

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par : **Blal Selsabil**

Mahmi Kada Soumya

Intitulé

**Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne
d'une plante médicinale « *Helianthemum lippii* (L)
pers »**

Soutenu devant le jury composé de :

Mr. Harrar abdelnassar	MAA	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
Mme. Bouhadda Amina	MAA	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
Mme. Bouaziz Samia	MAA	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur

Année universitaire : 2022 /2023

Remerciement

Avant tous je remercie ALLAH le tout puissant de moi avoir donné le courage la volonté et patience pour réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements vont pour M^{me}. Bohadda Amina enseignante à l'université de M'sila pour nous avoir encadré, soutenu, et fait confiance tout au long de ce travail. Merci de nous avoir permis de ravailler à votre côté et de nous avoir fait partager votre savoir-faire scientifique.

Nous remercions infiniment les membres de jury d'avoir accepté de juger et évaluer notre travail de bonnes conditions.

En même temps, nous voudrions également exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.





Dédicace



Dieu soit loué, qui m'a permis d'accomplir ce travail, et j'espère qu'il sera sincère pour son visage honorable mon dévouement ne sera qu'une gratitude envers ceux qui ont eu le mérite de ce que j'ai atteint, soit après :

- ❖ A l'homme de lutte, à celui qui a cultivé les valeurs et les principes islamiques, à celui qui a passé la fleur de sa jeunesse à élever ses enfants Mon cher père*
- ❖ Au cœur battant, symbole de tendresse, d'amour et de sacrifice, à qui Ses prières sincères ont été le secret de mon succès...ma chère*
- ❖ A mes frères et sœurs, Mohammad, Yunus, Rabia, et Ashwaq*

Ecrire ne suffit pas à décrire combien je t'aime, et la vie est courte pour écrire ton amour. Je te vois sourire et voir la beauté des jours. Comme les jours sont doux.

- ❖ Mes frères, que ma mère n'a pas mis au monde, sont les compagnons de mon long chemin, mon soutien dans une vie rongée par l'ennui, la joie de mes jours, et un souvenir qui restera avec moi jusqu'à la mort. Dieu. (Fatima, Selsabil, Oum Elkheir, Hanane, Naima, Djawhar, Hakima, Mounira, Bouchra, Hasna, Salima, Zahra, Wafa, Salma, Souad, Sirin, Fatima Abbassi, Zahira, Mabrouka.)*
- ❖ A mon compagnon et mon soutien, A celui qui a vécu avec moi chaque instant de ma vie douce et amère..... Simou Milano*
- ❖ Mon encadré, le vertueux madame, Bohadda Amina :*

Merci d'avoir été notre soutien et notre soutien dans la réalisation de ce mémorandum, Merci pour vos conseils et votre intérêt, En tant qu'enseignant, je vous tire mon chapeau.

- ❖ Au département des sciences naturelles et de la vie chacun en son nom et à tous les lots de 2023 et à tous les membres du département de biochimie et à tous ceux que j'ai eu l'honneur de rencontrer, et à l'université Mohamed Boudiaf, qui m'a embrassé. Merci pour tout le crédit que j'ai atteint.*

MAHMI KADA SOUMYA





Dédicace

Je dédie ce modeste travail

Avant tout grâce à Allah miséricordieux tout puissant qui m'a éclairé le chemin vers cette réussite.

A mes parents dont je suis très fière :

Mon cher père « Ali » et ma chère mère « Djemaa », pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements et le soutien moral qu'ils m'ont apporté durant mes études, vous représentez pour moi le symbole de bonté par excellence .

À celle qui m'a fait vivre dans le cœur avant de s'enfanter, elle m'a donné de l'amour avant de m'allaiter, et elle m'a donné du contentement avant de m'élever. à celle qui le prières m'accompagnaient, et elle a été la compagne de mon chemin, que Dieu prolonge sa vie, ma chère maman.

À mon père vénéré, mon modèle et mon idéal suprême dans la vie; à qui je porte son nom avec fierté, que Dieu prolonge sa vie et lui accorde la santé et le bien-être, mon cher père.

A ceux avec qui j'ai grandi et une branche s'est développée parmi eux, à ceux qui m'ont soutenu :

A ma petite sœur Raoya, qui est belle et chère à mon cœur, que Allah lui accorde le succès et qu'il prenne soin d'elle.

A mes frères Mohamed Yacine et Mohamed Aymen , qui ont toujours été présents pour moi. Merci pour votre encouragement et confiance.

A tous les membres de mon honorable famille, Chacun en son nom et destin , surtout ma chère tante Zahra, les mots de remerciement et de gratitude ne vous rendent pas justice, car vous êtes la personne la plus grande et la plus gentille.

À ceux qui me font oublier ma solitude dans l'éloignement solitaire, À qui font oublier ma fatigue et rendent plus forts pour moi. mes amis : Fatima Zohra, Soumia, Oum Elkheir, Hanane, Djawhar, Fatima, Noor, Sibal, Naima, Mounira, Bouchra, Hakima, Serine, salma , Souaad. Et mes amis lointains et ceux qui me sont chers: Roumaisaa, Assia, Mounia, Maroaa, Maissa, Oum salama, salma, Elham, Raoya .

Je n'oublie pas de remercier notre vertueuse encadrante, Bouhdda Amina, pour ses efforts et l'encadrement de notre travail

A tous mes camarades de classe qui m'ont accompagné du début à la fin Étudiants de la promotion 2023.

BLAL SELSABIL



Sommaire

Résumé	i
Liste des abréviations.....	ii
Liste des figures	iv
Liste des tableaux	v
Introduction	1
Chapiter I. plantes médicinales et phytothérapie et monographie de la plante étudiée	3
I.1 Généralités sur les plantes médicinales.....	3
I.2 Phytothérapie et utilisation des plantes médicinales.....	3
I.2.1 Définition	3
I.2.2 Utilisation des plantes médicinales	4
I.3 <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers	4
I.3.1 Généralités sur la famille des <i>cistacées</i>	4
I.3.2 Généralités sur le genre <i>Helianthemum</i>	4
I.3.3 L'espèce <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers.....	4
Chapiter II. Les substances naturelles et les différentes méthodes d'extraction	7
II.1 Substances bioactives	7
II.2 Substance naturelles	7
II.3 Les différentes méthodes d'extraction des composés actifs.....	16
II.4 Techniques d'extraction à partir d'une plante	17
II.4.1 Techniques d'extraction classiques	17
II.4.2 Techniques d'extraction moderne	18
Chapiter III. Activités biologiques des extraits du plante	20
III.1 Activité antioxydante	20
III.1.1 Les radicaux libres dans les systèmes biologiques.....	20

III.1.2 Stress oxydatif.....	21
III.1.3 Marqueurs biologiques des stress oxydatif	22
III.1.4 Les antioxydants.....	23
III.1.5 Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante DPPH.....	24
III.2 Activité antimicrobienne	25
III.2.1 Culture des bactéries	25
III.2.2 Les antibiotiques	26
III.2.3 Activité antibactérienne des extraits du plante.....	26
Chapiter I. Matériels et méthodes	27
I.1 Matériels	27
I.1.1 Matériel végétal	27
I.2 Méthodes.....	28
I.2.1 Préparation des extraits de la plante.....	28
I.2.2 Préparation de l'extrait méthanolique dilue	30
I.2.3 Calcul des rendements productifs des extraits.....	30
I.3 Criblage phytochimique	30
I.3.1 Préparation des différents extraits pour les tests phytochimiques	30
I.4 Dosages des quelques métabolites secondaires	31
I.4.1 Dosage des polyphénols totaux.....	31
I.4.2 Dosage des flavonoids	33
I.5 Etude de l'activité antioxydante des extraits de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers	34
I.5.1 L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée est réalisée par test DPPH.....	34
I.6 Etude de l'activité antibactérienne des extraits.....	35
I.6.1 Technique des puits.....	35
Chapiter II. Résultats et Discussion.....	37
II.1 Extraction.....	37

II.2 Screening phytochimique	38
II.3 Teneurs en polyphenols et flavonoïdes	39
II.4 -Activité antioxydante des extraits organiques de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers	40
II.5 Activité antimicrobienne des extraits organiques de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers	43
Conclusion.....	47
Références bibliographique	48
Annexes

ملخص

يعد نبات *Helianthemum Lippi (L) pers* من النباتات الطبية الصحراوية بالجزائر, فهو متواجد على نطاق واسع في ولاية مسيلة, خاصة منطقة بوسعادة. حيث يعرف بإسم السمهري ويستعمل في الطب الشعبي بغرض علاج عدة أمراض خاصة إضطرابات الجهاز الهضمي .

تهدف هذه الدراسة إلى تقدير المحتوى الفينولي وإختبار الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لعدة مستخلصات عضوية, إذ تم إستخلاص المواد النشطة بواسطة مذيبات مختلفة القطبية (الهكسان, الأستون, الميثانول, الميثانول المخفف 50%).

كخطوة أولى قمنا بحساب مردود كل مستخلص, حيث تم الحصول على أعلى مردود في مستخلص الميثانول المخفف بنسبة (16.25%), ثم المستخلص الميثانولي (4.16%), بينما أظهر كل من مستخلصي الأسيون والهكسان مردودا أقل على التوالي (0.76, 1.75%).

أظهرت الدراسة الكيميائية النباتية أن النبات المدروس يحتوي على كل من Terpenoïdes, Flavonoïdes, Tannins, Quinones, saponines ماعدا .

تم العثور على أعلى محتوى من عديدات الفينول في كل من مستخلصي الأسيون والميثانول على التوالي (529.81, 307.5 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك / مغ مستخلص). كما أشارت النتائج إلى أن مستخلص الأسيون يحتوي على أعلى كمية من الفلافونويدات (82.72 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين / مغ مستخلص). أثبتت دراسة النشاطية المضادة للأكسدة لكل من المستخلصات العضوية بطريقة تثبيط الجذر الحر DPPH نتائج ملموسة خاصة للمستخلص الميثانولي والمستخلص الأستوني, أما بالنسبة للنشاطية المضادة للبكتيريا, فقد أظهرت كل من المستخلصات الميثانولية, الأستونية والمستخلصات الميثانولية المخففة فعالية مثبتة لنمو البكتيريا.

الكلمات المفتاحية : *Helianthemum Lippi (L) pers*, الدراسة الكيميائية النباتية, عديدات الفينول, الفلافونويدات, النشاطية المضادة للأكسدة, النشاطية المضادة للبكتيريا.

Abstract

Helianthemum Lippi (L) pers is a medicinal desert plant in Algeria, widely found in the wilaya of M'sila, particularly in the Boussada region. It is known as samahri and is used in traditional medicine to treat a number of illnesses, particularly digestive disorders.

The objectives of this work are to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of several organic extracts by spectrophotometric assay of polyphenols and flavonoids. The active substances were extracted using three different polar solvents (Hexane, Acetone, methanol, 50% diluted methanol).

As a first step, we calculated the yield of each extract, where the highest yield was obtained in the diluted methanol extract (16.25%), followed by the methanol extract (4.16%), while the acetone and hexane extracts showed lower yields respectively (1.75%, 0.76%).

The chemical study of the plants showed that the plant studied contained flavonoids, terpenoids, quinones and tannins, with the exception of saponins.

The highest polyphenol content is found in the acetone and methanol extracts respectively (529.81, 307.5 μg galic acid equivalent/mg extract). The results also indicate that the acetone extract contains the highest amount of flavonoids (82.72 μg quercetin equivalent/mg extract).

The study of antioxidant activity for organic extracts in the DPPH radical inhibition method showed tangible results particularly for methanol extract and acetone extract. As for antibacterial activity, methanol and acetone extracts and diluted methanol extract showed bacterial growth inhibitory efficacy.

Key words: *Helianthemum Lippi (L)* pers, Phytochemical study, polyphenol, flavonoids, antioxidant activity, antibacterial activity.

Résumé

Helianthemum Lippi (L) pers est une plante médicinale du désert en Algérie, on la trouve largement dans la wilaya de de M'sila, en particulier dans la région de Boussaâda. Il est connu sous le nom de samhari et est utilisé en médecine traditionnelle dans le but de traiter plusieurs maladies, en particulier les troubles digestifs.

Les objectifs de ce travail portent sur l'évaluation par dosage spectrophotométrie des polyphénols et des flavonoïdes avec évaluer les activités antioxydante et antibactérienne de plusieurs extraits organiques. Les substances actives ont été extraites par des solvants a différents polarités (Hexane, Acéton, Méthanol et Méthanol dilué à 50 %).

Dans un premier temps, nous avons calculé le rendement de chaque extrait, où le rendement le plus élevé a été obtenu dans l'extrait de méthanol dilué (16,25 %), puis dans l'extrait de méthanol (4,16 %), tandis que les extraits d'acétone et d'hexane ont présenté des rendements inférieurs respectivement (1,75 %, 0,76 %).

L'étude phytochimique du plante a montré que la plante étudiée contient à la fois des flavonoïdes, des terpénoïdes, des quinones, des tanins à l'exception des saponines.

La teneur la plus élevée en polyphénols se trouve dans les extraits d'acétone et de méthanol respectivement (529,81 et 307,5 µg équivalent d'acide gallique/mg extrait). Les résultats indiquent également que l'extrait d'acétone contient la plus grande quantité de flavonoïdes (82,72 µg équivalent quercétine/mg extrait).

L'étude de l'activité antioxydante pour les extraits organiques dans la méthode d'inhibition des radicaux DPPH a prouvé des résultats tangibles en particulier pour l'extrait méthanique et l'extrait acétonique ,comme pour l'activité antibactérienne, les extraits de méthanol et d'acétone et l'extrait de méthanol dilué ont montré l'efficacité inhibitrice de la croissance bactérienne.

Mots clés : *Helianthemum Lippi* (L), Etude phytochimique, polyphénol, flavonoïdes, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne.

Liste des abréviations

- ❖ **(8-OH2DG):** Désoxyguanosine
- ❖ **(ROO-):** Les radicaux peroxydes
- ❖ **1O₂:** L'oxygène singulet
- ❖ **Abs:** Absorbance.
- ❖ **ATM:** Aztreonam
- ❖ **AUG 30:** Amoxicilline
- ❖ **C30:** Chloramphénicol
- ❖ **DMAPP:** Le diméthylallyl pyrophosphate
- ❖ **DMSO:** Diméthylsulfoxyde
- ❖ **DPPH:** (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl)
- ❖ **EL-L:** Extraction liquide_liquides
- ❖ **ERO :** Une espèce réactive de l'oxygène
- ❖ **GPX :** La glutathion peroxydase
- ❖ **H₂O₂:** Le peroxyde d'hydrogène
- ❖ **IPP :** L'isopentényl pyrophosphate
- ❖ **l'ADN :** Acide désoxiribonucléique
- ❖ **LDL:** Lipoprotéines à basse densité (low density lipoproteins)
- ❖ **l'EOA:** L'étude du stress oxydatif
- ❖ **L'OMS:** Organisation mondiale de la sante
- ❖ **MDA:** Malondialdéhyde
- ❖ **MEP:** 2-C-méthyl-dérythritol 4-phosphate
- ❖ **MVA:** Mévalonate
- ❖ **OH:** Radicaux hydroxyle
- ❖ **-OH:** Le radical hydroxyle
- ❖ **ONOOH:** Le nitroperoxyde
- ❖ **P10:** Péniciline
- ❖ **PM:** Plantes Médicinales.
- ❖ **ROS:** Reactive oxygen species
- ❖ **SOD:** La superoxyde dismutase

Nomenclatures

- ❖ (%) : pourcentage
- ❖ (A) : absorbance
- ❖ (C) : concentration
- ❖ (C°) : degré celsius
- ❖ (Cm) : centimètre
- ❖ (g) : gramme
- ❖ (L) : litre
- ❖ (mg) : milligramme
- ❖ (min) : minute
- ❖ (ml) : millilitre
- ❖ (mm) : millimètre
- ❖ (T) : température
- ❖ (λ) : longueur d'onde

Liste des figures

Figure 1 . Photo montrant la plante <i>Helianthemum lippii</i> (L) en hiver (Original).	5
Figure 2. Photo montrant la fleur de la plante <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers.	6
Figure 3. Structure chimique de base des flavonoids.....	9
Figure 4 . Structure de la molécule d'isoprène.....	11
Figure 5. Structure de base des tannins condensés.....	14
Figure 6. Structure de base des tannins hydrolysables	14
Figure 7 . Étapes de la macération	17
Figure 8. La plante <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers dans son environnement.	27
Figure 9. Extraction organique a partir du partie aérienne de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers.	29
Figure 10. courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	33
Figure 11. Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	34
Figure 12. Représentation graphique des rendements des extractions à partie aérienne de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers.	37
Figure 13. Gamme d'étalonnage de la quercétine inhibitrices de 50 % du radical DPPH (IC50).	41
Figure 14. Capacité d'inhibition du radical DPPH (IC50) par les extraits organiques et la quercétine inhibitrices de 50 % du radical DPPH (IC50). Comparaison par rapport au quercétine, (p<0.001)***. Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions ± SD.	42

Liste des tableaux

Tableau 1. Etude phytochimique des extraits .	31
Tableau 2. Rendements des extractions à partie aérienne de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers.	37
Tableau 3. Analyse phytochimique des extraits organiques de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers.	38
Tableau 4. Dosage des polyphénols et flavonoïdes des extraits de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers .	39
Tableau 5. Test de réduction du radical DPPH° par les extraits organique et Quercétine.	42
Tableau 6. Antibiogramme des souches étudiés en présence de différents antibiotiques (diamètre de la zone d'inhibition en mm).	44
Tableau 7. Diamètres d'inhibition en (mm) des extraits de <i>Helianthemum lippii</i> (L) pers .	44

Introduction

Introduction

Les plantes ont toujours été très bénéfiques à l'existence humaine ; Si bien que l'utilisation des plantes médicinales suscite une curiosité croissante dans le monde entier depuis des milliers d'années, en raison de l'acceptation croissante par le public des produits naturels et de la devise "retour à la nature", qui peuvent être plus sûrs et exempts d'effets indésirables en raison de ses nombreux bienfaits thérapeutiques (**Hashem et al., 2019; Younes, 2020**).

Les composés actifs présents dans les plantes médicinales sont largement utilisés en dermatopharmacie, en cosmétique, dans l'alimentation et dans l'industrie. Les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les lignanes, les terpènes et les flavonoïdes sont quelques-uns de ces composés (**Bahorun, 1998**).

Le stress oxydatif est l'un des problèmes les plus fréquents en biologie et en médecine. Il se produit lorsqu'une cellule ne peut plus lutter contre la production des radicaux libres nocifs, ce qui peut entraîner un certain nombre des maladies mortelles, dont le cancer (**Reimund, 2002**). Les antioxydants naturels présentent alors un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif (**Ioan vârbă et al., 2009**).

Nous avons mené une étude expérimentale sur la plante (*Helianthemum Lippii* L pers) appartenant à la famille des *cistaceal* afin de déterminer l'importance des plantes contenant des substances actives antioxydantes. Les composés phénoliques seront quantifiés pour plusieurs extraits de différents solvants dans le but de démontrer la qualité de l'utilisation du solvant dans l'extraction des substances efficaces de cette plante.

