



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



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie

قسم : الكيمياء الحيوية

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 :

Exploration phytochimique et évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes d'une plante médicinale endémique.

Présenté par : GHERISSI Djihane

Le : .../06/2025

AMIMOUR Chahrazed

Jury d'évaluation :

Président :	BOUKHALFA Hayat	Dr - UConstantine 1 Frères Mentouri.
Encadrant :	DELLOUCHE Aziza	Dr – UConstantine3 Salah Boubnider
Examineur :	MAMERI Yazid	Dr – UConstantine3Salah Boubnider

Année universitaire
2024 - 2025

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, nous adressons nos plus sincères remerciements à Dieu, pour nous avoir accordé la santé, la force et la patience nécessaires à la réalisation de ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Madame **Dellouche Aziza**, notre encadrante, pour sa disponibilité, ses précieux conseils et son implication constante tout au long de ce projet. Son accompagnement bienveillant a été essentiel à l'aboutissement de ce travail.

Nous remercions également Madame **Boukhalfa Hayat**, pour avoir accepté de présider le jury de notre soutenance, ainsi que Monsieur **Mameri Yazid**, pour avoir accepté d'évaluer ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent également à Madame **Chafika**, ingénieure de laboratoire, pour son aide précieuse et sa disponibilité au sein du laboratoire de biochimie. Nous remercions aussi Monsieur **Bensouici Chaouki**, Directeur de recherche du laboratoire de contrôle de qualité au CRBt, ainsi que l'ensemble de l'équipe pour leur accueil et leur collaboration pour la réalisation de quelques activités. Sans oublier de remercier, madame **Zehani Lamia**, enseignante au département de biologie animale, pour sa contribution dans la réalisation de certains tests.

Enfin, nous remercions chaleureusement toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à notre formation, ainsi que celles qui nous ont soutenus, encouragés et accompagnés durant ce parcours.

Dédicaces

C'est avec l'aide et la grâce de Dieu qu'on a achevé ce travail, Que je dédie :

A mes parents pour l'éducation qu'ils m'ont prodiguée, pour leur Soutien, leur confiance ainsi
que leurs prières tout au long de mes etudes.

A

Ma chère maman Nadjat Allah yarhamha

Mon Cher père Massaoud

Mes aimables frères «Achraf&fadi

Mon petit roi sadjed

Mes petites princesses siriné et loudji

Mon arme de l'ombre sissinou

Mon cher oncle Mohammed

A ma précieuse amie « Chahra » que je remercie pour sa ponctualité, son Perfectionnisme
ainsi que sa volonté tout au long de la réalisation de ce travail.

A mes adorables amis : «Wissam et roumy» Avec qui j'ai partagé des moments de joie et de
bonheur.

Djihane

Dédicaces

Je dédie ce travail à ce que j'ai de plus précieux, mes chers parents : ma mère Hafida et mon père Kamal.

À mes frères, mon soutien dans la vie :Foad,Djalil,Walid, Islam, Ishak. et Mohsen.

À ma binôme et amie intime, celle qui a partagé avec moi les moments de joie et de difficulté pendant ce travail, Djihane.

À mes chères amies de l'université : Omaima. Romaisa. Amira. Pour mon soutien et mes encouragements, merci d'avoir facilité et embelli mon parcours vers l'obtention de mon diplôme

Chahrazed

TABLES DE MATIERES

Tables de matières	iv
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des abréviations	viii
Introduction	1
CHAPITRE I: ETUDE BIBLIOGRAPHYQUE	3
I.1 Présentation générale de l'espèce	4
I.2 Description botanique de <i>Hertia cheirifolia</i>	4
I.2.1 Nomenclature et classification	4
I.2.2 Morphologie générale	5
I.2.3 Caractères morphologiques détaillés	5
I.3 Classification botanique : (Quézel P <i>et al.</i> , 1963)	6
I.4 Importance écologique et ethnobotanique de <i>Hertia cheirifolia</i>	6
I.4.1 Rôle écologique	6
I.4.2 Usages traditionnels	7
I.4.3 Intérêt pharmacologique	7
I.5 Importance écologique et ethnobotanique de <i>Hertia cheirifolia</i>	8
I.6 Substances naturelles bioactives	8
I.6.1 Les Flavonoïdes	9
I.6.2 Les Tanins	12
I.6.3 Les polyphénols	13
I.6.4 Les quinones	14
I.6.5 Les Alcaloïdes	14
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES	16
II.1 Préparation du matériel végétal	17
II.1.1 Description du site de récolte	17
II.1.2 Récolte	17
II.1.3 Préparation de l'extrait brut des fleurs	17
II.1.4 Calcul du rendement	19
II.2 Criblage phytochimique	19
II.2.1 Mise en évidence des tanins	19
II.2.2 Mise en évidence des alcaloïdes	19
II.2.3 Mise en évidence des flavonoïdes	19
II.2.4 Mise en évidence des saponines	19
II.2.5 Mise en évidence des quinones	19
II.3 Dosage des composés phénoliques	20
II.3.1 Dosage des polyphénols totaux	20
II.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux	21

II.4	Détermination des activités antioxydantes in vitro.....	22
II.4.1	L'activité scavenger du radical DPPH	22
II.4.2	L'activité Reducing power (FRAP).....	23
II.4.3	L'Activité scavenger ABTS	24
II.4.4	Evaluation de l'activité antioxydante par le test à l'o-phénanthroline	25
II.5	Activité antibactérienne.....	25
II.6	Activité inhibitrice de l' α amylase	27
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION		29
III.1	Criblage phytochimique des métabolites secondaires	30
III.1.1	Interprétation des résultats du criblage phytochimique	31
III.2	Analyse du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux.....	32
III.2.1	Principe du dosage par courbe d'étalonnage	32
III.2.2	Dosage des polyphénols totaux	32
III.2.3	Dosage des flavonoïdes totaux	33
III.3	Evaluation de l'activité antioxydante	34
III.3.1	Evaluation activité antioxydante DPPH	34
III.3.2	Evaluation de l'activité antioxydante ABTS ⁺ •	35
III.4	Evaluation de l'activité antibactérienne	36
III.4.1	Résultats et discussion.....	36
III.5	Évaluation de l'activité enzymatique	37
III.6	Conclusion et perspectives	38
References		40
Annexes		44

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Photographie de <i>Hertia cheirifolia</i> L	5
Figure 2: Structure de base de Flavonoïde	10
Figure 3: Structure de Flavanone	11
Figure 4: Structure d'aurone.	11
Figure 5: Structure de Dihydrochalcone.	12
Figure 6: Structure de tanins	13
Figure 7: Structure d'acide phénolique	13
Figure 8: Structure d'acide phénolique	14
Figure 9: Isoquinolines : hydrohydrastinine, papavérine, ecteinascidine 743, (+)-cularine, (-)- morphine, (-)-licorine	15
Figure 10: Photo géographique de site de la récolte (Batna).	17
Figure 11: Structure chimique du radical libre DPPH · (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle).	22
Figure 12: Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl).....	23

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Résultats Screening Phytochimique de l'extrait brut des fleurs (<i>Hertia cheirifolia</i>)	30
Tableau 2: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes	33
Tableau 3: Résultats tests activités antioxydantes.....	34
Tableau 4: Résultats activité DPPH	35
Tableau 5: Résultats activité ABTS ⁺ •	36
Tableau 6: Résultats Activité antibactérienne de l'extrait brut et des témoins	37

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviation Signification

% I	Pourcentage d'Inhibition
µg	Microgramme
µL	Microlitre
ABTS	Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ABTS⁺•	Radical cationique de l'ABTS
Ac	Absorbance du contrôle
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
As	Absorbance de l'échantillon
ATCC	American Type Culture Collection
BHT	Butylhydroxytoluène
CHCl₃	Chloroforme
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG	Équivalent Acide Gallique
EQ	Équivalent Quercétine
et al.	<i>et alii</i> (et autres)
FCR	Réactif de Folin-Ciocalteu
FeCl₃	Chlorure ferrique
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power (Pouvoir Antioxydant de Réduction du Fer)
GA	Acide Gallique (<i>Gallic Acid</i>)
HCl	Acide chlorhydrique
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
IC₅₀	Concentration inhibitrice 50 %
IKI	Iode Ioduré de Potassium
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
KOH	Hydroxyde de potassium (Potasse)
MeOH	Méthanol
mg	Milligramme
mL	Millilitre
NA	Non Applicable / Pas d'activité
NaCl	Chlorure de sodium
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium (Soude)
Q	Quercétine
R²	Coefficient de détermination
T°	Température
TCA	Acide trichloroacétique

UFC	Unité Formant Colonie
UV	Ultraviolet

INTRODUCTION

Les plantes médicinales suscitent un intérêt croissant en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. Aujourd'hui, la découverte de nombreuses molécules bioactives issues de milliers d'espèces végétales constitue une ressource biogénique majeure pour le développement pharmaceutique. Ces substances actives, appartenant à la catégorie des métabolites secondaires, sont produites par diverses espèces végétales et se caractérisent par une grande diversité structurale. Les polyphénols sont parmi ces molécules bioactives, largement retrouvées chez les végétaux. Ils sont de plus en plus reconnus pour leurs diverses activités biologiques, dont la plus importante étant l'activité antioxydante (**Nawazet al., 2006**).

Par ailleurs, le stress oxydatif est un processus biologique caractérisé par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène, souvent sous forme de radicaux libres, dépassant les capacités de défense du système antioxydant de l'organisme (**Birben, 2012**).

Pour contrer les effets néfastes des espèces oxydantes, les organismes vivants disposent d'un système antioxydant endogène, composé de médiateurs enzymatiques et non enzymatiques. En complément, des antioxydants exogènes, principalement issus de l'alimentation, contribuent efficacement au renforcement de ce système de défense naturel (**Heim et al., 2002**).

L'objectif principal de notre travail est l'évaluation des activités biologiques spécifiques de *Hertia cheirifolia*, en mettant l'accent sur leurs propriétés antioxydantes, enzymatiques et antibactériennes. En effet, nous avons effectué des tests de la mise en évidence des métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tanins..., qui contribuent aux propriétés nutritionnelles et thérapeutiques de cette plante. Cette analyse a permis également de quantifier quelques composés bioactifs, tels que les flavonoïdes et les polyphénols.

Notre étude se repartie en trois chapitres :

- ✓ Chapitre 1 : Etude bibliographique
- ✓ Chapitre 2 : Matériel et méthodes
- ✓ Chapitre 3 : Résultats et discussions

CHAPITRE I: ETUDE BIBLIOGRAPHYQUE

I.1 Présentation générale de l'espèce

Hertia cheirifolia est une espèce plante aromatique endémique appartenant à la famille des Asteraceae, également connue sous le nom de Composées. Cette famille, l'une des plus vastes parmi les plantes à fleurs, compte environ 23 000 espèces réparties dans près de 1 500 genres, dont environ 750 espèces endémiques (Barreda et al., 2015).

Les Asteraceae se distinguent par leur grande diversité morphologique et écologique, incluant principalement des espèces herbacées, mais aussi des arbustes, des sous-arbrisseaux, et, plus rarement, des arbres ou des lianes. Le feuillage présente une grande variabilité : il peut être alterné, opposé ou verticillé, avec des feuilles simples, parfois lobées, disséquées ou denticulées selon les espèces (Walters et al. 2002).

Le genre *Hertia*, appartenant à cette famille, comprend douze espèces connues, principalement distribuées dans les régions arides et semi-arides d'Afrique du Nord et du Sud, ainsi qu'en Asie du Sud-Ouest (Akhgar et al., 2012). Ce genre est souvent caractérisé par des plantes xérophiles adaptées aux climats rudes, dotées de structures anatomiques spécifiques leur permettant de résister à la sécheresse.

