mm), et une absence d'effet significatif aux autres concentrations.

Quant à l'extrait éthanolique de *Costus*, il ne présente aucune activité antibactérienne notable à toutes les concentrations testées (diamètres  $\leq 8$  mm). En revanche, l'extrait aqueux de *Costus* affiche une activité modérée à 4 et 2 mg/ml (9 mm), mais est inefficace à 8 mg/ml. Bien que ces inhibitions soient nettement inférieures à celle du standard antibactérien (25 mm), elles indiquent néanmoins la présence de composés bioactifs capables d'interagir avec les membranes bactériennes.

Comparativement à l'étude de **Alaagib et Ayoub (2015)**, où le méthanol a permis d'atteindre le seuil de sensibilité (15 mm) et l'eau a donné une activité de 11 mm (classée résistante), notre extrait aqueux présente une activité plus faible. De même, notre extrait éthanolique reste faiblement actif par rapport à leur extrait méthanolique.

D'après **Bentahar et al., (2025)**, l'extrait méthanolique de *B. incrassatum* a montré une activité antibactérienne modérée contre *Staphylococcus aureus*, plus marquée à 50 mg/mL qu'à 100 mg/mL, suggérant une meilleure diffusion des composés actifs à concentration plus faible. Ce résultat concorde avec ces observations concernant l'extrait éthanolique, actif à faibles concentrations (2 et 4 mg/mL), mais inactif à 8 mg/mL, ce qui pourrait indiquer une inhibition de la diffusion des composés bioactifs à des doses plus élevées.

**Tableau 21** : Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits sur la croissance de *Escherichia Coli*.

*Escherichia coli* (ATCC 8739)

Extrait	Concentration (mg/ml)	Apparition de la zone d'inhibition	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<b>Ethanolique</b> <i>B. incrassatum</i>	8	-	6
	4	-	6
	2	-	6
<b>Aqueux</b> <i>B. incrassatum</i>	8	-	4
	4	-	-
	2	-	4
<b>Ethanolique Costus</b>	8	-	6
	4	-	5
	2	-	8
<b>Aqueux Costus</b>	8	-	-
	4	-	-
	2	-	-

- (-) absence de zones d'inhibitions

Selon le **tableau 21**, l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits sur la souche *Escherichia coli* (ATCC 8739) a montré une absence d'activité significative pour l'ensemble des extraits testés.

Les extraits éthanolique et aqueux de *B. incrassatum*, ainsi que ceux de Costus, ont présenté des diamètres d'inhibition inférieurs à 8 mm, indiquant une absence de sensibilité selon les critères de référence. L'extrait aqueux de *B. incrassatum* a atteint un diamètre de 8

mm à la concentration de 4 mg/ml, mais cette valeur reste en dessous du seuil requis pour une activité antibactérienne.

Pour l'extrait éthanolique et aqueux de *B. incrassatum* ainsi que ceux de *Costus*, aucun pouvoir antibactérien réel n'a été mis en évidence vis-à-vis de cette souche.

Comparativement à l'étude de **Alaagib et Ayoub (2015)**, qui n'a rapporté aucune activité antibactérienne des extraits méthanolique et aqueux de *D. costus* contre *Escherichia coli* (classés « – » selon leur classification MDIZ), nos résultats montrent également une absence d'activité pour les extraits éthanolique et aqueux (zones d'inhibition < 8mm), classés comme non sensibles ou résistants (–) selon notre propre classification. Il existe ainsi une concordance entre les deux études, ce qui renforce l'idée d'une faible efficacité de *D. costus* contre *E. coli*, quel que soit le solvant utilisé.

**Bentahar et al., (2025)** ont rapporté une activité antibactérienne modérée de l'extrait méthanolique de *B. incrassatum* contre *Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition de 9,45 mm à la concentration de 100 mg/mL. En revanche, l'extrait éthanolique et aqueux de *B. incrassatum* n'ont montré aucune activité antibactérienne contre cette souche aux concentrations testées (8, 4 et 2 mg/mL).

De manière générale, les extraits végétaux tendent à exercer une activité inhibitrice plus marquée contre les bactéries à Gram positif que contre celles à Gram négatif, en raison de la structure de leur paroi cellulaire. En effet, la présence d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides chez les bactéries à Gram négatif constitue une barrière supplémentaire limitant la pénétration des composés bioactifs (**Bentahar et al., 2025**).

La variation de l'activité antimicrobienne des extraits semble liée à la diversité de leur composition chimique. Les polyphénols, en particulier, agiraient selon des mécanismes complexes, impliquant des interactions non spécifiques avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, l'inhibition du métabolisme bactérien, ou encore la privation de nutriments essentiels à la croissance des micro-organismes (**Karouche et al., 2020**).



