

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET

DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Mohamed Boudiaf-M'sila

FACULTÉ DES SCIENCES



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

Filière : Chimie

Spécialité : *chimie organique*

Intitulé

**Etude phytochimique, biologique et comportement  
électrochimique d'extrait brut d'une plante médicinal**

*(Costus indien)*

*Présente par* : HOCINI Farid

*Devant le jury* :

<b>Présidente :</b>	F. Meritate	M.C. Univ. Mouhamed Boudiaf	M'sila
<b>Examinatrice :</b>	K. Bouchelouche	M.C. Univ. Mouhamed Boudiaf	M'sila
<b>Encadreur :</b>	O. Belhaddad	M.C. Univ. Mouhamed Boudiaf	M'sila

Promotion 2019



﴿سُنُّرِهِمْ آيَاتِنَا فِي الْأَفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَسْبِرَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ﴾

أَوْلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ ﴿٩﴾

بِسْمِ اللَّهِ  
الْعَظِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا  
إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا  
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

سورة البقرة الآية 32

صَبَّحَهُ اللَّهُ الْعَظِيمُ

## **DEDICACE**

*Je dédie ce travail :*

*A mes chers parents*

*A mes sœurs et mes frères*

*A mes chers amis et proches surtout Dr Dilmi Walid, Dr Abdelhamid Guelil, le directeur de lycée tarek dayra et Dr Dilmi toufik, Anwar Doumi, Hisham Bouchareb, Darraji Dhamani, Yasin Krabas .*

*Enfin, avec toute ma gratitude, je le dédie à la plus tendre et merveilleuse mère de tout les algériens et algériennes notre chère **Algérie***



اللَّهُمَّ اجْعَلْ هَذَا الْبِلَادَ آمِنًا  
مُطْمَئِنًّا ، سَخَاءً رَخَاءً  
وَسَائِرَ بِلَادِ الْمُسْلِمِينَ

*Farid hocini ...*

## **Remerciement**

*Je remercie notre puissant dieu qui m'a donné courage, volonté patience; et l'effort morale et physique pour la réalisation de mon mémoire.*

*Je tiens à remercier vivement **M<sup>me</sup> BELHADDAD Oumelkhir** pour leur encadrement et de m'avoir soigneusement guidé et dirigé à la cour de la réalisation de ce travail.*

*Je souhaite également remercier tous les membres du laboratoire de chimie de l'Université de Sétif et le **Dr Ouksal Luiza** pour leurs conseils.*

*Et **Mr ariwa Nourddine** chef laboratoire de chimie de l'université de M'sila qui n'a ménagé aucun effort pour fournir tous les moyens nécessaires à la réalisation de ce modeste travail.*

*Ainsi que les membres de jury d'avoir accepté de juger et évaluer mon travail.*

*Et toute personne qui m'a aidé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.*

# Sommaire

<b>Introduction générale .....</b>	<b>01</b>
------------------------------------	-----------

## **Chapitre I :Revue bibliographique**

<b>1. LES PLANTES MEDICINALES.....</b>	<b>03</b>
1.1 Botanique médicale.....	03
1. 2.L'histoire des plantes médicinales .....	04
1.2.1. Plantes médicinales des anciens égyptiens.....	04
1.2.2. Plantes médicinales des Indiens .....	04
1.3.3. Plantes médicinales pour le chinois .....	04
1.3.4. Plantes médicinales en Grèce et à Rome .....	04
1.3.5 Les plantes médicinales des musulmans arabes .....	05
1.3. Division des plantes médicinales.....	05
1.4. Principaux composés des plantes médicinales .....	06
1.4.1. Les composés phénoliques.....	06
1.4.2. Classification.....	07
1.4.2.1- Acides phénoliques.....	07
1.4.2.2. Coumarine.....	07
1.4.2.3. Les flavonoïdes .....	08
1.4.2.4- Les tannins .....	10
1.4.3. Activités biologiquesdes polyphénols .....	10
a. Propriétés antioxydantes .....	10
b. Effets antimicrobiens .....	11
c. Effets anti-inflammatoires.....	11
f. Autres effets biologiques.....	11
1.4.4. Les alcaloïdes .....	12
1.4.5. Les terpénoides .....	12
<b>2. PLANTE MEDICINALE ETUDIEE (<i>COSTUS INDIEN</i>) .....</b>	<b>14</b>
2.1. Historique du <i>Costus indien</i> .....	14
2.2. Répartition géographique de la plante ( <i>Costus indien</i> ) .....	14

# Sommaire

2.3. Description morphologique de la plante.....	14
2.4. Classification botanique : .....	15
2.5. Utilisations médicales de <i>Costusindien</i> : .....	16

## Chapitre II :Matériel et méthodes

<b>1. Introduction.....</b>	<b>17</b>
<b>2. Matériel végétale .....</b>	<b>17</b>
<b>3. Méthodes.....</b>	<b>17</b>
3.1. Préparation d'extrait brut (macération par Soxhlet).....	17
3.2. Calcul le rendement en extrait brut.....	18
3.3. Dosage des polyphénols.....	18
3.4. Dosage des flavonoïdes .....	19
3.4. Méthodes utilisées pour l'évaluation biologique.....	20
3. 4.1 Etude de l'activité antimicrobienne .....	20
3. 4.2. Etude de l'activité Activité antioxydant par le test DPPH .....	21
3.5. Mesures électrochimique (Voltampérométrie cyclique) .....	23
<b>3.6.Etude des flavonoïdes par l' UV-visible.....</b>	<b>24</b>

## Chapitre III : Résultats et discussion

1. Procèdes d'extraction.....	27
2. Dosage des polyphénols totaux .....	27
3. Dosage des flavonoïdes totaux .....	28
<b>4. Résultats des activités biologiques.....</b>	<b>29</b>
4.1. Activité antibactérienne .....	29
4. 2. L'activité antioxydante par le test DPPH .....	31
5. Voltampérométrie cyclique.....	32
5.1. La conductivité de l'extrait.....	32
5.2. Etude du comportement électrochimique de l'extrait brut.....	33
5.3 Influence de la variation de la concentration.....	34
5.4. Influence de la variation de vitesse de balayage.....	35

6. Spectrophotométrie UV-Visible .....	37
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>38</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>39</b>

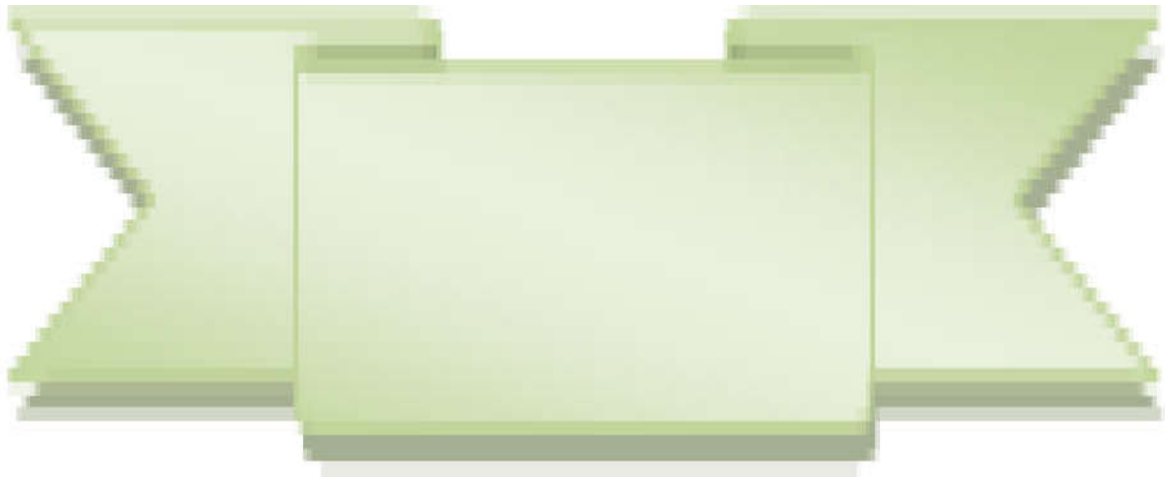
## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1 :</b> Classification des flavonoïdes.....	<b>9</b>
<b>Tableau II.1 :</b> Liste des souches microbiennes testées.....	<b>21</b>
<b>Tableau II.2:</b> Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes.....	<b>26</b>
<b>Tableau III.1 :</b> Les résultats des souches microbiennes testées.....	<b>30</b>
<b>Tableau III.2:</b> des résultats de conductivité et pH de différente concentration de l'extrait brute de <i>Costus indien</i> .....	<b>32</b>
<b>Tableau III.3 :</b> Variation de courant de pic $i_p$ et potentiel $E_p$ de pic en fonction de la vitesse de balayage. ....	<b>36</b>

## Liste des figures

<b>Figure I.1:</b> Structure chimique générale de l'hydroxy cinnamique.....	7
<b>Figure I.2:</b> Structure chimique de générale de l'acide hydroxy benzoïque.....	7
<b>Figure I.3 :</b> Structure chimique des coumarines.....	8
<b>Figure I.4 :</b> la structure basique des flavonoïdes.....	8
<b>Figure I.5:</b> Structures chimique d'un tanin hydrolysable (a)et d'un tanin condensé (b).....	10
<b>Figure I.6 :</b> les structures quelques exemples des alcaloïdes.....	12
<b>Figure I.7 :</b> Structure des différents terpènes.....	13
<b>Figure I.9 :</b> Image photographique d'une plante de <i>Costus indien</i> .....	15
<b>Figure II.1.</b> Schéma de montage d'extraction dans le Soxhlet.....	18
<b>Figure II.2:</b> Réaction entre le DPPH et un donneur d'atome d'hydrogène.....	22
<b>Figure II.3:</b> Allure du voltammogramme cyclique d'un couple rédox.....	23
<b>Figure II.4:</b> montage d'appareillage expérimentale potentiostat galvanostat Gamr.....	24
<b>Figure II.5:</b> Les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique.....	25
<b>FigureIII.1:</b> courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	28
<b>FigureIII.2 :</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	29
<b>FigureIII.3 :</b> résultat d'analyse de l'activité antibactérienne.....	30
<b>FigureIII.4 :</b> résultat de teste de DPPH de l'extrait.....	31
<b>Figure III.5:</b> Cyclovoltammogramme de l'extrait brut (40 mg/100 ml) sur une ..... électrode de platine $v=5$ mV/s.	33
<b>Figure III.6:</b> Cyclovoltammogrammes de l'extrait brut sur une électrode de platine.....	34
<b>Figure III.7:</b> Cyclovoltammogrammes de l'extrait brut (40 mg/100 ml) sur une ..... électrode de platine pour différents vitesses de balayage.	35
<b>Figure III.8:</b> Variation de courant de pic $i_p$ en fonction de $v^{1/2}$ (a) et le potentiel..... de pic $E_p$ en fonction de $\log v$ (b).	36
<b>Figure III.9:</b> Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible de l'extrait (brut).....	37

# Introduction



### Introduction générale

La phytothérapie est une ancienne discipline médicale. Cette médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, continue à être utilisée, et au cours de ces dernières années sa popularité n'a fait qu'augmenter. Les pratiques de la médecine traditionnelle varient grandement d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre. Elles sont influencées par des facteurs connus : la culture, l'histoire et les philosophies personnelles.

Les produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tels que : le cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, le phytosanitaire et l'industrie. Ainsi, l'utilisation des remèdes à base de plantes connaît dernièrement un engouement sans précédent. De plus en plus de gens sont à la recherche de médicaments "naturels" et il semblerait même que les cosmétiques et les produits d'entretien à base de plantes soient aujourd'hui de plus en plus utilisés. Selon l'OMS, près de 80% des populations des pays en voie de développement de la région d'Afrique ont recours à la médecine traditionnelle [1]. Le costus indien est l'une des plantes les plus utilisés dans l'axe de médecine traditionnelle, il attire récemment l'attention de plusieurs recherches au monde [2-7], cependant, malgré toutes ces recherches cette plante reste toujours nécessite une étude plus détaillé. Dans ce manuscrit on a essayé d'étudier cette plante d'un coté phytochimique et électrochimique.

Cette étude subdivisée en trois chapitres qui présente l'intérêt de notre travail.

Le premier chapitre concerne l'étude bibliographique et regroupe les types, les catégories et les propriétés de cette plante.

Le deuxième chapitre relatif aux méthodes expérimentales physicochimiques, biologiques et électrochimiques avec l'appareillage utilisé.

Le troisième chapitre présente tous les résultats obtenus avec les discussions détaillés.

Et enfin une conclusion générale présente l'intérêt de notre travail.