I.2 Description botanique de *Hertia cheirifolia*

I.2.1 Nomenclature et classification

Le nom scientifique accepté de cette espèce est *Hertia cheirifolia* (L.) Kuntze, mais elle est également connue sous le synonyme botanique *Othonnopsis cheirifolia* (Massiot et al, 1990). Elle est classée comme espèce herbacée vivace, appartenant à la tribu des Inuleae, dans la sous-famille des Asteroideae, au sein des Asteraceae.



Figure 1: Photographie de *Hertia cheirifolia* L

I.2.2 Morphologie générale

Port de la plante : *Hertia cheirifolia* se présente comme un sous-arbrisseau vivace aromatique, atteignant une hauteur de 20 à 30 cm, avec une base lignifiée formant une souche semi-ligneuse.

Distribution géographique : Elle est présente dans les régions semi-arides à arides de l'Est algérien, notamment sur les Hauts Plateaux, ainsi que dans le nord et le centre de la Tunisie, où elle pousse souvent en bordure des champs et dans des habitats rocheux ou sableux (Massiot et al, 1990 ; Ammar et al, 2009).

Habitat : Cette espèce est adaptée aux sols pauvres, calcaires ou sableux, et à des conditions climatiques rigoureuses, telles que des températures extrêmes et une faible pluviométrie.

I.2.3 Caractères morphologiques détaillés

Tiges : Les tiges mesurent entre 20 et 40 cm de longueur, sont érectes à ascendantes, et abondamment couvertes de feuilles.

Feuilles : Les feuilles sont persistantes, charnues, de couleur vert-grisâtre, et disposées de façon alterne selon une phyllotaxie en spirale. Elles sont de forme spatulée (élargies au sommet, rétrécies vers la base), pétiolées, à bord entier, sans dents ni lobes (Burnie et al., 2006).

Inflorescence : L'inflorescence est typique des Asteraceae, constituée de capitules solitaires de 2 à 3 cm de diamètre, portés par des pédoncules nus élargis au sommet.

Capitule : Il est entouré de bractées involuquées oblongues, disposées en plusieurs rangées. Les fleurs sont jaune citron, de type tubulé ou ligulé, selon la spécialisation florale (Quézel et al. 1963).

Fruits : La fructification donne naissance à des akènes, fruits secs indéhiscent typiques de la famille, surmontés d'un Pappus formé de soies plumeuses facilitant la dispersion par le vent (anémochorie).

Floraison : La période de floraison se situe au début du printemps, généralement entre mars et avril, selon les conditions climatiques locales (Quézel et al., 1963).

I.3 Classification botanique : (Quézel P et al., 1963)

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Superdivision : *Spermatophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Asterales*

Famille : *Asteraceae*

Genre : *Hertia*

Espèce : *Hertia cheirifolia* L.

I.4 Importance écologique et ethnobotanique de *Hertia cheirifolia*

I.4.1 Rôle écologique

Hertia cheirifolia joue un rôle significatif dans les écosystèmes arides et semi-arides du Maghreb. En raison de son système racinaire développé et de sa capacité d'adaptation aux conditions climatiques extrêmes (sécheresse, forte irradiation, sol pauvre), elle contribue à :

La stabilisation des sols contre l'érosion éolienne et hydrique ;

La préservation de la biodiversité végétale, en offrant un microhabitat favorable à d'autres espèces ;

L'adaptation au stress hydrique, via des adaptations morpho-anatomiques telles que l'accumulation d'eau dans les tissus foliaires (succulence) et une cuticule épaisse.

Cette capacité d'adaptation est caractéristique des xérophytes endémiques du bassin méditerranéen (Quézel, 1965 ; Le Houérou, 1995).

I.4.2 Usages traditionnels

Dans la médecine traditionnelle d'Afrique du Nord, *Hertia cheirifolia* est utilisée pour traiter diverses affections, notamment : les inflammations cutanées, les troubles digestifs (ballonnements, crampes), les infections respiratoires, ainsi que pour ses propriétés antispasmodiques et antiseptiques.

Les populations locales emploient généralement les feuilles séchées ou les inflorescences sous forme de décoctions ou de cataplasmes. Cette utilisation ethnobotanique est appuyée par plusieurs études modernes qui ont mis en évidence des propriétés pharmacologiques liées à ses composés bioactifs.

I.4.3 Intérêt pharmacologique

Les extraits de *Hertia cheirifolia*, notamment ceux obtenus par hydrodistillation ou extraction au solvant, ont démontré des activités antioxydantes, antimicrobiennes, et anti-inflammatoires *in vitro*. Ces propriétés sont attribuées à la présence de métabolites secondaires tels que :

Les flavonoïdes, les sesquiterpènes lactones, les acides phénoliques, et les monoterpènes oxygénés.

Ces composés bioactifs font de cette plante une cible prometteuse pour le développement de médicaments phytothérapeutiques, en particulier dans les contextes de résistance aux antibiotiques ou de stress oxydatif cellulaire.

I.5 Importance écologique et ethnobotanique de *Hertia cheirifolia*

Hertia cheirifolia occupe une place importante dans les écosystèmes des régions arides et semi-arides du Maghreb, en particulier dans les zones steppiques de l'est algérien et du centre-nord tunisien. Cette espèce xérophile, grâce à ses adaptations morphologiques et physiologiques, joue un rôle essentiel dans la stabilisation des sols et la lutte contre l'érosion, particulièrement dans les milieux exposés à de fortes pressions climatiques. Son système racinaire étendu, sa morphologie en touffes compactes et son feuillage charnu permettent une meilleure rétention de l'humidité et contribuent à la résilience écologique des habitats dans lesquels elle est présente (Quézel, 1965 ; Le Houérou, 1995).

Sur le plan ethnobotanique, *Hertia cheirifolia* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle nord-africaine. Les populations locales emploient principalement les feuilles et les inflorescences séchées, soit sous forme de décoctions, soit en application locale sous forme de cataplasmes, pour traiter diverses affections. Parmi les usages les plus fréquents, on peut citer le traitement des troubles digestifs (ballonnements, spasmes), des affections respiratoires (rhumes, toux), ainsi que des inflammations cutanées. Ces pratiques traditionnelles témoignent d'une connaissance empirique ancienne du potentiel thérapeutique de cette espèce (Ammar *et al.*, 2009 ; Bouzabata *et al.*, 2015).

Les recherches récentes ont permis de valider certaines de ces utilisations traditionnelles à travers des études phytochimiques et pharmacologiques. Les extraits de *Hertia cheirifolia*, obtenus par diverses méthodes d'extraction (hydrodistillation, macération, Soxhlet), ont révélé une activité antioxydante notable, ainsi qu'une action antimicrobienne contre plusieurs souches pathogènes. Ces propriétés biologiques sont attribuées à la richesse en métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les acides phénoliques, les sesquiterpènes lactones, ainsi que certains monoterpènes oxygénés (Massiot *et al.*, 1990 ; Dhouioui *et al.*, 2016 ; Akrouit *et al.*, 2011).

Ces résultats soutiennent l'intérêt croissant de la communauté scientifique pour cette espèce, en tant que source naturelle de composés bioactifs, et justifient son potentiel pour le développement de formulations thérapeutiques à base de plantes, en particulier dans un contexte de recherche d'alternatives aux antimicrobiens synthétiques.

I.6 Substances naturelles bioactives

Les métabolites secondaires sont des composés organiques de faible poids moléculaire synthétisés par les organismes vivants, principalement les plantes, en réponse à des stimuli

environnementaux spécifiques. Ces signaux peuvent être abiotiques (stress hydrique, rayonnement UV, température extrême) ou biotiques (infections pathogènes, herbivorie, interactions interspécifiques) (Tiwari & Rana, 2015 ; Olivoto *et al.* 2017). Bien que non essentiels à la survie immédiate de l'organisme, ces substances assurent des fonctions adaptatives majeures, notamment dans les mécanismes de défense, la signalisation cellulaire, la reproduction, ainsi que dans l'attraction des pollinisateurs.

Ces métabolites, issus du métabolisme primaire via des voies biosynthétiques spécifiques (shikimate, acétate-malonate, mevalonate, etc.), constituent un groupe extrêmement diversifié sur le plan chimique. Ils incluent notamment les alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes, phénols et saponines. Une grande partie de ces composés présente des activités pharmacologiques reconnues, justifiant leur intérêt dans la recherche biomédicale, notamment pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Taiz & Zeiger, 2010 ; Ncube *et al.* 2012 ; Wink, 2015).

I.6.1 Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques aromatiques largement répandus dans le règne végétal. Leur structure de base est celle du noyau flavan (2-phénylchromane), constitué de trois cycles : deux cycles benzéniques (A et B) et un cycle hétérocyclique central (C). Le cycle A est généralement situé en C6, tandis que le cycle B est attaché en C2 ou C3 du cycle C. Ces composés résultent de la condensation de l'acide cinnamique avec trois unités de malonyl-CoA, par l'intermédiaire de la voie du shikimate et du phénylpropanoïde (Maru *et al.* 2014 ; Panche *et al.* 2016).

Les flavonoïdes se présentent souvent sous forme glycosylée, c'est-à-dire conjugués à un ou plusieurs sucres (glucose, rhamnose, etc.), ce qui influence leur solubilité, leur stabilité et leur biodisponibilité. Ils jouent un rôle physiologique majeur dans les plantes, notamment en participant à la pigmentation des fleurs, des fruits et des feuilles, favorisant ainsi la pollinisation et la dissémination des graines (Panche *et al.* 2016).

Sur le plan nutritionnel, les flavonoïdes sont abondamment présents dans l'alimentation humaine, principalement dans les fruits et légumes (pommes, agrumes, baies, oignons, etc.), mais aussi dans des boissons d'origine végétale telles que le thé, le vin rouge, la bière, le lait de soja, et le chocolat noir (Beking & Vieira, 2010).

Selon leur structure et le degré d'oxygénation du cycle C, les flavonoïdes sont classés en plusieurs sous-familles :

- les flavones (ex. : apigénine),
- les flavonols (ex. : quercétine),
- les flavanols ou catéchines,
- les isoflavones,
- et les anthocyanidines, responsables des couleurs rouge, bleue ou violette des végétaux.

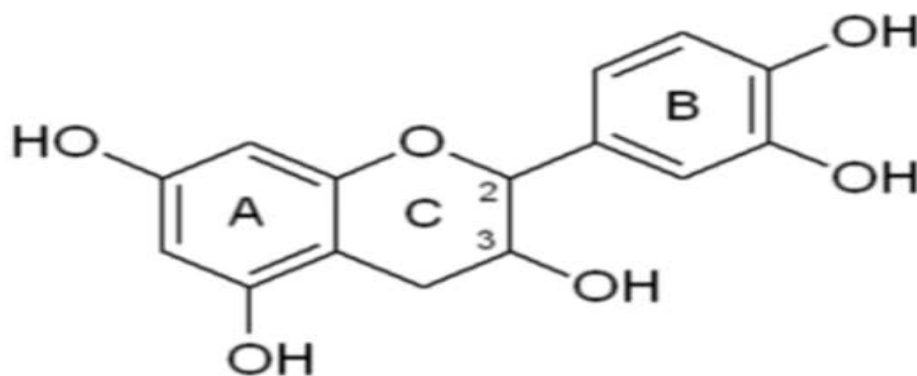


Figure 2: Structure de base de Flavonoïde

I.6.1.1 Flavanones

Les flavanones sont une sous-classe de flavonoïdes caractérisée par la saturation de la liaison C2=C3 du cycle central, ce qui leur confère une structure plus stable et une conformation spatiale distincte. Souvent présentes dans les plantes sous forme de glycosides. (Merriam W., 2017). Grâce à leur biodisponibilité et à leur sécurité d'utilisation, elles sont considérées comme des composés prometteurs dans la prévention et la prise en charge des maladies chroniques d'origine métabolique ou inflammatoire.