# CONCLUSION

Actuellement, les plantes médicinales continuent à d'être le principal fournisseur de nouveaux médicaments. Elles sont perçues comme une source fiable de principes actifs connus pour leur efficacité thérapeutique, ainsi que de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules indispensables à la création de futurs médicaments.

Dans ce contexte, notre étude visait à réaliser une analyse phytochimique des extraits aqueux et éthanoliques de deux plantes médicinales : *Bunium incrassatum* (Talghouda) et *Dolomiaea costus* (costus indien). Cette démarche a permis d'extraire des quantités notables de composés phénoliques et flavonoïdiques, dont la concentration varie selon le type d'extrait.

Par ailleurs, nous avons évalué *in vitro* le potentiel antioxydant des différents extraits à travers quatre méthodes complémentaires : le test de piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur (FRAP), la réduction par formation du complexe  $\text{Fe}^{2+}$ -phénanthroline, et le test ABTS.

Les résultats obtenus montrent que les extraits de *Dolomiaea costus* présentent une activité antiradicalaire supérieure à celle des extraits de *Bunium incrassatum*.

Nous avons également étudié l'activité inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -amylase *in vitro*. L'extrait éthanolique de costus a montré la plus forte activité inhibitrice, indiquant un potentiel intéressant dans la régulation de la glycémie postprandiale.

Concernant l'évaluation de l'activité antibactérienne, les extraits éthanoliques de *B. incrassatum* et les extraits aqueux de costus ont montré une sensibilité vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus*. En revanche, aucun des extraits testés (éthanoliques ou aqueux) n'a démontré d'effet significatif contre la souche *Escherichia coli*.

Cette étude apporte un soutien scientifique à l'usage traditionnel de ces deux plantes médicinales et met en évidence leur potentiel en tant que ressources pour le développement de produits pharmaceutiques ou biotechnologiques.

En perspective, des investigations plus approfondies à l'échelle moléculaire sont nécessaires, notamment pour identifier et purifier les composés phénoliques présents dans les extraits de *Bunium incrassatum* et *Dolomiaea costus*, susceptibles d'être responsables des activités biologiques observées. Une meilleure compréhension de leurs mécanismes d'action permettra de préciser leur rôle individuel ainsi que les éventuelles synergies entre ces composés, contribuant ainsi à l'identification des principes actifs impliqués dans les effets antioxydants, antidiabétiques et antibactérienne.

# **LES RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**Abdallah, R., Frikha, D., Maalej, S., & Sassi, S. (2019).** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines. in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*, 38-44.

**Abouelwafa, E., Zaki, A., M. Sabry, O., Caprioli, G., & Abdel-Sattar, E. (2023).** Dolomiaea costus: an untapped mine of sesquiterpene lactones with wide magnificent biological activities. *Natural Product Research*, 37(23), 4069-4079.

**Abouelwafa, E., Zaki, A., Sabry, O. M., El-Shiekh, R. A., Caprioli, G., & Abdel-Sattar, E. (2024).** Unveiling the chemical profiling and remarkable modulation of carbohydrate metabolism by costus root, *Dolomiaea costus* (Falc.) in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 326, 117911.

**Adoui, N., Bendif, H., Benabdallah, A., Souilah, N., Daoud, N., & Miara, MD (2022).** Usages ethnomédicinaux, phytochimie et activités biologiques du Talghouda (*Bunium fontanesii* Batt. Et synonymes apparentés) : une revue. *Journal of EcoAgriTourism* , 18 (1).

**Aiouaz, M., & Bitam, A. (2022).** *Bunium incrassatum* Bois. Batt. Trab. (Talghouda) in the improvement of thyroid tissue damage in female rats. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 2(2), 92-108.

**AISSANI, F. (2022).** Caractérisation phytochimique, valorisation biologique et toxicologique des différents extraits d'une espèce Algérienne *Sonchus oleraceus* L (Doctoral dissertation). P125

**Alaagib, R. M. O., & Ayoub, S. M. H. (2015).** On the chemical composition and antibacterial activity of *Saussurea lappa* (Asteraceae). *The Pharma Innovation*, 4(2, Part C), 73.

**Al-Dalaen, S. M., & Al-Qtaitat, A. I. (2014).** Review article : oxidative stress versus antioxidants. *Am. J. Biosci. Bioeng*, 2(5), 60-71.

**Aldholmi, M. (2024).** Method development and validation for the extraction and quantification of sesquiterpene lactones in *Dolomiaea costus*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 111, 107128.

**Anonyme. (2023).** Nanda Medicinal Plants, Consulté le 20 Avril 2025.

**Arfaoui, L. (2021).** Polyphénols végétaux alimentaires : effets de la transformation des aliments sur leur teneur et leur biodisponibilité. *Molécules*, 26 (10), 2959.