Notre travail porte sur l'étude phytochimique, l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits de la partie aérienne d'une plante *Helianthemum lippii* (L) pers, comporte deux grandes parties :

- ❖ Une partie bibliographique qui est composée de trois chapitres
 - Chapitre I : plantes médicinales et phytothérapie et monographie de la plante étudiée.
 - Chapitre II : Les substances naturelles et les différentes méthodes d'extraction.
 - Chapitre III : Activités biologiques des extraits du plante.
- ❖ Une Partie pratique qui est subdivisée en deux chapitres, le premier présente les matériels et les méthodes utilisés dans notre travail comme suivant :
 - Préparation des extraits organique du partie aérienne de la plante étudiée.
 - Screening phytochimique des l'extraits organique de la plante étudiée.
 - Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

- Evaluation de la capacité antioxydante des différents extraits de la plante par le test au DPPH.
- Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits de la plante par la méthode des puits.
- ❖ Mais le deuxième ces les résultats obtenus et leur discussion.

Enfin, la note se termine par une conclusion générale résumant les résultats globaux obtenus.

Partie bibliographique

Chapitre I : plantes médicinales et phytothérapie et monographie de la plante étudiée

Chapiter I. plantes médicinales et phytothérapie et monographie de la plante étudiée

I.1 Généralités sur les plantes médicinales

Malgré l'existence et l'impact du système de santé contemporain, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important. Environ 35 000 espèces de plantes sont utilisées à des fins médicales dans le monde entier, ce qui en fait la plus grande utilisation de la biodiversité par l'homme (**Farnsworth et al., 1986**).

Chaque plante contient un certain nombre des substances actives ayant un effet thérapeutique et médical sur une maladie (**Daniel, 2006**). Toute plante contenant des composés bioactifs appelés substances actives végétales lui confère la caractéristique thérapeutique de la présence des principes biologiques actifs.

Lorsque leurs composants sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour des produits chimiques pharmacologiquement actifs, ces plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et la synthèse de médicaments (**Gurib-Fakim, 2006**).

I.2 Phytothérapie et utilisation des plantes médicinales

I.2.1 Définition

Le terme "phytothérapie" est dérivé de deux mots grecs, "phuton" (plante) et "therapeia" (traitement). Il désigne une approche thérapeutique qui utilise les plantes pour soigner les maladies (**Moatti et Fauron, 1983**).

La phytothérapie clinique est une forme de thérapie qui renforce ou complète la médecine allopathique traditionnelle. Son mode d'action est basé sur un traitement prolongé utilisant un système neurovégétatif (**Chabrier, 2010**).

La pratique de la phytothérapie peut être divisée en trois catégories : traditionnelle, moderne et fondée sur des preuves.

-La catégorie moderne recherche des extraits actifs dans les plantes (pharmacognosie ou biologie pharmaceutique).

- Une mesure préventive (vaccination). Utilisée depuis l'Antiquité (**Sebai et Boudali, 2012**).

I.2.2 Utilisation des plantes médicinales

Pendant longtemps, seules les plantes ont été utilisées dans la nature sous forme de tisanes ou de poudres, mais aujourd'hui elles sont utilisées par les plantes médicinales et se présentent sous différentes formes de gélules. De nombreuses plantes sont mélangées pour créer de nouvelles et bonnes pratiques pharmaceutiques tout en respectant de nombreuses conditions (nombre des plantes, saveur, goût, etc.). En tenant compte à la fois de l'âge du patient et du consommateur (Chabrier, 2010).

I.3 *Helianthemum lippii* (L) pers

I.3.1 Généralités sur la famille des *cistacées*

Les plantes biphalées, qui sont des arbustes s'épanouissant fréquemment dans des endroits ensoleillés et bien ventilés et sur des sols sablonneux, font partie de la famille des *sistian*. On les trouve généralement dans les climats chauds ou tempérés, en particulier dans la région méditerranéenne. Il existe environ 170_200 espèces différentes. Les genres sont *Leachea*, *Tuberaria*, *Hudsonia*, *Helianthemum*, *Halimium*, *Crocanthium*, *Fumana* et *Crocanthium*.

L'*Helianthemum* est l'une des principales espèces de cette famille. La majorité des membres de cette famille ont un parfum doux qui les rend très utiles pour les ornements et la parfumerie. De plus, grâce à leur résistance aux racines, de nombreuses espèces peuvent s'adapter rapidement aux incendies qui ravagent d'énormes étendues de forêts (Bouzergaune, 2010 ; Ferrandis et al., 1999).

I.3.2 Généralités sur le genre *Helianthemum*

Il existe 14 espèces différentes de cette plante que l'on peut trouver dans la mer méditerranée, ainsi que dans les déserts du sud, de l'ouest et du nord. Les feuilles de cette espèce sont souvent opposées et légèrement reliées à ses caractéristiques générales (Bouzergaune, 2010).

I.3.3 L'espèce *Helianthemum lippii* (L) pers

I.3.3.1 Habitat et distribution géographique

Le samhari réside dans la région arabe saharienne (Maghreb, États du Golfe, Levant et Iran), où les sols sablonneux propres sont privilégiés et abondants dans les zones sablonneuses (Irak), ainsi que dans d'autres endroits en dehors des zones salées qui ne voient pratiquement jamais rien pousser près d'elles (Quezel et Santa, 1963).

I.3.3.2 Étude biologique de la plante *Helianthemum Lipii* (L) pers

Cette plante rare, que l'on trouve dans le bassin méditerranéen occidental, est actuellement menacée d'extinction. La plante est largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les éruptions cutanées, comme antimicrobien, et cette plante était également utilisée en Libye contre la pourriture et la prévention des maladies, et au Maroc elle causait la boiterie des chameaux (une sorte d'arthrite) (Atef et al., 2015; Benabdelaziz et al., 2017; Djemam et al., 2020). contre les bactéries, contre les parasites, et contre le giardia (un type de parasite), et a traité les problèmes digestifs comme la diarrhée et les ulcères d'estomac, et les éruptions cutanées (Tawaha et al., 2007).

I.3.3.3 Description botanique

Il s'agit d'un arbuste floconneux et pérenne avec de nombreuses branches dont la longueur et la forme varient en fonction de l'environnement dans lequel il pousse. Elles se développent sous la forme d'une masse compacte de branches ligneuses qui se chevauchent étroitement. Les fleurs du samaritain sont légèrement jaunes, ses feuilles sont fines et petites, ses vieilles tiges (sèches) sont lisses, tandis que ses jeunes tiges sont rouges. Dans ces régions, elles dépassent rarement 50 centimètres de hauteur (vert) selon la **Figure 1 et 2 (Quezel et Santa, 1963)**.



Figure 1 . Photo montrant la plante *Helianthemum lippii* (L) en hiver (Original).

1. Les petites feuilles, dont certaines ne mesurent qu'un centimètre de long, présentent fréquemment des bords recourbés sur la face inférieure.

2. Sur un côté de la lucarne, quelques petites fleurs sont disposées.
3. Le trophée est constitué d'une troisième grande natte dont l'extérieur est recouvert de poils épais. Une paire de petites semelles est glissée sous l'énorme natte.

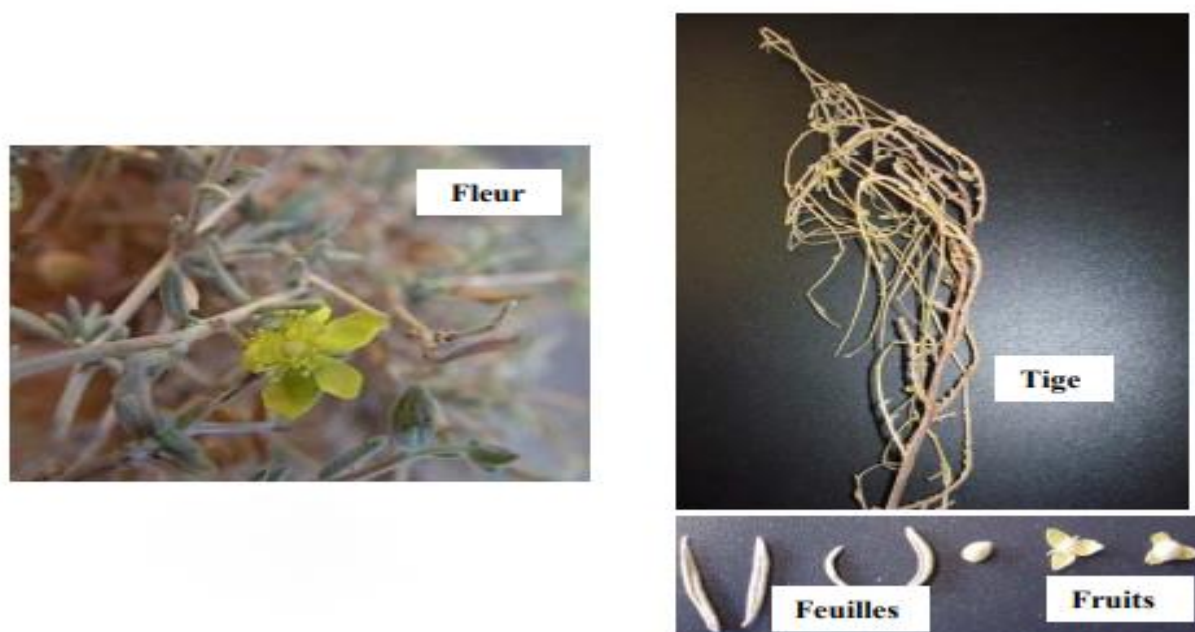


Figure 2. Photo montrant la fleur de la plante *Helianthemum lippii* (L) pers (Benhammou, 2012) .

I.3.3.4 Travaux antérieurs et usages thérapeutiques

Cette plante est utilisée par la population locale de la zone de recherche pour soulager les douleurs menstruelles, selon notre enquête ethnobotanique auprès de cette population. Comparée à d'autres espèces, elle a montré une activité antibactérienne, antiprotozoaire et antiigiardique et est utilisée pour traiter les affections gastro-intestinales telles que la diarrhée et la dysenterie. En ce qui concerne l'activité antioxydante (Benhammou, 2012).

Partie bibliographique

Chapiter II. Les substances naturelles et les différentes méthodes d'extraction.

Chapitre II. Les substances naturelles et les différentes méthodes d'extraction

II.1 Substances bioactives

Les plantes ont la particularité de pouvoir reproduire une grande variété des composés naturels. En fait, elles collectent généralement des métabolites secondaires en plus des métabolites primaires traditionnels, tels que les hydrates de carbone, les protéines et les lipides. Ces derniers constituent une réserve importante des composés qui peuvent être utilisés effacé dans une variété d'industries, y compris la médecine et l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

Les molécules présentes dans l'état ou la forme de préparation d'un médicament végétal sont ses principes actifs ; ces molécules ont une valeur thérapeutique pour l'homme et l'animal, à titre curatif ou préventif (Pelt, 1980). Toutes les parties de la plante contiennent des composés bioactifs, mais ceux-ci sont répartis de manière inégale et n'ont pas tous les mêmes caractéristiques. Ces principes actifs sont des extraits de plante qui, combinés dans un dosage à la fois précis et efficace, présentent une concentration adéquate (**Beddar et Gomres, 2021**).

II.2 Substance naturelles

II.2.1.1 Polyphénols

Les molécules phytochimiques connues sous le nom de polyphénols se trouvent principalement dans les fruits, les légumes, le cacao, les légumineuses, les céréales, le café, le thé et les boissons. Les polyphénols sont les produits finaux du métabolisme secondaire des plantes.

Dans la nature, plus de 8 000 polyphénols ont été découverts. Leur fonction principale est l'activité antioxydante ; ils peuvent défendre notre corps contre les infections, les rayons UV et les dommages causés par les radicaux libres (**Pandey et Rizvi, 2009**). Des racines aux fruits, ils sont des sous-produits du métabolisme secondaire des plantes (**Yusuf, 2006**).

Parce qu'ils sont des composants essentiels des qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et de l'alimentation des plantes, ces produits chimiques jouent un rôle clé (**Scalbert et al., 2002**).

❖ Structure chimique

Un minimum d'un cycle aromatique (tel que le benzène) à six carbones et un nombre variable des fonctions hydroxyles doivent être présents dans la structure des polyphénols pour qu'ils puissent être classés dans l'une des quelque dix classes chimiques en fonction de leurs propriétés structurelles OH (**Hennebelle et al., 2004; Macheix et al., 2005**).

❖ Activité des polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturels à une distribution très large dans le règne végétal. En particulier lorsque la plante est soumise à un stress mécanique, les polyphénols sont liés à une variété de processus physiologiques impliqués dans la qualité des aliments. La capacité d'une espèce végétale à repousser les assauts des insectes et des microbes est souvent liée à la quantité de composés phénoliques présents. Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux, anti-allergènes, vasodilatateurs et antioxydants (Ali et al., 2007; Bahorun, 1998; Falleh et al., 2008).

Les substances polyphénoliques sont de plus en plus utilisées en médecine. Elles font partie des groupes des veinotoniques et des vasculoprotecteurs. Relvenet et Cirkant, qui contiennent du ruténoside, ainsi que Daflont et Diosmilt, qui contiennent de la diosmine, sont des exemples de veinotoniques. Sans résultats concluants, certains composés polyphénoliques sont également testés en clinique comme hypotenseurs ou antiagrégants plaquettaires (Gómez-Caravaca et al., 2006).

II.2.1.2 Flavonoïdes

Un groupe des métabolites secondaires connus sous le nom de flavonoïdes est présent dans de nombreux types des plantes. Ils sont pratiquement toujours présents dans les plantes sous forme de pigments et contribuent à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils sont découverts en solution dans la vacuole cellulaire sous forme d'hétérosides ou des composants de certains plastides et les chromoplastes (Guignard, 1996).

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, telles que les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces activités sont dues en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres, tels que les radicaux hydroxyles ($\cdot\text{OH}$) et superoxydes ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Aujourd'hui, plus de 4 000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils partagent une origine biosynthétique commune et partagent donc tous le même squelette de base de 15 atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, deux cycles C6 (A et B), reliés par une chaîne C3 (Figure 3) (Marfak, 2003).

Les flavonoïdes sont définis comme des substances dont la formule structurelle est le diphénylpropane (C6-C3-C6); les trois carbones faisant la jonction entre les deux anneaux benzéniques dénommés A et B forment typiquement un hétérocycle oxygéné C (de Rijke et al., 2006). Les flavonoïdes sans sucres associés, représentent parfois une part importante de l'ensemble des molécules des flavonoïdes dans la plante et sont généralement présents en petites quantités.

La structure chimique de base des flavonoïdes sont présentées dans le **Figure 3**. Les flavones et les flavonols sont des exemples d'anneaux à six membres condensés avec l'anneau benzénique et sont soit des pyrones, soit leurs dihydrodérivés (flavanones et flavan-3-ols). La flavone (position 2) et l'isoflavone sont deux types des flavonoïdes qui se distinguent par l'emplacement du substitut benzénoïde (position 3). La majorité des flavonoïdes sont conjugués à un sucre à l'état naturel et peuvent être classés comme monoglycosidiques, diglycosidiques, etc. au sein d'une classe donnée. L'unité glucidique peut être le L-rhamnose, le D-glucose, le glucorhamnose, le galactose ou l'arabinose, et la liaison glycosidique se trouve souvent en position 3 ou 7 (**Pretorius, 2003**).

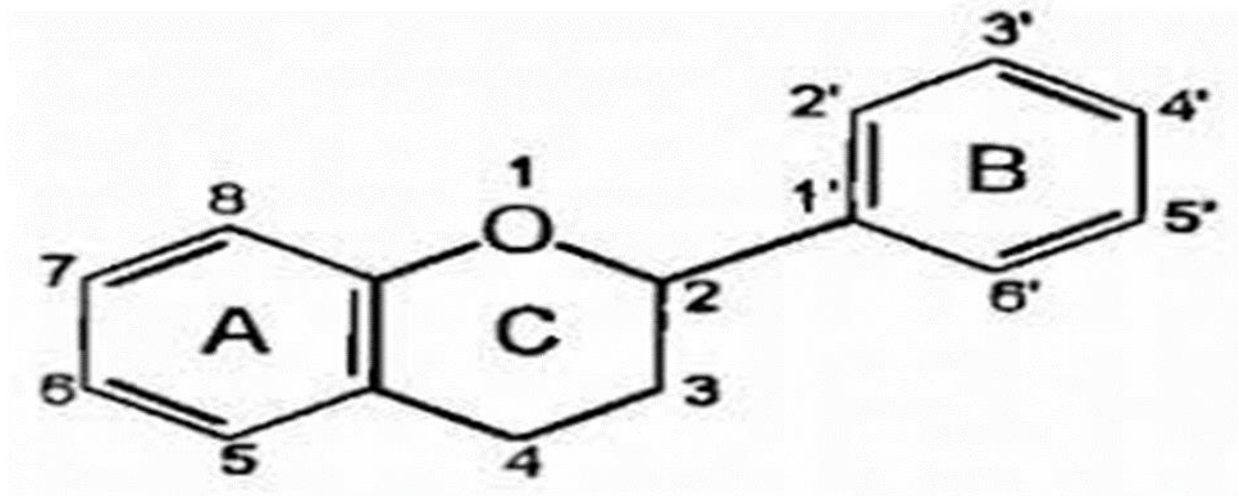


Figure 3. Structure chimique de base des flavonoïdes (**Bouhaddouda, 2016**).

❖ **Activité des flavonoïdes**

En raison de leurs nombreuses actions biologiques et pharmacologiques, les flavonoïdes ont récemment suscité l'intérêt. Bien qu'il ait été démontré que les flavonoïdes possèdent diverses propriétés biologiques, notamment des effets antimicrobiens, cytotoxiques, anti-inflammatoires et antitumoraux, leur capacité à fonctionner comme des puissants antioxydants capables de protéger le corps humain contre les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène est celle pour laquelle presque tous les groupes des flavonoïdes sont le plus connus. La composition moléculaire des flavonoïdes détermine leur efficacité en tant qu'antioxydants. L'emplacement des groupes hydroxyles et d'autres caractéristiques de la structure chimique des flavonoïdes jouent un rôle spécial dans les capacités antioxydantes et de piégeage des radicaux libres de ces composés. Les minéraux antioxydants que sont la vitamine C, la vitamine E et le bêta-carotène ne sont pas aussi efficaces que les flavonoïdes tels que la lutéoline et les cathéchines. Selon des études, les flavonoïdes offrent une variété d'effets bénéfiques, notamment anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antibactériens, œstrogéniques, antiallergiques, antioxydants, vasculaires et

anticancéreux cytotoxiques (Tapas et al., 2008). Une variété des composés connus sous le nom des flavonoïdes jouent un rôle spécial dans la défense des systèmes biologiques contre les effets néfastes des processus oxydatifs sur les macromolécules, notamment l'ADN, les protéines, les hydrates de carbone et les lipides (Atmani et al., 2009).