# CHAPITRE I



## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

## 1. LES PLANTES MEDICINALES

La relation entre les plantes sauvages qui recouvrent la terre et les maladies qu'elles infectent a été utilisée en tout ou en partie pour les traiter en raison de leur capacité à produire une grande quantité de composés chimiques pouvant être utilisés dans plusieurs fonctions biologiques importantes telles que l'acclimatation et la défense contre les influences extérieures qui affectent le corps humain. La plupart des médicaments chimiques actuels sont dérivés des herbes médicinales, qui sont le pilier des médecines alternatives ou de la physiothérapie [8].

À l'époque actuelle, les plantes médicinales ont pris de l'importance après que leurs traitements ont été basés sur des recherches scientifiques et chimiques et ont permis une classification plus explicite par nom scientifique et par classe d'usage développée par les botanistes. L'importance des remèdes naturels tels que les traitements indiens dans diverses parties du monde est en pleine croissance. Et une nouvelle tendance a été faite pour utiliser des médicaments de sources naturelles pour les résoudre.

### 1.1. Botanique médicale

La botanique médicale est la science qui étudie les origines végétales des médicaments sous leur forme brute. Elle s'intéresse également à l'étude de ses composants chimiques et de leurs effets sur le corps humain et les animaux, ainsi qu'à leurs méthodes d'extraction et de détection, ainsi qu'aux conditions de stockage de ces parties de plantes contenant les substances actives et à l'origine de la plante les contenant [8].

Les objectifs de botanique médicale peuvent être définis comme suit:

- 1- Connaissance des sources naturelles végétales riches en matières premières pharmaceutiques utilisées à des fins thérapeutiques.
- 2- Recherche pour trouver les meilleurs moyens d'extraire les substances actives.
- 3- Essayer de tirer parti des substances actives pour préparer des produits pharmaceutiques plus complexes tels que des hormones, Industries alimentaires.
- 4- Poursuivre les recherches pour découvrir de nouvelles substances utiles bénéfiques pour l'homme.

## 1. 2.L'histoire des plantes médicinales

L'histoire des plantes médicinales depuis l'Antiquité a évolué comme suit:

### 1.2.1. Plantes médicinales des anciens égyptiens

Il a atteint un haut degré de compétence, comme en témoignent les images de nombreuses herbes gravées sur les murs des pyramides et des temples, notamment lors de divers rhumes, comme celui d'Ibers (1550 av. J.-C.) [8].

### 1.2.2. Plantes médicinales des Indiens

Les praticiens de la médecine ayurvédique de l'Inde ont longtemps utilisé des plantes médicinales pour soigner leurs patients. Alors qu'à l'origine le seul médicament disponible dans les temps historiques, beaucoup de ces plantes médicinales indiennes sont encore utilisés aujourd'hui. Ceux qui utilisent eux préfèrent naturel sur les médicaments pharmaceutiques, car ils ont tendance à avoir moins d'effets secondaires [9].

### 1.3.3. Plantes médicinales pour le chinois

Les plantes ont toujours joué un rôle essentiel dans la médecine chinoise. Elles sont à la base de la plupart des médications et ont une très grande valeur dans la culture et les traditions médicinales chinoises [8].

### 1.3.4. Plantes médicinales en Grèce et à Rome

Ce sont les Grecs qui ont donné son essor à la médecine par les plantes, avec les plus célèbres médecins comme Hippocrate (460-377 av J.-C.) et Théophraste (370-285 av J.-C.) qui utilisaient couramment les plantes. C'est Hippocrate qui jeta lui-même les bases de la médecine scientifique en cherchant aux maladies une explication plus rationnelle et non magique. On lui doit le Corpus Hippocratum, où il mentionnait plus de 400 remèdes simples à base de plantes. Il établissait une relation entre la forme ou la couleur de la plante, et la maladie qu'elle pouvait guérir (par exemple: le grenadier, fruits et fleurs, guérissaient les hémorragies). Son oeuvre sera élargie plus tard par Dioscoride (I siècle de notre ère) qui résume dans son ouvrage tout le savoir des Grecs sur les plantes médicinales. Ce résumé sera ensuite traduit en latin sous le nom de " *De Materia Medica* ".

Contemporain de Dioscoride à Rome, Pline l'Ancien réunissait ses connaissances en botanique médicale dans plusieurs volumes d' " *Histoire Naturelle* ". Il s'attarde longuement

sur les pouvoirs et l'efficacité des épices et autres plantes pour soigner à peu près toutes les maladies connues à son époque [10].

Pendant le démantèlement de l'Empire Romain (5ème siècle apr J.-C ), les milieux religieux sont restés les détenteurs de la médecine Gréco-Latine et ont préservé, dans les monastères, la culture des plantes médicinales et leurs usages.

### 1.3.5 Les plantes médicinales des musulmans arabes

La phase de traduction a commencé à contribuer au transfert des sciences médicales et les traducteurs les plus importants étaient les pèlerins. Et le fils du docteur d'Al-Mansour Sadeel et des scientifiques arabes ont poursuivi leurs recherches pour trouver les plantes mentionnées dans les ouvrages traduits. Ils ont mené des expériences et mis au point de nouvelles méthodes pour les préparer et les purifier.

Il est l'un des plus célèbres érudits arabes Ibn Sina et l'un de ses ouvrages les plus célèbres est la loi, une énorme encyclopédie de sciences diverses, une de ses plus grandes œuvres de tous les temps. Grâce à ses efforts, la médecine a progressé dans le monde arabe et des instruments scientifiques ont été mis au point pour découvrir diverses maladies. Sur l'impact psychologique sur le système digestif, les ulcères d'estomac, la circulation sanguine et la vitesse du pouls, et a initié le processus d'anesthésie avant toute intervention chirurgicale [9]. L'encyclopédie de la loi médicale est une référence à la médecine et à la pharmacie dans de nombreux pays du monde jusqu'au début du 18ème siècle, mentionnant de nombreuses plantes médicinales ainsi que des recettes cosmétiques [8].

### 1.3. Division des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont divisées en groupes avec des caractéristiques communes ou similaires qui combinent les individus afin de faciliter l'étude, un groupe de plantes est identifié en tant que morphologie afin de déterminer son espèce types et variétés pour connaître l'importance médicale, économique et industrielle de ses principes actifs et a donc trouvé plusieurs distributions de ces plantes, y compris:

- La division des plantes dans le règne végétal dépend des espèces, des familles, des espèces, etc.
- Division morphologique basée sur la nature de la partie de la plante médicinale disponible  
Ingrédient actif [10.11].

- ✓ Plantes entières pour la présence d'éléments actifs dans toutes les parties, comme le *Pinus sylvestris*.
- ✓ Les plantes utilisent leurs feuilles comme menthe *Minta sp.*
- ✓ Les plantes utilisent des fruits comme le *Cumin*.
- ✓ Les plantes utilisent leurs graines comme *Coffea arabica*.
- ✓ Les plantes utilisent des fleurs comme des œillets (*Eugenia aromatica*).
- La division chimique, qui dépend du produit chimique actif trouvé ou du produit le plus concentré, ainsi que du type et de l'origine de la source, qui varie d'une plante à l'autre, notamment:
  - ✓ Les plantes contiennent des substances savonneuses telles que : *Saponaria officinalis*... etc.
  - ✓ Plantes contenant des substances hydrocarbonées tel que *Nerprun (Elsidr)* ... etc.
  - ✓ Plantes contenant des huiles et des graisses telles que le ricin (*Ricinus communis*).
- Division industrielle basée sur le type de substances actives et leurs utilisations industrielles.
- Division saisonnière basée sur la quantité de récolte et la qualité de la production pendant les saisons et la saison de plantation de la dernière année.
- Division thérapeutique, qui repose principalement sur un groupe de plantes particulier pour traiter un type de maladie particulier :
  - ✓ Groupe de plantes tonique comme *Gingembre(Zangbill)*.
  - ✓ groupe de plantes antidouleur comme *Nigella sativa*.
  - ✓ Groupe de plantes répulsives pour les gaz tels que le *Poivre; Coriandre* [8].

## 1.4. Principaux composés des plantes médicinales

### 1.4.1. Les composés phénoliques

Les plantes produisent une énorme variété de produits naturels avec des structures extrêmement diverses. Ces produits sont communément appelés les métabolites secondaires [12]. Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal, ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides. Des liaisons avec d'autres phénols existent également [13].

### 1.4.2. Classification

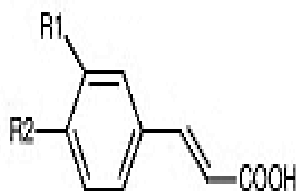
Parmi les composés phénoliques ; les acides phénoliques les coumarines, les tanins, les flavonoïdes et d'autres classes existent en nombres considérables.

#### 1.4.2.1- Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organisés en C6 C3 provenant de l'acide cinnamique ou en C6 C1 provenant de l'acide benzoïque.

##### *\*Acides phénoliques provenant de l'acide cinnamique :*

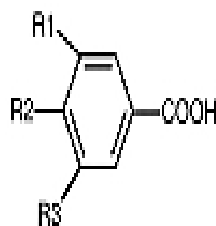
Ces acides sont des dérivés qui se forment à partir de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau de son cycle aromatique [14] (Figure I.1).



**Figure I.1:** Structure chimique générale de l'hydroxycinnamique.

##### *\*Acides phénoliques provenant de l'acide benzoïque :*

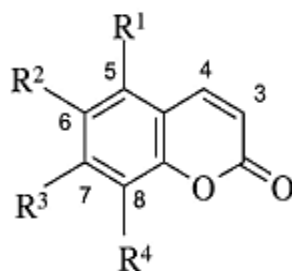
Ces acides sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'ester ou hétéroside (Figure I.2) [15].



**Figure I.2:** Structure chimique de générale de l'acide hydroxy benzoïque.

#### 1.4.2.2. Coumarine

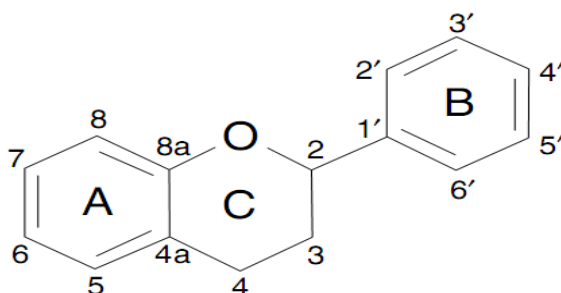
Les coumarines sont issues du métabolisme de la phénylalanine *via* l'acide shikimique par estérification et cyclisation, se formant par une substitution sur un cycle aromatique analogue à celle des dérivés de l'acide cinnamique. Presque toutes les coumarines sont substituées par un hydroxyle en position C7 [14,16] (Figure I.3).



**Figure I.3 :** Structure chimique des coumarines [17].

### 1.4.2.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les métabolites les plus distribués dans le règne végétal, formés à partir des acides aminés aromatiques phénylalanines et tyrosine et malonate [18,19]. Ces composés ont une structure fondamentale (le noyau flavane), qui se compose de 15 atomes de carbone, arrangés en deux noyaux aromatiques A et B liés par un autre noyau hétérocyclique C sous la forme C6-C3-C6 (Figure I.4) [18].

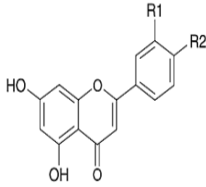
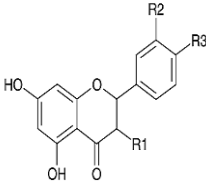
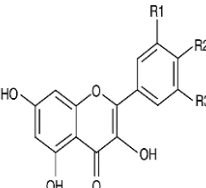
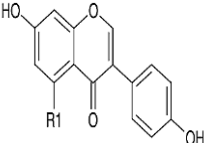
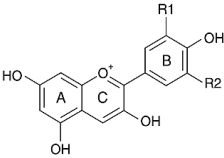
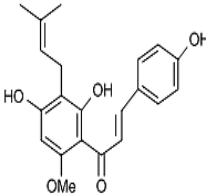


**Figure I.4 :** la structure basique des flavonoïdes [20].

Plus de 4000 composés de flavonoïdes différents ont été déjà identifiés dans la nature, la variation de position, du nombre et de la nature des substituants de ces composés expliquent leurs grandes diversités dans la nature [21]. Les différentes classes de flavonoïdes se différencient par le niveau d'oxydation et le type de substitution de l'anneau C, pendant que les composés d'une même classe diffèrent par le type de substitution des anneaux de B et A [18].

Et selon ces paramètres et la modification apportée aux flavonoïdes, on distingue plusieurs classes : les Flavones, les Isoflavones, les Flavanols, les anthocyanidines, les Chalcones....etc (Tableau I.1) [20].