**Aromatario, H. (2023).** *Antioxydants et SARS-COV-2 : focus sur les études scientifiques actuelles et leur place dans la prise en charge des patients atteints de COVID-19 à l'officine* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine). P57-59

**Aurousseau, B. (2002).** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim*, 15 (1): 67-82.

**Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.

**Banothu, V., et Uma, A. (2022).** Effet des stress biotiques et abiotiques sur le métabolisme des plantes. *Composés phénoliques : chimie, synthèse, diversité, applications industrielles, pharmaceutiques et thérapeutiques non conventionnelles*, 119.

**Barouki, R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272.

**Bendif, H. (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse de sciences biologiques. Département des sciences naturelles, école normale supérieure de Kouba, Alger.

**Benkhalfa, A. (2018).** “Talghouda” une ancienne source alimentaire et une culture adaptée aux régions montagneuses.

**Bentahar, S., Belattar, H., Bouamrane, Z., & Derbal, N. (2025).** Investigation of Phytochemical content, Antioxidant properties and Antibacterial Potential of Algerian *Bunium incrassatum*. *Acta Biologica Slovenica*, 68(2), 44-52

**Berroukeche, F., Attoui, N., Toul, F., Ziane, M., Soulimane, N. M., & Merzouk, H. (2022).** Investigation of antioxidant and anti-hemolytic properties of Algerian *Bunium incrassatum* tubers and their effects as diet on histological and biochemical parameters of normal Wistar rats.

**Bērziņa, L., & Mieriņa, I. (2023).** Antiradical and antioxidant activity of compounds containing 1, 3-dicarbonyl moiety : An overview. *Molecules*, 28(17), 6203.

**Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

**Carange, J. (2010).** Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection ? (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).

**Chentouh, S., Boulahbel, S., Adjal, F., Tolba, M., Alloua, N., Moumen, Y., & Bentayeb, Y. (2018).** Effets des extraits organiques de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. *Revue des BioRessources*, 8(2), chez les lapines de population la race locale. *Revue des BioRessources*, 8(2), 34–42.

**Corset, A. (2024).** Stratégies nutritionnelles pour optimiser le statut immunitaire et antioxydant de la vache laitière (Doctoral dissertation, Agrocampus Ouest). P 42

**Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009).** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural product reports*, 26(8), 1001-1043.

**Dhaniaputri, R., Suwono, H., Amin, M., & Lukiat, B. (2022, May).** Introduction to plant metabolism, secondary metabolites biosynthetic pathway, and in-silico molecular docking for determination of plant medicinal compounds : an overview. In *7th International Conference on Biological Science (ICBS 2021)* (pp. 373-382).

**Dias, MC, Pinto, DCGA et Silva, AMS (2021).** Flavonoïdes végétaux : caractéristiques chimiques et activité biologique. *Molecules* (Bâle, Suisse), 26 (17), 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>

**Dirir, AM, Daou, M., Yousef, AF, & Yousef, LF (2022).** Revue des inhibiteurs d'alpha-glucosidase d'origine végétale comme candidats potentiels pour le traitement du diabète de type 2. *Phytochemistry Reviews* , 21 (4), 1049-1079.

**Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.

**Durand, K. (2018).** Diabète et stress oxydant.

**El Kihel, A. (2022).** Nouveaux biomatériaux photosensibles pour des applications antimicrobiennes (Doctoral dissertation, Université de Limoges). P 26

**Élie, F. (2022).** Les phénols et les polyphénols.

**Elkolli Hayet. (2017).** Composition chimique et activités biologiques des huiles essentielles et des extraits méthanoliques de *Bunium alpinum* (Waldst.et Kit.) et de *Bunium incrassatum* (Boiss.) Batt. Et Trab.(these de doctorat) P 19-21

**El-Lateef, H. M. A., El-Dabea, T., Khalaf, M. M., & Abu-Dief, A. M. (2023).** Recent overview of potent antioxidant activity of coordination compounds. *Antioxidants*, 12(2), 213.

**Elshaer, S. E., Hamad, G. M., Hafez, E. E., Baghdadi, H. H., El-Demerdash, F. M., & Simal-Gandara, J. (2022).** Root extracts of *Saussurea costus* as prospective detoxifying food additive against sodium nitrite toxicity in male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 166, 113225.

**Enneb, H., Belkadhi, A., Cheour, F., & Ferchichi, A. (2015).** Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of New Sciences*, 20.

**Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002).** Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.

**Favier, A. (2006, November).** Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

**Gauche, É., & Hausswirth, C. (2006).** Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Movement & Sport Sciences*, 58(2), 43-66.

**Ghosh, K., & Indra, N. (2014).** Phytochemistry, in vitro free radical scavenging, chelating and toxicity of *Centela asiatica* L.(Apiaceae) ethanolic leaf extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 29(1), 328-334.

**Gilgun-Sherki, Y., Melamed, E., & Offen, D. (2001).** Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*, 40(8), 959-975.

**Gurib-Fakim, A. (2006).** Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

**Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10). \*\*

**Hammoudi, N., & Boulahbel, S. (2022).** Etude des effets de l'extrait chloro-éthanolique des racines de *Bunium incrassatum* sur les modifications histophysiologiques de la glande surrénale de la lapine gestante.

**Hammoudi, N., Hafid, H., Moumen, Y., Chentouh, S., Djebaili, H., & Boulahbel, S. (2020).** Effect of organic materials extract from *Bunium incrassatum* (Talghouda) roots on hematological and histological parameters of the adrenal glands in the pregnant rabbits, *Oryctolagus cuniculus*. *Journal of New Technology and Materials*, 10(01), 38-43.

**Haque, M. A., Morozova, K., Ferrentino, G., & Scampicchio, M. (2021).** Electrochemical methods to evaluate the antioxidant activity and capacity of foods: A review. *Electroanalysis*, 33(6), 1419-1435

- Hayet, E. K., Hocine, L., & Meriem, E. K. (2017).** Chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of *Bunium incrassatum* and *Bunium alpinum* from Algeria. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 62(1), 3335-3341.
- Hussien, A. G., Aboulthana, W. M., & Youssef, A. M. (2024).** In vitro evaluation of *Saussurea costus* gold nano-extract as antioxidant, anti-diabetic, anti-alzheimer, and anti-inflammatory agent. *Egyptian Journal of Chemistry*, 67(5), 257-283.
- Karouche, S., Benbott, A., Henouda, S., Malki, S., & Boudchicha, I. (2020).** Evaluation of phenolic content and biological activities of *Bunium mauritanicum* tubers. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 12(2), 916-930.
- Kasana, R. C., & Pandey, A. K. (2020).** *Dolomiaea costus* (Falc.) Kasana & A.K.Pandey. *Phytotaxa*, 450(3), 184.
- Kashtoh, H., et Baek, KH (2023).** Nouvelles perspectives sur les dernières avancées en matière d'inhibiteurs d' $\alpha$ -amylase d'origine végétale ayant des effets antidiabétiques. *Plantes*, 12 (16), 2944.
- Kaurinovic, B. et Vastag, D. (2019).** Flavonoïdes et acides phénoliques comme antioxydants naturels potentiels. *IntechOpen*. doi : 10.5772/intechopen.83731.
- Kazeem, M. I., Adamson, J. O., & Ogunwande, I. A. (2013).** Modes of inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase by aqueous extract of *Morinda lucida* Benth leaf. *BioMed research international*, 2013(1), 527570.
- Kiran, T. R., Otlu, O., & Karabulut, A. B. (2023).** Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*, 47(1), 1-11.
- Kotha, RR, Tareq, FS, Yildiz, E., et Luthria, DL (2022).** Stress oxydatif et antioxydants : revue critique des dosages in vitro d'antioxydants. *Antioxydants*, 11 (12), 2388.
- Kumar, J., & Pundir, M. (2022).** Phytochemistry and pharmacology of *Saussurea* genus (*Saussurea lappa*, *Saussurea costus*, *Saussurea obvallata*, *Saussurea involucrata*). *Materials Today: Proceedings*, 56, 1173-1181.
- Loucif, K. (2022).** Pharmacological activities of two plants from the Apiaceae family: *Ammoides atlantica* (Coss. & Durieu.) H. Wolff. and *Athamanta sicula* L (Doctoral dissertation).
- Mahajan, M. R., & Patil, D. D. (2020).** Robust Analytical Method for Iron Estimation by Experimental Design Approach. *INDIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL EDUCATION AND RESEARCH*, 54(2), 456-464.



**Mammate, N., El Oumari, F. E., Imtara, H., Belchkar, S., Lahrichi, A., Alqahtani, A. S., ... & Houssaini, T. S. (2022).** Antioxidant and anti-urolithiatic activity of aqueous and ethanolic extracts from *Saussurea costus* (Falc) Lispich using scanning electron microscopy. *Life*, 12(7), 1026.

**Marco, F. (2013).** Oxidative stress and HPV Carcinogenesis. *Viruses*, 5; 708-731.

**Meriem, A., & Bitam, A. (2022).** *Bunium incrassatum* Bois. Batt. Trab.(Talgouda) in the improvement of thyroid tissue damages in female rats.

**Milane, H. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en Sciences Domaine : Pharmacochimie, Université Louis Pasteur Strasbourg I. p31

**Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017).** Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1), 363-370.

**Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010).** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.

**Mury, P. (2018).** Mécanismes et impact de l'activité physique et de la sédentarité sur les facteurs de risque biologiques de l'instabilité de plaque d'athérosclérose carotidienne (Doctoral dissertation, Université de Lyon). P75-76

**Nadda, R. K., Ali, A., Goyal, R. C., Khosla, P. K., & Goyal, R. (2020).** *Aucklandia costus* (syn. *Saussurea costus*): Ethnopharmacology of an endangered medicinal plant of the Himalayan region. *Journal of ethnopharmacology*, 263, 113199.