II.2.1.3 Terpènes

La famille des substances naturelles la plus importante et la plus diversifiée est celle des terpènes, également connus sous le nom d'isoprénoïdes, que l'on trouve principalement dans les plantes. Néanmoins, des groupes plus importants des terpènes, tels que les stérols et le squalène, peuvent également être trouvés chez les animaux (Cox-Georgian et al., 2019).

Les deux précurseurs universels à cinq carbones (C₅), l'isopentényl pyrophosphate (IPP) et le diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP), qui sont produits par la voie du mévalonate (MVA) dans le cytoplasme ou par la voie du 2-C-méthyl-Dérythritol 4-phosphate (MEP) dans les plastes, sont les points de départ de la biosynthèse de tous les isoprénoïdes (Jiang et al., 2019; Jiang et al., 2016).

La présence d'unités isopréniques avec 5 atomes de carbone dans leur squelette est leur propriété structurelle la plus importante, et elles correspondent généralement à la formule générale (C₅H₈) (Hernández-Ochoa, 2005). Ils constituent une classe importante des composés secondaires hydrophobes et parfois volatils (Seaman et al., 1982). Les terpènes ou monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les triterpènes en C₃₀ et les tétraterpènes en C₄₀ se distinguent en fonction du nombre d'unités isopréniques qui les composent (Figure 4) (Mezouar, 2013).

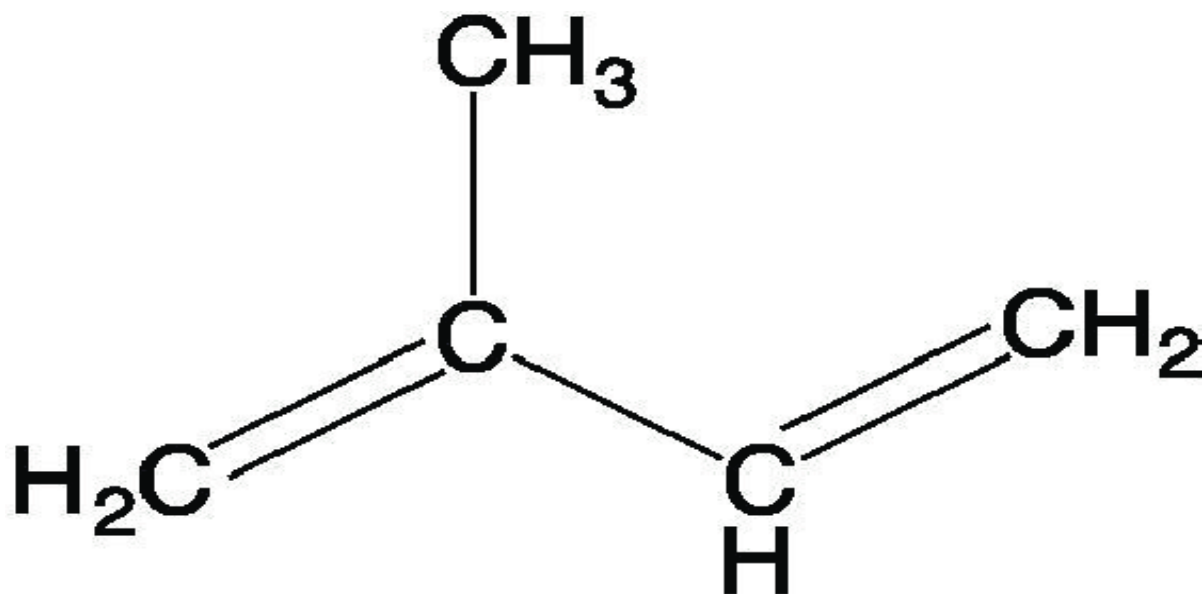


Figure 4 . Structure de la molécule d'isoprène (Mostafa, 2008).

❖ Activité des terpènes

Depuis l'Antiquité, leur valeur thérapeutique s'est considérablement accrue. En outre, les structures chimiques des terpènes ont une action antioxydante.

Les terpénoïdes sont un ensemble des métabolites secondaires végétaux à la structure variée qui servent des phytoalexines dans la défense directe des plantes ou de signaux dans les réactions de défense indirecte impliquant les herbivores et d'autres ennemis naturels (McCaskill et Croteau, 1998).

Plusieurs plantes produisent des terpènes volatils afin d'attirer certains insectes pour la pollinisation ou de dissuader certains animaux de manger les plantes. Certaines plantes sont protégées de la consommation animale par des terpènes moins volatils mais ayant une saveur amère ou toxique prononcée (Degenhardt et al., 2003). Enfin, des recherches préliminaires ont démontré que les terpènes jouent un rôle important dans les plantes en tant que molécules de signalisation et régulateurs de croissance (phytohormones). En outre, les terpénoïdes peuvent avoir des qualités thérapeutiques telles que des activités anticancérigènes, antipaludiques, antiulcéreuses, hépatiques, antibactériennes ou diurétiques, ainsi que l'artémisinine, médicament antipaludique à base de sesquiterpénoïdes, et le taxol, médicament anticancéreux à base de diterpénoïdes (Dudareva et al., 2004; Langenheim, 1994).

II.2.1.4 Quinones

Les quinones sont largement présentes dans la nature et se trouvent principalement dans le règne végétal. Elles sont également très réactives (Cowan, 1999). Il s'agit de composés aux couleurs vives contenant deux fonctions cétone, souvent rouges, jaunes ou orange. On trouve des quinones dans les bactéries, les champignons et les plantes. Les quinones sont également présentes chez les animaux et jouent un rôle dans la coagulation du sang, comme la vitamine K. Les quinones sont utilisées comme fongicides, médicaments et colorants (Kansole, 2009).

II.2.1.5 Saponins

Ensemble des composés chimiques définis comme des hétérosides d'alcools saponosides. L'hydrolyse des saponines libère des oses variés. Les saponines sont un type des métabolites secondaires que l'on trouve dans le monde végétal. Dans les solutions aqueuses comme le savon, elles créent une mousse stable, d'où le terme "saponine". D'un point de vue chimique, les saponines comprennent des triterpénoïdes, des alcaloïdes stéroïdiens et des stéroïdes glycosylés. Les saponines sont de deux types : triterpénoïdes utilisés comme agents émulsionnants et comme détergents, et stéroïdale, qui comme leur nom l'indique, ont une ressemblance avec les hormones animales (stéroïdes) (Belfodil et Bourenine, 2016; Bohlmann et al., 1998).

Le composant glucidique (aglycone) est constitué d'une ou de plusieurs moitiés de sucre avec du glucose, du galactose, du xylose, de l'arabinose, du rhamnose ou de l'acide glucuronique reliés de manière glycosidique à une sapogénine. Les saponines monodesmosides sont celles qui ont une seule molécule de sucre connectée en position C-3, tandis que les saponines bidesmosides sont celles qui contiennent au moins deux sucres, l'un attaché en position C-3 et l'autre en position C-22 (Lásztity et al., 1998).

❖ Activité des saponines

Le fonctionnement physiologique des saponines dans les plantes n'est toujours pas clair. Seules quelques études se sont concentrées sur leur rôle dans les cellules végétales, malgré plusieurs publications détaillant leur détection dans les plantes, ainsi que leurs nombreux impacts sur les cellules animales, les champignons et les bactéries. Il a été démontré que des nombreuses saponines ont des propriétés antibactériennes, empêchent la croissance des moisissures et protègent les plantes contre les dommages causés par les insectes. Les saponines font partie d'une vaste catégorie des produits chimiques défensifs appelés phytoanticipines ou phytoprotecteurs, qui sont des composés faisant partie des mécanismes de défense des plantes (Lacaille-Dubois et Wagner, 2000).

Lorsqu'elles sont présentes dans l'organisme d'un animal, les combinaisons des saponines provenant des plantes et des produits végétaux ont divers impacts biologiques. On a constaté que le développement animal, la consommation d'aliment et la reproduction étaient fortement influencés par les propriétés perméabilisantes des membranes, immunostimulantes, hypocholestérolémiques et anticancérigènes des saponines, qui ont également fait l'objet de nombreuses recherches. Il a également été noté que ces substances chimiques à la structure variée tuent les protozoaires et les mollusques, fonctionnent comme des antioxydants, interfèrent avec la digestion des protéines et l'absorption des vitamines et des minéraux dans l'estomac, provoquent l'hypoglycémie et ont des propriétés antifongiques et antivirales (Morrissey & Osbourn, 1999; Takechi et al., 1999; Traore et al., 2000).

II.2.1.6 tannins

Il s'agit des polyphénols de poids moléculaire extrêmement élevé. Liés aux protéines et aux hydrates de carbone, ils sont de plus en plus hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles. On distingue deux catégories des tanins en fonction de leurs différences structurelles (Muanda, 2010).

❖ Les tannins condensés

Les proanthocyanidines ou procyanidines, également connues sous le nom des tanins condensés, sont des polyphénols de masse moléculaire élevée qui se forment lorsque des unités de flavan-3,4-diol sont polymérisées par voie enzymatique ou auto-oxydante et reliées par des liaisons C4-C8 ou C4-C6 (proanthocyanidines de type B). En revanche, les proanthocyanidines de type A sont générées lorsque cette condensation est provoquée par une seconde liaison éther entre C2 et C7 et une liaison C4-C8 entre unités voisines voir la *Figure 5*.

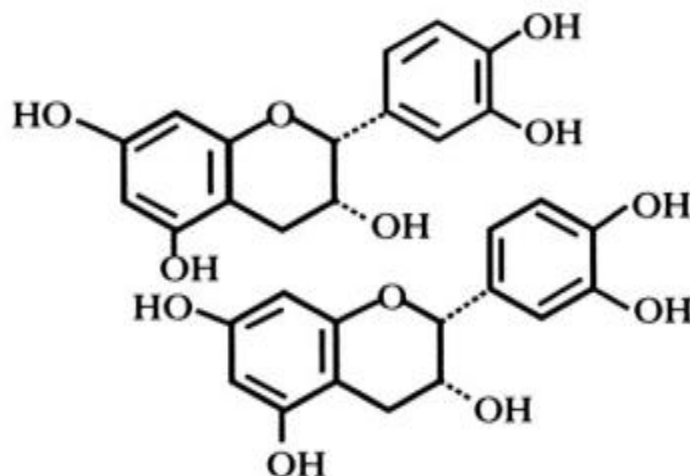


Figure 5. Structure de base des tannins condensés (Cowan, 1999).

❖ Les tannins hydrolysables

Les dimères d'acide gallique concentrés sur un dérivé glycosyle constituent les tanins hydrolysables voir la *Figure 6*. Ces tanins sont facilement soumis à l'hydrolyse (acide/base) ou à l'hydrolyse enzymatique puisque leur nom, hydrolysable, dérive du terme hydrolyse.

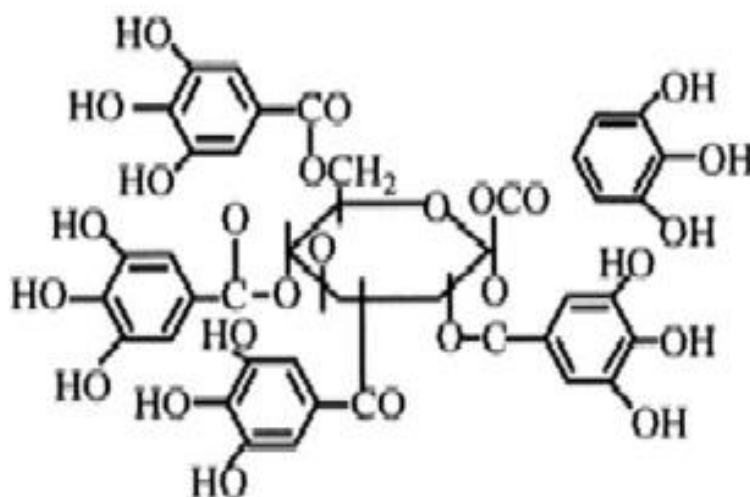


Figure 6. Structure de base des tannins hydrolysables (Cowan, 1999).

❖ Activité des tannins

Les extraits des plantes contenant des tanins sont utilisés en médecine, en particulier dans la médecine naturelle asiatique (japonaise et chinoise), comme astringents, contre la diarrhée, comme diurétiques, contre les tumeurs de l'estomac et du duodénum, ainsi que comme produits

pharmaceutiques anti-inflammatoires, antiseptiques, antioxydants et hémostatiques (**De Bruyne et al., 1999**).

Les tanins sont utilisés comme causes pour les colorants cationiques (colorants à base de tanin) dans l'industrie des colorants ainsi que dans la création d'encre (encre à base de gallate de fer). Le vin, la bière et les jus de fruits sont clarifiés par les tanins dans le secteur alimentaire. Les tanins ont récemment fait l'objet des études scientifiques, notamment en raison de l'augmentation des maladies mortelles telles que le SIDA et différentes tumeurs malignes. Le besoin de nouveaux composés principaux pour la création de médicaments innovants s'est accru, en particulier à la lumière des effets biologiques bien établis des extraits des plantes contenant des tanins (**Palav et D'mello, 2006**).

II.3 Les différentes méthodes d'extraction des composés actifs

L'extraction est un processus qui consiste à retirer certains composants d'un organisme (animal ou végétal) à l'aide de diverses méthodes. Une étape cruciale dans l'isolation et l'identification des composés phénoliques est l'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, les polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leur pouvoir antioxydant. C'est pourquoi plusieurs auteurs ont étudié l'impact de diverses procédures d'extraction sur les rendements des produits chimiques phénoliques à partir de sources végétales. La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé.

Les nombreuses méthodes d'extraction comprennent l'extraction par décoction, l'extraction par décoction et l'extraction par macération dans du méthanol aqueux. Les Algériens ont historiquement préparé les boissons alcoolisées les plus appréciées, comme le thé, par décoction ou avec de l'eau chaude. Ils ont aussi traditionnellement préparé des remèdes à base de plantes en utilisant ces méthodes. Les composants actifs des plantes peuvent être extraits à l'aide de différentes méthodes d'extraction (**Bourgou et al., 2016**).

Il existe plusieurs techniques d'extraction, dont certaines ont été créées par les parfumeurs avant même que la chimie moderne n'existe.

Macération: Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre, affirment (**Pierre et Lys, 2007**). Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être immergées pendant 10 à 12 heures dans le liquide froid ou tiède, avec un risque d'oxydation et de fermentation du liquide si la macération à l'eau dure plus de 12 heures. Le processus de macération consiste à maintenir la poudre de plantes en contact avec un solvant pendant une période prolongée.

Rispail et al. (2005) précisent que les propriétés chimiques uniques de chaque famille de métabolites secondaires servent de guide pour le choix d'un solvant. Les solvants les plus utilisés sont souvent l'éthanol, le méthanol ou encore l'eau. Le méthanol et l'éthanol ont l'avantage d'être plus faciles à éliminer voir la **Figure 7 (Akrib et Laib, 2022)**.

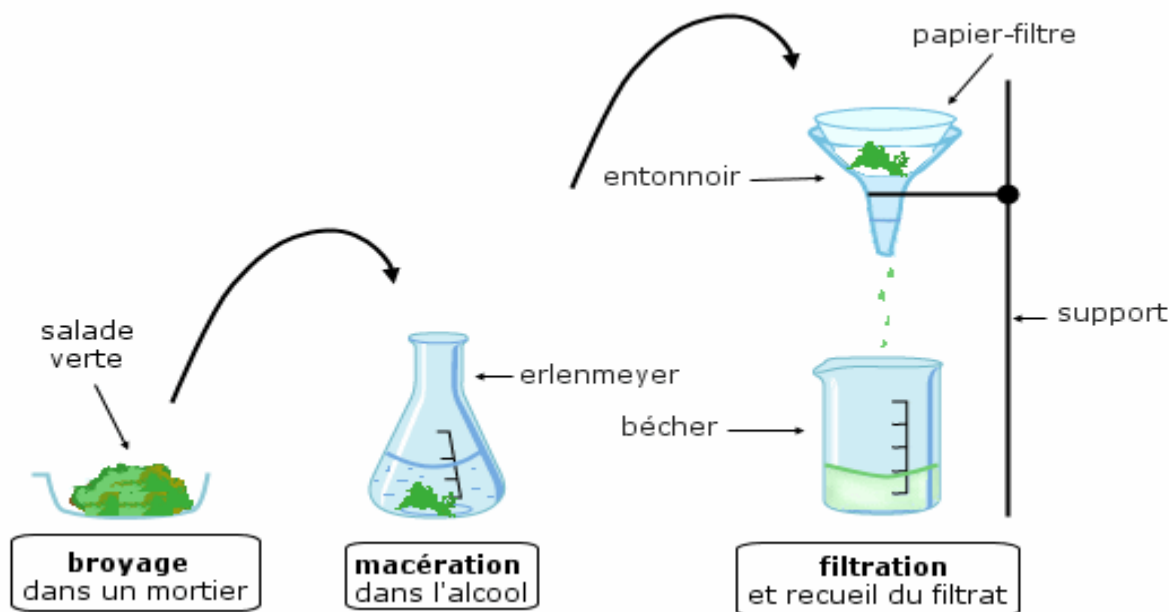


Figure 7. Étapes de la macération .

La decoction: Lorsque la racine ou l'écorce d'une plante est mise dans de l'eau froide et portée à ébullition, les composants du liquide se dissolvent (extraction à chaud).

Infusion : Les composants actifs sont dissous en trempant les feuilles ou les fleurs finement coupées dans de l'eau bouillante. On la prépare exactement comme le thé, à partir d'une seule plante ou d'un mélange de plusieurs, et on la boit chaude ou froide.

II.4 Techniques d'extraction à partir d'une plante

II.4.1 Techniques d'extraction classiques

Le choix du solvant ainsi que la température et/ou l'agitation sont à la base des approches traditionnelles d'extraction par solvant de composés actifs à partir de matrices végétales. Les méthodes traditionnelles actuellement utilisées pour extraire ces composés actifs sont les suivantes: Soxhlet, hydrodistillation et macération à l'aide d'une graisse chauffée ou d'une solution d'alcool et d'eau (Guillon, 2010).

❖ Extraction par soxhlet

L'extraction par soxhlet a été la méthode traditionnelle la plus populaire pour l'extraction des principes actifs des plantes parce que la plante est une substance très complexe avec une variété de composants allant des macromolécules presque insolubles (lignine, cellulose) à des molécules

de faible poids moléculaire (sucres, alcools). Cette méthode permet d'effectuer une extraction complète en utilisant plusieurs solvants polaires et non polaires.

Un contact solide-liquide est utilisé dans l'extracteur de Soxhlet pour déplacer les composants de la matrice végétale en les solubilisant dans la phase liquide pendant le reflux.

L'échantillon est constamment en contact avec différentes concentrations de solvant, ce qui constitue l'un des nombreux avantages de la technique. Ce processus permet d'éviter la saturation potentielle du solvant avec le matériau qui peut être extrait, ce qui augmente le déplacement des produits chimiques de la matrice (Kheribeche, 2008).