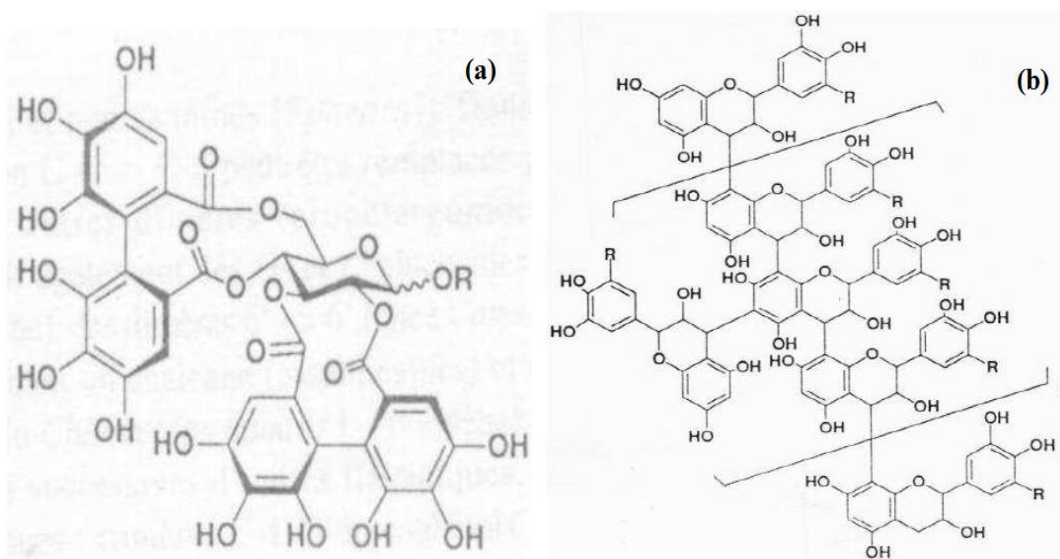
Tableau I.1 : Classification des flavonoïdes (*Heim, 2002*).

<i>Flavonoïdes</i>	<i>Remarque</i>	<i>Structure</i>	<i>Exemple</i>
<i>Flavones</i>	<i>Présente des substitutions en positions C<sub>5</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>3'</sub> et C<sub>4'</sub>, et une liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> insaturée</i>		<i>R1=H; R2=OH: Apigenol</i> <i>R1=OH; R2=OH: Luteolol</i>
<i>Flavonones</i>	<i>Ont une liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> de moins que les Flavones (Richter, 1993)</i>		<i>R1 H; R2 H; R3 OH: Naringenol</i> <i>R1 OH; R2 OH; R3 OMe: Hesperetol</i>
<i>Flavanols</i>	<i>Dérivent des Flavonones par addition de OH en position 3 (Richter, 1993)</i>		<i>R1=H; R2=OH; R3=H: Kaempferol</i> <i>R1=OH; R2=OH; R3=H: Quercetol</i>
<i>Isoflavones</i>	<i>en présentant une substitution du noyau benzénique en position 3 (Ghedira, 2006)</i>		<i>R1=H: Daidzeol</i> <i>R1=OH: Genisteol</i>
<i>Anthocyanidines</i>	<i>Sont des aglycones qui se distinguent des autres par des substitutions sur le cycle B (Richter, 1993)</i>		<i>R1=H; R2=H: Pelargonidol</i> <i>R1=OH; R2=H: Cyanidol</i>
<i>Chalcones</i>	<i>Dépourvues de l'hétérocycle central et caractérisées par la présence d'un chaînon carboné</i>		<i>Xanthohumol</i>

#### 1.4.2.4- Les tannins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines.

On distingue, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tannins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tannins hydrolysables et les tannins condensés [22].



**Figure I.5:** Structures chimiques d'un tannin hydrolysable (a) et d'un tannin condensé (b) [22].

### 1.4.3. Activités biologiques des polyphénols

#### a. Propriétés antioxydantes

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels.

L'action antioxydante de ces composés ne s'exerce pas seulement par l'inhibition des radicaux libres, mais elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation d'ions métalliques responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène [23].

**b. Effets antimicrobiens**

Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne.

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Un grand nombre de plantes, aromatiques, des plantes épicées et autres, possèdent des propriétés biologiques très importantes, qui trouvent des applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture [24]. Les recherches actuelles sur les molécules antimicrobiennes d'origine naturelle se concentrent principalement sur les plantes, car ils peuvent être achetés plus facilement et seront sélectionnés sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle [25].

**c. Effets anti-inflammatoires**

L'activité anti-inflammatoire des composés phénoliques a été démontrée dans de nombreuses études *in vitro* et *in vivo*. Ces substances actives peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique en bloquant les voies de la cyclo oxygénase et la lipoxygénase, les mécanismes de transduction du signal impliqués dans l'activation des cellules inflammatoires, la synthèse des cytokines pro-inflammatoires. La diversité de ces mécanismes d'action potentiels explique le large spectre d'activités biologiques (antioxydantes, anti-inflammatoires et antiprolifératives) de ces substances observées *in vivo* [26,27].

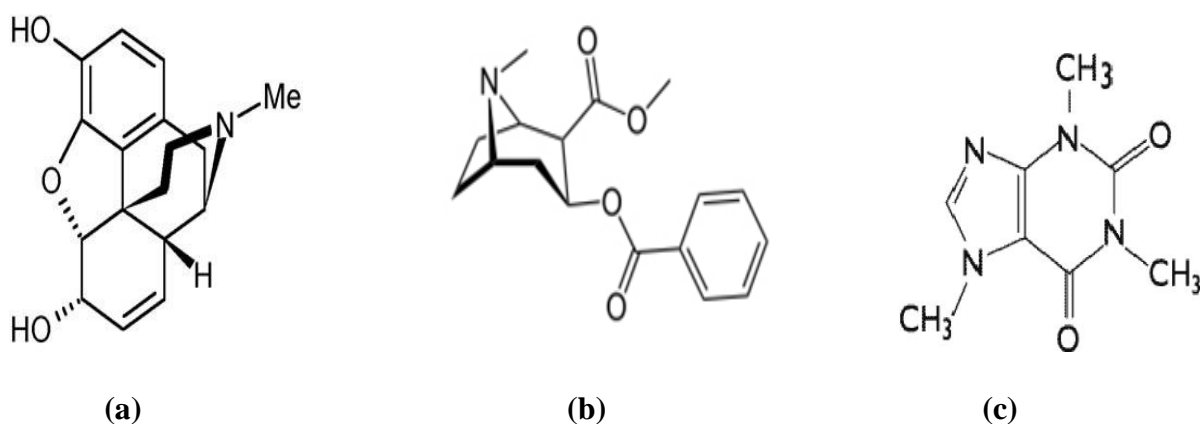
**f. Autres effets biologiques**

L'explication de l'efficacité naturelle supposée de nombreuses plantes médicinales en présence de composés phénolique. Ces derniers, possèdent de remarquables activités biochimiques et pharmacologiques dues essentiellement à leur pouvoir antioxydant [28]. et à l'inhibition de certaines enzymes impliquées dans la genèse de certaines pathologies [29]. L'étude des antioxydants d'origine végétale suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement des maladies à caractères inflammatoires et cardiovasculaires [30]. Les polyphénols sont en effet capables d'abaisser la pression artérielle chez le rat [31], d'empêcher l'oxydation des lipoprotéines à faible densité (LDL), et de stabiliser les cellules immunitaires Ils ont été décrits comme des anti-allergènes [32], des anti-thrombotiques et des anti-tumoraux [33].

### 1.4.4. Les alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques [22].

Les alcaloïdes représentent le groupe de substances naturelles d'intérêt thérapeutique le plus important, en terme de nombre, de diversité structurale et de leurs activités pharmacologiques. Ils sont au cœur des phénomènes d'adaptation et de défense face aux pressions biotiques (herbivore microorganisme) Ils ont été particulièrement étudiés, du fait des intérêts thérapeutiques et économiques qui y sont associés. On retrouve des molécules exploitées par l'industrie pharmaceutique comme la quinine, des stupéfiants (la morphine, la cocaïne), des anticancéreux (la colchicine, la vincristine, la camptothécine, le taxol,...), des molécules utilisées comme poisons (la strychnine..) ou des stimulants (la caféine..) ou encore comme antibiotiques du type pénicilline [34].



**Figure I.6 :** les structures quelques exemples des alcaloïdes : (a) Structure de la morphine, (b) Structure de la cocaïne, (c) Structure de la caféine.

### 1.4.5. Les terpénoïdes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène  $C_5H_8$  et ont pour formule de base des multiples de celle-ci ( $C_5H_8$ ). On peut considérer l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature. Leur squelette de carbone est constitué

d'unités isopréniques reliées entre eux. C'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles.

Le carotène est un tétraterpène ( $C_{40}H_{64}$ ). Il joue le rôle de pigment en photosynthèse végétale. Des matières aussi diverses que le caoutchouc, la vitamine A<sub>1</sub> ou le cholestérol sont construites essentiellement des «briques» d'isoprènes [35, 36].

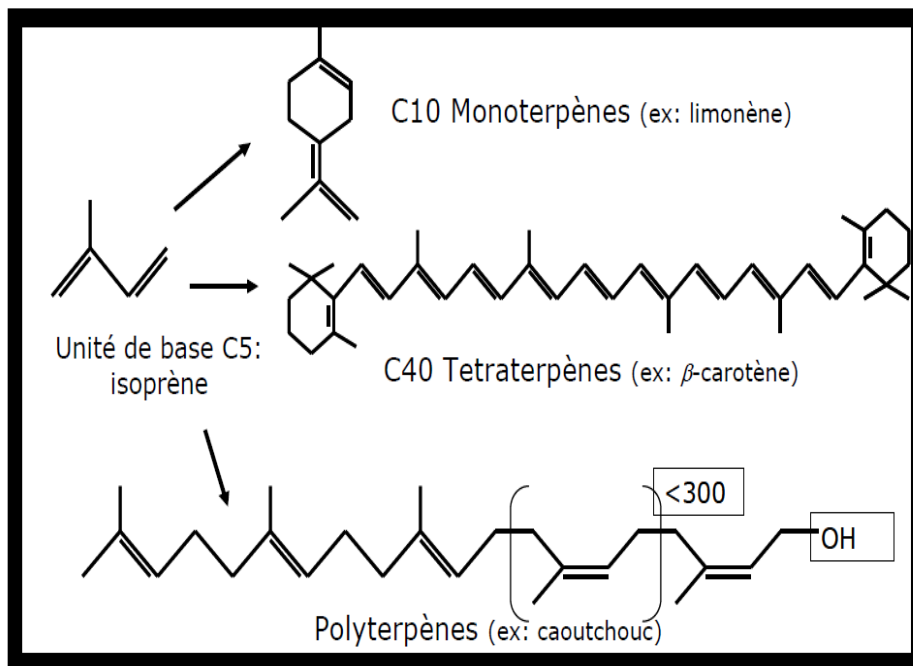


Figure I.7 : Structure des différents terpènes.

## 2. PLANTE MEDICINALE ETUDIEE (*COSTUS INDIEN*)

### 2.1. Historique du *Costus indien*

Depuis 1400 ans, avant l'arrivée de l'homme dans le monde scientifique et technologique, notre prophète Nayana avait recommandé d'utiliser la prime indienne comme remède contre de nombreuses maladies. La médecine moderne a prouvé qu'elle guérissait la stérilité et les infections pulmonaires. Les hadiths du prophète Mohammed ﷺ ont été enseignés aux docteurs des temps anciens afin qu'ils traitent leurs patients avec ce qu'on appelle la médecine prophétique à un moment où aucune découverte scientifique ne les aiderait jusqu'à ce que la science moderne confirme leur médecine prophétique.

### 2.2. Répartition géographique de la plante (*Costus indien*)

Le oud indien ou prime indienne est une plante cultivée en Inde et parmi les Indiens les plus consommateurs, en particulier dans le domaine des médicaments, et utilisé en Inde à des fins thérapeutiques, en plus des objectifs de la beauté, car il contient de nombreux aliments bénéfiques pour la santé humaine et l'apparence intérieure, Surtout au Cachemire et en Chine, et utilise ses racines qui peuvent être blanches ou noires.

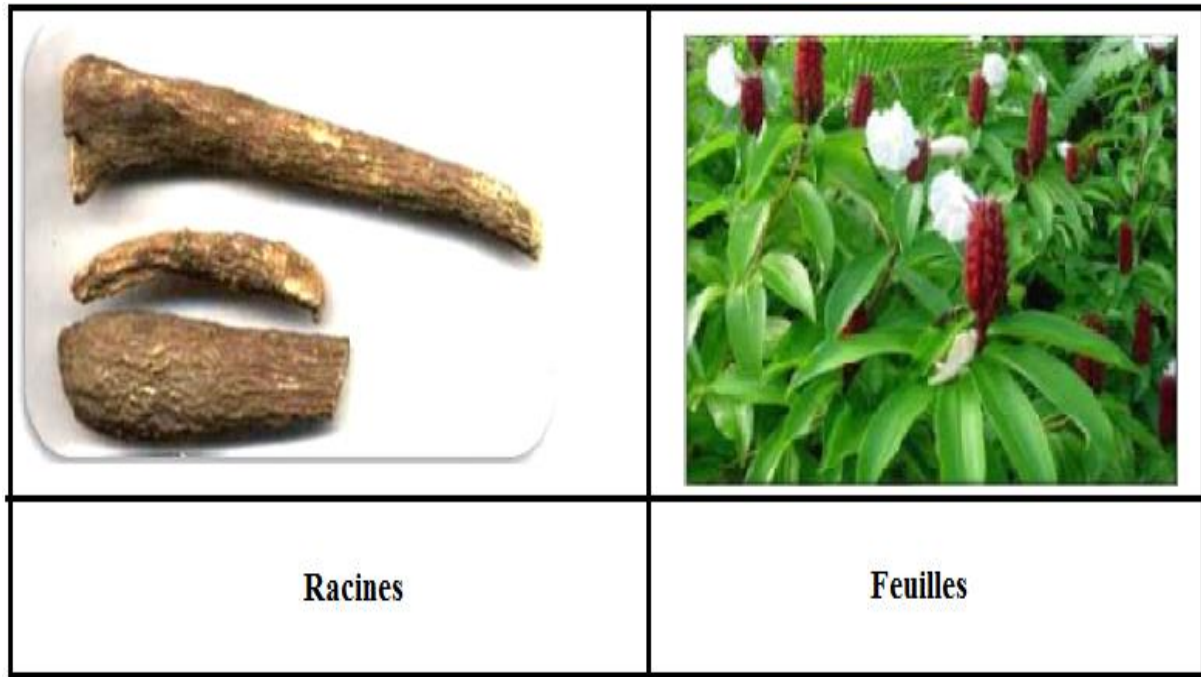
Les commerçants arabes l'apportèrent par voie maritime dans la péninsule arabique. On l'appelait donc blanc comme la prime indienne, comme on l'appelait les lions indiens, comme il était mentionné dans l'année comme un oud indien, également appelé alkst, appartenant à la famille des Costacées. Utilisée au fil du temps, cette plante recèle les secrets du traitement de nombreuses maladies.

### 2.3. Description morphologique de la plante

Plante herbacée, vivace, à feuilles persistantes, érigée jusqu'à 2,7 mètres de long, à croissance modérée, où les plantes prospèrent dans les broussailles sous des forêts humides avec des sols organiques.

Les feuilles sont de type simple, ovales à oblongues oblongues-oblongues, d'environ 15 à 35 cm - 6 à 10 cm x, à bords ondulés et à nervures parallèles, disposées alternativement sur la tige en spirale, de couleur vert vif. Les fleurs sont aromatiques, coniques, Les fruits ont la forme d'une capsule de 2 cm de diamètre, les graines sont noires sphériques, de nombreuses branches épaisses de couleur brun rougeâtre et les racines à croissance horizontale ne posent pas de problème [10-11].

Au cours du mois de septembre, la plante fleurit pour donner à son lieu une décoration distinctive, s'étendant dans toute l'Inde et favorisant les climats tropicaux et subtropicaux, en particulier l'Himalaya [37]. On le trouve également au Pakistan, Taiwan, Malaisie, Sri Lanka, Népal et Chine [38].



**Figure I.9** : Image photographique d'une plante de *Costus indien* [39].

#### 2.4. Classification botanique :

Selon la classification [40], il est classé comme suit:

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Classe</b>	Liliopsida
<b>Sous-classe</b>	Zingiberidae
<b>Ordre</b>	Zingibérales
<b>Famille</b>	Costaceae
<b>Genre</b>	Costus
<b>Espèce</b>	<i>Costus indien</i>

## 2.5. Utilisations médicales de *Costus indien*:

La médecine prophétique est l'héritage de notre prophète Mohamed (ﷺ), c'est le miracle de la science moderne que nous confirmons aujourd'hui pour donner des résultats précis, Le prophète Mohamed (ﷺ) nous a conseillé d'utiliser *Costus indien* comme médicament contre de nombreuses maladies

À travers Le Hadith à Sahih al-Bukhari :

**(عليكم بهذا العود المندي , فان فيه سبعة اشوية : يستعط به العذرة , ويلد به من خاتم الجنب)**

- رواه البخاري - ص 5692

L'objectif est de confirmer que le hadith du prophète Mohamed (ﷺ) est l'inhalation du *Costus indien* par le nez, A ce moment, il protège contre les maladies respiratoires générales, telles que l'asthme, le rhume, l'inflammation des amygdales, de la gorge, du pharynx, et la tuberculose...etc.

Cette interprétation est valable en médecine pour les maladies de gorge associées à la congestion sanguine, qu'il s'agisse d'une amygdalite ou d'une pharyngite, Il est confirmé par le Hadith :

**(لا تعذبوا صبيانكم بالغمز من العذرة وعليكم بالقسط) - رواه الترمذي - ص 2079.**

D'après la médecine traditionnelle prophétiques, il est clair que la plante médicinale *Costus indien* est important dans le traitement de nombreuses maladies, notamment les maladies respiratoires, le cancer,... etc.

# CHAPITRE II



## MATERIEL ET METHODES

## 1. Introduction

Pour l'obtention de bons résultats, il est nécessaire de suivre un protocole expérimental plus précis. Dans le présent chapitre, l'appareillage, les méthodes d'extraction et les méthodes de caractérisation physicochimiques et électrochimiques sont détaillés.

## 2. Matériel végétale

Le matériel végétal est constitué par les racines de *Costus indien*. La plante a été récoltée pendant le mois de décembre 2018 de la région de Inde, importé par une médecine herboriste à Willaya de M'sila. Après séchage à température ambiante et à l'abri de la lumière directe, le matériel végétal était grossièrement broyé à l'aide d'un moulin électrique.

## 3. Méthodes

### 3.1. Préparation d'extrait brut (macération par Soxhlet)

L'extraction au Soxhlet a été retenue comme technique d'extraction car elle favorise l'extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétale.

Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en papier filtre remplie de 30 g de matière végétale en poudre, cette cartouche est fixée sur un réservoir (ballon) contenant 300 ml de méthanol et est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair c'est-à-dire sans une proportion significative de soluté. Le mélange a été filtré et soumis à une évaporation à 45°C dans un four électrique (étuve). L'extrait obtenu est appelé extrait brut (EBr) [4,41].



Figure II.1. Schéma de montage d'extraction dans le Soxhlet.

### 3.2. Calcul le rendement en extrait brut

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage du principe actif dissout dans le solvant organique utilisé pour l'extraction. Déterminé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche rendue en poudre utilisée pour l'extraction. Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule :

$$R (\%) = [M1 / M0] \times 100$$

R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche.

M1 : quantité d'extrait récupérée exprimée en (g).

M0 : quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

### 3.3. Dosage des polyphénols

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et molybdène ( $MO_8O_{23}$ ). La

coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux [42].

Pour évaluer la teneur en polyphénols d'extrait. 100 µl de chaque extrait convenablement dilué est ajouté à 500 µl du réactif de Folin ciocalteux (dilué 10 fois dans l'eau distillée). Après 4 min 400 µl d'une solution de carbonate de sodium (7.5 % dans l'eau distillé) sont ajoutés, après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à 765 nm par un spectrophotomètre UV [43].

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (20-140 µg/ml). La concentration des polyphénols est calculée à partir de la droite d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

### 3.4. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium décrite par de Bahorun *et al.* (1996). Le principe de la méthode est la formation d'un complexe jaune qui absorbe à 430 nm.

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions  $Al^{3+}$  sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

La quantité des flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant, cependant la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon [44]. Cette méthode consiste à ajouter 1 ml d'une solution d' $AlCl_3$  (2% dans de méthanol absolu) à 1 ml de chaque extrait convenablement dilué. Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance à 430 nm est mesurée. Une droite d'étalonnage réalisée par quercétine à différentes concentrations (1-40 µg/ml) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires a servi pour la quantification des flavonoïdes. La teneur est exprimée en microgrammes équivalents de quercétine par milligrammes d'extrait (µg EQ ou ER/ mg d'extrait) [43].

### 3.4. Méthodes utilisées pour l'évaluation biologique

#### 3.4.1 Etude de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne d'extrait méthanolique de *Costus indien* est évaluée par la méthode de diffusion sur gélose [45].

##### a) Préparation des solutions des extraits

Les extraits méthanoliques secs ont été dissouts dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour obtenir une solution mère de 500 mg/ml.

##### b) Préparation des suspensions bactériennes

Les tests antibactériens sont effectués à partir de colonies jeunes de 18 à 24 h en phase de croissance exponentielle. Une suspension bactérienne est réalisée dans l'eau distillée stérile pour chaque souche.

##### c) Ensemencement des boites

- + Tremper un écouvillon sec stérile dans l'inoculum.
- + Eliminer l'excès d'inoculum en pressant l'écouvillon et en le faisant roulet contre les parois du tube au dessus du niveau de liquide.
- + Ensemencer en stries sur toute la surface des boites à trois reprises et passer enfin l'écouvillon sur le bord de la gélose.
- + Laisser sécher la boite pendant quelques minutes avant de déposer les disques sur la gélose.
- + Recharger l'écouvillon chaque fois qu'on ensemence plusieurs boites de pétri avec la même souche.

##### d) Préparation des disques

La préparation des disques se fait à partir du papier Wattman qui est découpé en disques de 06 mm de diamètre. Les disques sont chargés de principe actif à testés) 10 µl et 20 µl d'extraits méthanoliques correspondant à 5mg/disque et 10 mg/disque respectivement (Finalement, on prépare des disques imprégnés d'eau distillée stérile et d'autres imprégnés de DMSO. Ces deux dernières catégories de disques serviront de contrôle négatif. Différents disques d'antibiotiques standards ont également été utilisés comme control positif (le choix des antibiotiques est fait selon le genre de la bactérie).

## e) Application

Les disques sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface du milieu gélosé, préalablement ensemencé. Ils doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose. Les boîtes sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C pour les bactéries, pendant 24 heures à 37 °C. Le diamètre de la zone d'inhibition au tour des disques est alors mesuré. Les déterminations sont réalisées deux fois [46].

**Extrait végétal + bactéries → Inhibition de la croissance ou mort des bactéries.**

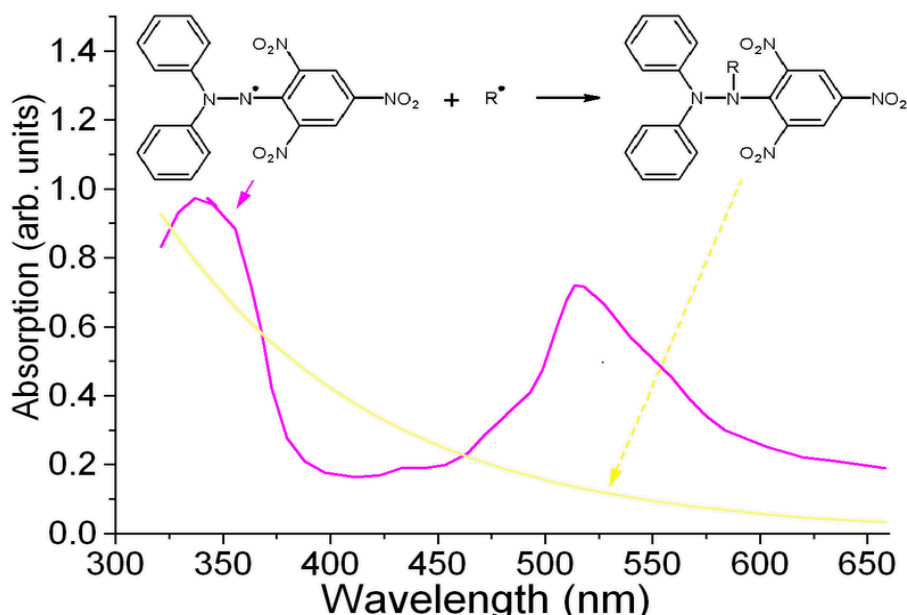
**Tableau II.1 :** Liste des souches microbiennes testées.

Bactérie	Type de la bactérie
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bacille Gram –
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 19875	Bacille Gram+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Cocci Gram+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bacille Gram –
<i>Selmonella ssp</i>	Bacille Gram –

### 3. 4.2. Etude de l'activité Antioxydant par le test DPPH

L'activité antioxydant des antioxydant peut être mesurée par l'utilisation d'une méthode simple, rapide et facile à mettre en œuvre ; c'est la méthode de DPPH, dont le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydant des composés purs ou de mélange complexe, la méthodologie est basée sur la décroissance de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH suite à l'addition de l'antioxydant [47].

L'IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 % est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•. Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées [48].



**Figure II.2:** Réaction entre le DPPH et un donneur d'atome d'hydrogène.

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire, d'extrait brut, 50 µl des différentes concentrations d'extrait ont été incubés avec 1.25 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004 %. Après une période d'incubation de 30 minutes, la réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH• est suivie par spectroscopie visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH• à 517 nm.

L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

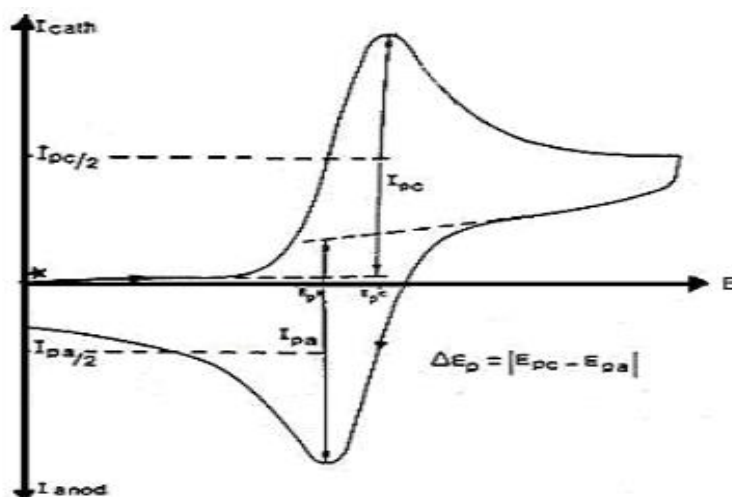
$$\% \text{ d'inhibition} = 100 (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}$$

$A_{\text{contrôle}}$  : Absorbance sans antioxydant

$A_{\text{échantillon}}$  : Absorbance avec antioxydant

### 3.5. Mesures électrochimique (Voltampérométrie cyclique)

Afin de vérifier l'oxydation des composés phénoliques, on doit pouvoir observer la variation de leurs propriétés d'oxydoréduction. Les méthodes conventionnelles pour mesurer le pouvoir antioxydant des composés phénoliques reposent sur leur habilité à réduire chimiquement un réactif précis. Ces méthodes ne permettent pas de caractériser les fines variations du potentiel d'oxydoréduction. À cette fin, la méthode de voltammétrie cyclique est largement utilisée en électrochimie pour caractériser les propriétés d'oxydoréduction des composés purs en solution [49]. Cette technique est basée sur l'enregistrement du courant en fonction de la tension appliquée. Ce courant est en relation directement proportionnelle avec la concentration de l'espèce étudiée. La hausse de courant produite par l'oxydation des molécules peut être représentée par un pic sur un graphique du courant en fonction du potentiel (voltammogramme) (Figure II.3). La hauteur du pic dépend du nombre d'électrons captés à un potentiel donné et est donc fonction de la concentration des molécules étudiées. Plus le potentiel d'oxydation est bas, plus le composé donne facilement l'électron et plus forte est sa capacité antioxydante [50].



**Figure II.3:** Allure du voltammogramme cyclique d'un couple rédox [50].

$E_{pc}$ ,  $E_{pa}$  : potentiels de pics cathodique et anodique.

$I_{pc}$ ,  $I_{pa}$  : courants de pics cathodique et anodique.

$E_{pc/2}$ ,  $E_{pa/2}$  : potentiels à mi-hauteur des pics cathodique et anodique.

$\Delta E_p$  : différence de potentiel  $E_{pc}$  et  $E_{pa}$ .

Les manipulations électrochimiques sont réalisées à température ambiante dans une cellule électrochimique connectée à potentiostat galvanostat Gamry (référence 3000), assisté par un micro-ordinateur figure (II.4). Les mesures électrochimiques sont réalisées dans une cellule en verre contenant trois électrodes : l'électrode de travail en (platine) , contre-électrode en (carbone vitreux), et l'électrode de référence en (ECS). Tous les potentiels sont exprimés par rapport à cette électrode de référence. La solution électrolytique est constituée d'ions de l'extrait (Brut) à propriété dissolution partielle dans l'eau distillée. Entre chaque expérience, un nettoyage systématique de l'électrode de travail est réalisé. Il consiste à polir la surface de l'électrode avec du papier abrasif. Après rinçage à l'eau distillée, l'électrode est immergée dans la solution y compris l'extrait à analyser [51].



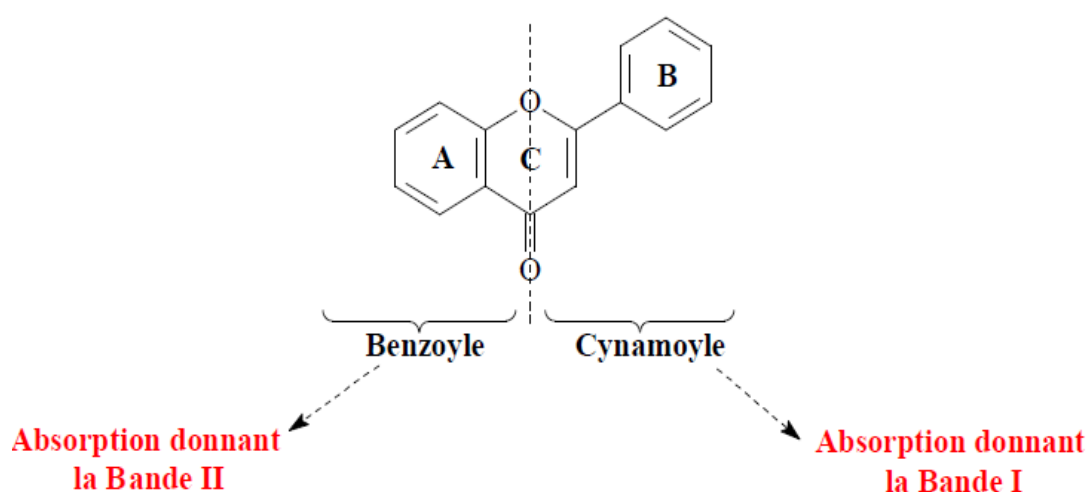
**Figure II.4:** montage d'appareillage expérimentale potentiostat galvanostat Gamry.

### 3.6. Etude des flavonoïdes par l'UV-visible

Les flavonoïdes peuvent être considérés comme des pigments qui absorbent très fortement les radiations UV, par conséquent la spectroscopie UV-Vis reste l'outil principal pour l'analyse structurale des flavonoïdes.

Les flavones et flavonols sont caractérisés en majorité par deux bandes d'absorption majeures dans la région UV-Visible. Les flavones et les flavonols hautement oxygénés ont tendance d'absorbance vers les longueurs d'ondes les plus longues en entraînant un déplacement du spectre vers l'infra rouge. La méthylation ou la glycosylation des groupements hydroxyyles des flavonoïdes résulte généralement d'un déplacement hypsochromique de la bande I.

Les flavonoïdes sont caractérisés par deux bandes d'absorption principales : la bande I et la bande II (figure II.5) [52].



**Figure II.5:** Les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique [52].

**La bande I :** présentant un maximum d'absorption entre 300 et 385 nm, elle est attribuée à l'absorption du système cynamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C2-C3) et le noyau B, elle donne donc, des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.

**La bande II :** présentant un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm, elle est attribuée à l'absorption du système benzoyle qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A et donne des informations sur les variations structurales du cycle A [53].

#### a) Absorption dans le méthanol

Le tableau(II.2) donne l'intervalle du maximum d'absorption des deux bandes en milieu méthanolique pour quelques types de flavonoïdes.

**Tableau II.2:** Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes.

Bande I	Bande II	Type de flavonoïde
310-350	250-280	flavone
330-360	250-280	Flavonol (3 -OH substitué)
350-385	250-280	Flavonol (3 OH libre)
310-330	245-275	isoflavone
340-490 380-430	230-270 Intensité faible	Chalcone Aurone
465-560	270-280	Anthocyanes et anthocyanidines

Le maximum d'absorption d'une telle ou telle bande dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles, méthoxyles ou glycosylés sur le squelette flavonique. L'augmentation du nombre de groupements hydroxyles fait déplacer le maximum d'absorption vers des longueurs d'onde plus élevées, par contre la substitution des groupements hydroxyles par des groupements méthoxyles ou glycosylés fait déplacer ce maximum vers des longueurs d'onde plus faibles [54].

L'extrait brut est analysé par mesure de leur spectre d'absorption UV-Vis dans le méthanol à l'aide de l'appareil de *UV-visible Cary 3* de l'université de Sétif.

# CHAPITRE III



## RESULTATS ET DISCUSSION

## 1. Procèdes d'extraction

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative. Elle est influencée par la méthode d'extraction choisie en fonction des composés phytochimiques à étudier. D'autres facteurs, comme la nature du solvant d'extraction, la température et les étapes d'extractions individuelles jouent également un rôle important dans cette procédure. Les études précédentes montrent que le méthanol est le solvant le plus utilisé pour une haute récupération de composés phénolique. Ce solvant a été utilisé dans cette étude pour obtenir les extraits bruts (EBr) à partir des racines de *Costus indien*, la macération est a été faite par la méthode de Soxhlet.

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule :

$$R (\%) = [M1 / M0] \times 100$$

R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche.

M1 : quantité d'extrait récupérée exprimée en ( g ).

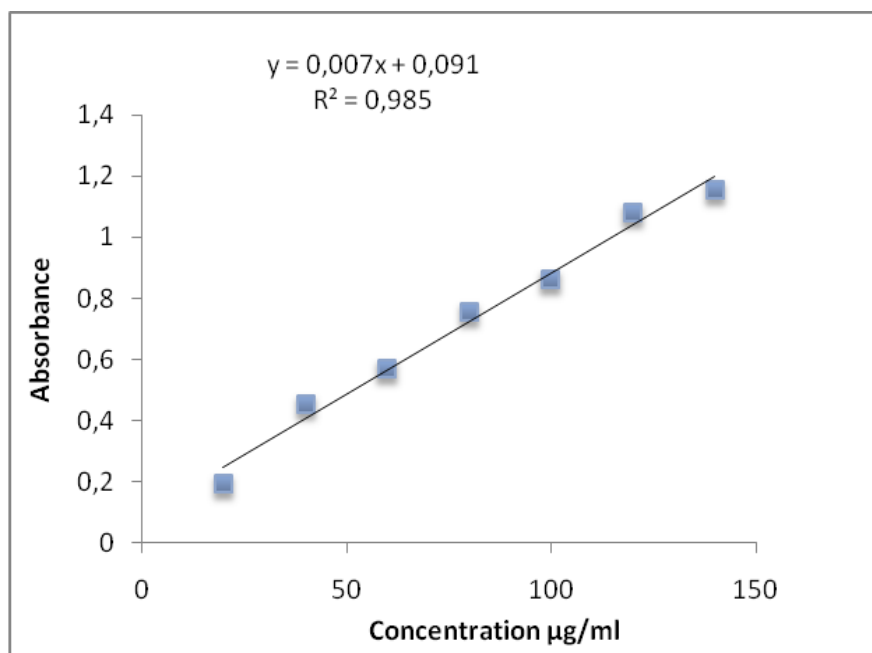
M0 : quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en ( g ).

Les résultats obtenus montrent que l'extrait brut possède un rendement très élevé avec un pourcentage de 14%. D'après ce résultat on peut conclure que la méthode d'extraction utilisée dans notre travail extraire le maximum de principes actifs.

## 2. Dosage des polyphénols totaux

Les analyses quantitatives des phénols totaux, est déterminé à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent d'acide gallique.

Avant de passer à la détermination de la teneur en composés phénoliques nous avons établi une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme composé de référence (figure III.1).



**Figure III.1:** courbe d'étalonnage d'acide gallique

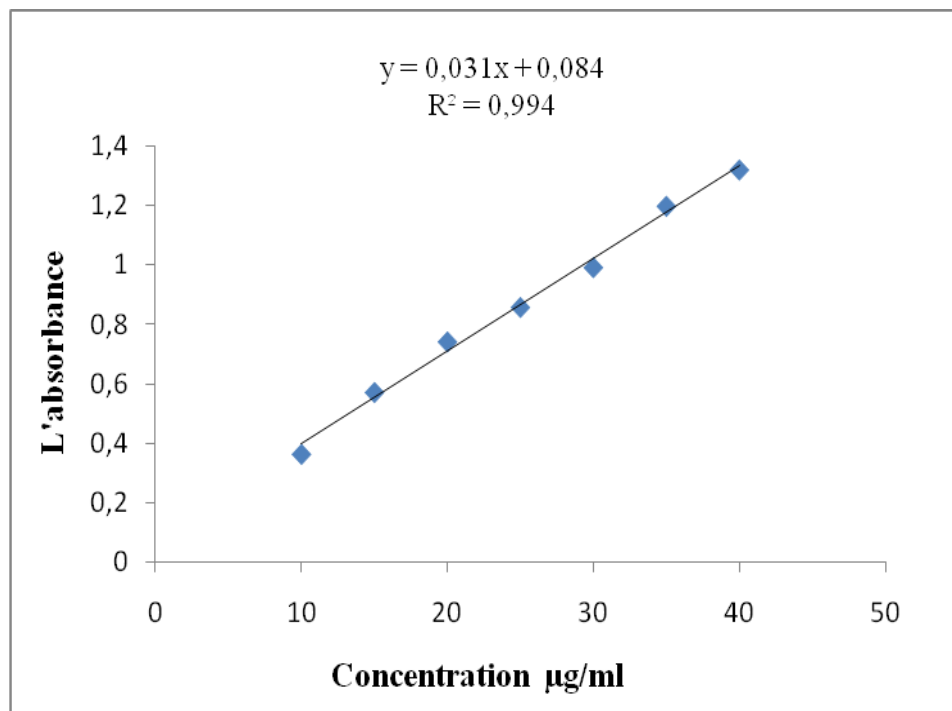
La calcul de la teneur, montre la richesse e cet espèce en poly phénol avec une teneur de 70 µg/mg d'extrait.

L'isolement des composés phénoliques des plantes par extraction est généralement un processus très difficile compte tenu de la variété de composés qu'il est possible de trouver dans les échantillons naturels. L'obtention de teneur élevé est parfois compliquée. Il est possible de constater que les solvants jouent un rôle très important dans plusieurs méthodes d'extraction. En effet, les composés phénoliques solubles sont généralement extraits en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone.

### 3. Dosage des flavonoïdes totaux

Les analyses quantitatives des flavonoïdes, est déterminé à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent quercétine. Les

La gamme de concentrations de quercétine est représentée dans la figure suivante.



**Figure III.2 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine.

D'après ces résultats on note que l'extrait méthanolique de *Costus indicus* a une teneur faible en flavonoïdes, il est d'ordre de  $0,16 \pm 0,05 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait brut.

## 4. Résultats des activités biologiques

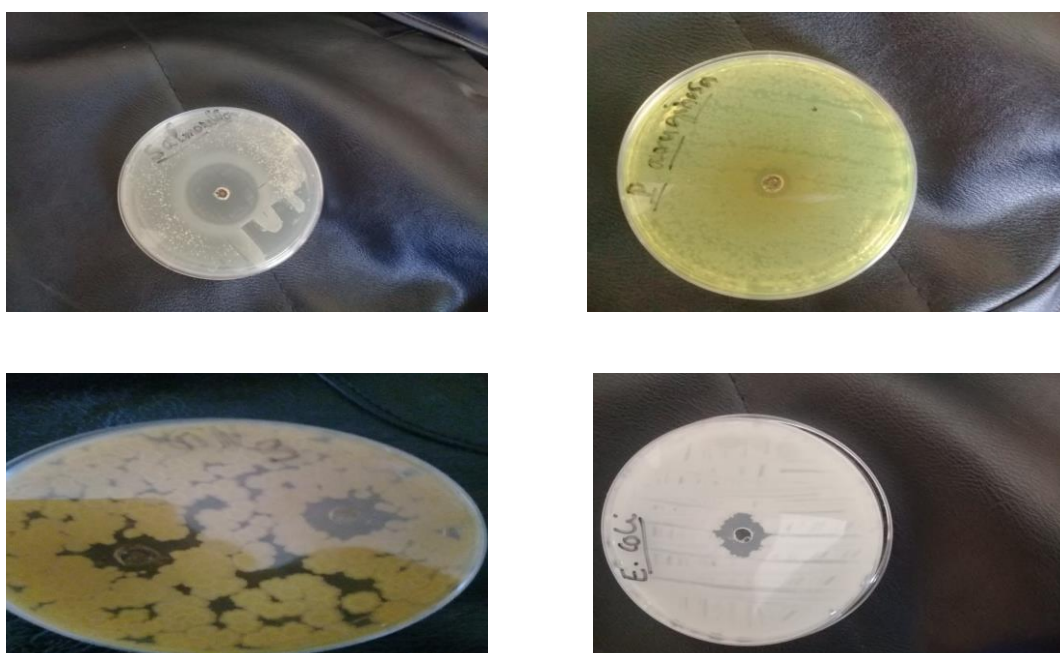
### 4.1. Activité antibactérienne

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antimicrobien des produits naturels extraits des plantes. Lors de cette étude, nous avons testé l'action de l'extrait méthanolique par la méthode de diffusion en milieu solide, vis-à-vis plusieurs souches bactériennes

Les résultats de l'évaluation antibactérienne des extraits sont repris ci-dessous (tableau III.1).

**Tableau III.1** : Les résultats des souches microbiennes testées.

Bactérie	Type de la bactérie	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bacille Gram –	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2785	Bacille Gram –	10
<i>Selmonella</i> ssp	Bacille Gram –	18
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 19875	Bacille Gram+	15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Cocci Gram+	8

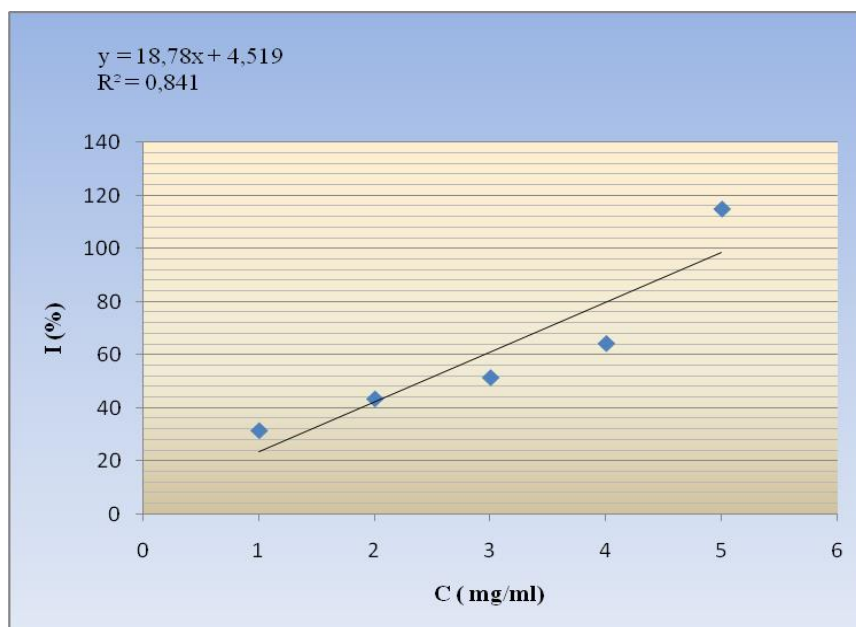
**Figure III.3** : résultat d'analyse de l'activité antibactérienne.

Au regard de ces résultats, nous avons observé que l'extrait méthanolique est manifesté une activité significative vis-à-vis les cinq bactéries. La plus forte activité a été obtenue contre *Selmonella* et *Bacillus cereus* avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 18 mm et 15 mm respectivement.

On peut dire que l'activité antimicrobienne de ces extraits est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, y compris les huiles essentielles, les flavonoïdes et les triterpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phénolique.

#### 4. 2. L'activité antioxydante par le test DPPH

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante d'extrait brut de la plante étudiée. L'activité scavenging du radical DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition, le résultat est illustrée dans la figure suivante.



**FigureIII.4** : résultat de teste de DPPH de l'extrait.

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC<sub>50</sub>, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ces IC<sub>50</sub> sont déterminés graphiquement des deux tests séparés, dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé.

Nos résultats montrent que l'extrait brut (EBr) présente une activité antiradicalaire très élevée (2.42 mg/ml).

## 5. Voltampérométrie cyclique

Afin de vérifier l'oxydation des composés phénoliques dans les plantes lors d'un stress photo oxydant, on doit pouvoir observer la variation de leurs propriétés d'oxydoréduction. Plusieurs des méthodes conventionnelles pour mesurer la concentration ou le pouvoir antioxydant des composés phénoliques reposent sur leur habilité à réduire chimiquement un réactif précis. Ces méthodes permettent d'estimer de façon globale le pouvoir antioxydant des composés phénoliques mais ne permettent pas de caractériser les fines variations de leur potentiel d'oxydoréduction. À cette fin, une méthode largement utilisée en électrochimie pour caractériser les propriétés d'oxydoréduction de composés purs en solution est la voltammétrie cyclique.

Cette méthode est aussi appliquée dans pour l'étude du comportement électrochimique du l'extrait méthanolique (costus indien), on utilise la méthode de Voltampérométrie cyclique pour tester le comportement électrochimique ensuite voir son activité antioxydante.

### 5.1. La conductivité de l'extrait

En général, on utilise des solutions contenant outre les espèces électroactives, un sel d'électrolyte support totalement dissocié permettant de saturer la solution afin de se placer en régime de diffusion pure, mais dans notre cas on a utilisé l'extrait méthanolique (*Costus indien*) seul puisque il a une conductivité acceptable et il a une propriété dissolution partielle dans l'eau distillée, Dans ces conditions le tracé d'un voltampérogramme est de quelques millisecondes à quelques minutes.

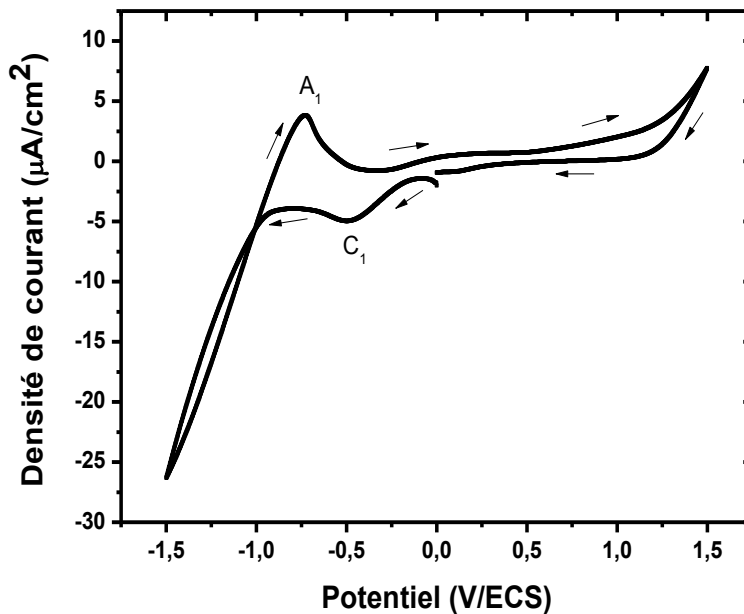
La mesure de la conductivité de l'extrait brute de (*Costus indien*) est présenté dans le tableaux suivant.

**Tableau III.2:** des résultats de conductivité et pH de différente concentration de l'extrait brute de *Costus indien*.

Concentration (mg/50ml)	20	15	10	05
PH	4.63	4.70	4.78	4.89
Conductivité (µs/cm)	45.0	34.0	24.8	16.0

### 5.2. Etude du comportement électrochimique de l'extrait brut

Lors des mesures de voltammétrie d'extrait brut, un potentiel variant est appliqué aux composés en solution afin d'arracher des électrons aux molécules oxydables. Les électrons sont captés par une électrode de travail, habituellement en carbone vitrifié, utilisée conjointement avec une contre-électrode en platine. Ces électrons produisent un courant positif (anodique) qui est mesuré par rapport à une électrode de référence Ag/AgCl. La hausse de courant produite par l'oxydation des molécules peut être représentée par un pic sur un graphique du courant en fonction du potentiel (voltammogramme). La hauteur du pic dépend du nombre d'électrons captés à un potentiel donné et est donc fonction de la concentration des molécules à l'étude (**Figure III.5**)



**Figure III.5:** Cyclovoltammogramme de l'extrait brut (40 mg/100 ml) sur une électrode de platine  $v=5$  mV/s

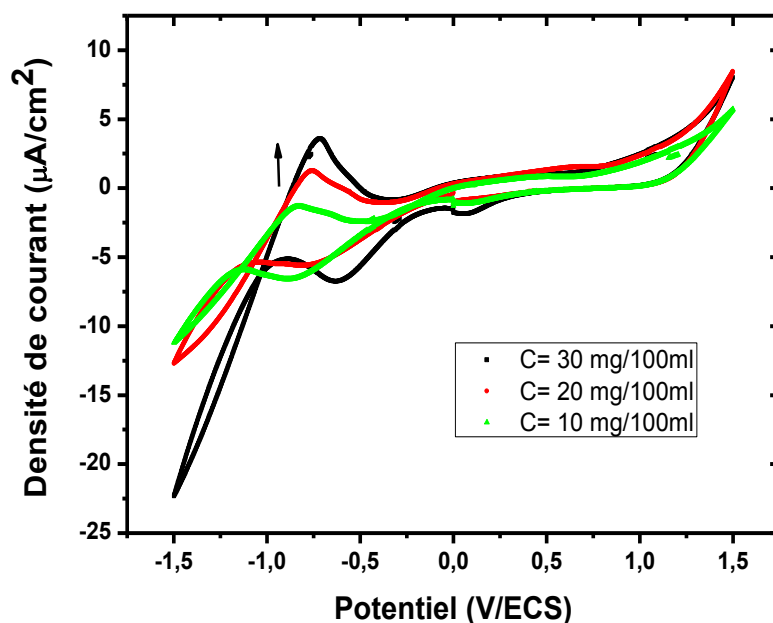
La **figure III.5** représente un cyclovoltammogramme d'une solution aqueuse de l'extrait brut de concentration à 400 mg/l. on peut noter qu'au balayage aller vers le côté cathodique l'apparition d'un petit pic  $C_1$  environ -0.56 V/ECS qui correspond à l'oxydation de l'oxygène dessous dans la solution et après on peut observer un palier cathodique relatif au dégagement d'hydrogène. Au balayage retour vers le côté anodique on observe également un pic anodique  $A_1$  correspond à l'oxydation de l'une des espèces existant dans l'extrait (probablement l'espèce actif) (réaction irréversible), puis on observe

un courant nul et après un palier anodique relatif au dégagement d'oxygène. On peut observer également dans ce Voltampérogramme que les courants des pics anodique et cathodique sont très petits (de l'ordre de microampère), ceci est traduit par la faible conductivité de notre extrait.

La voltammétrie permet de constater que les molécules de l'extrait brut sont oxydées facilement et donc plus disponibles pour détoxifier les radicaux libres *in vivo*.

### 5.3 Influence de la variation de la concentration

L'effet des différentes concentrations d'extrait sur la courbe de polarisation (Voltampérogramme de la solution aqueuse de costus) se présente dans la **figure III.6**



**Figure III.6:** Cyclovoltamogrammes de l'extrait brut sur une électrode de platine  $v=10$  mV/s pour différents concentrations.

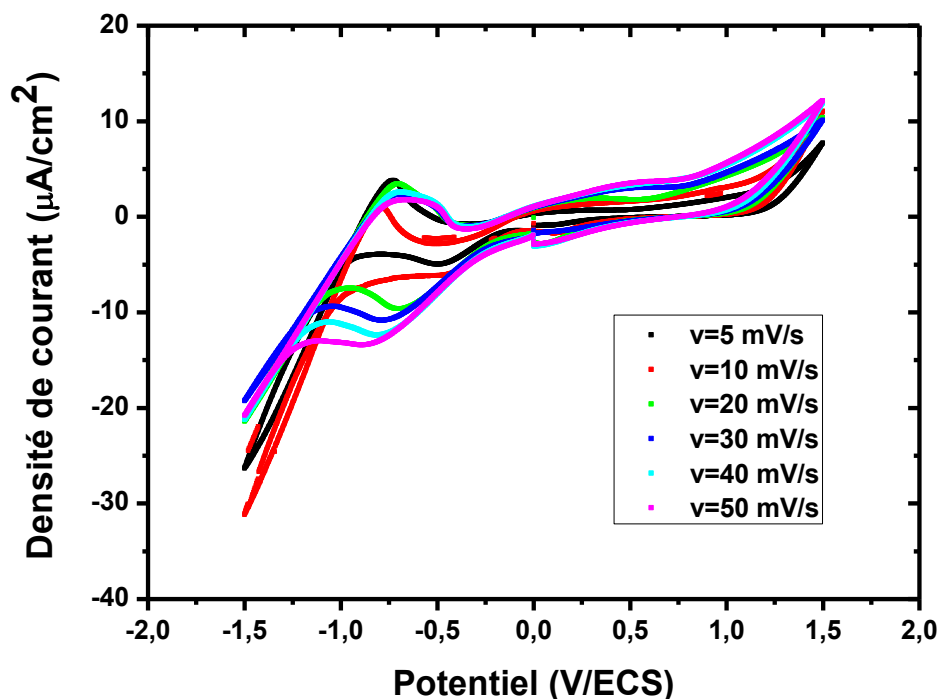
La **figure III.6** présente les courbes de polarisation (voltampérogrammes) obtenues pour différentes concentrations de l'extrait brut (10, 20 et 30 mg/100 ml) tracées sur une électrode de platine avec une vitesse de balayage de  $v=10$  mV.s<sup>-1</sup> entre -1.5V et 1.5 V/ECS. Dans cette figure on peut observer que :

-L'allure générale des courbes de polarisation est conservée.

-l'augmentation des pics anodiques et cathodiques ainsi que l'augmentation des paliers anodique et cathodique de dégagement d'oxygène et d'hydrogène avec l'augmentation de la concentration en extrait brut.

#### 5.4. Influence de la variation de vitesse de balayage

L'effet de la vitesse de balayage sur la courbe de polarisation (Voltampérogramme de la solution aqueuse de costus) se présente dans la **figure III.7**.



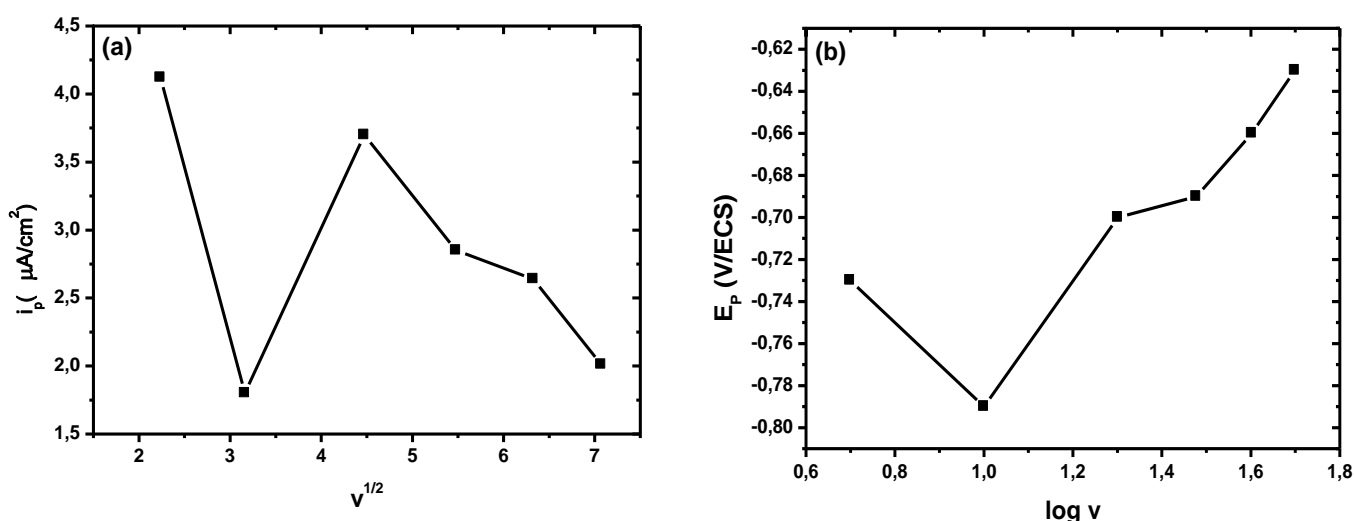
**Figure III.7:** Cyclovoltamogrammes de l'extrait brut (40 mg/100 ml) sur une électrode de platine pour différents vitesses de balayage.

On peut observer que le courant de pic cathodique augmente avec l'augmentation de la vitesse de balayage avec un décalage de potentiel de pic. Tandis que le courant de pic d'oxydation diminue avec l'augmentation de la vitesse de balayage, ça c'est un cas spécial où il y a une autre réaction chimique se déroule en parallèle avec la réaction électrochimique d'oxydation comme montre le tableau 3.2 et les tracés  $i_p = f(v^{1/2})$  et  $E_p = f(\log v)$  dans la **figure III.8**

**Tableau III.3 :** Variation de courant de pic  $i_p$  et potentiel  $E_p$  de pic en fonction de la vitesse de balayage.

$v$ (mV/s)	5	10	20	30	40	50
$i_p$ ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	4.12	1.80	3.70	2.85	2.64	2.01
$E_p$ (V/ECS)	-0.73	-0.79	-0.7	-0.69	-0.66	-0.63
$v^{1/2}$	2.236	3.162	4.472	5.477	6.324	7.071
Log $v$	0.698	1	1.301	1.477	1.602	1.698

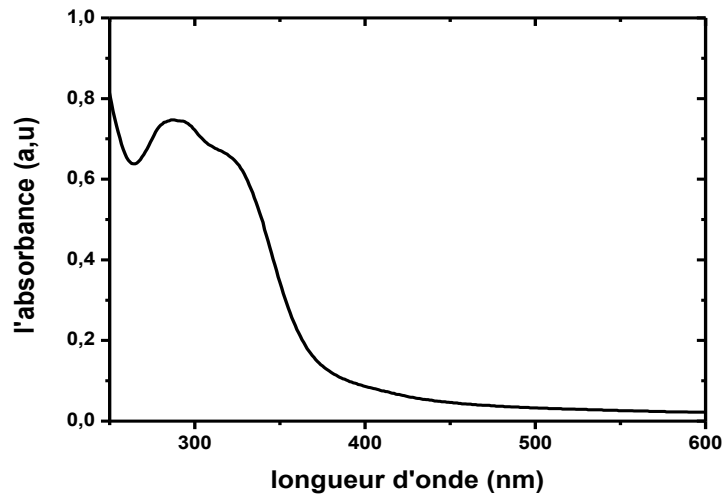
On observe que le courant de pic d'oxydation  $A_1$  diminue avec l'augmentation de la vitesse balayage avec un décalage de potentiel de pic vers les côtés anodiques, ça peut nous donner une idée sur le régime de contrôle de processus électrochimique et la rapidité du système. D'après la figure III.5.a c'est clair que le tracé  $i_p = f(v^{1/2})$  est une courbe dont la concavité est tournée vers l'axe des vitesses, le processus à l'électrode dans ce cas comporte une réaction chimique associée au transfert de charge. La **figure III.7.** présente certaines linéarités de variation de potentiel de pic en fonction de  $\log v$ , ceci est en concordance avec un mécanisme de transfert électronique rapide [55].



**Figure III.8:** Variation de courant de pic  $i_p$  en fonction de  $v^{1/2}$  (a) et le potentiel de pic  $E_p$  en fonction de  $\log v$  (b)

## 6. Spectrophotométrie UV-Visible

Le spectre d'absorption UV-Visible de l'extrait méthanolique de *costus indien* est représenté dans la figure suivante.



**Figure III.9:** Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible de l'extrait (brut)  
(40 mg/100 ml)

L'examen spectral UV montre deux bandes d'absorption entre (250-350 nm) relatives au flavone ou flavonol (3 -OH substitué).

# Conclusion



## Conclusion

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques et des matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futures médicaments.

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation des antioxydants et des antimicrobiens naturels. De nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes. Le présent travail vise à évaluer l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait brut d'une plante utilisée en médecine traditionnelle Algérienne: *Costus indien*.

Les résultats obtenus pour l'analyse quantitative de la composition phénolique de l'extrait brut de *Costus indien*, en utilisant le test colorimétrique de Folin Ciocalteu, confirment que cette espèce est riche en polyphénols. En parallèle, l'analyse quantitative du contenu en flavonoïdes réalisée en utilisant la méthode colorimétrique du chlorure d'aluminium, nous a montré que cet extrait est pauvre en flavonoïdes.

Le potentiel antiradicalaire d'extrait brut a été déterminé par la méthode de DPPH. Les résultats ont montré que cet extrait possède une activité plus importante.

**Au** cours de cette étude nous avons réalisé également un test antibactérien vis-à-vis de quelques germes pathogènes par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, les résultats microbiologiques ont montré que l'extrait brut de *Costus indien* a présenté une activité antibactérienne forte contre un certain nombre de bactéries.

Afin de vérifier l'oxydation des composés phénoliques, la méthode de voltammétrie cyclique est largement utilisée pour caractériser les propriétés d'oxydoréduction. Les résultats obtenus, montrent que l'extrait se comporte comme un bon réducteur.

L'ensemble des résultats obtenus constitue une justification scientifique de l'usage traditionnel des plantes étudiées et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreux maux.

# Références bibliographiques



### Références bibliographiques

- [1] OMS (Organisation mondiale de la Santé). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. WOH/TRM/2000; annexe II:31-35.
- [2] Rajender Kumar Sharma \*, Shashi Sharma, Shanti S. Sharma, Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 1 (2014) 92–97.
- [3] V.Y. Waisundara, M.I. Watawana, N. Jayawardena, South African Journal of Botany 98 (2015) 1–5.
- [4] John reddy Peasari, Sneha sri Motamarri, Karthikeya Srinivasa Varma, P. Anitha, Ravindra Babu Potti, Informatics in Medicine Unlocked 13 (2018) 34–40.
- [5] ANAND AKHILA and MADAN M. GUPTA, j. Plant Pbyiol. 130 (1987) 285-190.
- [6] EZEJIOFOR Anthoneth Ndid, ORISH Chinna Nneka, ORISAKWE Orish Ebere, Chinese Journal of Natural Medicines 12(10): (2014) 0745-0752.
- [7] Mohammad Mansoob Khan, Nurin Hayatus Saadah, Mohammad Ehtisham Khan, Mohammad HilninHarunsani, Ai Ling Tan, Moo Hwan Cho, Materials Science in Semiconductor Processing 91 (2019) 194–200.
- [8] Ghassan Hijjawi, Pharmacologie et plantes médicinales, (2009). P 5.6.7.
- [9] Dr. Yahya Abdel-AzizKahla Biologie des sciences à base de plantes, (2007), P 582.
- [10] Warriar, P. K.; Nambiar, V. P. K. and Ramankutty, C. .Indian Medicinal Plants. Vol.1-5. Orient Longman Ltd., Madras (1994).
- [11] Kirtikar, K. R. and Basu, B.D. Indian Medicinal Plants. Internat. Book Distributors, Dehra Dun, (1987), P 2444-2449.
- [12] Springob K &Kutchan, T.. Introduction to the different classes of natural products. Springer(Osborn AE, Lanzotti V, eds. Plant-derived Natural Products), (2009), P 3-50.
- [13] Martin, S &Andriantsitohaina, R. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéiologie 51 (2002) 304–315.
- [14] Richter, G.. Les composés phénoliques métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie) Editions Dunod, (1993), P 255.

- [15] Negrao, R & Faria, A.. Natural Polyphenols as Anti-Oxidant, Anti Inflammatory and Anti-Angiogenic Agents in the Metabolic Syndrome. Springer Science Business Media B V, (2009), P147-180.
- [16] Guignard, J. L.. Biochimie végétale. Éditions Masson, (1996), P 255.
- [17] Kostova, I & Iossifova, T.. Chemical components of Fraxinus species. Fitoterapia 78 (2007) 85–106.
- [18] Pietta, P. G.. Flavonoids as antioxidants of Natural Products 63 (2000) 1035–1042.
- [19] Ghedira, K.. Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie 4 (2005) 162-169.
- [20] Irfan, R., Saibal, K & Paul, A. Regulation of inflammation and redox signaling dietary polyphenols Biochemical pharmacologie 72 (2006) 1439-1452.
- [21] Anders, B. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. Crit. Rev .Oral. Boil. Med, (2002), P 184-196.
- [22] Sereme A., Millogo-Rasolodimby J., Guinko S. and Nacro M. Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. Journal des Sciences. 10 (2) (2010) 24-32.
- [23] Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N.. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97(4) (2006) 654–660.
- [24] Bahorun T. Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source D’approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius. (1997).
- [25] Yano, Y., Satomi, M., Oikawa, H. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. International J. Food Microbiology, 111 (2006) 6-11.
- [26] Ferradji, A. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Mémoire : biochimie. Sétif : Université Ferhat Abbas. (2010).
- [27] Al-Sobarry, M.A.M.. Valorisation pharmacologique d’*Aloeperryibaker* et *Jatropha gossypifolia*, plantes endémiques du Yémen : toxicité, potentiel anti-inflammatoire et analgésique. thèse de doctorat : Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacogénosie. Université Mohammed V- souissi. (2012).

- [28] Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4) (2006) 654–660.
- [29] Chiang, H. C., Lo, Y. J & Lu, F. J. Xanthine oxidase inhibitions from leaves of *Alsophilaspinulosa* (Hook) Tryon. *J of EnzInh*, 8 (1994) 61-67.
- [30] Olayinka A., Aiyegoro et Anthony I. Okoh. Phytochemical Screening and Polyphenolic Antioxidant Activity of Aqueous Crude Leaf Extract of *Helichrysum pedunculatum*. *Inter J of Mol Sci*. 10 (2009) 4990-5001.
- [31] Yoon J-H. et Baek S. J. Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Antiinflammatory Properties. *Younsei Med J*. 46(5) (2005) 585-596.
- [32] Shohaib, T. M., Shafique, N, D., & Divakar, M. C. Importance of flavonoides in therapeutics *Hygeia.J.D.Med*, 3 (1) (2011) 1-18.
- [33] Martin, S & Andriantsitohaina, R. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie* 51 (2002) 304–315.
- [34] Wichtl M., Anton R., *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Édition LAVOISIR, Paris, (2009) P 38-41.
- [35] Ramar, P.S., and Ponnampalam, G., Therapeutic Potential of Plants as Anti- microbials for Drug Discovery, *Evid Based Complement Alternat Med* 7 (3) (2010) 283-294.
- [36] Mazid, M., Khan, T.A., Mohammad, F., Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants, *Biology and Medicine* 3 (2) (2011) 232-249.
- [37] Anonymous. *The Wealth of India : First Supplement Series (Raw Materials)*, National Institute of Science Communication and Information Resources , CSIR 2 (2007) 211-213.
- [38] Gupta, R.K. *Medicinal and Aromatic Plants*, CBS Publishers and Distributors, *Journal of Medicinal plants Research*. (2010), P 234-499.
- [39] Bhogaonkar, P.Y.; Devarkar, V.D. and Lande, S.K. Physical characterization of *Costus speciosus* (Koenig Ex Retzi). *Smith-A well Known Ayurvedic Drug plant published on* : 1th Nov. ISSN: 2277-4297. (2012).
- [40] Srivastava, S.; Singh, P.; Mishra, G.; Jha K.K. and Khosa R.L. *Costus speciosus* (Keukand) : A review .*Pelagia Research Library*, ISSN:0976-8688. (2011).
- [41] Ahmed Shams Aldin *plantes médicinales et plantes anciennes et modernes*. (2000), P 249-363.

- [42] Boizot N., and Charpentier J.P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. (2006), P 79-82.
- [43] Boumerfeg, S., Baghiani, A., Messaoudi, D., Khennouf, S. and Arrar, L. Antioxidant Properties and Xanthine Oxidase Inhibitory Effects of *Tamus communis* L. Root Extracts *Phytotherapy Research* 23 (2009) 283-288.
- [44] Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Cazin M, Cazin JC and Pinkas M, Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneim Forsch* 46 (11) (1996) 1086-1089.
- [45] Belhattab R., Larous L., Kalantzakis G., Bouskou D. and Exarchou V. Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts. *Food, Agricul. & Envir* 2 (2004) 63-69.
- [46] Rios, J. L., and Recio, M. C., Medicinal plants and antimicrobial activity, *J Ethnopharmacol* 100 (1-2) (2005) 80- 84.
- [47] Abdel-Lateff A., König G. M., Fish K. M., Höller U., Jones P. G., Wright A. D., New antioxidant Hydroquinone Derivatives from the Algicolous Marine Fungus *Acremonium* Sp. *Journal of Natural Products* 65 (2002) 1605-1611.
- [48] Sarikurkcü C., Tepe B., Daferera D., Polissiou M. and Harmandar M. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* sp. *globosum* (Lamiaceae) by three different chemical assays. *Bioresource Technology* 99 (2008) 4239-4246.
- [49] Naik GH, Priyadarsini KI, Satav JG, Banavalikar MM, Sohoni DP, Biyani MK, Mohana H. Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in ayurvedic medicine. *Phytochemistry* 63 (2003) 97-104.
- [50] Kilmartin PA, Zou H and Waterhouse AL. A cyclic voltammetric method suitable to characterise antioxidant properties of wine and wine phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2001) 1957-1965.
- [51] Rebiai A, Lanez T and Belfar ML Total polyphenol contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of Algerian propolis. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 6 (2014). 975-1491.

- [52] Jurd, L. and Horowitz, R., Spectral properties of flavonoid compounds, pergamonpress, Oxford, (1962), P 107-2055.
- [53] Markham, K.R. Technique of flavonoides identification, Academicpress, London. (1982).
- [54] Markham, K.R. and Mabry, T.J., Phytochemistry 7 (1968) 1197.
- [55] Ayoub HajSaid, Fatma Matoussi M'halla, Sadok Roudesli, Journal de la Société Chimique de Tunisie 12 (2010) 151-159.

*Costus indien* est une plante médicinale aromatique appartient à la famille Costaceae. En raison de sa richesse en métabolites secondaires tels que les polyphénols et les flavonoïdes, cette plante possède de multiples activités biologiques. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique et une évaluation de leurs activités antioxydante et antibactérienne. La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes est réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu et par le trichlorure d'aluminium, respectivement. L'extrait méthanolique a montré une richesse en polyphénols totaux et en pauvresse en flavonoïdes ( $69,42 \pm 1,2$  mg EAG / mg,  $0,16 \pm 0,05$  µg EQ/mg respectivement). Evaluation de l'activité antioxydante indique que l'extrait brut possède un pouvoir inhibiteur très élevé contre le radical libres DPPH (IC 50% =  $2,42$  mg / ml). Les extraits ont été également soumis à un screening pour leur activité antibactérienne, en employant la méthode de diffusion à partir d'un disque solide. Tous les extraits ont réagi positivement sur les souches bactériennes testées. Enfin les propriétés d'oxydoréduction sont caractérisées par la voltammétrie cyclique.

**Mots clés :** *Costus indien*, Composés phénoliques, Activité antioxydante, Pouvoir antibactérien.

ملخص

القسط الهندي هو نبات طبي عطري ينتمي إلى عائلة Costaceae. بسبب ثرائه بالأيضيات الثانوية مثل البوليفينول والفلافونويد، فإن هذا النبات له أنشطة بيولوجية متعددة. في هذا السياق، يتعلق العمل الحالي بدراسة كيميائية نباتية وكذا تقييم لأنشطتها المضادة للأكسدة والبكتيريا. القياس الكمي للبوليفينول الكلي والفلافونويد تم بواسطة كاشف فولين سيوكالتو وثلاثي كلوريد الألومنيوم، على التوالي. أظهر المستخلص الميثانولي وجود نسبة عالية من البوليفينول الكلي ومحتوى الفلافونويد المنخفض ( $69.42 \pm 1.2$  ملغ EAG / ملغ،  $0.16 \pm 0.05$  ميكروغرام مكافئ / ملغ على التوالي). يشير تقييم نشاط مضادات الأكسدة إلى أن المستخلص الخام له قدرة مثبطة عالية للغاية ضد الجذور الحرة DPPH IC 50 =  $2.421778$  (ملغ / مل). كما تم فحص المقتطفات لنشاطها المضاد للبكتيريا، باستخدام طريقة البث من قرص صلب. تفاعلت جميع المستخلصات بشكل إيجابي على إحدى السلالات البكتيرية التي تم اختبارها. أخيرًا، تتميز خواص الحد من الأكسدة بقياس الجهد الدوري.

**الكلمات المفتاحية:** القسط الهندي، مركبات الفينول، نشاط مضاد للأكسدة، فاعلية مضادة للجراثيم.

Abstract

*Costus indian* is an aromatic medicinal plant belongs to the Costaceae family. Because of its richness in secondary metabolites such as polyphenols and flavonoids, this plant has multiple biological activities. In this context, the present work concerns a phytochemical study and an evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. Quantification of total polyphenols and flavonoids is realized by Folin Ciocalteu agent and aluminumtrichloride, respectively. The methanolic extract showed a high content of total polyphenols and low flavonoid content ( $69.42 \pm 1.2$  mg EAG / mg,  $0.16 \pm 0.05$  µg EQ / mg respectively). Evaluation of the antioxidant activity indicates that the crude extract has a very high inhibitory power against the free radical DPPH (IC 50% =  $2.421778$  mg / ml) The extracts were screened for their antibacterial activity, in using the broadcast method from a solid disk. All extracts reacted positively on one of the bacterial strains tested. Finally, the oxidation-reduction properties are characterized by cyclic voltammetry.

**Key words:** Indian costus, Phenolic compounds, Antioxidant activity, Antibacterial potency.