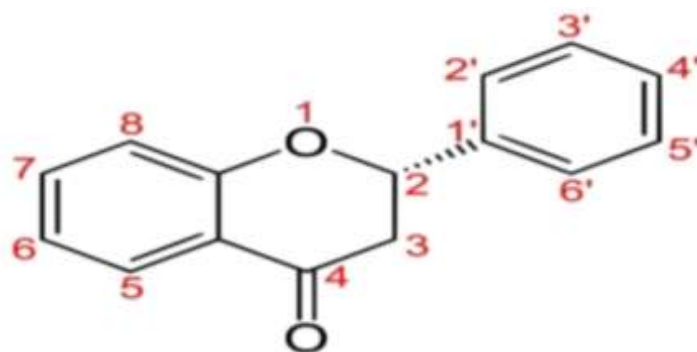


Figure 3: Structure de Flavanone

I.6.1.2 Aurones

Les aurones sont une sous-classe spécifique de flavonoïdes naturellement présents dans certaines fleurs, telles que le mufler, le dahlia ou le coréopsis, leur donnant une teinte jaune d'or. Isomères structuraux des flavones, les aurones possèdent diverses propriétés biologiques, notamment antioxydantes, anticancéreuses et antiparasitaires (Brouillard, R et *al.*1993).

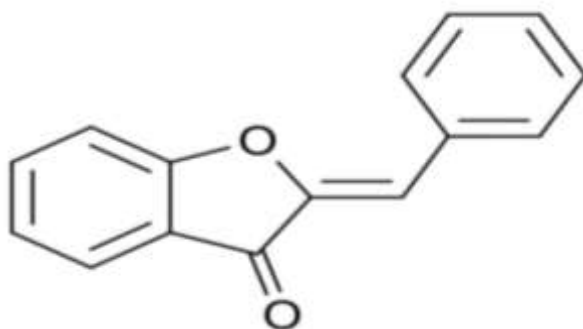


Figure 4: Structure d'aurone.

I.6.1.3 Dihydrochalcone

Le Dihydrochalcone (DHC) est un composé organique de la famille des flavonoïdes, dont la formule chimique est $C_6H_5C(O)(CH_2)_2C_6H_5$. Il résulte de la réduction de la chalcone ($C_6H_5C(O)(CH)=CHC_6H_5$), par saturation de la double liaison α,β -insaturée du groupe carbonyle. Ce composé se présente sous forme d'un solide blanc, généralement soluble dans divers solvants organiques. Bien que le DHC lui-même soit peu étudié en tant que molécule isolée, plusieurs dérivés naturels appartenant à cette classe ont suscité un intérêt pharmacologique croissant, en raison de leurs activités biologiques variées, notamment

antioxydantes, édulcorantes, anti-inflammatoires, et anticancéreuses (Tomás-Barberán *et al.* 2000).

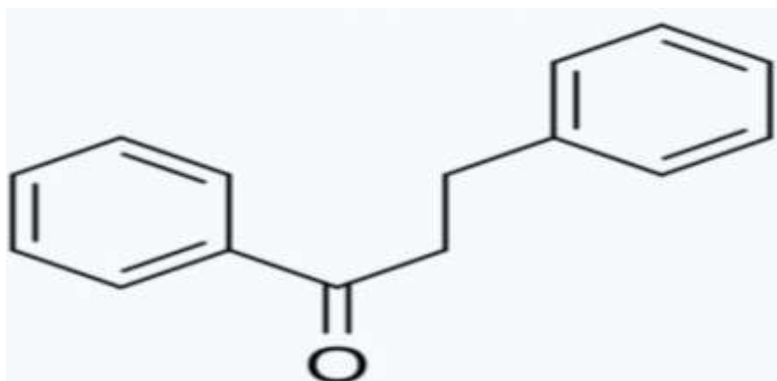


Figure 5: Structure de Dihydrochalcone.

I.6.2 Les Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques d'origine végétale, généralement hydrosolubles, capables de précipiter les protéines, les alcaloïdes ou encore les polysaccharides en solution aqueuse (Bruneton, 2009 ; Ozcan et al., 2014 ; Commission of the European Communities, 1973). Ils constituent la quatrième famille de composés les plus abondants chez les plantes, après la cellulose, les hémicelluloses et les lignines. Bien que leur teneur moyenne dans les plantes soit inférieure à 1 % du poids sec, leur concentration peut s'élever jusqu'à 15–25 % dans les feuilles, 40 % dans l'écorce, et atteindre 50 % dans certaines galles (Harborne, 1989). Sur le plan fonctionnel, les tanins jouent un rôle majeur en tant que métabolites secondaires de défense. Ils interviennent dans les mécanismes de protection des végétaux (arbres, plantes herbacées, fleurs, etc.) en agissant contre les microorganismes pathogènes, les insectes phytophages, et les herbivores, notamment en réduisant la digestibilité des tissus végétaux ou en inhibant des enzymes clés du métabolisme des envahisseurs. On rencontre plusieurs types (Les gallotanins, Les ellagitannins, Les tanins complexes et les Les tanins condensés)

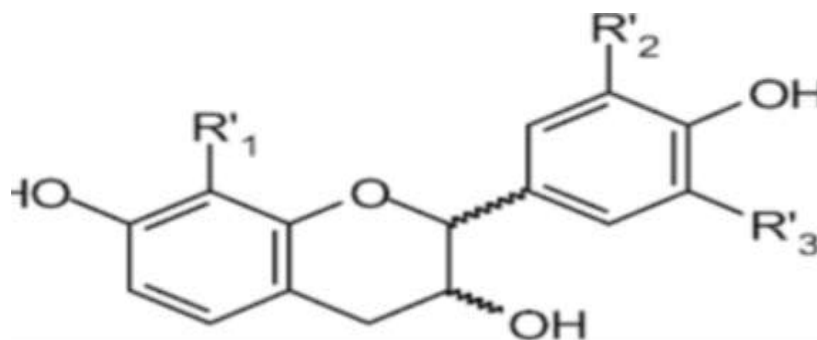


Figure 6: Structure de tanins

I.6.3 Les polyphénols

Les polyphénols constituent une large famille de composés organiques naturels, présents en abondance dans le règne végétal. Leur structure chimique est caractérisée par la présence d'au moins deux groupes phénoliques, liés entre eux de manière plus ou moins complexe, souvent au sein de molécules de poids moléculaire élevé (Quideau et al., 2011 ; MeSH Database, 2015). Ces composés sont issus du métabolisme secondaire des plantes, notamment des voies du shikimate et du phénylpropanoïde. L'intérêt pour les polyphénols ne cesse de croître, en raison de leurs propriétés biologiques remarquables, notamment leur capacité à agir comme antioxydants naturels. Ils jouent un rôle potentiel dans la prévention et la modulation de nombreuses pathologies chroniques, telles que les cancers (Chen et al., 2004), les maladies cardiovasculaires (Frankel et al., 1993), les affections inflammatoires (Laughton et al., 1991) et les troubles neurodégénératifs (Orgogozo et al., 1997). En dehors de leurs applications thérapeutiques, les polyphénols sont également utilisés comme additifs fonctionnels dans les secteurs agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (3rd International Conference on Polyphenols Applications, 2006). On distingue parmi cette classe : Les acides phénoliques, L'acide chlorogénique, les Stilbènes, les Lignanes et les Coumarines comme exemples (Figure 7 et 8)

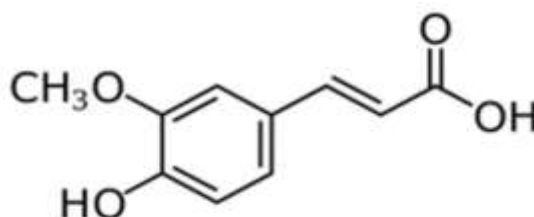


Figure 7: Structure d'un acide phénolique

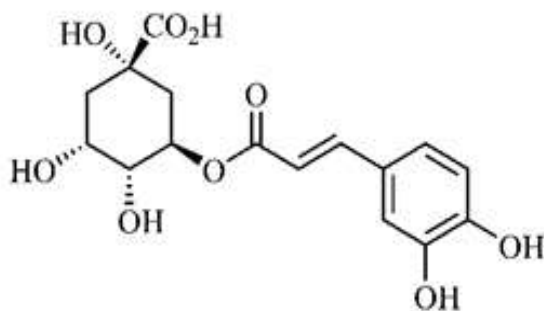


Figure 8: Structure d'un acide chlorogénique

I.6.4 Les quinones

Les quinones forment une classe importante de composés organiques aromatiques oxydés, dérivant formellement de structures telles que le benzène ou le naphthalène, par substitution de groupes carbonyles en positions conjuguées (IUPAC, *Compendium of Chemical Terminology* ; Patai, 1998). Sur le plan fonctionnel, les quinones jouent un rôle essentiel dans les processus biologiques de transfert d'électrons, notamment dans la chaîne respiratoire mitochondriale, où elles interviennent au niveau de la membrane interne. Elles sont également impliquées dans la photosynthèse, en assurant le transport des électrons à travers la membrane des thylakoïdes des chloroplastes (Peter *et al.* 2003).

I.6.5 Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes forment une importante classe de métabolites secondaires azotés, regroupant près de 12 000 molécules identifiées à ce jour. Ils sont majoritairement produits par des plantes supérieures, notamment au sein des familles botaniques telles que les Apocynaceae, Asteraceae, et Solanaceae (Qiu *et al.* 2014 ; Ncube & Van Staden, 2015 ; Wink, 2015).

Sur le plan chimique, les alcaloïdes sont des composés organiques de faible masse moléculaire, généralement issus de la biosynthèse des acides aminés (tryptophane, tyrosine, ornithine, lysine, etc.). Leur caractéristique structurale essentielle est la présence d'au moins un atome d'azote incorporé dans un cycle hétérocyclique, ce qui conditionne leur réactivité biologique (Wink, 2015).

Les alcaloïdes possèdent une large gamme d'activités pharmacologiques (Kaur *et al.* 2015 ; Ncube *et al.* 2015).

Ces propriétés expliquent leur usage traditionnel et moderne en pharmacopée, où ils sont valorisés pour leurs effets analgésiques (ex. : morphine), myorelaxants (ex. : tubocurarine), tranquillisants (ex. : réserpine), ou encore anticancéreux (ex. : vinblastine, camptothécine) (Wink, 2015 ; Roy, 2017).