❖ **Hydrodistillation**

Lorsque le matériel végétal entre en contact direct avec l'eau, le processus est appelé "hydrodistillation" ou distillation à l'eau. Le terme "turbo-distillation" fait référence au processus de broyage du matériel végétal. Dans un alambic rempli d'eau puis porté à ébullition, la matière végétale à traiter (entière ou broyée) est immergée directement. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. La calcination du matériel végétal, qui affecte la composition et les propriétés chimiques de l'huile essentielle, est l'un des inconvénients de cette méthode. Le contrôle de la température du récipient contenant le mélange (eau + matériel végétal) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation. Cette technique est généralement appliquée aux huiles essentielles dont les composants chimiques résistent à la chaleur. Cette méthode permet également d'extraire des huiles de fleurs et de feuillages vivants ou morts. Cette technique permet d'extraire les huiles de menthe, de myrte et de citronnelle (YOUNES, 2020).

II.4.2 Techniques d'extraction moderne

II.4.2.1 Extraction assistée par micro-onde (MAE)

Ganzler et al, ainsi que Lane et Jenkins, ont publié les premiers articles utilisant les micro-ondes pour récupérer des molécules organiques en 1986. Depuis lors, plusieurs recherches et demandes de brevet ont porté sur l'extraction végétale assistée par micro-ondes. L'extraction par micro-ondes comprend de nombreuses procédures distinctes, notamment :

- L'extraction par solvant assistée par micro-ondes ou « MAE : microwave assisted extraction » breveté par Paré .

Une méthode courante d'extraction des principes actifs des plantes médicinales est appelée MAE (Microwave Assisted Extraction). Cette méthode consiste à chauffer des solvants contenant des

échantillons avec de l'énergie micro-onde afin de séparer les analytes d'une matrice d'échantillon dans le solvant. Comparée aux techniques d'extraction conventionnelles (Soxhlet, Twisselmann, etc.), l'extraction assistée par micro-ondes est plus rapide, la consommation de solvants est plus faible et si besoin, des températures plus élevées peuvent être utilisées (**Brennecke & Eckert, 1989; Cheok et al., 2014; Takeuchi et al., 2009**).

Partie bibliographique
Chapiter III : Activités
biologiques des extraits du
plante .

Chapiter III. Activités biologiques des extraits du plante

III.1 Activité antioxydante

Les antioxydants sont divisés en trois catégories en fonction de leur mode d'action : les piègeurs d'oxygène dans les systèmes fermés, les chélateurs d'ions métalliques et les piègeurs de radicaux libres. Les piègeurs de radicaux libres sont classés dans la catégorie des polyphénols, qui sont soit naturellement présents dans les aliments, soit créés au cours de la transformation (**Chew, 2009**).

III.1.1 Les radicaux libres dans les systèmes biologiques

III.1.1.1 . Définition

Une espèce chimique, un atome ou une molécule qui possède un électron non apparié sur l'orbite externe est appelé radical libre. Ces espèces tenteront d'apparier leur électron solitaire, car leurs électrons non appariés les rendent extrêmement instables et réactifs (**Jadot, 1994**). Les espèces réactives de l'oxygène sont un terme général utilisé pour désigner tous les radicaux libres et leurs précurseurs ROS).

Actuellement, un éventail plus large de molécules est désigné sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène" :

- Les radicaux oxygénés (l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, les radicaux hydroxyles HO^{\cdot} , les peroxydes ROO^{\cdot} et les alkoxydes RO^{\cdot}) qui possèdent un électron non apparié.
- Dérivés non radicalaires de l'oxygène qui peuvent agir comme précurseurs des radicaux libres, tels que le nitroperoxyde $ONOOH$, l'oxygène singulet 1O_2 et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (**Favier, 2003**).

III.1.1.2 Principaux radicaux libres

❖ L'anion superoxyde: $O_2^{\cdot-}$

C'est l'oxygène moléculaire qui a été réduit à la suite de la réception d'un électron. C'est le premier radical créé lorsque les électrons sont transportés à travers la chaîne respiratoire (**Harman, 2001**).

La production d'autres radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical hydroxyle $\cdot OH$ et l'oxygène singulet O_2^{\cdot} dépend fortement de l'anion superoxyde (**Stief, 2003**).



❖ **Le peroxyde: H₂O₂**

Bien qu'il n'ait pas de structure radicalaire, le peroxyde est considéré comme une espèce réactive de l'oxygène (ERO) car il peut déclencher ou étendre des dommages oxydatifs (**Jadot, 1994**).

Le radical superoxyde peut se dismuter spontanément ou chimiquement pour former un peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). La superoxyde dismutase est principalement responsable de cette dismutation chimique **SOD (Yu, 1994)**.

❖ **Le radical hydroxyle : OH[·]**

C'est l'une des espèces chimiques les plus oxydantes et peut attaquer très rapidement la plupart des molécules biologiques.

L'espèce radicale connue sous le nom de radical hydroxyle (-OH) est très réactive. Il est principalement créé lorsque des ions métalliques se combinent avec du peroxyde d'hydrogène. C'est ce que l'on appelle les réactions de Fenton :



Dans un processus connu sous le nom de réaction de Haber et Weis, H₂O₂ peut également interagir avec le radical superoxyde pour produire à nouveau OH (Jacques et André., 2004).

❖ **L'oxygène singulet: 1O₂**

C'est une espèce oxygénée extrêmement réactive. Il s'agit d'une molécule à l'état excité qui peut produire des peroxydes lorsqu'elle interagit avec divers accepteurs d'électrons. Ses cibles biologiques sont les protéines, les acides nucléiques et les membranes (**Nzengue, 2008**).

III.1.2 Stress oxydatif**III.1.2.1 Définition**

Le résultat d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par les systèmes de défense antioxydants est le stress oxydatif. Un déséquilibre entre les mécanismes de défense antioxydants de l'organisme et la production de radicaux libres conduit au syndrome connu sous le nom de stress oxydatif. Ce déséquilibre peut résulter d'une carence nutritionnelle en antioxydants, d'une surproduction endogène de substances liées au système immunitaire ou d'une exposition à des facteurs pro-oxydants dans l'environnement (**Hamadi, 2010**).

III.1.2.2 Conséquences du stress oxydant

Les radicaux libres à l'origine du stress oxydatif causent principalement des dommages aux tissus en oxydant les protéines, l'ADN ou les lipides (Laight et al., 2000).

❖ Peroxydation des lipides

En raison de leur sensibilité due à leur insaturation, les lipides sont les premières cibles des ROS (acides gras polyinsaturés). Les peroxydes lipidiques, également très réactifs, sont créés lorsque les lipides sont peroxydés. Il en résulte des modifications de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Garait, 2006).

❖ Oxydation des protéines

Les protéines qui ont subi des modifications oxydatives par les ROS se voient ajouter des groupes carboxyles. Les réactions d'oxydation des protéines se divisent en deux catégories : celles qui modifient la chaîne peptidique en rompant les liaisons peptidiques et celles qui modifient les peptides en y incorporant des sous-produits de la peroxydation des lipides. Ces modifications entraînent la perte de la fonction catalytique ou structurelle des protéines concernées (Nzengue, 2008).

❖ Oxydation de l'ADN

Par rapport à l'ADN nucléaire, l'ADN mitochondrial est la cible privilégiée de l'oxydation des ROS. Les réactions d'oxydation de l'ADN entraînent une variété de dommages à l'ADN qui peuvent être divisés en deux catégories : les lésions des bases puriques et pyrimidiques par OH. et peroxydation, dont la cible préférée de nombreux oxydants est la guanine (8-oxo-7,8-dihydro-2'-désoxyguanosine), ainsi que la modification des bases par la fixation de produits secondaires, tels que l'ajout du groupe amine par des aldéhydes réactifs (Martínez-Cayuela, 1995).

III.1.3 Marqueurs biologiques des stress oxydatif

Les marqueurs biologiques du stress oxydatif qui démontrent la présence du stress oxydatif chez un patient et les dommages causés par l'EOA sont inclus dans l'étude du stress oxydatif.

- Les mécanismes de défense qui permettent de contrôler la production d'EOA ou de neutraliser les oxydants. Il s'agit de mécanismes de défense anti-enzymatiques (SOD, GPX) ou enzymatiques (vitamines, oligo-éléments).

- Stress oxydant au niveau des lipides
- Stress oxydant au niveau des lipoprotéines
- Stress oxydant au niveau de l'ADN

- Stress oxydant au niveau des neutrophiles
- CRP ultrasensible (Pincemail et al., 2009).

III.1.4 Les antioxydants

Le terme "antioxydants" fait référence aux mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non enzymatiques dont disposent les cellules et qui sont généralement suffisants pour restaurer le stress oxydatif provoqué par le métabolisme aérobie (Serafini et al., 2000).

III.1.4.1 Définition

Les antioxydants sont tous les composés qui, lorsqu'ils sont présents en faible concentration par rapport à un substrat oxydable, retardent ou inhibent de manière significative l'oxydation de ce substrat. Les produits de cette réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas non plus être toxiques et ne doivent pas déclencher la réaction radicalaire (Wassmann et al., 2004).

III.1.4.2 Les types d'antioxydants

❖ Les antioxydants enzymatiques

a. La superoxyde dismutase (SOD)

Les métalloprotéases, ou SOD, constituent l'une des premières lignes de défense de l'organisme contre les oxydants. Elles facilitent la dismutation monoélectronique de l'O₂⁻ en dioxygène et H₂O₂ (Valko et al., 2007).

b. La catalase

Hémoprotéine qui convertit H₂O₂ en H₂O et O₂. Elle se trouve dans les peroxysomes. Relation entre l'activité de la catalase et la concentration (Guillouty, 2016).



c. La glutathion peroxydase (GPX)

Les GPX sont des séléno-protéines capables de convertir les hydroperoxydes lipidiques et le peroxyde d'hydrogène en alcools lipidiques et en H₂O, respectivement (Valko et al., 2007).

❖ Les antioxydants non enzymatiques

III.1.4.2.1 L'acide ascorbique

C'est le meilleur piègeur de ROS. En reconstituant la vitamine E, il stoppe l'oxydation des lipides. Elle remplit de nombreuses fonctions dans le système immunitaire, la création du collagène et des globules rouges, ainsi que le métabolisme du fer (Haleng et al., 2007).

III.1.4.2.2 La vitamine E

Il s'agit d'un groupe d'isomères qui comprend les tocophérols et les tocotriénols, et sa fonction est de créer des radicaux tocophériques à partir de réactions avec les radicaux peroxydes (ROO⁻). Il ralentit également la progression de la peroxydation des lipides (**Haleng et al., 2007**).

III.1.4.2.3 Le β carotène

C'est le précurseur de la vitamine A. Il a la capacité de capturer l'oxygène singulet et peut empêcher les événements de la chaîne de lipo-péroxydation de se produire (**Goudable et Favier, 1997**).

III.1.4.2.4 Le sélénium

C'est un oligo-élément que l'on trouve dans certains fruits secs et dans les aliments riches en protéines animales. Il fonctionne comme cofacteur de la glutathion peroxydase et diminue l'oxydation de l'ADN, des lipides et des lipoprotéines (**Haleng et al., 2007**).

III.1.4.3 Caractéristiques des antioxydants

- Lorsqu'une substance possède les caractéristiques suivantes, elle est appelée antioxydant *in vivo* (**Gvozđjǎková, 2008; Ursini et al., 1999**):
- Elle doit interagir avec les métabolites réactifs de l'oxygène physiologiquement nocifs.
- Le résultat final de la réaction entre l'antioxydant et l'oxydant ne doit pas être plus nocif pour l'organisme que le métabolite qui a été éliminé.
- L'antioxydant potentiel doit être suffisamment concentré dans l'organisme.
- La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisante pour lui permettre d'interagir avec l'oxydant l'oxygénateur.

III.1.4.4 Mécanismes d'action des antioxydants

On distingue au moins cinq modes d'intervention des antioxydants (**Pascal et Veronique, 2006**) :

- Les espèces réactives de l'oxygène sont inactivées, les métaux de transition sont chélatés et la cascade de réactions radicalaires est interrompue.
- L'activité des enzymes de peroxydation est inhibée.
- Une diminution de la pression partielle de l'oxygène.

Selon les études, de nombreux polyphénols peuvent agir à l'un ou l'autre de ces niveaux.

III.1.5 Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée est réalisée par :

Le test au DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) est réalisé selon le protocole décrit par (**Brand-Williams et al., 1995**).

Dans cette expérience, les antioxydants transforment le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl violet en di-phénylpicrylhydrazine jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement corrélée à l'activité antioxydante de l'extrait.

A 1250 µl de la solution méthanolique de DPPH (0,04 mg/ml), on ajoute 50 µl de chaque solution d'extraits dissous dans le DMSO à différentes concentrations ou de l'étalon (quercétine). Un contrôle négatif est également créé en parallèle en combinant 50 µl de DMSO avec 1250 µl d'une solution méthanolique de DPPH, puis en répétant chaque solution trois fois.

Après 30 minutes d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm. La formule suivante est utilisée pour calculer le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH :

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

I% : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.

A témoin : Absorbance du témoin négatif.

A éch : Absorbance de l'échantillon.

III.2 Activité antimicrobienne

Dépourvues de membrane nucléaire, les bactéries sont des microbes procaryotes, unicellulaires. Cette caractéristique les distingue des autres créatures unicellulaires eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). On distingue les bactéries primitives et les bactéries proprement. Tous les micro-organismes liés à la pathologie appartiennent au règne bactérien.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 mm. Fraîches ou colorées, elles peuvent être observées au microscope optique. Elles peuvent être hélicoïdales, courbées, en forme de bâtonnet (bacilles), sphériques (cocci) ou en forme de bâtonnet (vibrions ou spirochètes). Ce n'est qu'au microscope électronique que les spécificités de leur structure sont révélées (Nauciel et Vildé, 2005).

III.2.1 Culture des bactéries

Pour cultiver les bactéries, on utilise généralement des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être solides (comme le bouillon) ou liquides. L'agar, un extrait d'algues, qui a la capacité de se dissoudre à des températures d'ébullition et de se solidifier à des températures inférieures à 40°C, est ajouté au milieu pour le solidifier. Chaque bactérie peut se reproduire sur place jusqu'à former un amas visible de bactéries, appelé colonie, sur un substrat solide lorsque le nombre de bactéries est faible. (Si la densité bactérienne

de l'échantillonensemencé est trop élevée, les colonies sont confluentes et forment un drap). Le nombre des bactéries viables dans un échantillon peut être compté lorsque l'on utilise un milieu solide (Nauciel et Vildé, 2005).

III.2.2 Les antibiotiques

L'utilisation de composés appelés antibiotiques est nécessaire pour détruire les germes pathogènes. Ces composés sont produits par des microbes (le plus souvent des champignons). Leur capacité à tuer les bactéries (effet bactéricide) et leur capacité à stopper leur croissance sont présentes l'effet bactériostatique (Elghozi et Duval, 1992).

- **Classification des antibiotiques**

Il existe plusieurs catégories d'antibiotiques en fonction du champ d'action, de la cible ou de la famille chimique. C'est cette dernière catégorie qui est la plus fréquente.

La pénicilline et la céphalosporine appartiennent à la famille chimique des bêta-lactamines, tout comme la streptomycine et la gentamycine. Le chloramphénicol et le thiamphénicol appartiennent à la famille chimique des aminosides, tout comme les tétracyclines et la doxycycline. L'érythromycine et l'oléandomycine sont des exemples des macrolides (Cohen et Valette, 2001).

III.2.3 Activité antibactérienne des extraits de plante

Dans la grande majorité des cas, l'utilisation d'antibiotiques entraîne la sélection de communautés bactériennes résistantes. Des mutations chromosomiques ou l'acquisition des gènes de résistance portés par des composants génétiques mobiles sont à l'origine de cette résistance (plasmides, phages, transposons, intégrons). En raison de ces résistances, les scientifiques sont aujourd'hui à la recherche des nouveaux agents antimicrobiens qui soient à la fois plus efficaces que les médicaments manufacturés et bien tolérés par les êtres vivants (sans exercer d'effets délétères sur la santé humaine). Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antibactérienne des extraits des plantes médicinales, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (García-Ruiz et al., 2008). Certaines groupes de recherche sont allées encore plus loin en isolant et en caractérisant les composés responsables de l'activité antibactérienne des extraits de plantes, une démarche qui a des vastes ramifications pour les secteurs de la pharmacie, de la médecine complémentaire et des thérapies naturelle (Huang et al., 2005)

Partie pratique
Chapiter I : Matériels Et
Méthodes

Chapiter I. Matériels et méthodes

I.1 Matériels

I.1.1 Matériel végétal

I.1.1.1 A collecté et réfléchi des échantillons de plantes

L'étape la plus cruciale dans l'extraction du puissant produit chimique est la durée de la procédure préparatoire. Cela s'explique par le fait que de nombreux éléments ont un impact sur cette durée. Les éléments suivants sont les plus importants:

- ❖ **La période de l'année la plus propice à la cueillette de certaines saisons est la suivante :**

Les plantes médicinales durables doivent être cueillies dans la bonne classe d'année pour chaque espèce, d'autant plus qu'elles continuent à transporter le produit chimique actif tout au long de l'année. Actuellement, dans leurs différents composants, la concentration de la substance active peut varier par rapport au chapitre précédent. Nous avons récolté la plante *Helianthemum lippii* (L) pers le 15 janvier, c'est-à-dire pendant l'hiver de la commune de Bousaada, dans la wilaya de de M'sila (**Figure 8**), c'est une ville située à 245 km de la capitale algérienne avec un climat désertique froid, où les précipitations sont plus importantes en hiver qu'en été, avec une température moyenne annuelle de 15,5 degrés Celsius et une accumulation d'environ 212 mm de pluie par an. Elle a été déterminé par Dr. Sarri Djamel.



Figure 8. La plante *Helianthemum lippii* (L) pers dans son environnement.

❖ purification

La procédure de nettoyage ou d'épuration consiste à éliminer la saleté, les débris et les contaminants accrochés après l'opération d'ingénierie.

❖ séchage

Elles sont séchées peu de temps après leur récolte, c'est-à-dire avant qu'elles ne fermentent et perdent leurs principes actifs, en brossant les parties obtenues sur une couverture propre et en n'empilant pas les herbes les unes sur les autres. Elles sont ensuite placées à l'ombre où elles sont étalées sous un toit ou un endroit exposé à l'air, et la température préférée pour le séchage à l'ombre se situe entre 10 et 40 °C.

❖ Broyage et stockage de l'installation

Après avoir été séché, il est broyé à l'aide d'une machine électrique avant d'être gardé et conservé dans des bocaux en verre.

I.1.1.2 Produits chimiques

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont : Le méthanol pur (CH_3OH), hexane, acétone, quercétine, Chlorure d'aluminium (AlCl_3), carbonate de sodium (Na_2CO_3), FolinCiocalteu, acide gallique, 2, 2 diphényl-1-picryl hydrazyl (DPPH) et Eau distillée (H_2O).

I.1.1.3 Souches microbiennes utilisées

Souches sauvage disponible dans le laboratoire de département de biochimie et microbiologie : bactéries Gram positif *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacea* et autres gram négatif *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.

