

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA-Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Réf :

Mémoire de Master

Faculté : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Pharmacologie-Toxicologie

Thème

Évaluation des activités biologiques de l'extrait éthanolique de *Drimia maritima* après optimisation de l'extraction

Présenté par :

Zaidi Ramzi

Soutenu le : 03 juillet 2024

Devant le jury composé de :

M^{me} YOUS Farah

MCB

Encadrante

M^f BELKACEM Nassim

MCB

Président

M^{me} BOUDJOUAN-OURABAH Asma

MCB

Examinatrice

M^{me} SAIDANI Karima

MCA

Co-encadrante

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciements

Avant tout, j'exprime ma profonde gratitude envers Dieu, le Tout-Puissant, pour l'aide, le courage, la force et la volonté qui ont été essentiels à la réalisation de ce travail.

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance à M^{me} YOUS Farah pour avoir accepté de superviser ce mémoire. Son soutien continu, son temps précieux et sa disponibilité ont été inestimables tout au long de ce projet. Ses conseils avisés, ses orientations claires et ses efforts pendant la rédaction ont été d'une grande aide. Son appui, tant moral que scientifique, a été crucial pour l'achèvement de ce travail. Plus qu'une directrice, elle a été pour moi une véritable collaboratrice. J'ai été profondément impressionné par son sérieux, sa compétence, sa confiance et son dévouement. Vous méritez d'être surnommée l'ange du laboratoire. Je lui adresse mes plus respectueux remerciements et toute mon admiration.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury, en particulier à Mr BELKACEM Nassim pour avoir accepté de présider le jury, et à Mme BOUDJOUAN OURABAH Asma pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Je tiens également à remercier l'équipe du laboratoire physico-chimique ainsi que tous mes collègues, et l'équipe du laboratoire de microbiologie, dirigée par Mme SAIDANI Karima, ma co-encadrante, pour sa disponibilité, son sérieux, ses conseils, et sa collaboration empreinte de sympathie et de patience.

Je n'oublie pas l'ensemble des enseignants de notre faculté SNV en général, et ceux du département de Biologie Physico-Chimique en particulier, qui ont contribué à notre formation tout au long de notre cycle d'études.

Je remercie également mes parents pour leur amour, leur patience, leurs encouragements, leur éducation, leur soutien financier et moral. Tout ce que je pourrais dire serait inférieur à ce qu'ils m'ont apporté. Que Dieu les garde pour moi.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce travail à ma chère famille, à mon père **Fatsah** et à ma mère, **Rebiha** pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs encouragements constants qui ont été ma source de force et de motivation tout au long de ce parcours académique. Leur patience et leur accompagnement depuis ma naissance jusqu'à aujourd'hui ont été inestimables. Que Dieu les protège et les garde pour moi. Ce travail est le fruit des sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation et ma formation.

Je souhaite également dédier ce travail à tous les membres de ma famille qui ont contribué à la bonne réalisation de ce projet.

Je le dédie à mes compagnons de vie, **Abdraham et Adel**, ainsi qu'à tous mes amis et voisins. Une mention spéciale à mes collègues de travail, notamment **Samir, Farid et Brahim**, qui ont apporté leur contribution à ce projet et n'ont jamais cessé de m'encourager dans la poursuite de mes études en m'offrant un soutien moral et financier.

Je dédie ce modeste travail à tous mes enseignants pour leur expertise partagée, leurs encouragements constants et leur soutien collaboratif, qui ont enrichi mon expérience académique et professionnelle. Je remercie également tous mes camarades étudiants, en particulier **Boussebissi Ikram**, pour son aide précieuse, son soutien moral, sa patience, sa confiance, son engagement et son implication dans la conception de mon travail. Je lui souhaite une réussite totale dans son parcours académique, son mémoire et sa carrière professionnelle.

Je dédie ce travail aux binômes de biochimie fondamentale, **Yahiaoui Sara et Yousfi Wissem**. Je leur exprime ma reconnaissance pour leur collaboration, leur encouragement, leur sérieux, leur compétence et leur dévouement durant toute la période de mémoire. Je leur souhaite également une réussite totale dans leur mémoire et leur vie professionnelle.

Enfin, je le dédie à toute la promotion de pharmacotoxicologie 2023/2024, ainsi qu'à toutes les personnes qui me sont chères et qui m'ont aidé de près ou de loin. Je vous dédie ce mémoire en témoignage de ma reconnaissance pour votre apport précieux et votre influence positive sur ce projet.

Je vous adresse mes plus sincères remerciements et toute ma reconnaissance

SOMMAIRE

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des Abréviations

Introduction..... 1

Chapitre I: Recherche Bibliographique

I.1.Généralités sur *Drimia maritima* 2

I.1.1.Historique et définition2

I.1.2.Description botanique3

I.1.3.Origine et répartition géographique3

I.1.4. Systématique.....4

I.1.5.Classification4

I.1.6.Etymologie5

I.1.7. Effets biologiques et thérapeutiques5

I.1.7.1. Usages traditionnels et médicale5

I.1.7.2. Effets biologiques6

I.1.8. Usages en agriculture6

I.1.9. Toxicité.....7

I.2.Généralités sur les métabolites secondaires..... 8

I.2.1. Composés phénoliques8

I.2.1.1. Rôles et classes des composés phénoliques9

I.2.2. Acides phénoliques9

I.2.3. Flavonoïdes.....11

I.2.4. Tannins12

I.2.5. Steroïdes13

I.2.6. Saponins13

I.2.7. Sucres totaux.....14

I.3.Généralités sur l'activité antioxydants 15

I.3.1. Origine des espèces réactives15

I.3.1.1. Sources endogènes.....15

I.3.1.2. Sources exogènes	15
I.3.2. Rôle physiologique et/ou pathologique des radicaux libres	16
I.3.3. Cibles des radicaux libres.....	16
I.3.4. Maladies liées au stress oxydant.....	16
I.3.5. Antioxydants.....	17
I.3.5.1. Antioxydants endogènes	17
I.3.5.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	17
I.3.5.1.2. Antioxydants non enzymatiques	17
I.3.5.2. Antioxydants d'origine végétale.....	17
I.4.Généralités sur l'activité anti-inflammatoire	18
I.4.1. Inflammation	18
I.4.1.1 Différents types de l'inflammation	18
I.4.1.1.1. Inflammation aiguë.....	18
I.4.1.1.2 Inflammation chronique.....	18
I.4.1.2. Mécanisme de l'inflammation	18
I.4.1.3. Maladies inflammatoires	19
I.4.2.1. Anti inflammatoires.....	20
I.4.2.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	20
I.4.2.1.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	20
I.4.2.1.3. Anti-inflammatoires d'origine naturelle	20
I.5.Généralités sur l'Activité antibactérienne	21
I.5.1. Définition et structure des bactéries.....	21
I.5.2. Classification des bactéries	21
I.5.3. Bactéries a gram (+) et gram (-)	22
I.5.4. Antibiotiques.....	22
I.5.4.1. Définition et classification	22
I.5.4.2. Mode d'action des antibiotiques	22
I.5.5. Résistance aux antibiotiques	23
I.5.6. Concentration minimale inhibitrice et concentration minimale bactéricide	23
I.5.7. Antibiogramme et méthode des disques.....	23

Chapitre II: Matériel et Méthodes

II.1. Matériel	26
II.1.1. Matériel non biologique	26
II.1.1.1. Appareillages	26
II.1.2. Matériel végétale.....	26
II.1.3. Matériel biologique.....	26
II.1.4. Lieu et période de travail	26
II.1.5. Zone et période de la récolte	27
II.2. Méthodes	27
II.2.1. Préparation des échantillons.....	27
II.2.2. Récupération de l'huile des graines HG	27
II.2.3. Optimisation	28
II.2.3.1. Préparation des extraits	28
II.2.3.2. Préparation des tests	28
II.2.3.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux	28
II.2.3.2.2. Test de pouvoir anti oxydant par ABTS.....	29
II.2.3.3. Analyse des résultats	29
II.2.4. Extraction	29
II.3. Analyses phytochimiques	30
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux	30
II.3.2. Dosage des flavonoïdes	30
II.3.3. Dosage des tanins condensés	30
II.3.4. Dosage des tanins hydrolysables	30
II.3.5. Dosage des saponines	31
II.3.6. Dosage des sucres totaux	31
II.4. Activité anti inflammatoire	31
II.4.1 Dosage d'oxyde nitrique NO	31
II.5. Evaluation de l'activité antioxydants	32
II.5.1 Test ABTS	32
II.6. Evaluation de l'activité antibactérienne	32
II.6.1. Préparation des disques et des milieux de culture	32

II.6.2. Préparation des extraits	33
II.6.3. Protocole de test	33
II.6.4. Préparation d'une suspension	33
II.6.5. Préparation des boites (marquage et ensemencement par écouvillonnage)	33
II.6.6. Application des disques et pose des extraits	34
II.6.7. Test de l'huile des graines	34

Chapitre III: Résultats et Discussion

III.1. Résultats de l'optimisation	35
III.2. Rendement de la delipidation par hexane de la poudre des graines	37
III.3. Rendement de l'extraction hydroéthanolique (éthanol a 20%)	37
III.4. Evaluation des activités phytochimiques	39
III.4.1 Teneur en polyphénols totaux	39
III.4.2 Teneur en flavonoïdes	40
III.4.3 Teneur en tanins	42
III.4.3.1. Tanins condensés	42
III.4.3.2. Tanins hydrolysables	42
III.4.4. Teneur en sucre totaux	44
III.4.5. Teneur en saponines	44
III.5. Evaluation de l'activité Antioxydants	45
III.6. Evaluation de l'activité anti inflammatoire	47
III.7. Evaluation de l'activité anti-bactérienne	48
Conclusion et perspectives	50
Références bibliographiques.....	52
Liste des Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure N°1 Papyrus Ebers (une des plus anciennes prescriptions médicales à base d' <i>Urginea maritima</i>).....	2
Figure N° 2 <i>Drimia maritima</i> plante complète	3
Figure N° 3 Calices et graines de <i>Drimia maritima</i>	3
Figure N° 4 Distribution des espèces de <i>Drimia</i>	4
Figure N° 5 Classification des métabolites secondaires	8
Figure N°6 Acides phénoliques.....	10
Figure N°7 Structure de base des principaux flavonoïdes	11
Figure N°8 Structure des tanins (A) hydrolysables et (B) condensés	12
Figure N°9 Différentes structures de saponines	14
Figure N°10 Structure de sucre (forme furane et pyrane).....	14
Figure N°11 Mécanisme d'action de l'inflammation	19
Figure N°12 Schéma représentatif de quelques maladies inflammatoires	19
Figure N°13 Méthode des disques et antibiogramme.....	24
Figure N°14 Situation géographique de la zone de récolte de la plante.....	27
Figure N°15 Coefficient de détermination des protocoles d'extraction de polyphénols et pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour les calices de <i>D.maritima</i>	35
Figure N°16 Coefficient de détermination des protocoles d'extraction polyphénols et pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour les graines de <i>D. maritima</i>	35
Figure N°17 Résultats obtenus par le logiciel JMP pour l'EEDMC et l'EEDMG de la plante	36

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°I Liste de l'appareillage et des produits utilisés	26
Tableau N°II Références des souches bactériennes testées.....	26
Tableau N°III Résultats obtenu par JMP pro 14.....	37
Tableau N°IV Paramètres de la délipidation par l'hexane	37
Tableau N°V Résultats de l'extraction hydro-éthanolique	37
Tableau N°VI Représentation des résultats obtenus dans la littérature.....	38
Tableau N°VII Teneur en polyphénols totaux	39
Tableau N°VIII Teneur en flavonoïdes	40
Tableau N°IX Teneur en tanins condensés de l'EEDMC et l'EEDMG.....	42
Tableau N°X Teneur en tanins hydrolysables de l'EEDMC et l'EEDMG	42
Tableau N°XI Teneur en sucre totaux de l'EEDMC et l'EEDMG	44
Tableau N°XII Teneur en Saponines.....	45
Tableau N°XIII Résultats de test ABTS IC50 pour l'EEDMG et l'EEDMC.....	46
Tableau N°XIV Résultats du test NO IC50 pour l'EEDMG et l'EEDMC.....	47
Tableau N°XV Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile de graine	49

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2-Azino-Bis (3-éthylbenzothiazolin-6-sulphonique)

ACE : Extrait Aqueux

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens

AIS : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens

BHT : Butylated Hydroxy Toluene

CAT : Catalase

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COX : Cyclo-Oxygénases

DCM : Dichlorométhane

DI2 : *Drimia. Indica triploid*

DRAO : *Drimia raogibikei*

DRAZ : *Drimia razii*

EB : Extrait brut

EC50 : Effective Concentration 50%

EEDMC : Extrait éthanolique *Drimia Maritima* Calices

EEDMG : Extrait éthanolique *Drimia Maritima* Graines

EOA : Espèces Oxygénées Activées

ERO : Espèces Réactives Oxygénées

PF : Poids Frais

GPx : Glutathion Peroxydase

IC50 : Concentration Inhibitrice 50 %.

IZD : Zone d'inhibition

JMP : John's Macintosh Project

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NOS : NO synthase

PDA : Potato Dextrose Agar

SAS : Statistical Analysis System

UMME : *Urginea maritima* Methanolique Extract

Introduction

INTRODUCTION

Les plantes médicinales ont été utilisées depuis des millénaires et constituent une ressource précieuse pour la majorité des populations rurales et urbaines en Afrique (**Wyk et Wink, 2018 ; Saadane et al., 2021**). Elles représentent plus de 50 % de tous les médicaments en usage clinique dans le monde (**Gurib-Fakim, 2006**), et sont considérées comme l'origine de la médecine moderne (**Salmerón-Manzano et al., 2020**). En Algérie, la richesse et la diversité de la flore, avec environ 4000 espèces de plantes vasculaires, offrent un véritable réservoir phylogénétique. Pourtant, peu de recherches ont été menées sur leurs propriétés thérapeutiques (**Saadane et al., 2021**).

Les métabolites secondaires des plantes jouent un rôle crucial dans leurs effets curatifs. Ces petites molécules organiques, dérivées des métabolites primaires, présentent une diversité chimique et des propriétés biologiques intéressantes (**Twaij et Hasan, 2022**), en effets, elles sont essentielles dans la fabrication de nombreux médicaments commerciaux et de remèdes à base de plantes (**Li et al., 2020**).

En l'occurrence, l'intérêt pour les antioxydants et les anti-inflammatoires naturels s'est accru, car ces composés offrent une alternative aux produits chimiques synthétiques, souvent associés à des effets secondaires graves (**Bindu et al., 2020**) et à la résistance aux antibiotiques. Les antioxydants naturels, en particulier, attirent l'attention pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages cellulaires (**Zhang et al., 2022**). Cependant, la résistance croissante aux antibiotiques rend la recherche de nouvelles alternatives thérapeutiques plus urgente que jamais (**Ogbodo et al., 2011**).

Dans ce contexte, notre étude explore les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes des graines et calices de *Drimia maritima*, une plante médicinale couramment utilisée en médecine traditionnelle (**Manganyi et al., 2021**). Grâce à ses grandes dimensions et sa disponibilité, il est facile d'obtenir des extraits en grande quantité et à faible coût (**Khenniche et al., 2023**). Malgré son utilisation répandue, peu de recherches approfondies existent sur ses parties aériennes (**Mammadov et al., 2017**).

Ce travail est divisé en trois chapitres : synthèse bibliographique, matériel et méthodes, et résultats et discussion. Et comblera cette lacune et fournira des données précieuses sur les propriétés pharmacologiques de ses parties, ouvrant de nouvelles perspectives pour leur exploitation dans les industries pharmaceutiques, alimentaires ou agricoles (**Zhang et al., 2022**).

Chapitre I

Recherche

bibliographique

I.1.Généralités sur *Drimia maritima*

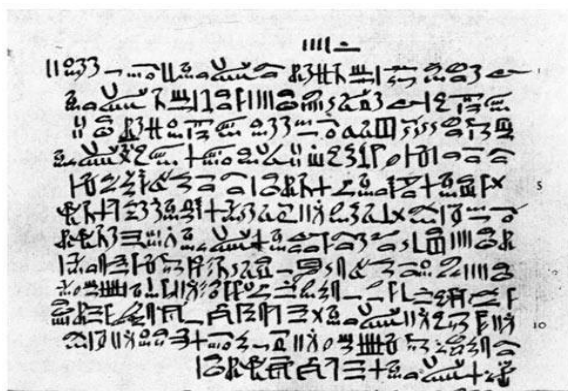
I.1.1. Historique et définition

Drimia maritima, anciennement connue sous le nom d'*Urginea maritima* en raison de sa découverte dans l'Est de l'Algérie, où vivaient les Berbères Beni-Urg, est une plante médicinale largement reconnue depuis l'Antiquité (**Hammiche et al., 2013**). Sur le plan taxonomique, le genre *Drimia* fait partie de la famille des Asparagacées, auparavant classé parmi les Liliacées et les Hyacinthaceae, et se caractérise par ses bulbes, principalement utilisés à des fins médicinales (**Bozorgi et al., 2017**). Parmi les deux principales variétés de cette plante, la Scille blanche prédomine au Maroc, tandis que la Scille rouge est plus courante en Algérie et en Grèce (**Belhaddad et al., 2017**).

Depuis des millénaires, la Scille a été étudiée pour ses propriétés curatives et ses vertus thérapeutiques dans diverses pathologies humaines et animales, ainsi que pour ses applications dans d'autres domaines tels que l'agriculture (**Knittel et al., 2014**). Des études historiques ont révélé que cette plante était déjà utilisée dans des préparations médicinales anciennes, comme en témoigne le Papyrus Ebers, datant de plus de 3500 ans, qui contient l'une des plus anciennes prescriptions médicales à base d'*Urginea maritima* qui traite une variété de maux (Améliorer la digestion/ soulage les infection respiratoires) comme le montre la figure N°1 (**Gentry et al., 1987**).

Cependant, il est important de noter que la plante possède également des propriétés toxiques bien connues. Elle a été utilisée comme raticide en Angleterre à la fin du XIXe siècle, puis importée aux États-Unis pour les mêmes raisons (**Gentry et al., 1987**).

Aujourd'hui, environ 99 espèces de ce genre sont reconnues et classées parmi les genres bien documentés, soulignant ainsi le rôle crucial de ces plantes dans la recherche de nouveaux composés bioactifs (**Zhang et al., 2022**).



- Farine de dattes ¼
 - Scille maritime* 1/32
 - Amamu 1/3
 - Bière douce 1/3
 - Tehebu 1/2
- *faire cuire, filtrer,
traitement dure 4 jours.

Figure N°1 Papyrus Ebers (Une des plus anciennes prescriptions médicales à base d'*Urginea maritima*) (**Boumediene et Boughlem, 2018**).

I.1.2. Description botanique

Drimia maritima, est une petite plante florissante pouvant atteindre une hauteur de 45 à 60 cm. Elle est caractérisée par une tige fleurie dressée, verte ou glauque, mesurant de 0,40 à 1,60 m de hauteur et 15 mm de diamètre. Ses feuilles, une à plusieurs, sont radicales, linéaires et aiguës, mesurant environ 1 m de long et 5 à 15 cm de large. Les bulbes de *Drimia maritima* sont en forme de poire, de couleur rougeâtre ou blanche, atteignant un diamètre de 20 à 30 cm et un poids entre 5 et 7 kg (Figure N°2).

Ses fleurs, au nombre de 6 à 8, apparaissent au début du printemps, disposées en groupes denses, petites, vert pâle à blanches, sur des grappes élançées à fleurs lâches. Les racines sortent à la base, les tuniques sont épaisses et coriaces. Les bractées géminées sont blanchâtres et membraneuses, les tépales sont verts ou pourpre avec une nervure unique, les étamines sont environ 6 avec un périanthe blanc aplati et dilaté vers la base, les anthères sont jaune verdâtre à gris violacé en forme ovée ou oblongue tri-sulquée, et les graines sont petites, noires, oblongues, aplaties, lisses et luisantes (Figure N°3).

La phénologie de *Drimia maritima* se caractérise par une floraison de juillet à octobre, une fructification de septembre à décembre et une foliation de décembre à mai (**Burollet, 1923 ; Lekhak et al., 2017 ; Martínez-Azorín et al., 2022**).



Figure N° 3 Calices et graines de *Drimia maritima* (Photo originale).



Figure N° 2 *Drimia maritima* plante complète (Amine et al., 2017).

I.1.3. Origine et répartition géographique

Ces plantes, prospèrent dans une variété de sols, y compris les terrains alluviaux au bord des lacs ou des rivières, les sols argileux, sablonneux, calcaires et pierreux avec une répartition géographique large (**Mahboubi et al., 2019**).

La variété blanche dite Scille d'Italie ou Scille femelle est abondante en Sicile, Malte, Grèce, Espagne, Italie et Liban. En Algérie, on trouve la variété rouge appelée Scille d'Espagne ou Scille male (**Martínez-Azorín et al., 2022**).

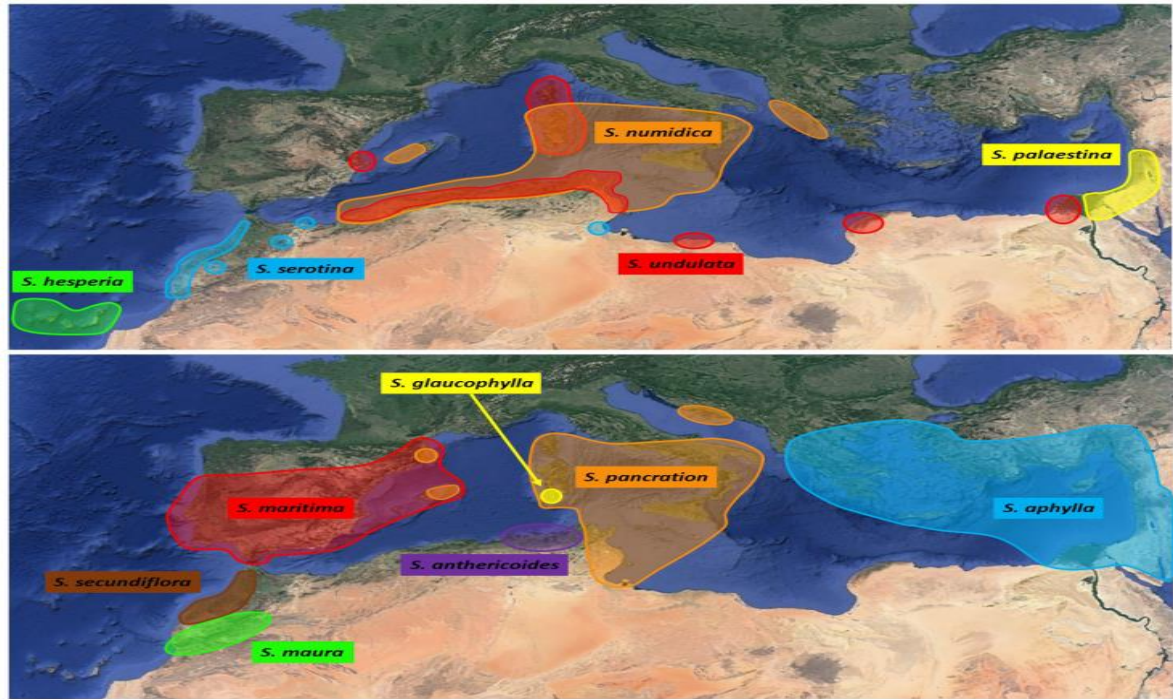


Figure N° 4 Distribution des espèces *Drimia* (Martínez-Azorín *et al.*, 2022).

I.1.4. Systématique selon (Garbari et Crisman, 1988)

La classification de cette plante a été développée au fil du temps.

- *Scilla maritima* Linnée 1753.
- *Urginea maritime* Steinheil 1834.
- *Dremia* Stearn 1978.
- *Charybdis* Speta 1998.

I.1.5. Classification selon APG (AngiospermsPhylogeny Group)

Rang taxonomique	Nomenclature Règne
Phylum	Tracheophyta
Règne	Plantae-Végétal
Classe	Equisetopsida
Sub-classe	Magnoliidae
Ordre	Asparagales
Famille	<i>Asparagaceae</i>
Genre	<i>Drimia</i>
Espèce	<i>Drimia maritima</i>

I.1.6. Etymologie

Principaux noms vernaculaire de *Drimia martima* (Ouhaddou *et al.*, 2015) :

Noms communs	<i>Scille maritime</i> ou Scille officinale, sc urginée maritime, urginée fausse scill charpentaire, oignon marin, scipoule
Nom latin	<i>Urginea maritima</i> .
Nom anglais	Red squill, sea squill.
Nom arabe	Feraoune. ΔῆΘμα -Bassila
Nom berbère	ⵛⴰⴳⵓⵏ – Ichkil – Azalim Ouchen

I.1.7. Effets biologiques et thérapeutique

I.1.7.1. Usages traditionnels et médical

Les connaissances sur les plantes du genre *Drimia* remontent jusqu'à 1500ans avant JC, faisant de ce genre l'un des plus connus dans le monde (Saadane *et al.*, 2021). De nombreuses études ont été menées sur ses différentes parties, en particulier le bulbe, révélant ses propriétés bénéfiques ou toxiques(Bozorgi *et al.*, 2017).

Historiquement, *Drimia maritima* est utilisée en phytothérapie traditionnelle pour traiter diverses maladies telles que les douleurs d'estomac, abdominales, maux de dos, hypertension, et comme purificateur de sang et abortif (El-Seedi *et al.*, 2013 ; Rezzagui *et al.*, 2020).

Elle traite également l'hydropisie, les maladies respiratoires, les troubles cutanés, l'épilepsie, le cancer, le rhume, la rougeole, la pneumonie, la toux, la fièvre et les maux de tête. En médecine moderne, *Drimia maritima* a été commercialisée pour ses propriétés cardioactives ainsi que pour traiter des problèmes tels que l'asthme, la perte de cheveux et comme protecteur du foie (Mahboubi *et al.*, 2019 ; Manganyi *et al.*, 2021).

En Algérie, à Chypre et en Espagne, elle est utilisée pour les problèmes urinaires, cardiaques, respiratoires, musculo-squelettiques et cutanés (González-Tejero *et al.*, 2008 ; Miara *et al.*, 2021). En Ayurveda, elle traite les troubles respiratoires, les maladies de peau et les vers intestinaux (Aswal *et al.*, 2019). En Afrique, *Drimia maritima* est utilisée pour l'insuffisance cardiaque, la bronchite chronique, l'asthme, la pneumonie, les plaies, les hémorroïdes, les morsures de vipères, la jaunisse, les problèmes dermatologiques, les douleurs aux oreilles, les troubles digestifs, la coqueluche, la faible libido, la goutte et l'infertilité.

Des études modernes ont confirmé son efficacité dans le traitement de la stéatose hépatique non alcoolique, de l'alopecie et des douleurs inflammatoires (**Zhang et al., 2022**).

Le bulbe est principalement utilisé sous forme de poudres, décoctions, onguents et infusions (**Knittel et al., 2015 ; Manganyi et al., 2021**), surtout pour les troubles respiratoires. L'administration orale est la plus courante, suivie de l'application topique (**Bozorgi et Gharabaghi, 2017**).

I.1.7.2. Effets biologiques

- D'après la littérature, plusieurs études sur différentes parties de *Drimia martima* ont montré qu'elle présente des effets potentiels dont :
- Des effets anticancéreux, notamment, cytotoxique contre les lignées cellulaires lymphatiques humaines (**Al-Abdallat et al., 2023**).
- Des propriétés cardio-protectrices ont été également révélées (**Bucht et al., 1957**).
- Egalement, des activités antivirales, antimicrobiennes, antioxydants, anti-inflammatoire, ont été mises en évidence par plusieurs recherches scientifiques (**Bozorgi et al., 2017**).
- Des activités antiseptiques en application intra-utérine après accouchement, des Effet diurétique, immuno-modulatrices et hypotenseurs ont été mis en œuvres.
- Concernant l'action antidiabétique, **Yadav et al. (2015)** ont montré que l'extrait éthanolique de bulbes de *D. martima* contribue, en 120 minutes, à une diminution considérable de la glycémie des rats diabétiques.
- D'autre part, son potentiel anthelminthique contre le ver de terre (*Pheretima posthuma*) a été testé in vivo par un extrait aqueux obtenu à partir de la feuille, de la hampe et du bulbe de la plante (**Chittoor et al., 2012**).

I.1.8. Usages en agriculture

À travers les siècles, les civilisations anciennes ont exploité les vertus de *D. Maritima* dans le domaine pharmaceutique et agricole, la considérant comme une alternative visant à réduire la pollution environnementale engendrée par les produits chimiques agricoles (**Rico, 2000**). Cette plante s'est révélée efficace dans la lutte antiparasitaire, comme en attestent les travaux de **Hamouda et al., (2015)**. Par ailleurs, les variétés rouges de scilles, particulièrement riches en scilliroside, étaient exportées depuis l'Algérie jusqu'aux années 1960 pour leur efficacité reconnue en tant que raticide (**Verbiscar et Banigan, 1986**).

Des études ont mis en lumière l'impact insecticide de l'extrait éthanolique de *Drimia maritima* sur *Drosophila melanogaster* et les larves de lépidoptères, soulignant ainsi son potentiel bénéfique (Maazoun *et al.*, 2017 ; Saadane *et al.*, 2021).

I.1.9. Toxicité

Drimia maritima est une plante toxique pour les humains et les animaux connue pour ses effets vénéneux depuis l'Antiquité. Les principaux composés toxiques sont les hétérosides cardiotoniques, comme le scilliroside, qui affectent le cœur et peuvent causer des symptômes graves tels que diarrhée, indigestion, tremblements, crampes, nausées, vomissements, hypertension, douleurs abdominales et aux jambes, et dans les cas extrêmes, un arrêt cardiaque. (Tuncok *et al.*, 1995 ; Aswal *et al.*, 2019 ; Manganyi *et al.*, 2021). La plante contient également des raphides d'oxalate de calcium, provoquant l'inflammation des muqueuses et de la peau (Hammiche *et al.*, 2013).

I.2.Généralités sur les métabolites secondaires

Les plantes médicinales, utilisées depuis des millénaires, sont riches en métabolites secondaires, des molécules complexes aux fonctions physiologiques souvent inconnues. Non essentiels pour la croissance et la reproduction des plantes, ces métabolites sont divisés en plusieurs classes : alcaloïdes, composés phénoliques (comme les flavonoïdes et les tanins), terpènes, hétérosides cardiotoniques, saponines et stéroïdes. Chaque classe possède des rôles et des mécanismes d'action distincts, contribuant à la diversité des propriétés thérapeutiques des plantes (Wink, 2003 ; Macheix *et al.*, 2005).

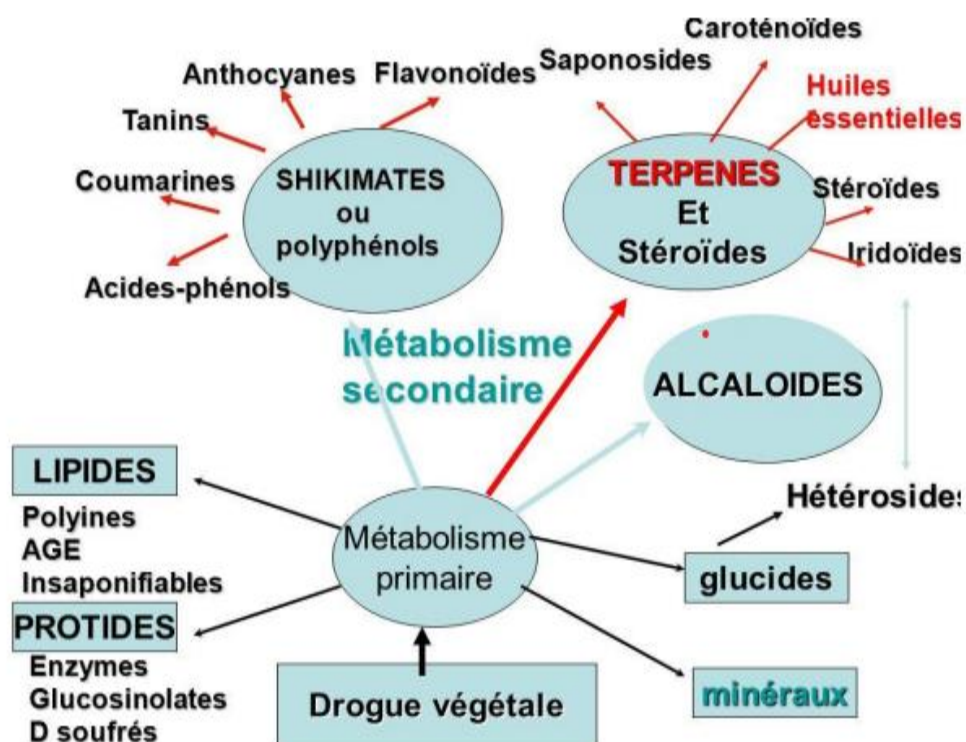


Figure N° 5 Classification des métabolites secondaires (Wink, 2003).

I.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances chimiques organiques essentielles présentes dans de nombreuses plantes, influençant leurs caractéristiques sensorielles et nutritionnelles (Lattanzio, 2013). Ils possèdent au moins un cycle aromatique à six carbones avec des groupes hydroxyles (-OH) attachés, et se divisent en environ dix catégories chimiques (Neish, 1960). Plus de 8000 structures ont été identifiées, allant des simples acides phénoliques aux tanins polymérisés (Chira *et al.*, 2008).

La biosynthèse des composés phénoliques suit principalement deux voies : la voie des shikimate, produisant des acides cinnamiques, benzoïques, lignines, coumarines, etc. (Saltveit, 2017 ; Marchiosi *et al.*, 2020), et la voie de l'acétate, formant des polyacétates cyclisés en chromones, isocoumarines, depsides, xanthones, quinones, etc... (Floss, 1997). Une voie mixte impliquant le mévalonate produit des composés tels que les flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

I.2.1.1. Rôles et classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont classés en plusieurs catégories en fonction de leur structure de base, comprenant des phénols simples, des acides phénoliques, des acétophénone, des acides hydroxy-cinnamiques, des flavonoïdes, des lignanes, des mélanines, des tanins condensés, entre autres (Lattanzio, 2013). Ces polyphénols jouent un rôle essentiel dans la défense des plantes contre divers stress environnementaux tels que les rayons UV, les agents pathogènes et les prédateurs (Saltveit, 2017 ; Marchiosi *et al.*, 2020).

Ils contribuent également aux caractéristiques sensorielles des plantes, des aliments et des produits cosmétiques (BrglezMojzer *et al.*, 2016). De plus, ils sont reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, notamment dans la prévention des maladies cardiovasculaires et du cancer, grâce à leurs propriétés antioxydants et anti-inflammatoires (Kadiata *et al.*, 2022).

I.2.2. Acides phénoliques

Les acides phénoliques, omniprésents dans les plantes, sont des composés essentiels caractérisés par un groupe phénol lié à un groupe hydroxyle -OH. Ils sont retrouvés dans diverses parties végétales telles que les fruits, légumes et céréales, agissant comme précurseurs pour de nombreux autres composés phénoliques (Lattanzio, 2013).

Ces acides, notamment les acides hydroxy-benzoïques et hydroxy-cinnamiques, remplissent plusieurs fonctions vitales : ils participent à la structure cellulaire, défendent contre les pathogènes et herbivores, stimulent la production de substances bénéfiques pour les plantes, agissent comme molécules de signalisation dans les symbioses, possèdent une activité antioxydants, et peuvent aussi avoir des effets phytotoxiques et allélo-pathiques (De Oliveira *et al.*, 2015 ; Marchiosi *et al.*, 2020).

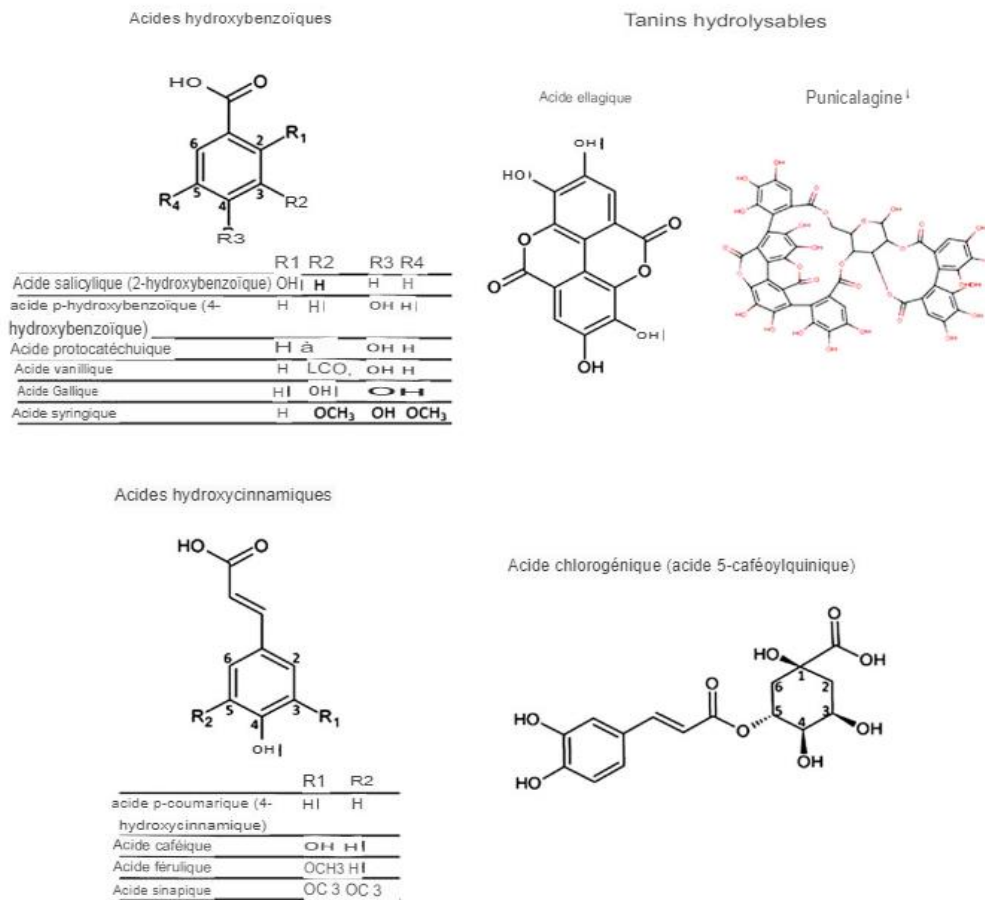


Figure N°6 Acides phénoliques (De La Rosa *et al.*, 2019).

Les acides phénoliques les plus rencontrés dans cette plante sont selon Singh *et al.*, (2016) :

- **Acide caféique** est un intermédiaire clef dans la biosynthèse de la lignine. C'est un dérivé de l'acide cinnamique qui a une structure proche de l'acide férulique et il appartient à la famille des phenyl-propanoïdes (C₉H₈O₄).
- **Acide coumarique** acide hydroxyl-cinnamique est un composé phytochimique dérivé de l'acide cinnamique (C₉H₈O₃).
- **Cyanide et cyanures** sont les composés de l'anion CN⁻, formé d'un atome de carbone lié par une liaison triple à un atome d'azote. L'ion CN⁻ est la base conjuguée de l'acide cyanhydrique.
- **Pelargonidine** est un pigment végétal de la famille des anthocyanidols. Elle possède une couleur rouge brun caractéristique et est présente dans de nombreux fruits rouges sous forme glycosylée (C₁₅H₁₁O⁵⁺).

I.2.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, catégorie de composés phénoliques présents dans les plantes, sont caractérisés par une structure de base composée de deux anneaux aromatiques reliés par trois carbones (Singla *et al.*, 2019). Ils sont généralement responsables de la coloration des fleurs et des fruits (Di Carlo *et al.*, 1999).

Ils existent sous forme de glycosides solubles, avec différentes substitutions qui modifient leurs propriétés physico-chimiques, notamment leur hydrophilie et lipophilie (Cazaroli *et al.*, 2008). Selon les modifications de leur structure chimique, les flavonoïdes sont divisés en plusieurs familles, notamment les anthocyanes, les flavones, les flavonols et les isoflavones (Galleano *et al.*, 2010).

Ces composés jouent un rôle important dans le traitement de diverses affections, tels que le diabète (en inhibant l'aldose réductase), la goutte (en inhibant la xanthine oxydase), les inflammations (en inhibant la lipoxygénase, la phospholipase et la cyclo-oxygénase), les hépatites, les tumeurs, l'hypertension (notamment la quercétine), les thromboses (flavonols), les allergies, et les affections bactériennes et virales, y compris l'anti-HIV (Marín *et al.*, 2002).

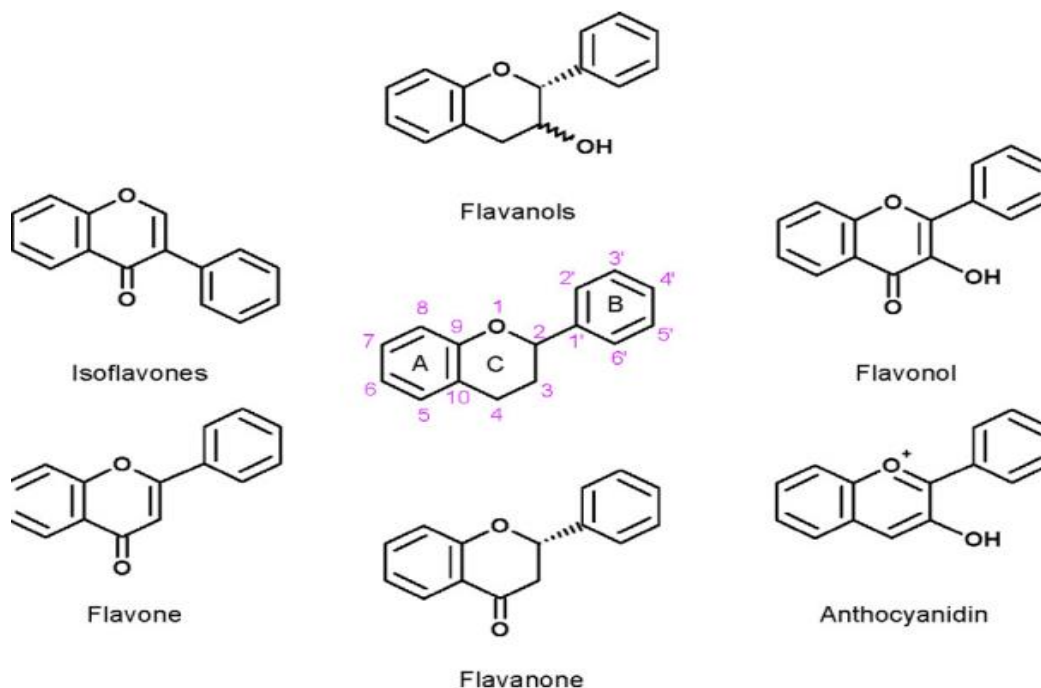


Figure N°7 Structure de base des principaux flavonoïdes (Galleano *et al.*, 2010).

Types de flavonoïdes présents dans *D.maritima* selon (Singh *et al.*, 2016) :

- **Kaempferol**, un flavonol, pigment jaune peu soluble dans l'eau ($C_{15}H_{10}O_6$).
- **Quercetin** est un pigment des feuilles et des fruits et qui renforce la paroi capillaire ($C_{15}H_{10}O_7$).
- **Taxifolin dihydro-quercétine** est un composé organique de la famille des flavanonols, un sous-groupe de flavonoïdes ($C_{15}H_{12}O_7$).
- **Vitexin** est un flavone, plus précisément un hétéroside ($C_{21}H_{20}O_{10}$).
- **Vicenin** est légèrement soluble (dans l'eau) et un composé très faiblement acide ($C_{26}H_{28}O_{14}$).
- **Isoorientin** est un hétéroside de la famille des flavones ($C_{21}H_{20}O_{11}$).
- **Scoparin** matière colorante jaune présente seulement dans les fleurs, plusieurs alcaloïdes, le plus important étant la spartéine ($C_{22}H_{22}O_{11}$).

I.2.4. Tannins

Ce sont des substances naturelles présentes dans les fruits, les fleurs, les feuilles et les écorces âgées des plantes, se caractérisent par au moins un noyau aromatique associé à des groupements phénoliques hydroxylés (Rira, 2020). On distingue deux principales catégories : les tanins hydrolysables, composés de polyphénols liés par une liaison ester à un fragment d'hexose, et les tanins condensés, polymères de flavan-3-ol ou flavan-3,4-diol (Zimmer et Cordesse, 1996; McMahon *et al.*, 2000).

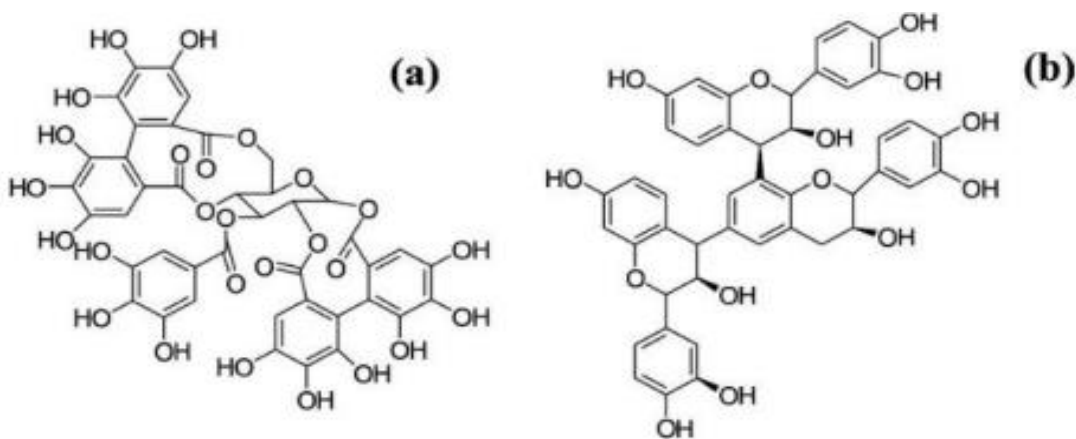


Figure N°8 Structure des tanins (A) hydrolysables et (B) condensés (Bayart, 2019).

Les tanins, grâce à leur nature hautement hydroxylée, forment des complexes insolubles avec les glucides et les protéines, conférant diverses propriétés biologiques et chimiques (Ajila *et al.*, 2011). Ils exercent des effets antioxydants, antimicrobiens, protecteurs cardiovasculaires et anti-inflammatoires (Chira *et al.*, 2008).

Bien que considérés comme des anti-nutriments en raison de leur capacité à former des complexes avec les protéines et les enzymes digestives, les tanins présentent une activité anticancéreuse, antimutagène et antiproliférative (Ajila *et al.*, 2011).

I.2.5. Stéroïdes

Les stéroïdes, dérivés du noyau stérol, sont issus du squalène par la voie du mévalonate et présentent diverses fonctions biologiques (Boumediene et Boughlem, 2018). Ils peuvent se former à partir de la prégnénolone pour donner des stéroïdes spécifiques tels que les œstrogènes et les androgènes (Ramawat *et al.*, 2009).

Les stéroïdes végétaux incluent des cardénolides cardiotoniques, des alcaloïdes stéroïdiques, des saponosides et des phytostérols. Les glycosides cardiaques, influençant le muscle cardiaque, sont composés d'un aglycone (cardénolide ou bufadiénolide) et d'un groupe glucidique hydrophile en C-3 (Jha, 1988).

Composition en stéroïde de *D. maritima* selon Singh *et al.*, (2016) :

- **Scilliroside** ; hétéroside d'origine végétale obtenu par extraction de la Scille maritime (variété rouge) (C₃₂H₄₄O₁₂).
- **Thevetoside** ; glycoside cardiaque ; molécule cardiotonique (C₃₀H₄₄O₉).
- **Glucoscilliroside** ; Glycoside cardiaque, précurseur de vitamine D (C₃₈H₅₄O₁₆).
- **Scillirosidin** ; un bufanolide, lactone stéroïde. (C₂₆H₃₄O₇).
- **Glucoscilliphaeoside** ; stéroïde, glucoside.(C₃₆H₅₂O₁₄).
- **Scillirubroside** ; Cardinolide (C₃₀H₄₂O₁₀).

I.2.6. Saponines

Les saponines, ou saponosides, sont des hétérosides présents dans de nombreuses plantes, caractérisées par leur activité tensioactive qui leur permet de former une mousse en solution aqueuse (Chaieb, 2010 ; Faizal et Geelen, 2013). Découvertes par Appelbaum en 1969, elles sont utilisées à des fins industrielles et pharmacologiques (Guillaume et Charrouf, 2005).

Chimiquement, elles comprennent une chaîne glucidique hydrophile et une structure lipophile triterpénique ou stéroïdique appelée aglycone. On distingue les saponosides à aglycone stéroïdique et ceux à aglycone triterpénique (Estrada *et al.*, 2000 ; Chaieb, 2010), comme le montre la figure N°9.

Les saponines jouent un rôle défensif en protégeant les plantes contre les micro-organismes phytopathogènes, les mammifères et les insectes phytophages, et possèdent diverses propriétés biologiques notamment anti-inflammatoires, antioxydants, anticancéreuses et antibactériennes (Sparg *et al.*, 2004 ; Faizal et Geelen, 2013).

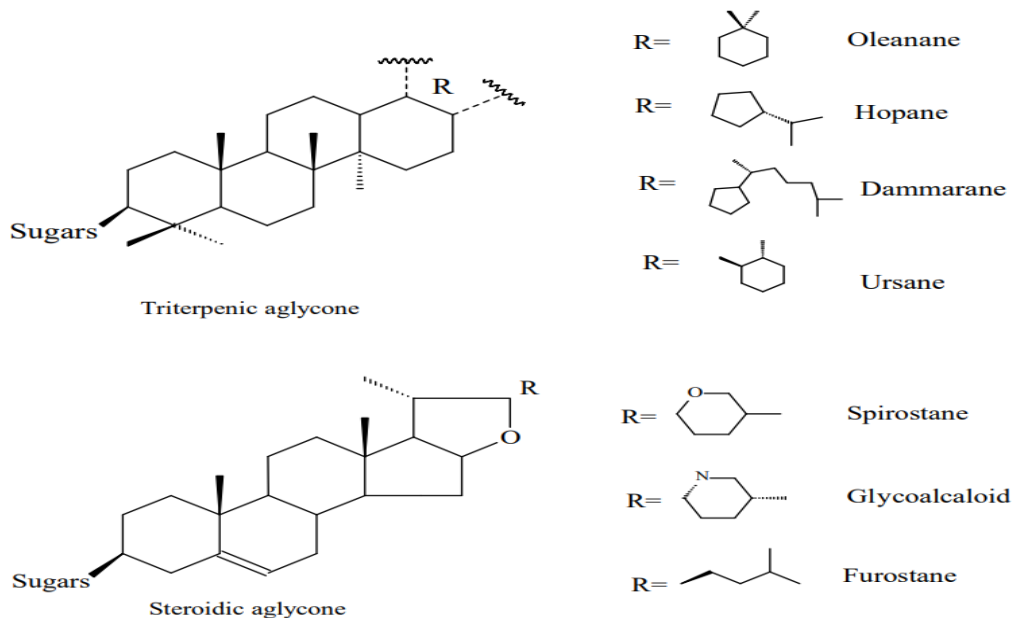


Figure N°9 Différentes structures de saponines (Chaieb, 2010).

I.2.7. Sucres totaux

Les sucres, ou glucides, sont des composés essentiels présents dans tous les organismes vivants, jouant divers rôles biologiques, notamment dans la reconnaissance cellulaire (Zong *et al.*, 2012). Dans les plantes, les sucres sont cruciaux pour la conversion en composés de stockage tels que les lipides, le saccharose ou l'amidon, et régulent les processus métaboliques en fonction de leur concentration (M'sakni *et al.*, 2006). De plus, certains sucres, comme la cellulose et la chitine, ont des rôles structuraux importants (Chao *et al.*, 2007) offrant des effets laxatifs, régulant le microbiote intestinal, et inhibant certaines bactéries pathogènes (Bousch, 2024).



Figure N°10 Structure de sucre (forme furane et pyrane) (Brut, 2009).

I.3. Généralités sur l'activité antioxydants

Les termes radicaux libres, espèces oxygénées activées (EOA), stress oxydant et antioxydants sont courants depuis les années 2000 (**Defraigne et Pincemail, 2008**). La production de radicaux libres est un processus normal dans le corps, contrôlé par des systèmes de défense antioxydants. Un déséquilibre entre antioxydants et pro-oxydants peut entraîner un stress oxydatif, nuisant aux cellules et aux tissus (**Favier, 2003**).

Les radicaux libres, molécules très réactives avec un électron non apparié, sont générés par divers processus, notamment la réduction de l'oxygène et la production de monoxyde d'azote (**Basaga, 1990**). Le peroxy nitrite (ONOO⁻), est particulièrement cytotoxique, causant des dommages cellulaires significatifs (**Diplock, 1991 ; Barouki, 2006 ; Favier, 2006**).

I.3.1. Origine des espèces réactives

I.3.1.1. Sources endogènes

La respiration mitochondriale produit naturellement des radicaux superoxydes en petite quantité, (**Barouki, 2006**). Cette production peut augmenter avec une activité physique intense, l'inflammation (comme avec le TNF α), ou des carences en nutriments comme l'ubiquinone, particulièrement avec l'âge (**Favier, 2003**). En l'occurrence, l'inflammation génère beaucoup de radicaux oxygénés via les cellules phagocytaires activées, grâce à l'enzyme NADPH oxydase (**Durand et al., 2013**).

Les cycles redox produisent aussi des radicaux libres, surtout par l'oxydation des quinones, via le cytochrome P450, également, la xanthine oxydase produit des radicaux superoxydes en oxydant la xanthine en acide urique (**Ghe et al., 1985 ; Durand et al., 2013**). De plus, la NADPH oxydase dans les neutrophiles génère des radicaux superoxydes lors de la salve respiratoire en réponse à un stimulus (**Basaga, 1990**).

I.3.1.2. Source exogène

Ils sont souvent créés par l'alcool, la fumée et certains médicaments (**Defraigne et Pincemail, 2008**). De plus, par des métaux toxiques comme le chrome, ainsi que des excès de fer ou de cuivre dans notre corps (**Ghe et al., 1985 ; Martemucci et al., 2022**). De même, des substances inhalées comme l'amiante ou la silice, contenant souvent des sels de fer (**Favier, 2003**). Enfin, les rayonnements ionisants comme les rayons X ou gamma, ainsi que les rayons ultraviolets du soleil, peuvent également créer des radicaux libres (**Durand et al., 2013**).

I.3.2. Rôle physiologique et/ou pathologique des radicaux libres

Les radicaux libres ont des rôles à la fois physiologiques et pathologiques dans notre corps. À faible quantité, ils agissent en tant que messagers secondaires dans de nombreux processus physiologiques vitaux, tels que la régulation cellulaire, la défense immunitaire et la neurotransmission (**Migdal et Serres, 2011**). Cependant, lorsque leur production dépasse les capacités antioxydantes naturelles de notre organisme, cela peut entraîner un stress oxydant. Ce surplus de radicaux libres peut causer des dommages significatifs aux cellules et aux tissus (**Barouki, 2006 ; Favier, 2006 ; Migdal et Serres, 2011**).

I.3.3. Les cibles des radicaux libres

Les radicaux libres et les espèces réactives oxygénées ciblent diverses molécules essentielles dans le corps humain. L'ADN est souvent endommagé par ces radicaux, provoquant des mutations génétiques (**Cheeseman et Slater, 1993**). Les protéines subissent des altérations comme des ruptures de chaînes et la formation de groupements carbonylés, ce qui peut entraîner une perte d'activité enzymatique et la formation d'agrégats cellulaires (**Favier, 2006 ; Haleng, 2007**).

Les acides gras poly-insaturés des lipides sont également attaqués, affectant la fluidité membranaire (**Genot et al., 2004**). De même, les radicaux hydroxyles peuvent découper les sucres, épaississant les membranes (**Pasquier, 1995**). Cependant, les lipoprotéines, lorsqu'elles sont oxydées, favorisent le développement de la une réponse inflammatoire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2002**).

I.3.4. Maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydant joue un rôle majeur dans le déclenchement de diverses maladies telles que le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse pulmonaire aigu, les œdèmes pulmonaires, et le vieillissement prématuré (**Martemucci et al., 2022**). Il aggrave également des affections multifactorielles comme le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Mu et al., 2021**).

Par exemple, dans l'athérosclérose, l'oxydation des LDL est cruciale car elle transforme les monocytes en cellules spumeuses (**Bonnefont-Rousselot et al., 2002**). De plus, le stress oxydant contribue à d'autres facteurs de risque comme l'insulinorésistance, l'activation des cellules endothéliales produisant des médiateurs pro-oxydants (**Defraigne et Pincemail, 2008**), la prolifération des fibres lisses, et l'action de l'homocystéine par la production de radicaux libres lors de son métabolisme (**Pincemail et al., 2002**).

I.3.5. Les antioxydants

Les antioxydants sont des alliés essentiels pour notre santé, agissant contre les effets nocifs des espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent être produits naturellement par notre organisme (antioxydants endogènes) ou provenir de notre alimentation (antioxydants exogènes) (**Dangles, 2020 ; Prenzler *et al.*, 2021 ; Mu *et al.*, 2021**). Ils agissent en les piégeant pour former des composés stables et en séquestrant le fer libre, en agissant ainsi, les antioxydants contribuent à maintenir notre santé globale et prévenir diverses maladies (**Goudable et Favier, 1997 ; Léger, 2006 ; Martemucci *et al.*, 2022**).

I.3.5.1. Antioxydants endogènes :

Au niveau cellulaire, la production des ERO est contrôlée par des systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques

I.3.5.1.1. Antioxydants enzymatiques

En effet, la cellule est dotée de nombreuses enzymes à activité antioxydants comme la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT) (**Goudable et Favier, 1997**).

I.3.5.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Les cellules ont des moyens pour contrer les effets des radicaux libres avec des enzymes et des antioxydants non enzymatiques comme le glutathion, l'acide lipoïque, L'arginine, l'ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, et la bilirubine (**Goudable et Favier, 1997**). Par exemple, le glutathion joue un rôle crucial dans la diminution des radicaux libres et le maintien de l'équilibre redox cellulaire (**Favier, 2003**), là où les vitamines E et C protègent également les membranes cellulaires (**Cheeseman et Slater, 1993**).

III.5.2. Antioxydants d'origine végétale

Les antioxydants d'origine végétale sont utilisées directement ou après des modifications chimiques, tels que les vitamines E et C, les caroténoïdes, les polyphénols, ainsi que des minéraux comme le sélénium, le manganèse et le zinc (**Dangles, 2020**).

I.4.Généralités sur l'activité anti-inflammatoire

I.4.1. L'inflammation

L'inflammation est un processus complexe et crucial pour la protection de l'organisme contre diverses menaces, allant des infections aux dommages tissulaires (**Rotelli, 2003**). Elle se déroule en plusieurs étapes, de la détection initiale des signaux de danger au processus de guérison et de cicatrisation. Bien qu'essentielle, une inflammation excessive peut causer des symptômes désagréables.

Elle peut également survenir en l'absence d'infection visible, comme dans le cas de l'inflammation métabolique liée à des conditions telles que l'obésité (**Rohm et al., 2022**).

I.4.1.1 Les différents types de l'inflammation

I.4.1.1.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë correspond à une réaction instantanée et précoce à un agent agresseur, marquée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. On peut la répartir en trois étapes principales : une phase vasculaire immédiate, une phase cellulaire consécutive, et une phase de résolution et de cicatrisation (**Cavaillon, 2020**).

I.4.1.1.2 L'inflammation chronique

La transition d'une inflammation aiguë vers un état chronique peut résulter de divers facteurs, notamment des métabolites bactériens intestinaux et des perturbations physiologiques telles que le tabagisme et l'obésité (**Ahmed, 2011 ; Al Bander et al., 2020 ; Wu & Ballantyne, 2020**). Ces conditions peuvent conduire à une inflammation subaiguë ou chronique, caractérisée par la présence de divers types cellulaires, dont les macrophages jouant un rôle central (**Pahwa, 2020**).

I.4.1.2. Mécanisme de l'inflammation

Les cellules immunitaires et les cellules tissulaires détectent ces signaux grâce à des récepteurs spécifiques, déclenchant la production de médiateurs inflammatoires comme les cytokines et les chimiokines. Ces médiateurs provoquent la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité vasculaire, permettant ainsi l'arrivée de liquide et de cellules immunitaires sur le site de l'inflammation (**Henrotin et al., 2001**).

Les chimiokines attirent spécifiquement les neutrophiles, monocytes et lymphocytes vers la zone touchée, tandis que d'autres médiateurs comme les opsonines et les protéines du complément participent à l'activation des cellules immunitaires et à la cicatrisation tissulaire.

Une fois activées, les cellules immunitaires accomplissent leurs fonctions, comme la phagocytose des pathogènes et la sécrétion de médiateurs supplémentaires pour réguler et résoudre l'inflammation, favorisant ainsi la réparation des tissus endommagés (Figure 11) (Weill et Batteux, 2003 ; Ahmed, 2011).

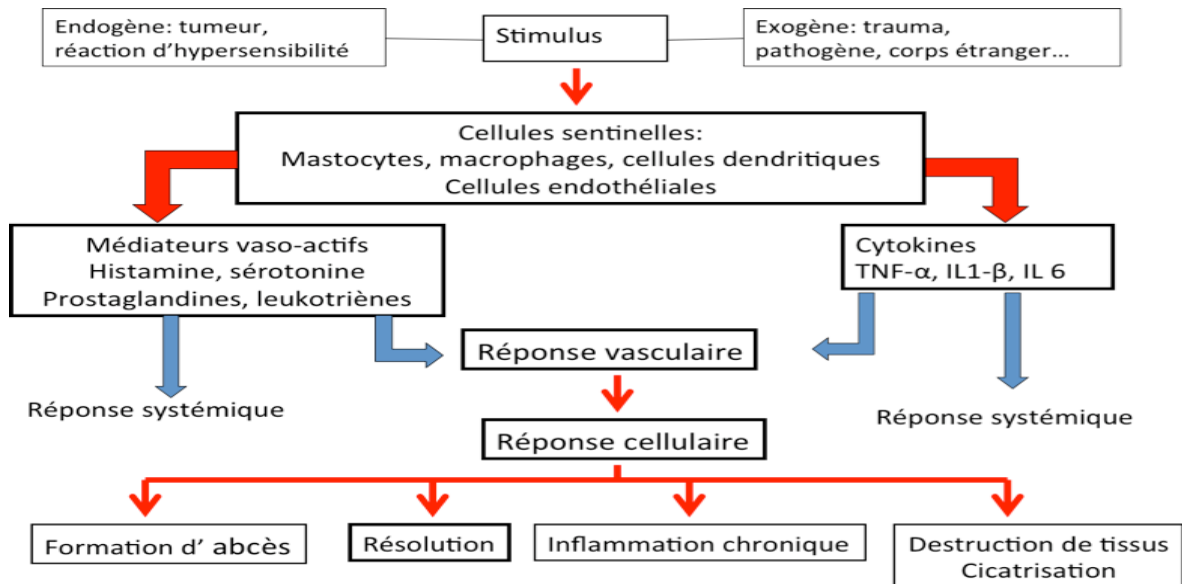


Figure N°11 Mécanisme d'action de l'inflammation (ArcaNatura, 2018).

I.4.1.3. Les Maladies inflammatoires

Les maladies inflammatoires, représentées dans la figure suivante, englobent un large éventail de conditions pathologiques caractérisées par une réponse immunitaire excessive qui provoque des lésions tissulaires et une inflammation chronique.

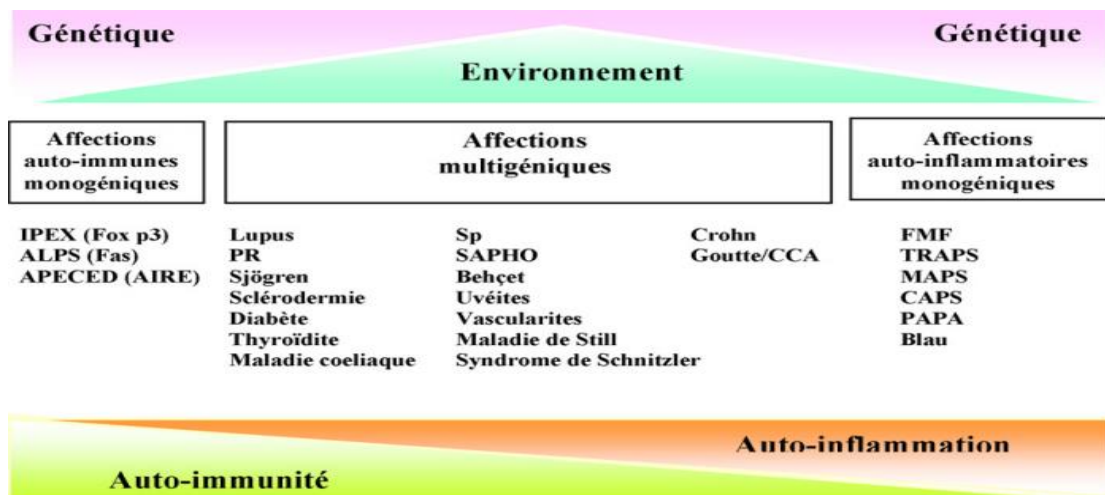


Figure N°12 Schéma représentatif de quelques maladies inflammatoires (Ben Abdelghani et al., 2010).

I.4.2.1. Anti-inflammatoires

Leur objectif principal est de contrôler l'inflammation excessive et d'éviter sa progression vers une phase chronique (**Muster, 2005**). Ces médicaments ont souvent des propriétés antipyrétiques et antalgiques. On les classe en deux catégories principales : les stéroïdiens (AIS) les non stéroïdiens. Leur mécanisme d'action consiste généralement à inhiber des enzymes, protéines et facteurs inflammatoires, ou à favoriser la réponse anti-inflammatoire (**Yatoo et al., 2018**).

I.4.2.1.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens bloquent l'action des enzymes cyclo-oxygénases COX-1 et COX-2, ce qui réduit la production de prostaglandines responsables de la fièvre, de la douleur et de l'inflammation (**Tsurufuji et al., 1980**). Malgré leur large utilisation pour traiter des conditions comme la polyarthrite rhumatoïde et l'ostéoarthrite, ces médicaments présentent des risques potentiels (**Bacchi et al., 2012**).

Des études suggèrent qu'ils pourraient augmenter le risque de complications bactériennes graves, en particulier dans les infections pulmonaires, selon des analyses pharmacologiques supplémentaires (**Micallef et al., 2020**).

I.4.2.1.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Leur activité hormonale régule principalement le métabolisme et supprime l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (**Tsurufuji et al., 1980**). Ces médicaments agissent en inhibant la production ou la libération de prostaglandines, notamment par la suppression de l'action de la phospholipase A2, et exercent une action cytoplasmique et génomique en réprimant l'expression de gènes pro-inflammatoires (**Vane et Botting, 1996 ; Muster, 2005**). Cependant, leur utilisation excessive peut entraîner des effets secondaires sévères tels que le syndrome de Cushing, l'immunosuppression, l'alopécie et le diabète (**Solcan, 2021 ; Stone et al., 2021**).

I.4.2.1.3. Les anti-inflammatoires d'origine naturelle

Certains composés naturels, comme ceux présents dans les plantes et les aliments tels que le miel, ont montré une activité anti-inflammatoire en ciblant des enzymes telles que les cyclooxygénases, les lipoxygénases, ainsi que des molécules comme le NO et la phospholipase A2 (**Yatoo et al., 2018**).

Ces substances suscitent un intérêt croissant et minimisent ainsi les effets secondaires indésirables associés aux médicaments synthétiques (**Azab et al., 2016**).

I.5. Généralités sur l'activité antibactérienne

I.5.1. Définition et structure des bactéries

Les bactéries, créatures unicellulaires sans noyau, se trouvent partout dans la nature (**Hart et Shears, 1997**). Pesant environ 10^{-12} grammes et composées à 70% d'eau, les bactéries colonisent massivement la peau, la bouche et l'intestin humain, avec environ 10^{12} bactéries sur la peau, 10^{10} dans la bouche et 10^{13} dans l'intestin (**Chevalier et al., 2008**). Si la plupart des bactéries sont inoffensives ou bénéfiques, certaines espèces peuvent causer des maladies infectieuses comme le choléra et la tuberculose (**Carlet et al., 2012**).

Structurée par une membrane cytoplasmique composée d'une double couche de phospholipides et de protéines, cette membrane puise des substances du milieu environnant et abrite des enzymes respiratoires et des ATPases pour la production d'énergie (**Hughes, 1962 ; Schaechter et al., 1999**). La paroi bactérienne est essentielle pour maintenir l'intégrité structurelle des bactéries et les protéger des variations de pression osmotique, varie selon les espèces, notamment absente chez les Mollicutes comme Mycoplasma (**Ghuysen, 1975 ; Akram et al., 2022 ; Debard et al., 2023**).

Le génome bactérien, principalement constitué d'un chromosome circulaire d'ADN, est organisé en une structure appelée nucléoïde, avec des enzymes comme l'ADN gyrase et la topoisomérase I jouant un rôle crucial dans la réplication de l'ADN (**Schaechter et al., 1999 ; Mejía-Almonte, 2020**). En plus du chromosome, les bactéries peuvent contenir des plasmides, des structures autonomes d'ADN bicaténaire qui se répliquent indépendamment et peuvent transporter des gènes conférant des capacités particulières, comme la résistance aux antibiotiques (**Akram et al., 2022**).

I.5.2. Classification des bactéries

Les bactéries peuvent être classées selon divers critères : morphologie microscopique (bacilles, coques, isolées, groupées), morphologie macroscopique (forme, taille, couleur des colonies), résultat de la coloration de Gram (Gram positif ou négatif), température de croissance, besoins respiratoires (aérobies, anaérobies strictes, aéro-anaérobies facultatives, micro-aérophiles), mobilité, présence de spores, et besoins nutritionnels spécifiques (**Krieg, 1988 ; Orla-Jensen, 1924**).

I.5.3. Bactérie a Gram (+) et Gram (-)

Les bactéries à Gram négatif, comme *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, possèdent une membrane externe unique contenant du lipopolysaccharide (LPS) qui les protège contre les agents chimiques nocifs (Schaechter *et al.*, 1999).

E. coli est un bacille commensal et pathogène important pour la génétique et la biologie moléculaire. Il présente une grande diversité antigénique et des défis de classification, certains isolats étant plus proches de *Shigella* (Liu *et al.*, 2020 ; Cobo-Simón *et al.*, 2023).

Pseudomonas aeruginosa, un pathogène opportuniste, produit des pigments détectables et forme des biofilms résistants aux antibiotiques, compliquant le traitement des infections chez les immunodéprimés (Lashéras *et al.*, 2006 ; Wu *et al.*, 2015). En revanche, les bactéries à Gram positif, telles que *Staphylococcus aureus*, ont une paroi épaisse de peptidoglycane. Un pathogène nosocomial, forme des biofilms qui le rendent résistant aux traitements et cause diverses infections, de la peau à la septicémie (Ouidir, 2018 ; Ondusko et Nolt, 2018).

I.5.4. Antibiotiques

I.5.4.1. Définition et classification

Les antibiotiques, découverts au XXe siècle, ont révolutionné la médecine en offrant une solution puissante contre les infections bactériennes. Initialement trouvés dans des substances naturelles produites par des organismes comme les levures du genre *Penicillium*, leur développement s'est étendu à d'autres micro-organismes et à la synthèse chimique pour créer des médicaments plus efficaces (Madec, 2024).

Selon Yala *et al.* (2001), il existe environ dix familles d'antibiotiques, classées selon leur origine (naturelle ou synthétique), leur composition chimique, leur activité (antibactérienne, antifongique, antimototique), leur mode d'action, et leur modalité d'action (bactériostatique ou bactéricide) (Yala *et al.*, 2001 ; Bouyahya *et al.*, 2017).

I.5.4.2. Mode d'action des antibiotiques

Leur mécanisme d'action varie, mais, trois principaux modes peuvent être identifiés : action sur la paroi (peptidoglycane ou membrane externe), action sur l'ADN, et action sur la synthèse des protéines (Mammeri et Amiens, 2013).

I.5.5. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques, un problème croissant et préoccupant, est attribuée à une utilisation excessive d'antibiotiques dans tous les secteurs, avec peu de nouveaux antibiotiques prévus sur le marché (Carlet *et al.*, 2012).

Cette résistance peut être naturelle, présente et transmise à leur descendance, ou acquise, touchant certaines souches par mutations chromosomiques ou acquisition de gènes extra-chromosomiques via des plasmides ou bactériophages. Elle compromet l'efficacité des traitements, rendant les infections courantes comme les pyélonéphrites et les péritonites de plus en plus difficiles à traiter, et augmentant les risques associés aux traitements complexes, à la chirurgie et aux thérapies immunosuppressives (Mammeri et Amiens, 2013).

I.5.6. Concentration minimale inhibitrice et concentration minimale bactéricide

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique est déterminée en laboratoire pour évaluer la sensibilité des bactéries à cet antibiotique, utilisée en clinique humaine et vétérinaire. Elle représente la plus faible concentration de l'antibiotique capable d'inhiber la croissance visible de toute bactérie après une période définie dans des conditions spécifiques. Une CMI plus basse indique une sensibilité plus élevée des bactéries à l'antibiotique testé (Gandia, 2022).

La concentration minimale bactéricide (CMB) est distinguée de la CMI en comparant in vitro ces deux concentrations. Un antibiotique est considéré comme bactéricide lorsque sa CMB est proche de sa CMI, indiquant qu'il tue efficacement les bactéries. En revanche, s'il existe une grande différence entre la CMB et la CMI, avec une CMB nettement supérieure, l'antibiotique est considéré comme bactériostatique (Toureche *et al.*, 2020).

La CMB représente la concentration minimale d'antibiotique qui laisse survivre un faible pourcentage de bactéries après une exposition prolongée, mesurée après la détermination de la CMI où les bactéries survivantes sont comptées à des concentrations d'antibiotiques plus élevées (Akram *et al.*, 2022).

I.5.7. Antibiogramme et méthode des disques

L'antibiogramme évalue la sensibilité d'une bactérie à divers antibiotiques, souvent par diffusion sur milieu gélosé avec des disques d'antibiotiques (NDOYE et Ndiaye, 2023). Il guide les choix thérapeutiques des médecins et surveille l'évolution de la résistance aux antibiotiques, identifiant les traitements les plus efficaces contre les infections bactériennes (Lamyl et Carretl, 2005).

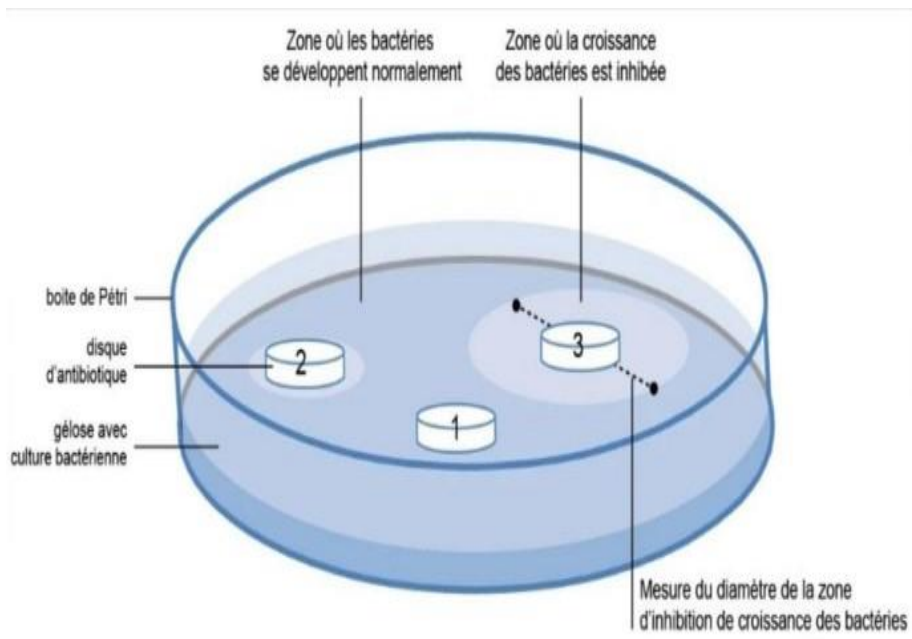


Figure N°13 Méthode des disques et antibiogramme (Raynaud, 2006).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II.1. Matériel :

II.1.1. Matériel non biologique :

II.1.1.1. Appareillages : Lors de la réalisation de ce travail, nous avons utilisé le matériel et les produits cités dans le tableau suivant :

Tableau N°I Liste de l'appareillage et des produits utilisés.

Appareils	Produits et milieu de culture
Etuve (MEMMERT)	Méthanol pure, Eau physiologique 0,9%
Autoclave (SANOCLAV)	Eau distillée, éthanol, vaniline, ABTS,
Rota vapeur (HEIDOLPH)	Disques oxydase, Géloses : Mueller Hinton,
Balance (KERN)	Réactif Folin-Ciocalteau, FeCl ₃ , Acide chlorhydrique Acide sulfurique.
Spectrophotomètre (Biochrom Libra)	
Broyeur électrique (KASTOFAN)	
Bec bunsen	
Agitateur (IKAMAG)	

II.1.1.2 Matériel végétal

La présente étude englobe un ensemble de tests, lesquels ont été réalisés sur L'extrait éthanolique de *Drimia maritima* graines (EEDMG), et L'extrait éthanolique de *Drimia maritima* Calices (EEDMC) des extraits lesquels ont été obtenus à partir d'une optimisation d'extraction.

II.2. Matériel biologique : Les souches bactériennes testées sont citées dans le tableau ci-dessous.

Tableau N°II Références des souches bactériennes testées.

Souches	<i>Pseudomona s aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Références	ATCC 27853	ATCC 5922	ATCC 25923	ATCC 6633

II.3.Lieu et période de travail

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires de biologie physico-chimiques et de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, université Abderrahmane Mira de Bejaia, pendant une période qui s'est étalée du 12/02/2024 au 10/05/2024.

II.4. Zone et période de la récolte

La récolte de la plante étudiée, a été réalisée dans la région steppique de la wilaya de Bejaia, à savoir dans la commune de Tala Hamza, plus exactement, Jamaa Oussaka proche de la route Nationale N75 (Figure N°14). Caractérisé par un climat sec et un sol à base céréaliculture, qui favorise le développement de cette plante pendant la période de jachère.



Figure N°14 Situation géographique de la zone de récolte de la plante.

II.2. Méthodes :

II.2.1. Préparation des échantillons

Les calices remplis de graines récoltés ont été triés manuellement afin de récupérer les graines de la plante et les isoler des calices puis broyés par un broyeur électrique et tamisés à l'aide d'un tamis 250 μm , afin d'avoir une poudre fine. Puis les poudres obtenues (poudre graine (PG) et poudre calice (PC)) ont été pesée, puis conservées dans des boites hermétiques à l'abri de lumière et à 4°C jusqu'à leurs utilisations dans les différentes expérimentations réalisées de la présente étude.

II.2.2. Récupération de l'huile des graines HG

Durant cette étapes nous avons procédé à la méthode de délipidation par l'hexane décrite par (Verger *et al.*, 1969). Cette technique repose sur le fait de traiter la poudre de graines par l'hexane pendant une période de temps sous la hotte jusqu'à épuisement de la poudre qui permettra d'éliminer environ 80 % des lipides) (NgandoEbongue *et al.*, 2006), ensuite, laisser de temps au solvant pour qu'il s'évapore et récupérer l'huile. Le pourcentage des lipides dans les graines a été ensuite calculé en pesant la poudre avant / après délipidation ainsi que le volume de l'huile récupérée.

$$\% \text{ de lipide} : (\text{poids de poudre avant délipidation} - \text{poids de poudre après délipidation}) \times 100$$

II.2.3. Optimisation

L'optimisation du protocole expérimental est une étape cruciale dans la planification et la réalisation de toute étude scientifique, ainsi, pour déterminer la meilleure combinaison de variables pour un rendement d'extraction et une activité antioxydants optimaux. Trois paramètres ont été vérifiés à savoir le temps d'extraction, la température et le rapport éthanol/eau.

En suivant les exigences de protocole après une étude préliminaire :

- Le temps d'extraction a été varié de 10 min à 40 min
- La température a été varié de 30°C à 50°C.
- Le rapport éthanol/eau a été varié de 20% à 80%.

Durant cette optimisation deux tests ont été étudiés sur tous les échantillons.

- ✓ Test du pouvoir antioxydants par ABTS.
- ✓ Test des polyphénols totaux par le test de Folin-Ciocalteu.

Protocol d'optimisation suivit

II.2.3.1. Préparation des extraits

Les poudres ont été pesées dans des tubes en verre et conservées à l'abri de la lumière et à 4°C. Puis, 2ml de solutions éthanoliques à différentes concentrations ont été ajouté à chaque tube contenant les poudres. Les mélanges poudres/éthanol ont été mis sous agitation dans un bain marie maintenue à des températures choisies.

Au final, les solutions ont été centrifugées à 1000 rpm, durant 3minutes. Les surnageants ont été utilisés simultanément pour les tests de dosage des polyphénols et de l'ABTS.

II.2.3.2. Préparation des tests :

II.2.3.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux :

Nous avons suivi le protocole décrit par **Singleton et Rossi, (1965)** pour déterminer la teneur en composés phénoliques totaux à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu. Les étapes de ce protocole comprennent le mélange d'extrait végétal EEDMC avec 750 µl de Folin-Ciocalteu (1/10) et un volume d'EEDMG avec 500 µl de Folin-Ciocalteu (1/10). Après agitation à température ambiante pendant 1 minute, le mélange a été incubé 10min, puis 675 µl de carbonate de sodium à 7,5 % pour l'EEDMC et 400 µl pour l'EEDMG sont ajoutés.

Après une incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 2 heures, les densités optiques (DO) ont été lues à 765 nm. La concentration en composés phénoliques totaux a été déterminée en se référant aux courbes d'étalonnage obtenue avec de l'acide gallique comme standard. (Annexe 4)

II.2.3.2.2. Test de pouvoir anti oxydant par ABTS

La méthode utilisée pour déterminer l'activité scavenger du radical ABTS^{•+} a été réalisé selon le protocole décrit par **Re et al. (1999)**. Pour l'EEDMC, un volume a été mélangé avec 1925 µl de solution ABTS, tandis que pour l'EEDMG, 150 µl ont été mélangés avec un volume de solution ABTS. Le mélange a été laissé incuber à l'obscurité pendant 2 heures, puis une lecture a été effectuée à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

II.2.3.3. Analyse des résultats :

Les résultats obtenus ont été introduits dans le logiciel JMP, lequel nous a indiqué les tests à réaliser dans notre pratique.

JMP ou bien (JMP Statistical Discovery Software) est un logiciel d'analyse statistique développé par SAS Institute. Il est largement utilisé dans le domaine de la recherche scientifique, de l'ingénierie, de la biologie, de la médecine, de la finance et d'autres domaines où des analyses statistiques avancées sont nécessaires. JMP offre une gamme complète d'outils pour l'exploration des données, la modélisation statistique, la conception d'expériences, l'analyse de la variance, la régression, l'analyse des séries chronologiques, l'analyse de survie, et bien plus encore(**Jones et Sall, 2011**).

II.2.4. L'extraction

Selon les résultats fournis par JMP, le protocole adopté est le suivant, des quantités de poudre de calices et de graines ont été mélangées avec 500 ml d'éthanol à 20 %. Les mélanges ont été chauffés au bain-marie sous agitation (10 minutes à 40°C pour les calices et 29 minutes à 50°C pour les graines), puis centrifugés à 3500 tours/min pendant 15 minutes. Le surnageant a été récupéré et placé dans un Rotavapeur pour éliminer le solvant organique, suivi d'une étuve à 40°C pendant 48 heures. Après évaporation totale, l'extrait a été pesé pour calculer le rendement massique. L'extrait est conservé à 4°C pour des tests ultérieurs. Le calcul du rendement massique est fait selon la formule suivante :

$$R\% = (\text{Masse d'extrait sec} / \text{Masse de la matière végétale}) \times 100$$

II.3. Analyses phytochimiques

Des analyses phyto-chimiques ont été effectuées sur l'EEDMC et EEDMG afin d'évaluer sa teneur en composés bioactifs.

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des extraits de plantes obtenues après optimisation finale a été évaluée par la méthode de Folin-Ciocalteu qui mesure la réduction de la mixture phosphotungstique et phosphomolybdique du réactif de Folin par les composés phénoliques en milieu alcalin, formant un produit bleu dont l'absorbance est mesurée à 765 nm et cela, selon le protocole réalisé durant l'optimisation.

Une droite d'étalonnage avec de l'acide gallique a été utilisée pour exprimer les polyphénols totaux en milligrammes d'équivalent acide gallique (Annexe 4).

II.2.5.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes dans l'EEDMC et l'EEDMG a été réalisée par la méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun *et al.*, 1994**), formant un complexe jaunâtre mesuré à 430 nm. Un volume de 0,3 ml d'extrait a été mélangé avec 0,6 ml d'AlCl₃, puis incubé à l'obscurité pendant 15 minutes. L'absorbance a été mesurée à 430 nm. Une droite d'étalonnage avec de la quercétine permet d'exprimer les flavonoïdes en milligrammes d'équivalents quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g) a été réalisée. (Annexe 4)

II.3.3 Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode de **Hagerman et Butler, (2002)** basée sur la formation d'un complexe coloré rouge entre la vanilline et les tanins en présence d'acide chlorhydrique, mesuré à 470 nm. Un volume d'EEDMC et d'EEDMG ont été mélangé à de la vanilline dissoute dans le méthanol, puis à de l'acide chlorhydrique concentré. Après 20 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 470 nm. Une droite d'étalonnage avec de la catéchine a permis d'exprimer le taux de tanins en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g) (Annexe 4).

II.3.4 Tanins hydrolysables

La quantification des tanins hydrolysables dans l'EEDMC et l'EEDMG a été réalisée selon la méthode de **Mole et Waterman, (1987)**. Un volume de 0,5 ml d'extrait a été mélangé avec du chlorure ferrique (FeCl₃). Après 5 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 660 nm.

Une droite d'étalonnage avec de l'acide tannique a permis d'exprimer le taux de tanins hydrolysables en milligrammes d'équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g) (Annexe 4).

II.3.5 Dosage des saponines

Le dosage des saponines des deux extraits a été réalisé selon la méthode de **Shiau *et al.* (2009)**. Un volume de 125 µl d'échantillon a été mélangé avec de la vanilline à 8 % et de l'acide sulfurique. Après 10 minutes, l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 544 nm. Une droite courbe d'étalonnage avec de la diosgénine a permis d'exprimer le taux de saponines en milligrammes d'équivalent diosgénine par gramme d'extrait (mg ED/g). (Annexe 4)

II.3.6 Dosage des sucres totaux

Le dosage des sucres totaux a été réalisé selon la méthode de phénol/acide sulfurique de **Du Bois *et al.* (1956)**. Des. Un volume d'extrait a été mélangé avec de l'acide sulfurique à 95 %, suivi de l'ajout d'une solution de phénol. Après agitation, l'absorbance de la couleur jaune-orange a été mesurée à 485 nm. Une droite d'étalonnage avec du D-glucose a permis d'exprimer le taux de sucres totaux en milligrammes d'équivalent D-glucose par gramme d'extrait (mg EDG/g) (Annexe 4).

II.4. Activité anti inflammatoire

II.4.1. Dosage d'oxyde nitrique NO

Le dosage de l'oxyde nitrique (NO) repose sur la génération spontanée d'oxyde nitrique par le nitroprussiate de sodium en solution aqueuse à pH physiologique, qui interagit avec l'oxygène pour produire des ions nitrites, mesurables avec le réactif de Griess (**Ebrahimzadeh *et al.*, 2010**). L'évaluation de l'effet radicalaire du NO a été réalisée selon la méthode de (**Sousa *et al.* 2008**).

Un volume d'extrait a été mélangé avec 0,5 ml de nitroprussiate de sodium (PBS, pH=7,4) et incubé à la lumière.

Ensuite, 1 ml de réactif de Griess a été ajouté et l'absorbance a été mesurée à 562 nm. Le pourcentage d'inhibition du radical NO a été calculé selon la formule :

% d'inhibition = $[(A \text{ cont} - A \text{ test}) / A \text{ cont}] * 100$, où **A cont** représente l'absorbance du contrôle et **A test** celle de la solution d'essai.

II.5. Evaluation de l'activité antioxydants :

Le potentiel antioxydants de l'EEDMC / EEDMG a été évalué par :

II.5.1. Test ABTS :

La méthode utilisée pour déterminer l'activité scavenger du radical ABTS^{•+} a suivi le protocole décrit par **Pellegrini et al. (1999)**. Un volume des extraits a été mélangé avec un volume de solution ABTS^{•+} préparée, puis le mélange a été laissé incubé pendant 2 heures à l'obscurité. Ensuite, une lecture a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à 734 nm.

En parallèle, le même protocole a été réalisé avec le Trolox, un antioxydants de référence choisi. Ensuite, une droite d'étalonnage a été réalisée pour les deux extraits et pour la molécule de référence pour déterminer la valeur IC50.

Par la suite le pourcentage d'activité scavenging du radical ABTS^{•+} a été déterminé selon la formule : **% Scavenging du radical ABTS^{•+} = (Ac-Ae) / Ac × 100**, où **Ac** représente l'absorbance du contrôle et **Ae** l'absorbance de l'échantillon.

II.6. Evaluation de l'activité antibactérienne

La sensibilité de différentes souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*) a été testée en utilisant trois types d'extraits : l'extrait éthanolique des calices (EEDMC), l'extrait éthanolique des grains (EEDMG), et l'huile végétale des grains (HG) de la plante étudiée.

Cette évaluation a été effectuée en utilisant la technique de diffusion en milieu gélosé, où l'activité biologique a été observée par la formation d'un halo d'inhibition autour des disques contenant les extraits, mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (**Galudec, 2022**) pour évaluer leur effet sur la croissance microbienne.

II.6.1 Préparation des disques et des milieux de culture

Des disques de papier Whatman N°2 de 6 mm de diamètre, stériles après avoir été autoclavés à 120°C pendant 15 minutes, ont été préparés. Parallèlement, la gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été versée dans des boîtes de Petri stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur uniforme de la gélose dans chaque boîte est d'environ 4 mm. Avant utilisation, ces boîtes ont été laissées sécher pendant 30 minutes à la température ambiante du laboratoire, conformément au protocole de **Rota et al. (2008)**.

II.6.2. Préparation de la solution d'eau physiologique 0,9%

L'eau physiologique a été préparée en mélangeant du sel (NaCl) avec de l'eau distillée à raison de 9 g de sel dans 1 L d'eau distillée. Ensuite, le pH a été ajusté en utilisant une base (NaOH) jusqu'à obtenir un pH maximal de 7,2. Des tubes à essai ont été préparés en les remplissant de 9 ml d'eau physiologique stérile et autoclavée.

II.6.3. Préparation des extraits

Pendant cette évaluation, quatre concentrations d'extrait seront testées (10, 25, 50 et 100 mg/ml). Ensuite, les extraits à différentes concentrations ont été conservés à une température de -20°C.

II.6.4. Protocole de test

II.6.4.1. Préparation d'une suspension

Pour préparer une suspension de concentration équivalente à 0,5 Mc Farland, une colonie bien isolée d'une culture jeune (24h) a été prélevée à l'aide d'une anse de platine flambée et déchargée dans un tube à essai contenant de l'eau physiologique (Akroum, 2021).

II.6.4.2. Préparation de la suspension bactérienne 10^8

Pour préparer une suspension bactérienne de 10^8 , la méthode suivante a été utilisée : devant un bec bunsen, une boîte de Pétri contenant la souche bactérienne a été placée. Une anse de platine chauffée et stérilisée a été utilisée pour prélever une quantité de la souche bactérienne, placée ensuite dans un tube d'ensemencement avec de l'eau physiologique.

Le tube a été agité légèrement pour homogénéiser la suspension, puis l'absorbance a été mesurée à 625 nm, une longueur d'onde spécifique aux bactéries. La quantité de souche prélevée est ajustée dans le tube d'ensemencement jusqu'à ce que l'absorbance se situe entre 0,08 et 0,1, correspondant à une concentration de 10^8 bactéries par millilitre. Ensuite, la suspension a été diluée à 10^6 pour obtenir une concentration plus diluée.

II.6.4.3. Préparation des boîtes (marquage et ensemencement par écouvillonnage)

Sur chaque boîte, on marque le nom de la souche bactérienne, la date et le nom de l'extrait à tester. Ensuite, on trace les emplacements des disques selon les différentes concentrations à tester, et on marque spécifiquement l'emplacement du contrôle négatif. Pour l'ensemencement, on utilise un écouvillon stérile pour étaler uniformément les bactéries sur la gélose dans les boîtes de Pétri préalablement coulées, en veillant à obtenir une distribution homogène des bactéries devant le bec Bunsen.

II.6.4.4. Application des disques et pose des extraits

Les disques de papier filtre sont appliqués à la surface de la gélose préalablement inoculée à l'aide d'une pince stérile. Pour chaque boîte de bactéries inoculée, un disque témoin et un disque antibiotique servant de positif sont également déposés. Il est important de ne pas chauffer les disques avec la pince flambée. Les tests ont été réalisés en double essai, avec deux boîtes pour chaque souche bactérienne et chaque extrait.

Ensuite, 10 µl d'extrait ont été injectés sur les disques placés selon chaque concentration (de 10 à 100) à l'aide d'une micropipette 10 µl et d'embouts stérilisés. Les disques antibiotiques (Amoxiciline a10mg/ml) et le disque témoin (eau distillée) sont également traités de la même manière. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 2 heures à -20°C pour permettre une pré-diffusion, réduire la croissance bactérienne et permettre aux extraits de bien se placer et de diffuser. Enfin, une incubation supplémentaire de 24 heures à 37°C est réalisée dans l'étuve.

II.6.5. Test de l'huile des graines

Pour l'huiles la méthode des spots a été utilisée décrite par **Lewus et Montville (1991)**. Cela implique de déposer des spots des huiles, des extraits à tester, ainsi que des antibiotiques témoins positifs, sur la surface de la boîte de Petri contenant le milieu de culture, préalablement inoculée. Ensuite, une incubation de 24 heures à une température de 37°C est réalisée. Deux répétitions ont été effectuées pour chaque souche bactérienne testée

Pour la lecture des résultats de l'activité antibactérienne, le diamètre d'inhibition a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle en millimètres. La zone d'inhibition est caractérisée par l'absence de croissance bactérienne autour du disque après 24 heures d'incubation à 37°C. Les diamètres d'inhibition sont interprétés selon la sensibilité des souches aux extraits :

- Non sensible (-) ou résistante : diameter < 8 mm;
- Sensible (+) : diamètre entre 9 et 14 mm;
- Très sensible (++) : diamètre entre 15 et 19 mm;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'optimisation

Le protocole d'optimisation a permis de déterminer les conditions d'extraction optimales pour obtenir un extrait brut riche en composés phénoliques avec une activité antioxydants maximale. En intégrant les résultats des taux de polyphénols et des pourcentages d'inhibition dans le logiciel JMP Pro14, nous avons obtenu les résultats suivants :

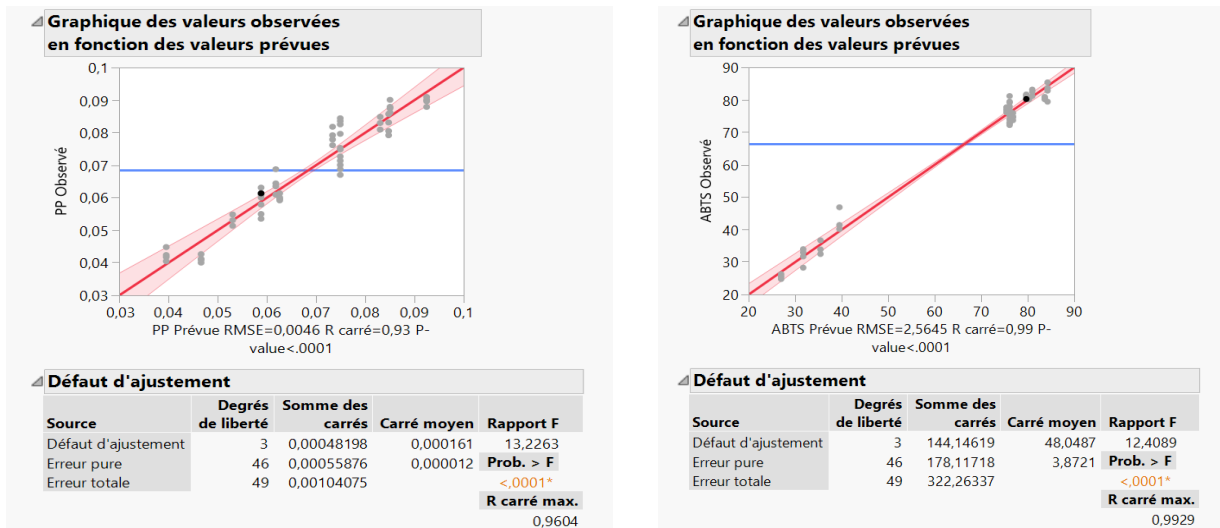


Figure N°15 Coefficient de détermination des protocoles d'extraction polyphénols et pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour les calices de *D.maritima*.

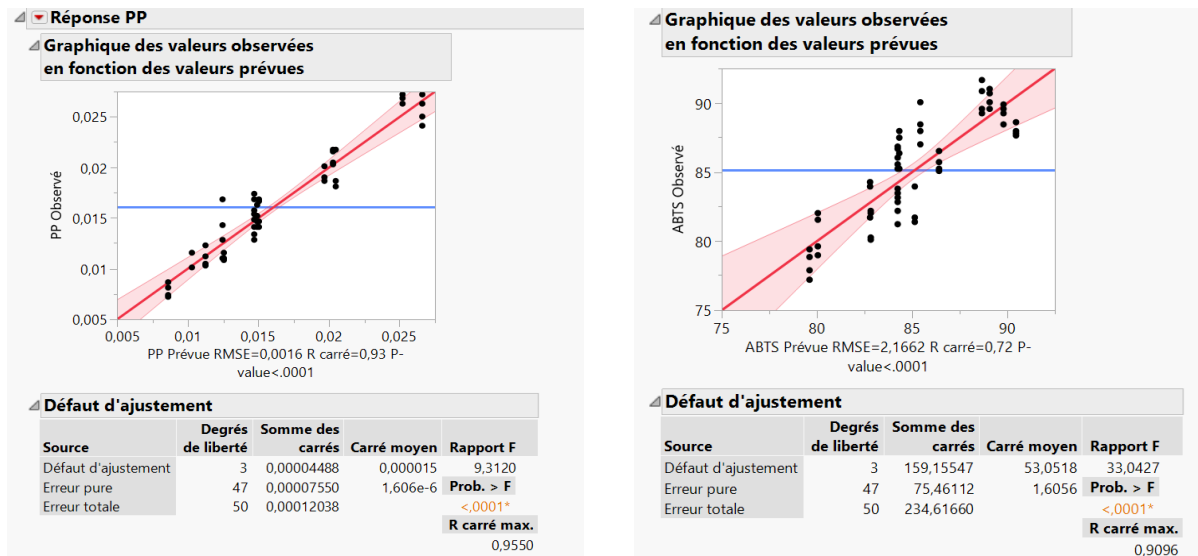


Figure N°16 Coefficient de détermination des protocoles d'extraction polyphénols et pourcentage d'inhibition de l'ABTS pour les graines de *D. maritima*.

Les résultats des tests ABTS et des polyphénols totaux pour les calices et les graines révèlent des corrélations positives importantes. Pour les calices, le modèle explique respectivement 99 % et 93 % de la variation des valeurs observées, avec des valeurs de p inférieures à 0,0001 pour les deux tests, confirmant leur significativité statistique.

Les défauts d'ajustement et les erreurs purs sont faibles pour les calices, avec des rapports F élevés, démontrant une bonne adéquation des modèles aux données. En comparaison, les graines présentent également des corrélations positives, mais avec des R^2 de 0,72 et 0,93 pour les tests ABTS et polyphénols totaux respectivement. Les rapports F sont élevés pour les graines, confirmant la validité statistique des modèles.

Cependant, les calices montrent une meilleure capacité à expliquer la variation des valeurs observées, avec des R^2 maximaux plus élevés (0,9929 et 0,9604) par rapport aux graines (0,9609 et 0,9550). Ces résultats mettent en évidence une différence significative dans la réponse des calices et des graines aux tests ABTS et aux polyphénols totaux, suggérant des mécanismes différents de réactivité aux composés antioxydants.

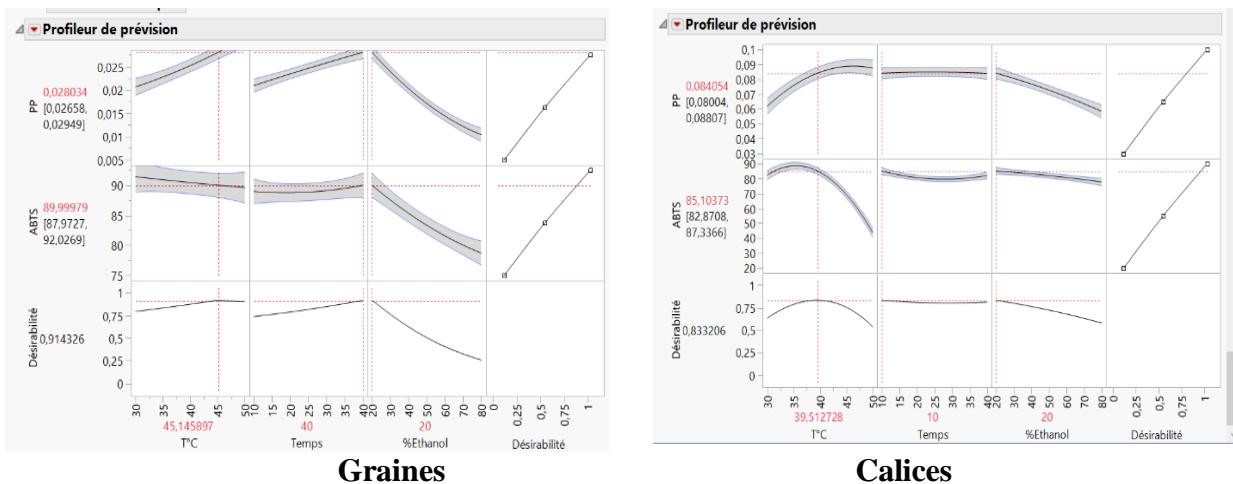


Figure N°17 Résultats obtenus par le logiciel JMP pour l'EEDMC et l'EEDMG

Les résultats obtenus ont guidé nos choix concernant les valeurs de température, le pourcentage d'éthanol à utiliser, et la température à respecter afin de sélectionner les paramètres optimaux pour l'extraction. (Tableau III) Ces paramètres nous permettent d'atteindre des conditions d'extraction optimales, avec une désirabilité de 91,4% pour les EEDMG et 83,3% pour les EEDMC.

Tableau N°III Résultats obtenu par JMP pro 14

les parameters	Calices	Graines
% ethanol	20%	20%
temperature	39°C	45°C
Temps	10min	40min

III.2. Rendement de la délipidation par l'hexane de la poudre des graines

Après avoir soumis les graines a une délipidation pendant plus de 24h sous la hotte nous avons récupérer a l'huile des graines et la poudre des graines sans lipides et le rendement a était calculer les résultats sont exprimer dans (le tableau IV).

Tableau N°IV les paramètres de la délipidation par hexane

Poids de PG avant délipidation	Poids de PG après délipidation	Le poids de l'huile	Le volume de l'huile	Le Rendement de delipidation
72,83g	54,2g	±18,5	18ml	R= 25,40%

III.3. Rendement de l'extraction hydro-éthanolique (éthanol à 20%)

Après avoir effectué l'extraction d'après les résultats fourni par JMP nous avons calculer les rendement d'extraction et les résultats sont exposer dans (tableau V)

Tableau N°1 Résultats de l'extraction hydro-éthanolique

Partie de la plante	Le poids de la matière végétale	Le poids d'extrait brut	Rendement d'extraction
calices	2,5g	0,6768 g	R=27,072%
Grains	3,75g	0,8865g	R=23,64%

Les résultats d'extraction éthanolique à 20% montrent que les calices sont légèrement plus riches en extrait sec que les graines. Cette différence pourrait être due à plusieurs paramètres :

La composition chimique distincte des calices par rapport aux grains, la structure des calices pourrait permettre une extraction plus efficace des composés bioactifs par rapport aux graines, qui peuvent contenir des composés plus difficiles à extraire ou en moindre quantité.

D'autre part le protocole d'extraction (température, durée, rapport solvant/matière première, etc.) sont différents entre les deux extraits ce qui pourrait influencer les rendements obtenus. Cependant en comparant ces données aux résultats obtenus par d'autres études présentes dans le tableau VI ci-dessus :

Tableau N°VI Représentation des résultats obtenu dans la littérature.

Partie de plante	Extrait	Rendement	Références
Fleur	ACE (aqueux)	20,4	
Fleur	CRE (éthanol 80%)	24,9	
Fleur	EAE (acétate d'éthyle)	3	(Rezzagui <i>et al.</i>, 2020)
Fleur	CHE (chloroforme)	1,7	
Bulbe	UMME (méthanol 80%)	33,01	(Boumediene et Boughlem, 2018)
Bulbe	UMME (10%)	12	(Maazoun <i>et al.</i>, 2017)

Plusieurs solvants sont utilisés pour l'extraction des principes actifs, incluant l'eau, l'éthanol, le méthanol et l'acétone. Des études ont montré que les solvants hydroalcooliques donnent les meilleurs rendements d'extraction (**koné *et al.*, 2017**). Bien que les rendements obtenus par ces solvants puissent être relativement supérieurs ou inférieurs à notre rendement, cela confirme l'influence cruciale du choix du solvant d'extraction sur le taux de rendement.

Par exemple, en comparant avec les résultats de **Maazoun *et al.* (2017)** qui ont obtenu un rendement d'extraction méthanolique de 12%, notre extraction éthanolique a donné un rendement nettement supérieur. Cela est avantageux car l'éthanol est moins polluant que le méthanol, moins cancérigène et présente moins de risques durant l'extraction. De plus, notre extraction éthanolique à 20% surpasse également celle obtenue avec l'acétate d'éthyle (3%) et le chloroforme (1,7%), démontrant ainsi l'efficacité supérieure de l'éthanol à 20%. Cette approche confirme l'importance de choisir des solvants appropriés pour maximiser l'extraction des composés bioactifs de la plante.

En comparaison avec l'étude faite par **Rezzagui *et al.* (2020)** notre rendement d'extraction est très important. Par exemple, une extraction aqueuse a donné un rendement de 20,4% et une extraction éthanolique à 80% a donné un rendement de 24,9%. Les deux demeurent inférieurs aux rendements de nos extraits éthanoliques de *Drimia maritima*.

Nos résultats confirment que les solvants hydroalcooliques sont plus efficaces que les solvants aqueux seuls pour l'extraction des principes actifs. Cela est dû à la capacité des solvants hydroalcooliques à solubiliser, à la fois, les composés hydrophiles et hydrophobes.

En particulier, l'utilisation d'éthanol à 20% a permis d'obtenir des rendements d'extraction supérieurs pour les extraits éthanoliques de *Drimia maritima*: 23,64% pour EEDMG et 27,072% pour EEDMC. Ces rendements sont supérieurs à ceux obtenus avec des extraits purement aqueux ou avec des concentrations plus élevées d'éthanol. Le pourcentage d'éthanol joue un rôle crucial dans l'efficacité de l'extraction, car un équilibre entre l'eau et l'éthanol permet une extraction optimale des différents composés présents dans la plante.

En comparaison avec les résultats de **Boumediene et Boughlem (2018)** ayant obtenu un rendement d'extraction méthanolique de 33%, qui est relativement supérieur à notre résultat, cela pourrait être dû à d'autres facteurs tels que:

- ✓ la période de récolte, le climat, la région,
- ✓ les conditions de traitement de l'échantillon (protocole d'extraction),
- ✓ la partie de la plante utilisée (fleur, bulbe, racine, feuille, graines, calices, etc.).

II.4. Evaluation des activités phytochimiques

II.4.1 Teneur en polyphénols totaux

Les résultats d'analyses quantitatives de polyphénols totaux ont été exprimées en milligrammes équivalent acide gallique par gramme d'extrait brut (mg EAG/g MS), (Tableau VII) calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,99$.

Tableau N°VII Teneur en polyphénols totaux

Calices	69,3 ± 0,003 (mg EAG/g MS)
Grains	7,87 ± 0,001 (mg EAG/g MS),

Les polyphénols, comme le montrent nos résultats, sont des composés aux multiples bienfaits pour la santé humaine. Leur forte teneur dans l'extrait des calices (EEDMC) par rapport à celui des graines (EEDMG) soulève des implications intéressantes. Les polyphénols agissent comme de puissants antioxydants, aidant à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs (**Šamec et al., 2021**).

Cela signifie que l'EEDMC, avec sa teneur supérieure en polyphénols, offre un potentiel plus élevé pour protéger contre les maladies liées au stress oxydatif, telles que les maladies cardiovasculaires et certains cancers. En outre, les polyphénols possèdent des propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires et antitumorales (**Lee et Lee, 2006 ; Amine et al., 2017 ; Yahfoufi et al., 2018**), ce qui suggère que l'EEDMC pourrait être plus efficace dans le traitement des inflammations et des infections bactériennes par rapport à l'EEDMG.

Les résultats soulignent l'importance cruciale de la teneur en polyphénols dans les extraits pour leurs applications médicales, montrant que des concentrations plus élevées de ces composés peuvent offrir des avantages thérapeutiques accrus (**Maazoun et al., 2017**), avec $130,88 \pm 0,44$ mg EAG/g PF pour les bulbes. Les travaux de **Yadav et al. (2015)** montrant des extraits méthanoliques (MeOH) des bulbes de *Drimia* présentant des TPC plus bas égales à $22,19 \pm 1,00$ mg EAG/g MS. Notamment, des extraits de feuilles et de bulbes avec des valeurs plus basses, par exemple dans l'eau ($0,17 \pm 0,03$ mg EAG/g MS).

Rezzagui et al. (2020) ont également observé des valeurs variées pour les fleurs de *Drimia maritima* avec des extraits aqueux (68,7 mg EAG/g), éthanoliques (66,9 mg EAG/g), acétoniques (100,4 mg EAG/g), et chloroformiques (73,4 mg EAG/g).

De plus, les résultats de **Amine et al. (2017)** ont montré une quantité équivalente de 55,2 mg/g d'extrait pour la décoction, 45,3 mg/g d'extrait pour l'infusion et 60,9 mg/g d'extrait pour le macérât. Ces variations démontrent une interaction complexe entre la composition chimique de la plante, les conditions d'extraction et l'environnement, influençant significativement la teneur en polyphénols totaux.

III.4.2 Teneur en flavonoïdes :

Les résultats d'analyses quantitatives des flavonoïdes ont été exprimés en milligrammes équivalent de la quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS), (Tableau VIII) calculés à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0,998$.

Tableau N°VIII Teneur en flavonoïdes.

Calices	$54 \pm 0,001$ mg EQ/g MS
Graines	$15,376 \pm 0,0006$ mg EQ/g MS

Les résultats d'analyses quantitatives des flavonoïdes révèlent une différence significative entre l'extrait EEDMC et l'extrait EEDMG, avec une teneur plus élevée pour l'EEDMC ($54 \pm 0,001$ mg QE/g MS) par rapport à l'EEDMG ($15,376 \pm 0,0006$ mg QE/g MS).

Cette disparité reflète une variation liée à la nature des matières premières, aux conditions d'extraction, et à la partie de la plante utilisée, des facteurs similaires à ceux influençant la teneur en polyphénols.

Nos résultats contrastent avec des études antérieures portant sur d'autres parties de *Drimia*, telles que les fleurs étudiées par **Rezzagui et al. (2020)**, qui ont montré des teneurs moins élevées dans certains extraits (5,31 mg QE/g pour l'extrait éthanolique, 3,45 mg EAG/g pour l'extrait aqueux).

D'autres études, comme celles de **Yadav et al. (2015)**, ont également rapporté des niveaux significativement plus élevés de flavonoïdes dans des extraits méthanoliques de différentes espèces de *Drimia*, atteignant 58,65 mg QE/g MS pour les bulbes de DRAO.

Les extraits méthanoliques de bulbes étudiés par **Maazoun et al. (2017)** et **Belhaddad et al. (2017)** ont montré des teneurs respectives de 50,81 mg QE/g PF et 32,12 mg QE/g. Ces variations peuvent s'expliquer par les différences de solvants utilisés et les conditions environnementales, soulignant l'importance de ces facteurs dans l'extraction des flavonoïdes. Les flavonoïdes présents dans notre plante démontrent diverses propriétés thérapeutiques, dont des effets antioxydants, anti-inflammatoires, et anticancéreux.

Leur capacité à neutraliser les radicaux libres réduit le risque de maladies chroniques, tandis que leurs effets antimicrobiens, anti-allergiques et hépato-protecteurs contribuent à la santé générale (**El-Gammal et Mansour, 1986 ; Ghedira, 2005 ; Hebi et Eddouks, 2016 ; Hien et al., 2024**).

La forte teneur en flavonoïdes dans l' EEDMC souligne son potentiel thérapeutique pour diverses affections, y compris les maladies chroniques (**Kebièche et al., 2011**), les infections (**Lahouel et al., 2004**) et les troubles gastro-intestinaux et neurodégénératifs (**Zhu et al., 2007 ; Pannu et al., 2021**).

Ces résultats soutiennent l'intérêt croissant pour l'utilisation médicinale de *Drimia maritima* et mettent en lumière l'importance des choix d'extraction et des facteurs environnementaux dans la concentration des flavonoïdes.

II.4.3 Teneur en tanins

Les résultats d'analyses quantitatives des tanins condensés ont été exprimés en milligrammes équivalent Catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g), (Tableau IX) tandis que ceux des tanins hydrolysables ont été exprimés en milligrammes équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g). (Tableau X) Ces mesures ont été calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,99$.

II.4.3.1. Tanins condensés

Tableau N°IX Teneur en tanins condensés de EEDMC et EEDMG.

Calices	$26,88 \pm 0,02$ mg EC/g MS
Grains	$23,9 \pm 0,022$ mg EC/g MS

II.4.3.2. Tanins hydrolysables

Tableau N°X Teneur en tanins hydrolysables de l'EEDMC et l'EEDMG

Calices	$5,3 \pm 0,011$ mg EAT/g MS
Grains	$1,8 \pm 0,003$ mg EAT/g MS

La teneur en tanins condensés de l'EEDMC est en moyenne de $26,88 \pm 0,02$ mg EAG/g MS, tandis que celle de l'EEDMG est en moyenne de $23,9 \pm 0,022$ mg EAG/g MS. La différence entre les deux extraits est légère, avec une légère augmentation observée dans l'EEDMC en termes de teneur en tanins condensés. Concernant les tanins hydrolysables, la teneur moyenne de l'EEDMC est de $5,3 \pm 0,011$ mg EAG/g MS, tandis que celle de l'extrait EEDMG est de $1,8 \pm 0,003$ mg EAG/g MS.

On observe une nette différence dans la quantité de tanins hydrolysables entre les deux extraits, avec une teneur beaucoup plus élevée dans EEDMC par rapport à EEDMG. Ces résultats soulignent une différence notable dans la composition des tanins entre EEDMC et EEDMG, avec une teneur plus élevée en tanins condensés dans EEDMC et une teneur plus élevée en tanins hydrolysables dans EEDMC également. Ces variations peuvent être attribuées à la variabilité naturelle des composés phytochimiques dans les plantes, la partie de la plante utilisée pour l'extraction, ainsi que les méthodes spécifiques d'extraction des tanins.

Selon **Kraus et al. (2003)**, les tanins constituent une classe complexe de composés organiques dont la concentration et la chimie diffèrent grandement d'une espèce végétale à l'autre et à l'intérieur d'une même espèce. Étant donné que la fonction et la réactivité des tanins sont fortement contrôlées par leur structure chimique. Ceci explique la différence des résultats obtenus entre les deux extraits, et même en comparant avec la littérature. Par exemple, **Maazoun et al. (2017)** ont trouvé une teneur en tanins condensés de 6,76 mg CE/g PF dans les bulbes de *Drimia*.

Les résultats de **Yadav et al. (2015)** montrent que les tanins totaux (TTC) sont plus élevés dans les extraits méthanoliques des espèces de *Drimia*. Par exemple, *Drimia Razi* (DRAZ) a montré des TTC significativement plus élevés ($857,17 \pm 38,62$ mg EAG/g MS) dans l'extrait méthanolique des bulbes, tandis que les feuilles de *Drimia Indica* (DI2) et l'extrait aqueux des bulbes de *Drimia raogibikei* (DRAO) ont également montré des valeurs élevées ($545,74 \pm 37,28$ et $408,31 \pm 15,23$ mg EAG/g MS respectivement).

En revanche, une teneur en TTC plus faible a été trouvée dans l'extrait DCM des bulbes de DRAZ ($1,85 \pm 0,04$ mg EAG/g MS). Ces résultats confirment clairement ce qu'a été dit par **Kraus et al. (2003)**.

La présence des deux types de tanins dans *Drimia maritima* démontre une gamme de nombreuses propriétés bénéfiques, notamment antifongiques, antioxydants, antivirales, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-diarrhéiques, antiseptiques, antipoison, vitaminiques, astringentes et cicatrisantes (**Scalbert, 1991 ; Ounaissia et al., 2019**).

Ces composés confèrent à la plante des capacités exceptionnelles pour soutenir la santé humaine, en agissant également comme des agents anticoagulants et en contribuant positivement à la régulation des écosystèmes (**Kraus et al., 2003**).

En particulier, les tanins hydrolysables présents dans *Drimia maritima*, tels que les gallotannins et les ellagitannins, offrant de vastes applications médicales, allant du traitement des infections et des troubles métaboliques à la modulation du système immunitaire et à la prévention de maladies graves telles que le VIH et la leucémie (**Mekala et Murthy, 2020 ; Pizzi, 2021**).

Ces propriétés font des tanins des composés prometteurs pour la recherche et le développement de thérapies innovantes, renforçant ainsi la valeur de *Drimia maritima* en tant que plante aux multiples bienfaits pour la santé humaine.

II.4.4. Sucres totaux

Les résultats d'analyses quantitatives des sucres totaux ont été exprimés en milligrammes équivalent de D-glucose par gramme d'extrait (mg ED-G/g), (Tableau XI) calculés à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0,99$.

Tableau N°XI Teneur en sucre totaux de l'EEDMC et l'EEDMG.

Calices	572,8 ± 0,003 (mg ED-G/g MS)
Grains	183,98 ± 0,028 (mg ED-G/g MS)

La teneur en sucres totaux de l'EEDMG est nettement plus élevée que celle de l'EEDMC. EEDMC contient environ 2,7 fois plus de sucres totaux que l'EEDMG, avec une moyenne de 183,98± 0,028 mg EAG/g MS tandis que l'EEDMC présente une moyenne de 572,8±0,003 mg EAG/g MS. Cette différence significative de teneur en sucres totaux entre l'EEDMC et EEDMG reflète une interaction complexe entre la composition chimique de la plante et ses propriétés biologiques. Les sucres totaux extraits des plantes, sous forme de polysaccharides, jouent un rôle crucial dans diverses applications industrielles et biologiques. Industriellement, ces polysaccharides, tels que les pectines, sont utilisés comme gélifiants, épaississants et stabilisants dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (**M'sakni et al., 2006**).

Sur le plan biologique, ils possèdent des propriétés antitumorales, antioxydants, antivirales, anticoagulantes, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et hypoglycémiantes (**Boual et al., 2015**). De plus, les sucres sont essentiels au maintien structural des cellules, constituant des éléments de base de l'ADN, de l'ARN, des coenzymes et des vitamines (**Patrick et al., 2013**). Ils fonctionnent également comme des signaux de reconnaissance dans les cellules, notamment sous forme de glycolipides et de glycoprotéines, influençant ainsi la santé bucco-dentaire (**Muller-Bolla et Doméjean, 2018**).

II.4.5. Saponines

Les résultats d'analyses quantitatives des saponines ont été exprimées en milligrammes équivalent de diosgénine par gramme d'extrait (mg ED/g), calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0,99$.

Tableau N°XII Teneur en Saponines.

Calices	61,17 ± 0,006 (mg ED/g) MS
Grains	176,9 ± 0,05 (mg ED/g) MS

Les résultats ont révélé une concentration plus élevée en saponines l'EEDMG par rapport à celui des calices (EEDMC). Soulignant une corrélation positive entre la teneur en saponines et les sucres totaux présents dans les extraits. Cela s'explique par le fait que les sucres entrent dans la composition chimique des saponines, de sorte qu'une concentration élevée en sucres favorise la biosynthèse des saponines.

Les saponines sont bien connues pour leurs multiples bienfaits pour la santé, notamment leurs propriétés analgésiques, anti-inflammatoires, antioxydants, antifongiques et antibiotiques (Alaoui *et al.*, 1998 ; Wu *et al.*, 2024). Leur présence accrue dans l'EEDMG renforce l'efficacité thérapeutique de cet extrait (Mekala et Murthy, 2020).

Ces composés ont également des rôles défensifs cruciaux dans les plantes, les protégeant contre les micro-organismes pathogènes et offrant diverses applications industrielles et médicales (Chaieb, 2010). Leur activité comme agents moussants, surfactants, et dans le traitement des eaux usées illustre également leur importance dans le domaine industriel (Faizal et Geelen, 2013).

Sur le plan cosmétique, les saponines sont intégrées dans divers produits pour leurs propriétés cicatrisantes (Ounaissia *et al.*, 2019). anti acnéiques, antirides, protectrices contre les rayons UV et stimulantes de la lipolyse (Guillaume et Charrouf, 2005 ; Filip *et al.*, 2007). Ainsi, la concentration élevée de saponines dans les graines de *Drimia maritima*, comme observé dans EEDMG, souligne leur potentiel thérapeutique prometteur pour diverses applications médicales, industrielles et cosmétiques.

II.5. Evaluation de l'activité antioxydants

II.5.1. Test de l'ABTS

La démonstration de l'effet scavenger des extraits sur les radicaux libres a été réalisée en utilisant la méthode ABTS, qui évalue la capacité des échantillons à inhiber le radical ABTS qui est applicable dans des milieux aqueux ou organiques.

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{•+} ont été calculés à partir de l'intensité de la coloration. L'IC50, représentant la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical ABTS^{•+}, constitue un indicateur de l'activité antioxydants, une valeur d'IC50 plus faible indiquant une plus grande puissance.

Tableau N°2 Résultats de test ABTS IC50 pour EEDMG et EEDMC.

Calices	2,3 mg/ml
Grains	2,6 mg/ml

Les résultats indiquent que l'EEDMC possède une capacité antioxydants légèrement supérieure à celle de l'EEDMG, avec un IC50 de 2,3 mg/ml pour EEDMC contre 2,6 mg/ml pour EEDMG. Bien que la différence soit modeste, elle est significative dans les essais antioxydants, où des variations mineures peuvent indiquer des différences notables en puissance.

Cette différence dans l'activité antioxydants peut être attribuée à la variation de la concentration et de la composition des composés bioactifs présents dans les calices et les graines de *Drimia maritima*. Nos résultats montrent une corrélation entre la proportion de composés phénoliques, flavonoïdes et tannins dans les calices et les graines et leur pouvoir antioxydants. Ces métabolites secondaires agissent comme réducteurs en donnant des électrons et en réagissant avec les radicaux libres pour les convertir en produits plus stables, mettant fin à la réaction radicalaire en chaîne (**Rezzagui et al., 2020**).

Comparativement, **Belhaddad et al. (2017)** ont trouvé une valeur d'IC50 de $57,83 \pm 1,59$ µg/ml, indiquant un effet antioxydants supérieur nécessitant une concentration beaucoup plus faible pour obtenir une inhibition de 50 % des radicaux libres, comparé à nos extraits EEDMC et EEDMG. Cependant, nos résultats sont meilleurs que ceux de **Rezzagui et al. (2020)**, dont les IC50 pour différents extraits variaient de $4,99 \pm 0,55$ mg/ml à $26,33 \pm 0,52$ mg/ml. De plus, **Aswal et al. (2019)** ont trouvé des IC50 de 22,61, 23,00 et 24,98 µg/mL pour les extraits de méthanol, de chloroforme et d'acétate d'éthyle respectivement, comparables à l'acide ascorbique (22,33 µg/mL).

Nos extraits (EEDMC et EEDMG), démontrent une efficacité antioxydants notable par rapport à plusieurs autres extraits étudiés, notamment dans l'étude récente menée par **Tahri et al. (2020)** sur les huiles essentielles de *Drimia maritima* a montré que l'huile essentielle extraite des fleurs avait une activité antioxydants avec un IC50 de 40,02 µg/ml.

En revanche, l'huile essentielle des bulbes a montré une activité antioxydants mesurée, avec un IC50 de 30,02 µg/ml. Ces résultats demeurent inférieurs à ceux obtenus pour nos extraits (EEDMC et EEDMG).

Les radicaux libres, molécules très réactives et instables en raison d'un électron non apparié, sont produits continuellement dans les cellules (**Defraigne et Pincemail, 2008**). En situation physiologique, il existe un équilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les systèmes de défense antioxydants. En effet, un stress oxydant survient lorsque cet équilibre est rompu, favorisant les pro-oxydants (**Pincemail et al., 1999**).

Les radicaux libres peuvent alors endommager les acides nucléiques, les protéines et les lipides, entraînant des altérations tissulaires et contribuant à diverses maladies chroniques et dégénératives comme le cancer, l'artériosclérose, le diabète, les cataractes, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer et l'arthrite, tout en accélérant le vieillissement cellulaire (**Mu et al., 2021 ; Martemucci et al., 2022**).

L'espèce *Drimia maritima*, par exemple, a une valeur thérapeutique potentielle et est utilisée en médecine traditionnelle et moderne pour traiter diverses maladies comme le rhumatisme, le cancer, l'arthrite et des affections dermatologiques (**Bozorgi et al., 2017**). D'après les résultats de notre étude et d'autres sur la capacité de piégeage des radicaux ABTS, les extraits EEDMC et EEDMG de cette plante pourraient être utilisés comme anti radicalaires naturels prometteurs.

II.6. Evaluation de l'activité anti inflammatoire

L'oxydation spontanée de l'oxyde nitrique conduit généralement à la formation de nitrites, qui sont ensuite dosés à l'aide du réactif de Griess, donnant une coloration rose. Cependant, la diminution de l'intensité de cette couleur en présence de notre échantillon démontre le pouvoir inhibiteur de notre extrait, et les résultats obtenus dans notre étude sont exprimer dans le (tableau XVI).

Tableau N°XVI Résultats de test NO IC50 pour EEDMG et EEDMC.

Calices	0,2 mg/ml pour l'EEDMC
Grains	1,4 mg/ml pour l'EEDMG

L'oxyde nitrique (NO) est un gaz très instable et très réactif (**Pariente, 2003**) produit dans les organismes supérieurs par l'oxydation de l'atome N-terminal de L-arginine, catalysée par la NO synthase (NOS).

Il joue un rôle vital dans de nombreuses fonctions physiologiques telles que la neurotransmission, la régulation de la tension artérielle, la relaxation des muscles lisses, la régulation et la défense immunitaire (**Rezzagui et al., 2020**) et de la capture et de la délivrance de l'oxygène par l'hémoglobine (**Pariente, 2003**).

Cependant, des niveaux excessifs de NO, généralement induits par des cytokines inflammatoires comme le TNF-alpha, l'IFN-Gamma et l'IL-1b, peuvent entraîner des effets nocifs en favorisant la production de radicaux libres dérivés du NO (**Hulin et al., 2010**). Ce phénomène contribue aux processus inflammatoires et peut être associé à des réponses immunitaires innées excessives, conduisant parfois à la mort cellulaire programmée (**Rodríguez-López et al., 2006**).

D'après les résultats de notre étude et les résultats des autres recherches on constate que l'IC50 était de 0,2 mg/ml pour l'EEDMC et de 1,4 mg/ml pour l'EEDMG. Ces valeurs indiquent que l'EEDMC a une meilleure capacité inhibitrice de l'oxyde nitrique que l'EEDMG, nécessitant une concentration plus faible pour atteindre 50 % d'inhibition.

Comparativement à l'étude de **Tahri et al. (2020)** montrant des IC50 beaucoup plus faible, de 5,05 et 5,12 µg/ml pour les huiles essentielles des bulbes et fleurs respectivement. Cela suggère que bien que nos extraits possèdent des propriétés antioxydants et anti-inflammatoires, leur efficacité est moins prononcée par rapport à certains autres extraits, notamment ceux obtenus à partir de fleurs et de bulbes, qui montrent des IC50 significativement plus faibles.

Cette différence dans les résultats peut être attribuée à plusieurs facteurs comme la nature et la composition des huiles essentielles, qui sont généralement plus concentrées en composés volatils et bioactifs que les extraits hydro-éthanoliques, de plus en raison de leur capacité à pénétrer les membranes cellulaires plus efficacement, présentent souvent une meilleure activité biologique, y compris anti-inflammatoire.

II.7. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'importance des antibiotiques dans le traitement des maladies infectieuses est indéniable, mais leur utilisation intensive a conduit à l'émergence de résistances bactériennes, posant un grave problème de santé publique. En réponse à cette menace croissante, la recherche s'oriente vers des alternatives aux antibiotiques traditionnels.

Parmi ces alternatives, les plantes médicinales se distinguent par leur potentiel prometteur. En plus d'être largement disponibles et souvent moins coûteuses, elles contiennent une variété de composés bioactifs capables de combattre les infections bactériennes sans les effets indésirables associés aux antibiotiques classiques (Arsene *et al.*, 2021).

L'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique des calices et des graines de *D. maritima* a été évaluée à quatre concentrations différentes (100, 50, 25, et 10 mg/ml) sur des bactéries Gram+ (*S. aureus* et *B.subtilis*) et Gram- (*E. coli* et *P. aeruginosa*).

La zone d'inhibition a été mesurée en comparaison avec un antibiotique de référence (ATB) et un témoin (eau distillée). Les résultats ont montré que les deux extraits n'ont produit aucune zone d'inhibition, indiquant une absence d'activité antibactérienne à ces concentrations.

L'étude réalisée sur l'huile des graines (HG) par la méthode des spots a montré des résultats globalement faibles. Les bactéries Gram- (*E. coli* et *P. aeruginosa*) n'ont montré aucune inhibition. En revanche, une légère inhibition a été observée pour les bactéries Gram+ (*S. aureus* et *Bacillus subtilis*), avec des zones d'inhibition de 7 mm et 13 mm respectivement, comparées aux valeurs de l'antibiotique de référence (ATB) qui étaient de 32 mm et 37 mm respectivement.

Tableau N°XV Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile de graine HG.

Concentration mg/ml	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.Aeruginosa</i>	<i>B.subtilis</i>
Huile des graines	0 mm	7 mm	0 mm	13 mm
Eau distillée	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Antibiotique	20 mm	32 mm	0 mm	37 mm

En comparant ses résultats à la littérature, les résultats d'une étude distincte menée par **Murthy *et al.* (2011)** a montré que l'extrait méthanolique des bulbes d'*U. maritima* présentait une activité antibactérienne contre *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*, avec une zone d'inhibition (IZD) allant de 0,7 à 1,4 mm à partir des concentrations de 50, 100 et 150 mg/mL. En comparaison, nos extraits EEDMC et EEDMG n'ont montré aucune activité antibactérienne à des concentrations similaires.

Ainsi que Un criblage préliminaire de l'activité antibactérienne in vitro de l'extrait méthanolique mené par **Belhaddad *et al.* (2017)** a révélé des propriétés antimicrobiennes variées.

Bacillus cereus ATCC10876 a montré la plus grande sensibilité avec une zone d'inhibition de 11 mm, suivi par *Acinetobacter baumannii* (10 mm) et *Salmonella typhimurium* (9 mm). Bien qu'ils aient testé d'autres bactéries, ces résultats demeurent largement supérieurs aux nôtres.

Chittoor et al. (2012) ont rapporté que l'extrait aqueux des bulbes d'*U. maritima* avait une activité antimicrobienne contre *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa* avec une IZD de 12 à 13 mm, ce qui est nettement supérieur à nos résultats avec l'EEDMC et l'EEDMG, qui n'ont montré aucune inhibition.

Les résultats de l'étude menée par **Boumediene et Boughlem, (2018)** ont montré des zones d'inhibition pour les bactéries Gram+ *S. aureus* et Gram- *E. coli* et *P. aeruginosa*, variant entre 26 mm et 3 mm. Cela peut être dû aux concentrations faibles utilisées.

Par rapport aux résultats des études antérieures sur les huiles essentielles de diverses plantes, ont souvent présenté des variations significatives. Par exemple, les extraits méthanoliques de bulbes de *D. indica* ont démontré des zones d'inhibition plus importantes contre les bactéries et les champignons par rapport à nos résultats sur HG. Ces observations soulignent la nécessité d'approfondir notre compréhension des mécanismes d'action spécifiques et des concentrations optimales pour obtenir des résultats antimicrobiens plus marqués avec l'huile de grains.

Les différences observées dans l'activité antibactérienne entre nos extraits de *D.maritima* (EEDMC, EEDMG, HG) et ceux rapportés dans la littérature peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. Tout d'abord, la composition chimique des extraits peut varier en fonction des méthodes d'extraction, des conditions de croissance de la plante, et de la partie de la plante utilisée.

De plus, les concentrations en principes actifs peuvent différer d'une étude à l'autre. Les différences dans les souches bactériennes utilisées, ainsi que dans les méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne, peuvent également influencer les résultats. Enfin, la présence d'autres composés dans les extraits, tels que des synergistes ou des antagonistes, peut modifier l'efficacité antibactérienne.

Ces variations soulignent l'importance de mener des études approfondies pour comprendre les mécanismes d'action et optimiser l'utilisation des extraits de cette plante dans des applications thérapeutiques.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales jouent aujourd'hui un rôle crucial dans la recherche de traitements alternatifs aux médicaments synthétiques, offrant des solutions naturelles et potentiellement moins nocives pour diverses affections. L'intérêt pour les extraits naturels réside dans leur capacité à fournir des composés bioactifs uniques, contribuant à des traitements plus sûrs et plus écologiques.

Dans cette étude, nous avons évalué les activités biologiques, notamment antioxydants, anti-inflammatoire et antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Drimia maritima*, tout en optimisant les conditions d'extraction à l'aide du logiciel JMP.

L'optimisation est essentielle pour maximiser l'efficacité des composés bioactifs des plantes médicinales, et dans ce contexte, le logiciel JMP se révèle particulièrement précieux. Bien que des outils comme Design-Expert et Minitab soient disponibles, JMP se distingue par son interface intuitive et ses capacités d'analyse de données avancées, permettant une optimisation plus rapide et précise des conditions d'extraction.

L'extraction des composés phénoliques selon la méthode optimisée par JMP nous a permis de d'obtenir un rendement de 27,072% pour les calices et de 23,64% pour les graines. En ce qui concerne la quantification des polyphénols totaux, des taux de 256 mg Eq AG/g d'EEDMC et de 34,13 mg Eq AG/g d'EEDMG ont été retrouvés. Des résultats supérieurs à ceux de plusieurs autres extraits de la plante testés dans la littérature.

Concernant l'activité antioxydants, les résultats du test ABTS montrent une activité significative avec un IC50 de 2,3 mg/ml pour l'EEDMC et de 2,6 mg/ml pour les l'EEDMG,

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée par le test d'inhibition de l'oxyde nitrique (test NO), les deux extraits de la plante ont montré une bonne activité avec un IC50 de 0,2 mg/ml pour les calices et de 1,4 mg/ml pour les graines, liée à la richesse de l'extrait hydro-éthanolique de *Drimia maritima* en molécules bioactives.

Néanmoins, les extraits de plante n'ont montré aucune activité antimicrobienne, probablement en raison de la concentration utilisée, l'huile des graines testée par la méthode des spots a présenté une activité antimicrobienne prometteuse.

Ces découvertes suggèrent que *Drimia maritima* pourrait être une source précieuse de composés bioactifs pour le développement de nouveaux traitements naturels. Cependant, des études complémentaires, incluant d'autres tests phytochimiques, d'autres tests anti-inflammatoires et antioxydants, des essais sur des cellules en culture ou cliniques, sont nécessaires pour confirmer ces effets et mieux comprendre les mécanismes d'action.

Notre recherche contribue à la valorisation de *Drimia maritima* en tant que plante médicinale prometteuse, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles investigations dans le domaine des traitements phyto-thérapeutiques.

Références Bibliographiques

- Ahmed, A. U. (2011). An overview of inflammation : Mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6(4), 274.
 - Akram, A., Benchahra Aida, H. R., & Aymen, K. (2022). Etude de l'activité antibactérienne du Cyprès.
 - Al-Abdallat, K., Obeidat, M., Ababneh, N. A., Zalloum, S., Al Hadidi, S., Al-Abdallat, Y., Zihlif, M., & Awidi, A. (2023). Phytochemical Analysis and Anticancer Properties of *Drimia maritima* Bulb Extracts on Colorectal Cancer Cells. *Molecules*, 28(3), 1215.
 - ArcaNatura. (2018, février 27). La résolution de l'inflammation. *Arcanatura*. <file:///C:/9W4K227V/resolution-de-l-inflammation.html>
 - Arsene, M. M. J., Jorelle, A. B. J., Sarra, S., Viktorovna, P. I., Davares, A. K. L., Ingrid, N. K. C., Steve, A. A. F., Andreevna, S. L., Vyacheslavovna, Y. N., & Carime, B. Z. (2021). Short review on the potential alternatives to antibiotics in the era of antibiotic resistance. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12,(1), 029-040.
 - Bacchi, S., Palumbo, P., Sponta, A., & Coppolino, M. F. (2012). Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, 11(1), 52-64.
 - Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *M/S: médecine sciences*, 22(3), 266-272.
- Bayart, M. (2019). *Élaboration et caractérisation de biocomposites à base d'acide polylactique et de fibres de lin: compatibilisation interfaciale par dépôt de revêtements à base d'époxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin (Doctoral dissertation, Université de Sherbrooke)*.
- Belhaddad, Charef , Amamra Zerargui, Baghiani, Khenouf Arrar,. (2017). Chromatographic fractionation, antioxidant and antibacterial activities of *Urginea maritima* methanolic extract. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 30. 127-134.
 - Ben Abdelghani, K., Ines, M., Chatelus, E., & Sabilia, J. (2010). Affections auto-inflammatoires : Critères de diagnostic et de classification. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 77(2), 114-120.
 - Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage : A current perspective. *Biochemical pharmacology*, 180, 114147.
 - Boumediene, N., & Boughlem, R. L. (2018). *Activité biologique d'Urginea maritima (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret)*.

- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), 173-183.
- Bozorgi, M., Amin, G., Shekarchi, M., & Rahimi, R. (2017). Traditional medical uses of *Drimia* species in terms of phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 37(1), 124-139.
- Bozorgi, M., & Gharabaghi, M. A. (2017). Squill Oxymel, a traditional formulation from *Drimia Maritima* (L.) Stearn, as an add-on treatment in patients with moderate to severe persistent asthma : A pilot, triple-blind, randomized clinical trial. *Journal of Ethnopharmacology*, 196, 186-192.
- Brut, M. (2009). Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : *Les Modes Statiques*.
- Bucht, H., Ek, J., Eliasch, H., Thomasson, B., & Werkö, L. (1957). The effect of a single intravenous dose of scillaren B on the pulmonary circulation and renal function in patients with rheumatic heart disease. *American Heart Journal*, 54(3), 376-384.
- Cavaillon, J. M. (1993). Cytokines et inflammation. *Veterinary Research*, 24(4), 368-369.
- Chaieb, I. (2010). Saponins as insecticides: a review. *Tunisian journal of plant protection*, 5(1), 39-50.
- Chao, W. S., Foley, M. E., Horvath, D. P., & Anderson, J. V. (2007). Signals regulating dormancy in vegetative buds. *International Journal of Plant Developmental Biology*, 1(1), 49-56.
- Chittoor, M. S., Binny, A. R., Yadlapalli, S. K., Cheruku, A., Dandu, C., & Nimmanapalli, Y. (2012). Anthelmintic and antimicrobial studies of *Drimia indica* (Roxb.) Jessop. bulb aqueous extracts. *Journal of research in pharmacy* 5, 3677-3686.
- Cobo-Simón, M., Hart, R., & Ochman, H. (2023). *Escherichia Coli*: What Is and Which Are ? *Molecular Biology and Evolution*, 40(1), msac273.
- Dangles, O. (2020). Le potentiel antioxydant des aliments : Mythes et réalités. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 55(4), 176-183.
- De La Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic Compounds. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (p. 253-271). Elsevier.
- Debard, F., Desicy-Huiez, Q., Kehiha, S., Laudouze, J., Vizzari, M., & Latifi, A. (2023). Découverte de la pierre angulaire assurant la coordination de la synthèse de la paroi bactérienne avec le métabolisme central. *médecine/sciences*, 39(8-9), Article 8-9.

- Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente : Principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390-396.
- Filip, R., Ferraro, G. E., Bandoni, A., Bracesco, N., Nunes, E., & Gugliucci, A. (2007). Mate (*Ilex paraguariensis*). *Recent advances in phytochemistry*, 113-131.
- Galleano, M., Verstraeten, S. V., Oteiza, P. I., & Fraga, C. G. (2010). Antioxidant actions of flavonoids : Thermodynamic and kinetic analysis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501(1), 23-30.
- Le Galudec, J. (2022). *Imagerie hyperspectrale infrarouge pour l'identification sans marquage de pathogènes sur milieu gélosé* (Doctoral dissertation, Université Grenoble Alpes).
- Gandia, P. (2022). antibiotiques et efficacité microbiologique. [hal-03853511](#)
- Garbari, F., & Crisman, E. (1988). Cytotaxonomical contributions to the Jordanian Flora. 1. *Webbia*, 42(1), 21-41.
- Ghe, A. M., Stefanelli, C., Tsintiki, P., & Veschi, G. (1985). Influence of some metal ions on oxidation of nadh and on formation of the superoxide anion radical (O₂⁻), during enzymatic catalysis by EC 1.2. 3.2 xanthine oxidase. *Talanta*, 32(5), 359-362.
- Ghuyssen, J.-M. (1975). Paroi bactérienne, membrane cytoplasmique et pénicilline. *Microbia*, A(2).
- Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, 14(6), 509-516.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants : Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.
- Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 26(4), 809-812.
- Hamouda, A. B., Chaieb, I., Zouari, L., Zarrad, K., & Laarif, A. (2015). Toxicological effects of *Urginea maritima* (L.) against the red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae). *J Entomol Zool Stud*, 4, 17-20.

- Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J.-Y. (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, 56(6).
- Hulin, M., Annesi-Maesano, I., Moreau, D., & Caillaud, D. (2010). Association entre pollution particulaire et inflammation des bronches : Effet modulateur de l'asthme et de l'atopie. *Revue Française d'Allergologie*, 50(8), 594-602.
- Jones, B., & Sall, J. (2011). JMP statistical discovery software. *WIREs Computational Statistics*, 3(3), 188-194.
- Kadiata, M. M., Nkoseay, F. M., M'Rabet, N., & Laurent, P. (2022). Étude phytochimique de quelques plantes alimentaires et médicinales utilisées dans la prévention et traitement du diabète de type-2 en République Démocratique du Congo. *Revue Africaine de Médecine et de Santé Publique*, 5(1), 51-61.
- Khenniche, F., Slimani, A., Bensouici, C., Magboune, I., Srief, M., & Hakkom, H. (2023). Comparative and Evaluative Study On Total Phenolic Content and Antioxidant Potential Within Hydromythanol Extracts and Their Fractions from All Parts of *Drimia numidica* (jard. & fourr.) j.c. manning & goldblatt of northeastern Algeria. *Pharmacognosy Journal*, 15(1), 64-81.
- Koné, K. P. F. O., Soro, Y., & Siaka, S. (2017). Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridax procumbens* linn (Asteraceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 44, 15-22.
- Kraus, T. E. C., Dahlgren, R. A., & Zasoski, R. J. (2003). Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems—A review. *Plant and Soil*, 256(1), 41-66.
- Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., & Fillastre, J. P. (2004). Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 52(6), 314-322.
- Delignette-Muller, M. L. (2005). De la prévalence aux valeurs prédictives: l'antibiogramme face à l'évolution de la résistance aux antibiotiques. *Ann Biol Clin*, 63(5), 493-502.
- Lewus, C. B., & Montville, T. J. (1991). Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 13(2), 145-150.
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89.

- Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A. V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., Reeves, P. R., Knirel, Y. A., Wang, L., & Widmalm, G. (2020). Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS Microbiology Reviews*, *44*(6), 655-683.
- Maazoun, A. M., Hlel, T. B., Hamdi, S. H., Belhadj, F., Jemâa, J. M. B., & Marzouki, M. N. (2017a). Screening for insecticidal potential and acetylcholinesterase activity inhibition of *Urginea maritima* bulbs extract for the control of *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *20*(3), 752-760.
- Maazoun, A. M., Hlel, T. B., Hamdi, S. H., Belhadj, F., Jemâa, J. M. B., & Marzouki, M. N. (2017b). Screening for insecticidal potential and acetylcholinesterase activity inhibition of *Urginea maritima* bulbs extract for the control of *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *20*(3), 752-760.
- Madec, J. Y. (2022). Généralités sur les antibiotiques et l'antibiorésistance-Soigner par antibiothérapie. *Guide pour un bon usage des antibiotiques chez les animaux de compagnie*, 9-11.
- Mahboubi, M., Mohammad Taghizadeh Kashani, L., & Mahboubi, M. (2019). Squill (*Drimia maritima* L.) and its novel biological activity. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, *19*(3), 227-234.
- Mammadov, R., Kaska, A., & Ozay, C. (2017). Phenolic Composition, Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Prospero autumnale*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *79*(4).
- Manganyi, M. C., Tlatsana, G. S., Mokoroane, G. T., Senna, K. P., Mohaswa, J. F., Ntsayagae, K., Fri, J., & Ateba, C. N. (2021). Bulbous Plants *Drimia* : “A Thin Line between Poisonous and Healing Compounds” with Biological Activities. *Pharmaceutics*, *13*(9), 1385.
- Marín, F. R., Frutos, M. J., Pérez-Alvarez, J. A., Martínez-Sánchez, F., & Del Río, J. A. (2002). Flavonoids as nutraceuticals : Structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 26, p. 741-778).
- Martínez-Azorín, M., Crespo, M. B., & Alonso-Vargas, M. Á. (2022). Reinstatement of *Squilla Steinh.*, a priority name against the illegitimate *Charybdis Speta* (Hyacinthaceae, Urgineoideae). *Mediterranean Botany*, *43*, e78272.
- McMahon, L. R., McAllister, T. A., Berg, B. P., Majak, W., Acharya, S. N., Popp, J. D., Coulman, B. E., Wang, Y., & Cheng, K.-J. (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, *80*(3), 469-485.

- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- Murthy, G. P., Mamtharani, D. R., Tejas, T. S., & Suarlikerimath, N. M. (2011). *Phytochemical analysis, in vitro anti-bacterial and antioxidant activities of Wild onion sps.*
- Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC - Stomatologie*, 1(1), 21-29.
- Ndoye, r., & ndiaye, m. (2023). caracterisation des bacteries multi-resistantes au centre hospitalier abass ndao de dakar.
- Ngando Ebongue, G. F., Dhouib, R., Carrière, F., Amvam Zollo, P.-H., & Arondel, V. (2006). Assaying lipase activity from oil palm fruit (*Elaeis guineensis* Jacq.) mesocarp. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44(10), 611-617.
- Ogbodo, S. O., Okeke, A. C., Ugwuoru, C. D. C., & Chukwurah, E. F. (2011). Possible alternatives to reduce antibiotic resistance. *Life Sci Med Res*, 2011, 1-9.
- Ouhaddou, H., Boubaker, H., Msanda, F., & El Mousadik, A. (2015). An ethnobotanical study of medicinal plants of the Agadir Ida Ou Tanane province (southwest Morocco). *Journal of Applied Biosciences*, 84(1), 7707.
- Pannu, A., Sharma, P. C., Thakur, V. K., & Goyal, R. K. (2021). Emerging Role of Flavonoids as the Treatment of Depression. *Biomolecules*, 11(12), 1825.
- Pariente, R. (2004). Oxyde nitrique. *EMC-Pneumologie*, 1(1), 37-39.
- Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237.
- Raynaud, J. (2006). *Prescription et conseil en aromathérapie*. Technique et Documentation.
- Rezzagui, A., Senator, A., Benbrinis, S., & Bouriche, H. (2020). Free Radical Scavenging Activity, Reducing Power and Anti-Hemolytic Capacity of Algerian *Drimia maritima* Baker Flower Extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(4), 70-78.
- Rira, M. (2019). *Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical* (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne [2017-2020]).
- Rodríguez-López, J. M., Sánchez-Conde, P., Lozano, F. S., Nicolás, J. L., García-Criado, F. J., Cascajo, C., & Muriel, C. (2006). Laboratory investigation : Effects of

propofol on the systemic inflammatory response during aortic surgery. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal Canadien d'anesthésie*, 53(7), 701-710.

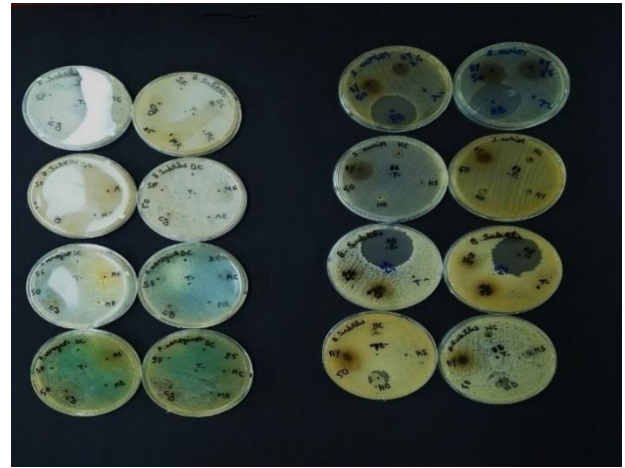
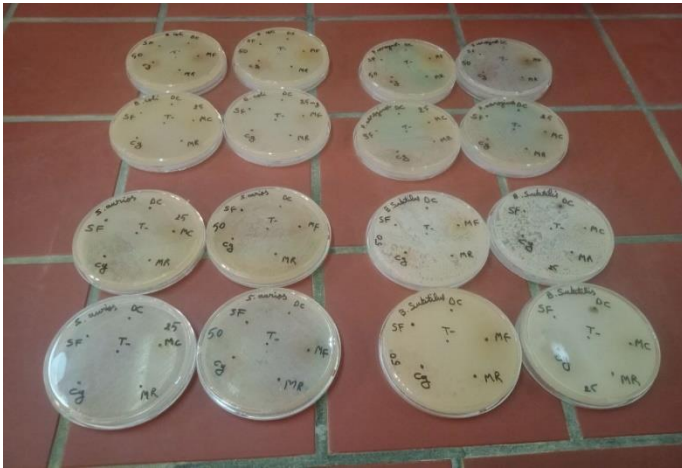
- Saadane, F. Z., Habbachi, W., Habbachi, S., Boublata, N. E. I., Slimani, A., & Tahraoui, A. (2021). Toxic effects of *Drimia maritima* (Asparagaceae) ethanolic extracts on the mortality, development, sexual behaviour and oviposition behaviour of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 9(1), 1-8.
- Salmerón-Manzano, E., Garrido-Cardenas, J. A., & Manzano-Agugliaro, F. (2020). Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(10), 3376.
- Sparg, S., Light, M. E., & Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of ethnopharmacology*, 94(2-3), 219-243.
- Singh, V., Soni, L. K., Dobhal, S., Jain, S. K., Parasher, P., & Dobhal, M. P. (2016). *Phytochemicals and Pharmacological Properties of Urginea Species*.
- T Diplock, A. (1991). Antioxidant nutrients and disease prevention : An overview. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(1), 189S-193S.
- Tahri, Y., Koubaa, I., Frikha, D., Maalej, S., & Allouche, N. (2020). Chemical Investigation and Biological Valorization of Two Essential Oils Newly Extracted from Different Parts of *Drimia maritima*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(5), 1022-1034.
- Twaij, B. M., & Hasan, Md. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources : Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4-14.
- Vane, J. R., & Botting, R. M. (1996). Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 25(sup102), 9-21.
- Verbiscar, A. J., Banigan, T. F., & Gentry, H. S. (1986). Recent research on red squill as a rodenticide. In *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference* (Vol. 12, No. 12).
- Verger, R., Haas, G. H. D., Sarda, L., & Desnuelle, P. (1969). Purification from porcine pancreas of two molecular species with lipase activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 188(2), 272-282.
- Weill, B., & Batteux, F. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. *De Boeck Supérieur*.
- Wyk, B.-E. van, & Wink, M. (2018). Medicinal Plants of the World. *CAB International*.

- Yadav, A., Gupta, A., & Singh, S. (2015). Pharmacological evaluation of antidiabetic activity of *Urginea indica* in laboratory animals. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 5(2), 63.
- Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar Korich, M. N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1), 5-12.
- Zhang, L., Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Yıldızıtugay, E., Jugreet, S., Simal-Gandara, J., Rouphael, Y., Pannico, A., & Lucini, L. (2022). Untargeted Phenolic Profiling and Functional Insights of the Aerial Parts and Bulbs of *Drimys maritima* (L.) Stearn. *Plants*, 11(5), 600.
- Zhu, J. T. T., Choi, R. C. Y., Chu, G. K. Y., Cheung, A. W. H., Gao, Q. T., Li, J., Jiang, Z. Y., Dong, T. T. X., & Tsim, K. W. K. (2007). Flavonoids Possess Neuroprotective Effects on Cultured Pheochromocytoma PC12 Cells: A Comparison of Different Flavonoids in Activating Estrogenic Effect and in Preventing β -Amyloid-Induced Cell Death. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2438-2445.
- Zimmer, N., & Cordesse, R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRAE Productions Animales*, 9(3), 167-179.

Annexes

Annexe 1 Résultats de l'antibiogramme.

Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaire correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.



Annexe 2 Résultats de Test NO pour l'évaluation de test Anti-inflammatoire.

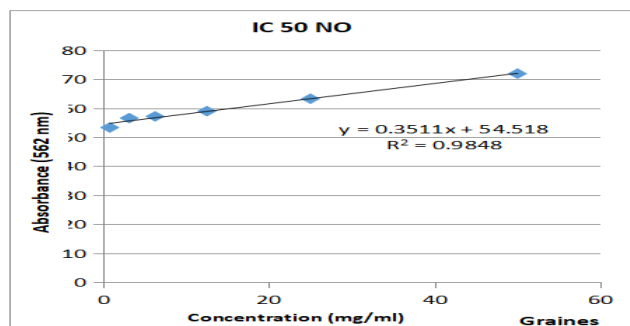
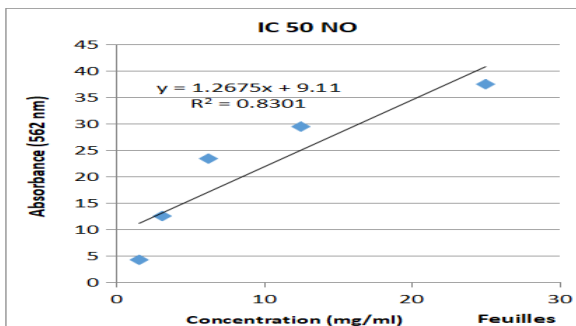


Calices



Graines

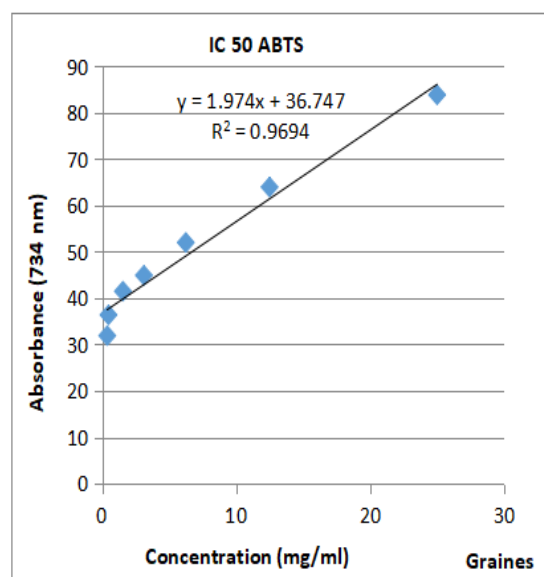
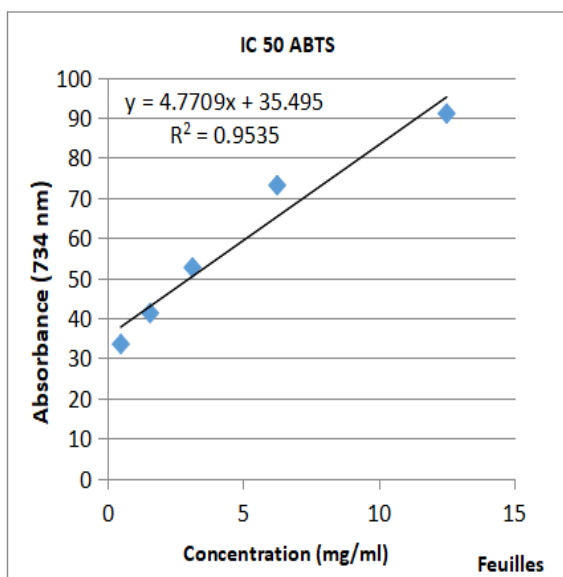
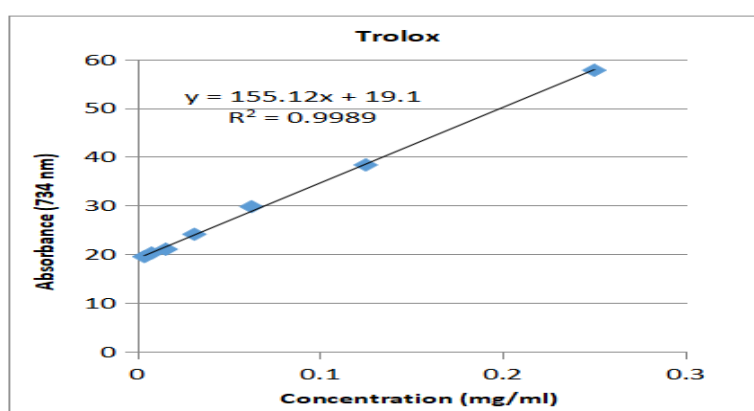
Courbe d'étalonnage du Test.



Annexe 3 Résultats du Test ABTS pour l'évaluation de test Antioxydants.



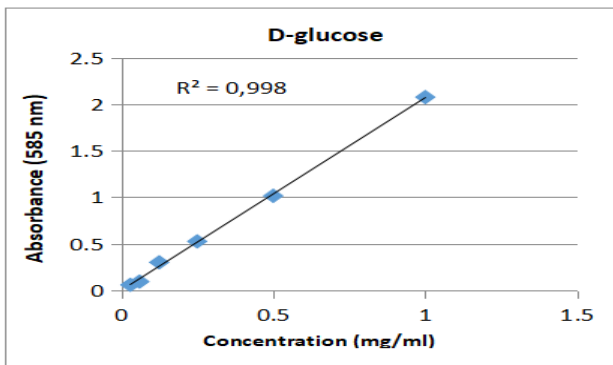
Courbe d'étalonnage Trolox



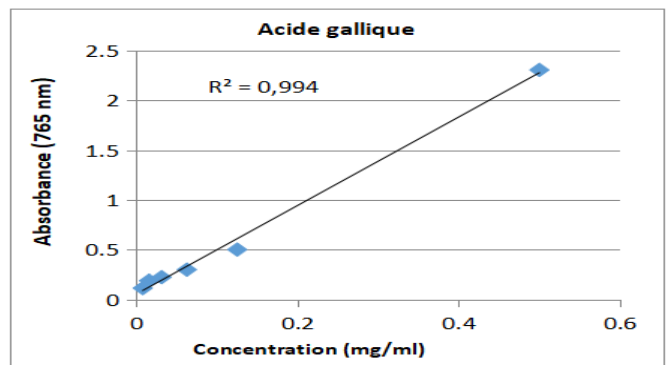
IC50 ABTS pour les calices et graines

Annexe 4 Courbes d'étalonnage des analyses phytochimiques réalisées.

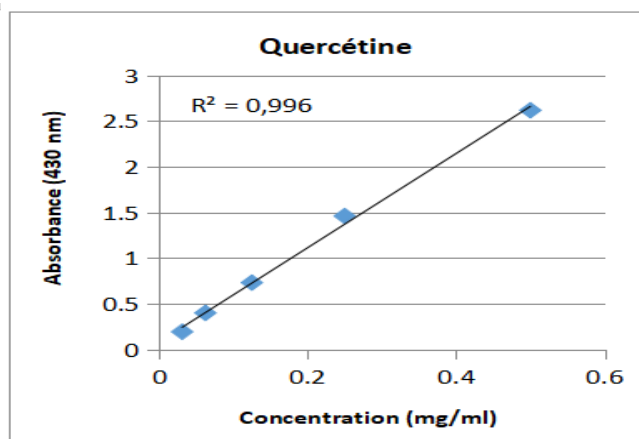
Sucres totaux



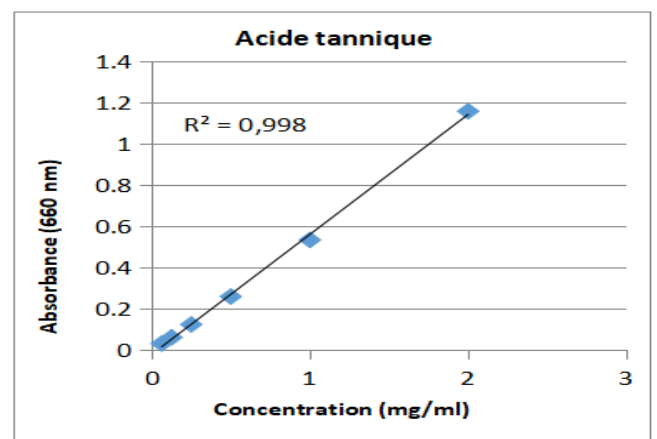
Polyphénols



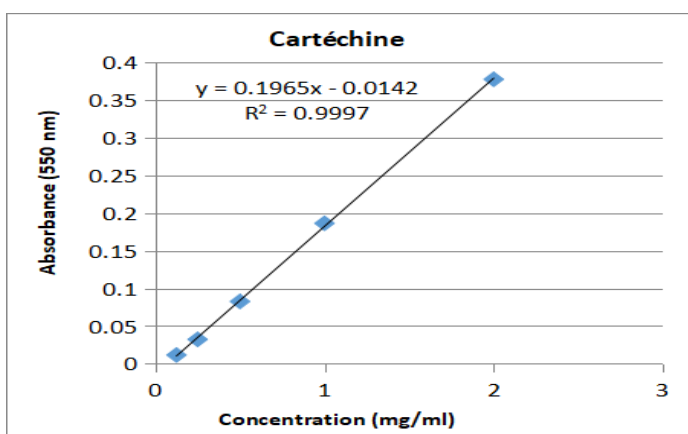
Flavonoïdes



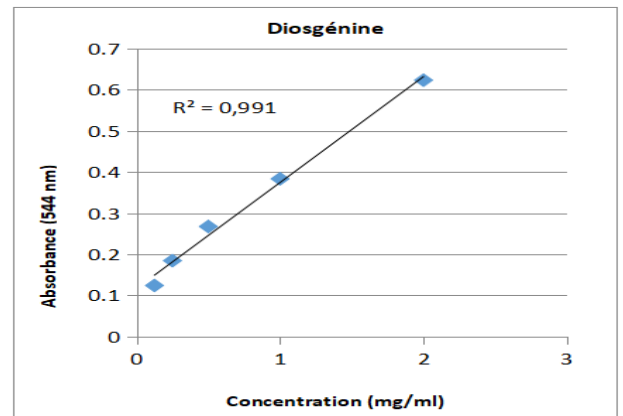
Tannins hydrolysables



Tannins Condensés



Saponines



Résumé

Face aux défis tels que le stress oxydatif, l'inflammation, la toxicité des médicaments et la résistance aux antibiotiques, la recherche de nouvelles alternatives bio efficaces devient cruciale. Cette étude évalue les activités biologiques des extraits hydro-éthanoliques des calices et graines de *Drimia maritima*. Après optimisation des conditions d'extraction avec le logiciel JMP, nous avons analysé les composés phytochimiques in vitro. Les rendements d'extraction étaient de 27,072 % pour les calices et 23,64 % pour les graines. L'extrait des calices contenait $69,3 \pm 0,001$ (mg EAG/g MS) de polyphénols, $54 \pm 0,001$ mg EQ/g MS de flavonoïdes, $572,8 \pm 0,003$ (mg ED-G/g MS) de sucres totaux, $61,17 \pm 0,006$ (mg ED/g) MS de saponines, $26,88 \pm 0,02$ mg EC/g MS de tanins condensés et $5,3 \pm 0,011$ mg EAT/g MS de tanins hydrolysables. L'extrait des graines contenait $7,87 \pm 0,003$ (mg EAG/g MS) de polyphénols, $15,376 \pm 0,0006$ mg EQ/g MS de flavonoïdes, $183,98 \pm 0,028$ (mg ED-G/g MS) de sucres totaux, $176,9 \pm 0,05$ (mg ED/g) MS de saponines, $23,9 \pm 0,022$ (mg EC/g) MS de tanins condensés et $1,8 \pm 0,003$ mg EAT/g MS de tanins hydrolysables. Les activités antioxydants ont été confirmées par le test ABTS avec un IC50 de 2,6 mg/ml pour les calices et 2,3 mg/ml pour les graines. L'activité anti-inflammatoire a été mesurée par l'inhibition du NO, avec un IC50 de 0,2 mg/ml pour les calices et 1,4 mg/ml pour les graines. L'activité antibactérienne a été testée par diffusion en gélose suivant la méthode des disques (pour les deux extraits) et celle des spots pour (l'huile des grains), ce dernier a montré des faibles zones d'inhibition pour *S. aureus* et *B. subtilis* (7mm et 13mm) respectivement. Les résultats montrent que les extraits de *Drimia maritima* sont riches en composés bioactifs avec des propriétés antioxydants et anti-inflammatoires.

Mots clés : *Drimia maritima*, effets antioxydants, effets antiinflammatoires, polyphénols.

Abstract

Facing challenges such as oxidative stress, inflammation, drug toxicity, and antibiotic resistance, the search for new effective bio-alternatives becomes crucial. This study evaluates the biological activities of hydro-ethanolic extracts from the calyces and seeds of *Drimia maritima*. After optimizing the extraction conditions with JMP software, we analyzed the phytochemical compounds in vitro. The extraction yields were 27.072% for the calyces and 23.64% for the seeds. The calyx extract contained 69.3 ± 0.001 (mg EAG/g MS) of polyphenols, 54 ± 0.001 mg EQ/g MS of flavonoids, 572.8 ± 0.003 (mg ED/g DW) of total sugars, 61.17 ± 0.006 (mg ED/g) MS of saponins, 26.88 ± 0.02 mg EC/g MS of condensed tannins, and 5.3 ± 0.011 mg EAT/g MS of hydrolyzable tannins. The seed extract contained 7.87 ± 0.003 (mg EAG/g MS) of polyphenols, 15.376 ± 0.0006 mg EQ/g MS of flavonoids, 183.98 ± 0.028 (mg ED/g MS) of total sugars, 176.9 ± 0.05 (mg ED/g) MS of saponins, 23.9 ± 0.022 (mg EC/g) MS of condensed tannins, and 1.8 ± 0.003 mg EAT/g MS of hydrolyzable tannins. Antioxidant activities were confirmed by the ABTS test with an IC50 of 2.6 mg/ml for the calyces and 2.3 mg/ml for the seeds. Anti-inflammatory activity was measured by NO inhibition, with an IC50 of 0.2 mg/ml for the calyces and 1.4 mg/ml for the seeds. Antibacterial activity was tested by agar diffusion using the disk method (for both extracts) and the spot method (for the seed oil), showing small inhibition zones for *S. aureus* and *B. subtilis* (7mm and 13mm respectively). The results show that *Drimia maritima* extracts are rich in bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties.

Keywords: *Drimia maritima*, antioxidant effects, anti-inflammatory effects, polyphenols

المخلص

مواجهة التحديات مثل الإجهاد التأكسدي والالتهاب وسُمّية الأدوية ومقاومة المضادات الحيوية، يصبح البحث عن بدائل بيولوجية فعالة جديدة أمرًا حيويًا. تقيم هذه الدراسة الأنشطة البيولوجية لمستخلصات الهيدرو-إيثانول من كؤوس وبذور نبات الدريميا البحرية. بعد تحسين شروط الاستخراج باستخدام برنامج JMP، قمنا بتحليل المركبات النباتية الكيميائية في المختبر. كانت معدلات الاستخلاص 27.072% للكؤوس و23.64% للبذور. احتوى مستخلص الكؤوس على 69.3 ± 0.001 (ملغم/غرام MS) من البوليفينولات، 54 ± 0.001 ملغم/غرام MS من الفلافونويدات، 572.8 ± 0.003 (ملغم/غرام ED) من السكريات الكلية، 61.17 ± 0.006 (ملغم/غرام MS) من السابونينات، 26.88 ± 0.02 ملغم/غرام MS من التانينات المكثفة، و 5.3 ± 0.011 ملغم/غرام MS من التانينات القابلة للتحلل. احتوى مستخلص البذور على 7.87 ± 0.003 (ملغم/غرام MS) من البوليفينولات، 15.376 ± 0.0006 ملغم/غرام MS من الفلافونويدات، 183.98 ± 0.028 (ملغم/غرام ED) من السكريات الكلية، 176.9 ± 0.05 (ملغم/غرام MS) من السابونينات، 23.9 ± 0.022 (ملغم/غرام MS) من التانينات المكثفة، و 1.8 ± 0.003 ملغم/غرام MS من التانينات القابلة للتحلل. تم تأكيد الأنشطة المضادة للأكسدة بواسطة اختبار ABTS بتركيز نصف مثبط (IC50) يبلغ 2.6 ملغم/مل للكؤوس و2.3 ملغم/مل للبذور. تم قياس النشاط المضاد للالتهابات بواسطة تثبيط أكسيد النيتريك، بتركيز نصف مثبط (IC50) يبلغ 0.2 ملغم/مل للكؤوس و1.4 ملغم/مل للبذور. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة الانتشار في الأجار باستخدام طريقة الأقراس (للخلاصة) وطريقة البقع (لزيت البذور)، وأظهرت مناطق تثبيط صغيرة للبكتيريا العنقودية الذهبية (*S. aureus*) والجراثومة العسوية الرقيقة (*B. subtilis*) بقطر 7 ملم و13 ملم على التوالي. تُظهر النتائج أن مستخلصات نبات الدريميا البحرية غنية بالمركبات النشطة بيولوجيًا التي تمتلك خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات.

لتأثيرات المضادة للأكسدة، التأثيرات المضادة للالتهابات، البوليفينولات الدريميا البحرية: الكلمات الرئيسية