

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

Étude phytochimique et biologique d'une plante
médicinale algérienne (*Hertia cheirifolia* L.)

Présenté Par :

BENYOUCEF Soussen
GUERROUT Iness

CHENIKHER Fatiha
SLIMANI Chayma

Membre de Jury:

Pr. DJERROU Zouhir	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. BENABDERRAHMANE Wassila	Rapporteuse	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. NEGhra Nadjat	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu Tout-Puissant, qui nous a donné la force, la volonté et la patience, et nous a permis de mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercier notre superviseur, Dr BENABDERRAHMANE Wassila, qui nous a apporté son soutien, ses encouragements, et des conseils qui nous ont aidés à faire ce travail.

Nous tenons également à remercier Dr BOUDJELLAB Zine Eddine le directeur du laboratoire de biologie d'université 20 août 1955 - Skikda, pour leur mise à disposition.

Nous avons un soutien en termes de moyens et de suivi, dirigé par le professeur MACHIA Leila.

Nous remercions également le personnel de l'Unité de Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyse Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL),

***Université Frère Mentouri, Constantin 1 de nous avoir accueillis afin de mener à bien nos travaux,
Ainsi que le directeur
du laboratoire des champignons du Centre National de Recherche Biotechnologique CRBt Constantine, Ali Debbi et ses assistants.***

Nous remercions également le laboratoire de l'état d'Annaba,

Et nous tenons à Nous remercions les membres du jury Pr DJERROU Zouhir et Dr NEGhra Nadjjet d'avoir accepté l'évaluation de ce mémoire.



Dédicace



Avant tout nos remerciements reviennent à ALLAH le tout puissant pour tous ses bons.

Je dédie ce modeste travail à la communauté scientifique espérant qu'il lui sera utile.

À mon père Messaoud, qu'il trouve ici ma plus profonde gratitude, mon amour et mes respects.

À plus merveilleuse des mères Aïcha qui était et est toujours Ma source de soutien et d'inspiration.

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon amour profond.
Que Dieu le tout puissant vous protège et vous accorde santé, longue vie et bonheur.*

À mes sœurs Hadjer, Roukia, Meriem, Zina, Noura.

À mes grandes mères Djamila et Khadra Dieu repose son âme.

À mes chers neveux Alaa et Djed Abdelileh.

*À toute la famille CHERIBAT.
À toute ma belle -famille CHENIKHER,*

À tous ceux qui ont offert de l'aide et des conseils.

CHENIKHER Fatiha



Dédicace

*Remerciements et louanges à ALLAH Tout-Puissant, qui m'a permis
d'atteindre*

Ce succès, qui est le résultat d'années de diligence et je le dédie

*À mon cher père, Benyoucef Rabah, auquel je suis fier d'être affilié, et qui m'a
insufflé force, détermination et joie de vivre, et m'a soutenu et encouragé tout
au long de mon parcours académique.*

*À ma chère mère Benyoucef Nouara, à mon grand modèle, que ALLAH a béni
avec bonté et perspicacité, pour celui qui a construit les fondations de mon être,
a fait de moi la fille ambitieuse solide et réussie que je suis maintenant.
Aux étoiles qui ornaient le ciel de ma vie et m'accompagnaient à chaque étape du
chemin vers le succès, à mon soutien dans les bons et les mauvais moments, ma
chère sœur Benyoucef Aya,
Mon cher frère Benyoucef Kheir Eddine, et mon frère aîné
Benyoucef Mohamed.*

*Je dédie ce travail à l'âme de mon grand-père Benyoucef Mohamed Al-Salah,
surnommé "Chebel", que ALLAH lui fasse miséricorde, qui a eu un grand impact
sur mon enfance, car il était gentil, miséricordieux et solidaire, et à l'âme de ma
grand-mère Bouchareb Al-Zahraa, que ALLAH ait pitié de son âme.*

*À mon ma grand-mère Benyoucef Zabida et mon grand-père Benyoucef
Mahmoud, que ALLAH prolonge leur vie, et à toute la famille Benyoucef, et
j'espère être le meilleur successeur du meilleur prédécesseur.*

*À mon amie d'enfance qui a laissé un bel impact sur ma vie, à ma chère Chebel
Mouna.*

*À l'ami de mon père, le respect Monsieur Outili Yacine.
Enfin à tous les amis qui m'ont inspiré et encouragé à être qui je suis
aujourd'hui.*

Benyoucef Soussen



Dédicace



Tout d'abord, je remercie ALLAH Tout-Puissant qui m'a donné la force, la volonté et la patience et m'a permis de faire ce mémoire Un moment que j'avais tant attendu et dont j'avais rêvé, et finalement j'ai embrassé mon beau rêve, mon rêve que j'ai dessiné avec un stylo d'enfance.

ALLAH merci, j'ai terminé ma carrière universitaire.

Je dédie ce mémoire

À la personne qui m'a apporté tout le soutien dont j'ai besoin, la personne qui m'a tout donné depuis ma naissance et à qui je souhaite longue vie,

À mon père Slimani Ahmed. A mon exemple de sacrifice, d'amour et de générosité, la lumière de mon chemin, l'étoile de ma vie.

À la personne qui m'a contenue dans ma joie et ma peine. A ma chère mère Bousseliou Aziza, qui est pour moi une source de tendresse et un exemple de fidélité qui ne cesse de m'encourager et de prier pour moi. Que ALLAH te protège pour nous, ma part de mon cœur.

À mon cher frère Daif "Mohamed" mon soutien constant.

À ma chérie sœur Sara et son mari Tayer Rachid et à la petite Soumiya, merci d'avoir ajouté de la joie et du bonheur dans ma vie.

À mon cher grand-père Slimani Zidane et ma chère grand-mère Boyedo Akila, que ALLAH ait pitié d'eux,

À mon cher grand-père, Bousseliou Hocine, et à ma chère grand-mère, Bousseliou Bariqa.

À mes amies à qui je témoigne qu'elles sont de bonnes compagnes : Sana, Asma, Ikram, Salsabil, Salma, Nour Elhouda.

SLIMANI Chayma



Dédicace

C'est avec un grand plaisir et une immense fierté et joie que je dédie ce modeste travail :

*Mon cher père Moussa Guerrout "Hajj Razik"
À celui qui m'a enseigné le sens de la vie et a semé l'espoir et la fermeté À celui qui m'a donné confiance et force À celui qui m'a donné la sécurité À celui dont je porte le nom avec fierté, je demande à ALLAH de prolonger ta vie.
Baba je t'aime*

*À ma chère mère "Hakima Brihmi"
À mon ange de la vie, au sens de l'amour, au sens de la tendresse et du dévouement, au sourire de la vie et au secret de l'existence, à celle dont la supplication a été le secret de ma réussite, à ma chère maman.
Maman je t'aime*

*À mon cher mari "Bilel Saidi "
Mon soutien, mon inclinaison, ma profondeur, ma force, ma domination, mon royaume et mon soutien ferme qui ne s'incline pas. Louange à ALLAH que j'ai été créé à partir de ta cote et que tu as créé un ami pour mon cœur.*

*Je vous dédie cette recherche en guise d'expression de mes remerciements pour votre soutien continu à ceux qui ont toujours été proactifs pour m'encourager et me soutenir,
Je t'aime mon mari*

À mes sœurs et frères " Amna, Sondous, Chorouk, Siradje, Moize Eddine

Vous êtes mon être et mon soutien contre vents et marées, et les étoiles qui ont décoré le ciel de ma vie. J'espère que vous serez toujours à moi et je vous aime

*À mon oncle Hassan Guerrout "Rida"
À mon deuxième père, merci pour tout ce que tu m'as donné, je t'aime.*

GUERROUT Iness

LISTE DES ABREVIATIONS

AcOEt : Acétate d'éthyle

C° : Températures degré Celsius

CHCl₃ : Chloroforme

cm : Centimètre

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

FeCl₃ : Chlorure ferrique

Fol : Fusarium oxysporum f.sp lycopersici

H : Heure

HCl : Acide chlorhydrique

HE : Huile essentielle

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %

M : Masse

m : Mètre

MeOH : Méthanol

mg : Milligramme

Min : Minute

ml : Millilitre

NaOH : Sodium hydroxide

Nm : Nanomètre

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

S : Seconde

UAE : Ultrasound assisted extraction

UFC : Unité Formant Colonie

µg : Microgramme

Ex : Extrait

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. Douze inflorescences de la famille des Astéracées.....	4
Figure I.2. Espèces courantes d'Astéracées.....	5
Figure I.3. Illustration de l'espèce <i>Hertia cheirifolia</i> L.....	7
Figure II.1. Matériel végétal <i>H. cheirifolia</i>	15
Figure II.2. Montage d'extraction de l'huile essentielle d' <i>H. cheirifolia</i> par entraînement à la vapeur d'eau.....	16
Figure II.3. Montage d'extraction par ultrason.....	17
Figure II.4. Montage d'évaporation des extraits organiques.....	17
Figure II.5. Recherche des alcaloïdes : (1) : Réactif de Wagner & Dragen dorff.(2) : Préparation du matériel végétal (5 g).....	18
Figure II.6. Recherche des alcaloïdes : (Extraction).....	19
Figure II.7. Recherche des tanins : (1) : Préparation de FeCl ₃ (2) : Préparation du matériel végétal (5 g).....	19
Figure II.8. Matière végétale infusée dans 50 ml d'eau distillée bouillante.....	20
Figure II.9. (1) : Filtration de l'extrait hydro alcoolique. (2) : Evaporation de l'extrait hydro alcoolique.....	21
Figure II.10. Recherche des flavonoïdes : macération de la matière végétale.....	23
Figure II.11. Recherche des quinones : macération de matière végétale.....	24
Figure II.12. Recherche des coumarines : Extraction & Filtration.....	25
Figure II.13. Illustration de produits utilisés.....	27
Figure II.14. Illustration des étapes de la préparation de milieu de culture.....	27
Figure II.15. Méthode de diffusion.....	28
Figure II.16. Incubateur.....	29
Figure II.17. Poudre de Sabouraud.....	30
Figure II.18. Levure <i>Candida albicans</i>	30
Figure II.19. Souches bactériennes utilisées.....	31
Figure II.20. Méthode de l'ensemencement.....	33
Figure III.1. Pourcentage de l'activité antiradicalaire des extraits MeOH et AcOEt des parties aériennes d' <i>H. cheirifolia</i> vis-à-vis du radical libre DPPH, classés selon l'ordre décroissant suivant (25 µg/mL) : vitamine C (96,00 %) >acétate d'éthyle (90,97 %) >MeOH (81,94 %)......	40

Figure III.2. Pourcentage de l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle d' <i>H. cheirifolia</i> du vis-à-vis du radical libre DPPH.....	41
Figure III.3. Zone d'inhibition de l'activité antifongique de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> (<i>Fol</i>).....	43
Figure III.4. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h d'incubation de champignon avec huile essentielle.....	44
Figure III.5. Effet inhibitrice des extraits méthanolique et chloroformique et huile essentielle d' <i>Hertia cheirifolia</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> (<i>Fol</i>).....	45
Figure III.6. Effet inhibitrice des extraits et huile essentielle d' <i>Hertia cheirifolia</i> sur <i>Candida albicans</i>	46
Figure III.7. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h d'incubation de la levure avec les extraits et huile et les solvants.....	46
Figure III.8. Effet inhibitrice des extraits et huile essentielle d' <i>Hertia cheirifolia</i> sur six souches bactériennes.....	48
Figure III.9. Zone d'inhibition (cm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec les extraits, huile et solvants.....	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1. Classification taxonomique de <i>Hertia cheirifolia</i> L.....	7
Tableau II.1 : Matériel et produits chimiques utilisés.....	14
Tableau III .1. Rendement de l'huile essentielle et des extraits bruts d' <i>H. cheirifolia</i>	36
Tableau III.2. Résultats du screening chimiques d'extraits <i>Hertia cheirifolia</i> L.....	37
Tableau III.3. IC ₅₀ des extraits MeOH et AcOEt d' <i>H. cheirifolia</i>	40
Tableau III.4. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h d'incubation de champignon avec les extraits.....	43
Tableau III.5. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h et 72 h d'incubation de champignon avec huile essentielle.....	44
Tableau III.6. Taux d'inhibition en (%) après d'incubation de champignon avec l'huile et les extraits.....	44
Tableau III.7. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h d'incubation de levure avec les extraits et huile et les solvants.....	46
Tableau III.8. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec les extraits, huile et solvants.....	47

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
Références bibliographiques.....	3

CHAPITRE I : Etude Bibliographique

I.1. Introduction.....	4
I.2. Présentation de la famille des Astéracées.....	4
I.2.1. Classification des Astéracées.....	5
I.2.2. Distribution géographique.....	5
I.3. Genre <i>Hertia</i>	5
I.3.1. Description générale.....	5
I.3.2. Travaux antérieurs.....	6
I.3.2.1. Composés phénoliques chez le genre <i>Hertia</i>	6
I.3.2.2. Activités pharmacologiques.....	6
I.4. Espèce <i>Hertia cheirifolia</i>	6
I.4.1. Classification de <i>Hertia cheirifolia</i>	7
I.4.2. Description générale.....	7
I.4.3. Distribution géographique.....	8
I.4.4. Usage traditionnel.....	8
I.4.5. Travaux antérieurs.....	8
I.4.5.1. Métabolites secondaires chez l'espèce <i>Hertia cheirifolia</i>	8
I.4.6. Propriétés biologiques et pharmacologiques.....	9
I.4.6.1. Activité anti-oxydante.....	9
I.4.6.2. Activité antibactérienne.....	9
I.4.6.3. Activité anti-inflammatoire.....	9
I.4.6.4. Activité anti-spasmodique.....	10
I.5. Conclusion.....	10
Références bibliographiques.....	11

CHAPITRE II : Matériel et Méthodes

II.1. Introduction.....	14
II.2. Matériel et produits chimiques.....	14
II.3. Etude phytochimique de l'espèce <i>Hertia cheirifolia</i>	15
II.3.1. Récolte du matériel végétal.....	15
II.3.2. Protocole d'extraction.....	15

II.3.2.1. Huile essentielle.....	15
II.3.2.2. Extraits organiques.....	15
II.3.3. Criblage phytochimique (Screening).....	17
II.3.3.1. Recherche des alcaloïdes.....	18
II.3.3.2. Recherche des substances poly phénoliques (Tanins).....	19
II.3.3.3. Recherche des saponines.....	20
II.3.3.4. Recherche des triterpènes, stérols et terpènes.....	21
II.3.3.5. Recherche des flavonoïdes et des leuco anthocyanes.....	22
II.3.3.6. Recherche des quinones.....	23
II.3.3.7. Recherche des coumarines.....	24
II.3.3.8. Recherche des anthocyanes.....	25
II.4. Activités biologiques.....	25
II.4.1. Activité anti-oxydante.....	25
II.4.2. Activité antifongique.....	26
II.4.2.1. Etude de l'effet des extraits et de l'huile essentielle d' <i>Hertia cheirifolia</i> sur un type de champignon phytopathogène.....	26
II.4.2.2. Etude de l'effet des extraits et de l'huile essentiel de la plante <i>Hertia cheirifolia</i> sur la levure <i>Candida albicans</i>	29
II.4.3. Activité antibactérienne.....	31
II.5. Conclusion.....	33
Références bibliographiques.....	34

CHAPITRE III : Résultats et Discussion

III.1. Introduction.....	36
III.2. Extraction	36
III.3. Screening phytochimique.....	36
III.4. Evaluation des activités biologiques.....	39
III.4.1. Activité anti-oxydante.....	39
III.4.2. Activité antifongique.....	42
III.4.2.1. Effet des extraits et de l'huile essentiel d' <i>Hertia cheirifolia</i> sur le champignon <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> (<i>Fol</i>).....	42
III.4.2.2. Effet des extraits et de l'huile essentiel de la plante <i>Hertia cheirifolia</i> sur levure <i>Candida albicans</i>	46
III.4.3. Activité antibactérienne.....	47

III.5. Conclusion.....	49
Références bibliographiques.....	50
Conclusion générale.....	51

INTRODUCTION
GENERALE

Introduction générale

Introduction générale

*D*epuis l'antiquité, quelques caractéristiques des principes actifs étaient connues pour l'homme et certaines épices ont été utilisées pour leurs particularités de parfum, leur saveur et leur effet de conservateur (Boulechfar, 2014).

*L*es substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi - synthèse (Bahorun, 1997).

*L*es plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur.

Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (Ouraini et al, 2007).

*L'*Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 85 000 espèces de plantes dont 15 % endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques (Balunas & Kinghorn., 2004).

*N*otre travail s'inscrit dans le cadre général des travaux visant la valorisation des ressources naturelles d'origine végétale de l'Est- algérien.

*U*ne plante locale qui appartient à la famille Asteraceae a retenu notre attention, il s'agit d'*Hertia cheirifolia* L. Cette espèce a été choisie en raison de sa prévalence dans la région de Batna et du manque de tant d'études à son sujet.

*N*otre travail a été divisé en trois chapitres : nous aborderons dans le premier chapitre une étude bibliographique, Ce chapitre comprend une description détaillée de la plante étudiée, sa famille, sa classification et ses propriétés pharmacologiques.

*L*e deuxième chapitre est consacré à l'étude expérimentale : il comprend le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur l'étude phytochimique de l'espèce sélectionnée

Introduction générale

et l'étude *in vitro* des activités biologiques (anti-oxydante et antibactérienne et antifongique) des extraits et l'huile essentielle de cette plante.

Dans le troisième chapitre nous présenterons les résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin nous finirons le tout par une conclusion générale qui clôturera la présentation de ce travail.

Introduction générale

Références bibliographiques

Bahorun T. (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, 83-94. AMAS, Université de Maurice.

Balunas M.J. and Kinghorn, A.D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci.* 78, 431-441.

Boulechfar S. (2014). La Valorisation des Substances Bioactives à Activités Pharmacologiques à partir de deux Asteraceae : *Aster squamatus* (Spreng.) *Hertia cheirifolia* (L.) O.K. Mémoire de magister. pp.1.

Ouraini D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Alaoui M.A., Belabbas M.A. (2007). Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Menthapulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques. *Phytothérapie*, Vol.1, pp. 6–14.

CHAPITRE I
Etude Bibliographique

I.1. Introduction

La famille des Astéracées est l'une des variétés végétales les plus répandues en Algérie et est connue pour ses usages médicaux et cosmétiques, elle a également une valeur nutritionnelle et est utilisée pour décorer les espaces verts, car elle représente le groupe dicotylédone le plus important et comprend plusieurs genres et espèces dans la terre algérienne, et c'est ce qui nous a fait mettre en avant l'un de ses espèces : *Hertia cheirifolia* L.

I.2. Présentation de la famille des Astéracées

Le nom Aster provient du mot latin "aster "qui signifie étoile, faisant allusion à la forme des capitules (Oren-Shamir et al, 2000).

La famille Asteraceae (Compositae) est la famille la plus vaste des plantes vasculaires dans le monde, avec 1600-1700 genres et 24000-30000 espèces. Les plantes de cette famille se distinguent par des fleurs qui sont regroupées en capitules (Moreira-Muñoz&Muñoz-Schick, 2007).



Figure.I.1. Douze inflorescences de la famille des Astéracées.

Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues (Bonnier, 1934).

Bien que généralement ce soit des plantes herbacées à feuilles isolées (Crete, 1965).

L'aspect de l'appareil végétatif est trop variable pour caractériser les Astéracées sur ce seul critère. En revanche, cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques : le capitule et le fruit est un akène généralement surmonté d'un pappus provenant du calice. Une propriété typique de la famille des Astéracées est sa richesse en composés naturels divers. On y trouve des terpenoïdes, des flavonoïdes, des lactones des sesquiterpéniques et des alcaloïdes (Harborne & Swain, 1969).

Généralement sans latex chardons, armoises camomilles, etc. (Grimaud, 2009).

I.2.1. Classification des Astéracées

On peut classer les Astéracées en deux grands groupes :

- *Astéracées à latex* : chicorées et plantes affines (pissenlit, salsifis, laitue).
- *Astéracées à résine et à essence* : généralement sans latex chardons, armoises camomilles ...etc. (Grimaud, 2009).

I.2.2. Distribution géographique

Les Astéracées (Asteraceae) est une famille cosmopolite avec une diversification plus importante au niveau des régions sèches, comme par exemple, dans le bassin méditerranéen, le sud de l'Afrique, le Mexique, l'Amérique du Nord, l'Amérique du Sud, l'Europe et Asie ainsi qu'au sud - ouest des Etats - Unis. En France. (Labrousse, 2018 ; Watson,1995 ; Heywood,1995).

❖ Espèces courantes d'Astéracées

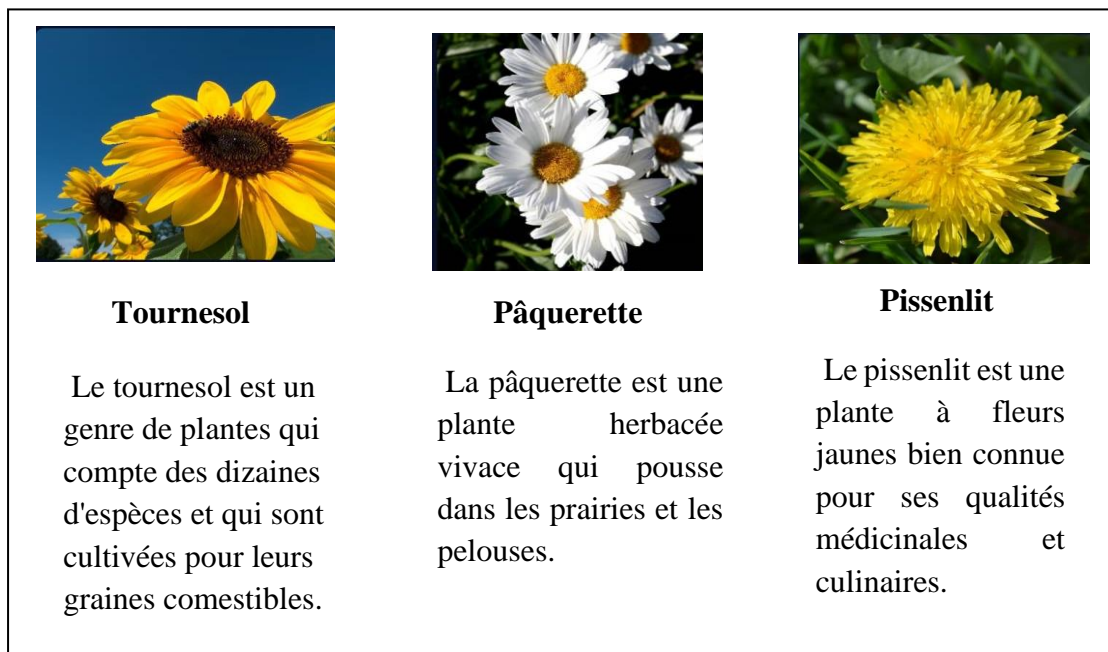


Figure I.2. Espèces courantes d'Astéracées.

I.3. Genre *Hertia*

I.3.1. Description générale

Le genre *Hertia* est un groupe de plantes herbacées appartenant à la famille des Astéracées (ou Composées). Ce genre comprend environ 12 espèces différentes, réparties principalement en Afrique australe et orientale, mais aussi dans certaines parties de l'Afrique du Nord et du Moyen-Orient. Les plantes du genre *Hertia* ont des feuilles souvent succulentes et des tiges

érigées ou rampantes. Les fleurs, qui apparaissent en été ou en automne, sont généralement de petite taille et de couleur jaune ou blanche. (Akhgar et al, 2012).

I.3.2. Travaux antérieurs

I.3.2.1. Composés phénoliques chez le genre *Hertia*

Peu d'études phytochimiques antérieures ont été effectuées sur les plantes du genre *Hertia* en raison de l'endémicité de ce genre et sa distribution géographique très restreinte.

Une étude phytochimique réalisé par (Jakupovic et al, 1989) sur l'extrait de la partie aérienne de la plante *Hertia pallens* a révélé la présence de germa crène D, Tremetone, acide Oleanolique et la cétone correspondante, les furoeremophilanes et deux eremophilanolides dont leurs structures ont été établies par la méthode d'analyse spectroscopique RMN.

Les travaux réalisés par (Afsharypuor et al., 2000) sur les huiles essentielles de la partie aérienne de la plante *H. angustifolia* ont permis l'identification des plusieurs constituants dont les principaux étaient β -pinène (51,5 %), β -phellandrène (16,5 %), α -pinène (13,9 %) et α -thujène (2,7 %).

L'étude en 2012 par Akhgar et al., des huiles essentielles extraites de la partie aérienne d'*Hertia intermedia* (Boiss.) O. Kuntze. A conduit par des analyses GC et GC-SM à l'identification de quarante composés dont les principaux constituants étaient β -pinène (32,8 %), α -pinène (22,7 %), α -thujène (10,9 %), et β -phellandrène (9,6 %), suivie par germacrène D (4,6 %). L'huile de *H. intermedia* est caractérisée par une forte teneur en monoterpènes (89,9 %), tandis que les sesquiterpènes et non-terpenoïdes ne représentent que 8,0 % et 0,5 % respectivement du total de l'huile.

I.3.2.2. Activités pharmacologiques

Plusieurs espèces du genre *Hertia* sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés pharmacologiques, citons en particulier : activité antimicrobienne (Merghache et al, 2014) ; activité anti-oxydante (Öztürk et al, 2007) et activité anti-inflammatoire (Kovaleva et al, 2008).

I.4. Espèce *Hertia cheirifolia* L.

Hertia cheirifolia est une plante de la famille des Astéracées, endémique en Algérie jusqu'à l'atlas saharien et en Tunisie en zone aride sur les talus. Communément appelé Othonne ou Othonnopsis à feuilles de giroflée, Hémérocalle en français, Barbary ragwort en anglais, Timerzou en berbère (Quezel et Santa, 1963).



Figure I.3. Illustration de l'espèce *Hertia cheirifolia* L.

I.4.1. Classification de *Hertia cheirifolia*

Ce classement se réfère à la classification botanique (Quezel et Santa, 1963) Tableau I.1:

Tableau I.1. Classification taxonomique de *Hertia cheirifolia* L.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Mtaagnoliophy
Superdivision	Spermatophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Hertia</i>
Espèce	<i>Hertia cheirifolia</i> L.

I.4.2. Description générale

Hertia cheirifolia L. (Nom vernaculaire Kherchoun en Arabe, Barbary ragwort en Anglais) (Gubb, 1913), connue également sous le nom d'*Othonopsis cheirifolia* (Massiot et al, 1990), est une petite plante à fleurs jaunes, qui pousse dans la bordure des champs dans l'Est de l'Algérie et le Nord et le centre de Tunisie (Massiot et al, 1990) (Ammar et al, 2009).

C'est une plante herbacée, très répandue sur les Hauts-plateaux (Gubb, 1913).

Cet arbrisseau persistant touffu bas et rampant, d'environ 20 à 30 cm de hauteur, porte des feuilles spatulées charnues gris-vert, de 8 cm de longueur, alternes, sessiles (Burnie et al, 2006 ; Benaïssa, 2003). Elle possède des tiges couchées à la base puis ascendante (Quezel & Santa, 1963).

Hertia cheirifolia L. se caractérise par des fleurs jaunes réunies en capitules jaunes citron, solitaires sur des pédoncules nus et élargis au sommet, assez gros (2 cm de diamètre) (Quezel & Santa, 1963).

I.4.3. Distribution géographique

Poussant dans les champs frontaliers de l'est algérien et dans la Tunisie (nord et le centre) (Massiot et al, 1990 ; Ammar et al, 2009 ; Battandier, 1921).

C'est une plante herbacée répandue dans les hautes terres (Gubb, 1913).

En ce qui concerne l'Algérie, *Hertia cheirifolia* L. est présente sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien (région centre-est du pays) dans les provinces de Djelfa (Djelfa), Ghardaïa (Mansoura/Hassi Fehal), Laghouat (Bordj Senoussi-Sidi Makhoulouf), Sétif (Rmada), Tébessa et Batna (Oued Taga et Timgad). Cette espèce pousse sur des substrats limono-argileux dans les pâturages, les terres incultes, les pentes pierreuses et les bords de routes, à 843–1398 m d'altitude.

I.4.4. Usage traditionnel

Hertia cheirifolia L. est utilisée en médecine traditionnelle algérienne et tunisienne comme anti-inflammatoire et antispasmodique (Iserin, 2001 ; Ammar et al, 2009).

Les infusâtes des feuilles de cette plante bouillie sont utilisés pour traiter les crampes, les douleurs à l'estomac et de l'intestin ainsi que certaines maladies gastro-intestinales telles que la dyspepsie, la diarrhée et pour traiter certaines infections, (Iserin, 2001)

I.4.5. Travaux antérieurs

I.4.5.1. Métabolites secondaires chez l'espèce *Hertia cheirifolia*

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés de *Hertia cheirifolia*. Peut être les plus importants sont les sesquiterpènes lactones. Les premiers tests effectués sur cette plante ont révélé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de leuco anthocyanes et de terpènes (Benaïssa, 2003).

La fraction chloroformique de l'extrait méthanol-eau des parties aériennes de *Hertia cheirifolia* a permis d'isoler six sesquiterpènes lactones de type érémosphénolides et leurs structures ont été établies par une combinaison de 1D et 2D ^1H et RMN ^{13}C (Massiot et al, 1990).

La fraction éthero-pétrolique a permis d'isoler six sesquiterpènes lactones, (Aclinou et al, 1991)

Une étude phytochimique effectuée sur l'extrait chloroformique de la partie aérienne de l'espèce *Hertia cheirifolia* a permis l'isolement de sesquiterpénoïdes Bakkenolide et deux stéroïdes : (3 b, 22 E) -Stigmasta-5,22-diène-3-ol (Stigmastérol) et stigmastérol-3b-glucoside. Les structures ont été identifiées par les différentes méthodes d'analyses spectroscopiques (^1H RMN, ^{13}C RMN) et la spectrométrie de masse (Ammar et al, 2009).

D'autres analyses par la chromatographie sur couche mince ont révélé la présence de la quercétine dans l'extrait méthanolique des feuilles de la plante (Bousselsela et al, 2012).

L'étude réalisée par Zellagui et al (2012 c), sur les huiles essentielles extraites des feuilles d'*Hertia cheirifolia* au stade végétatif (avant la floraison), a conduit par des analyses GC et GC-MS à l'identification de 36 composés dont les principaux constituants étaient Drimenin (67,5 %), 1,2-Di (2- pyridinyl) -1,2-ethanediol (11,2 %) et globulol (1,7 %) suivis par Cycloheptane, 4-méthylène-1-méthyle-2-(2-méthyle-1-propène-1-yl) -1-vinyl- (1,5 %). L'huile de *H. cheirifolia*.est caractérisée par une forte teneur en sesquiterpènes (80,6 %), tandis que les monoterpènes et non-terpénoïdes ne représentent que 0,3 % et 18,4 % respectivement du total de l'huile.

I.4.6. Propriétés biologiques et pharmacologiques

I.4.6.1. Activité anti-oxydante

Le pouvoir antioxydant des différents extraits (méthanolique, éther de pétrole, dichlorométhane, extrait aqueux) des feuilles d'*Hertia cheirifolia* a été évalué par le test de blanchissement β -carotène et le test au DPPH (Bousselsela et al, 2012).

Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique était parmi les extraits qui ont une activité importante et qu'il a montré une activité anti-oxydante plus élevée (72,97 %) que celle évaluée par la méthode de DPPH (72,74 %) (Bousselsela et al, 2012).

I.4.6.2 Activité antibactérienne

(Bousselsela et al, 2012) ont rapporté que les différents extraits (méthanolique, éther de pétrole, dichlorométhane, extrait aqueux) des feuilles de la plante *Hertia cheirifolia* ne possèdent aucune activité antibactérienne contre la majorité des bactéries testées.

I.4.6.3. Activité anti-inflammatoire

L'étude de l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts de la plante *Hertia cheirifolia* L. et des composés stéroïdes isolés à partir de cette plante (stigmastérol et stigmastérol 3 β -glucoside), a été réalisée en provoquant l'œdème par le carraghénane, (substance inflammatoire injecté au niveau de la jambe gauche du rat). (Ammar et al, 2009).

Les extraits méthanolique et acétate d'éthyle ont des pourcentages d'inhibition de l'œdème, respectivement de 64,1 et 57,3 %. A la dose de 100 mg / kg, l'extrait chloroformique est plus actif que les précédents (74,3 %) et a même une activité plus importante que celle de la dexaméthasone. Le fractionnement de l'extrait chloroforme ayant une activité anti-inflammatoire intéressante a permis d'isoler cinq substances dont 3 en état pure (Ammar et al., 2009).

I.4.6.4. Activité anti-spasmodique

Les études menées par (Ammar et al, 2009), ont montrées que les extraits méthanolique, acétate d'éthyle et chloroformique obtenus à partir de la partie aérienne (feuilles et tiges) de *Hertia cheirifolia* possèdent un effet antispasmodique surtout avec l'extrait chloroformique.

I.5. Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a toujours été la première source d'inspiration de la recherche biomédicale, elle n'est pas moins importante que la chimiothérapie, et cela est dû au fait que les plantes médicinales sont une source inépuisable et renouvelable de substances naturelles et de composés riches en éléments actifs, qui jouent un rôle important dans l'enrichissement de la recherche de meilleurs médicaments. Grâce à un traitement doux et sans effets secondaires.

Dans le présent travail, nous avons mis en évidence les effets biologiques antioxydants, antibactériens et antifongiques de différents extraits et l'huile essentielle de l'espèce *Hertia cheirifolia* L.

Références bibliographiques

Aclinou P., Benkouider A., Massiot G., Le Men-Olivier L. (1991). Eremophilenolides from *Hertia cheirifolia*. *Phytochemistry*. Vol. 30, N° 6, pp. 2083-2084.

Afsharypuor S., Mosaffa-Jahromy M., Rahiminezhad M.R. (2000). Investigation of the volatil oil of *Hertia angustifolia* (DC.) O. Kuntze. *DARU*, Vol. 8, pp.7-8.

Akhgar M.R., Ghazanfari D., Shariatifar M. (2012). Chemical composition of the essential oil of *Hertia intermedia* (Boiss.) O. Kuntze from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. Vol. 15, N° 3, pp.360 – 363.

Akhgar MR. Shariatif M. Akhgar AR. Moradalizadeh M. Faghihi-Zarandi A. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of the leaf essential oil from *Hertia intermedia*. *Chemnat Compd*: 48: 329-33.

Ammar S., Edziri H., Mahjoub M.A., Chatter R., Bouraoui A., Mighri Z. (2009). Spasmolytic and anti – inflammatory effects of constituents from *Hertia cheirifolia*. *Phytomedicine*, Vol. 16, pp .1156-1161.

Battandier J. A. (1921). Exploration botanique dans la Haute Moulouya. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord* 12 : 6–11. 3.

Chatelain, C., Medjahdi, B. & Benhouhou, S. (Eds.) (2018). *Flora du Maghreb 2*. Retrieved 11 February, 2021, from <https://www.ville-ge.ch/cjb/flore/html/QSv2-ASTERACEAE.htm#Hertia> (01/05/2023)

<https://collectaneabotanica.revistas.csic.es/index.php/collectaneabotanica/article/download/307/464?inline=1> (01/05/2023) .

Benaissa O. (2003). Etude du métabolisme flavonique de l'espèce *Hertia cheirifolia* (compositae). Mémoire de Magistère. Université de Constantine.

Bousselsela H., Benhouda A., Yahia M., Benbia S., Ghecham A., Zidani A. (2012). *In vitro* evaluation of antioxidant and antibacterial activities of extracts of *Hertia cheirifolia*'s leaves. *Natural Science*, Vol.4, No.11, 825-831.

Burnie G., Forresster S., Greig D., Guest S., Harmony M., Hobley S., Jackson G. Lavarack P., Ledgett M., McDonald R., Macoboy S., Molyneux B., MoodieD., Moore J., Newman D., North T., Pienaar K., Purdy G, Ryan S., Schien G., Silk J. (2006). *Botanica*, Encyclopédie de botanique et d'horticulture. Editions place des victoires, Paris. PP.120, 626.

Crete P. (1965). *Précis de botanique*. Masson, Paris, édition 2, pp. 429.

Grimaud F. (2009). Les Astéracées du Ladakh dans la médecine tibétaine. *Phytotherapie*,7 (5) : 255-261. <https://doi.org/10.1007/s10298-009-0406-7>.

Gubb A. S. (1913). *La flore Algérienne naturelle et Acquisée*. Imprimerie Adolphe Jourdan, place du gouvernement, Alger.

Harborne J.B, Swain.T. (1969). *Perspectives in Phytochemistry*, Academic Press, London, New York.

Heywood V.H. (1995). *Évaluation mondiale de la biodiversité*.

Iserin P. (2001). *En cyclopedie des plantes medicinales*. Paris- France: Larousse Bordas, 14.

Jakupovic J., Bohlmann F., Grenz M. (1989). Furoeremophilanes from *Hertia pallens*. *Phytochemistry*.Vol .28, N°11, pp. 3231-3232.

Kovaleva N.V.et al. (2008). *Activité anti-inflammatoire de Hertia angustifolia*, *Pharmaceutical Chemistry Journal*.

Labrousse P. (2018). *Les Astéracées : Description Botanique, Biologique Ex Etude De Plantes Médicinales Et Toxiques*. Thèse Pour Le Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie. Faculté De Pharmacie : Université De Limoges.

Massiot G., Nuzillard J.M. Le Men - Olivier L., Aclinou P., Benkouider A., Khelifa A. (1990). Eremophilenolides from *Hertia cheirifolia*. *Phytochemistry*, Vol.29, N° 7, pp. 2207-2210.

Merghache S. et al. (2014). *Activité antimicrobienne in vitro de plantes médicinales sélectionnées de la flore algérienne*, *Journal of Medicinal Plants Research*.

Moreira-Muñoz A. & Muñoz-Schick M. (2007). Classification, diversity, and distribution of Chilean Asteraceae: implications for biogeography and conservation. *Diversity and Distributions*, Vol. 13, pp.818–828.

Oren-Shamir M., Shaked-Sachray L., Nissim-Levi A., Weiss D. (2000). Effect of growth temperature on Aster flower development. *Hortscience*, Vol. 35, N°1, pp.28–29.

Öztürk A. et al. (2007). Activité anti-oxydante et contenu phénolique de *Hertia radicans*, *Food Chemistry*.

Quezel P, Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS Ed, Paris, Vol.2, pp 566-925-956-957-1170.

Watson RT (Eds.). (1995). Évaluation mondiale de la biodiversité.

Zellagui A., Gherraf N. & Lahouel M. (2012 c). Drimenin-rich essential oils from *Hertia cheirifolia* growing in Algeria. *Journal of New Technology and Materials*, Vol. 02, N°01, pp. 38-40.

CHAPITRE II

Matériel et Méthodes

II.1. Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques comptent parmi les ressources les plus importantes en principes actifs utilisés en médecine traditionnelle.

Les extraits bruts et l'huile essentielle des parties aériennes de l'espèce *H. cheirifolia* vont être notre objectif dans cette études phytochimique et biologique

Dans ce chapitre, nous présenterons les différentes méthodes et matériaux utilisés pour préparer le matériel végétal, ainsi que la méthodologie des plans expérimentaux approuvés pour son étude.

II.2. Matériel et produits chimiques

Le matériel ainsi que les différents produits chimiques utilisés pour réaliser le présent travail sont décrits dans le (Tableau II.1).

Tableau II.1 : Matériel et produits chimiques utilisés.

Matériel	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> • Serpentin de refroidissement. • Ultrason • Evaporateur rotatif • Sonicateur • Balance • Micropipette • Lampe à flamme • Erlenmeyer • Tube à essai • Boîte de Petri • Etuve • Autoclave • Agitateur magnétique • Flacon • Entonnoir • Cylindre gradué • Incubateur 	<ul style="list-style-type: none"> • Acide sulfurique • Réactif de Dragen dorffd / Wagner • FeCl₃ • Acétate d'éthyle • Méthanol • Éther di-éthylique • Chloroforme • Anhydre d'acétique • Acétate de sodium • NaOH • HCl • Coupeaux de magnésium. • Éther de pétrole • Ammoniaque • AGAR • Sabouraud Dextrose Agar

II.3. Etude phytochimique de l'espèce *Hertia cheirifolia*

II.3.1. Récolte du matériel végétal

H. cheirifolia a été récoltée de la région de la wilaya de Batna (Est algérien), en mars 2023 et authentifiée par le professeur Mohamed Kaabache (département de botanique, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie).

Les parties aériennes (feuilles et fleurs) ont été séchées dans un endroit sec et à l'abri de la lumière du soleil et d'humidité ensuite broyées et pesées, et on obtient finalement (985 g).



Figure II.1. Matériel végétal *H. cheirifolia*.

II.3.2. Protocol d'extraction

II.3.2.1. Huile essentielle

Les parties aériennes de *H. cheirifolia* (feuilles et fleurs), 520 g) ont été soumises à une distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Figure II.2). Le principe consiste à faire passer les vapeurs d'eau à travers la plante à une température de 100 °C pour détruire les cellules végétales, afin de libérer ainsi les molécules aromatiques et les entraîner dans un serpentin de refroidissement. Les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide formant un mélange azéotropique (eau + huile essentielle). Cette opération a été effectuée en trois heures de temps. L'huile essentielle et l'eau florale ont été séparées par simple différence de densité.

Finalement, on a obtenu (m=0,502 g) de l'huile essentielle de l'espèce *H. cheirifolia*.

II.3.2.2. Extraits organiques

L'extraction par ultrasons est la technique privilégiée pour isoler les composés bioactifs des plantes. La sonication permet d'obtenir une extraction complète et donc des rendements d'extraction supérieurs dans un temps d'extraction très court. Étant une méthode d'extraction si

efficace, l'extraction par ultrasons permet de gagner du temps et de l'argent, tout en produisant des extraits de haute qualité, qui sont utilisés pour les aliments, les compléments et les produits pharmaceutiques.

Les parties aériennes de *H. cheirifolia* (feuilles et fleurs), 400 g ont été soumises à une extraction par ultrasons. Des extractions successives avec des solvants organiques (100 ml) de polarité croissante (hexane, chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol) sont réalisées sur les broyats d'écorces de *H. cheirifolia*.

L'extraction assistée par ultrasons (UAE) a été réalisée dans un sonicateur. Les paramètres d'extraction ont été définis comme suit : temps 45 min, amplitude 70 %, température 25 °C, temps de marche 15 s et temps d'arrêt 5 s.

100 g de la plante coupée en très petits morceaux ont été mélangés avec 300 ml de solvant organique puis une sonde à ultrasons a été immergée dans le récipient (Figure II.3).

Après 45 min de macération sous les effets mécaniques de la cavitation induite par l'ultrason, tels que la chaleur, la pression, les ondes de choc, la solution obtenue a été filtrée sur papier Wattman. La matière végétale restante a été récupérée et l'opération a été renouvelée deux fois afin de réaliser deux épuisements pour chaque solvant que nous avons gardé séparément.

Les solvants sont éliminés au moyen d'un évaporateur rotatif (Figure II.4). Après évaporation, les extraits obtenus sont stockés à 4 °C et à l'abri de la lumière. Avec les masses suivantes
Extrait d'hexane (0,72 g), extrait de CHCl₃ (2,84 g) ; extrait d'AcOEt (3,68 g) ; extrait de MeOH (5,37 g).



Figure II.2: Montage d'extraction de l'huile essentielle d'*H. cheirifolia* par entraînement à la vapeur d'eau.



Figure II.3: Montage d'extraction par ultrason.



Figure II.4: Montage d'évaporation des extraits organiques.

II.3.3. Criblage phytochimique (Screening)

Cette étude a été effectuée au niveau de l'Unité de Recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL), Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Le screening d'une plante sert à caractériser les groupes chimiques contenus dans cette plante afin d'expliquer ces effets thérapeutiques (Guessan et al, 2009).

Nous avons entrepris un screening phytochimique de l'espèce *H. cheirifolia* afin de connaître ses principaux constituants et ainsi mieux comprendre les propriétés biologiques de ses extraits. Le screening a été fait sur les feuilles et les fleurs de la plante et avec divers réactifs, les résultats sont classés selon :

- Fortement présent : (++)
- Moyennement présent : (+)

- Absent totale : (-)

II.3.3.1. Recherche des alcaloïdes

❖ Produits utilisés

- ✓ Petits morceaux végétale.....5 g.
- ✓ Acide sulfurique dilué à 10 %.....25 ml.
- ✓ Réactif de Dragen dorff.....quelques gouttes.
- ✓ Réactif de Wagner.....quelques gouttes.



(1)

(2)

Figure II.5. Recherche des alcaloïdes:(1) : Réactif de Wagner & Dragen dorff.

(2) : Préparation du matériel végétal (5 g).

❖ Solution à analyser : Nous avons :

- ✓ Dissout 5 g de poudre végétal dans 25 ml d'acide sulfurique dilué à 10 % dans un Erlenmeyer.
- ✓ Laisse macérer pendant 24 heures.
- ✓ Filtré et lavé à l'eau distillée de manière à obtenir 25 ml du filtrat.
- ✓ Introduit 1 ml du filtrat dans un tube à essai.
- ✓ Ajouté 3 gouttes du réactif de Dragen Dorff et de la réactif Wargan. (Hladik, 2000).

❖ Caractérisation

Réaction de précipitation :

L'apparition d'un précipité indique la présence d'alcaloïdes.

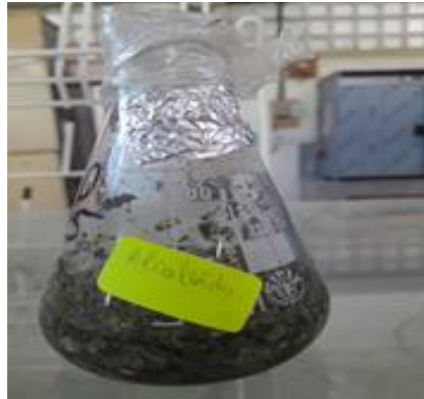


Figure II.6. Recherche des alcaloïdes : (Extraction).

II.3.3.2. Recherche des substances poly phénoliques (tanins)

❖ Produits utilisés

- ✓ Matière végétale..... 5 g.
- ✓ FeCl_3 (1 %)quelques gouttes.
- ✓ Acétate de sodium..... suffisamment pour saturation.
- ✓ Eau distillé.....50 ml.

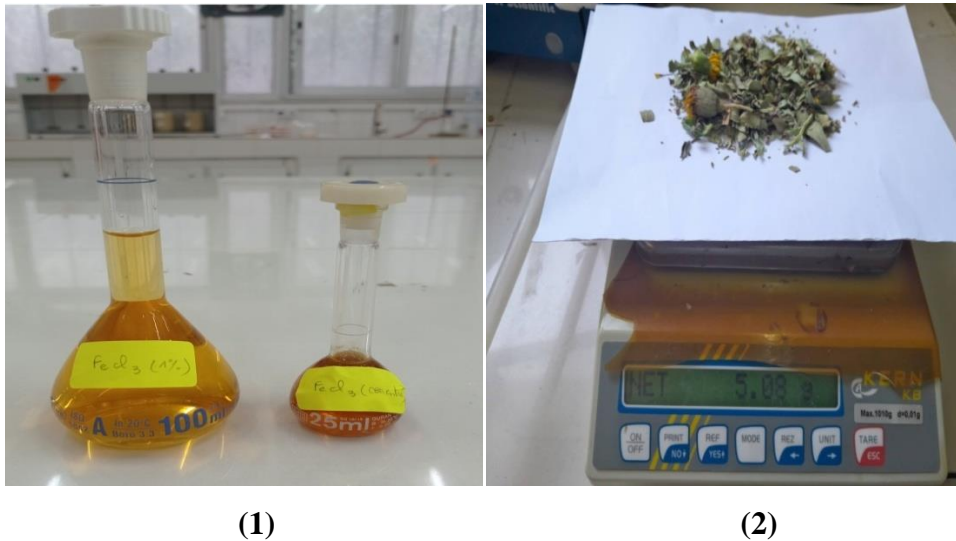


Figure II.7. Recherche des tanins. (1) : Préparation de FeCl_3 (2) : Préparation du matériel végétal (5 g).

❖ Solution à analyser

5 g de matière végétale sont infusés dans 50 ml d'eau distillée bouillante pendant 30 minutes.



Figure II.8. Matière végétale infusée dans 50 ml d'eau distillée bouillante.

❖ **Tanins catéchiques**

2 ml de l'infusé sont prélevés et mis dans un tube à essai dans lequel on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à (1 %).

❖ **Caractérisation**

L'apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité indique la présence des tanins catéchiques. (Kongo-Nzuzi, 2009).

❖ **Tanins galliques**

2 ml de l'infusé précédent sont prélevés est mis dans un tube à essai, saturé en acétate de sodium puis on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à (1 %).

❖ **Caractérisation**

La formation d'un précipité indique la présence des tanins galliques (Mibindzou, 2004).

II.3.3.3. Recherche des saponines

❖ **Produits utilisés :**

- ✓ Matière végétale..... 5 g.
- ✓ Eau distillée.

❖ **Solution à analyser :** Nous avons :

- Mis dans un Erlenmeyer une quantité de l'infusé utilisé dans la recherche des flavonoïdes.
- Agité pendant quelques minutes.

❖ **Caractérisation**

L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponines (Lokadi, 2008).

II.3.3.4. Recherche des triterpènes, stérols et terpènes**❖ Produits utilisés**

- ✓ Poudre végétale.....5 g.
- ✓ Solution de méthanol/eau (v/v 80 :20).
- ✓ Méthanol.....50 ml.
- ✓ Éther di éthylique.....20 ml.
- ✓ Chloroforme.
- ✓ Anhydride d'acétique.
- ✓ Acide sulfurique concentré.

❖ Solution à analyser : nous avons :

- Laisser macérer 5 g de matière végétale dans 50 ml de Solution de méthanol/eau (v/v 80 : 20) pendant 24 heures et filtré.
- Évaporé l'extrait hydro alcoolique à sec.
- Ajouté 20 ml de l'éther di éthylique après refroidissement afin de dissoudre les composés apolaires.



(1)

(2)

Figure II.9. (1) : Filtration de l'extrait hydro alcoolique.**(2) : Évaporation de l'extrait hydro alcoolique.****❖ Identification des terpènes et stérols**

La phase étherée obtenue est évaporée à sec, puis reprise par 15 ml de chloroforme. la solution ainsi obtenue est divisés en 3 parties :

- ✓ La première partie : laissée comme témoin.

- ✓ La deuxième partie : à cette solution on a rajouté 3 ml d'anhydre acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique concentré.

❖ **Caractérisation**

Un changement de couleur rapide est en faveur de la présence de composés stéroïdiens saturés, cette couleur devenue vert foncé montre la présence des terpènes.

- ✓ La troisième partie : à cette partie on a ajouté quelques gouttes d'acide sulfurique.

❖ **Caractérisation**

L'apparition d'une couleur rouge cerise montre la présence des stérols insaturés. (Bekro, 2007).

❖ **Identification des triterpènes**

Un volume de 10 ml d'extrait hydro alcoolique est évaporé à sec, le résidu obtenu est dissous dans 0,5 ml d'anhydre acétique et 0,5 ml de chloroforme, la solution ainsi obtenue est transférée dans un tube sec avec une pipette pasteur on rajoute (1-2 ml) d'acide sulfurique concentré au fond du tube.

❖ **Caractérisation**

Au contact des deux phases organiques la formation d'un anneau marron montre la présence des triterpènes. (Mibindzou, 2004).

II.3.3.5. Recherche des flavonoïdes et des leuco anthocyanes

❖ **Produits utilisés**

- ✓ Matière végétale..... 5 g.
- ✓ Eau distillée.
- ✓ NaOH (1 N).
- ✓ HCl concentré.
- ✓ Coupeaux de magnésium.

❖ **Solution à analyser**

- 5 g de matière végétale ont été infusés dans 50 ml d'eau distillée pendant quelques minutes.
- Après filtration on introduit 6 ml du filtrat dans 3 tubes chacun contient 2 ml on ajoute dans :
 - 1^{er} tube : 1 ml de NaOH.
 - 2^{ème} tube : 1 ml d'eau distillée.

- 3^{ème} tube : 1 ml de HCl concentré et des copeaux de magnésium.

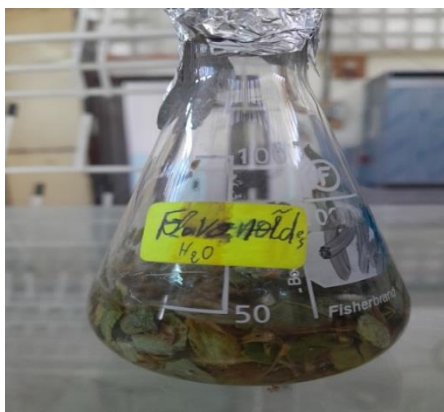


Figure.II.10. Recherche des flavonoïdes : macération de la matière végétale.

❖ **Caractérisation :**

En présence des flavonoïdes les colorations suivantes : rouge, jaune-rougeâtre, rouge à rouge violacé, rouge foncé ou violet ou bleu, jaune et rose peuvent être observées.

La coloration rouge au 3^{ème} tube confirme la présence des leuco anthocyanes (Bouquet, 1972).

II.3.3.6. Recherche des quinones

❖ **Produits utilisés**

- ✓ Matière végétale.....5 g.
- ✓ HCl.....quelques gouttes.
- ✓ Éther de pétrole.....10 ml.
- ✓ NaOH 10 %2 ml.

❖ **Solution à analyser :** Nous avons :

- Humecté 5 g de matière végétal par quelques gouttes de HCl.
- Mit cette matière en macération dans un Erlenmeyer contenant 10 ml d'éther de pétrole pendant 24 heures.
- Filtré et pris 2 ml du filtrat dans un tube à essai.
- Ajouté 2 ml de NaOH 10 % au filtrat.

❖ **Caractérisation :**

La coloration rouge –violet indique la présence des quinones. (Najjaa et al, 2011).

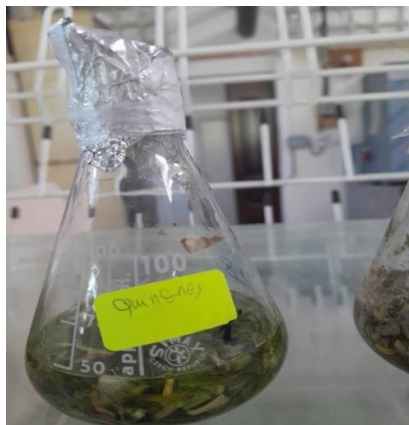


Figure II.11. Recherche des quinones : macération de matière végétale.

II.3.3.7. Recherche des coumarines

❖ Produits utilisés

- ✓ Poudre végétale.....1 g.
- ✓ Éther di éthylique.....20 ml.
- ✓ Ammoniaque à 25 %.
- ✓ Eau distillée..... 2 ml.

❖ Solution à analyser : Nous avons :

- Mis 1 g de poudre végétale dans un Erlenmeyer.
- Ajouté 20 ml de l'éther di éthylique à la poudre avec agitation.
- Laisse macérer pendant 24 heures.
- Filtré et complété le filtrat jusqu'à 20 ml.
- Evaporé l'extrait étheré à l'air libre jusqu'à 5 ml.
- Repris avec 2 ml de l'eau chaude.
- Partagé la solution entre deux tubes à essai.
- Ajouté au contenu de l'un des tubes de l'ammoniaque à 25 %.
- Mélangé et observé la fluorescence sous UV à 366 nm.

❖ Caractérisation :

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines. (Koudougou, 2000).



Figure.II.12. Recherche des coumarines : Extraction & Filtration.

II.3.3.8. Recherche des anthocyanes

❖ Produits utilisés

- ✓ Matière végétale..... 5 g.
- ✓ Ammoniaque à 10 %.....5 ml.
- ✓ Acide sulfurique dilué à 10 %...5 ml.
- ✓ Eau distillée.

❖ Solution à analyser

- Laissé 5 g de matière végétale dans 50 ml d'eau distillée bouillante pendant 15 mn.
- Filtré et complété avec l'eau jusqu'à 50 ml.
- Pris et y ajouté 5 ml d'acide sulfurique dilué à 10 % et 5 ml d'ammoniaque à 10 %.

❖ Caractérisation :

La coloration bleu-violacée indique La présence d'anthocyanes. (Dohou et al, 2003).

II.4. Activités biologiques

II.4.1. Activité anti-oxydante

❖ Test de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti radicalaires, il est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon. Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des

antioxydants à piéger ce radical. Le pourcentage de piégeage du radical (I %) est calculé selon l'équation suivante : $I \% = [(A1 - A2) / A1] \times 100$.

Où :

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait.

L'effet des extraits et l'huile sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Braca. Un volume de différentes concentrations de chaque échantillon est ajouté à 3 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,004 %) fraîchement préparée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc (méthanol). (Braca et al, 2001).

❖ Calcul des concentrations inhibitrice à 50 % « IC₅₀ »

L'IC₅₀ (inhibitory concentration 50 %) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait et le standard (Vitamine C).

II.4.2. Activité antifongique

II.4.2.1. Etude de l'effet des extraits et de l'huile essentiel d'*Hertia cheirifolia* sur un type de champignon phytopathogène

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire du centre de recherche biotechnologique CRBT de Constantine.

Un type de champignon phytopathogène à savoir : *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Fol), souche 4287. a été testé pour la fongitoxicité en évaluant l'inhibition de la croissance mycélienne des agents phytopathogènes :

- **Milieux de culture**

Le milieu PDA (potato, Dextrose, Agar) a été choisi comme milieu de culture.

❖ Produits utilisés

- ✓ Morceaux de pommes de terre épluchées.....220 g.

- ✓ Glucose.....22 g.
- ✓ AGAR.....16,5 g.
- ✓ Eau distillée.

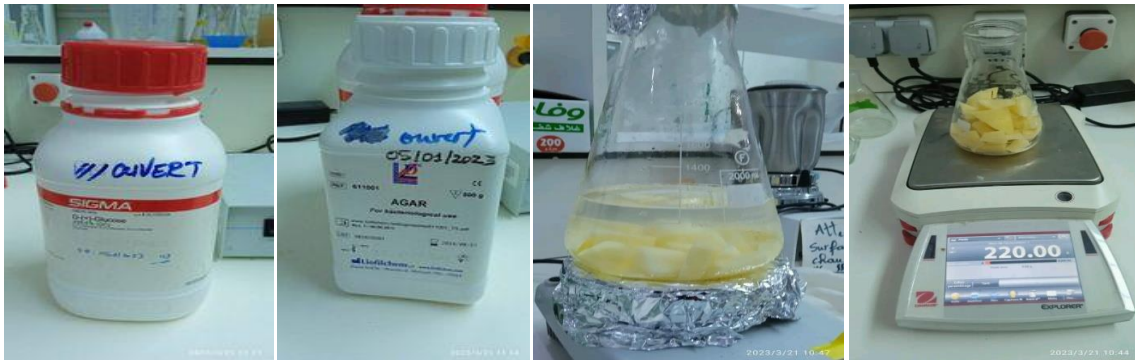


Figure II.13. Illustration de produits utilisés.

❖ Préparation du milieu (PDA)

- 220 g de pommes de terre ont été infusés dans 900 ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pendant 40 minutes.
- Le mélange a été filtré dans un cylindre gradué.
- Une quantité d'eau distillée a été ajoutée jusqu'à atteindre un volume de 1100 ml.
- Après l'addition du glucose et l'agar, l'erlenmeyer a été déposé sur l'agitateur avec chauffage jusqu'à ce que le mélange devienne homogène.
- Le mélange a été réparti dans 10 béchers de 100 ml chacun.
- Les milieux de culture ont été stérilisés pendant deux heures et demie.



Figure II.14. Illustration des étapes de la préparation de milieu de culture.

- **Dilution des extraits**

Les extraits ont été repris avec les solvants (chloroforme, méthanol), une série avec des volumes de l'ordre de 0,75 ml > 0,5 ml > 0 ml pour chaque extrait.

La dilution a été faite en ajoutant le solvant à chaque volume d'extrait jusqu'à obtenir 1 ml.

- ❖ **Méthode de diffusion en milieu PDA**

Un disque de 5 mm de diamètre est prélevé sur une jeune culture fongique et est déposé aseptiquement au centre de la boîte de pétri contenant le milieu PDA et l'échantillon à tester.

L'expérience a été répétée quatre fois pour chacun d'eux, puis le phytopathogène a été mesuré à l'échelle centimétrique.

1 ml pour chacun de méthanol et chloroforme a été ajouté à 100 ml de milieu PDA, et a été considéré comme un contrôle positif. Le contrôle négatif contient le milieu PDA sans aucun autre produit.



Figure II.15. Méthode de diffusion.

- ❖ **Expression des résultats**

L'activité inhibitrice des différents échantillons (huile & extraits) sur la croissance du champignon a été déterminée en mesurant sa croissance radiale sur un milieu PDA (Potato, Dextrose, Agar).

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance fongique pour chaque produit, et il a été calculé selon la formule :

$$I = (C - T / C) \times 100 \text{ (Dennis et al, 1971).}$$

Où :

I = taux d'inhibition en %

C = croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA avec DMSO (témoin).

T = la croissance radiale, en mm, de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant le complexe à tester.

Pour identifier la concentration inhibitrice la plus faible, le test a été répété avec 2,5 mg/ml ; 1,25 mg/ml ; 0,625 mg/ml et 0,312 mg/ml de solvant au lieu de 5 mg/ml de solvant.

Si le même résultat a été obtenu, cela signifie que la concentration seuil d'efficacité peut être inférieur



Figure II.16. Incubateur.

II.4.2.2. Etude de l'effet des extraits et de l'huile essentiel de la plante *Hertia cheirifolia* sur la levure *Candida albicans*

Ce test a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de la Faculté SNV, Université 20 Août 1955 de Skikda.

❖ Milieu de culture

Nous avons utilisé comme milieux de culture le milieu Sabouraud Dextrose Agar.

❖ Produit utilisé

- ✓ Poudre de Sabouraud Dextrose Agar16,25 g.
- ✓ Eau distillée.



Figure II.17. Poudre de Sabouraud.

❖ **Solution à analyser**

- Ajouté la poudre de sabouraud à l'eau distillée et on met sur l'agitateur à chaud jusqu'à ce qu'elle devienne homogène.
- **Méthode de diffusion dans le milieu sabouraud**

❖ **Principe**

Le milieu de culture a été mis dans une boîte de pétri, et laisser jusqu'à ce qu'il refroidisse, puis des couches fines et égales de levure *Candida albicans* ont été distribuées, où ce processus a été déroulé à côté de la flamme pour la stérilisation.

Ensuite, la boîte de pétri a été divisée en quatre parties, chaque partie étant dédiée à chaque élément étudié, puis les disques stériles de papier Wattman N°3 ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de sabouraud, et à l'aide d'une micropipette on a déposé sur chaque disque quelques gouttes de l'huile essentielle, les extraits et les solvants :

Extrait méthanolique, extrait d'acétate d'éthyle et extrait chloroformique.

Enfin, la boîte a été incubée pendant 48 h à 30 °C.



Figure II.18. Levure *Candida albicans*.

❖ Expression des résultats

Les résultats ont été déterminés en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différents extraits, l'huile essentielle et les différents solvants autour des disques (Chu et al, 1993).

II.4.3. Activité antibactérienne

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de la Faculté SNV, Université 20 août 1955 de Skikda.

L'activité antibactérienne des extraits bruts a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

❖ Souches bactériennes

Six souches bactériennes ont été choisies pour leur pathogénicité et leur implication fréquente dans plusieurs infections et sont : *Escherichia coli* ATCC43300, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus* ATCC7002, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Enterobacter* ATCC13048, *Streptocoque* ATCC49619.



Figure II.19. Souches bactériennes utilisées.

❖ Milieux de culture

Les milieux de culture qui ont été utilisés sont :

Gélose nutritive et Bouillon nutritif.

❖ Produit utilisé

- ✓ Poudre de Gélose nutritive.....7 g.
- ✓ Poudre de Bouillon nutritif.....4 g.
- ✓ Eau distillée.

❖ Protocole expérimental

- La poudre de gélose nutritive a été mélangée avec de l'eau distillée , puis elle a été mise sur un agitateur avec chauffage jusqu'à ce qu'elle devienne homogène (on remarque lorsqu'on pose une goutte sur une surface froide qu'elle gèle).
- La poudre de bouillon nutritif a été mélangée avec de l'eau distillée, après elle a été mise sur un agitateur avec chauffage jusqu'à ce qu'elle devienne homogène.
- Les solutions ont été mises dans des flacons en verre après dans l'autoclave pendant deux heures et demie.

❖ Méthode de diffusion en milieu gélosé**❖ Principe****Préparation de l'inoculum bactérien**

Chaque souche a étéensemencée en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies isolées. Après incubation de 24 heures à 37 °C, 4 à 5 colonies bien isolées ont été choisies et atransféré à l'aide d'une anse de platine dans un tube de solution d'eau physiologique afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0,5 (106 UFC/ml). Cette comparaison a été mesurée à l'aide d'un étalon Mc Farland.

Ensemencement

Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, un écouvillon a été trempé dans la suspension, la surface entière de le bouillon nutritif a été étalée à trois reprises, la boîte a été tournée à environ 60° après chaque application afin d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

Les boîtes de pétri ont été divisés en quatre parties, chaque partie étant dédiée à chaque élément étudié, puis les disques stériles de papier Wattman N° 3 ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose puis à l'aide d'une micropipette, un volume de 20 µl de

chaque échantillons (huile essentielle, extrait méthanolique, extrait d'acétate d'éthyle, extrait de chloroforme) a été déposé sur chaque disque.

Enfin, les boites ont été incubées pendant 24 h à 37 °C.



Figure II.20. Méthode de l'ensemencement.

❖ Expression des résultats

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition déterminé par les différents extraits et huile et des différents solvants autour des disques.

II.5. Conclusion

Les activités biologiques représentent un vaste domaine qui comprend de nombreux aspects de la vie quotidienne, que ce soit dans le domaine médical, agricole, industriel ou autre. Elles représentent une source importante d'innovation et de progrès dans de nombreux domaines et nécessitent une large coopération entre les scientifiques, l'industrie et les gouvernements pour tirer le meilleur parti de ces technologies afin d'améliorer nos vies et de résoudre nos problèmes.

Références bibliographiques

- Bekro Y. A.** (2007). Mamyrbekova Bekro J. A., Boua B. B. ,T rabi, F. H., Éhilé E. E. ; Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpiniaceae) ; Sciences & Nature ; V4 ; No2 : 220.
- Bouquet A.** (1972). Plantes médicinales de Congo Brazzaville ; Travaux et document O.R.S.T.O.M paris ; N°13 : p.9.
- Chu W.S., Magee B.B and Magee P.T.** (1993). Construction of an SfiI macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. J. Bacteriol, 175: 6637-6651.
- Dellaras C.** (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et Documentation. Lavoisier, Paris. 654 p.
- Dennis C et Webstert J.** (1971). Propriétés antagonistes des groupes d'espèces de *Trichoderma* III. Interactionhyphale. Trans. Br, mycol, Soc .57 (3) : 363-369.
- Dohou N., YaminiK., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N.** (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *thymelaealythroïdes* ; Bull. Soc. Pharm. Bordeaux ; p.66.
- Guessan.N. K., B Kadja, G Zirihi, D Traoré, L Aké-Assi.** (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire) ; Sciences & Nature ; V 6 ; No1 : 1 -15.
- Hart T., Shears P.** (1997). Atlas de poche de microbiologie. Medicinesciences. Lavoisier, 314p.
- Hladik C.M.** (2000). Rôle des produits secondaires (tanins et alcaloïdes des espèces forestières de l'est de Madagascar face à populations animales) ; Diversity and Endemism in Madagascar ; p.107.
- Kongo-Nzuzi Y.** (2009). Evaluation in vitro des pouvoirs antifongiques des extraits de feuille de papayer sur des souches de *candidas albicans* ; ISTM Kinshasa ; p.25.
- Koudougou K.** (2000). Étude de la chimie et de l'activité antimycosique des extraits de *Biophytum petersianum* Klotzsch (Oxalidaceae) ; université de Ouagadougou – DEA ; p.16.
- Lokadi L.P.** (2008). Etude Chimique de l'espèce *Jacobinia Carnea* ; Université de Lubumbashi.

Mezzatesta, M.L., Gona, F., Stefani, S. (2012). Enterobacter cloacae complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. Future Microbiol, 7. (7), 890.

Mibindzou M.A. (2004). Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *Crotalaria retusa* L (Papilionaceae) et *Mitragynaciliata Aubrev. & Pellegr.* (Rubiaceae) récoltées au Gabon ; p.62.

Najjaa H., Zouari S., Arnault I., Auger J., E. AmmarR., Neffati M. (2011). Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L ; Acta Bot. Gallica: V158 ; N°1 :111-123.

CHAPITRE III

Résultats et Discussion

III.1. Introduction

Dans ce qui suit, nous présenterons nos travaux sur la recherche des polyphénols et les activités anti-oxydante, antifongique et antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits bruts CHCl₃, AcOEt et MeOH de l'espèce *H. cheirifolia*.

Les objectifs de cette partie consistent à caractériser les composés phénoliques de cette espèce et identifier l'organe qui présente plus d'activité biologique.

III.2. Extraction

Les résultats du rendement de l'huile essentielle et les extraits bruts sont représentés dans tableau suivant :

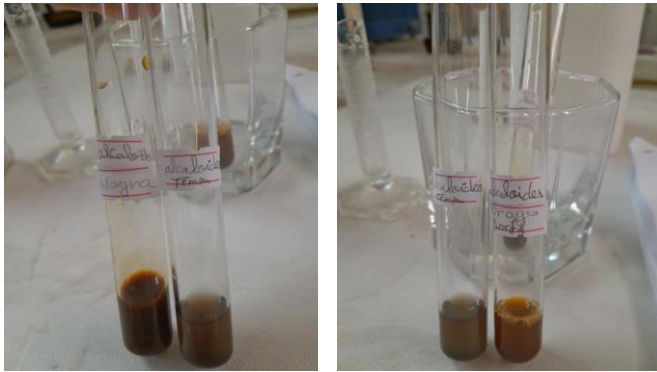
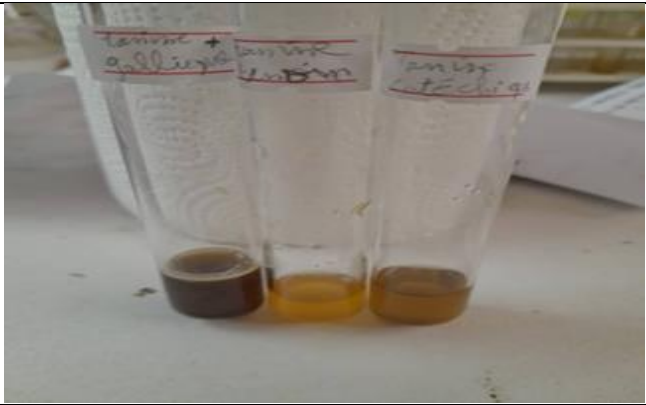


Tableau III .1. Rendement de l'huile essentielle et des extraits bruts d'*H. cheirifolia*.





Matière végétale (g)	Echantillon	Masse (g)	Rendement (%)
520	HE	0,502	0,0965
100	<i>n</i> -hexane	0,72	0,72
100	CHCl ₃	2,84	2,84
100	AcOEt	3,68	3,68
100	MeOH	5,37	5,37

III. 3. Screening phytochimique :

Le dépistage phytochimique a permis d'obtenir des informations préliminaires sur la composition chimique de la plante *Hertia cheirifolia* L. en utilisant des tests de dépistage chimique, principalement des réactions de coloration et/ou de précipitation, sur l'extrait brut. Les résultats de ces tests sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau III.2. Résultats du screening chimiques d'extraits *Hertia cheirifolia* L.

Tests	Illustration	Résultats
Alcaloïdes		+
Tanins catéchiques		++
Tanins galliques		++
Saponines		++
Triterpènes		-
Stérols		+
Terpènes		+

Flavonoïdes		+
Leuco anthocyanes		-
Quinones		-
Coumarines		+
Anthocyanes		-

Suite. Tableau III.2. Résultats du screening chimiques d'extraits *Hertia cheirifolia* L.

Les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, révèlent que *Hertia cheirefolia* L. est très riche en tanins galliques et tanins catéchiques et en saponines par la formation de mousse dans le tube à essai dépassant les 2 cm de hauteur.

Concernant, les alcaloïdes, les stérols, terpènes et aussi les flavonoïdes et les coumarines, ils sont moyennement présents dans cette plante. Par contre, les triterpènes, les leuco anthocyanes, les anthocyanes et aussi les quinones sont absentes.

Ces résultats montrent que cette plante est une source riche en substances naturelles, cette richesse peut être dû à plusieurs paramètres qu'ils soient géographiques, physicochimiques ou biologiques tels que : le site de récolte y compris l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, la topographie, la saison, le type de sols, la période de récolte, le patrimoine génétique, la procédure d'extraction utilisée et la partie de la plante étudiée.

La richesse de cette espèce en substances naturelles nous a encouragé à poursuivre les recherches et étudier les activités biologiques de cette plante.

III.4. Evaluation des activités biologiques

III.4.1. Activité anti-oxydante

❖ Test de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti radicalaires, il est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon (Bentabet et al, 2014). Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger ce radical. Le pourcentage de piégeage du radical (I %) est calculé selon l'équation suivante :

$$I \% = [(A1 - A2) / A1] \times 100 ; \text{Où :}$$

A1: Absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2: Absorbance en présence d'extrait.

L'effet des extraits et de l'HE sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Braca et al. 2001. Un volume de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 3 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,004 %) fraîchement préparée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc (méthanol), (Braca et al, 2001).

➤ Calcul des concentrations inhibitrice à 50 % « IC₅₀ » :

L'IC₅₀ (inhibitory concentration 50 %) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la

régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait et le standard (Vitamine C).

❖ Résultats et discussion

1- Evaluation l'activité antiradicalaire des extraits

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 515 nm. À partir des valeurs obtenues, les pourcentages d'inhibition ont été calculé en utilisant la formule citée plus haut. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes représentées sur la Figure III.1 qui montrent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de nos extraits. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondant à 50 % d'inhibition (IC_{50}).

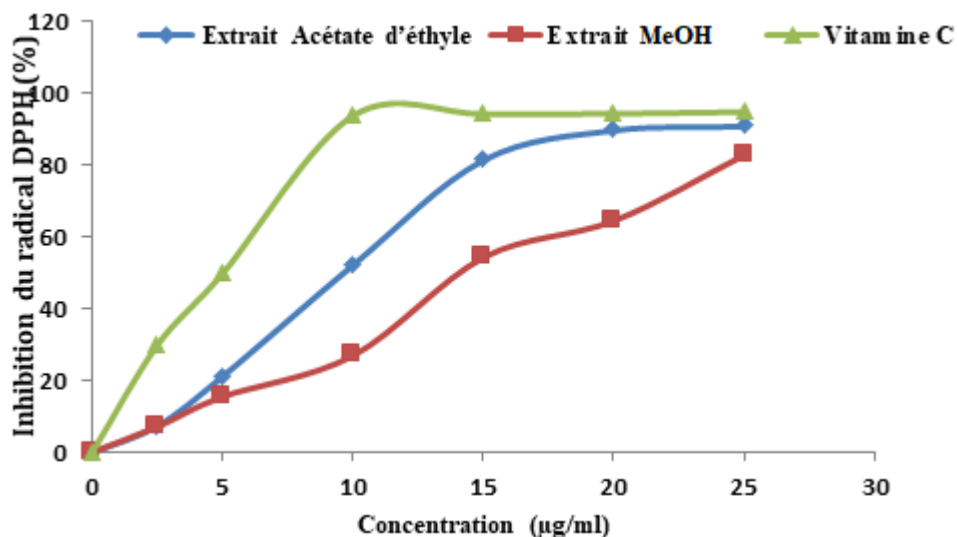


Figure III.1. Pourcentage de l'activité antiradicalaire des extraits MeOH et AcOEt des parties aériennes d'*H. cheirifolia* vis-à-vis du radical libre DPPH, classés selon l'ordre décroissant suivant (25 µg/ml) : vitamine C (96,00 %) > acétate d'éthyle (90,97 %) > MeOH (81,94 %).

En comparant les IC_{50} des extraits testé (Tableau III.3) par rapport à celle de la vitamine C, nous remarquons que l'activité antiradicalaire des extraits est inférieure à la capacité du piégeage du radical DPPH[•] de la substance de référence ($5 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$).

Tableau III.3. IC_{50} des extraits MeOH et AcOEt d'*H. cheirifolia*

Matériel végétal	Extrait	DPPH (IC_{50}) µg/ml
Parties aériennes	Acétate d'éthyle	$9,85 \pm 0,24$
	MeOH	$7,52 \pm 0,17$
	Vitamine C	$5 \pm 0,10$

❖ Discussion

L'activité anti-oxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. De nombreuses méthodes sont utilisées actuellement pour évaluer cette activité. Le radical DPPH a été largement utilisé pour l'étude de l'activité antiradicalaire de différents extraits végétaux. Le DPPH fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité anti-oxydante des composés phénoliques (Wang et al, 2008) ; (Bentabet et al, 2014). Dans cette étude nous avons remarqué que l'activité antiradicalaire des extraits est inférieure celle de la substance de référence. Il est évident que l'activité de l'extrait MeOH et AcOEt est attribuable à sa richesse aux composés phénoliques.

Ces résultats expliquent les propriétés anti-oxydantes des composés phénoliques reportées dans plusieurs travaux (Amrani et al, 2017).

2-Evaluation du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle

Les résultats figurant dans la courbe (Figure III.2) illustrent les pourcentages de l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle d'*H. cheirifolia* vis-à-vis du radical libre DPPH :

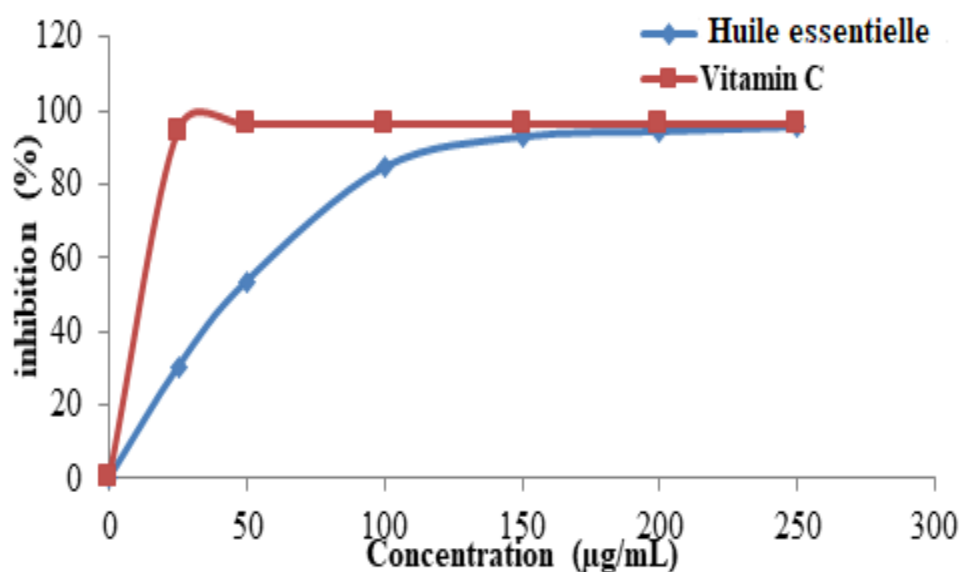


Figure III.2. Pourcentage de l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle d'*H. cheirifolia* du vis-à-vis du radical libre DPPH.

La capacité antiradicalaire de l'huile essentielle d'*H. cheirifolia* et de l'acide ascorbique (témoin positif) est dose-dépendante. Les valeurs d'IC₅₀, calculées sur une moyenne de trois essais, sont les suivantes :

- ✓ Acide ascorbique (IC₅₀ = 5±0,19 µg/ml).
- ✓ Huile essentielle (IC₅₀ = 51,97±0,18 µg/ml).

✓ Le pouvoir antioxydant de l'huile vis à vis du DPPH, le plus élevé (96 %) est observé avec une dose de 250 µg/ml ; pouvoir équivalent à celui qu'exerce la vitamine C (96 %) à la concentration 25 µg/ml.

L'activité antiradicalaire de de l'huile essentielle d'*H. cheirifolia* probablement liée à leur richesse en composés phénoliques.

Cette étude révèle que les extraits et l'huile essentielle de la plante étudiée possèdent une activité antiradicalaire. L'extrait qui présente une forte activité anti-oxydante est celui qui possède une teneur élevée en polyphénols et en flavonoïdes (Acétate d'éthyle : 563±52,49 µg (GAE) / mg ; 385,36±27,12 µg (GAE) / mg).

D'autres études qui ont été menées antérieurement montrent une grande convergence significative dans les valeurs obtenues : tel que la teneur en polyphénols d'extrait méthanolique des feuilles d'*H. Cheirifolia* algérienne dans une étude a été de l'ordre de (30,33 ± 2,82) mg GAE/g (Bousselsela et al. 2012), et une autre étude a détecté dans l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles une teneur de l'ordre de (181,24 ± 14,04) mg GAE/g (Benslama et al. 2015). Ce qui confirment que la haute propriété antiradicalaire de ces extraits peut être due à la présence des composés phénoliques.

III.4.2. Activité antifongique

III.4.2.1. Effet des extraits et de l'huile essentielle d'*Hertia cheirifolia* sur le champignon *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Fol)

Les huiles essentielles et les extraits végétaux ont été évalués pour leur activité antifongique vis-à-vis de champignons *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Fol) . Les solvants ont servi de témoin positif et le champignon sans aucun ajout a servi de témoin négatif, les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'huile essentielle et des extraits testés vis-à-vis de champignon.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants, sachant que :

- ✓ Concentration (MeOH) : C₁ (1 g/ml) > C₂ (0,9 g/ml) > C₃ (0,86 g /ml).
- ✓ Concentration (CHCl₃) : C₁ (2,86 g/ml) > C₂ (2,6 g/ml) > C₃ (2 ,48 g/ml).
- ✓ 1 ,2, 3, 4 : Nombres d'essais.

Tableau III.4. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h d'incubation de champignon avec les extraits.

Diamètre des zones d'inhibition (cm)																
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> (Fol)																
Hertia Cheirifolia	Concentration Extraits	C1				C2				C3				Moyenne		
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	C1	C2	C3
	Ex-(MeOH)	0,9	0,5	0,5	/	0,8	0,7	0,4	0,4	0,9	0,9	0,9	/	0,633	0,575	0,9
	Ex-(CHCl3)	1,4	1	0,9	0,6	1	0,4	0,4	/	1,4	0,8	1,1	0,8	0,975	0,6	1,025
Témoin	T-	1,8				1,3				/				1,55		
	T+ (MeOH)	1,3				/				/				1,35		
	T+ (CHCl3)	1,4				/				/						

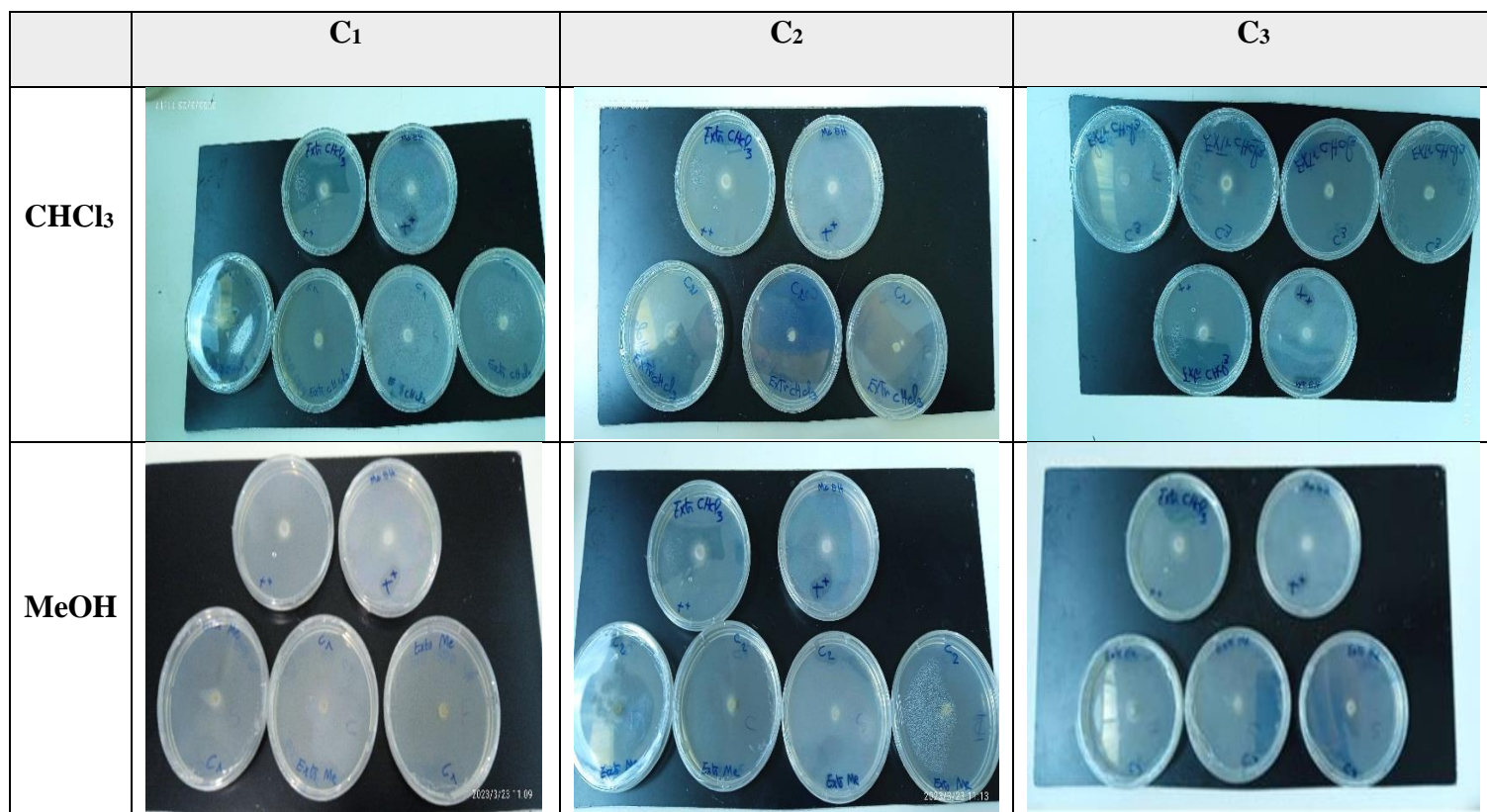


Figure III.3. Zone d'inhibition de l'activité antifongique de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Fol).

Tableau III.5. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h et 72 h d'incubation de champignon avec L'huile essentielle.

Diamètre des zones d'inhibition (cm)									
<i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersici (Fol)</i>									
<i>Hertia Cheirifolia</i>		Diamètre après 48 h (centre)			Diamètre après 72 h (périphérique)			Moyenne	
		1	2	3	1	2	3	48h	72h
	HE	0	0	0	1,4	1,4	1,4	0	1,4
Témoin	T-	1,8	1,3	/	/	/	/	1,55	/
	T+(MeOH)	1,3	/	/	/	/	/	1,35	/
	T+(CHCl ₃)	1,4	/	/	/	/	/		

Tableau III.6. Taux d'inhibition en (%) après d'incubation de champignon avec l'huile et les extraits.

Taux d'inhibition (%)					
<i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersici (Fol)</i>					
Ex-méthanolique		Ex-chloroformique		Huile essentielle	
I (C ₁)	53,33	I (C ₁)	28,14	100	
I (C ₂)	57,77	I (C ₂)	55,55		
I (C ₃)	33,33	I (C ₃)	24,44		

**Figure III.4.** Zone d'inhibition en (cm) après 48 h d'incubation de champignon avec huile essentielle.

Le Taux d'inhibition (I %) est calculé selon la formule suivante :

$$I = (C - T / C) \times 100$$

D'après les résultats présentés dans les tableaux (III.4/III.5/III.6), le champignon est très sensible à l'huile essentielle de 100% pendant 48 heures d'incubation, car le résultat s'est avéré être un inhibiteur très efficace, et après réensemencement pendant 72 heures au périphérique de milieu de culture, où l'on a observé que le champignon a retrouvé sa capacité à se reproduire avec un diamètre moyen de 1,4 cm où son effet est classé comme fongistatique.

En ce qui concerne les extraits bruts, le champignon a montré une sensibilité élevée envers l'extrait de méthanol, en particulier à la concentration $C_2 = 0,9$ g/ml, où le taux d'inhibition a été estimé à 57,77 % comme pourcentage le plus élevé, suivi de la concentration $C_1 = 1$ g/ml à un taux d'inhibition de 53,33 % puis de la concentration $C_3 = 0,86$ g/ml à un taux d'inhibition de 33,33 %.

Le champignon a montré une sensibilité à l'extrait de chloroforme, en particulier à la concentration $C_2 = 2,6$ g/ml, où le taux d'inhibition a été estimé à 55,55 % comme le plus élevé, puis respectivement à la concentration $C_1 = 2,86$ g/ml avec un taux d'inhibition de 28,14 % et à la concentration $C_3 = 2,48$ g/ml avec un taux d'inhibition de 24,44 %.

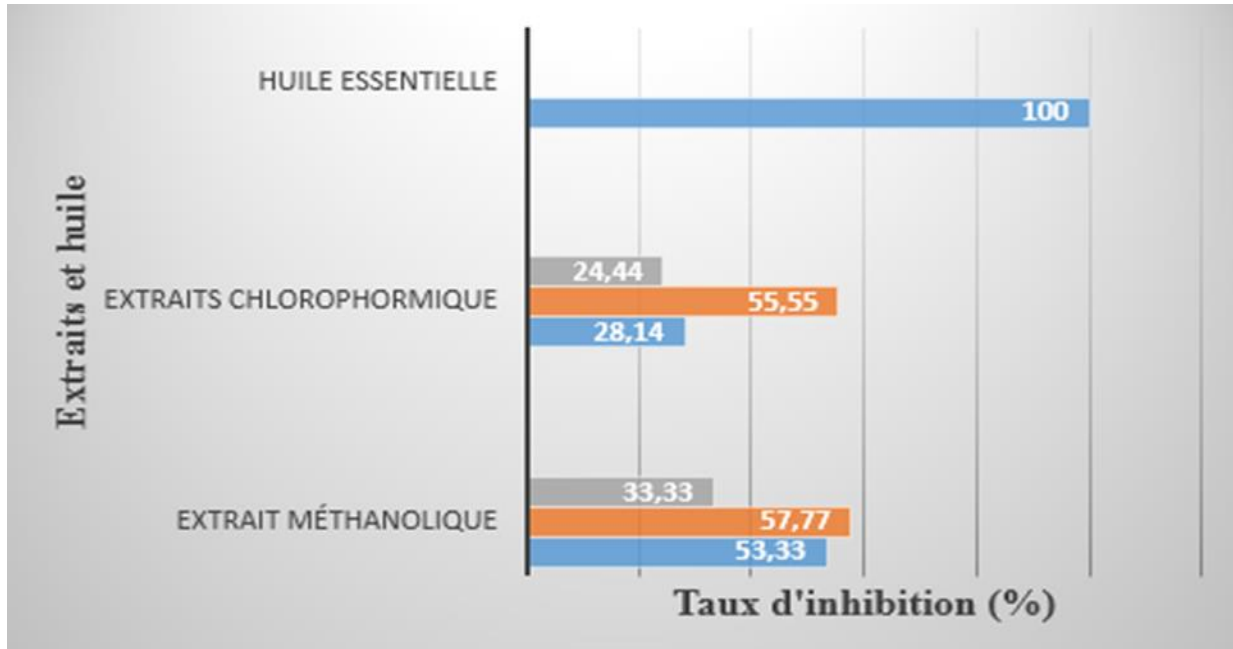


Figure III.5. Effet inhibitrice des extraits MeOH et CHCl_3 et de l'huile essentielle d'*Hertia cheirifolia* sur *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Fol).

III.4.2.2. Effet des extraits et de l'huile essentielle d'*Hertia cheirifolia* sur la levure *Candida albicans*

Tableau III.7. Zone d'inhibition en (cm) après 48 h d'incubation de la levure avec les extraits et huile et les solvants.

Diamètre des zones d'inhibition (cm)		
<i>Candida albicans</i>		
<i>Hertia cheirifolia</i>	Extrait méthanolique	3,6
	Extrait chloroformique	1,3
	Extrait d'acétate d'éthyle	5
	Huile essentielle	7,1
Solvants	Méthanol	3
	Acétate d'éthyle	0,9

D'après les résultats obtenus précédemment, l'huile essentielle a montré une activité inhibitrice anti-candida avec un diamètre de 7 cm. Quant aux extraits étudiés, les résultats obtenus montrent que les trois extraits ont une activité inhibitrice sur la levure. L'analyse statistique révèle que l'extrait acétate d'éthyle est le plus actif avec un diamètre de 5 cm, suivi de l'extrait méthanolique avec un diamètre de 3,6 cm, et enfin l'activité inhibitrice la plus faible a été enregistrée avec l'extrait chloroformique avec un diamètre de 1,3 cm.

Le souche fongique testée était résistante aux différents extraits. Cependant, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'huile essentielle a montré un effet anti-candida similaire aux résultats obtenus à partir des résultats de référence avec lesquels nous l'avons comparé (Majouli et al, 2017).

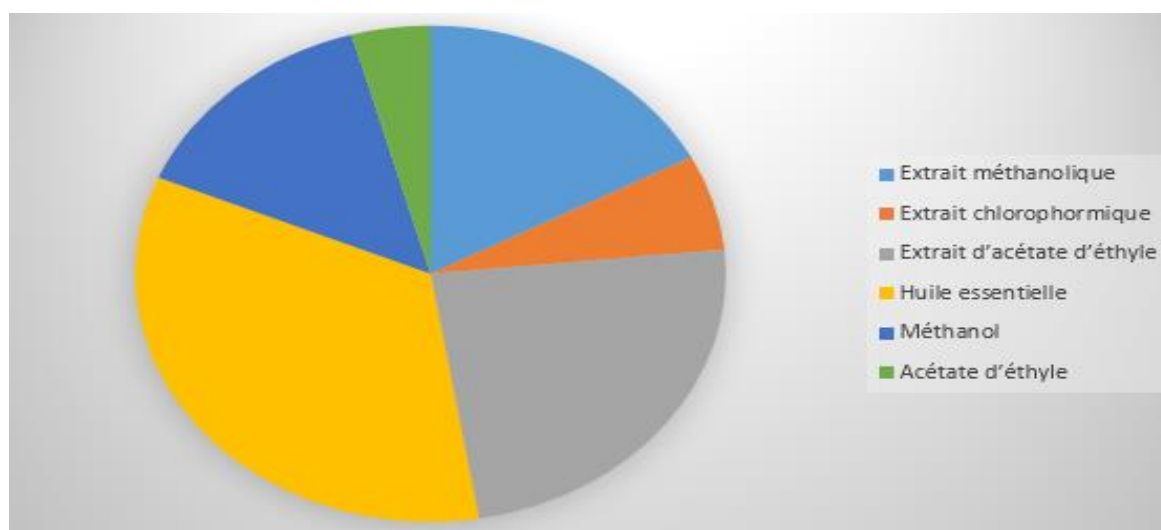


Figure III.6. Effet inhibitrice des extraits et de l'huile essentielle d'*Hertia cheirifolia* sur *Candida albicans*.

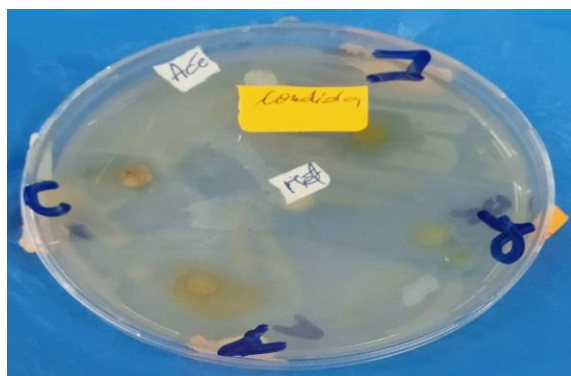


Figure III.7. Zone d'inhibition (cm) après 48 h d'incubation de *Candida albicans* avec les extraits, huile, et solvants.

III.4.3. Activité antibactérienne

Le potentiel antibactérien des extraits et de l'huile a été évalué en termes de zone d'inhibition de la croissance bactérienne.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle d'*H. cheirifolia* contre les souches bactériennes testées sont représentés dans le (Tableau III.8).

Tableau III.8. Zone d'inhibition (cm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec les extraits, huile et solvants.

Diamètre des zones d'inhibition (cm)							
	Bactéries	<i>E. coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>Enterobacterie</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Streptocoque</i>
	Extraits/Solvants	(-)	(-)	(-)	pn (-)	(+)	(+)
<i>Hertia cheirifolia</i>	Extrait méthanolique	1,6	1,5	1,5	1,5	1,8	1,8
	Extrait d'acétate d'éthyle	1,8	1,3	1,5	1,3	1,5	2
	Extrait chloroformique	2	2,1	2,3	1,8	1,7	2
	Huile essentielle	-	-	-	-	-	-
Solvants	Méthanol	0,7	-	0,7	0,6	-	1
	Acétate d'éthyle	0,6	-	0,6	0,7	-	1,1
	Chloroforme	0,8	-	0,8	0,7	-	1,5

Les résultats de cette étude montrent que tous les extraits ont une activité antibactérienne contre les six souches bactériennes. Selon le tableau ci-dessus, les souches bactériennes testées sont apparues de très sensibles à sensibles vis-à-vis de l'extrait chloroformique.

L'extrait méthanolique développe une activité assez bonne contre les souches à Gram positif et moins de pouvoir inhibiteur a été observé contre les souches de Gram négatif.

L'activité antibactérienne la plus élevée de l'extrait d'acétate d'éthyle a été observée contre *Streptocoque* et *E.coli*, avec une zone d'inhibition de 2 cm et 1,8 cm de diamètre respectivement, une activité modérée contre *S. aureus* et *Enterobacterie* avec une zone d'inhibition de 1,5 cm de diamètre, et une activité moyenne contre les deux souches bactériennes *Proteus* et *Klebsiella pn* avec 1,3 cm d'inhibition.

L'extrait chloroformique montre l'activité antibactérienne la plus élevée contre les souches à Gram négatif *E. coli*, *Proteus* et *Enterobacterie* et la souche à Gram positif *Streptocoque*, qui se sont rétractées dans une zone de 2 à 2,3 cm de diamètre après les deux souches *S. aureus* et *Klebsiella pn* avec 1,7 et 1,8 cm d'inhibition respectivement. Enfin aucune activité n'a été observée pour l'huile essentielle contre les six bactéries.

Ces résultats peuvent être expliqué par le fait que l'activité antibactérienne des extraits d'*Hertia cheirifolia* est du aux différents agents chimiques présents dans ces extraits : les flavonoïdes, les tannins et les triterpènes principalement les saponosides ainsi que d'autres composés de nature phénolique, qui sont classifiés comme composés antibactérien très actifs.

En comparant nos résultats avec d'autres études antérieures, il s'est avéré que notre extrait CHCl_3 avait la meilleure activité antibactérienne, suivi de l'extrait AcOEt, tandis que l'autre étude indiquait que l'extrait d'acétate d'éthyle était le plus efficace (Majoulil et al, 2017). Cela est probablement dû à la différence dans la teneur en polyphénol et la zone de récolte de la plante.

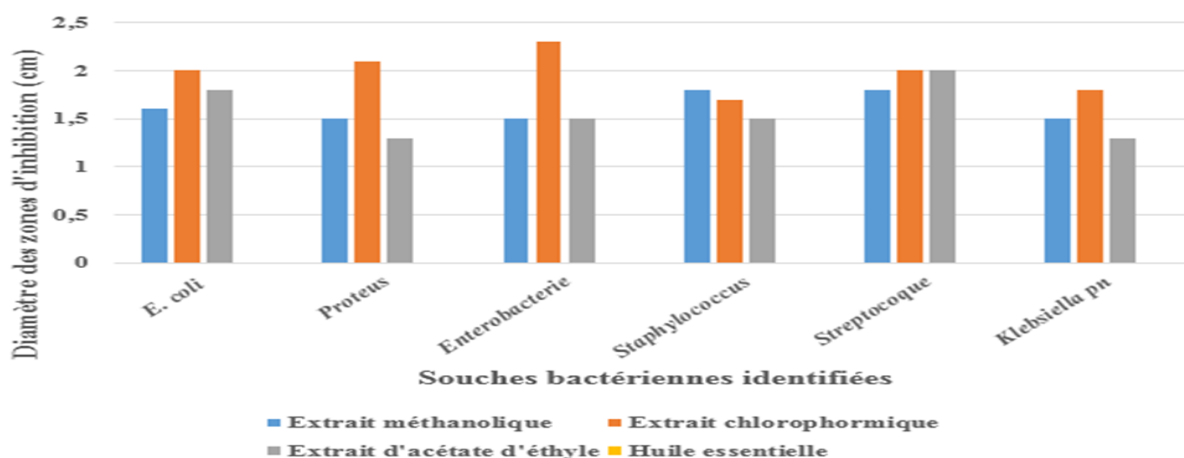


Figure III.8. Effet inhibitrice des extraits et des huile essentielle d'*Hertia cheirifolia* sur six souches bactériennes.

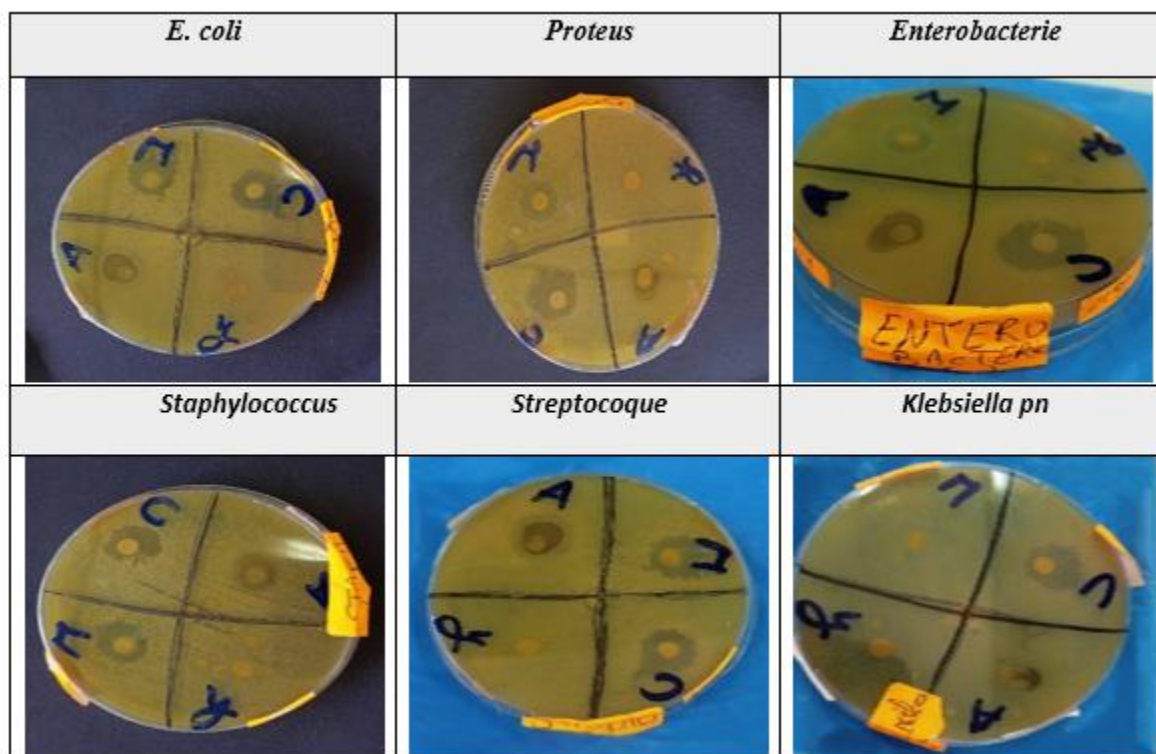


Figure III.9. Zone d'inhibition (cm) après 48 h d'incubation des souches bactériennes avec les extraits, huile et solvants.

III.5. Conclusion

Ce chapitre reporte les résultats de nos travaux de recherche de criblage phytochimique, les activités anti-oxydante, antifongique et antibactérienne de l'huile essentielle et des extraits de l'espèce *H. cheirifolia*.

Après avoir terminé cette étude, on peut dire que l'espèce *H. cheirifolia* est riche en métabolites secondaire, les activités biologiques de l'huile essentielle et des extraits de cette espèce comprennent un large éventail d'activités différentes.

La discussion des activités biologiques fournit une perspective importante sur l'utilisation potentielle des plantes médicinales dans le domaine de la médecine, de la pharmacie, ou dans le domaine industriel.

Cependant, il est important de poursuivre les recherches pour comprendre les mécanismes d'action de l'huile essentielle végétale et les extraits de l'espèce étudiée

Références bibliographiques

Amrani A, Benaissa O, Boubekri N, Zama D, Benayache F, Benayache S. (2017). *In vitro* antioxidant activities of *Rhantherium suaveolens* extracts. J. Mater. Environ. Sci 8(11): 4002-4006.

Benslama A, Boumerfeg S, Aouachria S, Khennouf S, Arrar L, Baghiani A. (2015). Total phenolic contents and antioxidant activities of *Hertia cheirifolia* leaves extracts. In: Baghiani A, editor. The 2nd African congress on biology and health. Setif, Algeria : University of Ferhat Abbas.

Bentabet N. Boucherit-Otmani Z. Boucherit K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. Phytothérapie 12(6): 364–371.

Bousselsela H, Benhouda A, Yahia M, Benbia S, Ghecham A, Zidani A. (2012). *In vitro* evaluation of antioxidant and antibacterial activities of extracts of *Hertia cheirifolia*'s leaves. Nat Sci 4: 825-831.

Braca A, De Tommasi N, Di Bari L, et al. (2001). Antioxidant principles from *Bauhinia terapotensis*. J. Nat. Prod 64: 892-895.

Majouli1 Kaouther, Assia Hamdi2, Malek Besbes Hlila3. (2017). Phytochemical analysis and biological activities of *Hertia cheirifolia* L. roots extracts. A bioactivity guided study on the antibacterial activity of *Hertia cheirifolia* L. extracts Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. (1999) .Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. In: Packer L, editor. Methods in enzymol: oxidant and antioxidants (part A), vol. 299. San Diego, CA: Academic Press. 152–782.

Wang H, Dong Gao X, Zhou GC, et al. (2008). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. Food Chem 106 : 888-895.

CONCLUSION
GENERALE

Conclusion générale

La flore Algérienne est l'une des plus riches au monde et possède de nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle. L'étude, que nous avons présentée dans cette thèse, portée sur l'investigation chimique et biologique des parties aériennes d'une plante médicinale de la famille Astéracée. (*Hertia cheirifolia* L.)

Au cours de ce travail, nous avons étudié la composition chimique de l'espèce *Hertia cheirifolia* récoltée dans la région des Aurès, en menant quelques tests préliminaires du screening phytochimique, Ainsi que l'activité anti-oxydante, antifongique et antimicrobienne de l'huile essentielle et les extraits bruts (MeOH, AcOEt et CHCl₃) d'*H. cheirifolia*.

Le dosage des poly phénols et des flavonoïdes totaux aussi sont effectués sur l'huile et les extraits bruts.

En outre, afin d'obtenir un extrait enrichi en métabolites d'intérêt, nous avons opté pour une méthode d'extraction, une extraction solide liquide par une activation ultrasonore, en utilisant différents solvants de polarité croissantes (*n*-hexane, CHCl₃, AcOEt et MeOH).

Dans cette étude nous sommes arrivés à plusieurs résultats dont les plus importants sont :

L'extraction de la partie aérienne de notre plante a permis d'obtenir les rendements suivants : (0,097 % pour l'huile essentielle et 2,84 % ; 3,68 % et 5,37 % pour les extraits bruts : CHCl₃, AcOEt et MeOH respectivement.

Le pouvoir antioxydant de l'huile vis à vis du DPPH, le plus élevé (96 %) est observé avec une dose de 250 µg/ml ; pouvoir équivalent à celui qu'exerce la vitamine C (96 %) à la concentration 25 µg/ml.

L'huile essentielle est un inhibiteur très efficace du champignon *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Fol) et de la levure *Candida albicans*.

Les extraits bruts (AcOEt et MeOH) sont riches en polyphénols et en flavonoïdes, ces derniers ont présenté une bonne activité anti-oxydante par DPPH avec une IC₅₀ de 9,85±0,24 mg/ml et 7,52±0,17 mg/ml respectivement par rapport a celle du standard (vitamine C ; IC₅₀ = 5±0,10mg/ml).

Les extraits étudiés ont un bon effet inhibiteur sur le champignon *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Fol) et la levure *Candida albicans*.

Conclusion générale

Par ailleurs, la détermination de l'activité antibactérienne des extraits a mis en évidence des niveaux d'action variable.

*L'*extrait de chloroforme a montré une activité antibactérienne considérable vis-à-vis de souches testées, en particulier la souche à gram négatif *Enterobacterie*.

*L'*ensemble de résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, et des études *in vivo* sont souhaitables, pour obtenir une vue plus approfondie sur l'activité anti-oxydante et les autres activités de l'huile et des extraits de cette plante.

Notons enfin que ce travail permettra d'envisager des horizons de recherche ciblés dans l'axe que nous avons initié sur les espèces d'*Hertia cheirifolia* dans notre territoire Algérien.

ANNEXES



Annexe 1 : Montage d'extraction de l'huile essentielle d'*H. cheirifolia* par entrainement à la vapeur d'eau.



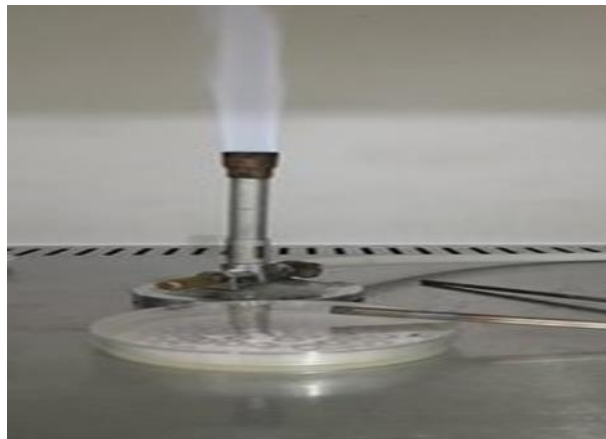
Annexe 2 : Montage d'extraction par ultrason.



Annexe 3 : Montage d'évaporation des extraits organiques.



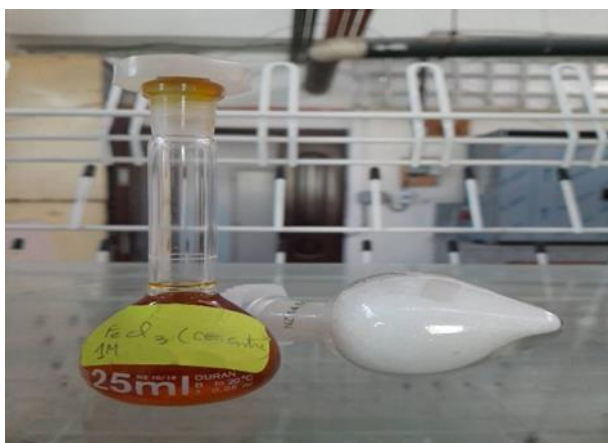
Annexe 4 : Incubateur.



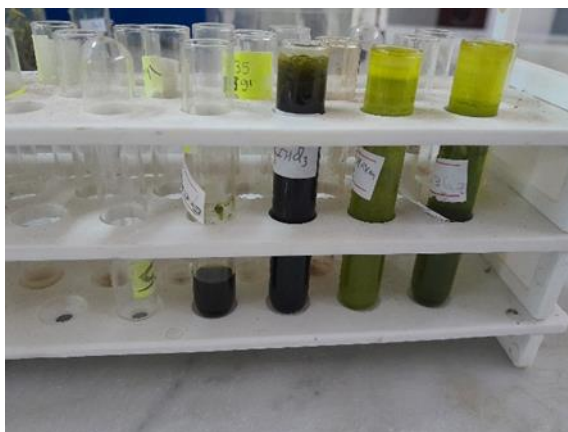
Annexe 5 : Bec Bunsen.



Annexe 6 : Réactif de Dragen dorff et de Wagner.



Annexe 7 : FeCl₃ et acétate de sodium.



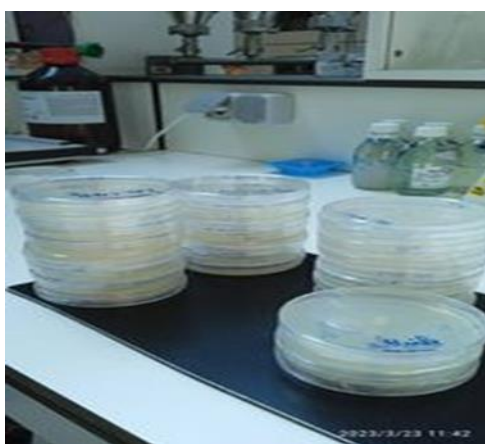
Annexe 8 : Extraits bruts.



Annexe 9 : Poudre de Babouraud.



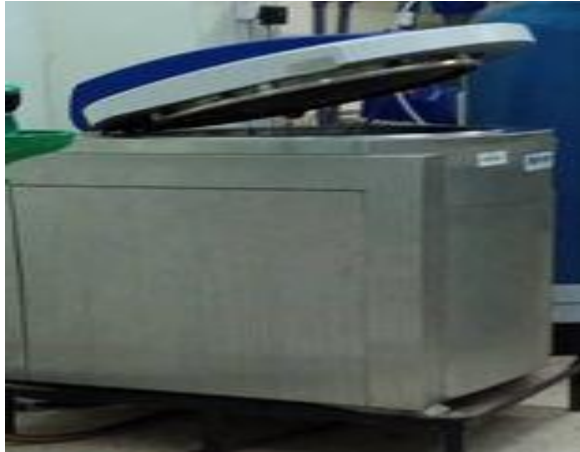
Annexe 10 : Glucose.



Annexe 11 : Boîtes de Petri.



Annexe 12 : Enceinte de sécurité biologique. (ESB)



Annexe 13 : Stérilisateur électrique.



Annexe 14 : Agitateur avec chaleur.



Annexe 15 : Balance analytique de laboratoire.

Résumé

Les travaux présentés dans cette thèse contribuent à la valorisation chimique et biologique d'une plante médicinale algérienne (*Hertia cheirifolia* L. (Asteraceae)) en les caractérisant par une étude phytochimique (quelques tests préliminaires du screening phytochimique sur l'extrait brut), une évaluation des activités anti-oxydante, antifongique et antimicrobienne.

Ainsi, afin d'obtenir un extrait enrichi en métabolites d'intérêt, nous avons opté pour une méthode d'extraction par ultrasons, en utilisant différents solvants de polarité croissantes (*n*-hexane, CHCl₃, AcOEt et MeOH), une technique permet d'obtenir une extraction complète et donc des rendements d'extraction supérieurs dans un temps d'extraction très court.

L'évaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle et des différents extraits isolés de *H. cheirifolia*, a été réalisé par la méthode de piégeage du radical (DPPH*), ainsi l'huile et les extraits ont présenté des activités anti-oxydantes intéressantes, dépendantes du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antifongique a montré l'efficacité de l'huile essentielle et des extraits bruts pour inhiber la croissance de champignon et de la levure *Candida albicans*,

Les différents extraits étudiés ont révélé aussi une forte activité antibactérienne vis-à-vis de *Enterobacterie* pour l'extrait CHCl₃, alors que l'huile essentielle n'a aucun effet antibactérien.

Mots clés :

Asteraceae, *Hertia cheirifolia*, Extrait, Huile essentielle, Etude phytochimique Flavonoïdes, composés phénoliques, Activité biologique.

Abstract

The works presented in this thesis contribute to the chemical and biological valorization of an algerian medicinal plant (*Hertia cheirifolia* L. (Asteraceae) characterizing them by a phytochemical study (a few preliminary tests of the phytochemical screening on the raw extract), an evaluation of the antioxidant activities, antifungal and antimicrobial. Thus, in order to obtain an extract enriched in metabolites of interest, we opted for an ultrasonic extraction method, using different solvents of increasing polarity (*n*-hexane, CHCl₃, AcOEt and MeOH), a technique allows obtain a complete extraction and therefore higher extraction yields in a very short extraction time. The *in vitro* evaluation of the antioxidant activity of the essential oil and the different extracts isolated from *H. cheirifolia*, was carried out by the radical scavenging method (DPPH*), thus the oil and the extracts present interesting antioxidant activities, dependent on the content of total polyphenols and flavonoids. Evaluation of the antifungal activity showed the effectiveness of the extracts and essential oil in inhibiting the growth of fungus and yeast *Candida albicans*, the different extracts studied also revealed a strong antibacterial activity against *Enterobacteriaceae* for the CHCl₃ extract, while the essential oil has no antibacterial effect.

Keywords:

Asteraceae, *Hertia cheirifolia*, Extract, Essential oil, Phytochemical study, Flavonoids, Phenolic compounds, Biological activity.

ملخص

تساهم الأعمال المقدمة في هذه الرسالة في التثمين الكيميائي والبيولوجي لنبات طبي جزائري (*Hertia cheirifolia* L. Acteraceae) من خلال توصيفه بواسطة دراسة كيميائية نباتية (بعض الاختبارات الأولية للفحص الكيميائي النباتي على المستخلص الخام)، وتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة ومضادات الفطريات ومضادات الميكروبات. وذلك من أجل الحصول على مستخلص غني بالمستقبلات ذات الأهمية، اخترنا طريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية، باستخدام مذيبات مختلفة ذات قطبية متزايدة (هكسان، كلوروفورم، أسيتات الإيثيل والميثانول)، تقنية تسمح بالحصول على استخلاص كامل و بالتالي الحصول على مردود عالي من المستخلصات الخام في وقت قصير جدا. التقييم في المختبر للنشاط المضاد للأكسدة للزيت العطري والمستخلصات المختلفة المعزولة من *H. cheirifolia*، تم بطريقة الكسح الجذري (* DPPH)، و عليه فإن الزيت والمستخلصات قدمت أنشطة مضادة للأكسدة مثيرة للاهتمام، تتعلق بالمحتوى الإجمالي لمتعدد اليفينول والفلافونويد. أظهر تقييم النشاط المضاد للفطريات فعالية الزيت العطري والمستخلصات الخام في تثبيط نمو الفطريات والخميرة. المستخلصات المختلفة التي تمت دراستها أظهرت أيضاً نشاطاً قوياً مضاداً للجراثيم ضد أنتيروباكتري مع مستخلص الكلوروفورم، في حين أن الزيت العطري لم يكن له أي تأثير مضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية:

Hertia cheirifolia ، Asteraceae المستخلص ، الزيت العطري ، دراسة فيثوكيميائية، فلافونويد ، مركبات فينولية ، نشاط البيولوجي.