I.2 Méthodes

I.2.1 Préparation des extraits de la plante

Dans le but de l'extraction des composés actifs de la plante *Helianthemum lippii* (L) pers on a fait une série de quatre macérations a été effectuée par des solvants à différentes polarités (l'hexane, l'acétone, le méthanol, et méthanol dilue).

I.2.1.1 Préparation des extraits organique

L'extraction a été réalisée selon la méthode de (Siracusa et al., 2011) selon la *Figure 9*, avec quelques modifications. Pendant une heure, 50 g de matériel végétal ont été agités dans 500 ml d'hexane. Le mélange résultant a été laissé à température ambiante pendant 48 heures, à l'abri de la lumière et parfois sous agitation. Le résidu du processus d'extraction a été utilisé pour répéter

ce processus d'extraction. Les filtrats sont ensuite soumis à une évaporation rotative à 40°C à l'aide d'un rotavapeur BÜchi. Après l'extraction, les extraits sont séchés à l'étuve et conservés à 4°C.

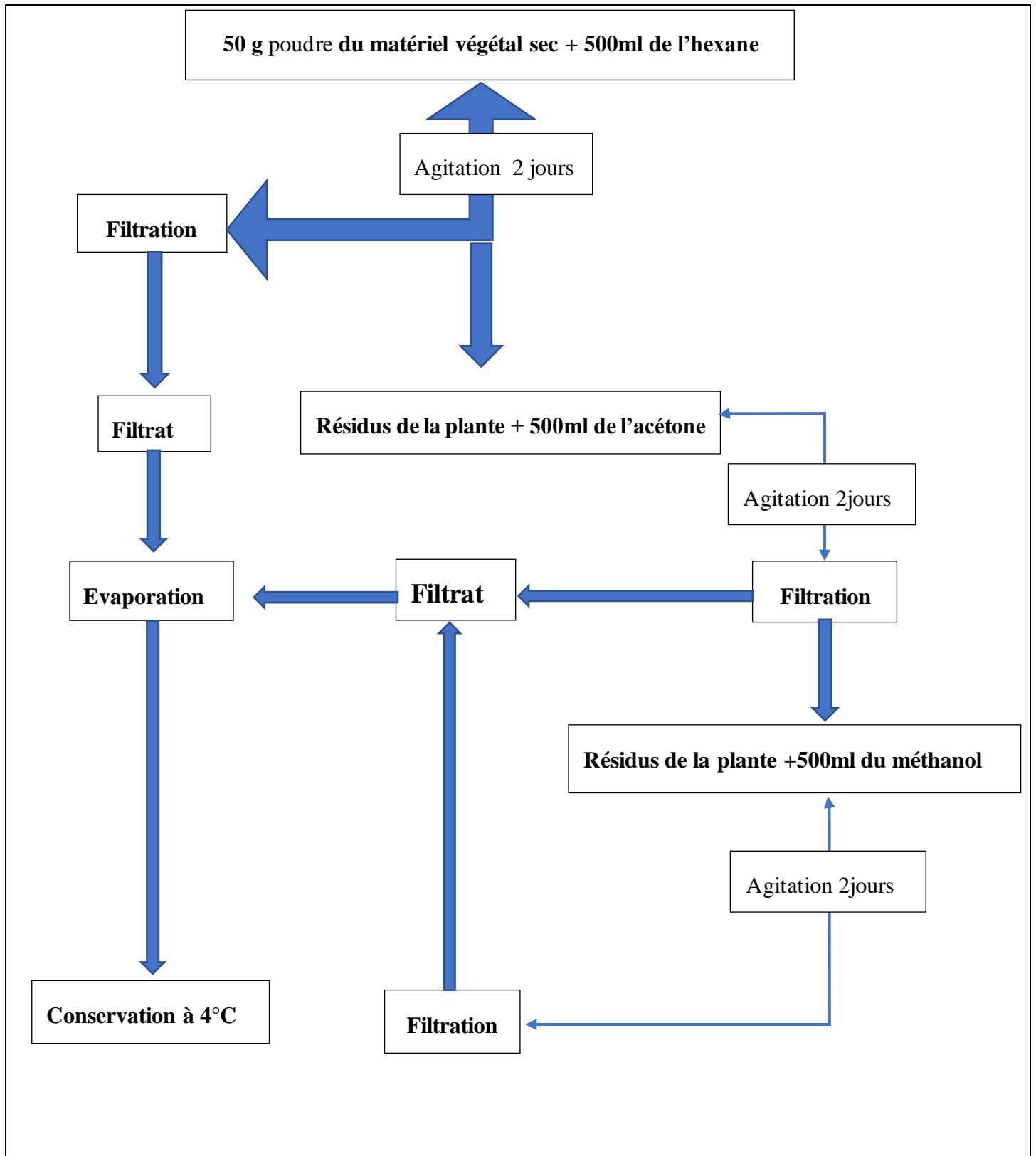


Figure 9. Extraction organique a partir du partie aérienne de *Helianthemum lippii* (L) pers (Siracusa et al., 2011).

I.2.2 Préparation de l'extrait méthanolique dilué

On a 40g du matériel végétal ont été macérés dans 400 ml du diluant méthanol 50% sous agitation durant 24h. Le mélange obtenu a été conservé à température ambiante durant 48 h à l'abri de la lumière avec agitation occasionnelle. filtrat obtenu sont soumis à une évaporation par un rotavapeur BÜchi à 45°C. L'extrait obtenus sont ensuite séchés à l'étuve et conservés à 4°C.

I.2.3 Calcul des rendements productifs des extraits

Le rapport entre la matière végétale sèche récupérée après évaporation du solvant sur la masse de matière végétale sèche utilisée et selon la relation suivante est utilisé pour déterminer la productivité des extraits : $R\% = (M_f / M_i) \times 100$

R%: Productivité des extraits par %.

M_f: Masse de matière végétale sèche extraite après évaporation des solvants.

M_i: Masse sèche de matière végétale se forme poudre utilisée pour l'extraction.

I.3 Criblage phytochimique

Des tests phytochimiques sont réalisés pour détecter les principales familles chimiques dans les extraits organiques de la plante *Helianthemum lippii* (L) pers.

Les groupes chimiques clés sont mis en évidence par une analyse qualitative basée sur des processus de coloration et/ou de précipitation. Plusieurs types des réactifs ont été utilisés à cet effet. Les procédures simples utilisées dans les tests d'étude phytochimique préliminaire permettent de comprendre les différentes catégories des composés chimiques présents dans chaque extrait de la plante. Parmi les polyphénols, qui sont les métabolites secondaires les plus importants dans les plantes, on trouve les flavonoïdes et les tanins. Les quinones ont la particularité d'avoir des propriétés antibactériennes et de présenter des anneaux aromatiques avec deux substituants cétoniques. Les terpénoïdes sont des composés végétaux qui sont des précurseurs de la fabrication des stéroïdes.

I.3.1 Préparation des différents extraits pour les tests phytochimiques

4mg de chaque extrait, préparé dans le 1ml du DMSO, avec agitation continue jusqu'à homogénéité.

Tableau 1. Etude phytochimique des extraits.

les principales familles chimiques	Les testes phytochimiques
Les flavonoïdes	Quelques gouttes d'hydroxyde de sodium dilué (NaOH) sont ajoutées à 1 ml de chaque extrait (4mg/ml), La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune intense a été produite dans l'extrait de la plante qui devient incolore lorsqu'on ajoute quelques gouttes d'acide dilué ce qui indique la présence des flavonoids (Audu et al., 2007)
Les Terpénoïdes	Ajouter 0,5 ml de chloroforme à une concentration de 4 mg/ml à 1 ml de chaque extrait, suivi de 0,75 ml d'acide sulfurique concentré (H ₂ SO ₄). La formation d'un anneau rouge-brun à l'interface indique la présence de terpénoïdes (Kholkhal et al., 2013).
Les quinones	Ajouter 0,5 mL d'acide sulfurique concentré (H ₂ SO ₄) à 0,5 mL de chaque extrait (4 mg/mL). L'apparition du rouge indique un test positif (Kholkhal et al., 2013).
Les tannins	La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl ₃) à 0.1% sont ajoutées à 1 ml d'extrait (4mg/ml), un test positif est révélé par l'apparition. Formation d'une coloration noir bleuté ou noir verdâtre (Haddouchi et al., 2014) .
les saponines	Leur détection est réalisée en ajoutant 0.5 ml d'extrait (4mg/ml) sont dilués avec 3 ml d'eau distillée puis agités vigoureusement pendant 15 minutes. La formation d'une mousse persistante confirme la présence des saponines(Dohou et al., 2003)

I.4 Dosages des quelques métabolites secondaires

I.4.1 Dosage des polyphénols totaux

Selon la technique de Folin-Ciocalteu, la quantité de polyphénols totaux est quantifiée par colorimétrie à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (**Li et al., 2007**).

I.4.1.1 Principe

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des extraits végétaux par cette méthode est basée sur la formation d'un produit de réduction bleu résultant de la réduction en milieu alcalin du mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{14}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) du réactif de Folin. La courbe d'étalonnage d'un phénol standard, l'acide gallique, est utilisée pour calculer la teneur totale en polyphénols d'un extrait.

I.4.1.2 Protocole

Préparation de la gamme d'étalon de l'Acide gallique

3mg d'acide gallique, préparé dans le 3ml du méthanol, est utilisé comme étalon à des concentrations de 10, 20, 40, 80 et 100 $\mu\text{g/ml}$ pour établir la courbe d'étalonnage.

Les quantités de polyphénols totaux dans les quatre extraits sont dérivées de l'équation de régression de la courbe et sont exprimées en μg d'équivalents d'acide gallique / mg d'extrait sec ($\mu\text{g EAG /mgE}$).

- On ajoute 200 μl de chaque extrait dissout dans le DMSO (pour les extraits organiques), à une concentration de 2mg/ml, à 1ml de réactif Folin-Ciocalteu dix fois dilué. Mélanger la solution et incubé pendant 4 min., puis 800 μl de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75 g/l) ont été ajoutés et le mélange final a été incubé pendant 2 h à température ambiante dans l'obscurité. L'absorbance a ensuite été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

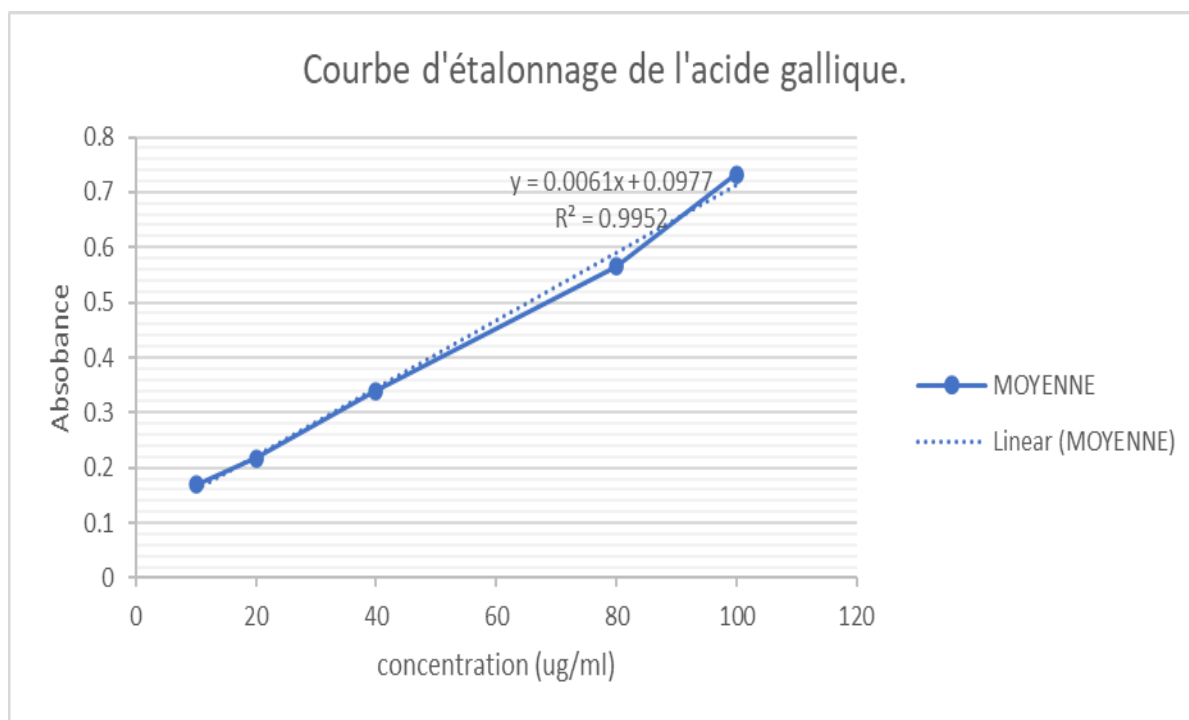


Figure 10. courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Chaque point représente la moyenne de trois répétitions.

I.4.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'Aluminium ($AlCl_3$) décrite par (Bahorun et al., 1996).

I.4.2.1 Principe

Forme un complexe jaune absorbant à 430 nm. La formation de ce complexe après l'ajout de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) est due à la fixation de l'ion Al^{3+} aux atomes d'oxygène sur les carbones 4 et 5 du flavonoïde. La teneur en flavonoïdes de l'extrait a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde standard (Quercétine).

I.4.2.2 Protocole

Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine

3mg de la quercétine sont versées sur 3ml de méthanol, puis agiter à l'aide d'un agitateur vortex [C]=1mg/ml.

Faire une dilution de solution mère de la quercétine avec méthanol [C1] =500µg/ml et faire une série de dilution de solution mère de la quercétine avec le méthanol [C0] =5µg/ml, [C1] =10µg/ml, [C2] =20µg/ml, [C3] =30µg/ml, [C4] =40µg/ml.

Mélanger 1 ml de l'extrait avec 1 ml d'une solution aqueuse d' AlCl_3 (2%), placer dans l'obscurité à 25 °C pendant 10 minutes et lire l'absorbance à 430 nm avec un spectrophotomètre UV. La concentration en flavonoïdes dans l'extrait a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec différentes concentrations (0-40 $\mu\text{g/ml}$) de quercétine dans les mêmes conditions et les mêmes étapes que l'extrait. La teneur totale des flavonoïdes est exprimée en μg d'équivalent de la quercétine/mg d'extrait sec ($\mu\text{g EQ/mgE}$).

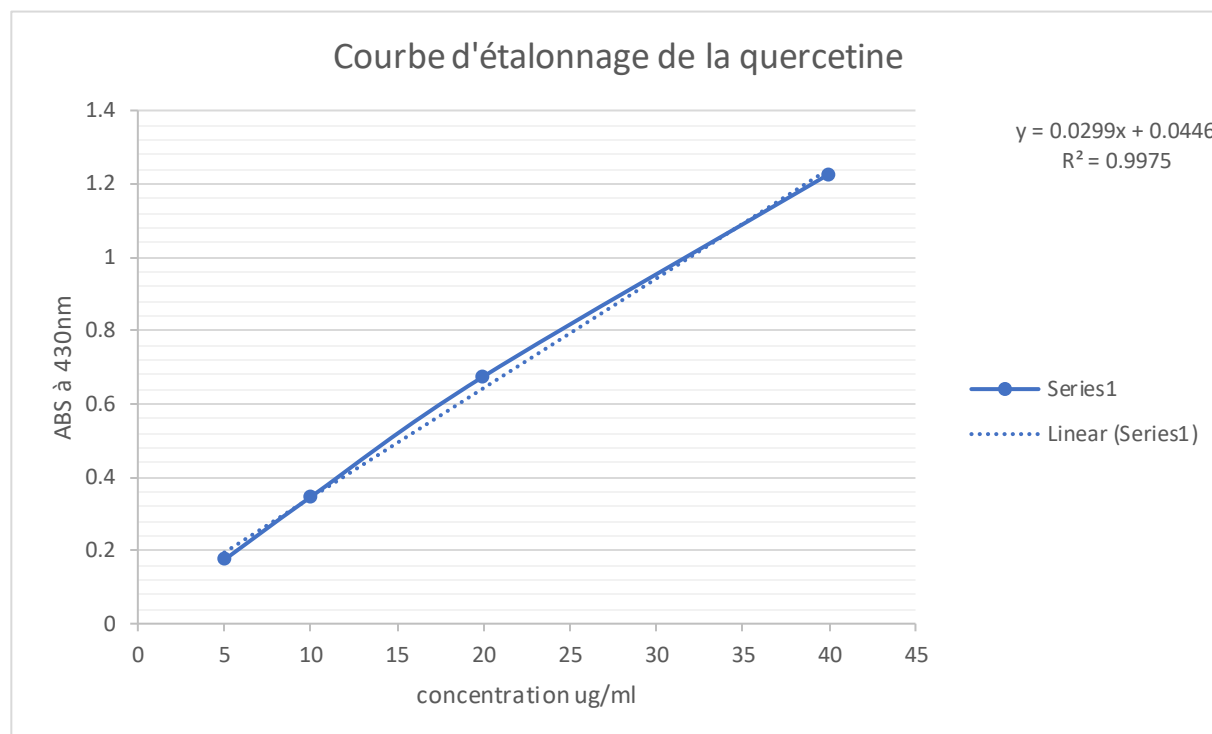


Figure 11. Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Chaque point représente la moyenne de trois répétitions.

I.5 Etude de l'activité antioxydante des extraits de *Helianthemum lippii* (L) pers

I.5.1 L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée est réalisée par test DPPH

❖ Test de DPPH

Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est réalisé selon le protocole décrit par (**Brand-Williams et al., 1995**). Dans ce test, les antioxydants réduisent la 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, qui a une couleur violette, en composé jaune diphénylpicrylhydrazine, et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans l'extrait.

1250 μl de DPPH (0,04 mg/ml) dans du méthanol ont été ajoutés à 50 μl de chaque extrait à différentes concentrations (100,300,600,1000,2000,4000,6000,8000,10000 et 12000 $\mu\text{g/ml}$) ou 50 μl de solvant (blanc). Après agitation, les tubes ont été incubés pendant 30 minutes à température

ambiante dans l'obscurité. Mesurer l'absorbance à $\lambda = 517$ nm. La quercétine a été utilisée comme témoin positif (dissous dans le méthanol). Chaque solution a été répliquée trois fois. Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé selon la formule suivante :

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

I% : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du blanc.

$A_{\text{éch}}$: Absorbance de l'échantillon.

I.6 Etude de l'activité antibactérienne des extraits

L'évaluation de l'activité antibactérienne, selon la méthode des puits, les extraits de la plante ont des activités antibactériennes dû à la variation de leurs composés (métabolites secondaires).

Les procédures les plus fréquentes utilisent la dilution ou la diffusion des extraits afin d'évaluer l'activité antibactérienne d'un produit naturel ou d'un extrait végétal (diffusion des extraits). La puissance antibactérienne des extraits étudiés est basée sur le degré d'inhibition de la croissance bactérienne.

Nous avons effectué un criblage de l'activité antimicrobienne sur deux souches bactériennes dont de bactéries Gram positif *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacea* et autres bactéries gram négatif *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.