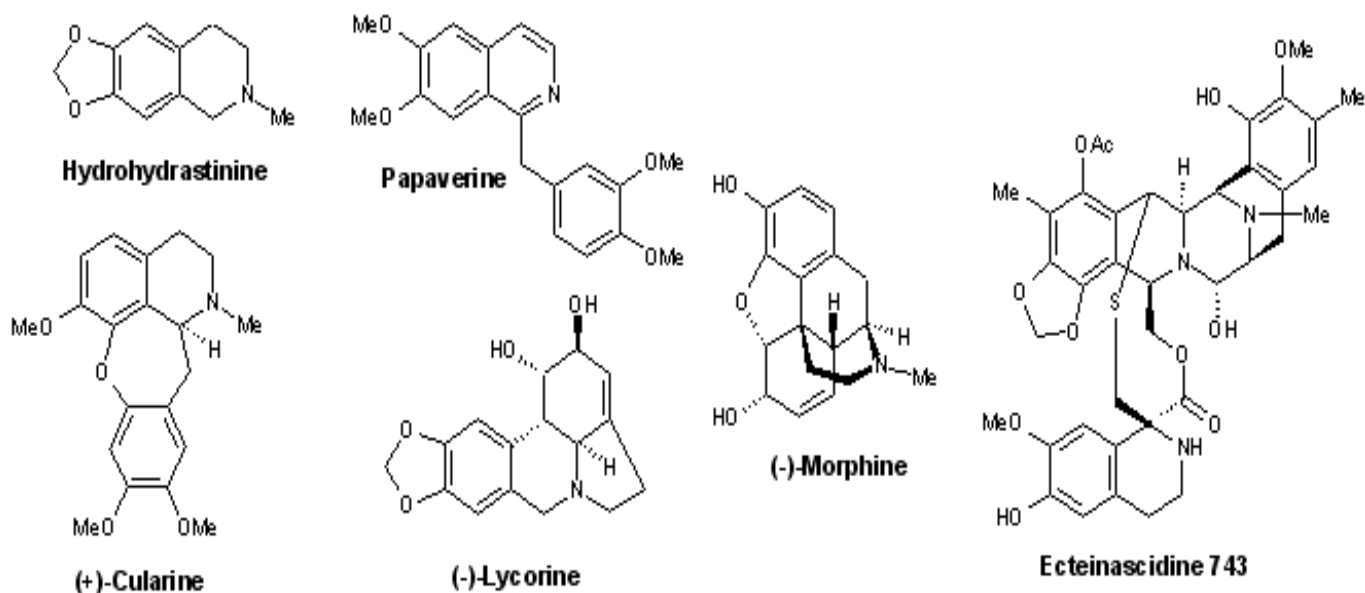


Figure 9: Isoquinolines

Enfin, la classification des alcaloïdes peut être réalisée selon plusieurs critères à savoir :

- leur structure chimique (alcaloïdes pyrrolidiniques, isoquinoléiques, indoliques, etc.),
- leur précurseur biosynthétique (acide aminé d'origine),
- ou encore la famille botanique des plantes qui les produisent (Qiu *et al.* 2014 ; Kaur *et al.*, 2015 ; Roy, 2017). Parmi les alcaloïdes connus on cite notamment : les Dérivés de la L-ornithine, les dérivés de la L-lysine, de la L-tyrosine ou de la L-phénylalanine, de l'acide anthranilique et des purines

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II.1 Préparation du matériel végétal

II.1.1 Description du site de récolte

La plante étudiée a été récoltée en pleine floraison dans la région d'Ain Touta, située dans la wilaya de Batna, au nord-est de l'Algérie, au cœur de la région montagneuse des Aurès.



Figure 10: Photo géographique du site de la récolte (Batna).

II.1.2 Récolte

L'identification de la plante a été confirmée selon Kezel et Santa. Après récolte, elle a été séchée à l'air libre, à l'abri de la lumière directe du soleil.

II.1.3 Préparation de l'extrait brut des fleurs

La partie de plante étudiée (**fleurs**) a été récoltée en pleine floraison dans la région de Batna (Algérie), et son identification botanique a été confirmée selon les critères de Kezel et Santa.

Après la récolte, les fleurs ont été soigneusement séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière directe du soleil, afin de préserver leurs composés bioactifs. Une fois entièrement sèches, les fleurs ont été soumises à une extraction par macération dans un mélange hydro-méthanolique (méthanol/eau, 80:20, v/v). La macération a été effectuée à température ambiante et répétée trois fois, chacune, durant sept jours, afin d'optimiser l'extraction des composés. L'extrait obtenu a été filtré, puis le solvant a été éliminé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C. L'extrait méthanolique sec d'aspect pâteux et de couleur marron, a ensuite été conservé dans un récipient hermétiquement fermé, à l'abri de l'humidité et de la lumière, jusqu'à son utilisation (Schéma ci-dessous).

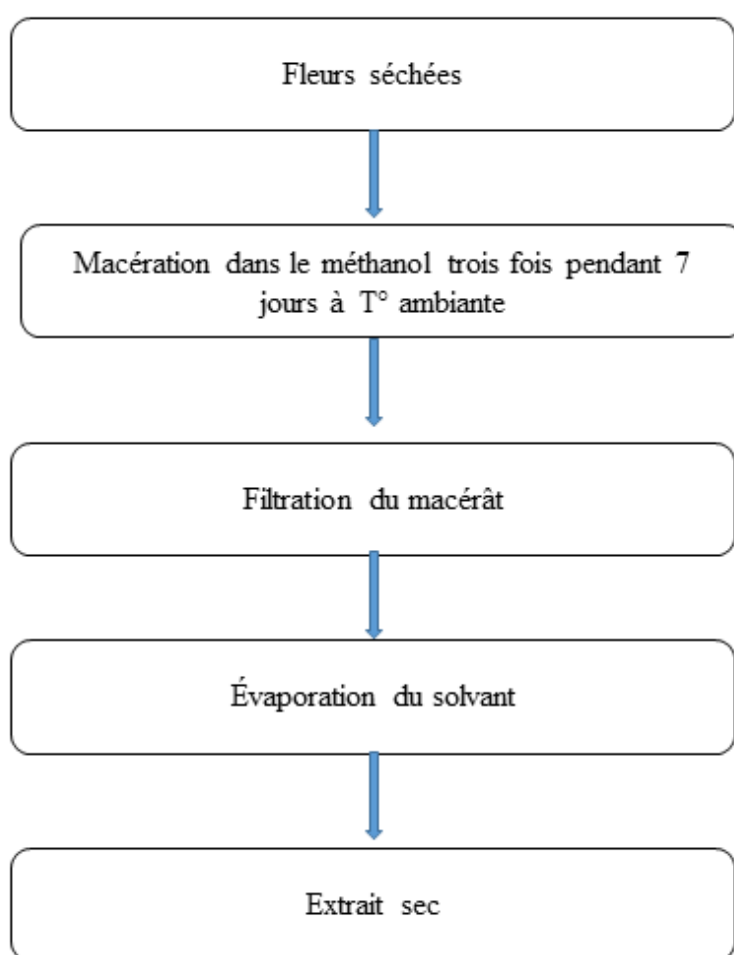


Schéma 1. Etapes d'obtention de l'extrait sec des fleurs de *Hertia Cherifolia*.

II.1.4 Calcul du rendement

À partir de 100 g de fleurs sèches, 8,34 g d'extrait brut ont été récupérés après évaporation du solvant.

Le rendement d'extraction a ainsi été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse de l'extrait sec} / \text{Masse de la plante sèche}) \times 100$$

Ce qui donne un rendement de :

$$\text{Rendement} = (8,34 / 100) \times 100 = 8,34\%$$

II.2 Criblage phytochimique

II.2.1 Mise en évidence des tanins

L'identification des tanins a été réalisée en ajoutant quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1,5 mL de l'extrait végétal. L'apparition d'une coloration verte indique la présence de tanins.

II.2.2 Mise en évidence des alcaloïdes

Pour la détection des alcaloïdes, un test colorimétrique a été utilisé :

Dans un premier tube, 5 gouttes de réactif de Dragendorff ont été ajoutées à 1 mL de la solution mère (extrait + méthanol). Le développement d'une coloration rouge-orangé confirme la présence d'alcaloïdes.

II.2.3 Mise en évidence des flavonoïdes

Pour détecter les flavonoïdes, 5 gouttes de NaOH (hydroxyde de sodium) ont été ajoutées à 1 mL d'extrait. Après un temps de réaction de 5 minutes, quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) ont été introduites. La formation d'une coloration jaune foncée révèle la présence de flavonoïdes.

II.2.4 Mise en évidence des saponines

La recherche des saponines a été effectuée en mélangeant 1 mL d'extrait avec 1 mL d'éthanol (dilution) puis 1 mL d'eau distillée. L'apparition d'une mousse stable après agitation indique la présence de saponines dans l'extrait.

II.2.5 Mise en évidence des quinones

Pour la détection des quinones, 1 ml d'extrait a été mélangé à 1 mL de chloroforme (CHCl_3), suivi de l'ajout de 1 mL de KOH à 5 %. Après un temps de repos de 15 minutes, l'apparition d'une coloration rouge, violette ou jaune-orangé dans la phase organique révèle la présence de quinones.

II.3 Dosage des composés phénoliques

II.3.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu, selon la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965). Cette méthode repose sur la capacité des composés phénoliques à réduire les hétéropolyacides phosphotungstiques et phosphomolybdiques présents dans le réactif, générant une coloration bleue mesurable par spectrophotométrie.

a. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). En milieu alcalin, ces composés sont réduits lors de l'oxydation des groupements phénoliques, formant des oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleue. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques totaux présents dans l'échantillon. L'absorbance maximale est observée dans la plage de 750 à 765 nm.

L'acide gallique est utilisé comme standard de référence, permettant l'expression des résultats en μg équivalent d'acide gallique par millilitre d'extrait (μg EqAG/ml).

b. Mode opératoire

Des solutions de l'extrait ont été préparées à différentes concentrations : 50, 100, 200, 300, 400 et 500 $\mu\text{g/mL}$.

Dans des tubes à essai, 125 μl de chaque concentration d'extrait ont été ajoutés à 125 μl du réactif de Folin-Ciocalteu (préalablement dilué au $1/10^\circ$).

Après un temps de réaction de 3 minutes, 1 250 μl d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (concentration entre 2 % et 7 %) ont été ajoutés. Les mélanges ont été incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 90 minutes. À l'issue de l'incubation, l'absorbance des solutions a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc réactionnel (ne contenant pas d'extrait). En parallèle, une courbe d'étalonnage a été

établie à partir de solutions étalons d'acide gallique (50 à 500 µg/ml) traitées selon les mêmes conditions.

II.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

a. Principe

La quantification des flavonoïdes totaux repose sur la formation d'un complexe stable entre les ions aluminium (Al^{3+}) et les groupements hydroxyles des flavonoïdes présents dans les extraits végétaux. Cette méthode, décrite par Türkoğlu *et al.* (2007), conduit à la formation d'un complexe coloré dont l'intensité peut être mesurée par spectrophotométrie. L'intensité de l'absorbance est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes. Les résultats sont exprimés en µg équivalents de quercétine par millilitre d'extrait (µg EqQ/ml).

b. Mode opératoire

Une solution mère de 1 mg/ml a été préparée.

1. Des solutions de l'extrait ont été préparées à différentes concentrations : 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 et 200 µg/ml.
2. Dans des tubes à essai, on a introduit successivement :
 - 250 µL de l'extrait à tester,
 - 2 550 µL de méthanol (MeOH),
 - 100 µL de solution de nitrate d'aluminium $[\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}]$,
 - 100 µL d'acétate de potassium (CH_3COOK).
3. Le mélange a été incubé à température ambiante, à l'obscurité, pendant 40 minutes.
4. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc réactionnel (ne contenant pas d'extrait).
5. En parallèle, une courbe d'étalonnage a été établie à partir d'une série de concentrations croissantes de quercitrine standard (0 à 200 µg/ml), soumises aux mêmes conditions expérimentales.
6. La teneur en flavonoïdes totaux a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en mg équivalent quercitrine par millilitre d'extrait sec (µg EqQ/ml).