**Nassima, B. G., Khouloud, B., El Houda, H. A. N., Hena, A., & Fatima, H. (2022).** Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of the crude extracts of *Bunium pachypodium* PW Ball (Apiaceae) tubers from Algeria. *Biodiversity Journal*, 13(4), 969-980.

**Nawal, N., & Bougaada, M. (2024).** Etude phytochimique et l'activité antimicrobienne de deux plantes médicinales (Doctoral dissertation, university centre of abdelhafid boussouf-mila).

**NIRWOTH, G. U., ODIMBA, D. O., & AVETSO, N. A. (2024).** Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de *Microglossa pyrifolia* (Lam) O. Ktze et *Ocimum gratissimum* L. Tchiayo à Bunia. *Revue Internationale du Chercheur*, 5(3).

**Oroian, M., Eseriche, I. (2015).** Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International* 74, 10-36.

**Ouedraogo S., Yoda J., Traore T.K., Nitiema M., Sombie B.C., Diawara H.Z., Semde R. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2). P 752.

**Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.

**Port-Lougarre, Y. (2023).** Systèmes antioxydants versus prooxydants lors d'évènements dermatologiques : nouvelle approche par RPE pour étudier les espèces radicalaires induites par des xénobiotiques de la peau (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg). P 24-35

**Premalatha, M., & Lakshmi, S. (2020).** A study on the antioxidant and antimicrobial activities in the ethyl acetate extract of *Saussurea lappa*. *Int J Curr Res*, 12(07), 12662-12667.

**RANEBAYE, D., NGUINAMBAYE, M. M., NDJEWBO, O. M., & BRAHIM, B. O. (2023).** Étude ethnobotanique et screening phytochimique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des Hémorroïdaires dans les Provinces du Sud Tchad. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 22(1), 46-66.

**Sghaier, R. (2019).** Caractérisation des activités cytoprotectrices de molécules utilisées dans le traitement de la sclérose en plaques (diméthyle fumarate, monométhyle fumarate, biotine) sur des oligodendrocytes 158N : impact sur le stress oxydant, le statut mitochondrial, le statut lipidique, l'apoptose et l'autophagie (Doctoral dissertation, Université Bourgogne Franche-Comté ; Faculté des sciences, université de Monastir, Tunisie). P 75

**Sidaoui, A. (2022).** Cours de microbiologie industrielle " polycopié réalisé dans le cadre de l'habilitation universitaire " département de biologie cours : microbiologie industrielle-3ème année licence-microbiologie. P13

Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715-748

**Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017).** Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715-748

**Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008).** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.

**Tamer Fouad, M.D. (2003).** Free radicals, Types, sources and damaging reactions, Internal Medicine Articles.

**Tamer Fouad, M.D. (2003).** Free radicals, Types, sources and damaging reactions, Internal Medicine Articles.

**TLILI, M. L. (2021).** Contribution à la caractérisation structurale et biologique de quelques principes actifs extraits de deux plantes médicinales du Sahara Algérien *Salviachudaei* (*Lamiaceae*) et *Pergularia tomentosa* (*Asclepiadeceae*) (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah Ouargla). P 43-52

**Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, 103(3), 816-822.

**Toul, F., & Djendar, A. (2023).** Comparison of Major Bioactive Components of Various Solvent Extracts from Algerian *Bunium incrassatum* Umbellules and Antioxidant Activity. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 10(2), 505-512.

**Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021).** Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspective. *Microorganisms*, 9(10), 2041.

**Xiao, F., Xu, T., Lu, B., et Liu, R. (2020).** Lignes directrices pour les dosages d'antioxydants dans les composants alimentaires. *Food Frontiers*, 1 (1), 60-69.

**Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014).** A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.

**Zhou, Y., Yan, H., Guo, M., Zhu, J., Xiao, Q et Zhang, L. (2013).** Reactive oxygen species in vascular formation and development. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013V; 1-14.

**Zhou, Z., Duan, Y., Li, Y., Zhang, P., Li, Q., Yu, L., & Xiao, Y. (2025).** Monooxygénases CYP98A : une famille d'enzymes clés dans la biosynthèse des composés phénoliques végétaux. *Recherche en horticulture*, uhaf074.

**Ziberna, L., Fornasaro, S., Čvorović, J., Tramer, F., Passamonti, S. (2014).** Bioavailability of flavonoids: The role of cell membrane transporters. *Polyphenols in Human Health and Disease* 1, 489-511.

# **ANNEXES**

## Les Annexes

### Annexe : réactifs de dosage

➤ **Préparation de Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5% :**

7,5 grammes de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

➤ **Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois :**

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

➤ **Préparation des solutions**

**Solution 1 (S1) :** 9,80 g d'acétate de potassium ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) sont dissous dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir une solution 1 M.

**Solution 2 (S2) :** 1 mg d'extrait de plante est dissous dans 1 ml de méthanol pour obtenir la solution d'extrait.

Pour obtenir une solution à 10 % de nitrate d'aluminium ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ), on dissout 10 g de ce composé dans 100 ml d'eau distillée.

➤ **Préparation de Gamme d'étalonnage d'acide gallique :**

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

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissout dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S<sub>1</sub> (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

25µg/ml —————> 25µl de S<sub>1</sub>+ 175µl de MeOH

50 µg /ml —————> 50µl de S<sub>1</sub>+ 150µl de MeOH

75µg/ml —————> 75µl de S<sub>1</sub>+ 125µl de MeOH

100µg/ml —————> 100µl de S<sub>1</sub>+ 100µ de MeOH

125µg /ml —————> 125µl de S<sub>1</sub>+ 75µl de MeOH

150µg /ml —————> 150µl de S<sub>1</sub>+ 50µl de MeOH

175 µg /ml —————> 175µl de S<sub>1</sub>+ 25µl de MeOH

20µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque + 100µl FCR (1 :10) + 75µl de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5%) + incubation 2h + lecture à 765nm.

➤ **Préparation de Nitrate d'aluminium ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) 10% :**

Pour 10% nitrate d'aluminium ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

➤ **Préparation de 1 M Potassium acétate ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) :**

Pour 1 M Potassium acétate ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) on dissout 9.80 gramme de ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution  $S_1$ .

### ➤ Préparation de la gamme d'étalon de la Quercetin :

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

Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

Quercetin (25) —————> 25  $\mu\text{l}$   $S_m$  + 175  $\mu\text{l}$  MeOH

Quercetin (50) —————> 50  $\mu\text{l}$   $S_m$  + 150 $\mu\text{l}$  MeOH

Quercetin (75) —————> 75  $\mu\text{l}$   $S_m$  + 125 $\mu\text{l}$  MeOH

Quercetin (100)—————> 100  $\mu\text{l}$   $S_m$  + 100 $\mu\text{l}$  MeOH

Quercetin (125) —————>125  $\mu\text{l}$   $S_m$  + 75 $\mu\text{l}$  MeOH

Quercetin (150) —————>150  $\mu\text{l}$   $S_m$  + 50 $\mu\text{l}$  MeOH

Quercétine (175) —————> 175 $\mu\text{l}$   $S_m$  + 25 $\mu\text{l}$  MeOH

Quercetin (200) —————> 200 $\mu\text{l}$   $S_m$  + 0 MeOH

50  $\mu\text{l}$  de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130  $\mu\text{l}$  (MeOH) +10  $\mu\text{l}$  ( $S_1$ ) ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) + 10  $\mu\text{l}$  ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm.

## Annexe : préparation des solutions et réactifs des activités biologiques

### ➤ Préparation de la DPPH :

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissout dans le méthanol et gardé à  $-20^\circ\text{C}$  à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

### ➤ Préparation de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ :

1 g de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  dans 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ .

### ➤ Préparation d'Acide trichloracétique (TCA) à (10 %) :

1 g de TCA dans 10 ml  $\text{H}_2\text{O}$ .

### ➤ Préparation de ferricchloride ( $\text{FeCl}_3$ :0.1%) :

0,1 g de  $\text{FeCl}_3$  dans 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ .

### ➤ Préparation de ABTS+ :

19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml  $\text{H}_2\text{O}$  + 3,3 mg (2.45 mM) ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) +5 ml  $\text{H}_2\text{O}$  + attendre 16 heures à l'abri de la lumière

### ➤ Préparation de Ferricchloride ( $\text{FeCl}_3$ ) (0.2%) :

0.02g de  $\text{FeCl}_3$  dans 10ml de  $\text{H}_2\text{O}$

### ➤ Préparation de Phenanthroline (0.5%) :

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



**Figure :** lecteur de microplaque



## Résumé

*Bunium incrassatum* (Talghouda) et le *Dolomiaea costus* (costus indien) sont deux plantes médicinales traditionnellement utilisées pour traiter diverses maladies en raison de leurs propriétés antimicrobiennes. Des études récentes ont exploré leurs propriétés phytochimiques, antioxydantes et antimicrobiennes afin de valider leur usage traditionnel et d'identifier de nouveaux composés thérapeutiques potentiels.