La gélose appropriée est placée sur des boîtes de Petri de 90 mm de diamètre, qui sont ensuite inoculées avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée. Les différents extraits organiques de plante sont ensuite solubilisés dans du DMSO.

I.6.1 Technique des puits

Cooper et Woodman ont suggéré cette approche pour la première fois en 1946, et Schroder et Messing l'ont ensuite adoptée l'année. par Messing et Schroder en 1949. La technique de diffusion sur puits de gélose de (Thomas et al., 2014) a été utilisée :

Les mesures suivantes ont été prises afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne de nos extraits en utilisant la méthode de diffusion à partir des puits :

- **Écoulement des boîtes de pétri**

Un milieu stérile est utilisé pour remplir les boîtes de Petri avec le milieu de Mueller Hinton fondu et refroidi.

- **Ensemencement**

Un écouvillon stérile est inséré de manière inappropriée dans la solution bactérienne et expulsé autant que possible en appliquant une pression sur la paroi interne du tube. On frotte l'écouvillon.

- L'écouvillonnage est utilisé pour la vaccination. La partie supérieure d'une pipette Pasteur est utilisée pour faire un trou central dans la gélose après que les boîtes ont séché. Les boîtes sont ensuite incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures, au cours desquelles les puits ainsi créés sont remplis des extraits (30 µl par puits).
- **La lecture**

L'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant la zone d'inhibition autour du puits (**Thanigaivel et al., 2015**). La taille de ces zones d'inhibition est déterminée avec précision après incubation de chaque boîte pendant 24 heures. Les résultats sont présentés en fonction de la sensibilité des souches aux extraits testés.

Sensible: diamètre compris entre 9 et 14 mm.

Résistante : diamètre < 8mm

Très sensible: diamètre compris entre 15 et 19 mm.

Extrêmement sensible: diamètre > 20.

Partie pratique

Chapiter II : Résultats Et

Discussion

Chapiter II. Résultats et Discussion

II.1 Extraction

Des extraits hexanoliques, acétoniques, méthanoliques et méthanolique dilué de la partie aérienne de la plante ont été produits à l'aide des solvants de la différente polarité. La masse des extraits par rapport à la masse originale du matériel végétal est utilisée pour exprimer les rendements d'extraction en pourcentages (%). Le **Tableau 2** présente les résultats :

Tableau 2. Rendements des extractions à partie aérienne de *Helianthemum lippii* (L) pers.

Extraits	Rendements (%)
hexanique	0.76
Acétonique	1.75
méthanolique	4.16
méthanolique dilué	16.25

Selon le tableau, le rendement le plus élevé est obtenu dans l'extrait méthanolique dilué (16.25%), suivi par l'extrait méthanolique (4.16%), puis l'extrait acétonique (1.75%) et l'extrait hexanique qui a donné le rendement le plus faible (0.76%). On peut noter que le rendement augmente avec la polarité des solvants d'extraction . Les résultats du rendement des extractions à partie aérienne de *Helianthemum lippii* (L) pers étudiées sont représentés dans la **Figure 12** .

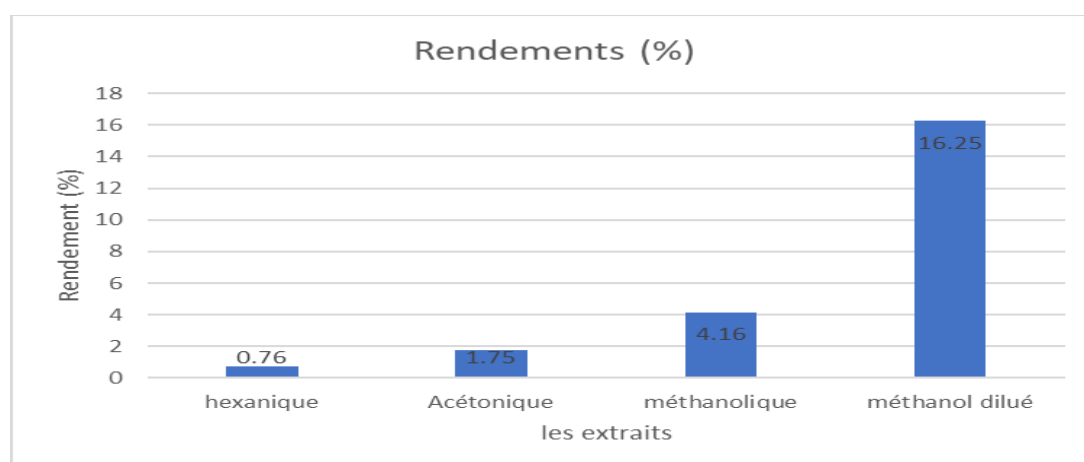


Figure 12. Représentation graphique des rendements des extractions à partie aérienne de *Helianthemum lippii* (L) pers.

La technique d'extraction utilisée dépend de la différence de dissolution des composants végétaux dans les différents solvants. Contrairement aux composés moins polaires (dérivés d'acides phénoliques), qui peuvent être séparés par des solvants organiques moins polaires (Cazes, 2009), les flavonoïdes di-, tri- et tétra-glycosylés et les acides phénoliques extrêmement polaires (acides benzoïque et cinnamique) sont solubles dans l'eau, qui est un solvant polaire (Jones et Kinghorn, 2005). Selon Andersen et Markham (2006), le méthanol peut récupérer une variété de composés, y compris des tanins, des saponines, des anthocyanes, des acides aminés, des terpènes et des cires. Pour la création d'extraits riches en flavonoïdes, l'acétone est un solvant typique (Cowan, 1999). Outre le solvant utilisé, il y a d'autres facteurs influençant l'extraction sont la température, l'agitation, le rapport solvant/matière végétale et le temps d'extraction. Ces facteurs ont tous un impact sur le rendement de l'extraction ainsi que sur la teneur totale en phénols, qui à son tour a un impact sur les activités biologiques associées à ces métabolites (Azmir et al., 2013; Lee et al., 2003).

II.2 Screening phytochimique

Les résultats de détection des différents composés chimiques présents dans les extraits de *Helianthemum lippii* (L) pers mentionnés dans **Tableau 3** ont permis de confirmer la présence, des terpénoïdes et des quinones dans tous les extraits étudiés, alors que les flavonoïdes et les tanins sont présents dans tous les extraits à l'exception de l'extrait d'hexane. Les saponines sont absentes dans tous les extraits de la plante.

Tableau 3. Analyse phytochimique des extraits organiques de *Helianthemum lippii* (L) pers.

Extraits	Flavonoïdes	Terpénoïdes	Quinones	Tanins	saponines
De l'Hexane	–	+	+	–	–
De l'Acétone	+	+	+	+	–
De Méthanol	+	+	+	+	–
De Méthanol dilué	+	+	+	+	–

Présence: +

Absence : _

Les procédures simples utilisées dans les tests de l'étude phytochimique préliminaire permettent de comprendre les différentes catégories des composants chimiques présents dans chaque extrait

de plante. Parmi les polyphénols, qui sont les métabolites secondaires les plus importants dans les plantes et les flavonoïdes et les tanins font partie des polyphénols.

Les quinones ont la particularité de présenter des propriétés antibactériennes, de contenir des cycles aromatiques avec deux substituants cétoniques et d'être des précurseurs des terpénoïdes, que les plantes utilisent pour fabriquer des hormones stéroïdiennes (Tiwari et al., 2011).

Les terpénoïdes sont des substances dont la structure moléculaire est créée à partir du monomère isoprène, qui comporte cinq carbones. Les triterpénoïdes sont les éléments de base utilisés par les plantes pour fabriquer des stéroïdes. Les quinones sont des anneaux aromatiques qui possèdent deux fonctions cétoniques à la place de l'anneau benzénique, ce qui leur confère leurs propriétés antibactériennes caractéristiques (Malecky, 2008). Les composés peuvent être divisés en fonction de leur solubilité dans le solvant d'extraction en utilisant différents solvants de différentes polarités. Les composants bioactifs sont extraits au maximum de leur potentiel et ne sont pas dénaturés ou potentiellement modifiés par cette procédure d'extraction, qui s'effectue sous agitation continue (Hagermann et coll., 2000). Les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse. Les saponines étaient auparavant définies comme des substances végétales de nature glycosidique, constituées de carbone, d'hydrogène et d'oxygène à l'exclusion de tout autre élément, tel que l'azote, et présentant des propriétés physiques et physiologiques caractéristiques (Robinet, 1951).

II.3 Teneurs en polyphénols et flavonoïdes

L'étude quantitative des extraits bruts de *Helianthemum lippii* (L) pers au moyen des dosages Spectrophotométriques avait pour objectif la détermination de la teneur en composés phénoliques et la teneur en flavonoïdes représentés dans le **Tableau 4**. Les résultats sont exprimés en termes d'équivalents d'un standard à l'aide d'une courbe d'étalonnage voir la **Figure 10,11**.

Tableau 4. Dosage des polyphénols et flavonoïdes des extraits de *Helianthemum lippii* (L) pers .

Extraits	Polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/mg E}$)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg E}$)
De l'Hexane	29.54 ± 0.30	18.62 ± 1.14
De l'Acétone	529.81 ± 13.18	82.72 ± 0.98
De Méthanol	307.5 ± 3.61	10.46 ± 0.26
De Méthanol dilué	157.13 ± 28.76	7.53 ± 0.05

Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions \pm SD.

(EAG : Equivalent d'acide gallique, EQ : Equivalant de Quercétin).

Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols varient considérablement entre les extraits, l'extrait d'acétone, méthanol et méthanol dilué sont les plus riches en polyphénols avec des concentrations de (529.81, 307.5 et 157.13 μg EAG/mg E, respectivement). L'extrait d'hexane ont montré de valeur proche et inférieure aux extraits précédents (29.54 μg EAG/mg E).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al., 1996**) en utilisant la quercétine comme standard. Les résultats pour les différents extraits sont exprimés en (μg EQ/mgE), utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la Quercétine (430nm) voir la *Fi13*.

Dans le dosage des flavonoïdes, l'extrait d'Acétone semble le plus riche en flavonoïdes avec une concentration de (82.72 μg EQ/mg E), suivi par l'extrait d'hexane de 18.62 μg EQ/mg E, puis l'extrait méthanolique avec (10.46 μg EQ/mg E) et enfin l'extrait méthanolique dilué de (7.53 μg EQ/mg E). On peut noter que la teneur en polyphénols est plus élevée dans les extraits préparés par les solvants les moins polaires.

Il a été démontré que lorsque le milieu de vie d'une plante est pauvre, les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes sont augmentés, car la plante favorise la synthèse de métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre. Il est logique que la concentration en composés phénoliques soit supérieure à celle des flavonoïdes, car ces derniers constituent la majeure partie des composés polyphénoliques (**Boussahel et al., 2009; Cushnie & Lamb, 2005**).

En utilisant respectivement le réactif de Folin-Ciocalteu et le trichlorure d'aluminium (AlCl_3), il a été possible de déterminer par spectrophotométrie les teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes du matériel végétal a été exprimée en μg d'équivalent de quercétine/mg d'extrait, tandis que la teneur en polyphénols a été enregistrée en μg d'équivalent d'acide gallique/mg d'extrait (**Georgé et al., 2005; Li et al., 2007**).

En raison de la gamme de composés phytochimiques présents, les produits végétaux ont traditionnellement été utilisés pour traiter diverses affections. Cette étude visait à évaluer les relations entre le contenu phénolique et polyphénolique, le piégeage des radicaux libres, les propriétés antimicrobiennes des extraits de méthanol et les relations phylogénétiques de différents *Helianthemum*, dont certains sont utilisés dans la médecine populaire.

II.4 -Activité antioxydante des extraits organiques de *Helianthemum lippii* (L) pers

L'un des tests les plus utilisés est le test DPPH en raison de sa rapidité, de sa sensibilité, de sa simplicité et de sa répétabilité (**Alam et al., 2013**). La capacité du DPPH à générer des radicaux libres stables le distingue. La délocalisation des électrons libres à l'intérieur de la molécule est à

l'origine de cette stabilité. La présence de radicaux libres (DPPH) donne à la solution une couleur violet foncé, et la suppression de ces radicaux par les antioxydants provoque une transition du violet au jaune, ce qui réduit l'absorbance de la solution. La spectrophotométrie a été utilisée pour mesurer l'activité antioxydante à 517 nm (Molyneux, 2003; Popovici et al., 2009). L'inhibition des radicaux DPPH est exprimée par la concentration de l'échantillon à tester nécessaire pour inhiber (abaisser) 50 % des radicaux DPPH, ou IC₅₀ (Maisuthisakul et al., 2007). Les résultats pour les extraits et la Quercétine utilisée comme contrôle positif sont présentés dans la **Figure 13**.

La comparaison et la validation des résultats sont effectués avec un contrôle positif utilisant la Quercétine. L'ensemble des résultats sont cités au **tableau 5** et la **Figure 14**.

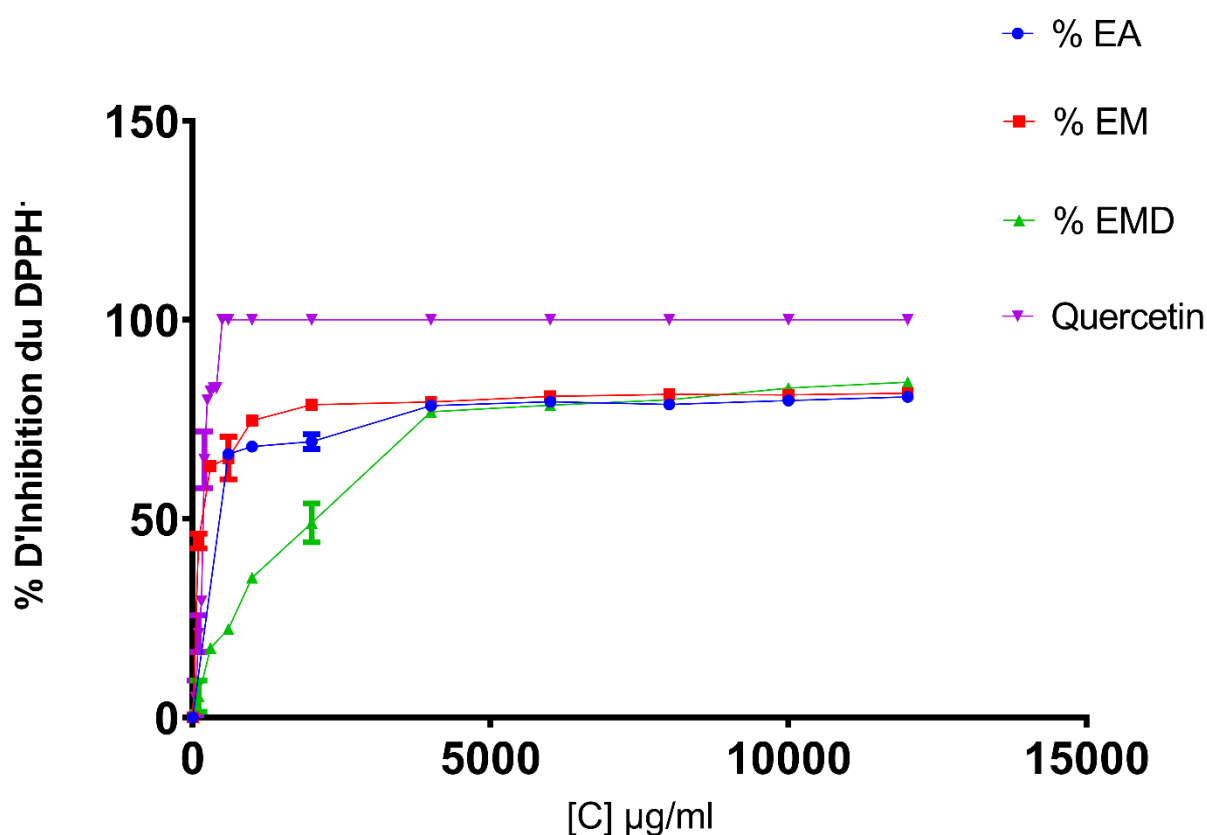


Figure 13. Gamme d'étalonnage de la quercétine inhibitrices de 50 % du radical DPPH (IC₅₀).

Chaque point représente la moyenne de trois répétitions \pm SD.

Tableau 5. Test de réduction du radical DPPH° par les extraits organique et Quercétine.

[Extraits] µg/ml	IC50 (µg /ml)
De l'Hexane	/
De l'Acétone	850.531 ± 18.11
De l'Méthanol	457.125 ± 26.17
De l'Méthanol dilué	1774.347 ± 102.1
De l'quercétine	203.252 ± 3.515

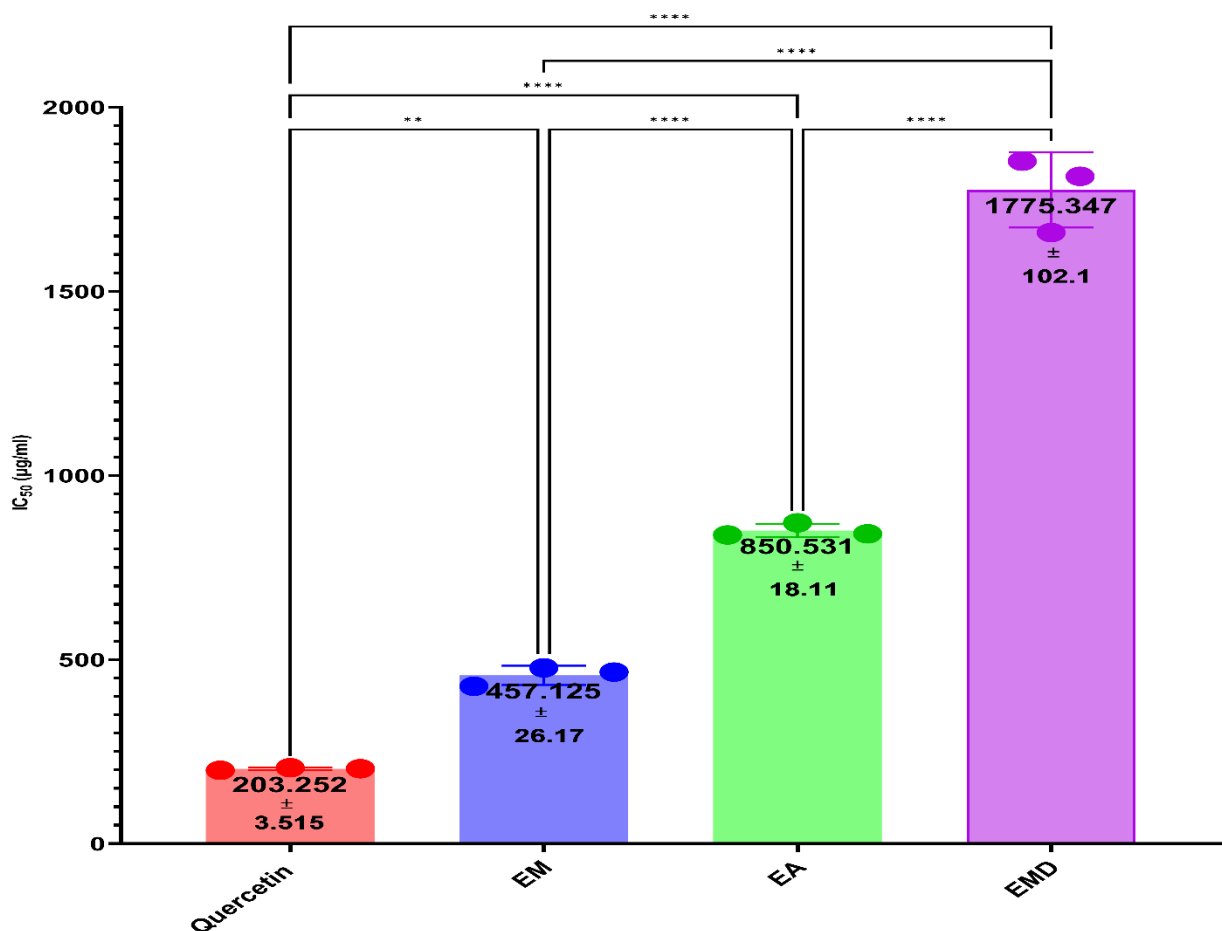


Figure 14. Capacité d'inhibition du radical DPPH (IC₅₀) par les extraits organiques et la quercétine inhibitrices de 50 % du radical DPPH (IC₅₀). Comparaison par rapport au quercétine, (p<0.001)***. Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions ± SD.