II.4 Détermination des activités antioxydantes in vitro

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Dans le cadre de notre étude, nous avons eu recours à divers tests chimiques, notamment, dans le cadre de la présente étude, plusieurs tests complémentaires ont été utilisés afin de couvrir différents mécanismes d'action antioxydante :

- Le test à l'o-phénanthroline, basé sur la complexation des ions ferreux ;
- Le test FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), qui évalue le pouvoir réducteur des extraits vis-à-vis des ions Fe^{3+} ;
- Le test de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), largement utilisé pour mesurer la capacité d'élimination des radicaux libres (effet scavenger).
- Le test ABTS (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) est une méthode colorimétrique qui repose sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical cationique $ABTS^{+\bullet}$, généré par réaction entre le sel ABTS et le persulfate de potassium.

II.4.1 L'activité scavenger du radical DPPH

Le test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode classique pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de plante en mesurant leur capacité à piéger les radicaux libres.

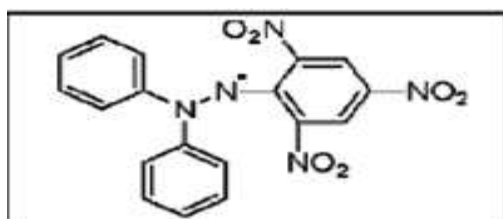


Figure 11: Structure chimique du radical libre DPPH • (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle).

a. Principe

La méthode repose sur la réduction du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Un composé antioxydant est capable de transférer un électron au radical DPPH, de couleur

violette dans sa forme oxydée, entraînant sa réduction et sa stabilisation en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), de couleur jaune-verte (**Maataoui et al.,2006**).

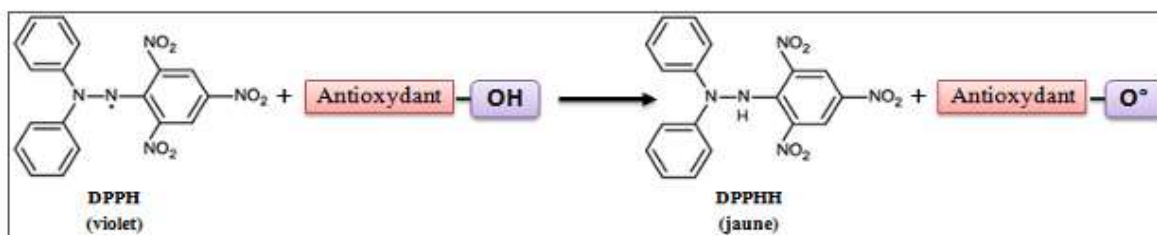


Figure 12: Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl).

b. Mode opératoire

Le protocole suivi est le suivant :

Des solutions de l'extrait (1 mg/ml) ont été préparées à différentes concentrations : (500, 250 ,125,62,5,31,25 µg/ml). Pour chaque concentration, 40 µl de l'extrait sont ajoutés à 160 µL d'une solution de DPPH.

Le mélange est ensuite incubé à l'obscurité, à température ambiante, pendant 30 minutes.

Après incubation, l'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc méthanol ne contenant pas d'extrait.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé, et les résultats sont souvent exprimés en IC₅₀ (concentration inhibant 50 % des radicaux), ou en µg EqTrolox/g lorsque comparés à un standard.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule rapportée ci-dessous :

$$\% I = (Ac - As) / Ac \times 100$$

Où Ac est l'absorbance du contrôle et As est l'absorbance de l'échantillon à tester

II.4.2 L'activité Reducing power (FRAP)

a. Principe

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode d'Oyaizu (1986) avec une légère modification. Le test FRAP repose sur la capacité des antioxydants à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) en milieu acide. Le fer réduit forme un complexe coloré avec le ferricyanure ou le chlorure ferrique, dont l'intensité est mesurée à 700 nm.

c. Mode opératoire

Le protocole expérimental suivi est le suivant : Solution mère (1 mg/ml)

1. Un mélange réactionnel est préparé en incorporant 10 μL d'extrait à 40 μl de tampon phosphate (pH 6,6).
2. À ce mélange, on ajoute 50 μl de solution de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 1%).
3. L'ensemble est ensuite incubé à 50 °C pendant 20 minutes.
4. Après incubation, on ajoute successivement :
 - 50 μl d'acide trichloroacétique (TCA, 10 %),
 - 40 μl d'eau distillée,
 - 10 μl de chlorure ferrique (FeCl_3 , 0,1 %).
5. La formation du complexe ferreux est alors évaluée par une lecture spectrophotométrique à 700 nm, contre un blanc réactionnel préparé dans les mêmes conditions sans extrait.
6. L'intensité de l'absorbance est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait.

II.4.3 L'Activité scavenger ABTS

a. Principe

Le test ABTS (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) permet d'évaluer l'activité scavenger des antioxydants vis-à-vis du radical cationique $\text{ABTS}^{+\bullet}$, un radical stable généré chimiquement. En présence d'un antioxydant, ce radical est réduit, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance mesurée à 734 nm. La méthode suivie est celle décrite par (Re et *al.* 1999).

b. Mode opératoire

40 µL d'extrait (4 mg/ml).à tester sont ajoutés à 160 µl de solution de radical ABTS⁺• préalablement préparée.

Le mélange est incubé à température ambiante pendant 10 minutes à l'abri de la lumière.

L'absorbance est ensuite mesurée à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc contenant les réactifs sans extrait.

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺• est calculé, selon l'équation citée en haut.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule rapportée ci-dessous :

$$\% I = (A_c - A_s) / A_c \times 100$$

Où A_c est l'absorbance du contrôle et A_s est l'absorbance de l'échantillon à tester

II.4.4 Evaluation de l'activité antioxydante par le test à l'o-phénanthroline

a. Principe

Ce test repose sur la capacité des composés antioxydants à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), lesquels forment ensuite un complexe coloré stable avec l'o-phénanthroline. Ce complexe, de couleur orangée, présente une absorption maximale à 510 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la capacité réductrice de l'échantillon. La méthode utilisée est celle décrite par (Szydlowska-Czerniak, 2008).

b. Mode opératoire

Dans des tubes à essai, on mélange, 10 µl d'extrait à tester, 50 µl de chlorure ferrique ($FeCl_3$, 0,2 %), 30 µl d'o-phénanthroline (0,5 %), 110 µl de méthanol (MeOH). Le mélange est ensuite incubé à 30 °C, à l'obscurité pendant 20 minutes. Après incubation, une lecture spectrophotométrique est réalisée à 510 nm.

Le BHT (butylhydroxytoluène) est utilisé comme antioxydant de référence, afin de comparer l'activité des extraits testés.

II.5 Activité antibactérienne

a .Introduction

Les infections bactériennes constituent un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, notamment en raison de l'émergence croissante de résistances aux antibiotiques conventionnels. Cette situation est particulièrement préoccupante dans les milieux hospitaliers où des bactéries multirésistantes, telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, sont fréquemment impliquées dans des infections nosocomiales sévères.

Face à cette menace, la recherche de nouvelles sources d'agents antimicrobiens s'impose comme une priorité. Parmi les pistes les plus prometteuses, l'étude des plantes médicinales suscite un intérêt croissant. Utilisées depuis des millénaires dans les médecines traditionnelles, de nombreuses espèces végétales sont aujourd'hui reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques liées à la présence de métabolites secondaires (alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponines, etc.), dont plusieurs ont démontré une activité antibactérienne.

Dans ce contexte, la présente étude vise à évaluer l'activité antibactérienne d'un extrait végétal obtenu par macération, en utilisant la méthode des puits en gélose, contre trois souches bactériennes de référence : *Escherichia coli* (Gram négatif), *Staphylococcus aureus* (Gram positif), et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif). Ce travail s'inscrit dans une approche de valorisation des ressources naturelles en vue de la découverte de composés bioactifs d'origine végétale, pouvant constituer des alternatives ou des compléments aux antibiotiques actuels.

b. Principe

L'évaluation de l'activité antibactérienne repose sur la capacité d'un extrait ou d'un composé à inhiber la croissance ou la multiplication de bactéries pathogènes. Cette inhibition peut résulter d'effets bactériostatiques (ralentissement de la croissance) ou bactéricides (destruction des cellules bactériennes). Les méthodes d'évaluation *in vitro* les plus couramment utilisées sont :

La méthode de diffusion sur disque ou en puits où l'extrait est appliquée sur une surface contenant un inoculum bactérien, et la formation d'un halo d'inhibition autour du disque ou du puits indique une activité antibactérienne.

c. Mode opératoire

1. Préparation de l'inoculum bactérien

Des souches bactériennes de référence, telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, ont été utilisées. Chaque souche a été cultivée dans un bouillon nutritif pendant 18 à 24 heures à 37 °C. L'inoculum a été ajusté à une turbidité équivalente au standard 0,5 de McFarland, soit environ 1×10^8 UFC/ml, à l'aide d'une solution saline stérile (NaCl 0,85 %).

2. Méthode des puits en gélose

Le milieu Mueller-Hinton a été préparé, stérilisé par autoclave et distribué dans des boîtes de Pétri stériles (20 ml/boîte). Après solidification, chaque boîte a été ensemencée en surface avec l'inoculum bactérien à l'aide d'un écouvillon stérile, en veillant à obtenir un ensemencement uniforme.

Des puits circulaires d'environ 6 mm de diamètre ont été creusés dans la gélose à l'aide de pipettes Pasteur stériles, sectionnées à leur extrémité. Chaque puits a ensuite été rempli avec 50 µl d'extrait végétal à l'aide d'une autre pipette Pasteur propre. Des contrôles positifs (antibiotiques standards) et négatifs (solvants seuls) ont été placés dans des puits témoins pour valider le test.

3. Incubation et lecture des résultats

Après un temps de pré-diffusion de 30 minutes à température ambiante, les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle graduée. Toutes les analyses ont été réalisées en triplicat et les résultats exprimés en moyenne \pm écart-type.

II.6 Activité inhibitrice de l' α amylase

a. Principe

Ce test repose sur la capacité de l' α -amylase à hydrolyser l'amidon en sucres simples. En présence d'un inhibiteur, tel qu'un extrait végétal, l'activité enzymatique est réduite, et une quantité plus importante d'amidon reste intacte. L'ajout d'une solution d'iode ioduré (IKI) permet de révéler l'amidon restant, formant un complexe bleu-noir dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'amidon non hydrolysé. Ainsi, plus la coloration est intense, plus l'activité de l' α -amylase est inhibée par l'extrait testé.

Cette méthode, simple et rapide, a été adaptée de Zengin et al. (2014) avec modification.

b. Mode opératoire

Préparation des solutions :

Solution d'amidon : 1 % (p/v) dans de l'eau distillée bouillie.

Solution d' α -amylase : 1 U/ml dans un tampon phosphate 0,02 M, pH 6,9.

Solution IKI : 1 % d'iodure de potassium (KI) et 0,1 % d'iode (I_2) dans de l'eau distillée.

Protocole expérimental :

Mélanger 250 μ l d'extrait (à différentes concentrations) avec 250 μ l d' α -amylase.

Incuber à 37 °C pendant 10 minutes.

Ajouter 250 μ l de solution d'amidon (1 %).

Incuber de nouveau à 37 °C pendant 10 minutes.

Ajouter ensuite 250 μ l de solution IKI pour révéler l'amidon restant.




Lire immédiatement la valeur d'absorbance à 620 nm (ou observer la coloration visuellement si le spectre est indisponible).



CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Criblage phytochimique des métabolites secondaires

Le criblage phytochimique a pour objectif de détecter la présence de divers métabolites secondaires dans l'extrait de *Hertia cheirifolia*. Cette analyse repose sur l'utilisation de méthodes standards fondées sur des réactions qualitatives spécifiques telles que des réactions de précipitation ou de coloration en solution. Les résultats obtenus pour les différents groupes de composés chimiques recherchés sont reproduits dans le tableau 1 suivant :

Tableau 1 : Résultats Screening Phytochimique de l'extrait brut des fleurs (*Hertia cheirifolia*)

Famille de composés	Réactif utilisé	Résultat observé	Interprétation	Photo
Tanins	Chlorure ferrique (FeCl ₃)	Coloration verte	Présence confirmée de tanins (polyphénols à haute masse molaire)	
Alcaloïdes	Dragendorff	Précipité rouge-orangé	Présence d'alcaloïdes détectée	
Flavonoïdes	NaOH suivi de HCl	Coloration jaune foncée	Présence confirmée de flavonoïdes	

Saponines	Agitation dans eau/éthanol	Formation d'une mousse stable	Présence confirmée de saponines	
Quinones	CHCl ₃ + KOH (5 %)	Coloration jaune-orangé	Présence de quinones (structures aromatiques oxydées)	

III.1.1 Interprétation des résultats du criblage phytochimique

L'analyse qualitative de notre extrait brut (*Hertia cheirifolia*) a permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de plusieurs familles de métabolites secondaires à l'aide de réactifs spécifiques.

- Tanins : La réaction positive au chlorure ferrique (coloration verte) indique une présence significative de composés phénoliques, notamment de tanins. Ces composés sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, leur capacité à précipiter les protéines, et leur rôle important dans la défense des plantes contre les herbivores et les microorganismes pathogènes.

- Alcaloïdes : Le test au réactif de Dragendorff s'est révélé positif, traduisant la présence d'alcaloïdes. Les alcaloïdes sont reconnus pour leurs activités pharmacologiques variées : analgésiques, antimicrobiens, antipaludiques, etc.

- Flavonoïdes : Le changement de couleur (jaune foncé) observé lors de la réaction avec le NaOH puis le HCl confirme la présence de flavonoïdes. Ces composés jouent un rôle majeur dans la protection contre le stress oxydatif, la pigmentation et la photoprotection. Leur présence corrobore les activités antioxydantes rapportées chez cette espèce.

- Saponines : L'apparition d'une mousse stable après agitation indique une présence nette de saponines. Ces composés amphiphiles sont connus pour leurs propriétés tensioactives, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et parfois hémolytiques. Leur détection suggère un potentiel pharmacologique supplémentaire.

- Quinones : La coloration jaune-orangé après réaction avec le chloroforme et la potasse révèle la présence de quinones. Ces composés aromatiques oxydés sont souvent impliqués dans des activités redox, ce qui renforce l'hypothèse d'une activité antioxydante marquée dans l'extrait étudié.

En conclusion on peut dire que le profil phytochimique obtenu suggère que l'extrait brut des fleurs de *Hertia cheirifolia* est riche en métabolites secondaires bioactifs, notamment en flavonoïdes, tanins, saponines, quinones, et alcaloïdes. Cette richesse justifie les activités biologiques associées à cette plante dans la littérature, notamment ses effets antioxydants et antimicrobiens. Ces résultats préliminaires apportent un fondement scientifique en faveur d'une valorisation médicinale ou cosmétique de cette espèce.

III.2 Analyse du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux

III.2.1 Principe du dosage par courbe d'étalonnage

Le dosage d'un composé bioactif (comme les polyphénols ou les flavonoïdes) repose sur la mesure de l'absorbance d'une réaction colorée, qui est proportionnelle à la concentration du composé. Pour cela, on suit les étapes suivantes :

- On prépare plusieurs solutions standard à des concentrations connues (par exemple avec de l'acide gallique, de la quercétine).
- On mesure l'absorbance de chaque solution à une longueur d'onde précise.
- On trace une courbe d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la concentration.
- Enfin, on mesure l'absorbance de l'échantillon et on déduit sa concentration à partir de cette courbe.

L'extraction des composés phénoliques constitue une étape essentielle en vue de leur valorisation et de l'évaluation de leur activité biologique potentielle. Le tableau ci-après présente un résumé des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

III.2.2 Dosage des polyphénols totaux

Standard utilisé : Acide gallique (GA)

- Réactif : Folin-Ciocalteu
- Longueur d'onde : 765 nm
- Résultat exprimé en : μg d'équivalent d'acide gallique par millilitre d'extrait (μg EqAG/ml).

III.2.3 Dosage des flavonoïdes totaux

Standard utilisé : Quercétine (Q)

- Réactifs : $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ et acétate de potassium (formation de complexe avec Al^{3+})
- Longueur d'onde : 415 nm
- Résultat exprimé en : μg d'équivalent quercétine par millilitre d'extrait (μg EqQ/ml).

L'extrait brut de *Hertia cheirifolia* présente des teneurs élevées et proches en flavonoïdes et polyphénols totaux. La valeur élevée en flavonoïdes ($171,31 \mu\text{g}$ EqQ/ml) indique une bonne richesse en composés flavoniques tels que les flavonols, flavones ou flavanones, connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Par contre la teneur en polyphénols totaux ($170,86 \mu\text{g}$ EqAG/ml) est également significative, suggérant que l'extrait est une source importante de composés phénoliques (acides phénoliques, tanins, flavonoïdes inclus), largement reconnus pour leurs effets protecteurs contre le stress oxydatif.

L'écart-type plus élevé pour les polyphénols ($\pm 14,14$) indique une variabilité plus importante dans les mesures, possiblement liée à l'instabilité de certains composants ou à une sensibilité du réactif Folin-Ciocalteu à d'autres molécules (interférences possibles) et les résultats de ce test sont reportés sur le Tableau 2.

Tableau 2: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes

Extrait brut	Teneur en flavonoïdes (μg EQ/ ml)	Teneur en polyphénols (μg EAG/ ml)
	$171,31 \pm 2,20$	$170,86 \pm 14,14$

III.3 Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation du potentiel antioxydant de l'extrait de *Hertia cheirifolia* a été réalisée à l'aide de plusieurs tests in vitro complémentaires, visant à explorer différents mécanismes d'action antioxydante. Les résultats obtenus ont mis en évidence une activité variable selon les tests utilisés :

- Les essais basés sur la capacité de piégeage des radicaux libres tels que le DPPH•, le radical ABTS⁺•, ont révélé une activité antioxydante modérée à significative, indiquant que les extraits possèdent une capacité à neutraliser certaines espèces radicalaires.
- En revanche, les tests reposant sur le pouvoir réducteur des extraits, tels que le FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), le test à l'o-phénanthroline, se sont révélés négatifs, suggérant une faible capacité de l'extrait à réduire les ions métalliques (Fe³⁺ en Fe²⁺), donc une activité réductrice globale faible ou absente. Tous les tests ont été réalisés en triplicat

Tableau 3: Résultats tests activités antioxydantes

Test antioxydant	Principe du test	Résultat obtenu	Interprétation
DPPH•	Piégeage du radical stable DPPH• (absorption à 517 nm)	Positif	Bonne capacité à neutraliser les radicaux libres
ABTS⁺•	Piégeage du radical ABTS ⁺ • (absorption à 734 nm)	Positif	Activité antioxydante modérée
FRAP	Réduction des ions Fe ³⁺ en Fe ²⁺ (absorption à 593 nm)	Négatif	Absence de Pouvoir réducteur global
O-phénanthroline	Formation d'un complexe Fe ²⁺ /phénanthroline (absorption à 510 nm)	Négatif	Absence de pouvoir réducteur mesurable

III.3.1 Evaluation activité antioxydante DPPH

L'extrait brut de *Hertia cheirifolia* présente une activité antioxydante notable, avec un effet croissant en fonction de la concentration.

À partir de 100 µg/ml, son pouvoir inhibiteur devient comparable voir supérieur à celui du BHT, indiquant une bonne capacité à neutraliser les radicaux DPPH•.

Cependant, la valeur de l'IC₅₀ (concentration requise pour inhiber 50 % des radicaux DPPH•) est 66,97 ± 0,88 µg/ml, ce qui est plus élevé que celui du BHT (22,32 ± 1,19 µg/ml), soulignant une efficacité antioxydante moins puissante mais présente. Les résultats de cette activité sont consignés dans le tableau 4

Tableau 4: Résultats activité DPPH

Extrait BRUT	% d'Inhibition							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/ml
	15,07	18,66	26,21	36,77	56,54	84,13	92,00	66,97±0.88
BHT	11,69±1,88	22,21±1,30	37,12±1,80	52,63±2,70	56,02±0,53	83,60±0,23	87,28±0,26	22.32±1.19

Les valeurs sont des moyennes ± écart type (n = 3).

III.3.2 Evaluation de l'activité antioxydante ABTS⁺•

L'extrait brut présente une activité antioxydante positive vis-à-vis du radical ABTS⁺•, mais elle est nettement plus faible que celle des standards Trolox et acide ascorbique.

L'effet est dose-dépendant, avec une inhibition atteignant 83,46 % à 800 µg/ml.

L'IC₅₀ de l'extrait (373,48 µg/ml) est plus de 100 fois supérieur à celui des standards (≈ 3 µg/ml), ce qui indique que des concentrations bien plus élevées sont nécessaires pour obtenir un effet similaire. L'absence d'activité à faible dose (NA) suggère un seuil de détection élevé, ou une faible teneur en composés antioxydants actifs capables de réagir avec ABTS⁺•. (Tableau 5). Pour conclure, l'extrait brut de *Hertia cheirifolia* montre une capacité scavenger vis-à-vis du radical ABTS⁺•, son activité antioxydante reste modeste comparée aux antioxydants de référence. Ce résultat suggère une efficacité limitée en conditions in vitro dans ce test spécifique, malgré une réponse dose-dépendante encourageante (Tableau 5).

Tableau 6: Résultats activité ABTS⁺

				% d'Inhibi tion				
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400µg	800µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Extrait	NA	NA	NA	20,87±2, 92	28,85± 3,02	52,36± 2,73	83,46± 1,01	373,48± 1,80
	0.781 25 µg	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Trolox	14.74 ±0.37	26.15± 0.65	51.70± 1.51	89.72±0. 67	92.89± 0.19	92.89± 0.19	91.84± 1.19	3.21±0.0 6
Ascorb ic acid	13.43 ±0.82	28.76± 0.67	52.94± 0.94	93.21±0. 11	93.08± 0.19	92.40± 0.88	92.96± 0.11	3.04±0.0 5

Les valeurs sont des moyennes ± écart type (n = 3). NA : pas d'activité.

III.4 Evaluation de l'activité antibactérienne

III.4.1 Résultats et discussion

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait végétal a été réalisée par la méthode des puits en milieu gélosé (diffusion en gélose), Le test a été effectué à partir d'une solution mère de 10 mg/ml à différentes concentrations (10, 5, 2,5 et 1,25 mg/ml), contre trois souches bactériennes : *Pseudomonas aeruginosa* (Gram –), *Staphylococcus aureus* (Gram +) et *Escherichia coli* (Gram –). Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés après 24 h d'incubation à 37 °C.

Les résultats sont résumés dans le tableau 6 ci-dessous. On observe que l'extrait végétal exerce une activité antibactérienne modérée uniquement sur *Pseudomonas aeruginosa*, avec un diamètre d'inhibition de $11,33 \pm 0,58$ mm à la concentration de 10 mg/ml. Cette activité diminue progressivement avec la dilution de l'extrait, atteignant $7,00 \pm 1,00$ mm à 1,25 mg/ml. En revanche, aucune activité n'a été détectée contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, quelle que soit la concentration testée (zones d'inhibition nulles). Le témoin négatif (DMSO) n'a montré aucune zone d'inhibition pour aucune des souches, confirmant que le solvant n'a aucun effet antibactérien et validant ainsi l'origine biologique des inhibitions observées. Les antibiotiques de référence ont montré une efficacité notable : La gentamicine a généré une zone d'inhibition de 20 mm contre *P. aeruginosa* et de 28 mm contre *E. coli*. Tandis que la Cefoxitine a induit un halo 17 mm contre *S. aureus*

Tableau 7: Résultats Activité antibactérienne de l'extrait brut et des témoins

Bactérie (type Gram)	Extrait 10 mg/ml	5 mg/ml	2,5 mg/ml	1,25 mg/ml	Témoin positif (antibiotique)	Diamètre (mm)	Témoin négatif (DMSO)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram –) ATTC 27852	11,33 ± 0,58	9,00 ± 0,00	7,67 ± 0,58	7,00 ± 1,00	Gentamicine	20,00 ± 0,00	0,00
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +) ATTC25923	—	—	—	—	Cefoxitine	17,00 ± 0,00	0,00
<i>Escherichia coli</i> (Gram –) ATTC25922	—	—	—	—	Gentamicine	28,00 ± 0,00	0,00

— : Aucune inhibition observée (diamètre = 0 mm).

Les valeurs sont des moyennes ± écart type (n = 3).

Les concentrations sont exprimées en mg/mL.

Le DMSO utilisé pour dissoudre l'extrait ne présente aucune activité (témoin négatif).

III.5 Évaluation de l'activité enzymatique

Nous avons réalisé cette activité, Pour évaluer le potentiel antidiabétique de notre extrait.

L' α -amylase est une enzyme digestive essentielle qui catalyse l'hydrolyse des liaisons $\alpha(1\rightarrow4)$ entre les unités de glucose dans les polysaccharides tels que l'amidon et le glycogène. Cette réaction libère des oligosaccharides plus courts, principalement du maltose, du maltotriose et des dextrines, qui peuvent ensuite être absorbés par l'organisme pour fournir de l'énergie.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait brut des fleurs de *Hertia cheirifolia* ne présente aucune activité enzymatique significative en termes de l' α -amylase.

En effet l'absence de modification notable de la coloration bleue/noire après ajout de la solution IKI, ou une absorbance comparable à celle du contrôle sans extrait, indique que l'amidon a été complètement hydrolysé par l'enzyme α -amylase, même en présence de l'extrait végétal. Autrement dit, aucune activité inhibitrice significative n'a été détectée.

Cela peut s'expliquer par plusieurs hypothèses :

1. L'extrait ne contient pas de composés capables d'interagir avec le site actif de l' α -amylase ou de modifier sa structure fonctionnelle.

2. Les concentrations testées étaient trop faibles pour induire un effet observable.
3. Les composés actifs potentiels sont absents ou ont été dégradés lors de l'extraction.
4. La méthode utilisée (notamment la sensibilité du test IKI) peut ne pas être assez sensible pour détecter une inhibition faible ou partielle.

III.6 Conclusion et perspectives

La phytothérapie tire son importance des composés bioactifs des plantes médicinales. Ces derniers offrent des propriétés thérapeutiques variées avec moins d'effets secondaires, par rapport aux médicaments chimiques. Cette approche holistique traite les causes sous-jacentes des maladies, améliorant ainsi la santé globale. La recherche scientifique, de plus en plus, est focalisée sur l'extraction de ces composés actifs, et vise à réduire les risques associés aux substances chimiques utilisées dans les médicaments.

Le présent travail a porté sur l'évaluation de l'extrait méthanolique de *Hertia cheirifolia* en termes de composés phénoliques et flavonoïdes. Par ailleurs, l'évaluation des effets biologiques in vitro a montré que l'extrait méthanolique de *Hertia cheirifolia* possède une activité antioxydante significative, mesurée par des tests tels que DPPH, ABTS, FRAP et o-phénanthroline.

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait de fleurs de a mis en évidence sa capacité à piéger les radicaux libres, évaluée par la méthode DPPH. Les résultats ont montré une augmentation dose-dépendante de l'activité antioxydante pour cette plante,

Ces résultats confirment l'intérêt potentiel de H F en tant que source naturelle d'antioxydants et ouvrent la voie à des applications valorisantes dans le domaine pharmaceutique.

En outre, l'extrait a démontré une activité antibactérienne modérée contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec des zones d'inhibition variées. L'extrait de *Hertia cheirifolia* a montré une activité antibactérienne modérée uniquement contre *Pseudomonas aeruginosa*

Le criblage des métabolites secondaires a révélé que l'extrait méthanolique de *Hertia cheirifolia* est riche en alcaloïdes, des quinones, et une quantité modérée de flavonoïdes et de polyphénols. La quantification des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait de cette plante a révélé des teneurs relativement élevées en polyphénols ($170 \pm 14,14 \mu\text{g EAG/ml}$), en flavonoïdes ($171,31 \pm 2,20 \mu\text{g EQ/ml}$).

En revanche, les résultats de test d'activité enzymatique de l' α -amylase n'ont révélé aucune activité pour l'extrait de *Hertia cheirifolia*.

Ces résultats révèlent que *Hertia cheirifolia* renferme des molécules bioactives, susceptibles d'être exploitées dans divers domaines tels que : la pharmacie, l'alimentation, la cosmétique, l'agriculture, biotechnologie et médical ...

Ce travail peut être terminé par les perspectives suivantes :

- ✓ Explorer l'utilisation d'autres solvants afin d'optimiser le rendement d'extraction.
- ✓ Etudier les autres parties de la plante, comme les feuilles, les tiges et les racines.
- ✓ Analyser l'activité antioxydante des différentes parties de la plante à la fois in vitro et in vivo.
- ✓ Evaluer in vitro l'activité enzymatique, α -amylase, acétylcholinestérase, etc., des extraits.
- ✓ Etudier l'activité anti-inflammatoire.
- ✓ Détecter et rechercher la présence d'autres métabolites secondaires.
- ✓ identifier les principes actifs de cette espèce par des méthodes chromatographiques (HPLC, CPG) et par spectrométrie de masse.
- ✓ Analyser et explorer les activités biologiques des huiles essentielles de cette plante

Ces perspectives visent à approfondir notre compréhension des propriétés biologiques de *Hertia cheirifolia* et à valoriser pleinement son potentiel d'application dans divers domaines

REFERENCES

- Aichaoui, S. (s.d.). *Étude des composés phénoliques et des activités biologiques d'extraits de plantes médicinales*. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- Akrout, A., et al. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of *Hertia cheirifolia* extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(13), 2739–2745.
- Ammar, S., et al. (2009). Chemical composition and antioxidant activity of *Hertia cheirifolia* essential oil. *Natural Product Research*, 23(6), 580–589.
- Beking, K., & Vieira, A. (2010). Flavonoid intake and cardiovascular disease risk. *Nutrition Reviews*, 68(9), 577–588.
- Bouzabata, A., et al. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants in the North-Eastern regions of Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(12), 115–122.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales* (4^e éd.). Lavoisier-Tec & Doc.
- Chen, D., Daniel, K. G., Chen, M. S., Kuhn, D. J., Landis-Piwowar, K. R., & Dou, Q. P. (2004). Dietary flavonoids as proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human leukemia cells. *Biochemical Pharmacology*, 69(10), 1421–1432.
- Commission of the European Communities. (1973). *Phytochemical Methods for the Analysis of Tannins in Plant Extracts*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- Dhouioui, M., et al. (2016). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Hertia cheirifolia* from Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 85, 1–6.
- Frankel, E. N., Waterhouse, A. L., & Kinsella, J. E. (1993). Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *The Lancet*, 341(8852), 1103–1104.
- Guo, Z. (2017). The modification of natural products for medical use. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 7(2), 119–136.
- Harborne, J. B. (1989). *Introduction to Ecological Biochemistry* (3^e éd.). Academic Press.
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer.
- IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)*.
- Kaur, R., Sharma, P., & Capalash, N. (2015). Antibacterial alkaloids: Future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46(5), 413–430.
- Laughton, M. J., Evans, P. J., Moroney, M. A., Houlst, J. R. S., & Halliwell, B. (1991). Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. *Biochemical Pharmacology*, 42(9), 1673–1681.

- Le Houérou, H. N. (1995). *Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique*. CIHEAM.
- Maru, G. B., et al. (2014). Phytochemicals in the prevention of liver cancer. *World Journal of Hepatology*, 6(3), 188–199.
- Massiot, G., et al. (1990). Sesquiterpene lactones from *Hertia cheirifolia*. *Phytochemistry*, 29(5), 1603–1606.
- MeSH Database. (2015). *Polyphenols*. U.S. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>
- Ncube, B., & Van Staden, J. (2015). Tilting plant metabolomics: Towards functional genomics and biochemical understanding of plant secondary metabolism. *Plant Growth Regulation*, 76, 1–20.
- Ncube, B., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2015). Quality from the field: The impact of environmental factors as a quality determinant in medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 100, 29–34.
- Orgogozo, J. M., et al. (1997). Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area. *Revue Neurologique*, 153(3), 185–192.
- Ozcan, A., Onay-Ucar, E., & Saltan, G. (2014). Biological activities of tannins: An updated review. *Turkish Journal of Biology*, 38(5), 850–860.
- Panche, A. N., et al. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- Patai, S. (1998). *The Chemistry of Quinonoid Compounds*. Wiley.
- Peter, H., et al. (2003). Mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586–621.
- Quézel, P. (1965). *La végétation du Sahara*. CNRS Éditions.
- Qiu, F., Liu, H., & Yao, X. (2014). Structural diversity and biological activities of alkaloids: The basis for drug discovery. In *Alkaloids - Alternatives in Medicinal Applications*. InTech.
- Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1–2), 80–84.

Roy, A. (2017). A comprehensive review on alkaloids: Their chemistry, occurrence, and pharmacological significance. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(4), 1415–1420.

Stanely, M. C., Sun, J., & Liu, R. H. (2003). Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 703–709.

Trease, G. E., & Evans, W. C. (2002). *Pharmacognosy* (15^e éd.). Saunders.

Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, 2(3), 251–286.

ANNEXES

1. Réactifs et appareillages

1.1. Réactifs

- Folin-Ciocalteu (acide phosphotungstique $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ et acide Phosphomolybdique $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$)
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3).
- Acide gallique($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$).
- Quercétine ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$)
- Chlorure d'aluminium (AlCl_3).
- Chlorures ferrique(FeCl_3).
- Réactif de dragendorff
- Réactif de Mayer
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Acide chlorhydrique (HCl)
- Ethanol
- Chloforme (CHCl_3)
- Hydroxyde de potassium (KOH)
- Potassium acétate
- DPPH
- Potassium ferricyanide $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$
- Phosphate buffer
- Tri-chloro acetic acid (TCA)
- ABTS
- Phenanthroline
- BHT
- Gélose
- Solution α amylase 1U
- Amidon

1.2. Appareillage

- Balance de précision (Radwag xa 310).

- Vortex (Velp scientifica).
- Bain-marie (Raypa thermostatic bath).
- Microplaques
- Spectrophotomètre UV-visible (Biotechengineering Management co.ltd. (uk) uv-900).



Figure 1. Appareil rotavapor



Figure 2. Extrait des fleurs de *Hertia cheirifolia*



Figure 3. Réactif de FeCl_3

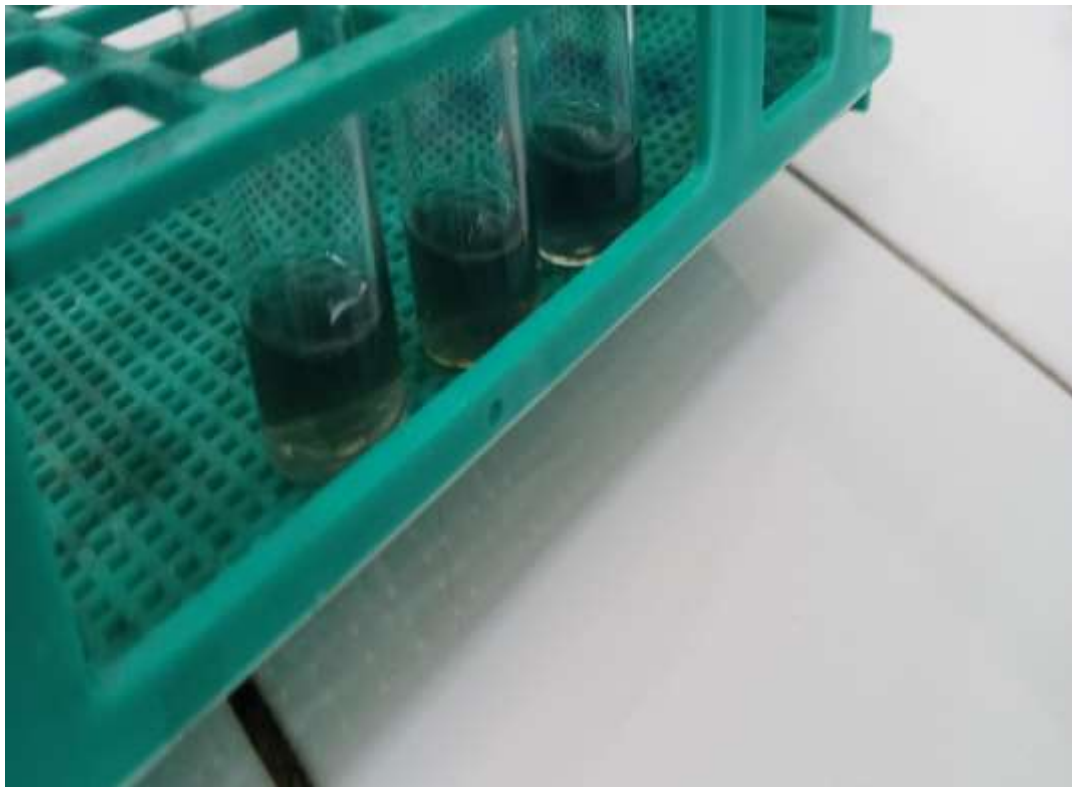


Figure 4. Dosage de polyphénols



Figure 5. Dosage de flavonoïdes



Figure 6. Résultats DPPH

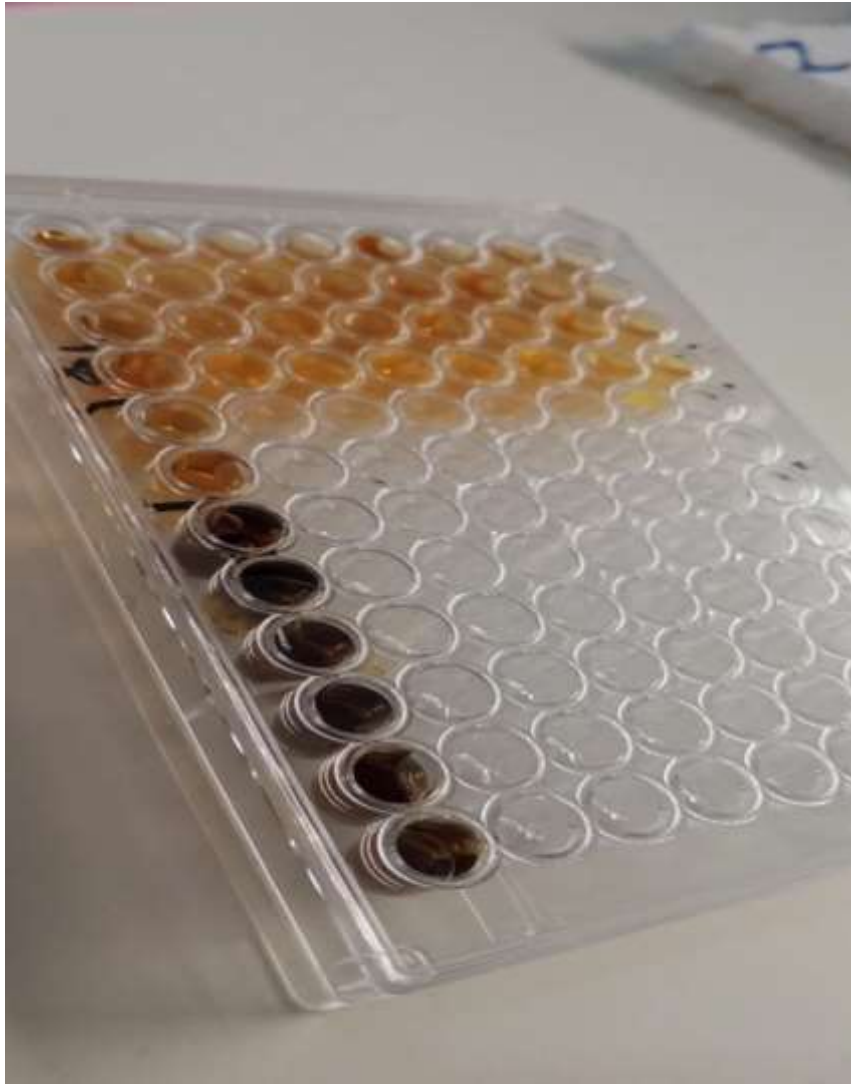


Figure 7. Résultats d'activité enzymatique de l' α amylase

Résumé

Hertia cheirifolia L. est une plante médicinale de la famille des Asteraceae connue pour son usage traditionnel dans le traitement des troubles digestifs et la cicatrisation des plaies. Cette étude a été menée dans le but d'évaluer l'activité antioxydante in vitro de l'extrait brut méthanolique obtenu à partir des fleurs de *Hertia cheirifolia*. Des dosages colorimétriques ont été réalisés dans un premier temps afin de quantifier les composés phénoliques présents dans ces extraits. La capacité antioxydante a été ensuite analysée par quatre tests DPPH, ABTS, FRAP et o-Phénanthroline. Les résultats obtenus ont révélé que l'extrait des fleurs de *Hertia cheirifolia* est riche en polyphénols ($170,86 \pm 14,14$ µg EAG/ml d'extrait) et en flavonoïdes ($171,31 \pm 2,20$ µg EQ/ml d'extrait). L'étude de l'activité antibactérienne montre que l'extrait de *Hertia cheirifolia* possède une activité antibactérienne modérée contre certaines souches bactériennes, notamment *Staphylococcus aureus*, mais une activité plus faible contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'ensemble de ces résultats, suggèrent que le potentiel antioxydant et antibactérien d'extrait de *Hertia cheirifolia* serait fortement lié à leur contenu en polyphénols. Ceci constitue une source naturelle prometteuse pour le développement de nouvelles molécules pharmacologiques.

Abstract

Hertia cheirifolia L. is a medicinal plant of the Asteraceae family known for its traditional use in treating digestive disorders and wound healing. This study was conducted to evaluate the in vitro antioxidant activity of methanolic extracts obtained from the flowers of *Hertia cheirifolia*. Colorimetric assays were first carried out to quantify the phenolic compounds present in these extracts. The antioxidant capacity was then analyzed using four tests: DPPH, ABTS, FRAP, and o-Phénanthroline. The results revealed that the extract from the flowers of *Hertia cheirifolia* is rich in polyphenols (170.86 ± 14.14 μg EAG/ml of extract) and flavonoids (171.31 ± 2.20 μg EQ/ml of extract). The study of antibacterial activity showed that the extract of *Hertia cheirifolia* possesses moderate antibacterial activity against certain bacterial strains, notably *Staphylococcus aureus*, but an activity weaker activity against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. All these results suggest that the antioxidant and antibacterial potential of *Hertia cheirifolia* extract is strongly related to its polyphenol content. This represents a promising natural source for the development of new pharmacological molecules.

ملخص

Hertia cheirifolia هي نبات طبي من عائلة استيراسي معروفة بالاستخدام التقليدي في علاج الاضطرابات الهضمية و شفاء الجروح تم اجراء هذه الدتسة بهدف تقييم النشاط المضاد للاكسدة في المختبر لاستخراج الميثانول المستخرج من ازهار النبتة تم اجراء اختبارات لونية في البداية لقياس المركبات الفينولية الموجودة في هذه المستخلصات ثم تم تحليل القدرة المضادة للاكسدة من خلال اربعة اختبارات و قد اظهرت النتائج ان مستخرج ازهار النبتة غني بالبولىفينولات (170.86 ± 14.14) (EQ/ml) و الفلافونيدات (171.31 ± 2.20 EAG/ml) ملغ من EAG/g من الاستخراج اظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا ان مستخرج النبتة يملك نشاطا مضادا للبكتيريا معتدلا ضد بعض السلالات البكتيرية و خاصة ستافيلوكوكيس و لكن نشاطا اضعف ضد الاشريكية القولونية و البسودوموناس الايروجينوزا تشير جميع هذه النتائج ان القدرة المضادة للاكسدة و المضادة للبكتيريا لمستخلص النبتة مرتبطة ارتباطا وثيقا بمحتواها من البولىفينولات و هذا يمثل مصدرا طبيعيا و اعدا لتطوير جزيئات صيدلانية جديدة

Année universitaire : 2024-2025	Présenté par : GHERISSI Djihane AMIMOUR Chahrazed
.....	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master 2 en Biochimie.....	
<p>Résumé</p> <p>Hertia cheirifolia L. est une plante médicinale de la famille des Asteraceae connue pour son usage traditionnel dans le traitement des troubles digestifs et la cicatrisation des plaies. Cette étude a été menée dans le but d'évaluer l'activité antioxydante in vitro de l'extrait brut méthanolique obtenu à partir des fleurs de Hertia cheirifolia. Des dosages colorimétriques ont été réalisés dans un premier temps afin de quantifier les composés phénoliques présents dans ces extraits. La capacité antioxydante a été ensuite analysée par quatre tests DPPH, ABTS, FRAP et o-Phénanthroline. Les résultats obtenus ont révélé que l'extrait des fleurs de <i>Hertia cheirifolia</i> est riche en polyphénols ($170,86 \pm 14,14 \mu\text{g EAG/ml}$ d'extrait) et en flavonoïdes ($171,31 \pm 2,20 \mu\text{g EAG/ml}$ d'extrait). L'étude de l'activité antibactérienne montrée que l'extrait de Hertia cheirifolia possède une activité antibactérienne modérée contre certaines souches bactériennes, notamment <i>Staphylococcus aureus</i>, mais une activité plus faible contre <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>. L'ensemble de ces résultats, suggèrent que le potentiel antioxydant et antibactérien d'extrait de Hertia cheirifolia serait fortement lié à leur contenu en polyphénols. Ceci constitue une source naturelle prometteuse pour le développement de nouvelles molécules pharmacologiques.</p>	
Mots-clefs : Plante endémique, Screening, Activité biologique, Activité antibactérienne	
Laboratoires de recherche : CRBT, laboratoire de biochimie RDC et laboratoire 10 et 7. (U Constantine 1 Frères Mentouri).	
Président du jury :	Dr BOUKHELFA Hayat MCB – U Constantine 1 Frères Mentouri
Encadrant :	Dr DELLOUCHE Aziza MAA - U Constantine 3 Salah Boubnider
Examineur :	Dr MAMERI Yazid MCA – U Constantine 3 Salah Boubnider