Dans notre travail, nous avons réalisé des analyses phytochimiques, des tests microbiologiques, antioxydants, ainsi que des tests d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase sur deux extraits (éthanolique et aqueux) de chaque plante, dans le but de déterminer leurs composants bioactifs.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a mis en évidence une forte teneur en polyphénols dans les extraits des deux plantes. La concentration la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait éthanolique du costus indien (225,923  $\mu\text{g}$  EAG/mg), suivi de son extrait aqueux (130,025  $\mu\text{g}$  EAG/mg). En revanche, la teneur en flavonoïdes s'est révélée modérée dans l'ensemble des extraits analysés.

L'évaluation du potentiel antioxydant à l'aide de quatre tests *in vitro* (DPPH, ABTS, FRAP et phénanthroline) a mis en évidence un pouvoir antioxydant élevé pour l'extrait éthanolique de costus indien, en corrélation positive avec sa richesse en polyphénols totaux.

L'activité inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -amylase a été évaluée pour les deux extraits de chaque plante. Les extraits éthanoliques de costus indien et de Talghouda ont présenté les activités les plus élevées, avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 13,11  $\mu\text{g/mL}$  et 32,14  $\mu\text{g/mL}$ , respectivement.

L'activité antibactérienne a été testée sur deux souches bactériennes. Les résultats montrent que les extraits éthanoliques de Talghouda présentent une activité antibactérienne modérée contre la souche *Staphylococcus aureus*.

En revanche, aucune activité antibactérienne notable n'a été observée pour les extraits aqueux et éthanoliques de Talghouda et de costus indien vis-à-vis de la souche *Escherichia coli*.

### Mots clés :

*Bunium incrassatum*, *Dolomiaea costus*, Polyphénols, Flavonoïdes, activité antioxydante, activité enzymatique, activité antibactérienne.

## ABSTRACT

*Bunium incrassatum* (Talghouda) and *Dolomiaea costus* (Indian costus) are two medicinal plants traditionally used to treat various diseases due to their antimicrobial properties. Recent studies have investigated the phytochemical, antioxidant, and antimicrobial properties of these plants to validate their traditional use and identify potential new therapeutic compounds.

In our work, we conducted phytochemical analyses, microbiological and antioxidant tests, as well as  $\alpha$ -amylase enzyme inhibition assays on two types of extracts (ethanolic and aqueous) from each plant, aiming to identify their bioactive components.

The quantification of total polyphenols and flavonoids revealed a high polyphenol content in the extracts of both plants. The highest concentration was recorded in the ethanolic extract of Indian costus (225.923  $\mu\text{g}$  GAE/mg), followed by its aqueous extract (130.025  $\mu\text{g}$  GAE/mg). However, the flavonoid content was found to be moderate across all analyzed extracts.

The antioxidant potential, evaluated using four in vitro tests (DPPH, ABTS, FRAP, and o-phenanthroline), showed strong antioxidant activity in the ethanolic extract of Indian costus, which correlated positively with its high total polyphenol content.

The inhibitory activity of the  $\alpha$ -amylase enzyme was assessed for both extracts of each plant. The ethanolic extracts of Indian costus and Talghouda exhibited the highest inhibitory activities, with IC<sub>50</sub> values of 13.11  $\mu\text{g/mL}$  and 32.14  $\mu\text{g/mL}$ , respectively.

The antibacterial activity was tested on two bacterial strains. The results showed that the ethanolic extracts of Talghouda exhibited moderate antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. However, no significant antibacterial activity was observed for either the aqueous or ethanolic extracts of Talghouda and Indian costus against *Escherichia coli*.

### Keywords:

*Bunium incrassatum*, *Dolomiaea costus*, Polyphenols, Flavonoids, Antioxidant activity, enzymatic activity, Antibacterial activity.

## الملخص

يُعد *Bunium incrassatum* (تالغودة) و *Dolomiaea costus* (القسط الهندي) من النباتات الطبية التي تُستخدم تقليدياً في علاج العديد من الأمراض نظراً لخواصهما المضادة للميكروبات. وقد تناولت دراسات حديثة خصائصهما الكيميائية النباتية ومضادات الأكسدة والخصائص المضادة للميكروبات بهدف التحقق من فعالتهما التقليدية واكتشاف مركبات علاجية جديدة محتملة.

في هذا العمل، قمنا بإجراء تحاليل كيميائية نباتية، واختبارات ميكروبيولوجية ومضادة للأكسدة، بالإضافة إلى اختبارات تثبيط إنزيم الألفا-أميلاز على مستخلصين (إيثانولي ومائي) من كل نبات، بهدف تحديد مكوناتهما النشطة بيولوجياً. أظهر تحديد محتوى البوليفينول الكلية والفلافونويد وجود نسبة عالية من البوليفينول في مستخلصات النباتين. وقد سُجّلت أعلى تراكيز في المستخلص الإيثانولي للقسط الهندي ( $225,923 \mu\text{g EAG/mg}$ )، يليه المستخلص المائي له ( $130,025 \mu\text{g EAG/m}$ ) أما محتوى الفلافونويد فكان معتدلاً في جميع المستخلصات المحللة.

وقد أظهرت تقييمات القدرة المضادة للأكسدة باستخدام أربع اختبارات (phénanthroline ABTS, FRAP, DPPH) نشاطاً مضاداً للأكسدة مرتفعاً في المستخلص الإيثانولي للقسط الهندي، وكان ذلك مرتبطاً بشكل إيجابي بغناه بالبوليفينول. تم تقييم نشاط تثبيط إنزيم الألفا-أميلاز لكلا المستخلصين من كل نبات، حيث أظهرت المستخلصات الإيثانولية لكل من القسط الهندي وتالغودة أعلى الأنشطة، بقيم  $\text{IC}_{50}$  بلغت  $13,11 \mu\text{g/mL}$  et  $32,14 \mu\text{g/mL}$  على التوالي.

تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على سلالتين من البكتيريا. وأظهرت النتائج أن المستخلص الإيثانولي لتالغودة أظهرت نشاطاً مضاداً معتدلاً ضد سلالة *staphylococcus aureus* في المقابل، لم يُلاحظ أي نشاط مضاد للبكتيريا ذو دلالة للمستخلص المائي أو الإيثانولي لتالغودة أو القسط الهندي ضد سلالة *Escherichia coli*.

### الكلمات المفتاحية:

*Bunium incrassatum*، *Dolomiaea costus*، بوليفينول، فلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط الانزيمي، النشاط المضاد للبكتيريا.

Année universitaire : 2024-2025	Présenté par : MEZZOU Soundous Rihem MEGHOUACHE Belkis
Étude phytochimique et évaluation in vitro des activités biologiques de deux plantes médicinales : Bunium incrassatum et Dolomiaea costus	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie	
<p style="text-align: center;"><b>Résumé :</b></p> <p><i>Bunium incrassatum</i> (Talghouda) et le <i>Dolomiaea costus</i> (costus indien) sont deux plantes médicinales traditionnellement utilisées pour traiter diverses maladies en raison de leurs propriétés antimicrobiennes. Des études récentes ont exploré leurs propriétés phytochimiques, antioxydantes et antimicrobiennes afin de valider leur usage traditionnel et d'identifier de nouveaux composés thérapeutiques potentiels.</p> <p>Dans notre travail, nous avons réalisé des analyses phytochimiques, des tests microbiologiques, antioxydants, ainsi que des tests d'inhibition de l'enzyme <math>\alpha</math>-amylase sur deux extraits (éthanolique et aqueux) de chaque plante, dans le but de déterminer leurs composants bioactifs.</p> <p>Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a mis en évidence une forte teneur en polyphénols dans les extraits des deux plantes. La concentration la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait éthanolique du costus indien (225,923 <math>\mu\text{g}</math> EAG/mg), suivi de son extrait aqueux (130,025 <math>\mu\text{g}</math> EAG/mg). En revanche, la teneur en flavonoïdes s'est révélée modérée dans l'ensemble des extraits analysés.</p> <p>L'évaluation du potentiel antioxydant à l'aide de quatre tests in vitro (DPPH, ABTS, FRAP et phénanthroline) a mis en évidence un pouvoir antioxydant élevé pour l'extrait éthanolique de costus indien, en corrélation positive avec sa richesse en polyphénols totaux.</p> <p>L'activité inhibitrice de l'enzyme <math>\alpha</math>-amylase a été évaluée pour les deux extraits de chaque plante. Les extraits éthanoliques de costus indien et de Talghouda ont présenté les activités les plus élevées, avec des valeurs d'IC50 de 13,11 <math>\mu\text{g/mL}</math> et 32,14 <math>\mu\text{g/mL}</math>, respectivement.</p> <p>L'activité antibactérienne a été testée sur deux souches bactériennes. Les résultats montrent que les extraits éthanoliques de Talghouda présentent une activité antibactérienne modérée contre la souche <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>En revanche, aucune activité antibactérienne notable n'a été observée pour les extraits aqueux et éthanoliques de Talghouda et de costus indien vis-à-vis de la souche <i>Escherichia</i>.</p>	
Mots-clefs : Bunium incrassatum, Dolomiaea costus, Polyphénols, Flavonoïdes, activité antioxydante, activité enzymatique, activité antibactérienne.	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de biochimie, faculté de Science de la Nature et de la Vie (Université des Frères Mentouri Constantine 1), laboratoire de biochimie, laboratoire de bactériologie du Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine	
Président du jury :	Dr.MOUSSAOUI. Samira (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).
Encadrant :	Dr.MADI Aicha (MCA– U Constantine 1 Frères Mentouri).
Co-encadrante :	Dr.NAOUI Amira (MRA- CRBT Constantine).
Examineur :	Dr.HALMI Sihem (MCA- U Constantine 1 Frères Mentouri).