Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrour University- Khenchela-
Natural and life sciences Faculty
Molecular and Cellular Biology Department

N° de series: ……...

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Sciences de la nature et de la vie**

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Biochimie appliquée**

Présenté par :

Boussalem Souhila ***Nedjma Wahiba***

Thème

Screening phytochimique d'une plante médicinale et l'étude *in vitro* de son activité biologique

Thèse soutenue publiquement le : / juin /2026

Jury composé de :

Présidente : Dr. Boutarfa Soumia MCA	**Université Abbes Laghrour, Khenchela**
Encadrante : Dr. Mayouf Nozha MCA	**Université Abbes Laghrour, Khenchela**
Examinatrice : Dr. Aroua Khaoula MCA	**Université Abbes Laghrour, Khenchela**

Année Universitaire : 2025/2026

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, nous remercions **ALAAH**, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la santé, le courage, la volonté et la patience nécessaires à la réalisation de ce mémoire.

Ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide précieuse et les conseils avisés de notre encadrante, **Dr. MAYOUF Nouzha** Nous lui exprimons notre profonde gratitude pour la qualité de son encadrement, sa patience, sa rigueur scientifique ainsi que sa disponibilité tout au long de la préparation de ce travail. Nous lui sommes également très reconnaissants pour la confiance qu'elle nous a accordée.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres du jury : **Dr. BOUTARFA Soumia,** présidente du jury, et **Dr. AROUA Khaoula**, examinatrice, pour l'honneur qu'elles nous font en acceptant d'évaluer notre travail et pour l'intérêt qu'elles portent à cette étude.

Nous remercions également **AZIZI Aya**, **GELOUL Bouchra**, **DJOUADI Fatma El-Zohra** et **BEN AMMARA Marwa** pour leur aide précieuse, leur soutien et leurs encouragements.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble du Département de Biologie ainsi que tous nos enseignants du Département des Sciences de la Nature et de la Vie pour leurs efforts, leur générosité, leur patience et les connaissances précieuses qu'ils nous ont transmises tout au long de notre parcours universitaire.

Nos sincères remerciements s'adressent également à tout le personnel du laboratoire de recherche de notre faculté, aux ingénieurs de laboratoire, et plus particulièrement à **Noureddine**, **Rima** et **Sara** pour leur aide et leur disponibilité.

Nous exprimons notre profonde gratitude à nos familles pour leur soutien indéfectible, leurs encouragements, leurs conseils et leur amour. Sans eux, ce travail n'aurait pas pu voir le jour.

Enfin, nous remercions chaleureusement nos amis et collègues pour leur aide précieuse, leur soutien ainsi que les agréables moments partagés tout au long de la réalisation de ce mémoire.

DÉDICACE

*Toute ma reconnaissance va à **ALLAH**, le Clément, pour Sa bienveillance et Son soutien constants tout au long de ma vie.*

***À mon cher père* Rezkaallah**, *qui a toujours été mon soutien, ma fierté et une source constante de motivation tout au long de mon parcours.*

***À ma chère* mère**, *dont les prières, l'amour et la bienveillance ont illuminé mon chemin et renforcé ma persévérance à chaque étape.*

***À mes frères* Khaled et Abdelouadoud**, *ainsi qu'à ma petite sœur* **Asma**, *pour leur affection et leur soutien inconditionnel.*

***À ma binôme* Wahiba**, *pour sa collaboration, sa patience et son engagement tout au long de la réalisation de ce travail.*

À moi-même, *pour la persévérance, le courage et la détermination nécessaires pour mener ce projet à son terme.*

À toute ma famille et **à toutes les personnes** *qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

Je dédie ce travail avec toute ma gratitude et mon profond respect.

Souhila

Dédicace

Louange à Dieu, *le Tout-Puissant.*

Je dédie ce modeste travail :

À ma très chère maman, *ma raison de vivre, en témoignage de ma profonde reconnaissance pour sa patience, son amour inconditionnel et tous les sacrifices qu'elle a consentis pour moi.*

À mon cher papa, *pour son amour, son soutien et son dévouement.*

À vous, *mes chers parents, je dis merci d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui.*

Aucune dédicace ne saurait exprimer le respect, la gratitude et la grande admiration que j'éprouve pour vous.

Puisse ce travail témoigner de mon affection et de mon profond amour.

À mon amie Souhila, *pour son aide précieuse, son soutien constant, sa patience et tous les efforts qu'elle a fournis à mes côtés tout au long de la réalisation de ce travail.*

Je lui exprime ma profonde gratitude et mes sincères remerciements.

À toute ma famille, *pour leur soutien et leurs encouragements.*

Enfin, à toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment, je dédie ce mémoire.

Wahiba

Screening phytochimique d'une plante médicinale et l'étude *in vitro* de son activité biologique

Résumé

Tilia cordata est une plante médicinale appartenant à la famille des *Malvaceae,* largement utilisée en phytothérapie traditionnelle, notamment pour la gestion du stress, de l'anxiété et des troubles du sommeil, ainsi que pour le soulagement des affections respiratoires bénignes et des états inflammatoires légers, en raison de ses propriétés sédatives, antioxydantes et anti-inflammatoires. La présente étude vise à réaliser un screening phytochimique de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* et à évaluer ses activités biologiques *in vitro,* à savoir antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne. L'approche expérimentale repose sur la préparation d'un extrait aqueux suivie d'un screening phytochimique qualitatif et de dosages des principaux constituants tels que les polyphénols, flavonoïdes et flavonols, ainsi que des métabolites primaires comme les sucres et les protéines. Les activités antioxydantes ont été évaluées par les tests DPPH, OH et TAC, tandis que l'activité anti-inflammatoire a été déterminée par les modèles de dénaturation de l'ovalbumine et de la BSA. L'activité antibactérienne a été étudiée par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats ont révélé une richesse importante en métabolites secondaires, notamment les polyphénols, flavonoïdes, tanins, terpènoïdes et saponines. L'extrait a montré une activité antioxydante significative avec des valeurs de IC_{50} de 0.154±0.031mg/mL (DPPH), 0.544 ± 0.074mg/ml (OH) et une EC_{50} de 0.458±0.034 mg/ml. L'activité anti-inflammatoire a mis en évidence des inhibitions élevées atteignant 93,50% pour l'ovalbumine et 87,91% pour la BSA à 4 mg/ml avec un effet proche du diclofénac (93,50 % à 2 mg/ml). L'évaluation de l'activité antibactérienne révèle un effet dose-dépendant de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition de 9 et 10 mm aux doses 50 et 100 mg/ml. En conclusion, l'extrait aqueux de *Tilia cordata* présente un potentiel biologique important, confirmant son intérêt en phytothérapie et ouvrant des perspectives pour des études pharmacologiques approfondies.

Mots-clés : antioxydante ; anti-inflammatoire ; aqueux ; métabolites secondaires ; *Tilia cordata.*

Phytochemical Screening of a Medicinal Plant and the in Vitro Study of Its Biological Activity

Abstract

Tilia cordata is a medicinal plant belonging to the *Malvaceae* family, widely used in traditional phytotherapy, particularly for the management of stress, anxiety, and sleep disorders, as well as for the relief of mild respiratory disorders and mild inflammatory conditions, due to its sedative, antioxidant, and anti-inflammatory properties. The present study aims to carry out a phytochemical screening of the aqueous extract of *Tilia cordata* and to evaluate its in vitro biological activities, namely antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial activities. The experimental approach is based on the preparation of an aqueous extract followed by a qualitative phytochemical screening and the quantification of the main constituents such as polyphenols, flavonoids, and flavonols, as well as primary metabolites including sugars and proteins. Antioxidant activities were evaluated using DPPH, OH, and TAC assays, while the anti-inflammatory activity was determined using ovalbumin and BSA denaturation models. Antibacterial activity was studied using the disc diffusion method. The results revealed a high richness in secondary metabolites, notably polyphenols, flavonoids, tannins, terpenoids, and saponins. The extract showed significant antioxidant activity with IC_{50} values of 0.154 ± 0.031 mg/mL (DPPH), 0.544 ± 0.074 mg/mL (OH), and an EC_{50} value of 0.458 ± 0.034 mg/mL. The anti-inflammatory activity highlighted high inhibition rates reaching 93.50% for ovalbumin and 87.91% for BSA at 4 mg/mL, with an effect close to that of diclofenac (93.50% at 2 mg/mL). The evaluation of the antibacterial activity revealed a dose-dependent effect of the aqueous extract of *Tilia cordata* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, with inhibition zones of 9 and 10 mm at doses of 50 and 100 mg/mL. In conclusion, the aqueous extract of *Tilia cordata* presents an important biological potential, confirming its interest in phytotherapy and opening perspectives for further pharmacological studies.

Keywords: antioxidant; anti-inflammatory; aqueous; secondary metabolites; *Tilia cordata*.

التحري الكيميائي النباتي لنبات طبي ودراسة نشاطه البيولوجي في المختبر

ملخص

*Tilia cordata*هو نبات طبي ينتمي إلى فصيلة*Malvaceae* ، ويُستعمل على نطاق واسع في العلاج بالنباتات التقليدي، خاصةً في تدبير التوتر والقلق واضطرابات النوم، وكذلك للتخفيف من الاضطرابات التنفسية الخفيفة والحالات الالتهابية البسيطة، وذلك بفضل خصائصه المهدئة والمضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب. تهدف هذه الدراسة إلى إجراء تحرٍّ كيميائي نباتي للمستخلص المائي لنبات *Tilia cordata* وتقييم أنشطته البيولوجية في المختبر، والمتمثلة في النشاط المضاد للأكسدة، والمضاد للالتهاب، والمضاد للبكتيريا. يعتمد النهج التجريبي على تحضير مستخلص مائي متبوع بتحرٍّ كيميائي نباتي نوعي وقياس المكونات الرئيسية مثل متعددات الفينول والفلافونويدات والفلافونولات، بالإضافة إلى المستقلبات الأولية مثل السكريات والبروتينات. تم تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة باستعمال اختبارات DPPH و OHوTAC، في حين تم تحديد النشاط المضاد للالتهاب باستعمال نماذج تمسخ الأوفالبومين و .BSAكما تمت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة الانتشار بالأقراص. أظهرت النتائج غنىً كبيراً بالمستقلبات الثانوية، لا سيما متعددات الفينول والفلافونويدات والتانينات والتربينويدات والصابونينات. كما أظهر المستخلص نشاطاً مضاداً للأكسدة معتبراً بقيم IC_{50} بلغت 0.154 ± 0.031 ملغ/مل(DPPH) ، و0.544 ± 0.074 ملغ/مل(OH) ، وقيمة EC_{50} بلغت 0.458 ± 0.034 ملغ/مل. وأبرز النشاط المضاد للالتهاب نسب تثبيط مرتفعة بلغت 93.50٪ بالنسبة للأوفالبومين و87.91٪ بالنسبة لـ BSA عند تركيز 4 ملغ/مل، مع تأثير قريب من تأثير الديكلوفيناك (93.50٪ عند 2 ملغ/مل). كما كشف تقييم النشاط المضاد للبكتيريا عن تأثير يعتمد على الجرعة للمستخلص المائي لنبات *Tilia cordata* ضد *Escherichia coli* و*Staphylococcus aureus*، مع مناطق تثبيط بلغت 9 و10 مم عند الجرعتين 50 و100 ملغ/مل. وفي الختام، يُظهر المستخلص المائي لنبات *Tilia cordata*إمكانات بيولوجية مهمة، مما يؤكد أهميته في العلاج بالنباتات ويفتح آفاقاً لدراسات دوائية أكثر تعمقاً.

الكلمات المفتاحية: المستقلبات الثانوية؛ مضاد الأكسدة؛ مضاد الالتهاب؛ مائي؛ *Tilia cordata*.

Liste des Tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique de *Tilia cordata* **30**
Tableau 2: Espéces similaires à *Tilia cordata* **31**
Tableau 3: Tests Screening phytochimique **36**
Tableau 4: Composition phytochimique de *Tilia cordata* **44**
Tableau 5: Quantification des polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols de l'extrait aqueux de *Tilia cordata*. **45**
Tableau 6: Détermination des teneurs en protéines et en sucres de l'extrait aqueux de *Tilia cordata*. **46**
Tableau 7: Test de DPPH , exprimé en IC50 (mg/ml), de l'extrait aqueux de Tilia cordata et du standard de référence **47**
Tableau 8: Test de TAC , exprimé en EC 50 (mg/ml), de l'extrait aqueux de *Tilia cordata*.. **48**
Tableau 9: Test de Radical hydroxyle , exprimé en IC 50 (mg/ml) , de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* et du standard de référence..... **49**
Tableau 10: Pourcentage d'inhibition de l'activité anti inflammatoire *in vitro* de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf **50**
Tableau 11: Effet de l'extrait aqueux sur l'activité anti inflammatoire *in vitro* par méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine..... **52**
Tableau 13: Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* **54**

Liste des figures

Liste de Figures

Figure 1: Classification générale des métabolites secondaires et principales voies de biosynthèse chez les plantes..... **4**
Figure 2: Schéma simplifié de la voie des phénylpropanoïdes. **5**
Figure 3: Structure générale des flavonoïdes **6**
Figure 4: Classification des tanins en tanins hydrolysables et tanins condensés **7**
Figure 5: Structure générale de la 1,4-benzoquinone..... **8**
Figure 6: Structure de quelques alcaloïdes caractéristiques..... **8**
Figure 7: Interconversion de l'IPP et du DMAPP (Dimethylallyl pyrophosphate catalysée par l'IPP isomérase. **9**
Figure 8: Structure de saponines. **10**
Figure 9: Représentation schématique du stress oxydatif et des principaux systèmes antioxydants cellulaires..... **11**
Figure 10: Principales sources cellulaires des espèces réactive de l'oxygène et leurs effets. . **12**
Figure 11: Interaction entre les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote dans le stress oxydo-nitratif **13**
Figure 12: Les différents facteurs influencent le stress oxydant. **14**
Figure 13: Évaluation de l'inflammation aiguë. **15**
Figure 14: Étape de l'inflammation aiguë. **16**
Figure 15: Processus de réparation tissulaire. **17**
Figure 16: Les antibiotiques. **22**
Figure 17: Mode d'action des antibiotiques. **23**
Figure 18: Différent mécanismes de résistance développés par les bactéries à l'encontre des antimicrobiens. **24**
Figure 19: Plante *Tilia cordata*. **26**
Figure 20: Branches et tronc de *Tilia cordata*. **27**
Figure 21: Feuilles de *Tilia cordata*. **28**
Figure 22: Fleurs de *Tilia cordata*. **29**
Figure 23: Fruits de *Tilia cordata*. **29**
Figure 24: Carte de répartition de *Tilia cordata* en Europe. **32**

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

BHT : Butylated Hydroxytoluene.

BSA : Bovine Serum Albumin.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

COX : Cyclooxygénases.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EC_{50} : Effective Concentration 50 %.

EATC : Extrait aqueux de *Tilia cordata*.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

IC_{50} : Concentration inhibitrice 50 %.

iNOS : Oxyde nitrique synthase inductible.

LOX : Lipoxygénases.

NF-κB : Facteur nucléaire kappa B.

$O_2{\bullet}^-$: Anion superoxyde.

•OH : Radical hydroxyle.

ROS : Reactive Oxygen Species.

SOD : Superoxyde dismutase.

TAC : Total Antioxidant Capacity.

TFC : Teneur totale en flavonoïdes.

TPC : Teneur totale en composés phénoliques.

UFC : Unité formant colonie.

UHPLC-MS/MS : Chromatographie liquide à ultra-haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

UV : Ultraviolet.

Table des matières

Table des matières

Résumé

Abstract

الملخص

Table des matières

Introduction 1

1. Les métabolites secondaires 4

1.1.Les composés phénoliques 5

1.1.1. Les flavonoïdes 6

1.1.2. Les tanins 6

1.1.3. Les quinones 7

2. Le stress oxydatif 10

2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) 11

2.2. Espèces réactives de l'azote (ERN) 12

2.3. Système antioxydants 13

2.3.1. Antioxydants enzymatiques 13

2.3.2. Antioxydants non enzymatiques 13

2.4. Conséquences biologiques et pathologiques du stress oxydatif 14

3. L'inflammation 15

3.1. Type d'inflammation 15

3.1.1. L'inflammation aiguë 15

3.1.1.1. Phase vasculaire 16

3.1.1.2. Phase cellulaire 16

3.1.1.3. Phase de résolution 16

3.2.2.1. Médiateurs de l'inflammation 17

3.2.2.1.1. Médiateurs plasmatiques 18

Table des matières

3.2.2.1.2. Médiateurs cellulaires 18

3.2.3. Les traitements anti-inflammatoires **18**

3.2.3.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens 18

3.2.3.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) 18

3.2.3.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale 19

4. Activité anti bactérienne 20

4.1. Principales substances antibactériennes 20

4.2. Méthode de détermination de l'activité antibactérienne 21

4.2.1. Aromatogramme 21

4.2.2. Méthode de dilution 21

4.3. Les antibiotiques 21

4.3.1. Classification des Antibiotiques 22

4.3.2. Modes d'action des antibiotiques 23

4.3.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques 24

4.3.3.1. Résistance naturelle (ou intrinsèque) 24

4.3.3.1. Résistance acquise 24

4.3.4. Traitement des infections bactériennes 25

5. *Tilia cordata* 26

5.1. Présentation générale de *Tilia cordata* 26

5.3. Classification botanique de *Tilia cordata* 30

5.4. Espèces similaires à *Tilia Cordata* 30

5.5. Répartition géographique et zones de propagation 32

5.6. Utilisation traditionnelle et économique de *Tilia cordata* 33

5.6.1. Usage traditionnel en médecine populaire 33

5.6.2. Utilisation industrielles 33

5.7.3. Utilisation alimentaire 33

5.7.4. Importance mellifère 33

Table des matières

Partie expérimentale 34

1. Matériels et méthodes 35

1.1. Matériels 35

1.1.1. Réactifs et appareillages 35

1.1.2. Matériel végétal 35

1.1.3. Matériel bactérien 35

1.2. Méthodes 36

1.2.1. Préparation des extraits 36

1.2.2. Screening phytochimique 36

1.2.3. Détermination de la teneur en polyphénols totaux 37

1.2.4. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux 38

1.2.5. Détermination de la teneur en flavonols totaux 38

1.2.6. Détermination de la teneur en protéines totales (méthode de Bradford) 38

1.2.7. Dosage des sucres 39

1.2.8. Évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* 39

1.2.8.3. Test de la capacité antioxydante totale (CAT) 39

2.1. Évaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf 40

2.2. Évaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de BSA 40

4. Activité antibactérienne 41

4.1. Méthode de diffusion 41

4.1.1. Diffusion sur milieu gélosé 41

5. Analyse statistique 42

Résultats et discussion 43

1. Résultats et discussions 44

1.1 Screening phytochimique 44

1.2. Teneur des polyphénols, flavonoïdes, flavonols 45

Table des matières

1.3. Détermination de la teneur des Protéines et des sucres 46

1.4. Évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* 46

1.4.1. Test de piégeage du radical DPPH **47**

1.4.2. Test de la capacité antioxydante totale (TAC) 48

1.4.3. Le test du piégeage du radical hydroxyle 49

1.5. Evaluions d'activité anti inflammatoire *in vitro* 50

1.5.1. La méthode de dénaturation d'albumine d'œuf 50

1.5.2. La méthode de dénaturation de BSA 51

1.6. Activité antibactérienne *in vitro* 53

1.6.1. Évaluation de l'activité antibactérienne 53

Conclusion et perspectives 57

Références bibliographiques 60

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'Antiquité en médecine traditionnelle pour traiter diverses pathologies. Leur intérêt scientifique repose sur leur richesse en métabolites secondaires bioactifs (polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes), impliqués dans la défense des plantes et dotés d'activités pharmacologiques importantes **(Pandita & Pandita, 2021).** Des études récentes montrent que ces composés possèdent des effets antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiens, faisant des plantes médicinales une source prometteuse pour de nouveaux agents thérapeutiques naturels **(Atanasov *et al*., 2015 ; Vaou *et al*., 2021).**

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la capacité des systèmes antioxydants de l'organisme à les neutraliser. Ce déséquilibre entraîne des dommages au niveau des principales biomolécules telles que les lipides, les protéines et l'ADN, perturbant ainsi le fonctionnement cellulaire normal **(Betteridge, 2000 ; Pizzino *et al*., 2017)**. Le stress oxydatif est impliqué dans la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, les cancers et les maladies neurodégénératives. Les composés phénoliques d'origine végétale ont démontré une capacité importante à limiter ces effets en neutralisant les radicaux libres et en renforçant les systèmes de défense antioxydants endogènes **(Lobo *et al*., 2010 ; Sun *et al*., 2024).**

L'inflammation constitue un mécanisme de défense biologique fondamental mis en place par l'organisme en réponse à des agressions telles que les infections, les lésions tissulaires ou les agents toxiques. Elle vise à éliminer la cause du dommage et à initier la réparation des tissus. Toutefois, lorsque cette réponse devient chronique, elle peut contribuer au développement de nombreuses maladies non transmissibles, telles que les maladies cardiovasculaires, l'obésité ou certains cancers. Le stress oxydatif joue un rôle central dans l'amplification de cette réponse inflammatoire via l'activation de voies de signalisation intracellulaires, notamment NF-κB, entraînant la production excessive de médiateurs pro-inflammatoires. Dans ce contexte, les métabolites végétaux, en particulier les composés phénoliques, ont montré une capacité significative à moduler ces mécanismes inflammatoires (**Yahfoufi *et al*., 2018 ; Gonfa *et al*., 2023)**

Par ailleurs, l'activité antibactérienne constitue un domaine de recherche important en raison de l'augmentation de la résistance des micro-organismes aux antibiotiques conventionnels. Les plantes médicinales représentent ainsi une alternative naturelle intéressante grâce à leur potentiel antimicrobien. Les extraits végétaux agissent par différents mécanismes, notamment la perturbation de la membrane cellulaire, l'inhibition des enzymes essentielles et la réduction des biofilms. Les composés phénoliques et les flavonoïdes sont particulièrement efficaces contre un large spectre de bactéries Gram positives et Gram négatives, ce qui les rend prometteurs pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens naturels **(Cowan, 1999 ; Daglia, 2012 ; Breijyeh *et al*., 2024).**

Notre étude s'inscrit dans le cadre de l'évaluation des activités biologiques d'une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle, notamment ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes.

Ce travail est structuré en trois parties principales :

- La première partie présente une synthèse bibliographique sur les plantes médicinales et leurs principaux composés bioactifs.
- La deuxième partie décrit le matériel utilisé et détaille les méthodes expérimentales adoptées.

La troisième partie présente les résultats obtenus et comprend :

- Un screening phytochimique visant à identifier les métabolites secondaires présents dans la plante étudiée.
- Le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins.
- L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait EATC à travers Trois essais, à savoir le pouvoir antioxydant total (TAC) et le test de piégeage du radical libre DPPH, le piégeage du radical hydroxyl.
- L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait EATC, basée sur le test de dénaturation de la BSA et de l'albumine d'œuf.
- L'analyse de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques, permettant d'évaluer le pouvoir inhibiteur sur la croissance bactérienne.

Ce travail se conclut par une conclusion générale, accompagnée de perspectives de recherche.

Revue bibliographique

1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés organiques de faible masse moléculaire synthétisés par les plantes, les champignons et les micro-organismes. Contrairement aux métabolites primaires, ils ne participent pas directement aux processus fondamentaux de croissance et de reproduction, mais jouent des rôles essentiels dans l'adaptation et la défense des organismes face aux stress biotiques et abiotiques, tels que les agents pathogènes, les rayonnements UV, le stress oxydatif ou la présence de métaux lourds **(Perruchon, 2021).**

Grâce à leur grande diversité structurale et à leurs multiples activités biologiques, ces composés suscitent un intérêt considérable dans les domaines de la pharmacognosie, de la biotechnologie et de la recherche pharmaceutique. Les principales familles de métabolites secondaires d'origine végétale comprennent les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les quinones et les saponines. Leur biosynthèse repose principalement sur des voies métaboliques telles que la voie du shikimate, la voie de l'acétate et les voies isoprépiques **(Huang & Dudareva, 2023).**

La production de ces métabolites est fortement influencée par les conditions environnementales, qui modulent les mécanismes de régulation ainsi que les compartiments cellulaires impliqués dans leur biosynthèse. Par ailleurs, les progrès des techniques analytiques, notamment l'UHPLC-MS/MS et la GC-MS, ont permis une caractérisation plus précise de ces molécules, favorisant ainsi l'identification de nouveaux composés bioactifs à potentiel thérapeutique**(Geistodt-Kiener,2023).**

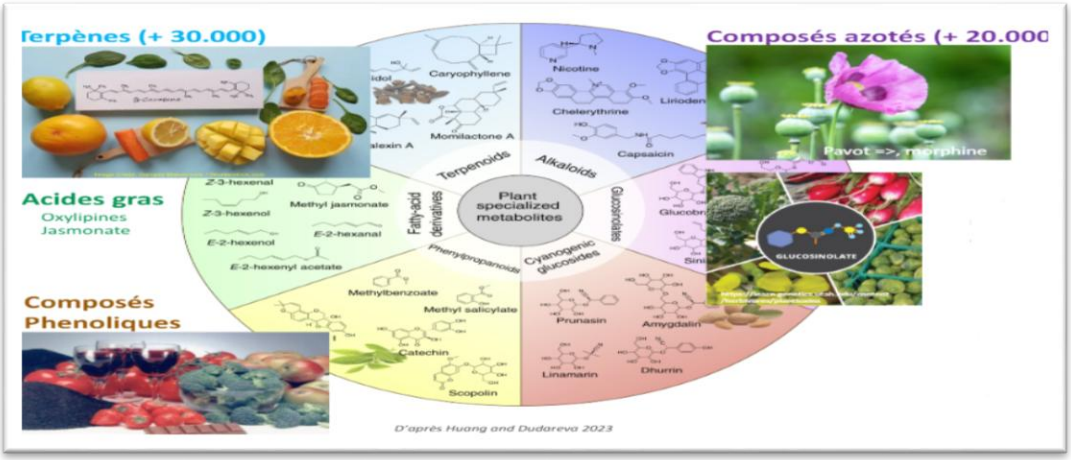


Figure 1: Classification générale des métabolites secondaires et principales voies de biosynthèse chez les plantes**(Huang & Dudareva, 2023).**

1.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent l'une des familles les plus importantes et les plus étudiées parmi les métabolites secondaires végétaux. Ils se caractérisent par la présence d'un ou de plusieurs groupements hydroxyles liés à des cycles aromatiques, ce qui leur confère d'importantes propriétés rédox ainsi qu'une capacité de chélation des ions métalliques **(Sabiha-Achat, 2014).** Plus de 15 000 composés phénoliques ont été identifiés chez les végétaux, illustrant leur grande diversité structurale et leur intérêt biologique **(Sabiha-Achat, 2014).**

La biosynthèse des composés phénoliques repose principalement sur la voie des phénylpropanoïdes. Cette voie débute par la transformation de la phénylalanine en acide cinnamique sous l'action de la phénylalanine ammonialyase (PAL), enzyme clé du métabolisme phénolique. Des réactions enzymatiques successives impliquant notamment la 4-coumarate-CoA ligase (4CL) et la chalcone synthase (CHS) conduisent ensuite à la formation de précurseurs flavonoïdiques et d'autres dérivés phénoliques **(Benbouguerra, 2020).** Ces composés participent activement aux mécanismes de défense des plantes en protégeant les tissus contre le stress oxydatif, les infections microbiennes et diverses contraintes environnementales. Chez l'Homme, leurs propriétés antioxydantes sont associées à plusieurs effets bénéfiques, notamment dans la prévention des maladies cardiovasculaires, de l'inflammation chronique et de certains cancers **(Boutaghane, 2013).**

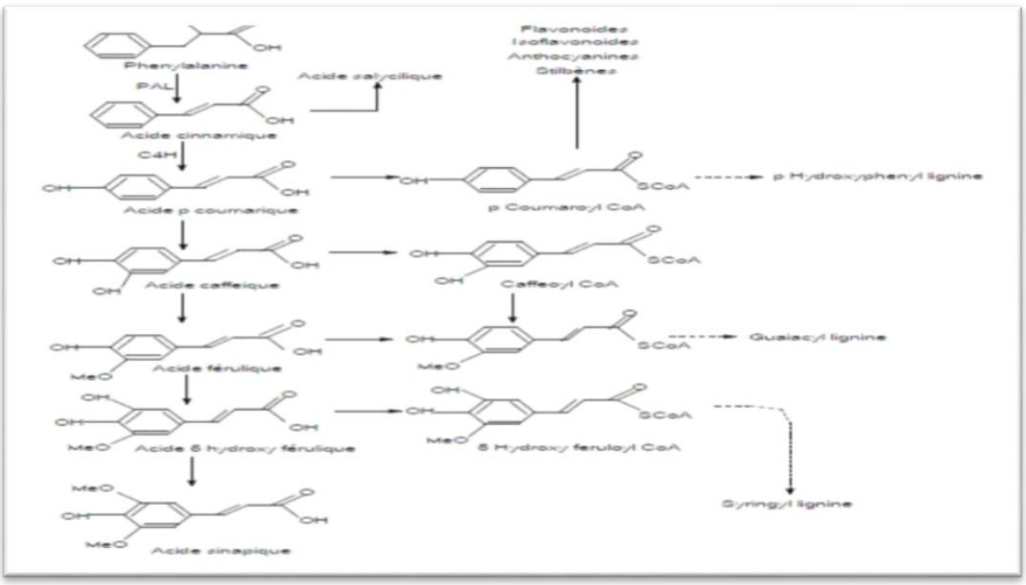


Figure 2: Schéma simplifié de la voie des phénylpropanoïdes **(Hoffmann *et al*.,2004).**

1.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent l'une des classes de polyphénols les plus abondantes dans le règne végétal. Leur structure générale est constituée d'un squelette carboné C6-C3-C6 formé de deux noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle pyranique **(Akroum, 2011).** Cette famille regroupe plusieurs sous-classes, notamment les flavones, les flavonols, les flavanones, les anthocyanidines, les isoflavones et les catéchines. Les flavonoïdes sont largement distribués dans les fruits, les légumes, les plantes médicinales et les boissons d'origine végétale, où ils interviennent dans la pigmentation, les mécanismes de défense et les processus de signalisation cellulaire **(Panche *et al*., 2016).**

Ils présentent de nombreuses activités biologiques, en particulier des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Certaines molécules, telles que la quercétine, la lutéoline et l'épigallocatéchine gallate (EGCG), sont capables de moduler différentes voies de signalisation impliquées dans le stress oxydatif et les processus inflammatoires, notamment la voie NF-κB **(Benbouguerra, 2020).** Plusieurs études épidémiologiques suggèrent qu'une consommation régulière de flavonoïdes pourrait contribuer à réduire le risque de maladies cardiovasculaires et de certains cancers, renforçant ainsi leur intérêt dans les stratégies préventives et thérapeutiques **(Boutaghane, 2013).**

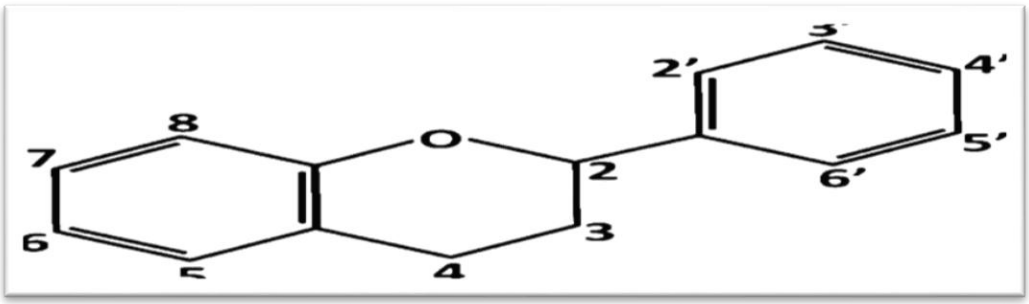


Figure 3: Structure générale des flavonoïdes **(Harnly,2015).**

1.1.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols de haut poids moléculaire capables d'interagir avec les protéines et d'autres macromolécules biologiques, leur conférant ainsi des propriétés astringentes caractéristiques. Ils sont généralement classés en deux grandes catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, également appelés proanthocyanidines **(Jouin, 2019).** Les tanins hydrolysables comprennent principalement les gallotanins et les ellagotanins, qui libèrent respectivement de l'acide gallique et de l'acide ellagique après hydrolyse. Les tanins condensés résultent de la polymérisation d'unités flavan-3-ol telles que la catéchine et

l'épicatéchine **(Benslama, 2020).**

Les tanins possèdent d'importantes propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et astringentes. Chez les plantes, ils participent aux mécanismes de défense contre les herbivores et les micro-organismes pathogènes. En raison de leurs activités biologiques, ils suscitent un intérêt croissant dans les domaines pharmaceutique et nutraceutique **(Jouin, 2019).**

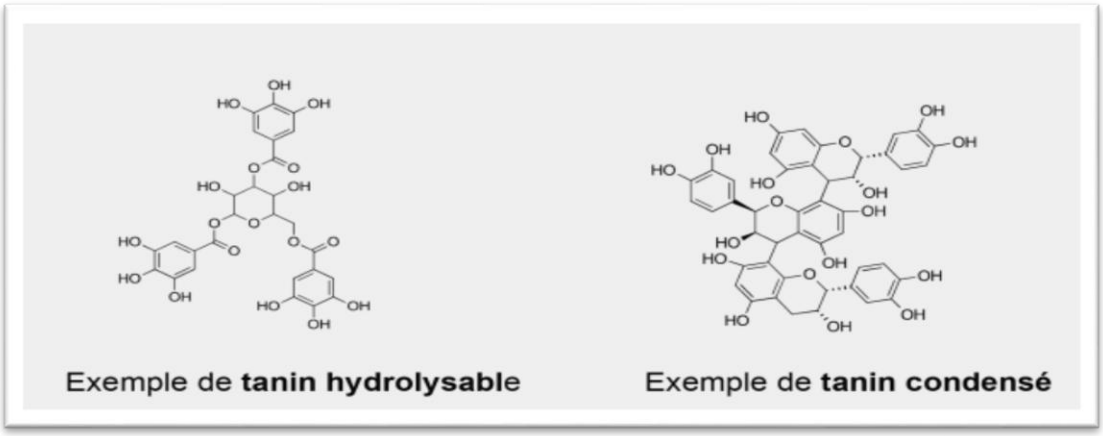


Figure 4: Classification des tanins en tanins hydrolysables et tanins condensés **(Site web1).**

1.1.3. Les quinones

Les quinones sont des composés aromatiques oxygénés largement répartis dans le monde vivant et caractérisés par des activités biologiques et pharmacologiques importantes. Elles regroupent principalement les benzoquinones, les naphtoquinones et les anthraquinones **(Martin, 1997).** Leur biosynthèse dérive essentiellement des voies du shikimate et des polykétides **(Chhour, 2020).** Certaines quinones présentent un intérêt thérapeutique majeur. Les anthracyclines, telles que la doxorubicine et la daunorubicine, sont utilisées en chimiothérapie anticancéreuse, tandis que l'ubiquinone (CoQ10) joue un rôle essentiel dans le transport mitochondrial des électrons et la respiration cellulaire **(Chhour, 2020).**

Par ailleurs, certaines naphtoquinones, comme la phylloquinone (vitamine K1), interviennent dans les mécanismes de coagulation sanguine et possèdent des propriétés antimicrobiennes. Les anthraquinones sont quant à elles connues pour leurs effets laxatifs et leurs activités cytotoxiques, ce qui leur confère un intérêt important en recherche pharmaceutique **(Benali, 2017).**

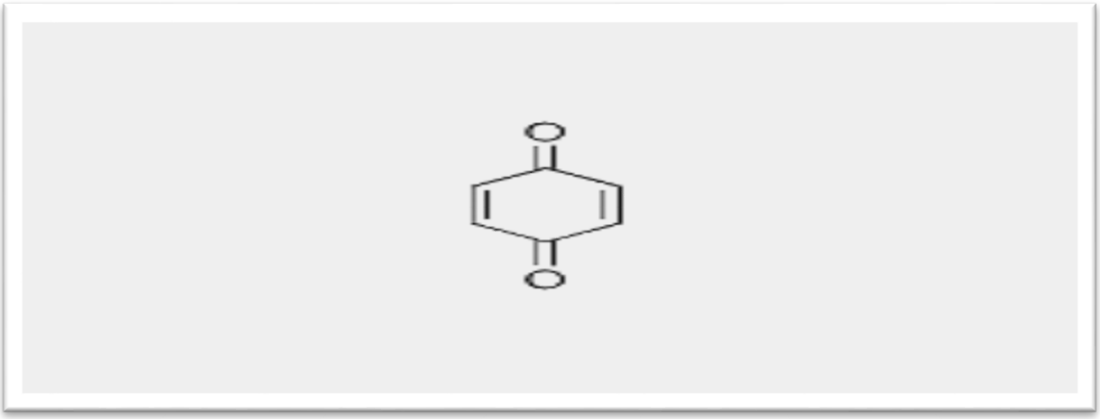


Figure 5: Structure générale de la 1,4-benzoquinone **(Site web 2).**

1.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent une vaste famille de métabolites secondaires azotés caractérisés par une grande diversité structurale et des activités biologiques souvent très marquées. Ils dérivent principalement d'acides aminés tels que le tryptophane, la tyrosine, l'ornithine ou la lysine **(Aniszewski, 2007 ; Manske & Holmes, 2014).** De nombreux alcaloïdes possèdent des propriétés pharmacologiques importantes, notamment analgésiques, antipaludiques, anticancéreuses ou neuroactives. Des molécules telles que la morphine, la quinine, la vincristine et la caféine sont largement utilisées en médecine et dans l'industrie pharmaceutique **(Zenk & Juenger, 2007).**

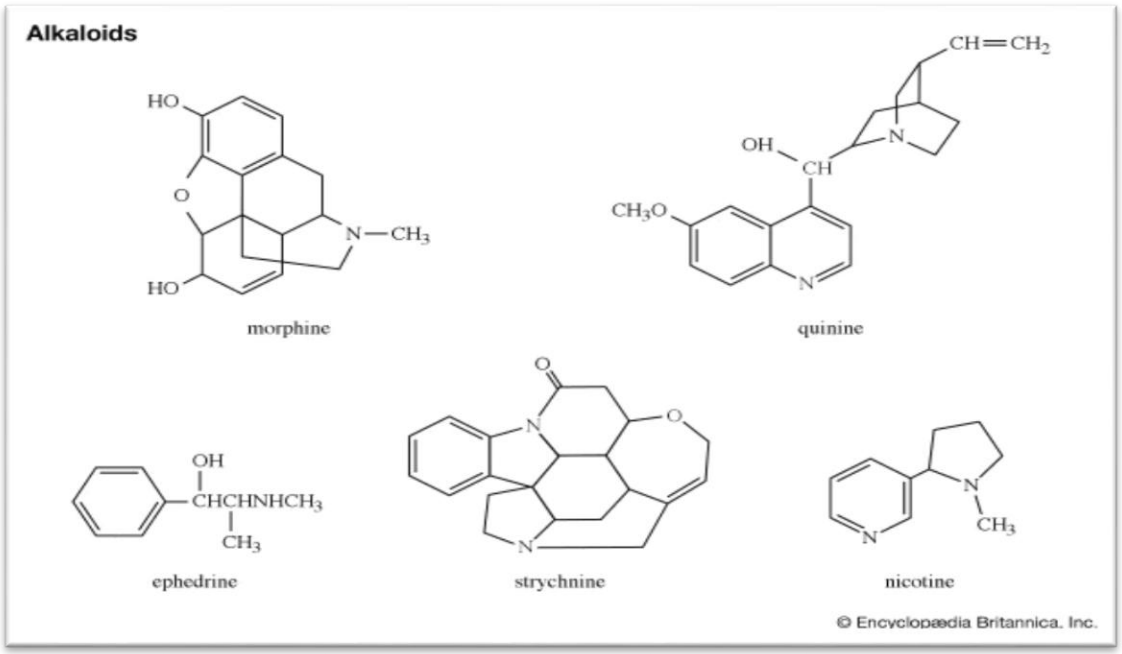


Figure 6: Structure de quelques alcaloïdes caractéristiques **(Site web 3).**

1.3. Les terpènes

Les terpénoïdes représentent la plus vaste classe de métabolites secondaires végétaux. Ils sont biosynthétisés à partir d'unités d'isoprène issues principalement de la voie du mévalonate et de la voie du méthylérythritol phosphate (MEP) **(Abdalh & Quax, 2017 ; Reynolds *et al*., 2017).** Selon le nombre d'unités isoprènes qui les composent, les terpénoïdes sont classés en monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes et tétraterpènes. De nombreux terpénoïdes sont des composés volatils impliqués dans la communication entre les plantes, l'attraction des pollinisateurs et les mécanismes de défense chimique **(Pichersky, 2006).**

Plusieurs terpénoïdes présentent des activités biologiques remarquables. L'artémisinine constitue l'un des principaux traitements antipaludiques, tandis que le paclitaxel (taxol) représente un agent anticancéreux majeur d'origine naturelle **(Couillaud, 2021).**

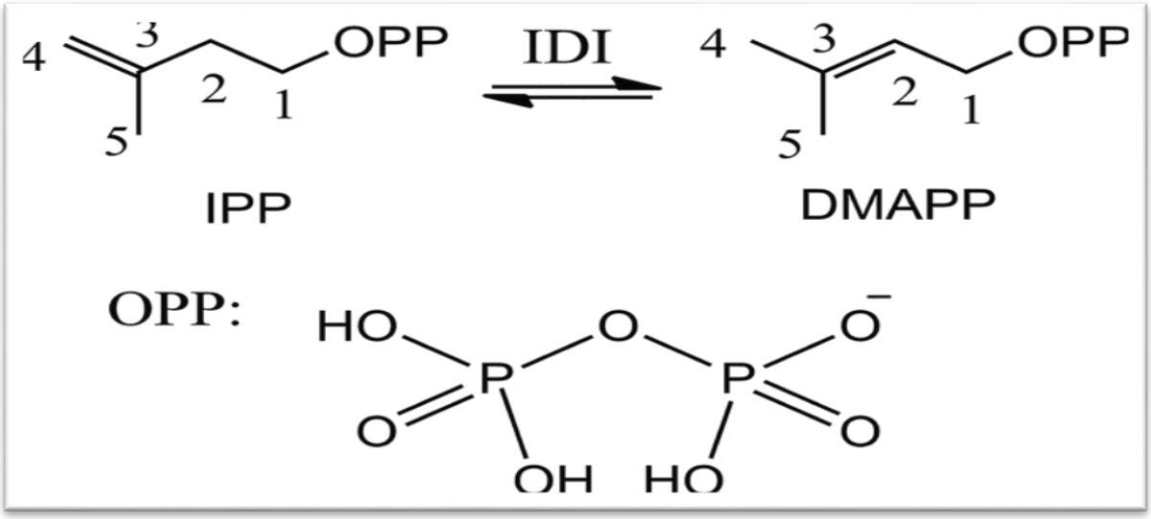


Figure 7: Interconversion de l'IPP et du DMAPP (Dimethylallyl pyrophosphate catalysée par l'IPP isomérase **(Site web 4).**

1.4. Les saponines

Les saponines sont des composés glycosidiques constitués d'une partie hydrophobe appelée sapogénine, liée à une ou plusieurs chaînes glucidiques hydrophiles **(Upadhyay *et al*., 2018 ; Da Sylva *et al*., 2021).** Selon la nature de la sapogénine, elles sont classées en saponines triterpéniques et saponines stéroïdiques. Ces composés sont largement distribués dans les plantes médicinales et alimentaires **(Vincken *et al*., 2007).**

Grâce à leurs propriétés tensioactives, les saponines sont capables de former une mousse

persistante en milieu aqueux. Chez les végétaux, elles jouent un rôle important dans les mécanismes de défense contre les agents pathogènes et les herbivores **(Szakiel *et al*., 2011).** En recherche pharmaceutique, les saponines suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et immunomodulatrices, ainsi que de leur potentiel comme adjuvants thérapeutiques **(Ribeiro *et al*., 2020).**

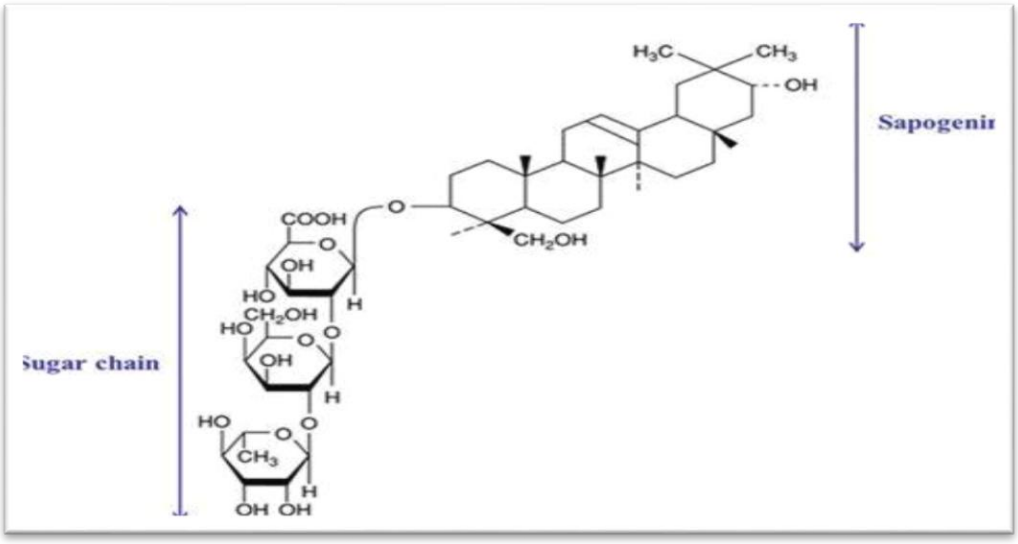


Figure 8: Structure de saponines **(Site web 5).**

2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'espèces réactives de l'azote (ERN), d'une part, et la capacité des systèmes antioxydants cellulaires à les neutraliser, d'autre part. Lorsque les espèces pro-oxydantes dépassent les défenses antioxydantes, il s'ensuit une accumulation de molécules hautement réactives responsables de l'oxydation des lipides, des protéines, des glucides et des acides nucléiques, entraînant des altérations structurales et fonctionnelles au niveau cellulaire et tissulaire **(Debbache, 2015).** Ces espèces réactives sont produites de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire, principalement au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, mais également par diverses enzymes oxydantes telles que les NADPH oxydases, la xanthine oxydase et certaines oxydases flaviniques. Des facteurs environnementaux, notamment les rayonnements UV, les métaux lourds, les polluants chimiques et certains xénobiotiques, peuvent augmenter leur production et perturber l'homéostasie rédox cellulaire **(Py, 2019).** À faibles concentrations, les espèces réactives jouent un rôle essentiel dans la signalisation cellulaire et participent à la régulation de nombreux

processus physiologiques, tels que la prolifération cellulaire, l'apoptose, la réponse immunitaire et l'expression génique.

En revanche, une production excessive ou une insuffisance des systèmes antioxydants favorise l'installation d'un stress oxydatif, étroitement associé à plusieurs pathologies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, le diabète, les maladies neurodégénératives et certains cancers **(Ghraizi, 2022).**

Les cellules disposent de systèmes de défense antioxydants enzymatiques et non enzymatiques permettant de maintenir l'équilibre rédox. Les principaux systèmes enzymatiques comprennent le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx). Les systèmes non enzymatiques reposent principalement sur le glutathion réduit, les vitamines C et E, ainsi que sur divers composés phénoliques d'origine végétale **(Port-Lougharrfe, 2023).**

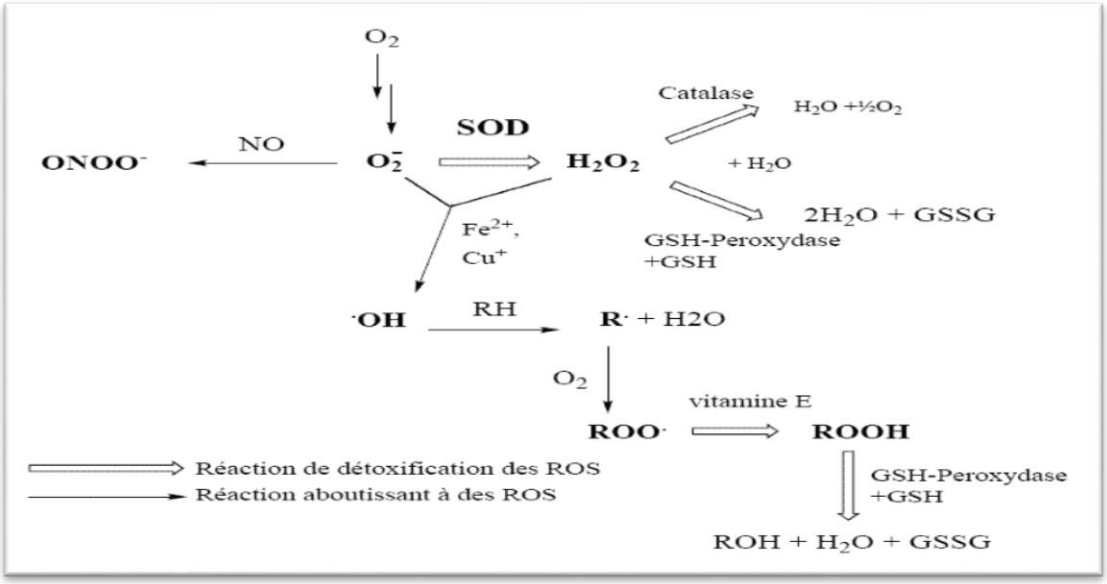


Figure 9: Représentation schématique du stress oxydatif et des principaux systèmes antioxydants cellulaires **(Sies & Jones, 2020).**

2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène regroupent un ensemble de molécules radicalaires et non radicalaires dérivées de l'oxygène moléculaire, telles que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle (•OH) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Elles sont produites principalement au niveau des mitochondries lors du transport des électrons, mais également par les NADPH oxydases membranaires et diverses réactions enzymatiques impliquées dans le métabolisme cellulaire **(Benhammou, 2012).**

Dans des conditions physiologiques, les ERO participent à des fonctions biologiques essentielles, notamment la défense immunitaire, la signalisation intracellulaire et la régulation de l'expression génique. Toutefois, leur surproduction entraîne des dommages oxydatifs des biomolécules, incluant la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les lésions de l'ADN, pouvant conduire à la dysfonction cellulaire et à la mort cellulaire programmée **(Benslama, 2020).**

Les principales sources endogènes des ERO incluent les mitochondries, les NADPH oxydases, la xanthine oxydase et certaines enzymes du cytochrome P450. Des facteurs inflammatoires, métaboliques et environnementaux peuvent augmenter leur production et favoriser un état pro-oxydant chronique impliqué dans plusieurs pathologies **(Sies & Jones, 2020).**

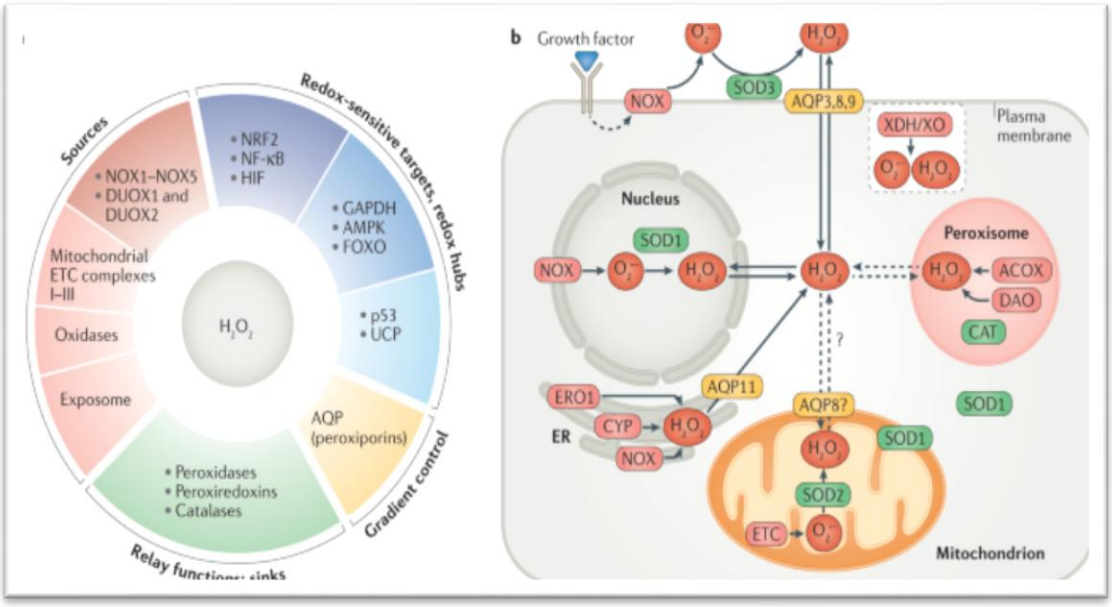


Figure 10: Principales sources cellulaires des espèces réactive de l'oxygène et leurs effets **(Sies &Jones,2020).**

2.2. Espèces réactives de l'azote (ERN)

Les espèces réactives de l'azote regroupent principalement le monoxyde d'azote (NO•), le peroxynitrite ($ONOO^-$) et divers dérivés nitrosés. Le NO• est synthétisé par les différentes isoformes de la NO-synthase et joue un rôle fondamental dans la vasodilatation, la neurotransmission et la signalisation cellulaire **(Maréchal, 2007).** En conditions pathologiques, l'excès de NO• peut réagir rapidement avec l'anion superoxyde pour former le peroxynitrite, une espèce fortement oxydante responsable de la nitration des protéines, de l'oxydation des lipides membranaires et de lésions de l'ADN. Cette interaction entre ERO et ERN amplifie le

stress oxydo-nitratif et au contribue audéveloppement de l'inflammation chronique **(Maréchal,2007).**

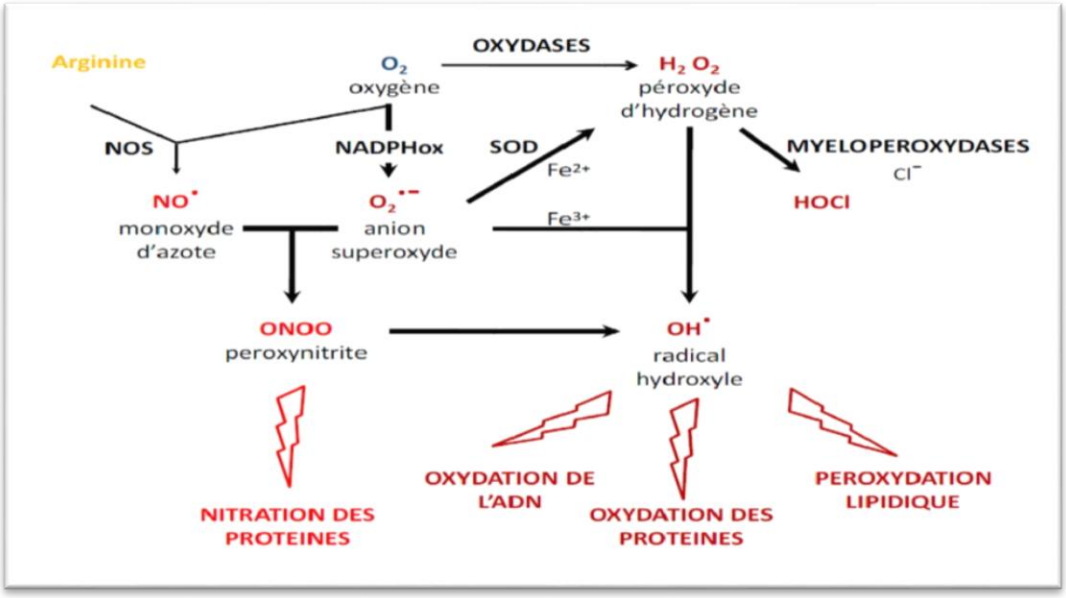


Figure 11: Interaction entre les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote dans le stress oxydo-nitratif **(Afonso *et al.*, 2007).**

2.3. Système antioxydants

Les systèmes antioxydants regroupent l'ensemble des mécanismes cellulaires impliqués dans la neutralisation des espèces réactives et la réparation des dommages oxydatifs. Ils comprennent des défenses enzymatiques et non enzymatiques agissant de manière complémentaire pour maintenir l'homéostasie rédox cellulaire **(Port-Lougharrfe, 2023).**

2.3.1. Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques constituent la première ligne de défense contre les espèces réactives. Le superoxyde dismutase (SOD) catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, ensuite dégradé en eau et oxygène par la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) **(Benhammou, 2012).** Le système thioredoxine ainsi que le glutathion réduit participent également au maintien de l'équilibre rédox et à la réparation des protéines oxydées. L'expression de plusieurs enzymes antioxydantes est régulée par le facteur de transcription Nrf2, acteur central de la réponse cellulaire au stress oxydatif **(Benslama, 2020).**

2.3.2. Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques comprennent des molécules capables de neutraliser

directement les radicaux libres ou de chélater les métaux pro-oxydants. Parmi eux, le glutathion réduit (GSH) constitue un élément majeur du système redox intracellulaire, tandis que les vitamines C et E représentent des antioxydants exogènes essentiels **(Benabdallah, 2021).**

Les polyphénols d'origine végétale, notamment les flavonoïdes et les tanins, participent également à la protection cellulaire grâce à leurs propriétés réductrices et leur capacité à piéger les espèces réactives. L'action synergique de ces systèmes permet de préserver l'intégrité cellulaire et l'homéostasie redox **(Benslama, 2020).**

2.4. Conséquences biologiques et pathologiques du stress oxydatif

Le stress oxydatif entraîne des altérations structurales et fonctionnelles des principales biomolécules cellulaires. L'oxydation des lipides membranaires conduit à la formation de produits toxiques tels que le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonénal (4-HNE). Les dommages oxydatifs de l'ADN favorisent l'apparition de mutations et l'instabilité génomique, tandis que les protéines oxydées subissent des modifications structurelles altérant leur fonction biologique **(Benslama, 2020).**

Ces altérations contribuent au développement de nombreuses pathologies chroniques. Dans les maladies cardiovasculaires, le stress oxydatif favorise l'oxydation des LDL et la dysfonction endothéliale. Dans le diabète, l'hyperglycémie chronique augmente la production d'ERO et aggrave les complications métaboliques et vasculaires. Les maladies neurodégénératives, telles qu'Alzheimer et Parkinson, sont également fortement associées à l'accumulation de dommages oxydatifs neuronaux **(Ghzaïel, 2022).**



Figure 12: Les différents facteurs influencent le stress oxydant **(Site web 6).**

3. L'inflammation

L’inflammation constitue une réponse biologique complexe et fondamentale de l’organisme face à toute agression tissulaire. Elle peut être déclenchée par différents types d’agents, notamment les agents infectieux tels que les bactéries, les parasites et les champignons, ainsi que par des facteurs physiques (chaleur, froid, rayonnements), des agents chimiques (toxines, venins), des corps étrangers ou encore des dérèglements immunitaires. Cette réponse physiologique vise à reconnaître, neutraliser et éliminer l’agent causal, tout en initiant les processus de réparation tissulaire. Sur le plan physiopathologique, elle se manifeste par une augmentation du débit sanguin local, une élévation de la perméabilité vasculaire, le recrutement des leucocytes et la libération de médiateurs inflammatoires **(Simon, 2020).**

3.1. Type d’inflammation

3.1.1. L’inflammation aiguë

L’inflammation aiguë correspond à la réponse rapide de l’immunité innée, constituant la première ligne de défense de l’organisme **(Fechtner *et al*., 2017).** Elle est caractérisée par les signes cardinaux classiques : rougeur, chaleur, douleur et œdème, parfois associés à une perte fonctionnelle locale **(Janeway *et al*., 2003).**

Cette réponse se déroule en trois phases principales : une phase vasculaire, une phase cellulaire et une phase de résolution **(Charles *et al*., 2010).**

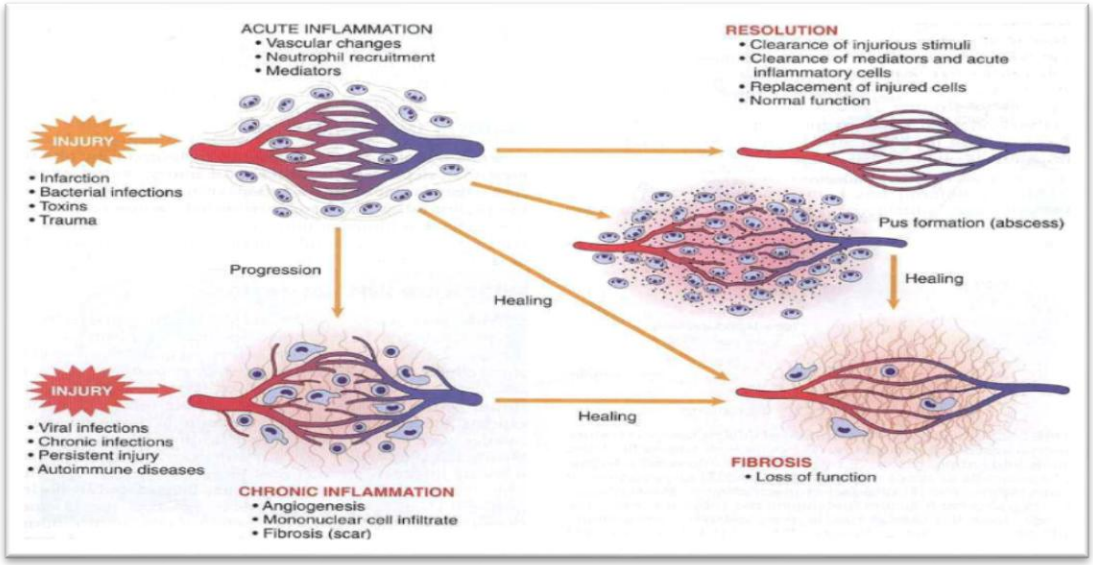


Figure 13: Évolution de l'inflammation aiguë **((Kumar *et al*., 2007).**

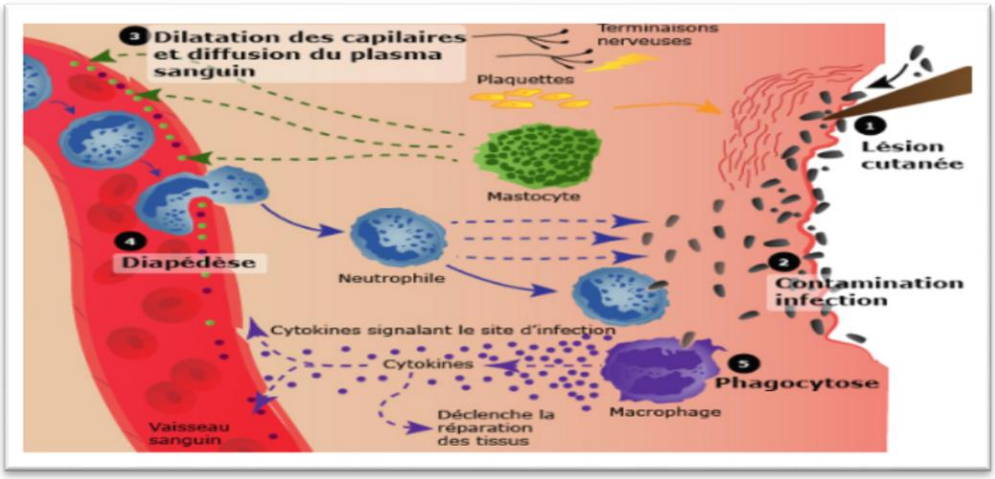


Figure 14: Étape de l'inflammation aiguë **(Site web 7).**

3.1.1.1. Phase vasculaire

La phase vasculaire débute par une brève vasoconstriction réflexe, rapidement suivie d'une vasodilatation prolongée induite par les médiateurs inflammatoires. Cette modification hémodynamique entraîne une augmentation de la perméabilité capillaire et une exsudation plasmatique responsable de l'œdème **(Weill *et al*., 2003 ; Dorward *et al*., 2012).**

Parallèlement, les systèmes de la coagulation et du complément sont activés, conduisant à la production de médiateurs tels que la fibrine, la bradykinine, C3a et C5a, qui amplifient la réponse inflammatoire et favorisent le recrutement cellulaire **(Fauve & Hevin, 1998 ; Autier *et al*., 2004).**

3.1.1.2. Phase cellulaire

La phase cellulaire est marquée par la migration des leucocytes vers le foyer inflammatoire. Les polynucléaires neutrophiles (PMN) sont les premiers recrutés, suivis des monocytes qui se différencient en macrophages, puis des lymphocytes **(Dorward *et al*., 2012 ; Headland & Norling, 2015).**

Les neutrophiles assurent la phagocytose et l'élimination des agents pathogènes, tandis que les macrophages jouent un rôle central dans la coordination de la réponse inflammatoire et la clairance des débris cellulaires **(Iwalewa *et al*., 2007).**

3.1.1.3. Phase de résolution

La phase de résolution correspond à l'arrêt progressif de la réponse inflammatoire et au

début de la réparation tissulaire. Elle est assurée par des médiateurs spécialisés tels que les lipoxines, les résolvines et les protectines **(Serhan & Savill, 2005 ; Serhan, 2007).**

Ces médiateurs limitent le recrutement des neutrophiles, favorisent l'élimination des cellules apoptotiques et stimulent la régénération tissulaire via les fibroblastes et les cellules endothéliales **(Eming *et al*., 2007).**

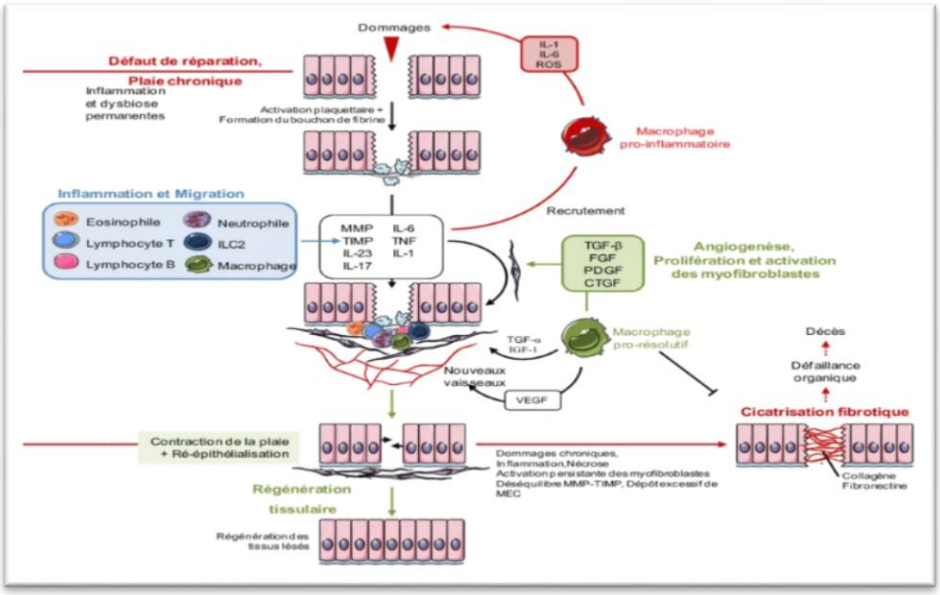


Figure 15: Processus de réparation tissulaire **(Martin Rodriguez, 2017).**

3.2.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est une réponse inflammatoire prolongée pouvant persister plusieurs mois voire plusieurs années. Elle se caractérise par une destruction tissulaire progressive associée à une tentative de réparation souvent inefficace **(Charles *et al*., 2010 ; Laveti *et al*., 2013).**

Elle est dominée par l'infiltration de macrophages, lymphocytes et plasmocytes, accompagnée d'une production continue de cytokines pro-inflammatoires, d'enzymes protéolytiques et de médiateurs oxydatifs, responsables de l'aggravation des lésions **(Lee & Surh, 2012 ; Park *et al*., 2014).**

3.2.2.1. Médiateurs de l'inflammation

Les médiateurs de l'inflammation regroupent des molécules d'origine cellulaire et plasmatique qui régulent l'initiation, l'amplification et la résolution de la réponse inflammatoire **(Henrotin *et al*., 2001).**

3.2.2.1.1. Médiateurs plasmatiques

Les principaux systèmes plasmatiques comprennent la coagulation, les kinines et le complément.

- Le système de coagulation conduit à la formation de fibrine, qui participe à l'isolement du foyer inflammatoire et au recrutement cellulaire **(Weill *et al*., 2003).**

- Le système des kinines génère la bradykinine, responsable de la douleur et de l'augmentation de la perméabilité vasculaire **(Zeghal & Sahnoun, 2013).**

- Le système du complément participe à l'opsonisation et à la lyse des agents pathogènes **(Zeghal & Sahnoun, 2013).**

3.2.2.1.2. Médiateurs cellulaires

Les médiateurs cellulaires incluent les amines vasoactives, les cytokines, les chimiokines, les médiateurs lipidiques, les enzymes lysosomales, les neuropeptides **(Medzhitov, 2008).**

3.2.3. Les traitements anti-inflammatoires

3.2.3.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les glucocorticoïdes sont des dérivés synthétiques du cortisol agissant au niveau transcriptionnel via des récepteurs cytosoliques spécifiques. Ils exercent des effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs en inhibant la migration leucocytaire et la production de cytokines pro-inflammatoires **(Dejean & Richarda, 2013 ; Cruz-Topete & Cidlowski, 2015).**

3.2.3.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS agissent par inhibition des cyclooxygénases COX-1 et COX-2, réduisant ainsi la synthèse des prostaglandines impliquées dans la douleur, la fièvre et l'inflammation **(Lévy *et al*., 2005).**

La COX-1 est une enzyme constitutive impliquée dans les fonctions physiologiques, tandis que la COX-2 est inductible au site inflammatoire **(Brandstätter *et al*., 2010).**

Les inhibiteurs sélectifs de la COX-2 (coxibs) permettent de réduire les effets

secondaires gastro-intestinaux, mais peuvent augmenter le risque cardiovasculaire **(Tréchot & Jouzeau, 2014).**

3.2.3.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes médicinales constituent une source importante de composés bioactifs utilisés traditionnellement dans le traitement des maladies inflammatoires **(Wiart, 2006).** Leurs effets reposent principalement sur des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, terpènes, alcaloïdes et tanins **(Iwalewa *et al*., 2007).**

Ces composés agissent par inhibition des enzymes COX et LOX, suppression de l'iNOS, inhibition du NF-κB et réduction des espèces réactives de l'oxygène **(Middleton *et al*., 2000 ; Shahidi & Ambigaipalan, 2015).** Des exemples comme *Curcuma longa*, *Zingiber officinale* et *Boswellia serrata* illustrent bien leur potentiel anti-inflammatoire reconnu **(Durga *et al*., 2014).**

4. Activité anti bactérienne

L'activité antibactérienne désigne la capacité d'une substance chimique, naturelle ou synthétique, à inhiber la croissance bactérienne (action bactériostatique) ou à provoquer leur destruction (action bactéricide). Ce domaine connaît un regain d'intérêt face à l'émergence des souches multirésistantes aux antibiotiques conventionnelle **(Bertella,2019).**

4.1. Principales substances antibactériennes

Les substances antibactériennes d'origine végétale regroupent divers métabolites secondaires capables d'inhiber la croissance bactérienne. Parmi les composés les plus étudiés figurent les polyphénols, notamment les flavonoïdes et les acides phénoliques, ainsi que certains tanins et terpènes. Leur activité antibactérienne est principalement liée à la perturbation de la membrane cellulaire bactérienne et à l'inhibition de certaines enzymes essentielles **(Cowan, 1999 ; Daglia, 2012).**

- Antibiotiques synthétiques et semi-synthétique :

Bêta-lactamines : Pénicilline (amoxicilline), céphalosporines (céfotaxime) inhibent la synthèse de la paroi peptidoglycane.

Quinolones : Ciprofloxacine, lévofloxacine bloquent l'ADN grasse (réplication ADN).

Macrolides : Érythromycine inhibent la synthèse protéique au niveau du ribosome 50S.

Amin glycosides : Gentamicine perturbent la synthèse protéique (30S).

- Antiseptiques et désinfectants :

Biguanides : Chlorhexidine (action sur membrane cytoplasmique).

Halogénés : Iode(PBP-iode), chlore (eau de Javel) oxydent les protéines.

Alcools : Éthanol 70° dénaturent les protéines **(Selloum, 2026).**

- Substances naturelles (phytocomposés) :

✓ Huiles essentielles : Thymol (*Tgymus vulgaris*), carvacrol (*origanum compactum*), 1,8-cinéole (*Rosmarinus officinalis*) perturbant la fluidité membranaire **(Bertella,2019).**

✓ Flavonoïdes : Quercétine, rutine (inhibtion efflux pumps).

✓ Alcaloïdes : Berbérine (perturbation perméabilité).

✓ Spectre d'activité : Gram- (E. *coli, P. aeruginosa*) plus résistants que Gram+(*S. aureus, B. subtilis*) **(Saouli,2023).**

4.2. Méthode de détermination de l'activité antibactérienne

Les méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne reposent principalement sur deux approches complémentaires : la diffusion en milieu solide et la dilution en milieu liquide **(Bertella,2019).**

4.2.1. Aromatogramme

La méthode de diffusion sur gélose consiste à déposer une substance antibactérienne sur un disque placé à la surface d'une gélose ensemencée. Après l'incubation, l'efficacité est estimée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque. Cette technique et simple, rapide et économique, ce qui la rend adaptée ou huiles essentielles. Cependant, elle reste qualitative et peut être influencée par certaines propriétés physicochimiques des composés testés, notamment leur lipophilie et leur volatilité (**Bertella, 2019).**

4.2.2. Méthode de dilution

Permet une évaluation quantitative en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). Elle repose sur des dilutions sérielles de la substance testée en milieu liquide, suivies d'une incubation avec un inoculum bactérien standardisé. La CMI correspond à la plus faible concentration inhibant la croissance visible, tandis que la CMB est définie comme la plus faible concentration entraînant la mort bactérienne. Cette méthode est plus précise et reproductible, bien qu'elle soit plus exigeante sur le plan technique et matériel **(Saouli,2023).**

4.3. Les antibiotiques

Le terme « antibiotique » (du grec anti : contre ; biotikos : relatif à la vie) désigne une substance chimique d'origine microbienne inhibant sélectivement, en solution diluée, la croissance ou la viabilité d'autres micro-organismes. Réservé aux composés naturels, il est improprement étendu aux agents thérapeutiques des infections bactériennes chez l'humain et l'animal, excluant les synthétiques (sulfamides, Quinolones) et semi-synthétique (amoxicilline, amikacine) **(Muylaert & Mainil,2012).**



Figure 16: Les antibiotiques **(Site web 8).**

4.3.1. Classification des Antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon leur

- **Origine :** Les antibiotiques peuvent être d'origine naturelle, produits par des micro-organismes, ou obtenus par synthèse, qu'elle soit totale (synthétiques) ou partielle (semi-synthétiques) **(Diallo,2024).**
- **Mode d'action :** Ils exercent leur effet en ciblant différentes structures ou fonctions bactériennes, notamment la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique ou les mécanismes de synthèse protéique (**Diallo,2024**).
- **Le spectre d'activité :** d'un antibiotique correspond à l'ensemble des bactéries qu'il peut affecter. Il peut être modifié par l'apparition de résistances. On distingue les antibiotiques à spectre étroit, ciblant des bactéries spécifiques, et ceux à spectre large, actifs sur un large éventail bactérien et utilisés lorsque l'agent infectieux n'est pas identifié **(Allal & Hadbi, 2018)**.
- **La nature chimique des antibiotiques** : variée et repose sur une structure de base modifiable par hémisynthèse. Elle permet de les classer en différentes familles, telles que les β-lactamines, les aminosides et les tétracyclines **(Benaouda, 2023).**

4.3.2. Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent en ciblant des fonctions essentielles des bactéries

a) **Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire** : ils empêchent la formation des composants de la paroi indispensable au maintien de la pression osmotique et à la protection de la cellule, entraînant son affaiblissement et sa lyse, comme Les β-lactamines (pénicillines, céphalosporines), la fosfomycine et les glycopeptides tels que la vancomycine (**Opatowski, 2020).**

b) **Altération de la membrane cytoplasmique :** ils perturbant l'intégrité de la membrane plasmique responsable de la membrane plasmique responsable des échanges et de l'équilibre cellulaire, soit en formant des pores, provoquant une fuite du contenu cellulaire, comme les polymyxines (**Opatowski, 2020).**

c) **Inhibition de la synthèse des folates** : ils empêchent la formation des folates nécessaires à la synthèse des acides aminés, des lipides et des nucléotides, comme les sulfamides (**Opatowski, 2020).**

d) **Inhibition de la synthèse protéique**
   - Antibiotiques se liant à la sous-unité 50S du ribosome.
   - Antibiotiques se liant à la sous-unité 30S du ribosome.

e) **Inhibition des acides nucléiques :**
   - Antibiotiques ciblant l'ADN
   - Antibiotiques ciblant l'ARN **(Allal & Hadbi, 2018).**

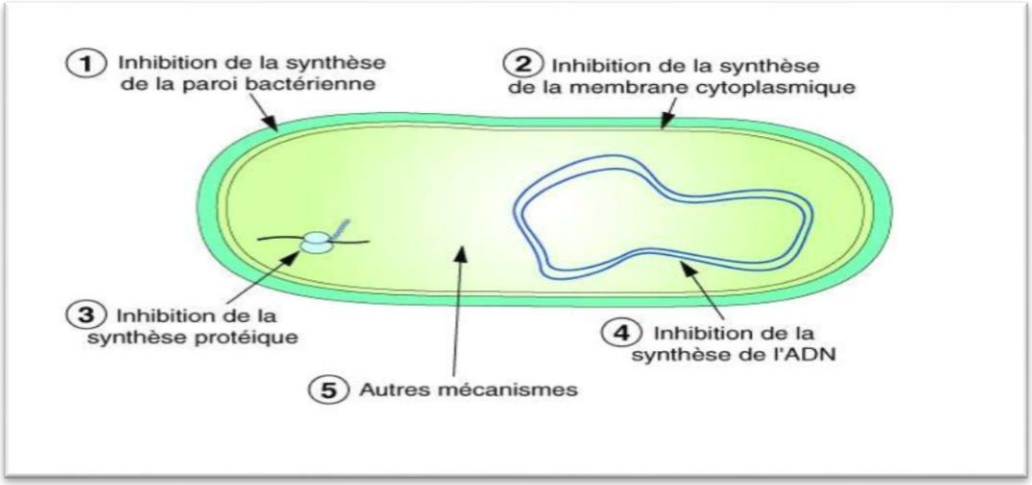


Figure 17: Mode d'action des antibiotiques **(Site web 9).**

4.3.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les résistances bactériennes aux antibiotiques peuvent être soit d'origine naturelle, soit acquises au cours du temps **(Ramoul, 2014).**

4.3.3.1. Résistance naturelle (ou intrinsèque)

Egalement appelée insensibilité, est une caractéristique propre à l'ensemble des bactéries appartenant à une même espèce ou à un même genre. Elle est stable, d'origine chromosomique et se transmet verticalement aux cellules filles. En revanche, sa transmission horizontale entre bactéries, qu'elles soient de la même espèce ou d'espèces différentes, est absente ou très limitée **(Ramoul, 2014).**

4.3.3.1. Résistance acquise

Représente aujourd'hui le défi majeur en infectiologie clinique. Contrairement à l'espèce bactérienne, la résistance acquise survient chez des souches initialement sensibles lorsqu'elles sont exposées aux antibiotiques. Elle résulte essentiellement de deux processus distincts : les mutations ponctuelles au sein du génome chromosomique et le transfert horizontal de gènes de résistance entre bactéries (**Munita & Arisa, 2016).**

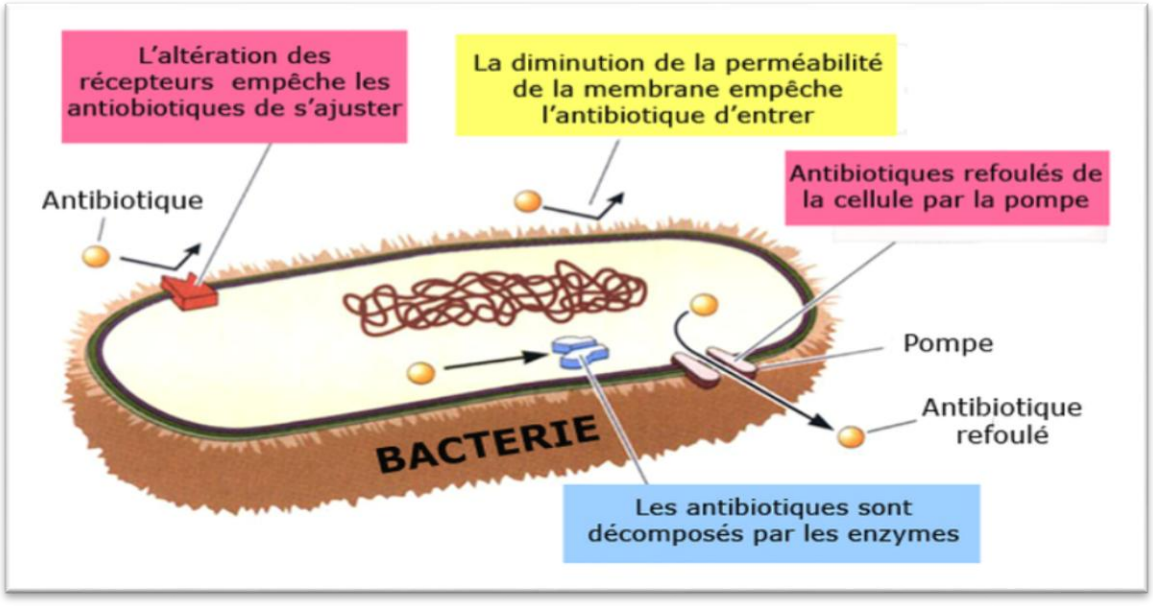


Figure 18: Différent mécanismes de résistance développés par les bactéries à l'encontre des antimicrobiens **(Site web 10).**

4.3.4. Traitement des infections bactériennes

Le traitement des infections bactériennes repose sur une approche rationnelle intégrant les données cliniques, microbiologique et pharmacologique. Le choix de l'antibiotique doit tenir compte du type d'infection, du germe impliqué, de son profil de sensibilité déterminé par l'antibiogramme, ainsi que de l'état physiologique du patient (fonction rénale et hépatique, allergies, comorbidités) (**Douafer, 2020**).

En pratique, lorsque les résultats de culture ne sont pas encore disponibles, une antibiothérapie empirique est souvent mise en place en utilisant un antibiotique à large spectre, adapté à l'épidémiologie locale et aux recommandations. Une fois l'agent pathogène identifié et son antibiogramme disponible, l'antibiotique est ajusté pour devenir ciblée, avec une possible réduction de la largeur du spectre (**Lesprit, 2017**).

Cette démarche vise à optimiser l'efficacité clinique tout en limitant la pression de sélection exercée sur les bactéries, afin de freiner la progression de la résistance bactérienne, phénomène devenu un enjeu majeur de santé publique **(Hriouech, 2018).**

5. *Tilia cordata*

5.1. Présentation générale de *Tilia cordata*

Le tilleul à petites feuilles est une espèce arborescente feuillue caducifoliée, caractérisée par un feuillage large et une stature généralement élevée, largement répandue en Europe **(Eaton *et al*., 2016).** Scientifiquement connu sous le nom de *Tilia cordata*, c'est l'une des plus anciennes espèces d'arbres indigènes de Grande-Bretagne, et est également connu sous le nom de tilleul d'hiver **(Bertrand, 2017).** Cet arbre fait partie des essences traditionnellement utilisées dans l'aménagement des centres villageois. *Tilia cordata* constitue l'espèce la plus largement distribuée du genre *Tilia* dans les forêts européennes **(De Jaegere *et al*., 2016).**

Tilia cordata et *Tilia platyphyllos* sont des espèces arborées de grande taille à couronne large, de forme sub-ovale à arrondie. Leurs feuilles sont cordiformes, à marge dentée et de couleur vert foncé **(Harel, 2020).** *Tilia cordata* est principalement identifiable par ses caractéristiques foliaires spécifiques **(Taverniers, 2017).** Ces espèces appartiennent à la famille des Malvaceae **(Zeleznik, 2024).**

Tilia cordata est utilisée en médecine et dans la prise en charge de diverses affections **(Pranskuniene *et al*., 2018***).*** Elle est aussi une espèce indicatrice de la stabilité des sols et de l'environnement **(Baranov, 2014)**. Elle présente une importance écologique et historique, notamment dans la forêt de Białowieża. Elle est enfin largement utilisée en aménagement paysager urbain pour ses qualités esthétiques **(Kusiak *et al*., 2022).**



Figure 19: Plante *Tilia cordata* **(Site web 11).**

5.2. Description botanique de *Tilia cordata*

- **Caractéristiques générales de la plante :** il s'agit d'un arbre caduc à larges feuilles, de grande taille, pouvant atteindre 30 à 40 m de hauteur. Il présente un tronc droit dont le diamètre peut atteindre environ 1 m, avec des branches latérales libres jusqu'à une hauteur de 10 à 15 m **(Eaton *et al.*, 2016).**
- **Couronne :** port arboré de forme pyramidale à elliptique **(Gervasoni, 1999).**
- **Branches et tronc :** Le tronc de Tilia cordata est généralement droit et cylindrique, pouvant atteindre ou dépasser un mètre de diamètre à hauteur de poitrine chez les individus matures. L'écorce est lisse et grisâtre chez les jeunes arbres, puis elle devient progressivement grise-brun à brun foncé et profondément fissurée longitudinalement avec l'âge **(Pigott, 1981).**

Les branches présentent une ramification de plus en plus dense avec l'âge, formant un houppier compact. Les jeunes rameaux sont glabres à subglabres, verdâtres à brun-rouge et portent des lenticelles. Les bourgeons sont alternes, ovoïdes et acuminés. La croissance est sympodiale, conduisant à un houppier d'abord pyramidal puis arrondi à maturité **(Pigott, 1981 ; De Jaegere *et al.*, 2016)**.

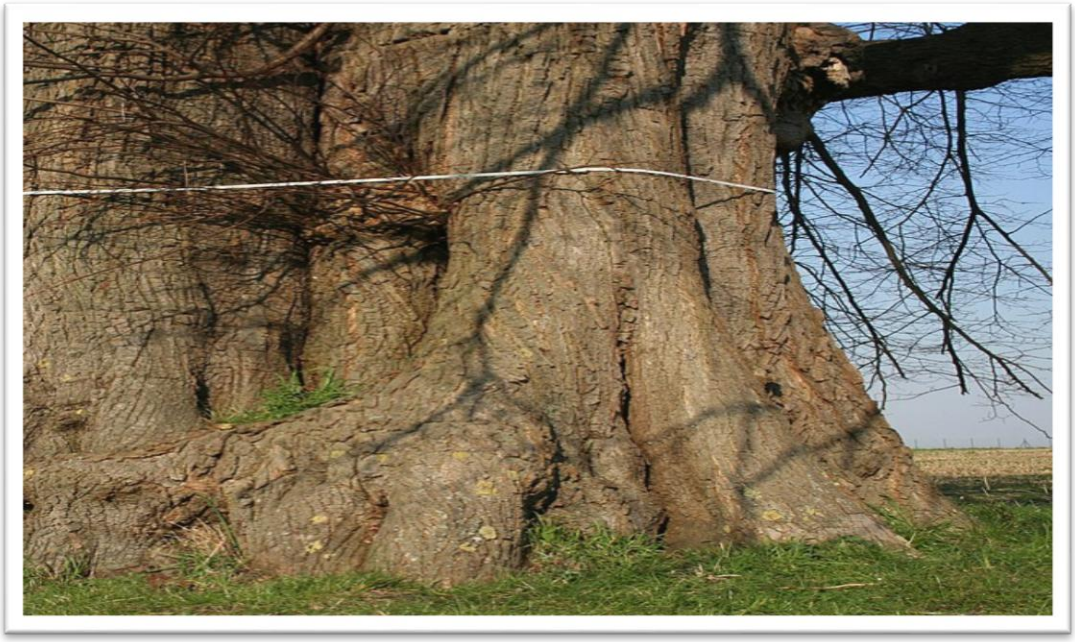


Figure 20*:* Branches et tronc *de Tilia cordata* **(Site web 12).**

- **Caractéristiques foliaires**

Les feuilles sont alternes, simples, cordiformes et souvent asymétriques à la base, mesurant généralement de 3 à 8 cm, parfois jusqu'à 10 cm, de long et de large. Le limbe présente un apex acuminé et une marge finement serrulée **(Pigott, 1981).**

Les branches sont dressées et de plus en plus denses avec l'âge, formant un houppier compact. Les rameaux jeunes sont verdâtres à brun-rouge, glabres ou subglabres, avec des lenticelles. Les bourgeons sont alternes, ovoïdes et acuminés. La croissance est sympodiale, et le houppier passe d'une forme pyramidale à une forme arrondie à maturité (**Pigott, 1981 ; De Jaegere *et al.*, 2016).**



Figure 21*: Feuilles de Tilia cordata* **(Site web 13).**

- **Fleurs**

Les fleurs de *Tilia cordata* apparaissent en juin-juillet après le développement des feuilles. Elles sont regroupées en cymes pendantes de 2 à 7 fleurs, accompagnées d'une bractée membraneuse jaunâtre-verte persistante **(Pigott, 1981 ; Chinou, 2012**) Les fleurs sont hermaphrodites, actinomorphes, de petite taille (6-10 mm), de couleur crème à jaunâtre et fortement parfumées d'une odeur miellée caractéristique. Elles possèdent 5 sépales, 5 pétales et de nombreuses étamines. Ces fleurs sont mellifères et particulièrement attractives pour les abeilles **(Pigott, 1981 ; Chinou, 2012).**



Figure 22: Fleurs de *Tilia cordata* **(Site web 14).**

- **Fruits**

Les fruits de *Tilia cordata* sont des nucules sèches, globuleuses à ovoïdes, contenant une à deux graines. Ils deviennent grisâtres et glabres à maturité vers la fin de l'été ou le début de l'automne **(Pigott, 1981).** Les fruits restent attachés à la bractée ailée facilitant leur dispersion, tandis que la viabilité des graines est parfois faible, notamment dans les régions septentrionales de répartition de l'espèce **(De Jaegere *et al*., 2016).**



Figure 23: Fruits de *Tilia cordata* **(Site web 15).**

5.3. Classification botanique de *Tilia cordata*

Le genre *Tilia* est intégré dans la famille élargie des *Malvaceae* (sous-famille *Tilioideae*) sur la base d'analyses moléculaires, contrairement à l'ancienne classification qui le plaçait dans une famille distincte (*Tiliaceae*) **(Cai *et al*., 2015).**

Tableau 1: Classification botanique de *Tilia cordata* (Cai *et al*., 2015).

Rang taxonomique	**Classification**
Règne	Plantae
Division	Tracheophyta (Angiospermes)
Classe	*Magnoliopsida (Eudicotylédones)*
Ordre	Malvales
Famille	*Malvaceae* (anciennement *Tiliaceae)*
Genre	*Tilia* L.
Espèce	*Tilia cordata* Mill.

5.4. Espèces similaires à *Tilia Cordata*

Tilia cordata partage plusieurs caractères morphologiques et écologiques avec d'autres espèces du genre *Tilia*, notamment *Tilia platyphyllos* et *Tilia tomentosa*. Ces espèces présentent un port arborescent de grande taille, des feuilles cordiformes ainsi qu'une importante valeur mellifère. Elles occupent également des habitats écologiques proches en Europe, avec des conditions de croissance et de distribution souvent similaires **(Radoglou *et al*., 2009).**

Tableau 2: Espéces similaires à *Tilia cordata*

Espèce	**Caractéristiques communes avec *Tilia cordata***	**Caractéristiques déférents**
***Tilia×europaea* (Radoglou *et al*.,2009).**	Feuilles cordiformes, espèce ornementale à croissance rapide.	Hybride stérile résultant de la combinaison des caractères de *T. cordata* et *T. platyphyllos*.
Tilia tomntosa **(Radoglou *et al* 2009 ; De Jaegere *et al*.,2016).**	Arbre de grande taille à feuilles cordiformes, à fleurs parfumées disposées en cymes, et à forte valeur mellifère.	La face inférieure des feuilles est fortement tomenteuse, lui donnant un aspect argenté et une meilleure sensibilité au froid.
Tilia japonica **(Janowski & Nara,2021).**	Arbres du genre *Tilia*, feuilles cordiformes, fleurs en cymes parfumées, espèces mellifères.	Morphologie foliaire variable, différences anatomiques, répartition géographique distincte, adaptations écologiques spécifiques.
Tilia platyphyllos **(Pigott, 2020).**	Feuilles cordiformes, fleurs parfumées jaunes, espèce arborée des régions tempérées.	Feuilles plus petites, présence de touffes de poils axillaires, meilleure tolérance au froid.
Tilia americana **(Burns & Honkala, 1990).**	Bois tendre et léger ; arbres du genre *Tilia* à feuilles cordiformes, fleurs parfumées, mellifères, fruits à bractée.	présente des feuilles plus grandes et une croissance vigoureuse en forêts humides d'Amérique du Nord.

5.5. Répartition géographique et zones de propagation

Tilia cordata (tilleul d'hiver) est largement répartie à travers l'Europe et constitue l'espèce de tilleul la plus commune, avec une forte concentration en Europe centrale et orientale **(Eaton *et al.*, 2016).**

Son aire de répartition s'étend vers le nord jusqu'au centre de la Suède, au sud de la Norvège et à la Finlande, atteignant environ 63° de latitude nord, limite principalement déterminée par les températures estivales. Vers le sud, sa distribution atteint le nord de la péninsule Ibérique ainsi que le nord de la Grèce, où elle est toutefois limitée par la sécheresse estivale. D'ouest en est, l'espèce s'étend de l'Irlande du Nord jusqu'au bassin de l'Irtych en Russie centrale, en suivant les zones de steppe jusqu'à la mer Noire, avec des occurrences également signalées dans des régions telles que le Caucase et la Crimée **(San-Miguel-Ayanz *et al*., 2016).**

L'abondance de *Tilia cordata* est sporadique en Europe occidentale (France, Belgique, Royaume-Uni), augmente progressivement en Europe centrale et atteint son maximum en Europe de l'Est (Pologne, Hongrie, Russie), où les conditions climatiques sont plus favorables. Dans la région méditerranéenne, sa présence est limitée aux zones montagneuses humides, généralement au-dessus de 300 mètres d'altitude et sur les versants exposés au nord. L'espèce persiste également dans les forêts mixtes grâce à sa capacité de rejeter de souche **(Pigott & Huntley, 1981).**

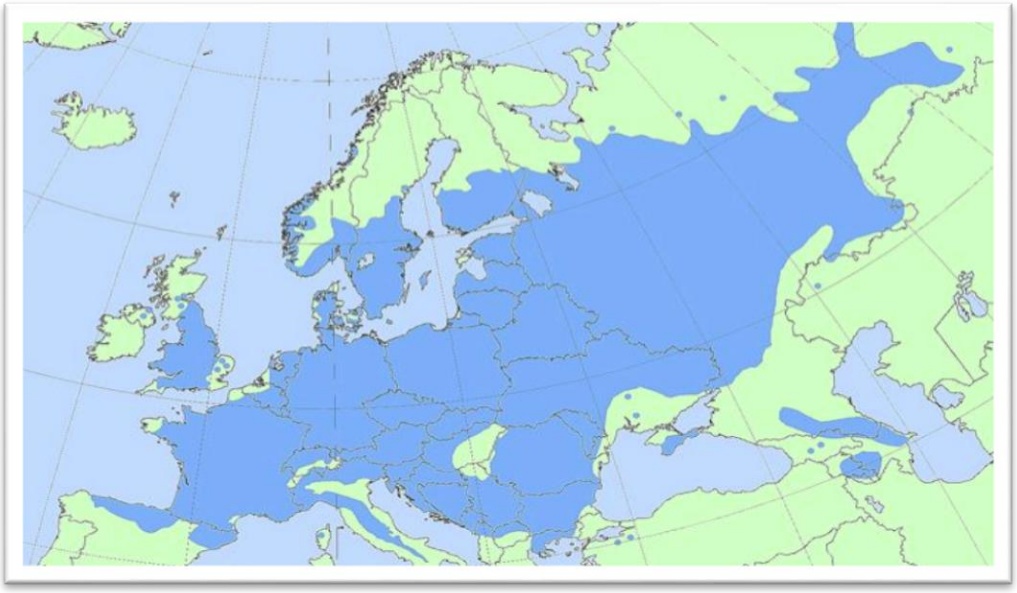


Figure 24: Carte de répartition de *Tilia cordata* en Europe **(Site web 16).**

5.6. Utilisation traditionnelle et économique de *Tilia cordata*

5.6.1. Usage traditionnel en médecine populaire

Dans les pratiques de médecine traditionnelle européenne, les fleurs de *Tilia cordata* sont principalement employées sous forme d'infusion afin d'atténuer les symptômes légers du rhume, de la toux et des états de tension **(Chinou, 2012 ; Pranskuniene *et al.*, 2018).** Les données ethnobotaniques rapportent également leur utilisation dans diverses préparations traditionnelles visant le confort respiratoire, sans validation clinique systématique des effets attribués **(Zhou *et al*., 2025).**

5.6.2. Utilisation industrielles

Le bois de *Tilia cordata* se distingue par sa légèreté, son homogénéité et sa facilité d'usinage. Ces caractéristiques le rendent adapté à la sculpture, à la menuiserie fine ainsi qu'à la fabrication de modèles et d'objets artisanaux **(Pigott, 1981 ; Šilinskas *et al*., 2021).** Il est également valorisé dans certaines applications industrielles légères, notamment la production de pâte à papier et d'éléments nécessitant un matériau facilement travaillable **(De Jaegere *et al*., 2016).**

5.7.3. Utilisation alimentaire

Les fleurs de *Tilia cordata* sont consommées sous forme d'infusion aromatique et s'inscrivent dans les usages traditionnels européens des plantes à tisane**.** Les jeunes feuilles peuvent être consommées ponctuellement dans certaines pratiques locales **(Zhou *et al*., 2025).**

5.7.4. Importance mellifère

Tilia cordata constitue une espèce mellifère d'importance en Europe, contribuant à la production de miel de tilleul, reconnu pour ses caractéristiques aromatiques spécifiques et sa valeur apicole **(Sultanova *et al.*, 2022 ; Zhou *et al*., 2025).**

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériels et méthodes

1.1. Matériels

1.1.1. Réactifs et appareillages

Les réactifs utilisés comprennent : le DPPH, le méthanol, l'éthanol, le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), l'eau distillée, le sulfate ferreux ($FeSO_4$), le salicylate de sodium, le réactif de Folin-Ciocalteu, le TCA, le chlorure ferrique ($FeCl_3$), le carbonate de sodium (Na_2CO_3), l'acide chlorhydrique (HCl), le tampon Tris-HCl, le blanc d'œuf, le chlorure ferreux ($FeCl_2$), le chloroforme, l'acide sulfurique (H_2SO_4), le β-carotène, le Tween 80, le DMSO, la BSA, l'acide linoléique, la vitamine C, l'aspirine, le BHT, les milieux de Mueller-Hinton ainsi qu'une solution physiologique.

Les équipements utilisés comprennent : une balance analytique, une étuve, un spectrophotomètre UV-visible, un agitateur, une plaque chauffante, un réfrigérateur, un vortex, des centrifugeuses, un bain-marie, un pH-mètre et un rotavaporateur.

1.1.2. Matériel végétal

Il est constitué de la partie aérienne de la plante médicinale *Tilia cordata*. Récolté en mai 2025 dans la wilaya de Khenchela. L'identification de la plante a été effectuée par des botanistes affiliés à l'université Abbas Laghrour de Khenchela.

1.1.3. Matériel bactérien

L'activité antibactérienne des extraits de *Tilia cordata* a été évaluée contre les souches bactériennes suivantes :

- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Bacillus cereus*
- *Klebsiella pneumoniae*

1.2. Méthodes

1.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

L'extraction aqueuse par décoction est réalisée selon la méthode d'**Attah *et al*., (2019)** avec une légère modification. Brièvement, 50 g de la poudre de la plante sont mis à ébullition à 100°C pendant 20 minutes dans 500 ml d'eau distillé. Après une filtration de 3 reprises sur papier filtre de type Whatman N° 04, l'extrait aqueux a été séché dans l'étuve à 40°C pendant 4 jours, puis l'extrait aqueux (AQ) obtenu est conservée à -4 °C jusqu'à son utilisation.

1.2.2. Screening phytochimique

Une analyse qualitative des principaux métabolites secondaires a été réalisée à l'aide de tests spécifiques basés sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Ces tests ont permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de différents groupements chimiques tels que les polyphénols, flavonoïdes, saponosides, terpènes, stérols, tanins, quinones, anthraquinones et amidon **(Boudjema *et al*., 2021).**

Tableau 3: Tests Screening phytochimique

Groupement chimique	**Test utilisé**	**Préparation**	**Résultat positif**	**Réf**
Polyphénols	Chlorure ferrique	2 ml d'extrait + quelques gouttes de $FeCl_3$ 2 %	Coloration bleu-noirâtre ou verte	**(Prakash *et al*., 2015).**
Flavonoïdes	Test de Shinoda (ou cyanidine)	2 ml d'extrait +2 ml H_2SO_4 + 2 ml de NH_4OH	Apparition d'une coloration bleu violacé	**(Gul *et al*., 2017).**
Saponosides	Test de mousse	3 ml d'extrait +1 ml H2O + Agitation forte pendant 30 minutes suivie	Formation d'une mousse persistante	**(Sushama Raj, 2017).**

		d'un repos de 15 secondes .		
Terpènes et Stérols	Test de Salkowski	0,5 ml d'extrait aqueux + 2 ml de $CHCl_3$ +quelques gouttes de H_2SO_4	Apparition d'une Coloration Rouge avec coloration brun Rougeâtre à l'interphase (Un anneau rouge-brunâtre)	**(Ganatra & Gurubaxani., 2016).**
Tanins	Chlorure ferrique	1 ml d'extrait + quelques gouttes de $FeCl_3$ diluée	Apparition d'une Coloration vert foncée ou bleu-vert	**(Prakash *et al*., 2015).**

Réf : Référence

a) Quinones libres

Pour chaque extrait, 1 ml a été mélangé avec quelques gouttes de NaOH à 1 %. L'apparition d'une coloration jaune, rouge ou violette indique la présence de quinones libres **(Oloyede, 2005).**

b) Anthraquinones

Quelques milligrammes de chaque extrait ont été dissous dans 1 ml d'un mélange éther de pétrole/chloroforme (1 :1, v/v), puis additionnés de 1 ml de NaOH à 10 %. L'apparition d'une coloration rouge révèle la présence d'anthraquinones **(Oloyede, 2005).**

c) Amidon

L'amidon a été détecté à l'aide du réactif iodé. L'apparition d'une coloration bleue indique un test positif **(Guignard, 1979).**

1.2.3. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon **Mayouf *et al.* (2019).** Cette méthode repose sur la réduction des complexes phosphotungstiques et phosphomolybdiques en milieu alcalin, conduisant à la formation d'une coloration bleue mesurée à 765 nm. Pour le dosage, 50 µL d'extrait ou de

standard dissous dans le méthanol ont été mélangés avec 500 µL d'eau distillée et 250 µL du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 4 minutes, 200 µL de Na_2CO_3 à 2 % ont été ajoutés au mélange. Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 90 minutes, l'absorbance a été mesurée à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée à partir de différentes concentrations d'acide gallique et d'acide tannique (0–800 µg/ml). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait brut (mg EAG/g EB). Les analyses ont été réalisées en triplicata.

1.2.4. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été dosés selon la méthode au chlorure d'aluminium décrite par **Mayouf *et al.* (2019).** Cette méthode repose sur la formation d'un complexe stable entre les flavonoïdes et $AlCl_3$, produisant une coloration jaunâtre mesurée à 430 nm. Dans des tubes à essai, 1 mL d'extrait dilué dans le méthanol ou l'eau distillée a été mélangé avec 1 ml de solution d'$AlCl_3$ à 2 % préparée dans le méthanol. Après 60 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait brut (mg EQ/g EB), en référence à une courbe d'étalonnage réalisée avec différentes concentrations de quercétine (0–800 µg/ml). Toutes les analyses ont été effectuées en triplicata.

1.2.5. Détermination de la teneur en flavonols totaux

La teneur en flavonols a été déterminée selon la méthode de **Kosalec *et al*. (2004).** Un mélange réactionnel contenant 500 µL d'extrait, 1500 µL d'éthanol, 100 µL d'$AlCl_3$, 100 µL d'acétate de potassium (1 M) et 2800 µL d'eau distillée a été préparé puis incubé à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 415 nm. La quercitrine a été utilisée comme standard. Les résultats ont été exprimés en µg équivalent quercitrine par mg d'extrait. Les mesures ont été réalisées en double.

1.2.6. Détermination de la teneur en protéines totales (méthode de Bradford)

La teneur en protéines totales a été déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)**, basée sur la fixation du Bleu de Coomassie aux protéines. Les échantillons ont été préparés en mélangeant 50 µL d'extrait végétal avec 2,5 ml du réactif de Bradford. Après agitation et incubation à température ambiante pendant 5 minutes, l'absorbance a été mesurée à 595 nm.Les résultats ont été exprimés en mg de protéines par gramme d'extrait. Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata.

1.2.7. Dosage des sucres

La teneur en sucres totaux a été déterminée selon la méthode de **Dubois *et al.* (1956).** Un volume de 500 µL d'extrait végétal a été mélangé avec 500 µL de phénol à 5 % et 2,5 ml d'acide sulfurique concentré.Après agitation et incubation à température ambiante pendant 5 minutes, l'absorbance a été mesurée à 490 nm. Les résultats ont été exprimés en mg de sucres totaux par gramme d'extrait. Les analyses ont été réalisées en triplicata.

1.2.8. Évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

1.2.8.1. Activité scavenger du radical DPPH

L'activité antioxydante a été évaluée par piégeage du radical DPPH selon **Que *et al.* (2006).** Le radical DPPH violet est réduit en présence d'antioxydants, entraînant une décoloration proportionnelle à la capacité d'élimination. Le mélange réactionnel contenait 1 ml d'extrait à différentes concentrations et 1 ml de solution de DPPH en méthanol (0,01 M). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le BHT a servi de contrôle positif. Le pourcentage d'inhibition a été calculé par :

$$\textit{Inhibition (\%)} = [(\textit{Abs contrôle} - \textit{Abs échantillon}) / \textit{Abs contrôle}] \times 100.$$

La concentration inhibitrice 50 % (CI50) a été exprimée en mg/mL.

1.2.8.2. Effet scavenger du radical hydroxyle (OH)

La capacité de piégeage des radicaux hydroxyles a été mesurée selon **Ates *et al.* (2008).** Le mélange (3 ml) comprenait 1 ml de $FeSO_4$ (1,5 mm), 0,7 ml de H_2O_2 (6 mm), 0,3 ml de salicylate de sodium (20 mm) et différentes concentrations d'extrait ou d'antioxydant standard (BHA). Après 1 heure d'incubation à 37 °C, l'absorbance a été mesurée à 562 nm. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la même formule précédente.

1.2.8.3. Test de la capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits a été évaluée selon la méthode au phosphomolybdène décrite par **Prieto *et al*. (1999).** Cette méthode repose sur la réduction du molybdène Mo (VI), sous forme d'ions molybdate (MoO_4^{2-}), en molybdène Mo (V) (MoO_2^{+}) en présence de l'extrait, conduisant à la formation d'un complexe vert phosphate/Mo (V) en milieu acide. L'absorbance du complexe est mesurée à 695 nm.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

2.1. Évaluation de l'activité anti *inflammatoire in vitro* par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf

a) Préparation du réactif à 0,5 % d'albumine d'œuf

50 mg d'albumine d'œuf ont été dissous dans 10 ml d'eau distillée.

b) Protocole expérimental

La solution d'extrait a été préparée en mélangeant 450 µL d'albumine d'œuf (solution aqueuse à 0,5 %) avec 50 µL de solution d'extrait dissous dans du DMSO et dilué à ifférentes concentrations avec de l'eau distillée. Une solution standard a été préparée en mélangeant 450 µL d'albumine d'œuf (0,5 %) avec 50 µL de différentes concentrations de diclofénac, utilisé comme médicament de référence.

Les échantillons ont été incubés à 37 °C pendant 20 minutes, puis à 70 °C pendant 25 minutes. Après refroidissement, 2,5 ml de tampon phosphate ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Le contrôle a été considéré comme représentant 100 % de la dénaturation protéique.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation a été calculé selon la formule suivante :

- **Inhibition (%) = [(Abs de contrôle - Abs de l'extrait) /Abs de contrôle] x 100.**
- **Abs :** Absorbance La moyenne retenue est obtenue sur trois répétitions.

Les résultats correspondent à la moyenne de trois répétitions.

2.2. Évaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de BSA

La dénaturation des protéines est un mécanisme bien reconnu dans l'inflammation et contribue à diverses pathologies inflammatoires. Ainsi, la capacité d'une substance à inhiber cette dénaturation traduit un potentiel anti-inflammatoire **(Rahman *et al.*, 2015 ; Osman *et al.*, 2016).** Pour chaque concentration d'extrait, un blanc constitué de 1 ml d'extrait et 1 ml de Tris-HCl (0,05 M, pH 6,6) a été préparé afin de soustraire l'absorbance propre de l'extrait et du tampon des résultats. Préparation d'une solution de BSA à 0,2 %.

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire, une série de dilutions d'extrait végétal (0 à 10 mg/ml) a été préparée. 1 ml de chaque dilution a été ajouté à 1 ml de la solution de BSA 0,2 % dans Tris-HCl 0,05 M, pH 6,6). Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 15 minutes puis à

72 °C pendant 5 minutes. Après vortexage et refroidissement rapide, la turbidité a été mesurée à 660 nm par spectrophotométrie. L'aspirine a été utilisée comme contrôle anti-inflammatoire et évaluée dans les mêmes conditions.

Le pourcentage de protection contre la dénaturation de la BSA a été calculé par la formule :

Protection (%) = [(DO Contrôle – DO Contrôle) − (DO Échantillon– DO Contrôle)] / (DO Contrôle – DO Contrôle) ×100

Avec :

- DO Blanc : absorbance de l'extrait sans BSA,
- DO Échantillon : absorbance de l'échantillon ou du standard,
- DO Contrôle : absorbance du solvant utilisé pour les extraits avec BSA.

4. Activité antibactérienne

4.1. Méthode de diffusion

4.1.1. Diffusion sur milieu gélosé

a) Stérilisation du matériel

Le matériel utilisé pour l'étude bactérienne, incluant les disques en papier Whatman, les embouts jaunes et bleus, ainsi que les tubes Eppendorf et tubes à essai, est stérilisé par autoclave à 121 °C pendant 60 minutes. Toutes les manipulations suivantes sont réalisées sous hotte microbiologique et à proximité d'un bec Bunsen afin d'éviter toute contamination.

b) Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture est préparé en dissolvant complètement la gélose Muller Hinton par chauffage dans un bain-marie à 95 °C. Le milieu liquide est ensuite versé dans des boîtes de Petri stériles, puis laissé à refroidir jusqu'à solidification complète.

c) Préparation des extraits et séries de dilutions

Une série de dilutions est effectuée à partir de solutions mères d'extraits, à des concentrations initiales de 200 mg/ml, 150 mg/ml et 100 mg/ml, allant jusqu'à un facteur de dilution de 1/64 dans du DMSO. Ces solutions sont stérilisées par filtration à l'aide de filtres de 0,22 µm.

d) Préparation et standardisation de l'inoculum

Cinq souches bactériennes sont cultivées dans un bouillon nutritif à 37 °C pendant 24 heures. L'inoculum est préparé en diluant la suspension bactérienne dans de l'eau physiologique stérile pour obtenir une densité optique équivalente à 0,5 sur l'échelle de McFarland.

e) Ensemencement et dépôt des disques

Les suspensions bactériennes sont étalées uniformément à la surface de la gélose Muller Hinton par écouvillonnage. Des disques imprégnés de différentes concentrations d'extraits ainsi que de DMSO (contrôle négatif) sont ensuite déposés délicatement sur la surface du milieu inoculé à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes de Petri sont conservées au réfrigérateur avant incubation.

f) Incubation et lecture

Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne autour des disques sont mesurés à l'aide d'une règle **(Biondi *et al.*, 1993).**

5. Analyse statistique

Les résultats des tests in vitro sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type (SD). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 9.00. Une différence est considérée comme statistiquement significative pour un seuil de ($p<0.05$).

Résultats et discussion

1. Résultats et discussions

1.1 Screening phytochimique

Le criblage phytochimique de l'extrait aqueux de *Tilia cordata (EATC)* met en évidence une composition particulièrement riche en métabolites secondaires, dominée par une forte intensité en polyphénols (+++) et en tanins (+++). Cette abondance suggère un potentiel antioxydant élevé, puisque ces composés phénoliques possèdent des groupements hydroxyles capables de céder des électrons ou des atomes d'hydrogène, contribuant ainsi à la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène et à la réduction du stress oxydatif **(Del Rio *et al*., 2013 ; Gulçin, 2020).** Les résultats détaillés du criblage phytochimique sont présentés dans le Tableau 4.

Tableau 4: Composition phytochimique de *Tilia cordata* .

Composants	**EATC**
Polyphénol	+++
Flavonoïde	+
Tanins	+++
Terpénoïde	++
Saponine	++
Quinones	_
Anthraquinone	_
Amidon	+

+Présence / - Absent

L'analyse phytochimique de notre extrait aqueux de *Tilia cordata* montre la présence de polyphénols et de tanins à des niveaux élevés, ainsi que de terpènoïdes, de saponosides, de flavonoïdes et d'amidon, tandis que les quinones et les anthraquinones ne sont pas détectées. La présence des tanins a été confirmée par l'apparition d'une coloration vert foncé, et celle de l'amidon par une coloration vert-bleu. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par **Kosakowska *et al*., (2015) et Cittan *et al*. (2018)** qui ont mis en évidence la présence, chez *Tilia cordata*, de polyphénols et de tanins, ainsi que d'acides phénoliques et de flavonoïdes tels que les dérivés de la quercétine et du kaempférol.

1.2. Teneur des polyphénols, flavonoïdes, flavonols

Les composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et flavonols) sont des métabolites végétaux à fort potentiel antioxydant. Ils agissent principalement en neutralisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS), dont le radical hydroxyle (•OH), le superoxyde et les radicaux peroxyles, et peuvent également moduler certaines enzymes liées au stress oxydatif. Leur teneur dans les extraits végétaux, notamment chez *Tilia cordata*, est évaluée par les méthodes de Folin-Ciocalteu et $AlCl_3$. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant

Tableau 5*:* Quantification des polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols de l'extrait aqueux de *Tilia cordata.*

	Extrait Aqueux		
EATC	**Polyphenols**	**Flavonoïde**	**Flavonol**
	156.06 ± 0.11	17.02 ± 0.23	40.90 ± 0.05

Les résultats obtenus pour *Tilia cordata* montrent une teneur élevée en polyphénols totaux (156.06 ± 0.11), indiquant que l'extrait est particulièrement riche en composés phénoliques, connus pour leurs propriétés antioxydantes. Cette valeur traduit donc un potentiel biologique important. Selon **Wojdyło *et al*. (2007)** les teneurs en polyphénols de *Tilia cordata* sont généralement comprises entre 54 et 120 mg GAE/g selon les méthodes d'extraction et la nature du solvant utilisé**.** La valeur obtenue dans cette étude est donc supérieure à celles rapportées, ce qui pourrait être lié à l'efficacité du procédé d'extraction ainsi qu'aux conditions expérimentales adoptées.

La teneur en flavonoïdes (17.02 ± 0.23) est modérée par rapport aux polyphénols totaux, ce qui indique qu'ils ne représentent qu'une fraction des composés phénoliques présents. Cela suggère la présence d'autres classes telles que les acides phénoliques et les tanins. Selon **Wojdyło *et al*. (2007).** Les teneurs en flavonoïdes dans *Tilia cordata* varient généralement entre 10 et 30 mg/g. Des valeurs proches ont été rapportées dans des études antérieures, notamment autour de 13 à 16 mg/g selon les parties de la plante et les méthodes d'extraction. Le résultat obtenu est donc en accord avec ces données, ce qui confirme la cohérence de l'analyse.

Concernant les flavonols (40.90 ± 0.05), la teneur mesurée est relativement élevée, ce qui indique une forte présence de cette sous-classe dans l'extrait. Les flavonols tels que la

quercétine et le kaempférol sont des composés majeurs de *Tilia cordata*, reconnus pour leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires. Leur présence dans les espèces du genre *Tilia* a été rapportée dans plusieurs études phytochimiques, notamment sous forme de glycosides flavoniques **(Wojdyło *et al.*, 2007 ; Oniszczuk & Podgórski, 2015).** Ainsi, la valeur obtenue dans notre travail suggère une concentration importante en flavonols, en accord avec le profil chimique connu de la plante et confirmant leur rôle majeur dans l'activité biologique de l'extrait.

1.3. Détermination de la teneur des Protéines et des sucres

Tableau 6: Détermination des teneurs en protéines et en sucres de l'extrait aqueux de *Tilia cordata.*

EATC	Protéines	Sucres
	0.062±0.0028	51.18±0.12

Les résultats obtenus pour *Tilia cordata* montrent une teneur en protéines relativement faible (0,062 ± 0,0028). Selon **Peterson *et al.* (1983)**, les protéines sont généralement présentes en faibles quantités dans les extraits végétaux hydroalcooliques, car elles restent majoritairement dans les tissus frais et sont peu extraites par les solvants utilisés. Selon **Ozdal *et al.* (2013)**, cette faible teneur peut également être liée à l'interaction des protéines avec les composés phénoliques, formant des complexes qui limitent leur extractibilité.

Concernant les constituants primaires, les sucres (51,18 ± 0,12) dominent en raison de leur solubilité élevée dans l'eau. Dans l'ensemble, cette composition riche en composés hydrosolubles concorde avec les données récentes de la littérature. Selon **Huang *et al.* (2005)**, une relation positive existe entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits végétaux, ce qui indique que les polyphénols constituent les principaux responsables de l'effet antioxydant observé dans les extraits de *Tilia cordata.*

1.4. Évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante correspond à l'ensemble des mécanismes biologiques et chimiques impliqués dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la limitation des processus d'oxydation cellulaire. Ces mécanismes reposent principalement sur le transfert d'électrons (SET), le transfert d'atomes d'hydrogène (HAT), la chélation des ions métalliques de transition ainsi que la modulation de certaines enzymes impliquées dans le stress oxydatif.

En raison de la complexité des phénomènes oxydatifs et de la diversité structurale des composés antioxydants, une évaluation fiable nécessite l'utilisation de plusieurs tests complémentaires afin de couvrir différents mécanismes d'action et d'obtenir une caractérisation globale du potentiel antioxydant **(Prior *et al*., 2005 ; Popovici *et al*., 2009).**

Dans ce cadre, l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* (EATC) a été évaluée par plusieurs essais in vitro, notamment le test DPPH, l'évaluation du radical hydroxyle, le test de blanchiment du β-carotène ainsi que la capacité antioxydante totale (TAC).

1.4.1. Test de piégeage du radical DPPH

Tableau 7: Test de DPPH , exprimé en IC50 (mg/ml), de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* et du standard de référence

Extrait/standard	**IC_{50}(mg/ml)**
EATC	0.154 ± 0.031
Quercetine	0.042 ± 0.001

L'extrait aqueux de *Tilia cordata* présente une activité antiradicalaire notable, traduite par une IC_{50} relativement faible, indiquant une capacité efficace de neutralisation du radical DPPH. Le test DPPH repose sur des mécanismes redox impliquant principalement le transfert d'électrons et/ou d'atomes d'hydrogène, conduisant à la réduction du radical libre en une forme stable et non réactive **(Brand-Williams *et al*., 1995).** Cette activité est fortement corrélée à la richesse en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes et les tanins, capables de céder des électrons via leurs groupements hydroxyles aromatiques **(Rice-Evans *et al*., 1997).**

L'efficacité antioxydante dépend également de paramètres structuraux tels que le degré d'hydroxylation, la position des substituants et la conjugaison du système aromatique, confirmant la relation structure–activité (SAR) bien établie pour les polyphénols **(Heim *et al*., 2002).** Comparativement aux données rapportées dans la littérature pour *Tilia cordata*, l'extrait étudié présente une activité supérieure, ce qui peut être attribué à la variabilité phytochimique liée aux conditions environnementales et au procédé d'extraction **(Dai & Mumper, 2010).** L'extraction aqueuse favorise particulièrement les composés hydrophiles tels que les flavonoïdes glycosylés et les tanins hydrolysables, ce qui peut expliquer l'enrichissement fonctionnel observé **(Drevenšek *et al.*, 2015).** Toutefois, la confirmation de cette relation nécessite des analyses quantitatives complémentaires (TPC et TFC),

indispensables pour établir le lien entre composition phénolique et activité biologique **(Zam *et al*., 2017).**

1.4.2. Test de la capacité antioxydante totale (TAC)

Cette méthode a été utilisée afin d'évaluer la capacité globale de l'extrait à neutraliser les radicaux libres et à inhiber les processus d'oxydation. Les résultats sont exprimés en termes de concentration inhibitrice à 50 % (EC_{50}), reflétant l'efficacité antioxydante de l'échantillon

Tableau 8: Test de TAC , exprimé en EC 50 (mg/ml), de l'extrait aqueux de *Tilia cordata*

Extrait / standard	EC_{50}(mg /ml)
EATC	0.458 ± 0.034

La capacité antioxydante totale a été évaluée par la méthode du complexe phosphomolybdique, permettant d'estimer la capacité réductrice globale de l'extrait. L'extrait aqueux de *Tilia cordata* (EATC) présente une valeur d'EC_{50} de 0,458 ± 0,034 mg/ml, traduisant une activité réductrice significative vis-à-vis du système phosphomolybdique. Cette méthode repose sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V), reflétant la capacité globale de l'extrait à agir comme donneur d'électrons **(Prieto *et al*., 1999).**

Les polyphénols constituent les principaux contributeurs de cette activité en raison de leurs groupements hydroxyles capables de stabiliser les radicaux libres par donation d'électrons ou d'hydrogène **(Rice-Evans *et al*., 1997).** Les flavonoïdes tels que la quercétine et le kaempférol jouent également un rôle majeur, notamment par leur capacité à chélater les ions métalliques et à inhiber les réactions de type Fenton **(Pietta, 2000).** L'activité observée ne résulte pas d'un composé unique, mais d'un effet synergique entre flavonoïdes, tanins et acides phénoliques, conduisant à une amplification globale de la capacité antioxydante **(Heim *et al*., 2002).**

Des études antérieures ont confirmé que *Tilia cordata* possède une activité antioxydante fortement corrélée à sa richesse en polyphénols, avec une variabilité dépendant du type d'extrait et de la fraction étudiée **(Cittan *et al*., 2018).** De plus, il a été montré que les flavonoïdes glycosylés représentent les principaux déterminants de l'activité antioxydante mesurée par DPPH et TAC, soulignant une forte dépendance structure–activité **(Emeraux *et al*., 2019).**

Par ailleurs, les extraits aqueux de plantes médicinales peuvent présenter une activité biologique élevée en raison de la bonne solubilité des composés phénoliques hydrophiles. Dans

ce contexte, **Li *et al*. (2012)** ont démontré que ces systèmes peuvent atteindre des niveaux d'activité comparables à ceux d'extraits organiques, en fonction de la matrice végétale et de la densité phénolique initiale. D'un point de vue mécanistique, cette activité peut être interprétée comme un effet de réseau redox, où les composés phénoliques agissent de manière coopérative via des transferts électroniques successifs, renforçant ainsi l'efficacité globale au-delà de l'effet individuel de chaque molécule **(Heim *et al*., 2002).** Sur le plan pharmacologique, le stress oxydatif étant impliqué dans la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques, notamment cardiovasculaires, neurodégénératives et inflammatoires, les antioxydants naturels représentent une stratégie préventive majeure **(Pham-Huy *et al*., 2008).**

1.4.3. Le test du piégeage du radical hydroxyle

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* a été déterminée par la méthode de piégeage du radical hydroxyle (OH), en conditions expérimentales comparables à celles appliquées au standard de référence (vitamine C).

Tableau 9: Test de Radical hydroxyle , exprimé en IC 50 (mg/ml) , de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* et du standard de référence

Extrait/Standard	**IC_{50} (mg/ml)**
EATC	0.544+0.074
Vit C	0.105+0.001

L'évaluation de l'activité de piégeage du radical hydroxyle (OH) de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* a révélé une IC_{50} de 0.544 ± 0.074mg/ml, tandis que la vitamine C utilisée comme standard de référence a présenté une IC_{50} de 0.105± 0.001 mg/ml. Ces résultats indiquent que l'extrait possède une activité antioxydante notable, bien qu'elle demeure inférieure à celle de l'acide ascorbique. En effet, une faible valeur d'IC_{50} traduit une meilleure capacité de neutralisation des radicaux libres.

Le radical hydroxyle (OH) est considéré comme l'une des espèces réactives de l'oxygène les plus agressives, capable d'induire des dommages oxydatifs importants aux lipides membranaires, aux protéines et à l'ADN **(Sies, 1997).** L'activité observée pour l'extrait aqueux de *Tilia cordata* peut être attribuée à la présence de composés phénoliques, notamment les flavonoïdes et les tanins, connus pour leur aptitude à céder des électrons ou des atomes d'hydrogène afin de stabiliser les espèces radicalaires. Cette interprétation est en accord avec les travaux de **Farkas *et al.* (2004),** qui ont montré que l'activité antioxydante des flavonoïdes

dépend principalement du nombre et de la position des groupements hydroxyles présents sur leur structure aromatique, favorisant ainsi la stabilisation des radicaux libres par résonance. De plus, **Chen *et al.* (2002)** ont rapporté que les flavonoïdes naturels possèdent une forte capacité de piégeage du radical hydroxyle grâce à leur mécanisme de transfert d'atomes d'hydrogène, permettant la formation de radicaux phénoxyles plus stables et moins réactifs. Ces observations soutiennent l'hypothèse selon laquelle l'activité enregistrée dans notre étude est directement liée à la richesse phytochimique de l'extrait étudié.

1.5. Evaluions d'activité anti inflammatoire *in vitro*

1.5.1. La méthode de dénaturation d'albumine d'œuf

La dénaturation des protéines, liée aux processus inflammatoires, est utilisée comme indicateur indirect de l'activité anti-inflammatoire. Le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf est une méthode *in vitro* courante qui évalue la capacité des extraits naturels à prévenir la dénaturation thermique des protéines, une forte inhibition traduisant un potentiel anti-inflammatoire élevé.

Tableau 10: Pourcentage d'inhibition de l'activité anti inflammatoire *in vitro* de l'extrait aqueux de *Tilia cordata* par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf

Traitements	**Concentration (mg /ml)**	**Inhibition de la dénaturation (%)**
Contrôle Négative	/	0
Extrait Aqueux	40	86.75±0.71
	30	89.64± 0.63
	20	92.02±0.29
	10	92.17±0.18
	5	94.019±1.14
Contrôle positive	20	82.83±0.304
	10	90.04±0.255
	5	92±0.301
	2	93.50±0.303

Les résultats montrent que l'extrait aqueux de *Tilia cordata* présente une activité anti-inflammatoire notable, avec des % d'inhibitions de la dénaturation de l'albumine comprises entre 86.75± 0.71 % et 94.019± 1.14 %, la valeur maximale étant proche de celle de l'aspirine 93,50 ± 0,303 %. L'absence d'une relation dose–réponse classique suggère un effet dose inverse, possiblement lié à l'agrégation des composés phénoliques et à une interférence optique en milieu concentré. L'ensemble des concentrations confirme un potentiel anti-inflammatoire élevé de l'extrait. Ces résultats sont en accord avec plusieurs travaux ayant mis en évidence la richesse des espèces du genre *Tilia* en composés phénoliques et flavonoïdes, connus pour leurs propriétés de stabilisation des protéines. Des études récentes ont montré que ces composés peuvent interagir avec les protéines via des liaisons hydrogène et des interactions non covalentes, contribuant ainsi à limiter leur dénaturation sous l'effet du stress thermique ou oxydatif **(Shahidi & Dissanayaka, 2023).**

De même, le résultat obtenu par **Xue *et al*. (2020)** souligne la forte affinité des flavonoïdes pour les protéines, notamment l'albumine, ce qui permet de renforcer la stabilité conformationnelle des structures protéiques et de limiter leur dégradation dans les conditions inflammatoires. Par ailleurs, **Zhou *et al*. (2022)** ont rapporté que les protéines et leurs interactions avec des métabolites secondaires peuvent jouer un rôle important dans la modulation du stress oxydatif et des réponses inflammatoires. Les observations de **Saso *et al*. (2001)** confirment la pertinence du test de dénaturation de l'albumine d'œuf comme modèle d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des substances naturelles, tout en soulignant que des variations non linéaires de l'inhibition peuvent apparaître à des concentrations élevées en raison de la complexité des interactions chimiques dans le milieu réactionnel.

1.5.2. La méthode de dénaturation de BSA

Le test BSA est une méthode *in vitro* utilisée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits naturels en mesurant leur capacité à inhiber la dénaturation des protéines. L'activité est exprimée par l'IC_{50}, qui reflète l'efficacité de l'extrait à stabiliser la structure de l'albumine et à prévenir sa dénaturation.

Tableau 11: Effet de l'extrait aqueux sur l'activité anti inflammatoire *in vitro* par méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine

Traitements	**Concentration (mg/ml)**	**Inhibition de la dénaturation (%)**
Contrôle Négative	/	0
Extrait aqueux	0.08	25.299± 15.18
	0.8	60.23 ± 31.79
	1	75.32± 26.98
	2	80.86± 17.90
	3	80.95 ± 21.65
	4	91.87± 1.08
Contrôle positive : Diclofenac	20	82,83 ± 0,304
	10	90,04 ± 0,255
	5	92 ± 0,301
	2	93,50 ± 0,303

Les résultats obtenus montrent une activité dose-dépendante de l'extrait aqueux de *Tilia cordata.* L'inhibition de la dénaturation augmente progressivement avec la concentration, passant de 25,299 ± 15,18 % à 0,08 mg/ml jusqu'à 91,87 ± 1,08 % à 4 mg/ml, traduisant une forte capacité de stabilisation de l'albumine. À titre de comparaison, le diclofénac, utilisé comme contrôle positif, présente une inhibition élevée allant de 82,83 ± 0,304 % à 93,50 ± 0,303 %, confirmant la validité du modèle expérimental. Cette réponse dose-dépendante suggère un potentiel anti-inflammatoire in vitro notable de l'extrait, en lien avec sa capacité à prévenir les altérations conformationnelles des protéines sous stress. Des résultats similaires ont été rapportés pour divers extraits végétaux riches en composés phénoliques, connus pour leur rôle protecteur vis-à-vis des biomolécules **(Yildirim *et al*., 2000).** L'activité observée peut être attribuée à la présence de métabolites secondaires hydrophiles, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, largement décrits pour leurs propriétés antioxydantes et stabilisatrices des macromolécules biologiques. Chez *Tilia cordata*, plusieurs composés tels que l'acide gallique, l'acide protocatéchique, la quercétine et la rutine ont été identifiés et pourraient contribuer à cet effet protecteur **(Puodžiūtė & Kazlauskaitė, 2025).**

Il convient toutefois de distinguer ce test des essais antioxydants directs tels que le DPPH. Alors que le DPPH évalue la capacité de piégeage des radicaux libres, le test BSA reflète principalement la prévention de la dénaturation protéique, mécanisme étroitement lié aux processus inflammatoires. Ainsi, l'activité observée doit être interprétée comme un indicateur potentiel d'effet anti-inflammatoire in vitro plutôt que comme une simple activité antioxydante **(Yildirim *et al*., 2000).**

1.6. Activité antibactérienne *in vitro*

L'activité antibactérienne des extraits végétaux constitue un indicateur important du potentiel pharmacologique des plantes médicinales. Elle permet d'évaluer, *in vitro*, la capacité des composés bioactifs à inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes. Cette activité peut être influencée par plusieurs facteurs, notamment la nature chimique des métabolites secondaires, la concentration de l'extrait, ainsi que les conditions physicochimiques du milieu (pH, température et composition du milieu de culture) (**Cowan, 1999 ; Burt, 2004).**Par ailleurs, de nombreuses études ont montré que les polyphénols, flavonoïdes et tanins présents dans les extraits végétaux jouent un rôle majeur dans l'activité antimicrobienne grâce à leurs effets sur la perméabilité membranaire bactérienne et l'inhibition enzymatique **(Daglia, 2012).**

1.6.1. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits de *Tilia cordata* a été évaluée contre cinq souches bactériennes, à savoir *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*, en utilisant la méthode de diffusion sur disque (disk diffusion method). Cette méthode, largement utilisée en microbiologie, permet de mesurer l'effet inhibiteur d'un extrait végétal sur la croissance bactérienne. Elle repose sur l'application de disques stériles imprégnés de l'extrait sur une gélose inoculée par une suspension bactérienne standardisée (0,5 McFarland ≈ 1–2 × 10^8 UFC/ml), puis l'incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures **(Burt, 2004).**

Les résultats sont ensuite interprétés selon une classification basée sur le diamètre d'inhibition **(Burt, 2004) :**

- D < 8 mm : bactérie non sensible
- 9 ≤ D ≤ 14 mm : bactérie sensible
- 15 ≤ D ≤ 19 mm : bactérie très sensible
- D ≥ 20 mm : bactérie extrêmement sensible

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus pour l'extrait aqueux de *Tilia cordata.* Sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau 12: Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Tilia cordata*

Diamètre de zones d'inhibition en mm			
Gram	*Souche bactérienne*	Dilution d'EAC par DMSO (mg / ml)	
		50	100
Positif	*Bacillus cereus*	-	-
	Staphylococcus aureus	10	9.5
Négatif	*Escherichia coli*	9.5	-
	Klebsiella pneumoniae	-	-
	Pseudomonas aeruginosa	-	-

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux de *Tilia cordata* présente une activité antibactérienne variable selon les souches testées. Globalement, une sensibilité modérée a été observée, tandis que certaines bactéries ont montré une résistance marquée.

A la dose 50 mg/mL, des zones d'inhibition de 10 mm et 9,5 mm ont été enregistrées respectivement contre Escherichia coli *et* Staphylococcus aureus, traduisant une activité modérée selon la classification de **Bouharb *et al.* (2014)** à 100 mg/ml, seule Staphylococcus aureus a maintenu une sensibilité faible (9,5 mm), tandis que les autres souches sont restées résistantes.

La diminution apparente de l'activité malgré l'augmentation de la concentration peut être attribuée à une diffusion limitée des composés actifs dans le milieu gélosé ou à des interactions entre métabolites secondaires réduisant leur efficacité, un phénomène déjà rapporté dans plusieurs études **(Cushnie & Lamb, 2005).**

L'activité observée est principalement liée à la présence de métabolites phénoliques, notamment les flavonoïdes et les tanins, connus pour altérer la membrane bactérienne, inhiber les systèmes enzymatiques et provoquer la dénaturation des protéines cellulaires **(Cowan, 1999).** Les flavonoïdes peuvent également interagir avec les protéines membranaires et extracellulaires, entraînant une inhibition de la croissance bactérienne **(Cushnie & Lamb, 2005).**

La plus grande sensibilité de Staphylococcus *aureus* par rapport aux bactéries Gram négatif s'explique par les différences structurales de la paroi cellulaire. La membrane externe riche en lipopolysaccharides des bactéries Gram négatif limite la pénétration des composés antimicrobiens **(Nikaido, 2003),** contrairement aux bactéries Gram positif, dont la paroi est plus perméable aux molécules bioactives.

La résistance observée chez *Pseudomonas aeruginosa* peut être liée à ses mécanismes intrinsèques de défense, notamment la faible perméabilité membranaire et l'activité des pompes d'efflux, qui réduisent l'accumulation intracellulaire des composés actifs **(Nikaido, 2003).**

Conclusion et perspective

Conclusion et perspectives

Cette étude a mis en évidence le potentiel bioactif remarquable de l'extrait aqueux de *Tilia cordata*, une espèce médicinale reconnue pour ses usages traditionnels à visée thérapeutique. L'approche expérimentale adoptée a permis de caractériser sa composition phytochimique et d'évaluer ses principales activités biologiques *in vitro* de manière cohérente et intégrée.

L'analyse phytochimique a confirmé une richesse significative en composés phénoliques, dominée par les flavonoïdes et les tanins, qui constituent les principaux déterminants chimiques de son activité biologique. Cette forte densité en métabolites secondaires explique la diversité et l'intensité des effets observés.

Sur le plan fonctionnel, l'extrait a démontré une activité antioxydante élevée, traduisant une capacité efficace de neutralisation des espèces réactives de l'oxygène et de limitation du stress oxydatif. Parallèlement, les essais anti-inflammatoires ont révélé une activité significative d'inhibition de la dénaturation des protéines, suggérant une interaction directe avec les mécanismes moléculaires impliqués dans les processus inflammatoires.

L'activité antibactérienne, bien que modérée et dépendante des souches testées, reste néanmoins pertinente, avec une sensibilité plus marquée chez les bactéries Gram positives, ce qui s'explique par leur structure pariétale plus perméable aux composés bioactifs.

L'ensemble de ces résultats met en évidence un effet synergique entre les différentes classes de composés phénoliques, conférant à *Tilia cordata* un profil pharmacologique global intéressant, reposant davantage sur une coopération moléculaire que sur l'action d'un seul principe actif.

Dans une perspective de valorisation scientifique approfondie, il convient d'identifier avec précision les molécules responsables de ces activités à l'aide de techniques analytiques avancées telles que la chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN), afin d'établir un profil structural détaillé des composés bioactifs. Une analyse rigoureuse des relations structure–activité permettrait également de préciser les déterminants moléculaires de l'efficacité observée.

En complément, des études *in vivo* seraient nécessaires afin de confirmer ces effets dans un contexte physiologique réel et d'évaluer la biodisponibilité ainsi que la sécurité d'utilisation de ces extraits. Ces investigations permettraient également de mieux apprécier leur pertinence pharmacologique et de soutenir leur éventuelle valorisation dans le développement de phytomédicaments standardisés, pouvant être envisagés dans des études précliniques ultérieures.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdallah, I. I., & Quax, W. J. (2017). Aperçu de la biosynthèse des terpénoïdes. In International Conference on Natural Resources and Life Sciences (NRLS-2016) (pp. 81–98). KnE Life Sciences.
- Achat, S. (2014). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques [Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse].
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. Revue du Rhumatisme, 74(7), 636–643.
- Akroum, M. (2011). Étude phytochimique et activité biologique de plantes médicinales [Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine].
- Ali, S. A., Al-Atbi, H. S., Moein, F., & Ali, B. M. (2022). Antibacterial and antioxidant activity of flavonoid, glycoside and alkaloid extracts of *Tilia cordata*. International Journal of Health Sciences, 6(S3), 3976–3983. https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.6664
- Allal, H., & Hadbi, M. (2018). Les infections à Acinetobacter baumannii à l'hôpital Belloua de Tizi Ouzou. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- Ammar, M., Barbouche, N., & Ben Hamouda, M. (1995). Action des extraits de feuilles de Cestrum parqui et Olea europaea sur Schistocerca gregaria. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Universiteit Gent, 60(3), 831–835.
- Aniszewski, T. (2007). Alkaloids: Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. Amsterdam: Elsevier.
- Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., & Supuran, C. T. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. Biotechnology Advances, 33(8), 1582–1614. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001
- Autier, J., Miyara, M., & Buyse, S. (2004). Immunopathologie : réaction inflammatoire (Module 8, Item 112). Paris: Estem.

- Baranov, S. G. (2014). Use of morphogeometric method for study of fluctuating asymmetry in leaves of Tilia cordata under industrial pollution. Advances in Environmental Biology, 8(7), 2391–2398.Benaouda, A. (2023). Étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques [Thèse de doctorat, Université Saad Dahlab Blida 1].
- Benabdallah, S. (2021). Valorisation biochimique des huiles essentielles de plantes spontanées [Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1].
- Benali, S. (2017). Synthèse et étude physicochimique des complexes des quinones et de la β-cyclodextrine [Thèse de doctorat, Université 8 Mai 1945 Guelma].
- Benbouguerra, N. (2020). Évolutions structurales et propriétés biologiques des polyphénols au cours de la maturation des baies de Vitis vinifera [Thèse de doctorat, Université de Montpellier].
- Benhammou, N. (2012). Activité antioxydante des extraits de composés phénoliques de plantes médicinales de l'Ouest algérien [Thèse de doctorat, Université Tlemcen].
- Benslama, A. (2020). Étude phytochimique et activités antioxydante et hépatoprotectrice des extraits de Thymus pallidus [Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1].
- Bertella, A. (2019). Étude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles [Thèse de doctorat, Université Oran 1].
- Bertrand, M. (2017). La phytothérapie dans le traitement de l'insomnie [Thèse d'exercice en pharmacie, Université de Lorraine].
- Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? Metabolism, 49(Suppl 1), 3–8.
- Biondi, D., Cianci, P. A., Geraci, C., & Ruberto, G. (1993). Antimicrobial and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. Flavour and Fragrance Journal, 8, 331–377.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation des composés phénoliques. Acta Botanica Gallica, 153(4), 309–318.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein. Analytical Biochemistry, 72, 248–254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical

method to evaluate antioxidant activity. LWT – Food Science and Technology, 28(1), 25–30.

• Charles, N. S., Peter, A. W., & Derek, W. G. (2010). Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press.

- • Chhour, M. (2020). Métabolisation des quinones et stress oxydant [Thèse de doctorat, Université de Toulouse].
- • Cittan, M., Altuntaş, E., & Çelik, A. (2018). Antioxidant capacities in *Tilia cordata*. Industrial Crops and Products, 123, 403–410.
- • Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4), 564–582.
- Cruz-Topete, D., & Cidlowski, J. A. (2015). Anti-inflammatory effects of glucocorticoids. Neuroimmunomodulation, 22, 20–32.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction and antioxidant properties. Molecules, 15(10), 7313–7352.
- Debbache, R. (2015). Stress oxydant et espèces réactives. Revue Scientifique et Technique, 31, 45–52.
- Durga, M., Nathiya, S., & Devasena, T. (2014). Flavonoids and immunity. International Journal of Pharmacy, 6(2), 50–56.
- Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007). Wound inflammation. Journal of Investigative Dermatology, 127, 514–525.
- Fauve, R. M., & Hevin, M. (1998). Réaction inflammatoire et immunité. John Libbey Eurotext.
- Fechtner, S., Singh, A., Chourasia, M., & Ahmed, S. (2017). Anti-inflammatory activities of green tea catechins. Toxicology and Applied Pharmacology, 329, 112–120.
- Ghedira, K. (2005). Flavonoïdes : structure et activités biologiques. Phytothérapie, 3(1), 1–9.
- Ghzaïel, C. (2022). Stress oxydatif et maladies métaboliques [Thèse de doctorat, HAL Thèses].

- Gul, R., Jan, S. U., Faridullah, S., Sherani, S., & Jahan, N. (2017). Phytochemical screening and antioxidant activity of plant extracts. The Scientific World Journal, 2017, 1–8.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants. Journal of Nutritional Biochemistry, 13(10), 572–584.
- Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J. Y. (2001). Médiateurs de l'inflammation. Revue Médicale de Liège, 56, 433–442.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). Antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(6), 1841–1856.
- Janeway, C. A., Murphy, K., & Masson, P. L. (2003). Immunobiology. De Boeck.
- Jouin, A. (2019). Évolution et caractérisation chimique des tanins couronnes du raisin au vin [Thèse de doctorat, Université de Bordeaux]. École doctorale Sciences de la vie et de la santé.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Mitchell, R. N. (2007). Robbins Basic Pathology. Elsevier.
- Laveti, D., Kumar, M., & Hemalatha, R. (2013). Anti-inflammatory treatments. Inflammation & Allergy Drug Targets, 12(5), 349–361.
- Lee, H. N., & Surh, Y. J. (2012). Therapeutic potential of resolvins. Biochemical Pharmacology, 84, 1340–1350.
- Lévy, P., Fanello, S., Pivette, J., Parot-Schinkel, E., Grand, G. L., Schoux, J. B., & Bodo, P. (2005). Anti-inflammatoires non stéroïdiens et risques iatrogènes. Revue Médicale de l'Assurance Maladie, 32(2), 153–161.
- Li, B., Du, W., Qian, D., & Du, Q. (2012). Isolation of cyanidin-3-O-glucoside. Journal of Chromatography B.
- Medzhitov, R. (2008). Origin of inflammation. Nature, 454, 428–435.
- Mekhfi, H., El Haouari, M., Bnouham, M., Aziz, M., Ziyyat, A., & Legssyer, A. (2006). Effects of plant extracts on platelet aggregation. Phytotherapy Research, 20, 135–139.
- Middleton, E. Jr., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and

cancer. Pharmacological Reviews, 52(4), 673–751. Pharmacological Reviews, 52, 673–751.

- Nogueira, J. E., Agostinho, B. K. L., Mota, C. M. D., & Branco, L. G. S. (2019). Splenic anti-inflammatory reflex. Journal of Thermal Biology, 85, 102411.
- • Oniszczuk, A., & Podgórski, R. (2015). Influence of different extraction methods on the quantification of selected flavonoids and phenolic acids from *Tilia cordata* inflorescence. Industrial Crops and Products, 76, 509–514. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.003
- Opatowski, M. (2020). Résistance bactérienne aux antibiotiques [Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay].
- Ozdal, T., Çapanoğlu, E., & Altay, F. (2013). Protein–phenolic interactions: A review. Food Research International, 51(2), 954–970.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. Journal of Nutritional Science, 5, e47.
- Pandita, D., & Pandita, A. (2021). Secondary metabolites in medicinal plants. In Medicinal and Aromatic Plants (pp. 41–84). Springer.
- Park, M. H., Kim, D. H., Lee, E. K., Kim, N. D., Im, D. S., Lee, J., Yu, B. P., & Chung, H. Y. (2014). Inflammation and insulin resistance. Archives of Pharmacal Research, 37, 1507–1514.
- Perruchon, C. (2021). Métabolites secondaires de levures tropicales [Thèse de doctorat, HAL Thèses].
- Peterson, G. L. (1983). Determination of total protein. Methods in Enzymology, 91, 95–119.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals and antioxidants. International Journal of Biomedical Science, 4(2), 89–96.
- Pichersky, E. (2006). Biosynthesis of plant volatiles. Science, 311(5762), 808–811.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Products, 63(7), 1035–1042.
- Pigott, C. D., & Huntley, J. P. (1981). Distribution of Tilia cordata. New Phytologist,

87(3), 817–839.

- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, 8416763. https://doi.org/10.1155/2017/8416763
- Prakash, V., Saxena, S., & Gupta, S. (2015). Phytochemical screening. Journal of Microbiology & Biochemistry Technology, 7, 33–38.
- Pranskūnienė, Z., Dauliūtė, R., Pranskūnas, A., & Bernatonienė, J. (2018). Ethnopharmaceutical knowledge in Samogitia region of Lithuania: Where old traditions overlap with modern medicine. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 14, 70. https://doi.org/10.1186/s13002-018-0268-x
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Antioxidant capacity assay. Analytical Biochemistry, 269(2), 337–341.
- Puodžiūtė, L., & Kazlauskaitė, D. (2025). Phenolic compounds in Tilia cordata. LSMU Repository.
- Qi, B., Chen, L., Zhang, H., & Wu, S. (2014). Polysaccharides protective effects against oxidative stress-induced cell damage. PLOS ONE, 9(10), e110275. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110275
- Radoglou, K., & Dobrowolska, D. (2009). Performance of seedlings. Die Bodenkultur, 60(3), 53–62.
- Rahman, M. A., Islam, M. B., Biswas, M., & Alam, A. H. M. K. (2015). Antioxidant activity of plants. BMC Research Notes, 8, 621.
- Ramoul, A. (2014). Sensibilité bactérienne [Thèse de doctorat, Université d'Annaba].
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolics. Trends in Plant Science, 2(4), 152–159.
- San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., & Mauri, A. (2016). European Atlas of Forest Tree Species. Publications Office of the European Union. https://forest.jrc.ec.europa.eu/en/european-atlas-of-forest-tree-species/
- Saso, L., Valentini, G., Casini, M. L., Grippa, E., Gatto, M. T., Leone, M. G., &

Silvestrini, B. (2001). Inhibition of heat-induced denaturation of albumin by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Pharmacological implications. Archives of Pharmacal Research, 24(2), 150–158. https://doi.org/10.1007/BF02976483

• Serhan, C. N. (2007). Resolution of inflammation. Annual Review of Immunology, 25, 101–137.

• Serhan, C. N., & Savill, J. (2005). Resolution of inflammation. Nature Immunology, 6, 1191–1197.

• Shahidi, F., & Dissanayaka, C. S. (2023). Phenolic–protein interactions. Food Production, Processing and Nutrition, 5(1), 21.

• Sies, H. (1997). Oxidative stress. Experimental Physiology, 82(2), 291–295.

• Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 21, 363–383.

• Simon, P. (2020). Inflammation and pharmacokinetics [Thèse de doctorat, HAL Thèses].

• Sun, S., Liu, Z., Lin, M., Gao, N., & Wang, X. (2024). Polyphenols in health and food processing: Antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant insights. Frontiers in Nutrition, 11, 1456730. https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1456730

• Upadhyay, S., Jeena, G. S., & Shukla, R. K. (2018). Steroidal saponins biosynthesis. Planta, 248, 519–544.

• Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. Microorganisms, 9(10), 2041. https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041

• Vincken, J. P., Heng, L., de Groot, A., & Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. Phytochemistry, 68(3), 275–297. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.10.008

• Weill, B., Batteux, F., & Dhainaut, J. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. De Boeck.

• Wiart, C. (2006). Ethnopharmacology of medicinal plants. CRC Press.

• Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity of herbs. Food Chemistry, 105(3), 940–949.

• Xue, P., Zhang, G., Zhang, J., & Ren, L. (2020). Interaction of flavonoids with serum albumin: A review. Current Protein & Peptide Science, 22(3), 217–227. https://doi.org/10.2174/1389203721666201109112220

• Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C. (2018). The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. Nutrients, 10(11), 1618. https://doi.org/10.3390/nu10111618

• Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A. A., Algur, O. F., & Bilaloğlu, V. (2000). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of Tilia argentea Desf. ex DC, Salvia triloba L., and Camellia sinensis extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(10), 5030–5034.

• Zam, W., Al Asaad, N., Jarkas, B., Nukari, Z., & Saleh, D. (2017). Extracting and studying the antioxidant capacity of polyphenols in dry linden leaves (*Tilia cordata*). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(3), 258–262.

• Zenk, M. H., & Juenger, M. (2007). Phytochemistry of nitrogen compounds. Phytochemistry, 68(22–24), 2757–2772.

• Zhou, Y.-J., Ren, Q., & Shen, Y.-B. (2025). Comprehensive review of *Tilia* L.: Phytochemical profiles, edible value, therapeutic potentials, and ecological significance. Food & Medicine Homology, 2(2), 9420035. https://doi.org/10.26599/FMH.2025.9420035

• Ziaja, M., Pawłowska, K. A., Józefczyk, K., Pruś, A., Stefańska, J., & Granica, S. (2020). UHPLC-DAD-MS/MS analysis of extracts from linden flowers (Tiliae flos): Differences in the chemical composition between five *Tilia* species growing in Europe. Industrial Crops and Products, 154, 112691. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112691

• Zeghal, K. M., & Sahnoun, Z. (2013). La réaction inflammatoire et le stress oxydant. In Y. Rouxeville (Ed.), Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes (pp. 47–53). Springer. https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0361-6_4

• Zeleznik, J. (2024). Littleleaf linden. North Dakota State University Extension.

Liste des sites web consultés

- **Site web 1 :** Identification des métabolites secondaires : les réactions de caractérisation. Université Numérique Thématique. Consulté le 05/03/2025**.** **http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2014_Nantes_Petit_TP-IdentificationMetabolites/co/identificationsclasse_1.html**
- **Site web 2 :** 1,4-Benzoquinone, 99 %, Thermo Scientific Chemicals (anciennement Acros Organics). Fisher Scientific. Consulté le 08/03/2025. **https://www.fishersci.fr/shop/products/1-4-benzoquinone-99-acros-organics-8/10638463**
- **Site web 3:** Alkaloid. Encyclopaedia Britannica. Consulté le 12/03/2025. **https://www.britannica.com/science/alkaloid**
- **Site web 4:** RSC Advances. Royal Society of Chemistry. Consulté le 15/03/2025. **https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2017/ra/c6ra26397f**
- **Site web 5:** Basic structure of saponins. ResearchGate. Consulté le 18/03/2025.
- **https://www.researchgate.net/figure/Basic-structure-of-saponins_fig8_353354855**
- **Site web 6:** Stress oxydatif. GoodSesame. Consulté le 22/03/2025. **https://www.goodsesame.com/blog/stress-oxydatif/**
- **Site web 7 :** La réaction inflammatoire aiguë. Maxicours. Consulté le 25/03/2025. **https://www.maxicours.com/se/cours/la-reaction-inflammatoire-aigue/**
- **Site web 8** : Antibiotiques : informations et précautions à prendre. Femmes Références. Consulté le 28/03/2025. **https://femmes-references.com/sante-bien-etre/antibiotiques**
- **Site web 9 :** Actions des antibiotiques. L'Homme et la Nature. Consulté le 02/04/2025**.** **https://antibacterie-tpe.weebly.com/actions-des-antibiotiques.html**
- **Site web 10** : La résistance des bactéries. Science des antibiotiques. Consulté le 05/04/2025**. https://sciencedesantibiotiques.weebly.com/la-reacutesistance-des-bacteacuteries.html**

- **Site web 11 :** *Tilia cordata* – tilleul à petites feuilles. Promesse de Fleurs. Consulté le 10/04/2025. **https://www.promessedefleurs.com/arbustes/arbustes-par-variete/tilleul/tilia-cordata-tilleul-a-petites-feuilles.html**
- **Site web 12 :** Tilleul à petites feuilles (*Tilia cordata*). Wikimedia Commons. Consulté le 12/04/2025. **https://fr.wikipedia.org/wiki/Tilleul_%C3%A0_petites_feuilles#/media/Fichier:Braffe_AR1bJPG.jpg**
- **Site web 13 :** *Tilia cordata* – tilleul à petites feuilles. Mycobota. Consulté le 15/04/2025. **https://mycobota.org/tilia-cordata-tilleul-a-petites-feuilles/**
- **Site web 14 :** *Tilia cordata* – tilleul à petites feuilles. Plantsam. Consulté le 18/04/2025. **https://plantsam.com/tilia-cordata/**
- **Site web 15 :** Tilleul à petites feuilles (*Tilia cordata*). Wikipédia. Consulté le 20/04/2025. **https://fr.wikipedia.org/wiki/Tilleul_%C3%A0_petites_feuilles**