A travers les résultats obtenus, les profils de l'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les trois extraits étudiés possèdent une activité dose-dépendante et faible avec des valeurs très élevées des IC50. La meilleure activité est observée pour l'extrait méthanolique avec une IC50 de 457.125 µg/ml, suivi par l'extrait d'acétone (IC50 = 850.531 µg/ml) et enfin l'extrait méthanolique dilué (IC50 = 1774.347 µg/ml), sauf que l'extrait d'hexane n'a aucune activité. Le standard utilisé (la quercétine) présente une activité antioxydante très élevée par rapport aux extraits avec une IC50 de 203.252 µg/ml.

Plusieurs études ont montrés que l'activité antiradicalaire est liée directement à la structure des composés phénoliques et le nombre des groupes hydroxyles disponible (Villaño et al., 2007). Les polyphénols, et plus particulièrement les flavonoïdes, ont des propriétés antioxydantes qui sont souvent influencées par leur composition chimique et la façon dont leurs groupes hydroxyles sont répartis. Les groupes 3OH et/ou 5-OH sur l'anneau C sont particulièrement importants pour leur activité antioxydante. Les groupes 3 et 4 orthodihydroxy de l'anneau B et le groupe 4 carboxy de l'anneau C sont responsables de la capacité de l'anneau à piéger les radicaux libres. La structure catéchol de l'anneau A, qui résulte de l'absence de groupes O- dihydroxy sur l'anneau B, peut réduire l'activité antioxydante des flavonoïdes (Adida et al., 2015). Ces propriétés de notre extrait méthanolique *H. lippii* peut être due à ces deux flavonols. Les extraits d'autres plantes se comportent différemment dans la production de protons ou d'électrons pour exprimer des propriétés antioxydantes. Ce résultat a été confirmé par (Miliauskas et al., 2004) qui ont montré qu'un antioxydant efficace dans un test ne l'était pas nécessairement dans un autre. En revanche, l'activité antioxydante varie davantage entre les espèces végétales (entre espèces) qu'au sein d'une même espèce (au sein des espèces) (Barrero et al., 2005). La phytochimie de cette espèce est dominée par les flavonoïdes et les composés phénoliques. Ces résultats sont en bon accord avec d'autres rapports sur les constituants chimiques de la famille des Cistacées du genre *Helianthemum*. Les principaux composés isolés ont prouvé leur efficacité dans de nombreux tests biologiques (Benabdelaziz, 2015).

II.5 Activité antimicrobienne des extraits organiques de *Helianthemum lippii* (L) pers

Les diamètres inhibiteurs observés pour chaque antibiotique et la zones d'inhibition des diamètres seront présentés dans un tableau (**Tableau 6**) afin de révéler les résultats d'un antibiogramme typique. Pour chaque antibiotique, une colonne sera utilisée pour interpréter la sensibilité ou la résistance de la souche. Sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).

Tableau 6. Antibiogramme des souches étudiés en présence de différents antibiotiques (diamètre de la zone d'inhibition en mm).

Souches ATB	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterobacter cloacea</i>
P10	7 mm	19 mm	22 mm	7 mm
ATM	7 mm	25 mm	7 mm	7 mm
C30	29 mm	30 mm	25 mm	28 mm
AUG 30	7 mm	7 mm	7 mm	7 mm

Les humains ont utilisé des produits de la nature tels que les plantes pour se soigner depuis l'Antiquité, et aujourd'hui ils sont confrontés au problème de la résistance bactérienne aux antibiotiques de synthèse.

Tableau 7. Diamètres d'inhibition en (mm) des extraits de *Helianthemum lippii* (L) pers.

Extraits Les souches	diamètre de la zone d'inhibition en mm											
	De l'Hexane			De l'Acétone			De Méthanol			De Méthanol dilué		
	Concentration (mg/ml)											
	100	200	800	100	200	800	100	200	800	100	200	800
<i>Escherichia coli</i>	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	7 mm (-)	14 mm (+)	20 mm (+)	7 mm (-)	17.3 mm (+)	19.6 mm (+)	14 mm (+)	17 mm (+)	26 mm (+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 mm	7 mm	7 mm	14 mm	23 mm	26 mm	14.6 mm	23.3 mm	25.6 mm	13.6 mm	20.6 mm	26.3 mm

	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Enterobacter cloacea</i>	7	7	7	7	28	37	7	24	26	7	25.6	26
	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)

(+) : Signifie la présence de la zone d'inhibition claire autour du puit

(-) : Signifie l'absence de la zone d'inhibition claire autour du puit

L'évaluation de l'activité antibactérienne, selon la méthode des puits, les extraits de *Helianthemum lippii* (L) pers ont des activités antibactériennes dû à la variation de leurs composés (métabolites secondaires).

Il ressort à travers l'observation des zones d'inhibitions, que l'extrait d'hexane de *Helianthemum lippii* (L) pers la zone d'inhibition n'est pas apparue, chez la plupart des souches bactériennes testées, à l'exception chez *Escherichia coli* qui révèle une absence de zone d'inhibition aucun extrait (**Tableau 7**).

Les chiffres affichés sont des moyennes dérivées de trois répétitions. La présence d'une zone inhibitrice autour du puis de l'extrait brut étudié est indicative de l'effet bactériostatique. La largeur de la zone inhibitrice varie d'une bactérie à l'autre et d'un extrait à l'autre. La majorité des extraits ont répondu favorablement à au moins une des souches microbiennes testées, et comme mentionné dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait avait une activité bactérienne si le diamètre de son inhibition était supérieur 8 mm. Les tailles des zones d'inhibition, qui vont de 7 à 37 mm, présentent également une diversité importante.

Une bonne activité antibactérienne est noté pour les bactéries à Gram positif plus précisément chez *Enterobacter cloacea* pour l'extrait d'acétone [C]= 800mg/ml avec une zone d'inhibition est de 37mm.

De nombreuses études ont démontré que les bactéries Gram (+) sont beaucoup plus sensibles que les bactéries Gram (-). Ceci peut s'expliquer par la différence entre les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+) (**Falleh et al., 2008; Hayouni et al., 2007; Koné et al., 2004; Shan et al., 2007; Turkmen et al., 2007**). En plus de la membrane cellulaire, les bactéries Gram (-) possèdent une membrane externe imperméable à la majorité des molécules et constituée de phospholipides, de protéines et de lipopolysaccharides. Néanmoins, les molécules d'un poids moléculaire inférieur à 600 Da pourront diffuser librement grâce à la présence de porines dans cette couche. Toutefois, il a été démontré que des variables telles qu'un pH faible et un taux élevé

de NaCl peuvent entraver le développement des bactéries Gram (-), en particulier lorsqu'elles sont associées à d'autres éléments susceptibles d'affecter l'intégrité cellulaire et/ou la perméabilité membranaire (Georgantelis et al., 2007).

Étant donné que les bactéries à Gram positif sont dépourvues de membrane externe, leur sensibilité aux changements des facteurs environnementaux externes, notamment la température, le pH et les extraits naturels, peut être utilisée pour expliquer la sensibilité de la souche de *Staphylococcus aureus* (Balentine et al., 2006). En raison de la nature exclusivement peptidoglycane de la paroi cellulaire des Gram-positifs, ces organismes sont plus sensibles aux effets des antimicrobiens (Enwuru et al., 2008 ; Salman et al., 2008).

Il est essentiel de noter que l'activité intrinsèque des composés actifs et leur abondance relative dans l'extrait sont les deux caractéristiques qui composent un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut ou d'une fraction améliorée. Par exemple, l'activité confirmée d'un extrait peut révéler un petit nombre d'éléments extrêmement actifs ainsi qu'une quantité significative de constituants moins actifs (Ferrari, 2002), ou un large éventail d'activités antibactériennes peut être trouvé dans les plantes qui comprennent des tanins et des flavonoïdes (Benarba et Meddah, 2014).

Les diterpénoïdes phénoliques, qui constituent la majorité de la partie apolaire des extraits végétaux, se sont avérés être les substances chimiques responsables de l'action antibactérienne (Fernández-López et al., 2005). Cela peut contribuer à expliquer la faible activité de nos extraits polaires.

Cependant, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal réduise son activité intrinsèque de telle sorte que le résultat ne soit pertinent que par rapport à l'extrait végétal d'origine (Balansard, 2007).

Conclusion

Conclusion

Parce qu'elles constituent une source fiable et importante des substances actives, les plantes médicinales sont de plus en plus utilisées dans le secteur pharmaceutique. Les polyphénols sont les substances chimiques végétales les plus intrigantes et les plus étudiées.

Différentes facettes de le *Helianthemum lippüi* (L) pers ont été étudiées dans le cadre de la présente étude, notamment certaines caractéristiques phytochimiques et l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits organiques. Les rendements de l'extraction de la partie aérienne de la plante varient en fonction des solvants utilisés, mais la quantité des produits chimiques phénoliques et flavonoïdes est élevée.

Le dosage des polyphénols totaux a révélé des teneurs qui varient considérablement entre les extraits, dont la teneur la plus élevée est trouvée dans l'extrait d'acétone ; ce dernier représente aussi l'extrait le plus riche en flavonoïdes totaux.

L'évaluation du potentiel antioxydant, par la technique de piégeage du radical DPPH, a révélé que l'activité antioxydante des extraits est proportionnelle à leurs teneurs en flavonoïdes selon l'ordre suivant : extrait méthanolique > acétonique > méthanolique dilué, et l'extrait d'hexane n'a aucune activité.

L'évaluation de l'activité antibactérienne, selon la méthode des puits, les extraits de *Helianthemum lippüi* (L) pers ont des activités antibactériennes.

Références
Bibliographiques

Références bibliographique

- Adida, H., Nabila, B., Bechiri, A., Chekroun, E., & Rabah, D. (2015). Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*, 14. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0932-4>
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143-152. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Ali, M. B., Hahn, E.-J., & Paek, K.-Y. (2007). Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12(3), 607-621.
- Atef, C., Anouar, F., El-Hadda, A., & Azzedine, C. (2015). Phytochemicals study, antioxidant and antimicrobial activities of *Helianthemum lippii* (L.) pers. in different stages of growth (somatic, flowering and fruiting). *World J Pharm Pharm Sci*, 4, 338-349.
- Atmani, D., Chaher, N., Atmani, D., Berboucha, M., Debbache, N., & Boudaoud, H. (2009). Flavonoids in human health: from structure to biological activity. *Current Nutrition & Food Science*, 5(4), 225-237.
- Audu, S. A., Mohammed, I., & Kaita, H. A. (2007). Phytochemical screening of the leaves of *Lophira lanceolata* (Ochanaceae). *Life Science Journal*, 4(4), 75-79.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Bahorun, T. (1998). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Second Annual Meeting of Agricultural Scientists,
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung*, 46(11), 1086-1089.
- Barrero, A., Herrador, M., Arteaga, J., Akssira, M., Mellouki, F., Belgarrabe, A., & Blázquez, M. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research*, 17(1), 52-54.
- Benabdelaziz, I. (2015). *Etude chimique des espèces Helianthemum sessiliflorum et Euphorbia pterococca* UB1].
- Benabdelaziz, I., Marcourt, L., Benkhaled, M., Wolfender, J.-L., & Haba, H. (2017). Antioxidant and antibacterial activities and polyphenolic constituents of *Helianthemum sessiliflorum* Pers. *Natural product research*, 31(6), 686-690.
- Bouhaddouda, N. (2016). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. *Diplôme de Doctorat, Univ Badji Mokhtar, Annaba*.
- Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*, 28.

- Boussahel, R., Irinislimane, H., Djamila, H., & Moussaoui, K. (2009). Adsorption, Kinetics, and Equilibrium Studies on Removal of 4,4-DDT from Aqueous Solutions Using Low-Cost Adsorbents. *Chemical Engineering Communications - CHEM ENG COMMUN*, 196, 1547-1558. <https://doi.org/10.1080/00986440903155733>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brennecke, J. F., & Eckert, C. A. (1989). Phase equilibria for supercritical fluid process design. *AIChE Journal*, 35(9), 1409-1427.
- Cazes, J. (2009). *Encyclopedia of chromatography*. CRC press.
- Chabrier, J.-Y. (2010). PLANTES MÉDICINALES PLANTES MÉDICINALES ET FORMES ET FORMES D'UTILISATION EN PHY D'UTILISATION EN PHYTOTHÉRAPIE TOTHÉRAPIE TOTHÉRAPIE.
- Cheok, C. Y., Salman, H. A. K., & Sulaiman, R. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*, 59, 16-40.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*, 12(4), 564-582. <https://doi.org/10.1128/cmr.12.4.564>
- Cox-Georgian, D., Ramadoss, N., Dona, C., & Basu, C. (2019). Therapeutic and Medicinal Uses of Terpenes. *Medicinal Plants*, 333 - 359.
- Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*, 26(5), 343-356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Daniel, M. (2006). *Medicinal plants: chemistry and properties*. Science publishers.
- De Bruyne, T., Pieters, L., Deelstra, H., & Vlietinck, A. (1999). Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(4), 445-459.
- de Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M., Ariese, F., Gooijer, C., & Brinkman, U. A. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J Chromatogr A*, 1112(1-2), 31-63. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.019>
- Degenhardt, J., Gershenzon, J., Baldwin, I. T., & Kessler, A. (2003). Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. *Curr Opin Biotechnol*, 14(2), 169-176. [https://doi.org/10.1016/s0958-1669\(03\)00025-9](https://doi.org/10.1016/s0958-1669(03)00025-9)
- Djemam, N., Lassed, S., Gül, F., Altun, M., Monteiro, M., Menezes-Pinto, D., Benayache, S., Benayache, F., Zama, D., & Demirtas, I. (2020). Characterization of ethyl acetate and n-butanol extracts of *Cymbopogon schoenanthus* and *Helianthemum lippii* and their effect on the smooth muscle of the rat distal colon. *Journal of ethnopharmacology*, 252, 112613.
- Dohou, R., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani, L. I., Badoc, A., & Gmira, N. (2003). Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4), 61-78.
- Dudareva, N., Pichersky, E., & Gershenzon, J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiol*, 135(4), 1893-1902. <https://doi.org/10.1104/pp.104.049981>
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C R Biol*, 331(5), 372-379. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.02.008>

- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1986). Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin of the World Health Organization*, 64(2), 159.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J. A., & Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Sci*, 69(3), 371-380. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.08.004>
- Ferrari, J. (2002). *Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: "Gnidia involucreta" Steud. ex A. Rich* Université de Lausanne, Faculté des sciences].
- Garait, B. (2006). *OXYDATIVE STRESS INDUCED BY METABOLIC PATHWAY (DIET) OR GAS PATHWAY (HYPEROXIA) AND GLISODIN® EFFECT*
LE STRESS OXYDANT INDUIT PAR VOIE METABOLIQUE (REGIMES ALIMENTAIRES) OU PAR VOIE GAZEUSE (HYPEROXIE) ET EFFET DE LA GLISODIN® Université Joseph-Fourier - Grenoble I]. <https://theses.hal.science/tel-00120861>
- García-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martínez-Rodríguez, A. J., Pueyo, E., Martín-Álvarez, P. J., & Moreno-Arribas, M. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*, 19(9), 835-841.
- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S. A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. *Meat Sci*, 76(1), 172-181. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.026>
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *J Agric Food Chem*, 53(5), 1370-1373. <https://doi.org/10.1021/jf048396b>
- Gómez-Caravaca, A., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(4), 1220-1234.
- Guignard, J.-L. (1996). *Biochimie végétale: Jean-Louis Guignard*. Masson.
- Guillouty, A. (2016). *Plantes médicinales et antioxydants* Université Toulouse III-Paul Sabatier].
- Guitton, Y. (2010). *Diversity of the volatile terpenic compounds within the genus Lavandula : evolutionary and physiological aspects*
Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre Lavandula : aspects évolutifs et physiologiques (Publication Number 2010STET4008) Université Jean Monnet - Saint-Etienne]. <https://theses.hal.science/tel-00675866>
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med*, 27(1), 1-93. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.008>
- Gvozdjáková, A. (2008). *Mitochondrial medicine: mitochondrial metabolism, diseases, diagnosis and therapy*. Springer Science & Business Media.
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Ksouri, R., Medini, F., Sekkal, F. Z., & Benmansour, A. (2014). Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chin J Nat Med*, 12(6), 415-422. [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(14\)60065-0](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(14)60065-0)

- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant [Oxidative Stress]. *Revue Médicale de Liège*, 62(10), 628.
- Hamadi, N. (2010). Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine. *Thèse en vue de l'obtention du diplôme de magistère en biologie cellulaire et moléculaire*.
- Harman, D. (2001). Aging: overview. *Ann N Y Acad Sci*, 928, 1-21. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb05631.x>
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105(3), 1126-1134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010>
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2, 3-6.
- Hernández-Ochoa, L. (2005). Substitution de Solvants et Matières Actives de Synthèse par un Combine « Solvant/Actif » d'Origine Végétale.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Jadot, G. (1994). *Antioxydants et vieillissement*. John Libbey Eurotext. <https://books.google.nl/books?id=eQ5B-SvIzCQC>
- Jiang, S. Y., Jin, J., Sarojam, R., & Ramachandran, S. (2019). A Comprehensive Survey on the Terpene Synthase Gene Family Provides New Insight into Its Evolutionary Patterns. *Genome Biol Evol*, 11(8), 2078-2098. <https://doi.org/10.1093/gbe/evz142>
- Jiang, Z., Kempinski, C., & Chappell, J. (2016). Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids. *Curr Protoc Plant Biol*, 1, 345-358. <https://doi.org/10.1002/cppb.20024>
- Kansole, M. M. R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. *Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso*.
- Kholkhal, F., Lazouni, H. A., Bendahou, M., Boublenza, I., Chabane, S. D., & Chaouch, T. (2013). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus* ssp. *Coloratus*. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(1), 151-158.
- Koné, W. M., Atindehou, K. K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., & Dosso, M. (2004). Traditional medicine in north Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol*, 93(1), 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.006>
- Laight, D. W., Carrier, M. J., & Anggård, E. E. (2000). Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res*, 47(3), 457-464. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(00\)00054-7](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(00)00054-7)
- Langenheim, J. H. (1994). Higher plant terpenoids: A phytocentric overview of their ecological roles. *J Chem Ecol*, 20(6), 1223-1280. <https://doi.org/10.1007/bf02059809>
- Lásztity, R., Hidvégi, M., & Bata, Á. (1998). Saponins in food. *Food Reviews International*, 14(4), 371-390. <https://doi.org/10.1080/87559129809541169>

- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem*, 51(25), 7292-7295. <https://doi.org/10.1021/jf03444385>
- Li, H.-B., Cheng, K.-W., Wong, C.-C., Fan, K.-W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M., & Pongsawatmanit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food chemistry*, 100, 1409-1418. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.032>
- Malecky, M. (2008). *Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins* Paris, AgroParisTech].
- Marfak, A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. *Mémoire, Université de Limoges, Limoges*.
- Martínez-Cayuella, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77(3), 147-161. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)88119-3](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)88119-3)
- Miliauskas, G., Venskutonis, P., & Van Beek, T. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.
- Molyneux, P. (2003). The use of the stable radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. 26.
- Morrissey, J. P., & Osbourn, A. E. (1999). Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*, 63(3), 708-724. <https://doi.org/10.1128/membr.63.3.708-724.1999>
- Mostafa, M. (2008). *The metabolism of terpenoids in caprins* AgroParisTech].
- Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Université Paul Verlaine-Metz*, 238.
- Nzengue, Y. (2008). *Comparison of redox toxicity mechanisms of cadmium, copper and zinc: Role of metallothionein and p53 Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionéines et de p53* Université Joseph-Fourier - Grenoble I]. <https://theses.hal.science/tel-00281577>
- Pincemail, J., Le Goff, C., Charlier, C., Gillion, P., Cheramy-Bien, J.-P., Van Honacker, E., Chapelle, J.-P., & Defraigne, J.-O. (2009). Evaluation biologique du stress oxydant: application en routine clinique. *Nutr. Endocrinol*, 16-31.
- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4, 25-39.
- Pretorius, J. (2003). Flavonoids: A Review of Its Commercial Application Potential as Anti-Infective Agents. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Infective Agents*, 2, 335-353. <https://doi.org/10.2174/1568012033482971>
- Reimund, J.-M. (2002). Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 275-284.
- Robinet, F.-G. (1951). *Saponosides stéroïdes et triterpéniques de synthèse* ETH Zurich].

- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Rémésy, C. (2002). Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *56*(6), 276-282.
- Seaman, G. A., Lowry, L., & Frost, K. (1982). Foods of Belukha whales (*Delphinapterus leucas*) in western Alaska. *Cetology*, *44*, 1-19.
- Serafini, M., Laranjinha, J. A., Almeida, L. M., & Maiani, G. (2000). Inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol-rich beverages and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans. *The Journal of nutritional biochemistry*, *11*(11-12), 585-590.
- Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int J Food Microbiol*, *117*(1), 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.03.003>
- Siracusa, L., Saija, A., Cristani, M., Cimino, F., D'Arrigo, M., Trombetta, D., Rao, F., & Ruberto, G. (2011). Phytocomplexes from liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves—Chemical characterization and evaluation of their antioxidant, anti-genotoxic and anti-inflammatory activity. *Fitoterapia*, *82*(4), 546-556.
- Stief, T. W. (2003). The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med Hypotheses*, *60*(4), 567-572. [https://doi.org/10.1016/s0306-9877\(03\)00026-4](https://doi.org/10.1016/s0306-9877(03)00026-4)
- Takechi, M., Matsunami, S., Nishizawa, J., Uno, C., & Tanaka, Y. (1999). Haemolytic and antifungal activities of saponins or anti-ATPase and antiviral activities of cardiac glycosides. *Planta Med*, *65*(6), 585-586. <https://doi.org/10.1055/s-2006-960834>
- Takeuchi, T. M., Pereira, C. G., Braga, M. E., Maróstica, M. R., Leal, P. F., & Meireles, M. A. A. (2009). Low-pressure solvent extraction (solid–liquid extraction, microwave assisted, and ultrasound assisted) from condimentary plants. *Extracting bioactive compounds for food products*, 137-218.
- Tapas, A. R., Sakarkar, D., & Kakde, R. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical journal of Pharmaceutical research*, *7*(3), 1089-1099.
- Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, *104*(4), 1372-1378.
- Thanigaivel, S., Vijayakumar, S., Gopinath, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., & Thomas, J. (2015). In vivo and in vitro antimicrobial activity of *Azadirachta indica* (Lin) against *Citrobacter freundii* isolated from naturally infected *Tilapia* (*Oreochromis mossambicus*). *Aquaculture*, *437*, 252-255.
- Thomas, J., Thanigaivel, S., Vijayakumar, S., Acharya, K., Shinge, D., Seelan, T. S., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2014). Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and treatment using lime oil nanoemulsion. *Colloids Surf B Biointerfaces*, *116*, 372-377. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.019>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, *1*, 98-106.
- Traore, F., Faure, R., Ollivier, E., Gasquet, M., Azas, N., Debrauwer, L., Keita, A., Timon-David, P., & Balansard, G. (2000). Structure and antiprotozoal activity of triterpenoid saponins from *Glinus oppositifolius*. *Planta Med*, *66*(4), 368-371. <https://doi.org/10.1055/s-2000-8551>
- Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., & Polat, G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, *12*(3), 484-496. <https://doi.org/10.3390/12030484>

- Ursini, F., Tubaro, F., Rong, J., & Sevanian, A. (1999). Optimization of nutrition: polyphenols and vascular protection. *Nutr Rev*, 57(8), 241-249. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1999.tb06951.x>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230-235. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050>
- Wassmann, S., Wassmann, K., & Nickenig, G. (2004). Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*, 44(4), 381-386. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000142232.29764.a7>
- YOUNES, F. (2020). Étude botanique, phytochimique et activités biologiques d'une espèce végétale utilisée au médecine traditionnelle Algérienne (teucrium polium).
- Yu, B. P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 74(1), 139-162. <https://doi.org/10.1152/physrev.1994.74.1.139>
- Yusuf, Y. (2006). Trends Food Sci. *Tech*. p17, 64-71.

Annexe

Annexes

Annexe 1 : la position systématique de *Helianthemum lippii* (L) pers

Embranchement : *Phanérogames ou Spermaphytes*

Sous Embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones*

Ordre : *Malvales*

Famille : *Cistaceae*

Genre : *Helianthemum*

Espèce : *Helianthemum lippii* pers

Annexe 2 : Processus d'extraction



Image 1. Le processus de filtration lors des étapes d'extraction.



Image 2. Procédé d'extraction des solvants par dispositif Rotavapeur utilisé dans l'étude.

Annexe 3: Résultats de criblage phytochimique

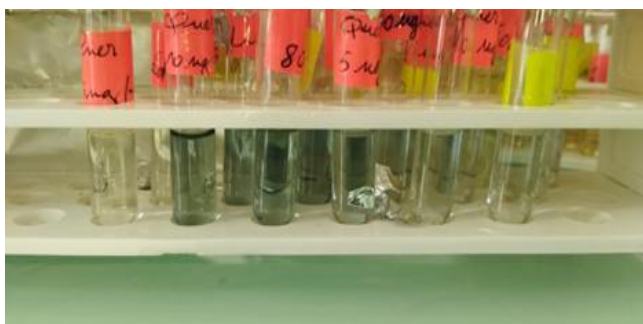


Image 3. Résultats de la dosage des flavonoïdes.

Annexe 4: test de DPPH

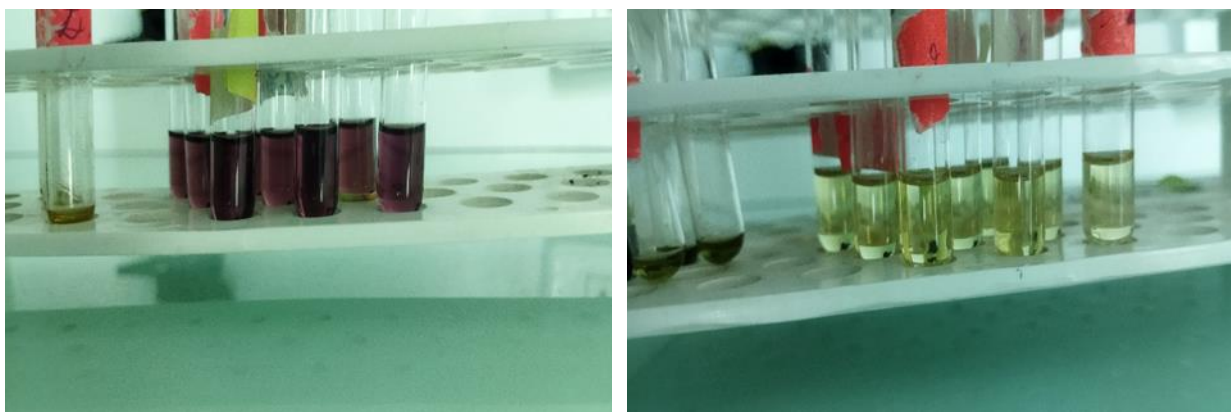


Image 4. Résultats de l'inhibition du test DPPH.

Annexe 5 : la méthode de diffusion à partir des puits.

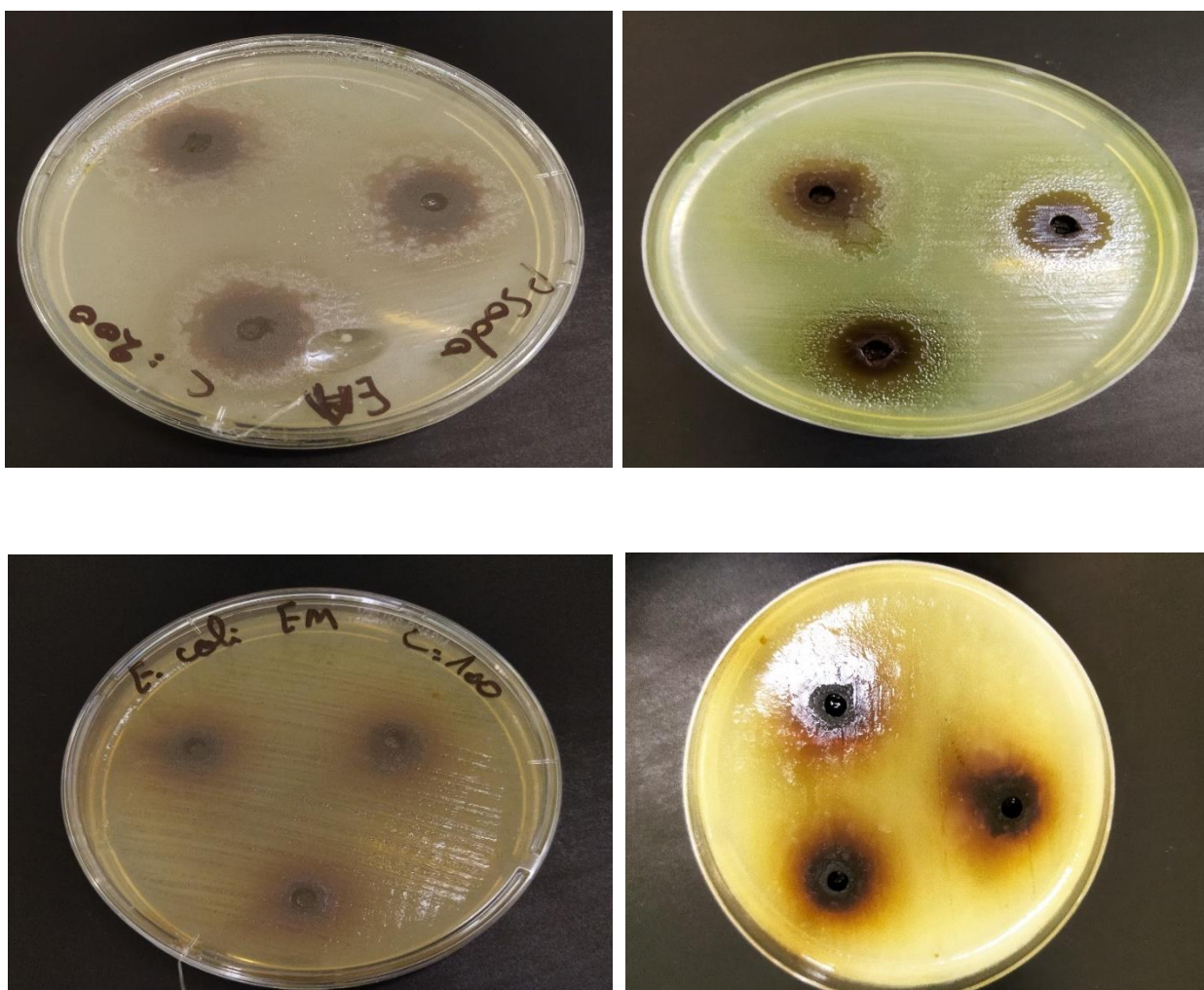


Image 5. Résultats de l'activité antibactérienne.

ملخص

يعد نبات *Helianthemum Lippi (L) pers* من النباتات الطبية الصحراوية بالجزائر, فهو متواجد على نطاق واسع في ولاية مسيلة, خاصة منطقة بوسعادة. حيث يعرف بإسم السمهري ويستعمل في الطب الشعبي بغرض علاج عدة أمراض خاصة إضطرابات الجهاز الهضمي .

تهدف هذه الدراسة إلى تقدير المحتوى الفينولي وإختبار الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لعدة مستخلصات عضوية, إذ تم إستخلاص المواد النشطة بواسطة مذيبات مختلفة القطبية (الهكسان, الأستون, الميثانول, الميثانول المخفف 50%).

كخطوة أولى قمنا بحساب مردود كل مستخلص, حيث تم الحصول على أعلى مردود في مستخلص الميثانول المخفف بنسبة (16.25%), ثم المستخلص الميثانولي (4.16%), بينما أظهر كل من مستخلصي الأسيون والهكسان مردودا أقل على التوالي (0.76%, 1.75%).

أظهرت الدراسة الكيميائية النباتية أن النبات المدروس يحتوي على كل من *Terpénoïdes, Flavonoïdes, Tannins, Quinones* , *saponines* .

تم العثور على أعلى محتوى من عديدات الفينول في كل من مستخلصي الأسيون والميثانول على التوالي (529.81, 307.5 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك / مغ مستخلص). كما أشارت النتائج إلى أن مستخلص الأسيون يحتوي على أعلى كمية من الفلافونويدات (82.72 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين / مغ مستخلص).

أثبتت دراسة النشاطية المضادة للأكسدة لكل من المستخلصات العضوية بطريقة تثبيط الجذر الحر DPPH نتائج ملموسة خاصة للمستخلص الميثانولي والمستخلص الأستوني, أما بالنسبة للنشاطية المضادة للبكتيريا, فقد أظهرت كل من المستخلصات الميثانولية, الأستونية والمستخلصات الميثانولية المخففة فعالية مثبطة لنمو البكتيريا.

الكلمات المفتاحية : *Helianthemum Lippi (L) pers*, الدراسة الكيميائية النباتية, عديدات الفينول, الفلافونويدات, النشاطية المضادة للأكسدة, النشاطية المضادة للبكتيريا.

Abstract

Helianthemum Lippi (L) pers is a medicinal desert plant in Algeria, widely found in the wilaya of M'sila, particularly in the Boussada region. It is known as samahri and is used in traditional medicine to treat a number of illnesses, particularly digestive disorders. The objectives of this work are to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of several organic extracts by spectrophotometric assay of polyphenols and flavonoids. The active substances were extracted using three different polar solvents (Hexane, Acetone, methanol, 50% diluted methanol).

As a first step, we calculated the yield of each extract, where the highest yield was obtained in the diluted methanol extract (16.25%), followed by the methanol extract (4.16%), while the acetone and hexane extracts showed lower yields respectively (1.75%, 0.76%).

The chemical study of the plants showed that the plant studied contained flavonoids, terpenoids, quinones and tannins, with the exception of saponins. The highest polyphenol content is found in the acetone and methanol extracts respectively (529.81, 307.5 µg galic acid equivalent/mg extract). The results also indicate that the acetone extract contains the highest amount of flavonoids (82.72 µg quercetin equivalent/mg extract). The study of antioxidant activity for organic extracts in the DPPH radical inhibition method showed tangible results particularly for methanol extract and acetone extract. As for antibacterial activity, methanol and acetone extracts and diluted methanol extract showed bacterial growth inhibitory efficacy.

Key words: *Helianthemum Lippi* (L) pers, Phytochemical study, polyphenol, flavonoids, antioxidant activity, antibacterial activity.

Résumé

Helianthemum Lippi (L) pers est une plante médicinale du désert en Algérie, on la trouve largement dans la wilaya de de M'sila, en particulier dans la région de Boussaâda. Il est connu sous le nom de samhari et est utilisé en médecine traditionnelle dans le but de traiter plusieurs maladies, en particulier les troubles digestifs. Les objectifs de ce travail portent sur l'évaluation par dosage spectrophotométrie des polyphénols et des flavonoïdes avec évaluer les activités antioxydante et antibactérienne de plusieurs extraits organiques.

Les substances actives ont été extraites par des solvants a différents polarités (Hexane, Acéton, méthanol et méthanol dilué à 50%). Dans un premier temps, nous avons calculé le rendement de chaque extrait, où le rendement le plus élevé a été obtenu dans l'extrait de méthanol dilué (16,25 %), puis dans l'extrait de méthanol (4,16 %), tandis que les extraits d'acétone et d'hexane ont présenté des rendements inférieurs respectivement (1,75 %, 0,76 %). L'étude phytochimique du plante a montré que la plante étudiée contient à la fois des flavonoïdes, des terpénoïdes, des quinones, des tanins à l'exception des saponines. La teneur la plus élevée en polyphénols se trouve dans les extraits d'acétone et de méthanol respectivement (529,81 et 307,5 µg équivalent d'acide gallique/mg extrait). Les résultats indiquent également que l'extrait d'acétone contient la plus grande quantité de flavonoïdes (82,72 µg équivalent quercétine/mg extrait). L'étude de l'activité antioxydante pour les extraits organiques dans la méthode d'inhibition des radicaux DPPH a prouvé des résultats tangibles en particulier pour l'extrait méthanique et l'extrait acétonique, Comme pour l'activité antibactérienne, les extraits de méthanol et d'acétone et l'extrait de méthanol dilué ont montré l'efficacité inhibitrice de la croissance bactérienne.

Mots clés : *Helianthemum Lippi* (L), Etude phytochimique, polyphénol, flavonoïdes, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne.