



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence ..... / 2021

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :

**BALOUTA LOUBNA**

Le:mercredi 22 juin 2022

## *Etude de quelques effets biologiques de " Soussurae Costus "*

---

### Jury :

Mme Medjadba Aicha	MAA Université de Biskra	Président
Mme. Fadjeria YAACOUB	MAA Université de Biskra	Rapporteur
Dr. Derradji Yacine	MAA Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2022 – 2023

## Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Nous remercions les plus distingués au Mme " **Yaakoub Fedjeria** " Maître Assistante Classe A au département de biologie, faculté des sciences exactes de la nature et de la vie, l'Université Mohamed Khider (Biskra), pour sa supervision éclairée tout au long de la rédaction du mémoire, pour sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous remercions aux membres de jury, chacun en son nom, d'approuver le verdict et d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réussite de notre travail et.

Nous remercions beaucoup l'ensemble des enseignants du département de Biologie pour la formation qu'il nous ont assurée tout le long de notre cursus universitaire.

## **Dédicace**

### ***A mes chers parents***

Je n'aurais jamais espéré avoir de meilleurs parents. Je vous remercie A mes chers parents d'avoir fait de moi ce que je suis et de m'avoir appris à vivre dans l'honneur et la dignité.

### ***A mon cher Père : Mr LAKHDAR BALOUTA***

Tu as été depuis ma plus tendre enfance, l'exemple à suivre. Ton soutien moral, tes encouragements m'ont poussé à suivre la carrière du domaine de biologie et d'être ce que je suis. Sans toi et ton aide précieuse, ce travail n'aurait jamais vu le jour dans d'aussi brefs délais. Je te dédie ce travail en témoignage de mon amour, mon respect et ma reconnaissance.

### ***A ma très chère Maman : Mme .RACHIDA TARAAI***

Aucune dédicace, aucun mot, ne saurait exprimer réellement, mon profond amour, mon respect et ma reconnaissance pour tous les sacrifices que tu as prodigué pour ma formation et ma réussite. A ma très chère Maman : Que Dieu tout puissant, vous procure santé, bonheur et longue vie.

### ***A mes très chers frères et sœurs***

### ***FATHI, YACINE, Abd AL RAHIM, ABLA***

Aucune dédicace ne pourrait traduire ma gratitude et ma profonde reconnaissance et mon amour.

Je vous dédie ce travail comme témoignage de mon respect et mon amour éternel. Puisse Dieu vous préserve et vous procure tout le bonheur et la prospérité et vous aide à réaliser tous vos rêves.

### ***A tous mes chers amis et amies :***

A tous les inoubliables moments que nous avons passés ensemble. Avec vous j'avais appris le vrai sens de l'amitié, vous étiez toujours là pour me soutenir, m'épauler et me remonter le moral, nous avons partagé des moments de joie et de tristesse, d'épanouissement et de stress et à chaque fois vous vous êtes montrées compréhensives et fidèles j'espère que vous trouverez dans ce travail tous l'amour et la reconnaissance que je vous dois.

### ***A tous mes maitres de l'enseignement primaire,***

### ***De l'enseignement secondaire, et de l'enseignement supérieur,***

### ***En témoignage de mon affection et respect***

**LOUBNA BALOUTA**



## SOMMAIR

<b>Liste de tableaux .....</b>	<b>.....</b>
<b>Liste de figures .....</b>	<b>.....</b>
<b>Liste d'abréviation . . . . .</b>	<b>.....</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre 01 Généralités sur la plante.....</b>	
Les plantes médicinales .....	03
1 Généralité sur S.costus .....	03
2 Famille Astéracées. ....	03
3 Distribution géographique (Habitat). ....	04
4 Description Botanique de S costus .....	05
5 Classification .....	05
6 Composition chimique ... ..	06
a . Les coumarines .....	06
b . Les flavonoïdes .....	07
c. Les terpénoïdes .....	07
d . Huile essentielle de racines de Saussurea costus .....	07
7 Application du Costus .....	08
8 Les effets biologiques.....	09
a Anti microbienne. ....	09
b Antifongique.....	09
c Antioxydant .....	09
d Antinflammatoire .....	09
e Anticancéreuse .....	10
f Anti-ulcère et cholagogue .....	11
g hépato protecteur .....	11
<b>Chapitre 02 Matériel méthodes</b>	
1 Préparation et extraction du matériel .....	13
1 Macération.....	13
2 Ultrasons.....	14
3 Hydrodistillation .....	14

4 Soxhlet.....	15
2 Préparation d'extraits aqueux et méthanoliques à partir de résidus .....	16
3 Criblage phytochimique de la poudre de costus.....	16
3.1 Saponine .....	16
3.2 Coumarine .....	16
3.3 Flavonoïdes .....	16
3.4 Polyphénols .....	17
3.5 Huile volatile .....	17
3.6 Terpénoïdes .....	17
3.7 Tanin .....	17
4 Analyse de Dosage des teneurs phénoliques totales (TPC).. .....	17
5 Identification des Constituants chimiques par GC-MS des extraits de S Costus . .....	18
<b>Activité antimicrobienne</b> .....	19
a Détermination de L'activité antibactérienne. ....	19
b Lecture des résultats .....	21
c Détermination de la concentration minimale inhibitrice. ....	21
d Dosage CMI .....	22
<b>Activité antifongique</b> .....	22
1 Dosage CMI et MFC de L'activité antifongique .....	23
<b>Activité antioxydant</b>	
C. Test de décoloration cationique radicalaire ABTS.....	27
D. Inhibition de l'activité de peroxydation lipidique.....	27
5 Dosage du pouvoir réducteur/antioxydant ferrique (FRAP).....	29

### **Chapitre 03 Résultat et Discussion**

1. Analyse d'huile essentielle.....	31
2. Rendements d'extraction d'huile essentielle ou extrait .....	31
3. Criblage phytochimique .....	32
4. Composés phénoliques.....	<u>35</u>
<b>Activité antimicrobienne</b> .....	38
1. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	38

2. CMI /MBC .....	43
<b>Activité antioxydant</b> .....	45
1.Évaluation de la capacité antioxydant des extraits aqueux , méthanolique .....	45
1.1 de piégeage des radicaux DPPH .....	45
1.2 Capacité de piégeage des radicaux libres à l'aide du test ABTS .....	45
1.3 Inhibition de l'activité de peroxydation lipidique de l'acétate d'éthyle .....	46
1.4 Dosage du pouvoir réducteur/antioxydant ferrique (FRAP).....	46
<b>Activité antifongique</b> .....	47
1. Valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) d extraits de costus .....	49
<b>Conclusion</b> .....	53

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Hiérarchie Taxonomique de <i>Saussurea costus</i> .....	05
<b>Tableau 2</b> Utilisation ethno médicales du Costus. ....	08
<b>Tableau 3.</b> Le tableau montre les points de différence entre les différents travaux sur l'effet Antimicrobien d'huile essentiel de <i>Saussurea costus</i> .....	19
<b>Tableau 4.</b> la méthode de préparation des dilutions. ....	22
<b>Tableau 5.</b> Le tableau montre les points de différence entre les différents travaux sur l'effet Antifongiques d'huile essentiel de <i>S.costus</i> . ....	23
<b>Tableau 6.</b> préparation de la solution dosage du pouvoir réducteur/antioxydant ferrique (FRAP) . ....	29
<b>Tableau 7.</b> Propriétés physicochimiques de l'huile essentielle de racine de <i>S. costus</i> . ....	31
<b>Tableau 8.</b> Analyse phytochimique des racines de <i>S. costus</i> . ....	34
<b>Tableau 9.</b> Analyse de l'extrait d'acétate d'éthyle par GCMS . ....	39
<b>Tableau 10.</b> Composés chimiques identifiés dans l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>S. costus</i> par analyse GC-MS . ....	37
<b>Tableau 11.</b> Les activités antibactériennes des extraits à l'éthanol des racines de <i>S. costus</i> contre <i>S. aureus</i> et <i>Salmonella sp.</i> à différentes concentrations.....	40
<b>Tableau 12..</b> CMI et MBC des extraits méthanolique et éthanolique des racines de <i>S. costus</i> ...	44
<b>Tableau 13.</b> les valeurs de DPPH des extrait aqueuse et méthanolique.....	45
<b>Tableau 14.</b> Activités antifongiques de SCE contre les espèces fongiques testées . ....	47
<b>Tableau 15</b> CMI et MFC des extraits méthanolique et éthanolique des racines de <i>S. costus</i> .....	50



## Liste des Figures

<b>Figure 1.</b> Carte montrant la distribution de <i>S.costus</i> (les cercles rouges indiquent la Distribution de plante .....	04
<b>Figure 2.</b> partie florale de <i>Sousourea costus</i> .....	05
<b>Figure 3.</b> Structure chimique de constituant principal de racines aromatique .....	07
<b>Figure 4</b> .les racines de <i>S.costus</i> .....	13
<b>Figure 5.</b> la poudre de Racine de <i>Costus</i> .....	13
<b>Figure 6.</b> Schéma de `souseura costus`extraction d'huiles essentielles (hydrodistillation) .....	15
<b>Figure 7.</b> Les composés chimiques de <i>S. costus</i> par extrait d'acétate d'éthyle identifiés par GCMS .....	33
<b>Figure 8.</b> Chromatogramme HPLC du profil des composés phénoliques de l'extrait de <i>S.costus</i> . .....	35
<b>Figure 9.</b> : Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique en utilisant la méthode de Diffusion de puits remplis de différent.....	39
<b>Figure 10</b> Sensibilité des bactéries gram-positives aux extraits de méthanol et d'éthanol.....	42
<b>Figure 11.</b> Sensibilité des bactéries gram-négatives aux extraits de méthanol et d'éthanol de racines de <i>S. costus</i> par rapport au chloramphénicol .....	42
<b>Figure 12.</b> Concentrations minimales inhibitrices de SCE pour les bactéries testée .....	44
<b>Figure 13.</b> Sensibilité des souches fongiques aux extraits méthanoliques et éthanolique de racines de <i>S. costus</i> par rapport au clotrimazole. ....	48
<b>Figure 14.</b> Zone moyenne d'inhibitions de différentes souches fongiques en raison de l'effet des extraits méthanolique et éthanoliques de <i>S costus</i> par rapport au clotrimazole .....	49
<b>Figure 15.</b> Concentrations minimales inhibitrices de SCE pour les champignons testés.....	50

## Liste des abréviations

- ET** : huile essentielle
- SCE** : Saussurea Costus extrait
- COS** : Costinolid
- DEH** : Les lactones déhydrocostus
- ABTS** : acide 2,2'-azino-bis-3-éthyl benzthiazoline-6-sulfonique
- DPPH** : radical 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyle
- AOC** : capacité antioxydant
- TPC** : teneurs phénoliques totales
- DMSO** : diméthyl-sulfoxyde
- C M I** : concentration minimale inhibitrice
- MFC** : concentration minimal fongique
- MBC** : Concentration minimal Bactérienne
- SDS** : de dodécylsulfate de sodium
- MHB** : bouillon Mueller Hinton
- MHA** : Mueller-Hin
- TBA** : d'acide thiobarbiturique
- FRAP** : pouvoir réducteur/antioxydant ferrique
- GC-MS** : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse
- CPG** : chromatographie en phase gazeuse
- ET** : Équivalent Trolox
- Trolox** : Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique
- IZ** : Zone de inhibition
- RSA** : Activité de piégeage radicalaire
- PBS** : Solution Saline tamponnée au phosphate
- TPTZ**: 2,4 , 6-tripyridyl-s-triazne
- CITES**: The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora

# **Introduction**

La phytothérapie est une ancienne discipline médicale. Elle a été utilisée sur toute la planète. Mais c'est aussi une médecine actuelle. Cette médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, continue à être utilisée, et au cours de ces dernières années sa popularité n'a fait qu'augmenter le phytosanitaire et l'industrie. Ainsi, l'utilisation des remèdes à base de plantes connaît dernièrement un engouement sans précédent. Les produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tels que : le cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, le phytosanitaire et l'industrie (Mohammed ,2017) Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés. Par conséquent, la recherche des principes actifs potentiels de la plante est plus que jamais d'actualité (Daouda ,2015). Ce pendant, Certaines plantes médicinales et aromatiques.

*Saussurea costus*, l'une des principales plantes du genre *Saussurea*, connue sous le nom de, de la famille des *Astéracées*, est une espèce en danger critique d'extinction dans la zone subalpine de l'Himalaya. Les plantes matures sont déracinées pour leurs racines très précieuses qui sont très demandées sur le marché local et international, ce qui entraîne une détérioration rapide de la population dans l'habitat sauvage. La conservation in situ et ex situ des espèces est nécessaire en réservant la zone forestière en petites parcelles et en cultivant les terres des grams panchayat. Cet article de synthèse se concentre sur l'identification et la culture de *Saussurea costus*. (Tanuja Uniyal, 2018)

Les propriétés médicinales et les effets biologiques des plantes sont prometteurs, certaines ont été mises en évidence à travers plusieurs publications internationales.

L'objectif de ce travail est de faire une synthèse de certains travaux de recherches étudiant à la fois les effets biologiques de la plante médicinale *S. Costus*.

Ce travail est divisé en trois parties :

Dans la première partie une recherche bibliographique comprend des connaissances générales sur la plante : la description de la plante *Sussurea costus*, et la classification botanique ses composants et quelques effets biologiques.

La deuxième partie consiste en une synthèse de différentes expérimentations et techniques de dosage nous traitent de l'article scientifique pour mettre en évidence des méthodes d'extraction

Ainsi que les études des activités antimicrobienne et antifongique et antioxydante de *S. Costus*, Les résultats et discussions de recherche sont présentés dans la troisième partie. En fin une conclusion générale ressemblant à l'essentiel des résultats des travaux et leur perspective.

**Première partie**  
**Synthèse**  
**Bibliographique**

# **Chapitre 1**

## **Généralités sur la plante**

## Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées à des fins curatives tout au long de l'histoire humaine même à l'ère actuelle, il y a jusqu'à 80% de la population mondiale, la plupart d'entre eux vivent dans les pays en développement, dépendent de la médecine traditionnelle à base de plantes pour leurs systèmes de soins de santé primaires, bon nombre de ces médicaments à base de plantes prescrits en médecine traditionnelle ont des connaissances insuffisantes et non testé par des méthodes scientifiques. Dans la nature, les plantes se présentent comme l'une des plus grandes usines pharmaceutiques jamais connues et les plantes ont été la principale source de médicaments pour l'humanité depuis l'Antiquité. Des nombreuses plantes médicinales produisent divers groupes de métabolites secondaires connus sous le nom des composés photochimiques, qui peuvent supprimer la croissance microbienne par différents modes d'action tels que l'interférence avec les processus métaboliques cellulaires, les perturbations de la membrane cellulaire ou en modulant les voies de transduction du signal ou d'expression génique (Abdallah *et al*,2017)

### 1 Généralité

*Saussurea costus* (synonyme de *Saussurea lappa*). Appartient de la famille *Astéracées* localement connu sous le nom de Kuth (plantes, 2011). Ou *S. costus* c'est une herbe pérenne robuste de l'Himalaya. Les racines de *Saussurea costus* allient une odeur aromatique forte et douce avec un goût amer. *Saussurea costus* est une l'espèce la plus viable sur le plan commercial. Ses propriétés médicinales notamment des terpènes, des alcaloïdes, des anthraquinones et des flavonoïde sont bien documentées dans la médecine traditionnelle Chinoise, Indienne, Islamique qui s'est en rôle dans le Saint Hadith dit par le Prophète Muhammad (que la paix soit sur lui), comme Il est connu dans les pays arabes sous le nom de «Al-Kost Al Hindi» est utilisé par les guérisseurs traditionnels de puis l'ère de la civilisation islamique. Cette plante est connue depuis à l'époque utilisé pour la médecine traditionnelle indienne (Kulsoom *et al*,2014)

### 2 Famille des Astéracées

Les Astéracées est une famille cosmopolite, elles s'acclimatent bien dans les régions semi-arides, tropicales, subtropicales, à la toundra Alpine et Arctique et aux régions tempérées, à



l'exception de l'Antarctique (Kenoufi ,2018). Cette famille comprend environ 1000 genres et 30000 espèces, largement distribués dans différentes régions du monde ( Uniyal, 2018)

### 3 Distribution géographique (Habitat)

La plante de *costus* se trouvent couramment dans les pays suivants : En Inde, Pakistan (plantes, 2011). Cette plante est endémique des régions subalpines du Jammu et Cachemire , de l'Himachal Pradesh et de l'Uttaranchal, à des altitudes de 3200 à 3800 m. La disponibilité de cette plante importante dans la nature. Elle est diminuée de jour en jour en raison de la surexploitation à différentes fins médicinales et commerciales. Inscrite à l'annexe de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (CITES), cette espèce médicinale en danger critique d'extinction est l'une des 37 plantes médicinales menacées de l'Himalaya et a été priorisée pour la conservation in situ et ex situ . ( Pandey et al,2006)



**Figure 01** : Carte montrant la distribution de *S.costus* (les cercles rouges indiquent la distribution de plante (Mshwani et Wali,2017)

### 4 Description Botanique de *S costus*

*lappa* (Decne.) C.B. Plante Clarke *S. lappa* C.B. Clarke , syn. *Yaconaceae* Composite, communément appelée *costus*. C'est une grande herbe vivace, atteignant 1 à 2 m de hauteur la tige est droite, robuste, fibreuse et la racine est une longue branche d'environ 60 cm de long,

avec une odeur particulière. Les feuilles sont lobées, pétiolées, membraneuses, irrégulièrement dentées ; les feuilles supérieures sont petites, les feuilles basilaires sont grandes, les pétioles sont long lobés, ailés, les fleurs sont sessiles, violet foncé à noires, disposées en terminales, axillaires. D'environ 1,7 cm de long, la papaye est duveteuse et plumeuse, ce qui donne au capitule fructifère un aspect particulier. Les fruits de *S.costus* est en forme de coupe, incurvé comprimé et poilu.(Kulsoom *et al*,2014).



**Figure 02:** La partie florale de *Saussurea costus* (Amara *et al* 2017)

## 5 Classification :

**Tableau 01 :** Hiérarchie Taxonomique de *Saussurea costus* .(Kulsoom *et al*,2014).

Règne	Plant
Sous règne	<i>Viridaeplante</i>
Infra-reine	<i>Streptophyta</i>
Division	<i>Trachiophyta</i>
Infra-division	<i>Angiosperme</i>
Class	<i>Magnoliospida</i>
Supe-ordre	<i>Asteranea</i>

Ordre	<i>Asteral</i>
Famille	<i>Asteracea</i>
Genre	<i>Saussurea DC</i>
Espèce	<i>S.Lapp.C.B Clarke</i>

## 6 Composition chimique

Divers composés actifs isolés de la plante *costus* sont signalés comme ont des propriétés médicinales. Les études sur les composants chimiques de *S. Costus* remontent aux années remontent aux années 1950. Jusqu'à présent, de nombreux composés ont été isolés. Ses constituants actifs sont principalement des terpènes, mais elle contient également des anthraquinones, des alcaloïdes et des flavonoïdes, par exemple les principaux composants sont des lactones sesquiterpéniques tels que le costunolide et la lactone dehydrocostus. *S. Costus* possède diverses propriété telles que antifongique, antidiabétique, anthelminitique, antitumoral, antiulcéreux, antimicrobien et les lactone dehydrocostus sont les principaux constituants de *S. costus*. D'autres composés hydrophiles, tels que les phénols, les tanins, les flavonoïdes et les polysaccharides, etc., peuvent être extraits de l'huile traditionnelle. (Sahar .2018)

### a . Les coumarines

Les coumarines sont issues du métabolisme de la phénylalanine via l'acide shikimique par estérification et cyclisation, se formant par une substitution sur un cycle aromatique analogue à celle des dérivés de l'acide cinnamique. (Krief, 2003).

### b. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites les plus distribués dans le règne végétal, formés à partir des acides aminées aromatiques phénylalanines et tyrosine et malonate. Ces composés ont une structure fondamentale (le noyau flavane), qui se compose de 15 atomes de carbone, arrangés en deux noyaux aromatiques A et B liés par un autre noyau hétérocyclique C sous la forme C6-C3-C6 (Krief, 2003).

### c. Les Terpénoïdes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène  $C_5H_8$  et ont pour formule de base des multiples de celle-ci ( $C_5H_8$ ). On peut considérer l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature. (Krief, 2003) .

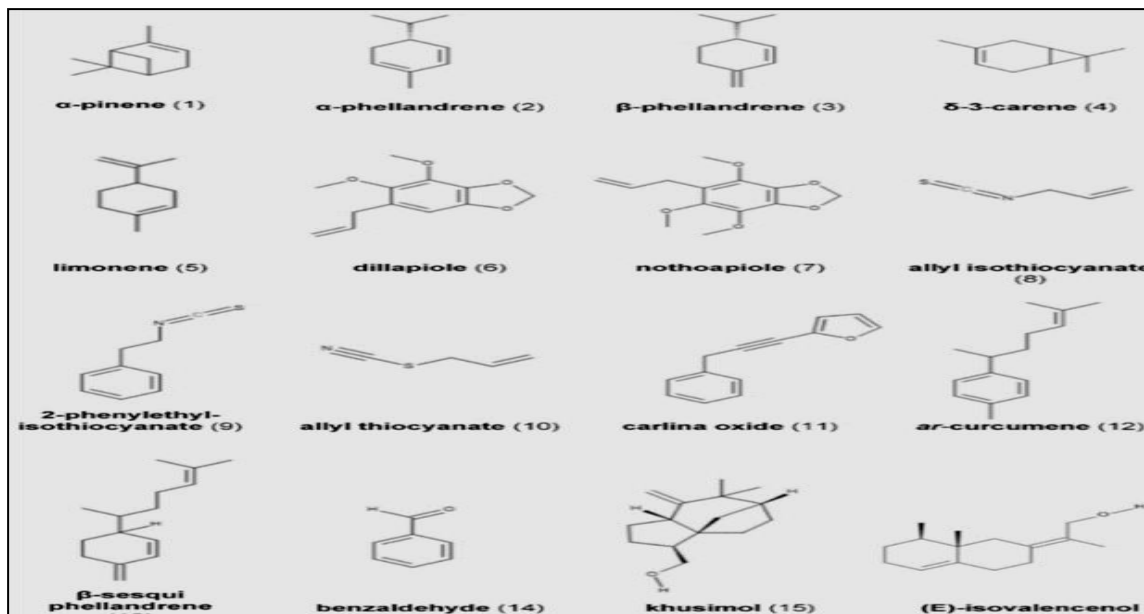


Figure 03 : Structure chimique de constituant principal de racines aromatique

(Lunz et stappen, 2021)

### d. Huile essentielle de racines de *Saussurea costus*

L'huile est l'une des formes posologiques les plus anciennes. Des systèmes médicaux anciens tels que la médecine persane. La médecine persane est un système médicinal important, populaire et établi de longue date, similaire à d'autres systèmes de médecine traditionnelle tels que la médecine chinoise. (Kulsoom *et al*, 2014). L'extrait de la racine de *S. costus* connue sous le nom d'huile de *costus*, elle est utilisée dans la préparation d'huiles capillaires et de parfums de haute qualité. L'huile de *costus*, qui est la couleur jaune pâle à brune, serait également utilisée pour traiter la lèpre.

Cependant, les proportions de tous ces composés variaient considérablement dans d'autres études. Les changements existants dans la composition de l'huile essentielle de *S. costus* peuvent

être dus à divers facteurs liés aux changements d'écotype, de période phénologique, de chémotype et de conditions environnementales, tels que l'humidité relative, la température, la photopériode et l'irradiance. De plus, les propriétés chimiques des métabolites secondaires des plantes sont également affectées par la constitution génétique. (Kulsoom *et al*, 2014)

## 7 Application du *Costus*

La médecine prophétique est l'héritage de notre prophète Mohamed (que la paix soit sur lui), c'est le miracle de la science moderne que nous confirmons aujourd'hui pour donner des résultats précis. Le prophète Mohamed (que la paix soit sur lui), nous a conseillé d'utiliser *Costus* indien comme médicament contre de nombreuses maladies. À travers Le Hadith à Sahih al-Bukhari :

(عليكم بهذا العود الهندي ، فإن فيه سبعة أشفيه : يستعط به العذرة ، ويلد به من ذات الجنب )

رواه البخاري-ص 5692-

**Tableau 02 :** Utilisation ethno médicales du *Costus* (Pandey *et al*, 2006)

Conditions	Mode de candidature
Maux d'estomac	La poudre de racine se prend avec de l'eau. La décoction de racine est prise. La poudre de racine est torréfiée l'huile de moutarde et la pâte est appliquée sur l'estomac
Mal de tête	L'huile chauffée avec la racine est appliquée
Toux et rhume	La poudre de racine se prend avec de l'eau tiède
Infection de la gorge	La racine est mâchée
Maux de dos et douleurs thoraciques	La poudre de racine se prend avec du lait/décoction de poudre de racine. L'huile chauffée à la racine est massé la zone touchée
Rhumatismes et articulations douloureuses	La racine est rôtie dans du ghee/beurre, réduite en poudre et prise avec du lait. Le ghee mentionné ci-dessus / le beurre est frotté sur la zone touchée et bandé pour garder au chaud
Épuisement	Des morceaux de racines sont brûlés dans le narguilé et la fumée inhalée

# **Chapitre 2**

## **Les effets biologiques de** *Soussurea Costus*

## 8 Les effets biologiques

*Costus* est une plante médicinale importante. On dit que divers composés actifs isolés à partir de plantes ont une valeur médicinale, et les principaux composants sont des lactones sesquiterpéniques, telles que le xylolide et la déhydro xylactone d'après Pandey *et al*, (2006). Plusieurs membres du personnel ont signalé différentes activités biologiques du *S.costus* dans divers modèles de test *in vitro* et *in vivo*. *S. costus* est traditionnellement utilisé comme stimulant, antiseptique, carminatif, sédatif, bronchodilatateur et astringent. Des études ont montré l'existence de nombreux antiseptiques, antibactériens, antifongique, antiviral, anti-inflammatoire, antioxydant, anti lipidique peroxydatif, immunostimulant, immunomodulateur, analgésique. Différents extraits de cette plante.

### a. Effet Anti microbienne:

Les effets inhibiteurs des extraits à l'éthanol de *S costus* sur la croissance. La production d'acide et l'adhérence et la synthèse de glucanes insolubles dans l'eau de *streptococcus mutant* sont été examinées à la dose (0,5-4mg/ml) selon Cmm et Sheikuduman (2012). L'extrait à l'éthanol de *S costus* (0,25–4mg/ml) a également réduit de manière significative l'adhérence de *Streptococcus mutants* de manière dose dépendante. Dans le test de synthèse de glucanes insolubles dans l'eau, 2 à 4 mg /ml d'extrait à l'éthanol de *S costus* ont inhibé de manière significative la formation de glucanes insolubles dans l'eau. *S costus* est connu pour avoir des effets thérapeutiques sur les maladies bucco dentaires telles que l'halitose, les caries dentaires et les maladies parodontales. Ces résultats ont fourni des justifications scientifiques pour son utilisation dans le traitement des maladies dentaires et ont suggéré que *S costus* pourrait inhiber les propriétés cariogènes de *Streptococcus* (Pandey *et al*, 2006)

### b. Effet Antifongique

Les extraits ont été testés pour l'activité antifongique en utilisant la méthode de diffusion de puits. À partir de la suspension de spores de champignons testée, ont été étalés sur la Surface de plaques de gélose de dextrose de pomme de terre solidifiée (PDA) à l'aide d'une tige de verre et les plaques ont été laissées sécher avant d'appliquer les extraits. Bien rempli d'extraits testés. Aux concentrations testées ont été dissous séparément dans de Tween 80 et mélangés avec PDA fondant et versés dans une boîte de Pétri. Les plaques solidifiées ont été inoculées au centre avec suspension de spores fongiques Les plaques ont été incubées à 25°C pendant 48h. Le dosage a été

effectué en utilisant la méthode de diffusion en puits sur gélose nutritive. Les micro-organismes testés ont été inoculés dans des tubes de bouillon de soja Trypticase et incubés à 37°C pendant 4 heures. La turbidité de ces cultures a été ajustée en utilisant Mc-Farland. Un tapis bactérien uniforme a été développé par des cotons-tiges stériles à la surface de plaques de gélose nutritive solide. Le perce-bouchon a été utilisé pour faire un puits. Chaque puits a été rempli avec différents volumes de SCE. Ceftriaxone utilisé comme contrôle positif. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24 h. (Deabes *et al*, 2021)

### c. Effet Antioxydant:

Les réactions radicalaire sont omniprésentes chez les êtres vivants et sont impliquée plus ou moins directement dans la reproduction, la modification des gènes et la défense contre les maladies. Des substances antioxydants capables de supprimer les radicaux libres ont été développées et utilisées les antioxydants synthétiques augmentent l'hépatomégalie et la compatibilité microsomale intestinale. Des problèmes d'effets secondaires tels que l'hydro toxicité et la carcinogénèse ont été soulevés. (Cha *et al*, 2008 )

### Autres effets :

#### d. Effet anti-inflammatoires

L'activité anti-inflammatoire des composés phénoliques a été démontrée dans de nombreuses études, Ces substances actives peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire Des études menées sur des extraits tels que Extrait d'éthanol montre une activité anti-inflammatoire aiguë et chronique (Pandey *et al*, 2006). La substance La déshydroxylactone inhibe la production d'oxyde nitrique dans les cellules RAW 264.7 activées par le LPS cellules. L'extrait de Cynaropicrin de *S. costus* *in vitro* s'est révélé puissant effet inhibiteur sur la production de TNF-alpha une cytokine pro-inflammatoire. Cette plante au potentiel de faire partie d'un médicament puissant. Médicaments antiviraux Les propriétés anti-inflammatoires des médicaments peuvent être utilisées pour traiter la COVID-19. La réduction des cytokines inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) (Jubayer *et al*, 2019)



#### e. Effet Anticancéreux

Les principaux composants de *S.costus*, à savoir l'alantolactone, le caryophyllène, l'acide, le costunolide testés et la déhydrocostuslactone, contre k ratinocyteslalign e cellulaire humains ont été de HaCaT. Le costunolide, isolé de la racine de *Saussurea costus*, a été étudié pour son effet sur l'induction (Cmm et Sheikuduman ,2012) de l'apoptose dans les cellules leucémiques humaines HL-60 et ses voies d'action supposées. En utilisant l'analyse de l'apoptose , la mesure des espèces réactives de l'oxygène et l'évaluation des potentiels de membrane mitochondriale, il a été montré que le costunolide est un puissantinducteur de l'apoptose et facilite son activation via la génération de ROS, en induisant ainsi la transition de perméabilité mitochondriale et la libération de cytochrome Caucytosol. La production de ROS, l'altération mitochondriale et la mort cellulaire apoptique subséquente dans les cellules traitée sau costunolide ont été bloquées par l'antioxydant N-acétylcystéine. La cyclosporineA, un inhibiteur de transition de perméabilité, a également inhibé l'apoptose de transition de perméabilité mitochondriale. Les données des résultats ont indiqué que le costunolide induit la transition de perméabilité mitochondriale médiée par les ROS et la libération de cytochrome C qui en résulte. Il s'agit du premier rapport sur le mécanisme de l'effet anticancéreux du costunolide (Cmm et Sheikuduman ,2012)

#### f. Effet hépatoprotecteur

Ont découvert que l'extrait à l'acétone de *S. costus* et le costunolide avaient un effet cholérétique et pouvaient inhiber l'ulcère chez la souris. Le costunolide et la dehydrocostus lactone (isolé de *S.costus*)ont eu peu d'effet sur la viabilité des cellules. Cependant, ils ont montré un effet inhibiteur sur les cellules Hep3B de l'hématome humain sur l'expression de l'antigène de surface de l'hépatite B(HBsAg).Il a été trouvé que ces composés inhibent la production d'AgHBs par les cellules Hep3B avec une IC50 de1,0 et 2,0 mol/L respectivement. Les résultats ont montré que le costunolide et lad hydro costus lactone ont tendance à être développés entant que puissants médicaments anti-VHB à l'avenir. L'extrait aqueux-méthanolique de racines de *Saussurea costus* contre la D-galactosamine et les liposaccharides induit l'hépatite chez la souris. Le prétraitement des souris avec différentes doses d'extrait de *S.costus* (150300et600mg/kg) a empêché de manière significative l'augmentation de l'ALT et de l'AST de manière dose-dépendante.

Ont comparé les effets de l'extrait éthanolique sur Bilan phytochimique et pharmacologique d'une plante ethno-médicinale :*Saussurea costus* flux de bile avant et après la médication chez le rat. Leur résultat a montré que l'extrait éthanolique augmente le flux de bile et a un effet cholérétique. ont examiné les effets de *S.costus* sur le mouvement de la vésicule biliaire et son mécanisme chez le chien. Le résultat a montré que *S.costus* La solution induit la contraction de la vésicule biliaire chez le chien, mais n'affecte pas la cholécystokinine plasmatique. (Asrani et Gautam, 2018)

**Deuxième partie**  
**Analyse expérimentale**

# **Chapitre 3**

## **Matériel et méthodes**

Dans cette partie, nous essayons de montrer certaines activités biologiques de la recherche sur la plante *S. costus* en analysant certains articles dans ce domaine .A travers cette étude, nous avons constaté que la méthode d'échantillonnage dépend de nombreux critères (saison, mois, lieu) et que les échantillons varient entre les poudres et les Huiles, ou les plantes sont utilisées telles quelles. Nous avons noté dans des études antérieures sur la plante *S. costus* qu'il s'agit d'une tige qui peut être complètement séchée (plusieurs Temps) puis broyée, puis stockée dans des conditions adéquates, à l'abri de la lumière et de l'humidité, jusqu'à la fin de l'étude.



**Figure04** : la poudre de Racine de Costus (Site web1) , **Figure 05**: les racines de costus (Site web2)

## 1. Préparation et extraction du matériel

### 1. Macération

Les études d'Abdallah et al (2017) ont été réalisées en suivant la méthode de la macération. Les racines de la plante ont été broyées, une poudre fine a été conservée au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

Par contre Sutar (2011) dans autre étude, les échantillons ont été lavés à l'eau courante du robinet et séparés avant d'être coupés en morceaux. Ils étaient séchés au four à 45°C pendant deux jours et broyé en poudre. La poudre broyée a été extraite avec du méthanol dans un bain-marie à température ambiante pendant 24 h. Le solvant a ensuite été éliminé par filtration et du solvant

frais a été ensuite ajouté au matériel végétal. Le processus d'extraction a été répété deux fois. Les filtrats combinés ont ensuite été évaporé sous pression réduite pour donner un vert foncé masse visqueuse. Cet extrait brut de méthanol a ensuite été extrait avec de l'acétate d'éthyle obtenue à l'aide d'un broyeur mélangeur électrique.

La macération du matériel végétal a été réalisée en mélangeant séparément une poudre fine dans des solvants à 70 % d'éthanol et à 80 % de méthanol. Ensuite, tous les mélanges ont été incubés dans un incubateur à agitation à une température de 40°C, une vitesse d'agitation de 50 tr/min pendant 3 jours maximum dans un récipient sombre bien serré. Après incubation, les mélanges ont été centrifugés à 5000 rpm pendant 15min puis filtrés sur papier filtre Whatman n°1. Les filtrats ont été soumis à l'évaporation des solvants à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir un extrait brut pâteux semi-solide, qui a été séché dans un four à air chaud à 45 °C pendant 48 heures. Les extraits bruts séchés et de l'eau, puis séparés à l'aide d'ampoules à décanter. Ces fractions solubles dans l'acétate d'éthyle ont ensuite été évaporées et ont donné l'extrait d'acétate d'éthyle<sup>1</sup>.6. L'extrait a été stocké à 0-4°C. Cet extrait a été utilisé pour l'administration

## 2. Ultrasons

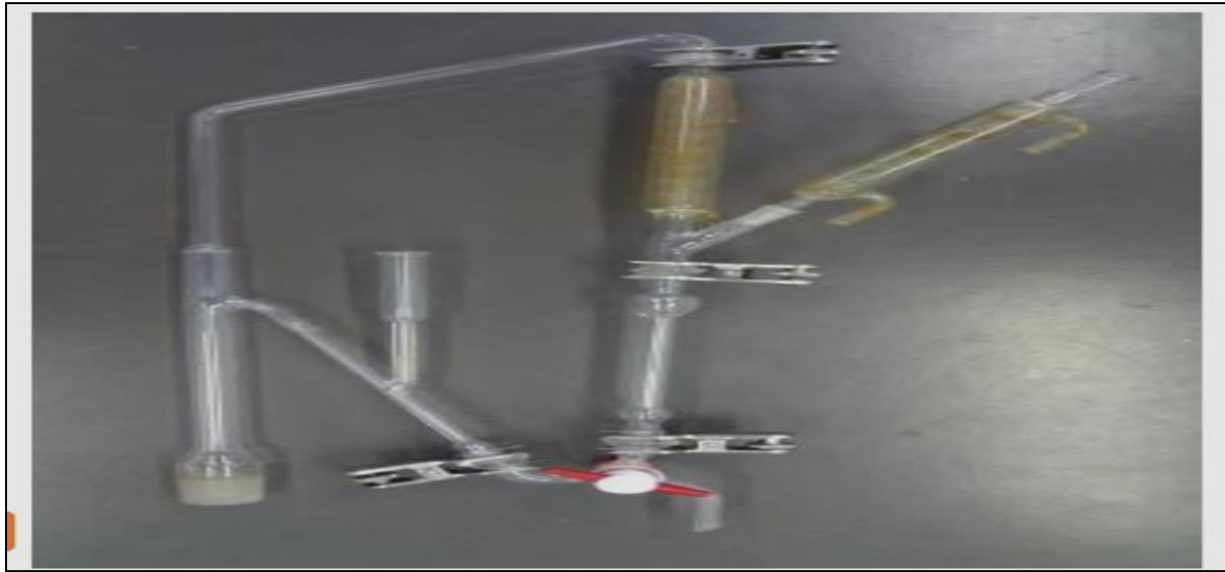
Pour l'étude de Deabes *et al* (2021), l'extraction a été faite par la méthode d'ultrasons (DAIGGER ULTRANIC Model GEX 750, USA) pendant 40 min. Le protocole d'extraction consistait en quelques grammes d'échantillon extrait par équivalent de alcool éthylique 95% puis filtré à travers du papier filtre Whatman n° 1, cette étape a été répétée trois fois et l'extrait d'éthanol combiné a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 45°C jusqu'à innocuité, jusqu'à l'analyse photochimique.

## 3. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est une méthode largement utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. Les matières végétales sont complètement immergées dans de l'eau qui doit être le séparateur d'huiles essentielles le plus couramment utilise (Kenoufi, 2018)

D'après les travaux de Zhao(2014). L'hydrodistillation des huiles essentielles de *S costus* a été réalisée à l'aide d'un appareil de Clavenger. Environ 300 g d'échantillons ont été d'abord savonné dans l'eau pendant une nuit puis coupé en petits morceaux avant distillation. 3L d'eau a

été mis dans le flacon pour se mélanger aux échantillons le processus distillation a duré 3h à trois répétitions



**Figure 06:**Schéma de *S costus*`extraction d'huiles essentielles  
(hydrodistillation Clavenger) (Zhao2014)

#### 4. Soxhlet

L'extraction au Soxhlet a été retenue comme technique d'extraction de certaines plantes car elle favorise l'extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétale (Penchev, 2010). A partir du protocole d'Omer *et al.* (2018). On a mesuré 50 g de poudre de *S. Costus* été soigneusement chargé sur un extracteur Soxhlet et extrait avec 300 ml d'éthanol à 99,9% pendant 3h comme décrit ailleurs. Le solvant a été séparé de l'extrait brut à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60°C pendant 30 minutes, puis l'extrait a été maintenu à température ambiante pour permettre un séchage douce.

## 2. Préparation d'extraits aqueux et méthanoliques à partir de résidus

La méthode de Zhao (2014) de préparation d'extraits aqueux et méthanolique a été réalisée en recueillant des huiles essentielles (ou extraits volatils), en filtrant le mélange de résidus solides et de résidus aqueux. Le résidu solide a été recueilli et séché à environ 60°C en utilisant un séchoir à air, tandis que le résidu liquide a été recueilli et lyophilisé pour obtenir un extrait aqueux. Tous les résidus solides ont été soumis à une extraction Soxhlet en utilisant du méthanol comme solvant pour obtenir des extraits de méthanol.

## 3. Criblage phytochimique de la poudre de *Costus*

Il s'agit d'une analyse qui met en évidence qualitative basée sur des réactions coloration et / ou précipitation d'après Abdallah *et al.* (2017). C'est une technique qui permet de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans une poudre de *S. costus*. L'analyse phytochimique qualitative de poudre de *costus* indique la présence de :

### 3.1 Saponine

un volume de 5 ml d'eau distillée purifiée ont été prélevés dans un tube à essai, suivis de l'ajout de 1 ml d'extrait méthanolique et l'ensemble du mélange a été bien agité. La formation d'un effet récence continue a été observée (Abdallah *et al.*, 2017)

### 3.2 Coumarine

Pour réaliser le test de présence des métabolites secondaires d'après la méthode de Abdallah *et al.* (2017). En mesurant 1 ml d'extrait méthanolique a été mélangé avec 1 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 10%. La formation d'une coloration jaune a été observée pour un test positif

### 3.3 Flavonoïdes +

Après la méthode de Abdallah *et al.* (2017). En mesurant un volume de 1 ml d'extrait méthanolique a été ajouté à 1 ml d'une solution d'acétate de plomb à 10%. La formation d'un précipité de couleur jaune a été observée pour un test positif. Par contre Premalatha (2020) à utiliser le protocole suivant : à 1 ml de fraction riche en flavonoïdes, on a ajouté 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> à 2



% et on a incubé à température ambiante pendant 15 min. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 430 nm

### **3.4 Polyphénols**

1 ml d'extrait méthanolique a été ajouté dans 0,5 ml d'une solution de chlorure ferrique éthanolique à 10 % . La formation d'une coloration bleu-vert bleu foncé a été observée pour un test positif.(Abdallah *et al*,2017)

### **3.5 Huile volatile**

En mélangeons deux volumes l'un de 0,5 ml d'hydroxyde de sodium dilué et l'autre de 0,5 ml d'acide chlorhydrique dilué ont été ajoutés à 2 ml d'extrait méthanolique et bien mélangés. La formation d'un précipité blanc a été observée pour un test positif. (Abdallah *et al*,2017) .

### **3.6 Terpénoïdes**

A partir de la méthode de Abdallah *et al*(2017) . En mesurons 2,5 ml d'extrait méthanolique ont été mélangés avec 1 mL de chloroforme puis 1,5 mL d'une solution concentrée d'acide sulfurique ont été ajoutés. La formation d'une couleur brun rougeâtre à l'interface a été observée pour un test positif.

### **3.7 Tanin**

On a ajouté 2 à 3 gouttes d'une solution d'acétate de plomb à 1 % à 1 ml d'extrait méthanolique. La formation d'une coloration bleu foncé ou gris verdâtre a été observée pour un test positif (Abdallah *et al*,2017)

## **4 Analyse de Dosage des teneurs phénoliques totales (TPC)**

Le dosage Folin-Ciocalteu est un dosage largement utilisé pour déterminer la teneur phénolique totale (TPC) en échantillons La teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait dans ce travail sera déterminé selon une méthode colorimétrique ment avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalte .( Premalatha,2020) brièvement 0,2 ml d'extrait de flavonoïde et 0,2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu ont été ajoutés et mélangés vigoureusement. Après agitation pendant 4 minutes, 1 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 15 % a été ajouté, et

finalement le mélange a été laissé au repos pendant 2 heures à température ambiante. (Zhao,2014) des solutions d'acide gallique avec des concentrations connues (0, 0,025, 0,05, 0,1, 0,2, 0,25 mg/mL) ont été utilisé pour l'étalonnage. Le TPC dans l'extrait a été exprimé en mg d'équivalents d'acide gallique (GAE)g d'extrait. 100µL de solution d'extrait ont été mélangés avec 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu(10µ%), suivi de l'ajout de 400µL d'eau déminéralisée et de 1 µmL de sodium à 7,5µ% solution carbonatée. La solution mélangée a ensuite été placée dans le thermostat pendant 30 min à 40°C .l'absorption a été lue après 30 min à 765 nm sur le Spectrophotomètre UV1800

Par la méthode de Deabes *et al* (2021) La séparation a été réalisée à l'aide d'une colonne Eclipse C18 (4,6 mm x 250 mm di, 5 µm). La phase mobile était de l'eau (A) et de l'acide trifluoroacétique à 0,05 % dans de l'acétonitrile (B) à un débit de 1 ml/min. La phase mobile a été programmée consécutivement dans un gradient comme suit : 0 min (82 % A) ; 0-5 min (80 % A) ; 5-8 min (60 % A) ; 8-12 min (60 % A) ; 12-15 min (85 % A) et 15-16 min (82 % A). Le détecteur multi-longueurs d'onde a été contrôlée à 280 nm. La température de la colonne a été maintenue à 35°C.

## 5 Identification des Constituants chimiques par GC-MS des extraits de S Costus

Analyses par spectrométrie de masse par chromatographie en phase gazeuse .La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la technique la mieux adaptée à l'analyse des huiles essentielles. C'est une méthode basée sur le principe de la chromatographie de partage qui permet la séparation composés à état gazeux suivant leur coefficient de partage entre une phase stationnaire liquide. La CPG permet à la fois une analyse qualitative et quantitative. L'inconvénient majeur de cette méthode provient de la nécessité de vaporiser les produits, ce qui peut entraîner des modifications structurales (Kenoufi, 2018)

Pour l'évaluation qualitative et quantitative des composants de poudre costus et d'huile essentielle de méthanol et des extraits aqueux des racines de S. Costus L'analyse par la Chromatographie en Phase Gazeuse de Masse (GC-MS) a été réalisée avec un appareil Agilent Technologies connecté au système Mass (Agilent, USA) avec une colonne de silice fondue DB-5 (30 m x 0,25 mm di, épaisseur de film 0,25 µm). La température du four a été maintenue à 50°C pendant 5 min et portée à 280°C à une vitesse de 10°C/min. L'hélium a été utilisé comme gaz

porteur à un débit de 1 mL/min. Les températures de l'injecteur et du détecteur étaient de 280 °C. La température de la source d'ions était de 150 °C et la plage de masse de balayage de m / z était de 50 à 550. Les composés ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec les bibliothèques Wiley et des indices de rétention avec ceux rapportés dans la littérature

## Activité antimicrobienne

### a. Détermination de L'activité antibactérienne

Dans l'ensemble des études, nous avons observé que presque toutes les étapes de l'essai de l'activité antibactérienne sont similaires. La différence réside dans le choix des bactéries et milieu de culture. Comme le montre le tableau suivant :

**Tableau03.** Le tableau montre les points de différence entre les différents travaux sur l'effet antimicrobien d'huile essentielle de *Saussurea costus* .

Référence	Souches bactériennes	Principe
(Abdallah et al,2017)	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcusepidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>  <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Streptococcus pneumonia</i> , <i>Escherichia coli</i> ,  <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> <i>,Pseu domonas</i>  <i>aeruginosa</i> ,  <i>Shigella fl exneri</i> ,  <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Les souches bactériennes ont été préparées dans un milieu de culture approprié et adaptées aux normes .Des souches microbiennes a été ajustées au standard McFarland, puis 100 µl de chaque souche microbienne ont été déposés sur des plaques de gélose Mueller-Hin ,Dans boîtes de Pétri stériles (90 mm), Des puits ont été percés dans la gélose qui a rempli par 500 mg/ml de extrait .les extraits ont été préalablement reconstitués dans du diméthyl-sulfoxyde (DMSO) à ont été incubées à 35°C pendant 24 h

(Deabes et al,2021)	<p><i>Bctéries Gram (+ve)</i></p> <p><i>Bacillus cereus ,</i> <i>Staphylococcus aureus et</i> <i>Staphylococcus sciuri</i></p> <p><i>quatre bactéries</i></p> <p><i>Bactéries Gram (-ve);</i></p> <p><i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>et Salmonella entrica.</i></p>	<p>diffusion en puits a été utilisée. des microorganismes ont été inoculés dans des tubes de bouillon de soja Trypticase et incubés à 37oC pendant 4 h. en utilisant 0,5 Mc-Farland.on a tapé les Bactéries uniforme sur la surface plaques de gélose nutritive solide Chaque puits a été rempli avec différents volumes de SCE (10, 20 et 50 µl). Ceftriaxone (1,0 mg/ml) utilisé comme contrôle positif. Les plaques ont été incubées à 37oC pendant 24 heures</p>
( Omer et al , 2018)	<p><i>S. aureus</i></p> <p><i>Salmonella sp.</i></p>	<p>par diffusion en puits a été utilisée. En bref, des plaques MHA ont été découpées pour former quatre puits Des suspensions bactériennes de 18 heures d'incubation ont été initialement étalées de manière homogène sur des plaques MHA et trois concentrations différentes de 50µ%, 100µ% et 200µ% d'extraits d'éthanol ou d'eau à 40µmg/ml ont été utilisées pour remplir le puits avec 50µl/puits de chaque concentration. et les plaques ont ensuite été maintenues à température ambiante pendant 2h pour diffuser complètement avant d'être incubées à 37°C pendant 18 h</p>
(Premalatha ,2020)	<p><i>Xanthomonasoryzae pv.</i> <i>Oryzae Mt Erwinia</i> <i>chrysanthemi</i></p> <p><i>Pseudomonas</i> <i>fuscovaginae MT,</i></p>	<p>Souches bactériennes ont été sous-cultivées sur un milieu gélosé nutritif, méthode de diffusion sur disque Des boîtes de pétri ont été préparées avec 20 ml de gélose nutritive stérile. cultures testées ont été tamponnées au-dessus de milieu et lésée sèche 10min Le test a été effectué dans quatre concentrations différentes de la fraction riche en flavonoïdes (5, 10, 15 et 20µl/ml) , du papier filtre</p>

		Whatman n° 1 a été utilisé pour préparer les disques) Les disques chargés ont été placés à la surface du milieu et incubés à température ambiante pendant 24H
--	--	---

### b. Lecture des résultats

À l'aide d'une règle de mesurer de diamètre des zones d'inhibition autour des puits chargés des extraits ont été réalisé les résultats exprimés selon trois niveaux Activité

- **IZ = 6 mm** : signifie qu'il n'y a pas d'activité antimicrobienne
- **6 < IZ < 10** : une faible activité antimicrobienne
- **IZ ~ 10 mm à 12 mm** : signifie qu'il y a une activité antimicrobienne modérée
- **IZ > 12 mm** : perceptible ou une bonne activité antimicrobienne

### c. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La méthode de dilution en tube a été utilisée pour la détermination de la CMI. culture des pathogènes bactériens testé pare la recherche de Deabes et *al*(2021) . Un test de sensibilité en bouillon de micro dilution pour les bactéries a été utilisé, comme recommandé par Eloff,. Tous les tests ont été effectués dans du bouillon Mueller Hinton (MHB) additionné de détergent Tween 80 (concentration finale de 0,5 %, v/v) pour améliorer la solubilité dans l'huile par l'étude de Premalatha(2020) turbidité du bouillon et la concentration la plus faible inhibe la croissance de l'organisme d'essai a été prise comme concentration minimale inhibitrice (CMI) (Deabes et *al* ,2021).

Selon la recherche de Premalatha(2020). Tous les tests ont été effectués dans du bouillon Mueller Hinton. Les souches bactériennes ont été cultivées pendant une nuit à 37°C dans du MHB pour donner une densité finale de  $5 \times 10^5$  UFC/MI. Etcelles-ci ont été confirmées par des comptages viables. Des dilutions géométriques allant de 5 µmg/mL à 20 µg/mL de l'extrait d'acétate d'éthyle de *S costus* ont été préparées dans une plaque de microtitration de 96 puits, comprenant un contrôle de croissance (MHB + Tween 80) et un contrôle de stérilité (MHB +

Tween 80 + extrait). Les plaques ont été incubées dans des conditions atmosphériques normales à 37 °C pendant 24h pour les bactéries.

La croissance bactérienne a été indiquée par la présence d'un blanc "pellet" sur le fond du puits.

#### d. DOSAGE CMI

Préparation des dilutions : Microdulation selon Abdallah et *al* (2017)

**Tableau 04:** la méthode de préparation des dilutions

Tube	1	2	3	4	5	6
Concentration de extrait (mg/ml)	200	100	50	25	12,5	6.25
Concentration de souche bactérienne (µl)	100	100	100	100	100	100
bouillon Mueller-Hinto (ml)	1	1	1	1	1	1

Préparation du tube témoin

Dans le Protocole de Abdallah et *al* (2017) deux tubes supplémentaires ont :

- Témoins positif

Tube contenant 1 ml de chloramphénicol à 5 mg/ml pour servir de témoin positif

- témoin négatif

Tube contenant 1 ml de DMSO à 10 %

- ❖ Après la préparation, les tubes ont été agités doucement et placés dans l'incubateur à 35°C pendant 24 heures pour les bactéries.
- ❖ La concentration la plus faible (dilution la plus élevée) de l'extrait qui n'a montré aucune croissance microbienne visible (aucune turbidité) par rapport aux tubes témoins a été considérée comme CMI.

### Activité antifongique

Le dosage de l'extrait d'éthanol de *S. Costus*

**Tableau05 :** Le tableau montre les points de différence entre les différents travaux sur l'effet antifongiques d'huile essentiel de *Saussurea costus*

Référence	Souches bactériennes	Dosage antifongique
(Deabes et al,2021)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A parasiticus</i> <i>A.carbonarius</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Fusarium verticillioides</i> <i>F. proliferatum</i>	Cultivé dans plaque de gélose de dextrose de pomme de terre ont été incubées à 28°C pendant 24 à 48 heures
(Siddig et al ,2019)	<i>Aspergillus niger</i> <i>Candida albicans</i>	Par La méthode de diffusion sur disque de papier . Les souches fongiques a été cultivé dans le milieu de gélose Mueller Hinton (MHA).Les plaques inoculées ont été incubées à 37°C pendant 24h en position inversée

### 1 DOSAGE CMI et CMF de L'activité antifongique

La CMI contre les champignons a été déterminée dans l'étude qui fait par Deabes et al (2021) dans l'extrait de *S. costus* ont été dissous séparément dans 0,5 ml de Tween 80 à 0,1 % et mélangés avec 9,5 ml de PDA et versés dans une boîte de Pétri (6 cm) après la solidifie de plaque on a inoculées au centre avec 3 µl de suspension de spores fongiques (108 UFC ml<sup>-1</sup> ; 0,5 normes McFarland). Les plaques ont été incubées à 25°C pendant 48h .

- Après l'incubation, la croissance mycélienne a été surveillée et la CMI a été déterminée

D'après les études qui font par Abdallah et al (2017). La concentration fongicide minimale (CMF) ont été évaluées par la sous-culture de la dilution d'essai sur des plaques nonensemencées de gélose Mueller Hinton pour les bactéries ou de gélose Sabouraud dextrose pour les champignons, incubées pendant 48 h pour les champignons. La dilution la plus élevée qui n'a révélé aucune colonie bactérienne unique sur les plaques a été prise comme CMF.

## **Activité antioxydant**

### **A. Évaluation de la capacité antioxydant des extraits aqueux, méthanolique**

#### **1. piégeage des radicaux DPPH**

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (capteur de proton) est un radical libre, stable au cours du temps et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydant d'un composé, le radical DPPH en solution est coloré en violet (Agouazi 2021)

Les expériences de Zhao (2014) ont été réalisées en utilisant la microplaque. Lorsque le DPPH réagit avec un composé antioxydant, il donne un atome d'hydrogène et il est réduit. Les changements de couleur du violet foncé au clair pour l'extrait méthanolique jaune ont été mesurés à 515 nm.

#### **1.1 Préparation de solution mère de DPPH pour l'extrait aqueux**

Une solution de 10 mg/ml a été préparée de dissolvant 10 mg d'extrait dans 1 mL de solution méthanol/eau (50 % v/v). Pour accélérer la dissociation on mette dans un ultrason pendant 10 min

- Préparation de dilutions

Les extraits de la plantes les plus efficaces ont été dilué 2, 4 et 8 fois (5 mg/ml, 2,5 mg/ml et 1,25 mg/ml, respectivement

- Avant les mesures des résultats ont a Prenez 2ml de solution est été ajoutées et mélangez avec 50µl de solution d'extrait. Cette mélange (solution + solutions d'extrait) a été placée dans obscurité pendant 30 min, a été lue à 515 nm sur l'UV-vis spectrophotomètre (UV-1800, SHIMADZU).

- Chaque teste a été répété trois fois et à température ambiante en 30 min.



## 1.2 Préparation de solution mère de DPPH pour l'extrait méthanolique

Une solution de 10 mg/ml a été préparée : dissolvant 50 mg de extrait dans 5,00 ml de méthanol, les solutions ont été traitées dans un bain à ultrasons pendant 10 min et centrifugé, les surnageant ont ensuite été analysés.

- Préparation de dilutions

Les extraits ont été dilués 2 et 4 fois (5 mg/ml et 2,5 mg/ml respectivement)

- Avant les mesures sur une plaque de 96 puits

Prenez 320  $\mu$ l de cette solution ont été mélangés avec 8  $\mu$ l de solution d'extrait. 320  $\mu$ l de La solution DPPH a été mélangée avec 8  $\mu$ L de méthanol .320  $\mu$ l de méthanol ont été utilisés comme blanc

- Chaque test a été répété quatre fois

## 1.5 Activité de piégeage radicalaire d'extrait aqueux et méthanolique

(RSA) a été calculé par la formule suivante

$$\% \text{ d'inhibition} = [(AB-AA)/AB] \times 100$$

**AB** = absorbance de la solution DPPH (t = 30 min)

**AA** = absorbance de l'extrait testé solution (t = 30min).

Les solutions de méthanol de Trolox avec des concentrations connues allant de 100 à 750  $\mu$ mol/l ont été utilisées pour l'étalonnage.

### B. Détermination de l'activité antioxydant par le test ABTS

D'après le protocole de Premalatha (2020) pour déterminer l'activité antioxydant de *costus* par le test ABTS.

- Essai de piégeage des radicaux ABTS (acide 2,2'-azino-bis-3-éthyl benzthiazoline-6-sulfonique)
- Préparations de solution mère d'ABTS

En ajoutant 5 ml de solution de persulfate de potassium 4,9 mM à 5 ml de solution ABTS 14 mM et incubé dans l'obscurité à 16 h. Cette solution a été diluée avec de l'eau distillée pour donner une absorbance de 0,70 à 734 nm et la même a été utilisée pour le dosage antioxydant.

- Préparation de groupe standard

Le mélange réactionnel final du groupe standard a été complété à 1 ml avec 950 µl de solution ABTS 50 µl d'acide ascorbique.

- Préparation de la solution de groupe test,

Pour réaliser la préparation de solution de groupe teste d'après la méthode de Premalatha (2020). En mesurons 1 ml de mélange réactionnel comprenait 950 µl de solution d'ABTS et 50 µl de concentration différente de fraction riche en flavonoïdes.

A la fin de préparation du mélange réactionnel a été vortexé pendant 10 s et après 6 min, l'absorbance a été enregistrée à 734 nm contre de l'eau distillée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis Deep Vision (1371) et comparée à la solution ABTS témoin. L'acide ascorbique a été utilisé comme composé antioxydant de référence.

Expression des résultats

Le pourcentage de (ABTS %) est calculé par la formule suivante :

### **Effet de piégeage**

$$\text{ABTS (\%)} = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$$

**ABTS %** = Taux de ABTS (acide 2,2'-azino-bis-3-éthyl benzthiazoline-6-sulfonique)

**A0** = l'absorbance de la réaction témoin

**A1** = l'absorbance de la fraction riche en flavonoïdes.

### **C. Test de décoloration cationique radicalaire ABTS•+**

D'après le protocole de Zhao (2014) pour déterminer l'activité antioxydant de costus par le test ABTS

- Préparation de la solution PBS

Fondre des quantités de 8,18 g de NaCl, 0,27 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> • 12 H<sub>2</sub>O, 3,58 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et 0,15 g de KCl dans 1 L d'eau déionisée. La valeur pH de PBS a été déterminée et ajustée à 7,4.

- Préparations de la solution mère d'ABTS (2,13 mM)

Dissoudre 0,0549 g d'ABTS dans 50 ml de PBS

Pour préparer une solution de 70,29 mM de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>. Le cation radical ABTS a été produit en faisant réagir 50ml de solution mère ABTS avec 200 µl de solution K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> et laisser reposer le mélange

Dans l'obscurité à température ambiante pendant 15-16 h avant utilisation

- Pour l'évaluation de l'extrait ABTS on a dilué par PBS

Sur une plaque 96 puits, 300 µl de solution ABTS ont été mélangés avec 5 µl

- solution a été mélangée avec 5µL de solution PBS

- Expression des résultats

Le pourcentage de (RSA%) Activité de piégeage radicalaire est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(AB-AA)/AB] \times 100$$

**AB** = absorbance de la solution ABTS•+ (t = 30 min)

**AA** = absorbance de l'extrait testé

PBS de Trolox avec des concentrations connues allant de 100 à 1500 µmol/l

#### D. Inhibition de l'activité de peroxydation lipidique

Par la méthode Premalatha (2020) La peroxydation lipidique induite par le système Fe<sup>2+</sup> + ascarbate dans le jaune d'œuf, a été estimée en tant que substances réagissant à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

- Préparation de mélange réactionnel

Dans un volume final de 0,5 ml. On a ajouté 0,1 ml de jaune d'œuf (25 % p/v) dans du tampon Tris-HCl (20 mM, pH 7,0), KCl (30 mM)

FeSO<sub>4</sub> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O (0,06 mM) et diverses concentrations d'extrait d'acétate d'éthyle. Le mélange réactionnel a été incubé à 37°C pendant 1 heure.

#### Après incubation

Un volume de 0,4 ml (mélange réactionnel) + 0,2 ml de dodécylsulfate de sodium (SDS) (1,1 %) + 1,5 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) (0,8%) + 1,5 ml d'acide acétique (20 %, pH 3,5) + eau distillée complète au volume total 0,4 ml

- Après la préparation de ce mélange puis maintenu dans un bain-marie à 95 à 100°C pendant 1 heure
- Après le refroidissement de mélange réactionnel on a ajouté à ce mélange 1,0 ml d'eau distillée et 5,0 ml d'un mélange de n-butanol et de pyridine (15:1 v/v) et centrifugés à 4000 tr/min pendant 10 min

Absorbance a été mesurée à 532 nm dans Deep Vision (1371) UV-Vis Spectrophotometer) pour quantifier le TBARS

- Expression de résultats

$$1 - (E/C) \times 100$$

**C** = la valeur d'absorbance du contrôle entièrement oxydé et

**E** = l'absorbance de l'échantillon de test (Abs<sub>532+TBA</sub> - Abs<sub>532+</sub> à déterminer)

L'acide ascorbique a été utilisé comme standard. L'inhibition de la peroxydation lipidique (%) par l'extrait

### E. Dosage du pouvoir réducteur/antioxydant ferrique (FRAP)

La capacité des extraits de plantes à réduire les ions ferriques (Channi, 2016) en ions ferreux, les tests de réduction du fer/puissance antioxydant (FRAP) ont été effectués selon la méthode de test pour l'adéquation des microplaques Absorber à 593 nm (Tianming, 2014)

- Préparation des solutions

**Tableau 06:** préparation de la solution dosage du pouvoir réducteur/antioxydant ferrique (FRAP)

Solution	Mode de préparation
solution tampon acétate (300 mmol/L, pH 3,6)	dissolvant 0,9344 g de CH <sub>3</sub> COONa et 8 ml d'acide acétique dans 500 ml d'eau déminéralisée
solution TPTZ (10mmol/L)	ont été obtenus par dissolution de 0,3123 g de TPTZ dans 100 mL de solution HCl (40 mmol/L).
solution ferrique (2mmol/L)	dissolvant 0,5406 g de FeCl <sub>3</sub> •6H <sub>2</sub> O dans 100 ml d'eau déminéralisée
Solution réactif FRAP	mélangeant 50 mL de tampon acétate, 5 mL de solution TPTZ et 5 mL Solution de FeCl <sub>3</sub> •6H <sub>2</sub> O

- Les solutions aqueuses d'ions ferreux et solutions de Trolox ont été utilisés pour l'étalonnage

Effectuer le test FRAP à l'aide d'un lecteur de microplaques, puis chauffer le réactif FRAP à 37°C dans une plaque 96 puits. Bien empiler avec les solutions suivantes 10µl ferreux, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchromane-2-solution d'acide carboxylique), la solution d'échantillon et le méthanol ont été utilisés comme blancs, respectivement. Ensuite, ajoutez 30 µl d'eau pour déminéralisée à tous les puits de test, suivis de 300 µl de réactif FRAP.

- Chaque test a été répété qu

# **Chapitre 4**

## **Résultats et discussion**

## 1 Analyse d'huile essentielle

### 2 Rendements d'extraction d'huile essentielle ou extrait

L'huile Obtenu par Zhao (2014) à partir d'extraction des racines de *Saussurea costus* était de couleur jaune. Le rendement en huile essentielle obtenue par hydrodistillation à partir des racines de *S costus* étaient de 0,23% .

D'après l'étude de Siddig *et al* (2019). Diverses propriétés physicochimiques de l'huile essentielle ont été déterminées et les valeurs obtenues sont résumées dans le (Tab07). Elle a été obtenue sous la forme d'un liquide jaune rougeâtre avec un bon rendement de 12 g (3%) .

**Tableau 07:** Propriétés physicochimiques de l'huile essentielle de racine de *Saussurea costus*

Paramètre	Valeur	Référence
Rendement	3 %	(Siddig <i>et al</i> ,2019)
Densité spécifique	0,0479	
Indice de réfraction	15.5	
Couleur	Jaune rougeâtre	
Indice d'acide (mg KOH/g)	19.63 : 5	
Numéro de saponification	130.4007	
Valeur d'ester	110.8172	
Indice de peroxyde	2,5	
Flavonoïde	+ ++	
Rendement	0,23 %	
Couleur	Jaune	

Selon les résultats obtenus nous avons remarqué que le rendement des extractions de *costus* par méthode de distillation à la vapeur est supérieur à celui obtenu par extraction au hydrodistillation. Ce s'explique le choix de méthode d'extraction, D'autre côté et d'après les résultats de Zhao (2014), les constituant phytochimiques d'extraction à la hydrodistillation des racines de *costus* . Cette différence peut expliquer par la différence des méthodes d'extraction à extraire plus grande rendement des constituants chimiques.

### 3 Criblage phytochimique

Des tests de caractérisation photochimique réalisés sur de la poudre de racine de *S. Costus* ont révélé la présence de plusieurs substances actives, les quelles nous avons rapprochons. Les résultats du criblage phytochimique des articles que nous avons analysés ont montré que la racine de *S. Costus* est riche en déverses composants (alcaloïdes, flavonoïdes...).

De plus Abdallah *et al*(2017) a identifié et isolé des nombreuses molécules bioactives de *S. costus*, les tests ont été positifs pour les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes, les stéroïdes diverses activités biologiques sont attribuées à l'abondance de composés photochimiques. Ces molécules sont responsables des activités antibactériennes, antifongiques et antiappétantes. En résumé que la poudre *Costus* présente une richesse en composants bioactifs. (**Tab8**)

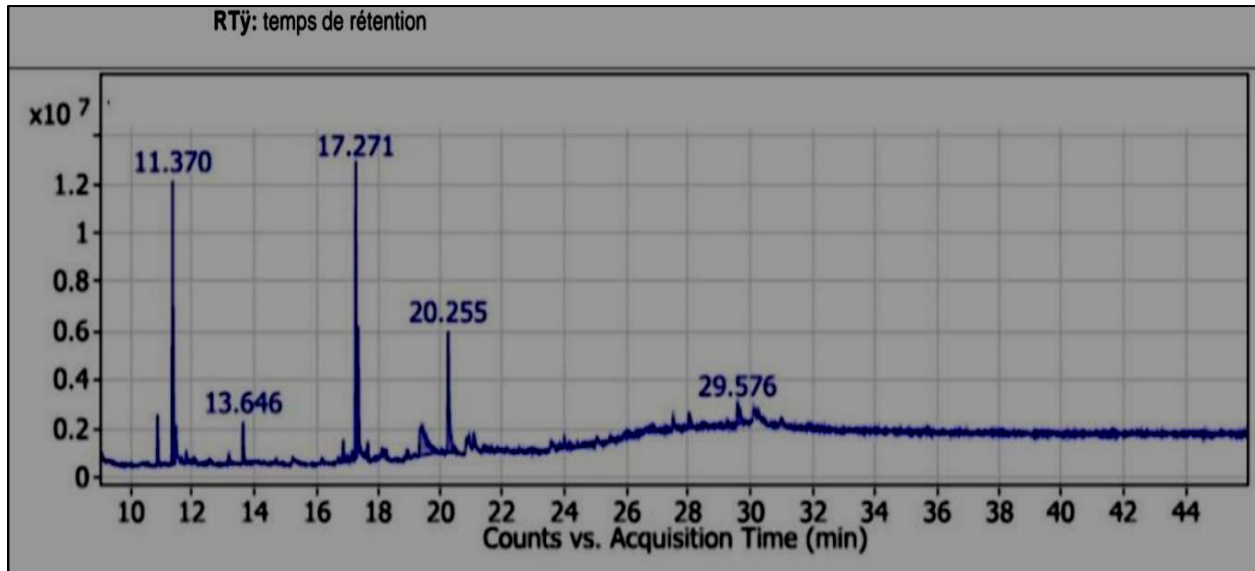
Dans l'étude de Omer *et al* (2018) *S. costus* a été étudié comme une plante médicinale bien connue largement utilisée en médecine traditionnelle sous forme entière, de rhizome ou de racine, et l'analyse GC/MS à donnée 18 compose dans l'extraits aqueux et 37 compose dans l'extraits éthanoliques. Les composés isolés dans l'extrait aqueux sont : les costunolides, les lactones déhydrocostus, la cynaropicrine, une lactone sesquiterpénique comme composant principal (39,59%), l'extrait éthanolique est riche en : Cyclodécacyclotétradécène, 14,15-didéhydro comme composant majeur.

Son étude révèle que les composés cyclodécacyclotétradécène, 14,15-didéhydroxy avec les sesquiterpénoïdes, s'est avéré être dominants dans l'extraits aqueux (61,69%). 2(3H)-benzofuranone, 6-éthénylhexahydro-6-méthylène-7- appelé lactone déshydroyacon, La structure moléculaire et la concentration élevée de (C<sub>15</sub>H<sub>2</sub>) dans les extraits aqueux sont plus similaires au composé costunolide. Ce composé, en combinaison avec le constunolide (C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>),

Selon Zhao (2014), la composition chimique des huiles essentielles extraites de racines séchées de *costus* récoltées dans la région Chongqing (Chine). Des composés phenoliques ont été identifiés, représentant 64,7% de l'huile essentielle totale. Le déhydrocostunolide (28,9%), l'hexadécatrienal (9,2%) et l'ÿ-costol (7,4%) se sont révélés être les principaux composants. En plus du déhydrocostunolide, l'huile de *S. costus* contient également des niveaux élevés d'autres lactones sesquiterpéniques telles que les mélanges A, B, C, D, E, F, G.



Dans une autre étude Deabes *et al*(2021) a montré que l'analyse GC-MS de l'extrait d'acétate d'éthyle de *S. costus* obtenues ont indiqué la présence de 14 composés a enregistré le pourcentage le plus élevé de 20,4% de l'acide butanedioïque suivi de l'acide caféique et ont constaté que l'acide n-hexadécanoïque était le constituant principal de toutes les huiles essentielles examinées et d'autres acides gras, d'hydrocarbures et de mono-, di- et sesquiterpènes. (Fig7)



**Figure07** : Les composés chimiques de *S. costus* par extrait d'acétate d'éthyle

Identifiés par GC-MS (Deabe *et al*,2021)

**Tableau 08:** Analyse phytochimique des racines de *Saussurea costus* selon (Abdallah et al,2017)

Constituants phytochimiques	Résultats des tests	Réaction
Alcaloïdes	+	Non définie
Glycosides cardiaques	+	Non définie
Coumarine	+	La formation d'une coloration jaune a été observée pour un test positif
Flavonoïdes	+	La formation d'un précipité de couleur jaune a été observée pour un test positif.
Phenol / polyphénols	+	La formation d'un précipité blanc a été observée pour un test positif
Stéroïdes	+	Non définie
Tanin	+	La formation d'une coloration bleu foncé ou gris verdâtre a été observée pour un test positif
Terpénoïdes	+	La formation d'une couleur brun rougeâtre à l'interface a été observée pour un test positif.
Acide carboxylique	-	-
Saponines	-	-
Huile volatil	-	-

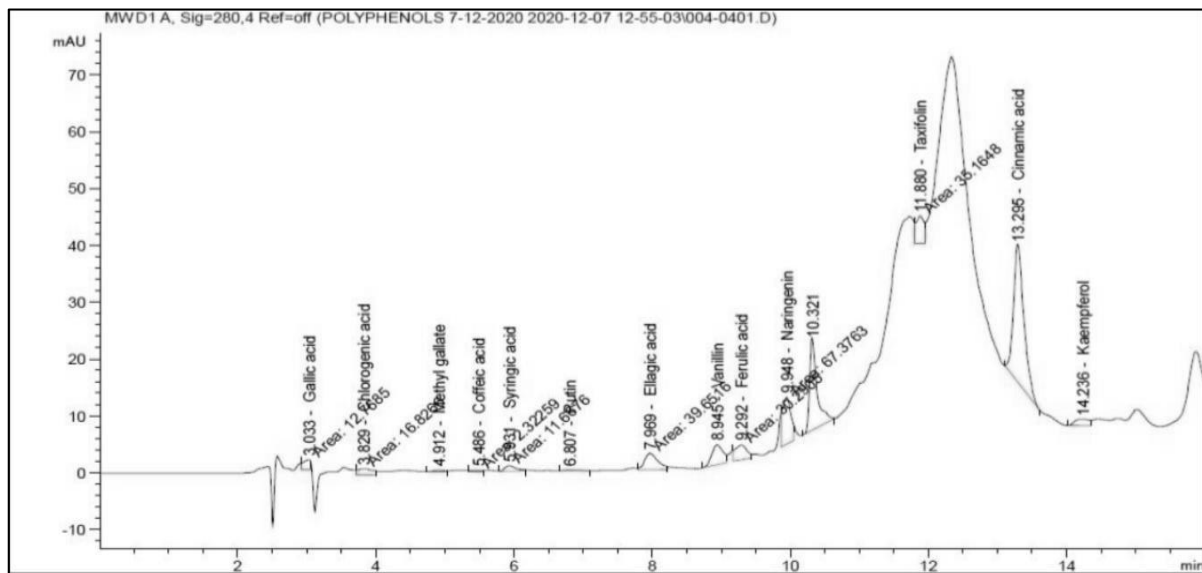
(+) Un test positif

(-) Un test négatif

#### 4 Composés phénoliques :

Les résultats ont montré que les composés phénoliques étaient détectés dans tous les extraits de *S. costus* avec différents niveaux de concentration. D'après Deabes et al (2021), pour l'extrait d'éthanol et acétate d'éthyle, la teneur en polyphénols était plus élevée, présentée par la naringénine, de l'acide chlorogénique, de l'acide férulique, de l'acide ellagique, de l'acide gallique et de l'acide caféique. Par rapport aux extraits éthanoliques contenant une grande quantité de composés phénoliques. que extraits à l'acétone et aqueux, Comme- l'acide férulique (23,46 ppm), de la coumarine (25,63 ppm) et du phloroglucinol (1,151 ppm).**(Fig8)**

L'analyse de l'étude menée par Premalatha en 2020 sur un extrait d'acétate d'éthyle par GC-MS montre l'existence des : flavonoïdes, terpènes, alcaloïdes, stéroïdiens, anthraquinones, coumarines et des tanins pour la racine de *costus*. La teneur en pourcentage d'acide phénolique brut avait la plus forte activité antioxydant, et l'extrait d'acétate d'éthyle a montré de différents composés de phénols. De plus, des nombreux dérivés du groupe hydroxyle phénolique et acide cinnamique ont été reconnus comme antioxydants étaient censées avoir plusieurs effets sur la santé avantages en raison de leurs fortes propriétés de piégeage des radicaux libres. **(Tab9)**



**Figure 08:** Chromatogramme HPLC du profil des composés phénoliques de l'extrait de *S. costus* (Deabes et al,2021)

**Tableau09** Analyse de l'extrait d'acétate d'éthyle par GCMS (Premalatha ,2020)

Composés	Temps de rétention (min)	Poids moléculaire	Principaux pics
Acide pentadécanoïque, 14-méthyl-, ester méthylique 3	17,2 17,8 18,35	270	269, 226, 184
Méthylène-4-phényltricyclo Tricyclo[7.2.2.0(3,8)]tridéc-12	19,65 18,9	224	251, 209, 180
ène-2-one, 5,6-époxy-4-méthyl TricyclododéccarboxyéthoxyBenzamide, 2-		218	251, 227, 209
amino-5-hydroxy Acide eicosatétraénoïque Acide hexadéc-9-énoïque		273	259, 241, 222
Tétratriacontane		228	259, 227, 209
	20,48	304	253, 238, 224
	22,37	254	255, 218, 194
	22,67	478	308, 294, 266
8-Octadécenal	25.03	266	251, 218, 178
Heptacosane	25.53	380	379, 336, 280

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

**Tableau10** : Composés chimiques identifiés dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *S. costus* par analyse GC-MS (Deabes *et al*,2021)

Composés	Formule	Somme de la Zone %
Glycérol, dérivé du 3TMS	C12H32O3Si3	2,80
Acide butanedioïque, dérivé du 2TMS	C10H22O4Si2	20,4
Acide 2-butènedioïque (E)-, ester de bis(triméthylsilyle)	C10H20O4Si2	1,14
Acide 2hydroxycyclohexane-1-carboxylique, di-TMS	C13H28O3Si2	0,96
Acide malique, dérivé du 3TMS	C13H30O5Si3	3,16
Acide 9,12,15-octadécatriénoïque, 2-[(triméthylsilyl)oxy]-1-triméthylsilyl)oxy]m	C27H52O4Si2	2.11
D-(-)-Fructofuranose, pentakis(triméthylsilyl)éther (isomère 1)	C21H52O6Si5	18,4
L-(-)-Sorbofuranose, pentakis(triméthylsilyl)éther	C21H52O6Si5	11,4
D-érythro-pentofuranose, 2-désoxy-1,3,5-tris-O-(triméthylsilyl)	C14H34O4Si3	1,08
Doconexent	C22H32O2	1,34
Androstan-17-one, 3-ethyl-3-hydroxy-, (5.alpha.)-Acide	C21H34O2	16,5
caféique, dérivé 3TMS	C18H32O4Si3	14,4
1,4-Bis(triméthylsilyl)benzene	C12H22Si2	2.29
BENZENE, 1,4-BIS(TRIMETHYLSILYL)-	C12H22Si2	3,99

## Activité antimicrobienne

### 1 Evaluation de l'activité antimicrobienne

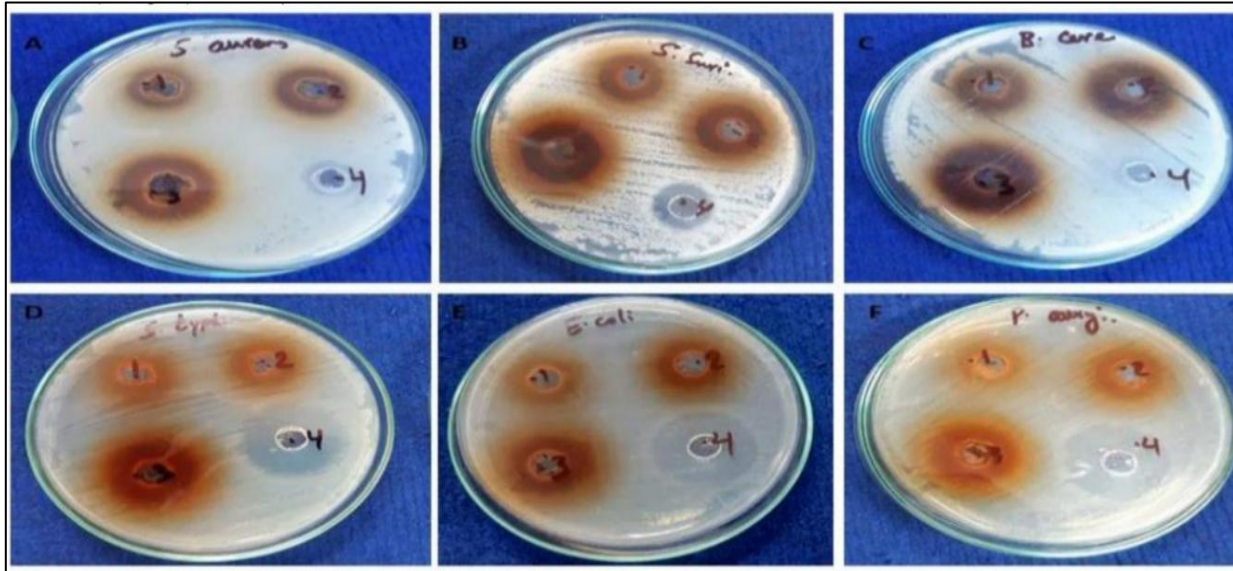
D'après l'analyse des études effectuées sur les huiles essentielles de *Saussurea costus*, on a constaté que malgré la diversité des méthodes, des pays et des souches et leurs sources. Tous les chercheurs ont montré une réduction de la zone d'inhibition avec l'augmentation de diamètre de zones en extrait de *S. costus*.

D'après l'étude d'Abdallah *et al.* (2017), sur l'efficacité antibactérienne des extraits éthanolique et méthanolique. Les extraits de *S. costus* ont montré des effets présentés par une plus grande sensibilité des bactéries Gram-positives *Bacillus Creus* avec des diamètres de la zone d'inhibition ( $16,0 \pm 0,0$ ,  $15,5 \pm 0,5$  mm), *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* ( $14,5 \pm 0,0$ ,  $15,5 \pm 0,5$  mm), ( $13,5 \pm 0,5$ ,  $15,5 \pm 0,5$  mm), ( $11,0 \pm 0,0$ ,  $11,5 \pm 0,5$  mm) respectivement.

Tandis que *S. pneumoniae* a une très faible sensibilité aux extraits de méthanol et d'éthanol avec un diamètre de  $6,5 \pm 0,5$  mm ( $11\text{mm} < \text{IZ} > 15$  mm)

Les bactéries Gram-négatives, en revanche, ont montré peu ou pas de sensibilité à *Pseudomonas aeruginosa* et *Proteus vulgaris*, avec des diamètres allant de  $7,5$  mm  $< \text{IZ} > 9,5$  mm aux extraits de méthanol et d'éthanol, respectivement. Alors que *Klebsiella pneumonia* et *Shigella flexneri* n'ont révélé aucune sensibilité à l'extrait testé.

Les résultats d'activité antibactérienne selon Deabes *et al.* (2021), ont montré que l'activité antibactérienne de *S. costus* était augmentée en augmentant le volume de SCE à une concentration de 50 mg/ml, et la zone d'inhibition contre les bactéries testées était dans la gamme de *S. typhi* et *Staph* avec des zones d'inhibition allant de 13mm à 23mm. Les bactéries Gram (+ve) se sont avérées plus sensibles aux SCE que les bactéries Gram (-ve), Parmi les souches bactériennes examinées, *Staph. aureus* était le plus sensible avec une zone d'inhibition atteignant 23 mm. Dans le même ordre d'idées, *S.typhi* s'est avéré être le plus résistant au SCE (Fig9)



**Figure 09:** Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique (50 mg/ml) en utilisant la méthode de diffusion de puits remplis de différents volumes 1 (10 µl), 2 (20 µl), 3 (50 µl) et 4 contrôle positif 10 µl. (Deabes *et al*, 2021)

D'autre côté Omer *et al* (2018) ont également rapporté une activité antibactérienne d'extraits éthanoliques et aqueux de *S. costus* contre *Staphylococcus aureus* (G+ve) et *Salmonella* (G-ve). Les extraits d'éthanol et aqueux ont montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, alors que aucun effet antibactérien n'a été observé contre *Salmonella*. L'azithromycine a été utilisée comme contrôle positif. Ces résultats obtenus peuvent être dus à une résistance aux agents antibactériens présents chez *S. costus*.

**Tableau 11** : Les activités antibactériennes des extraits à l'éthanol de racines de *S.costus* contre *S. aureus* et *Salmonella sp.* À différentes concentrations (Omer *et al.*, 2018)

	Main Inhibition		Zone Diamètre (IZ) mm	
	Extrait Ethanol		Extrait Aqueux	
Concentration des extraits	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella sp</i>
50	18	0	0	0
100	20	0	14	0
200	20	0	15	0
Azithromycin	20	12	20	12

D'après Premalatha (2020) qui a démontré une activité antibactérienne de *S costus* contre les souches bactériennes testées. Cet extrait a montré la plus grande activité contre *Xanthomonas. Oryzae, chrysanthemi* et *Pseudomonas fuscovaginae* avaient IZ = (17,6 et 16,4 mm), respectivement, tandis que l'activité contre *Erwinia chrysanthemum* était la plus faible avec IZ = (15,1 mm).

## Discussion

Par analyse de l'ensemble des résultats d'études et des travaux utilisant des méthodes et des protocoles de culture cellulaire pour déterminer le CMI des souches bactériennes et l'activité antibactérienne d'extraits de *S. costus*. Les résultats montrent clairement que cette plante est riche en composants bioactifs avec des effets antibactériens importants dans les extraits d'éthanol, de méthanol et aqueux.

Les résultats de Deabes *et al.* (2021) , suggèrent que les bactéries Gram (+ve) ont tendance à être plus sensibles que les bactéries Gram (-ve). Cependant, les activités antibactériennes d'extraits de différents coûts contre des bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Sheigilla*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Salmonella* ont été rapportées. Avec différentes concentrations contre les bactéries Gram (+ve) et Gram (-ve) et a révélé que *Pseudomonas aeruginosa* s'est avéré plus sensible à tous les extraits chauds à l'éthanol allant de IZ (12 mm à 24 mm). qui ont conclu que l'extrait aqueux froid et

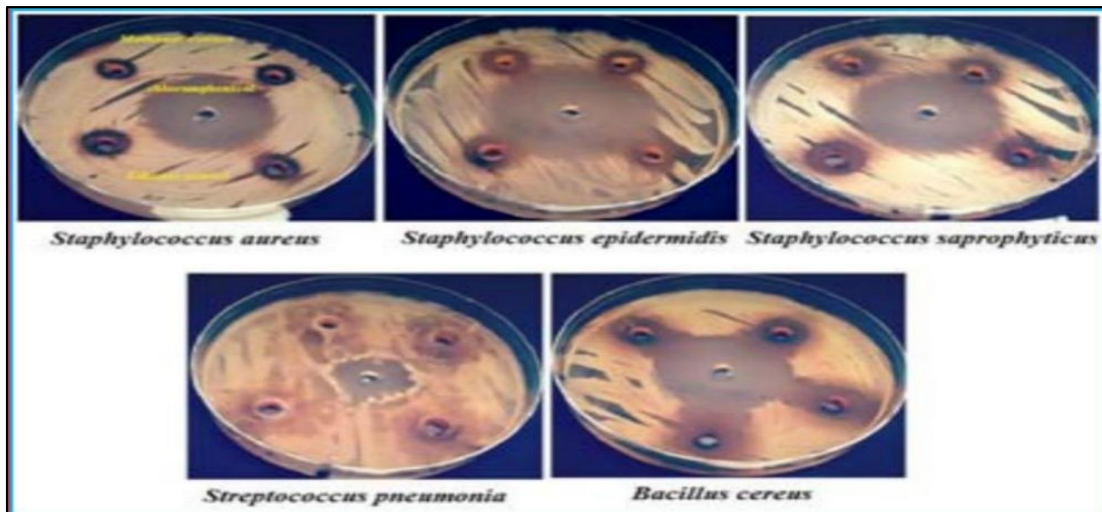


chaud de *Costus* a une activité antibactérienne contre cinq agents pathogènes avec l'organisme le plus sensible à *Pseudomonas aeruginosa*.

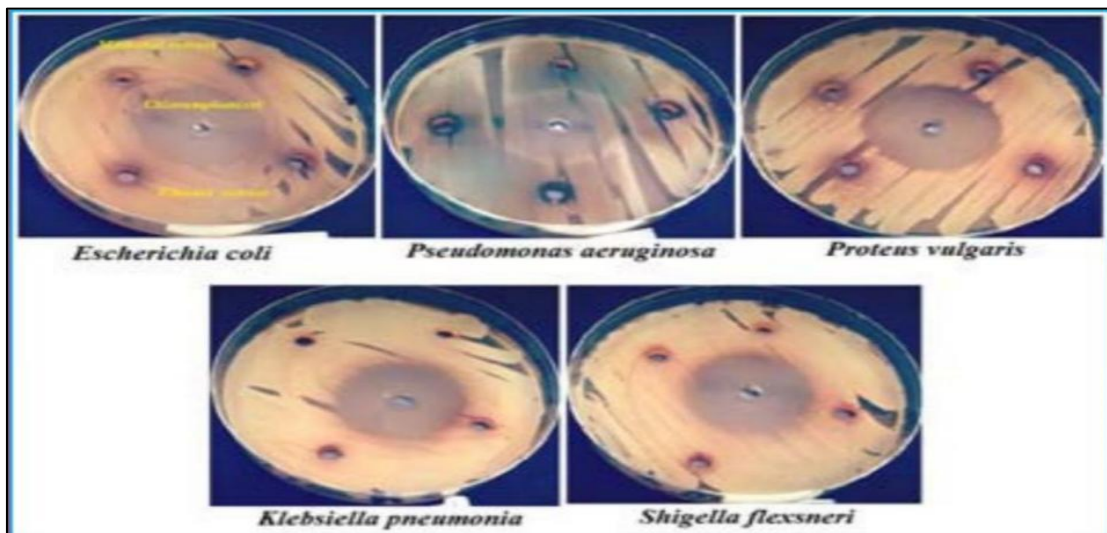
Les études d'Abdallah *et al* (2017) et Omer *et al* (2018), montrent que les extraits (éthanoliques et aqueux) de racine de *costus* avaient une activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes, et la capacité antibactérienne des extraits pouvait être attribuée à la présence de composants à activité antibactérienne trouvés dans les parties non polaires du matériel végétal.

L'huile essentielle de *S. costus* a été mentionnée comme ayant le meilleur effet antibactérien par rapport à l'extrait méthanolique (Abdallah *et al*, 2017). De plus, l'extrait de rhizome de *S. costus* a montré une activité antibactérienne en présence de G(-) et (+) diosgénine, un composé stéroïde biologiquement actif, la sapogénine (C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>). En plus de la présence des composés Bufa-20,22-diénone, 14,15-époxy-3,11-dihydroxy et Cholest-7-ène-3-ol, 4-méthyl-, (3.β., 4.α.). Cependant, certains isolats ont montré une résistance à ces composés et à des composés similaires.

Les extraits d'éthanol se sont révélés efficaces contre *Streptococcus mutans*, responsable des caries, en réduisant l'adhésion microbienne et en inhibant la production d'acide. L'abondance de composés bioactifs est attribuée à l'extrait éthanolique. Andrographolide Acide 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaénoïque, esterméthylique Ester méthylé d'isostéviol sont connus pour leurs activités médicinales potentielles, qui n'ont été trouvées que dans les extraits éthanoliques, tandis que les souches de *S. aureus* se sont révélées plus sensibles à l'andrographolide, l'andrographolide.



**Figure10 :** Sensibilité des bactéries gram-positives aux extraits de méthanol et d'éthanol de racines de *S. costus* par rapport au chloramphénicol Abdallah *et al.* (2017)



**Figure11 :** Sensibilité des bactéries gram-négatives aux extraits de méthanol et d'éthanol de racines de *S. costus* par rapport au chloramphénicol Abdallah *et al.* (2017)

Les études de Premalatha (2020) indiquent que l'huile aromatique de *costus* inhibe la croissance de certaines bactéries G(+) et G(-). En tant qu'ingrédient principal, les sesquiterpénoïdes se sont révélés particulièrement efficaces contre certaines souches bactériennes.

## 2 CMI /CMB

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'extrait qui inhibe complètement la croissance microbienne en 24 heures.

Selon Abdallah *et al.*(2017), l'activité bactériostatique de l'extrait de méthanol contre *Staphylococcus saprophyticus* , *Staphylococcus epidermidis* , *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* était de 50, 50, 100 et 100 mg/ml, respectivement . L'activité bactéricide était de 100, 200, 200, 200 mg/ ml. De plus, les concentrations bactériostatiques de l'extrait éthanolique contre *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus luteus* et *Staphylococcus aureus* étaient respectivement de 50, 50, 50 et 50 mg/ml, contre l'activité bactéricide à concentration de 100, 100, 100, 100 mg/ml, pour les mêmes souches. De plus, les extraits méthanolique et éthanolique étaient bactériostatiques et bactéricides pour *Aspergillus niger* à 50 mg/ml.

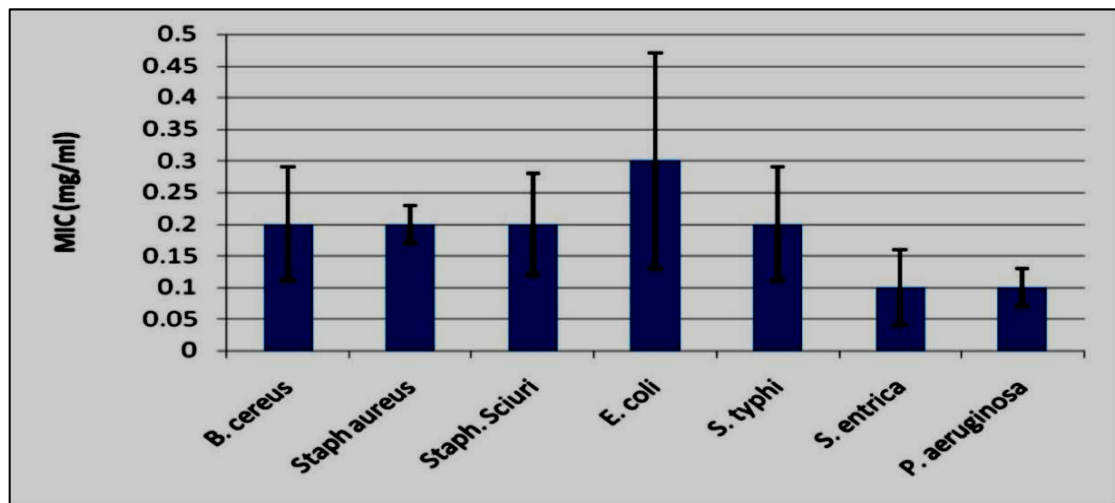
Les valeurs CMB/CMI des souches étaient comprises entre 2 et 4. Lorsque le rapport CMB/CMI était égal à 4, les extraits végétaux avaient des effets bactéricides, et lorsque les rapports CMB/CMI étaient supérieurs à 4, les extraits végétaux avaient effets bactériostatiques. Par conséquent, les racines de *S. costus* peuvent posséder de nouveaux agents antibactériens naturels, et l'isolement de ces nouvelles molécules bioactives naturelles est nécessaire.

**Tableau12** : CMI et CMB des extraits méthanolique et éthanolique des racines de *S. costus*Abdallah *et al.* (2017)

	CMI mg/ml	CMI mg/ml	MBC mg/ml	MBC mg/ml
Souches bactériennes	MeOH	EtOH	MeOH	EtOH
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	50	50	100	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50	50	200	100
<i>Bacillus cereus</i>	100	50	200	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	550	200	100

MeOH = extrait au méthanol, EtOH = extrait à l'éthanol

D'après d'autres études de Deabes *et al.* (2021) la CMI est définie comme la plus faible concentration d'extrait qui inhibe complètement la croissance microbienne en 24 heures. La plus faible concentration inhibitrice (CMI) de l'extrait de *S. costus* contre différentes bactéries a enregistré l'activité la plus élevée de l'extrait de *S. costus* contre *E. coli* avec une valeur de CMI de 0,3 mg/ml, cependant, la CMI la plus basse (0,08) a été observée contre *P. ugnosa* mg/ml, la détermination de la CMI par extrait à l'éthanol de *S. costus* qui variait entre 2 et 8 µg/ ml de *S.costus* extrait à l'éthanol comme effet antibactérien sur *Helicobacter pylor*.

**Figure 12:** Concentrations minimales inhibitrices de SCE pour les bactériestestées ( Deabes *et al.*,2021)

## Activité antioxydante

### 1 Évaluation de la capacité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique

#### 1.1 De piégeage des radicaux DPPH

D'après Zhao (2014), l'activité antioxydant de *Saussure costus* a été largement étudiée. Plusieurs auteurs ont utilisé différentes méthodes via le test de piégeage des radicaux libres DPPH et le test de Folin-Ciocalteu . Le test de piégeage des radicaux libres DPPH est la méthode la plus simple et la moins chère pour évaluer la capacité antioxydant.

Les AOC des extraits aqueux et de méthanol ont été évaluées par un test de piégeage des radicaux DPPH, a été obtenu par des méthodes conventionnelles utilisant des cuvettes et un spectrophotomètre UV-Vis. En effet, il y avait une différence entre les valeurs d'AOC, l'extrait aqueuse ayant une capacité antioxydant plus élevée que l'extrait au méthanol.

**Tableau13 :** Les valeurs de DPPH des extraits aqueux et méthanolique ( Zhao .2014)

Plante	Partie de plante	Extrait aqueux ( $\mu\text{mol}$ )	Extrait méthanolique ( $\mu\text{mol}$ )
<i>Sousourea costus</i>	Racine	47,85 $\pm$ 0,49	29,74 $\pm$ 2,63

#### 1.2 Capacité de piégeage des radicaux libres à l'aide du test ABTS

La détermination de la capacité de piégeage des radicaux libres avec l'ABTS Pour l'étude de Premalatha (2020) , le pourcentage moyen d'inhibition de l'activité des radicaux libres de l'ABTS ont été mesuré et il a été constaté que la valeur de piégeage des radicaux libres était supérieure à celle de l'acide ascorbique pur acide. Cependant, l'accord entre ces dosages dans notre étude peut suggérer que ces activités sont principalement dues aux composés phénoliques. Bien que ces composants n'aient pas été étudiés, leur contribution aux propriétés antioxydants/éliminatrices de radicaux de l'urine de chèvre dans ces études est probablement très faible. Les dosages d'antioxydants sont basés sur des réactions de transfert d'électrons, tandis que les dosages ABTS sont basés sur le transfert d'électrons et d'atomes H.

Les résultats d'étude des tests de décoloration radicalaire des cations ABTS ont. Également exprimés en  $\mu\text{mol}$  Trolox Equivalents (ET)/g d'extrait végétal. L'extrait de résidu de racine de *costus* était le moins efficace en AOC (155,71  $\mu\text{mol}$  TE/g d'extrait).

### 1.3 Inhibition de l'activité de peroxydation lipidique de l'acétate d'éthyle

Premalatha (2020) ,ont travaillé sur l'extrait de racine de *S.costus* acétate d'éthyle qui inhibe également la peroxydation lipidique induite par le sulfate ferreux dans l'homogénat de jaune d'œuf. La plus grande inhibition (76,34%) a été enregistrée pour l'extrait d'acétate d'éthyle de *S.costus* , tandis que le pourcentage d'inhibition le plus faible par l'acide ascorbique a été trouvé dans 68,34% . Comme il a été établi que la peroxydation lipidique est le résultat final de toute attaque de radicaux libres sur les membranes et autres composants lipidiques présents dans le système, la peroxydation lipidique peut être enzymatique (Fe/NADPH) ou non enzymatique (Fe/NADPH) acide ascorbique. Dans cette étude, le jaune d'œuf a été utilisé comme substrat pour la peroxydation lipidique médiée par les radicaux libres, une méthode non enzymatique. En général, le mécanisme d'action antioxydant des composés phénoliques consiste à neutraliser les radicaux libres lipidiques et la prévention décomposition des hydro peroxydes en radicaux libres.

### 1.4 Pouvoir réducteur/antioxydant ferrique (FRAP)

Pour Zhao (2014) .La capacité réductrice/antioxydant dans le test FRAP est exprimée en équivalents  $\text{Fe}^{2+}$  (FE) et en équivalents Trolox (TE). Les deux expressions donnent des valeurs de FRAP différentes, mais presque la même tendance pour l'AOC des échantillons. Il existe une forte corrélation entre les valeurs FRAP-FE et les valeurs FRAP-TE ( $r=0,9989$ ). Ceci est cohérent avec les résultats du test DPPH. Cependant, dans le test FRAP de l'extrait de résidu de *S.costus*, sa valeur FRAP (extrait de 561,85  $\mu\text{mol}$  TE/g) est plus de 5 fois supérieure au coût de l'extrait de résidu de *S.costus* (103,79  $\mu\text{mol}$  TE/g d'extrait).Pour le test FRAP, une forte corrélation a été trouvée entre les valeurs TPC et AOC de 0,8036 et 0,7974 pour FRAP-FE et FRAP-TE respectivement.

### Activité antifongique

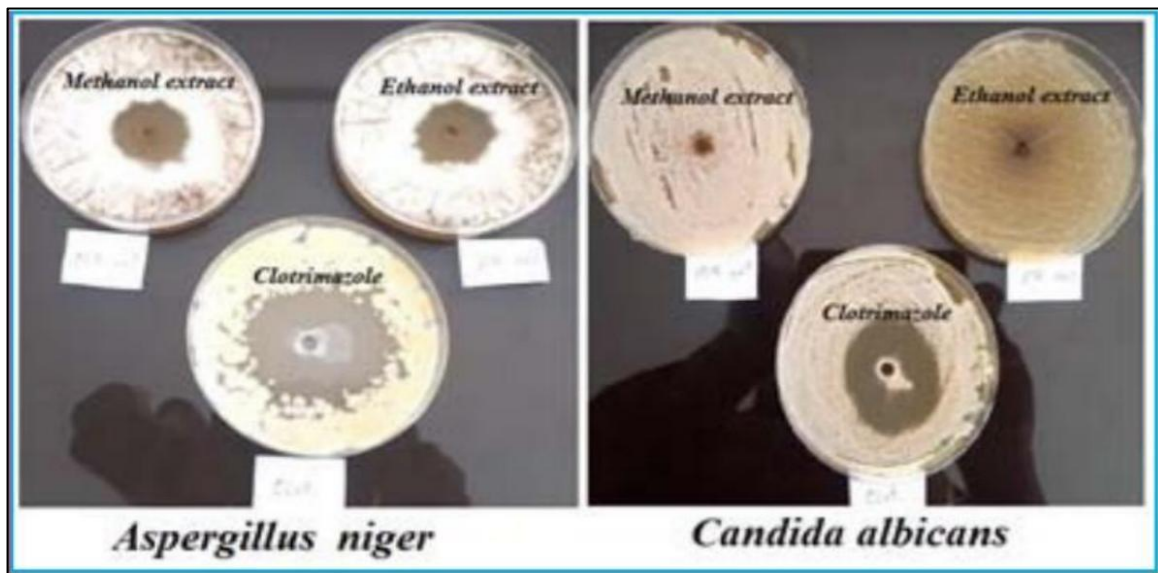
Selon l'étude de Deabes *et al.*(2021), représente l'activité antifongique du SCE ont révélé que l'augmentation de l'activité antifongique en augmentant le volume d'extrait dans le puits. la concentration de 50 µl indiquait que les zones d'inhibition les plus élevées étaient de 15,5 mm à 22,5 mm pour *P. verecossium* et *A. ochraceous*, respectivement. *A. ochraceous* semble être plus sensible à toutes les concentrations d'extraits que les autres champignons, avec des zones d'inhibition allant de 12,5 mm à 22,5 mm, suivi par *A. parasiticus* (11,0 mm à 16,5 mm), augmentant les volumes de 10 à 50 litres.

Parmi les champignons testés avec une zone d'inhibition de 10,5 mm à 15 mm, *Penicillium mucortis* s'est avéré le plus résistant à l'extraction. La concentration a été augmentée de 10 µl à 50 ul. La zone d'inhibition de 50 µl d'extrait est proche de celle de 10 µl d'antifongique Miconazol 1mg/ml. La plage d'inhibition de *F. proliferitum* et *A. parasiticus* était de 19,0 mm à 31,5 mm, respectivement. Le SCE à une activité inhibitrice contre différents champignons Les herbes sont les plus anciennes et les plus expérimentées des différents types.

**Tableau 14:** Activités antifongiques de SCE contre les espèces fongiques testées. (Moyenne ± ET) Zones d'inhibition en mm (moyenne ± SD) (Deabes *et al.*,2021).

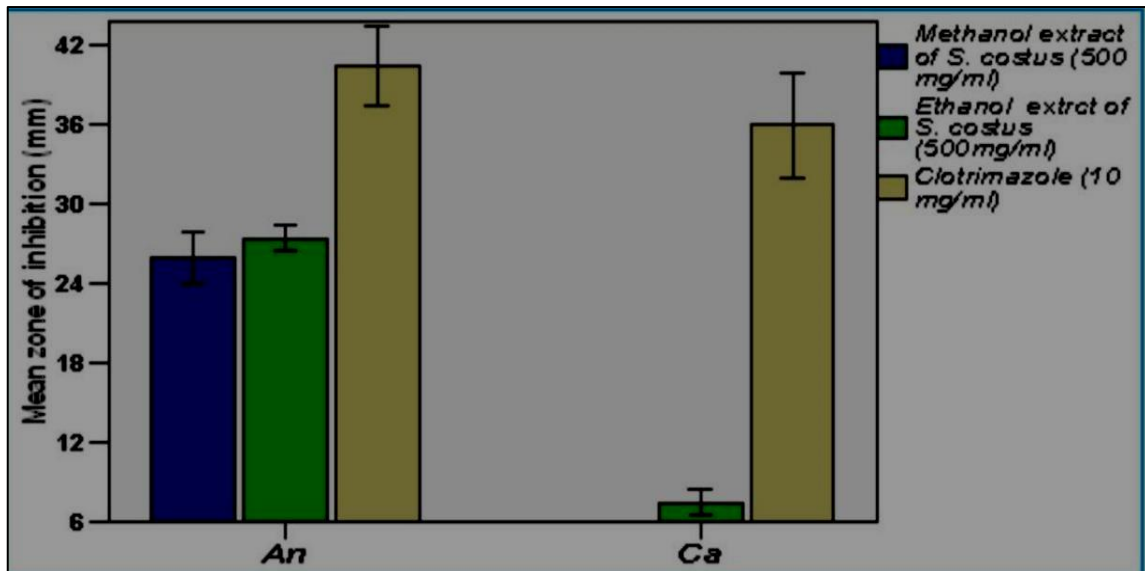
Volume Testé	<i>A. flavus</i>	<i>A. carboné</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. ocre</i>	<i>P. verecossium</i>	<i>F. proliferitum</i>
10 µl	9.5±0.71d	10,5±0,71d	9.5±0.71c	11.0±1.41c	12,5±0,71c	10.5±0.71c	9.5±0.71d
20 µl	11,5±0,71c	13±0.00c	12.0±0.00c	13,5±0,71bc	19,0±1,41b	12.0±0.00c	12.0±0.00c
50 µl	16,5±0,71b	17±1.4b	17.0±1.41b	16,5±0,71b	22,5±0,71ab	15,5±0,71b	16,5±0,71b
Miconazol 1mg/ml 10 µl)	28±0.00a	30,5±0,71a	29,0±1,4a	31,5±2,1a	26,0±2,8a	25,5±0,7a	19.0±1.4a

Dans une autre étude Abdallah *et al.* (2017), *S. costus* a montré un niveau remarquablement élevé d'activité antifongique contre *Aspergillus niger* et une faible action contre *C. albicans*, *S. costus* a une bonne résistance contre l'activité fongique de *C. albicans*. Cette contradiction est liée au solvant utilisé dans l'extrait, car la fraction éther présente une bonne activité fongicide contre *Candida albicans*. Ces antibiotiques référencés existent sous forme pure, alors que si les substances biologiquement actives des composés sont isolées et extraites, les extraits ont été étudiés sous forme brute



**Figure13 :** Sensibilité des souches fongiques aux extraits méthanoliques et éthanolique de racines de *S. costus* par rapport au clotrimazole (Abdallah *et al*,2017)



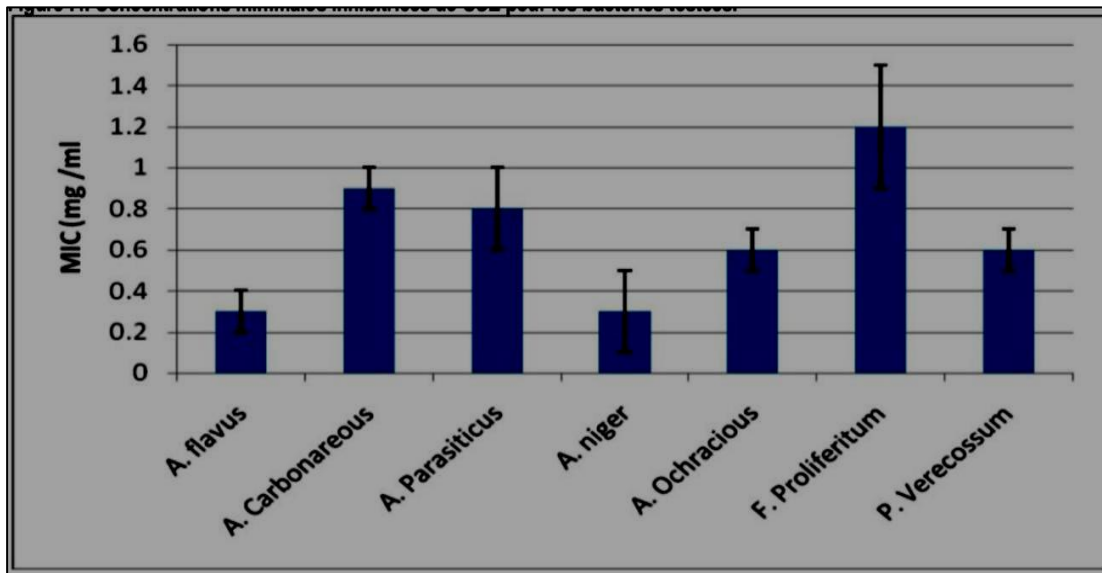


**Figure14** : Zone moyenne d'inhibitions de différentes souches fongiques en raison de l'effet d'extraits méthanolique et éthanoliques de *S. Costus* par rapport au clotrimazole **An**=*Aspergillus niger*, **Ca**=*Candida albicans* (Abdallah et al,2017)

### 1 Valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) d extraits de costus

Selon les travaux de Deabes *et al.* (2021) que montrent les valeurs CMI de SCE contre différents champignons testés. L'activité la plus élevée a été enregistrée contre *F. proliferatum* (1,17 mg/ml) suivi de *A.carbonaceous* (0,92 mg/ml). La CMI la plus basse a été enregistrée contre *A. flavus* 0,25 mg/ml et *A.niger* 0,32 mg/ml. L'impact des composés poly phénoliques qui peuvent agir sur la membrane cytoplasmique et modifier à la fois la structure et la fonction des micro-organismes. En conséquence, les bactéries perdent l'intégrité structurale de la membrane cellulaire, en particulier chez les bactéries Gram (+ve).

D'autre part, *S. costus* est considérée comme une riche source de triterpénoïdes, de flavonoïdes, de stéroïdes et de lactones sesquiterpéniques, et aurait plusieurs potentiels biologiques, notamment antimicrobiens et antibactériens



**Figure15 :** Concentrations minimales inhibitrices de SCE pour les champignons testés. (Abdallah *et al*,2017)

D'après l'étude d'Abdallah *et al.* (2017) . Les valeurs de MBC/CMI étaient comprises entre 1 pour les souches fongiques. Dans l'étude de Siddig *et al*(2019) , des glycosides de flavone acylés ont été détectés dans les racines de *S. costus* et ces glycosides sont connus pour être à l'origine de l'activité antifongique de cette plante.

**Tableau15 :** CMI et MFC des extraits méthanolique et éthanolique des racines de *S. costus* (Abdallah *et al*,2017)

Souche fongique	CMI mg/ml		MFC mg/ml		MFC/MIC	
	MeOH EtOHMeOH	MeOH	tOHMeOHEtO	MeO		
<i>Aspergillus niger</i>	50	50	50	50	1	1



# **Conclusion**

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

Le *Saussurea costus*, une plante ayurvédique, herbacée, qui se cultive spontanément dans les hauts plateaux de l'Himalaya, a occupé une place importante dans la médecine traditionnelle indienne, chinoise, pakistanaise et même tibétaine. Cette plante de quelques mètres de hauteur a attiré l'attention de plusieurs chercheurs, qui ont révélé non seulement la composition riche et complexe de la plante mais aussi ses vertus diverses pour la santé humaine.

Dans le présent travail, différents aspects de *Saussurea Costus* ont été étudiés : Quelques activités biologiques de *Saussurea Costus* .

D'après le présent travail de synthèse, l'extraction des racines de plante a permis d'obtenir un rendement qui diffère en fonction de la méthode d'extraction utilisée. L'activité antioxydante des extraits éthanolique et méthanolique et aqueux de *S. Costus* a été évaluée par la méthode de réduction du radical libre DPPH et la méthode de FRAP et ABTS.

Pour l'ensemble des travaux de recherche. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur des souches bactériennes, selon la méthode de diffusion par disque, Les résultats indiquent que la bactérie gram positive possède une sensibilité plus élevée dans l'extrait éthanolique que les bactéries gram négative .

Les études sur l'activité antifongique, ont montré une activité considérable des huiles essentielles étudiées. Ces résultats sont absolument une riche source d'informations sur les propriétés chimiques et antifongiques du *costus* grâce à sa capacité à inhiber les micro-organismes qui a été testée par la méthode de diffusion en disque sur différentes souches de champignons. Ce qui a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique d'huile essentielle du *Saussurea Costus* , en déterminant la CMI . Ce qui est probablement dû à la présence des principaux mono terpènes et sesquiterpènes identifiés.

Enfin on peut conclure que les propriétés biologiques observées seraient liées à la variété de composition chimique (costunolide , hydrocostunolide ). Les études sur les activités biologiques

des plantes les extraits et les huiles essentielles sont devenus plus importantes dans le domaine thérapeutique. Ces résultats constituent une étape importante dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives.

# Références

- Abdallah, E. M., Qureshi, K. A., Ali, A. M., & Elhassan, G. O. (2017). Evaluation of some biological properties of *Saussurea costus* crude root extract. *Biosci. Biotechnol. Res. Commun*, 10(4), 601-611.
- Abdelwahab, S. I., Alsanosy, R. M., Rahim, B. E. E., Mohan, S., Taha, S., Mohamed Elhassan, M., & El-Setouhy, M. (2015). Khat (*Catha edulis* Forsk.) dependence potential and pattern of use in Saudi Arabia. *BioMed research international*, 2015.
- Agouazi, O. (2021). *Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de la vigne rouge* (Doctoral dissertation, Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou).
- Amara, U., Khan, A., Laraib, S., Wali, R., Sarwar, U., Ain, Q. T., & Shakeel, S. (2017). Conservation status and therapeutic potential of *Saussurea lappa*: An overview. *American Journal of Plant Sciences*, 8(3), 602-614.
- Beloued, A. (2009). Plantes médicinales d'Algérie (p. 134). *Alger: Office des Publications Universitaires*.
- Channi, M. (2016, 12 04). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle de feuilles de basilic *Ocimum basilicum* L extraite par hydrodistillation et par micro-ondes
- Deabes, M. M., Fatah, A. E., Sally, I., Salem, S. H. E., & Naguib, K. M. (2021). Antimicrobial activity of bioactive compounds extract from *Saussurea costus* against food spoilage microorganisms. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(6), 2833-2843.
- Gautam, H., & Asrani, R. K. (2018). Phytochemical and pharmacological review of an ethno medicinal plant: *Saussurea lappa*. *Vet Res Int*, 6, 1-9.
- Hamalata Gautam, R. (2018). Phytochemical and Pharmacological Review of an Ethno Medicinal Plant: *Saussurea lappa*. 5-6.
- JANDI, M. (2017). Plantes médicinales en dermatologie et en cosmétologie : Enquête auprès des herboristes de la région de Béni Mellal . Marrakech



- Jubayer, M. F., Kayshar, M. S., Mazumder, M. A. R., & Akter, S. S. (2020). A review on five medicinal plants considering the therapeutic potentials in the management of COVID-19.
- Kenoufi, M. (2018). *Caractérisation histologique, caryologique, phytochimique et activités biologiques de Senecio giganteus Desf et S. jacobaea L* (Doctoral dissertation).
- Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).
- Lunz, K., & Stappen, I. (2021). Back to the roots—an overview of the chemical composition and bioactivity of selected root-essential oils. *Molecules*, 26(11), 3155.
- Pandey, M. M., Rastogi, S., & Rawat, A. K. S. (2007). Evaluation of pharmacognostical characters and comparative morphoanatomical study of Saussurea costus (Falc.) Lipchitz and Arctium lappa L. roots. *Natural product sciences*, 13(4), 304-310.
- Madhavi, M., Mallika, G., Lokanath, N., Vishnu, M. N., Chetty, C. M., & Saleem, T. M. (2012). A review on phytochemical and pharmacological aspects of Saussurea lappa. *Int. J. Life Sci. Med. Res*, 2, 24-31.
- Omer, R. E., Koua, F. H. M., Abdelhag, I. M., & Ismail, A. M. (2019). Gas chromatography/mass spectrometry profiling of the costus plant Saussurea lappa (Decne.) CB Clarke root extracts and their anti-bacterial activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(5), 073-081.
- OUIBRAHIM, A., KAKI, Y. T. A., BENNADJA, S., MANSOURI, R., KAKI, S. A., KHBIZI, S., & DJEBAR, M. R. (2015). Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de Laurus nobilis L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal Of natural Products*, 3(3), 209-216. *Pharmaceutical Research*, 18(10), 2155-2160.
- Penchev, P. I. (2010). *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions* (Doctoral dissertation).

- plantes, D.-n. s. (2011). A review of the status of Saussurea Costus. 1-2..
- Premalatha, M. L. (2020). A STUDY ON THE ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES IN THE ETHYL ACETATE EXTRACT OF SAUSSUREA LAPPA. 2-6.
- Sahar Baghe1, N. E. (2018). t de s parametres de nohuile traductionnelle de Saussurea costus et recherche de différen parametnormalisationres de . 3-4.
- Saif-Al-Islam, M. (2020). Saussurea costus may help in the treatment of COVID-19. *Sohag Medical Journal*, 24(3), 6-17.
- Singh, R., Chahal, K. K., & Singla, N. (2017). Chemical composition and pharmacological activities of Saussurea lappa: A review. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 6(4), 1298-1308.
- Song, J. W., Min, K. J., & Cha, C. G. (2008). Antioxidative and antitumor activity of extracts from Saussurea lappa. *Journal of Environmental Health Sciences*, 34(1), 55-61.
- Sutar, N., Garai, R., Sharma, U. S., Singh, N., & Roy, S. D. (2011). Antiulcerogenic activity of Saussurea lappa root. *Int J Pharm Life Sci*, 2(1), 516-520.
- Tanuja Uniyal, M. C. (2018). Saussurea Costus :Boon for the Himalaya communities (AReview). 1-2.
- Toure, D. (2015). *Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques medicinales de côte d'ivoire* (Doctoral dissertation, Université Felix Houphoet Boigny, Côte d'Ivoire).
- Yakoubi, R., Megateli, S., Sadok, T. H., Bensouici, C., & Bağci, E. (2021). A synergistic interactions of Algerian essential oils of Laurus nobilis L., Lavandula stoechas L. and Mentha pulegium L. on anticholinesterase and antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101891.
- Zahara, K., Tabassum, S., Sabir, S., Arshad, M., Qureshi, R., Amjad, M. S., & Chaudhari, S. K. (2014). A review of therapeutic potential of Saussurea lappa-An endangered plant from Himalaya. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S60-S69.
- Zhao, T. (2014). *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques et médicinales oubliées ou sous-utilisées de Midi-Pyrénées (France) et de Chongqing (Chine)* (Doctoral dissertation, Toulouse, INPT).

- Zia-ur-Rehman Mshwani, R. W. (2017). Conservation Status and therapeutic potential of saussurea lappa :an Overview. 4-5
- **Site web 1** Indien, P. and Indien, P., 2022. *Poudre De Costus Indien*. [online] Nigelle bien-être. Available at: <<https://nigelle-bienetre.com/fr/bien-etre/50-poudre-de-costus-indien.html>> [Accessed 21 June 2022].
- **Site web2** <https://www.amazon.com/Organic-Premium-Saussurea-Additives-Preservatives/dp/B08W8BG7TD>
- **Site web 3 Your Bibliographie:** solaire, T. (2022). Les techniques de distillation. Retrieved from <http://www.vaucanson.org/php5/Accueil/index.php/comment-adapter-le-four-solaire-a-la-l-hydrodistillation/698-les-techniques-de-distillation>

## Résumé

Costus indien est une plante médicinale aromatiques appartient à la famille Astaceae. En raison de sa richesse en métabolites secondaires tels que les polyphénols et les flavonoïdes, cette plante possède de multiples activités biologiques. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique et une évaluation de leurs activités antioxydant et antibactérienne, antifongique puits en la comparant avec des études sur la même plante menées dans d'autre pays ( Inde , Pakistan ... ) les résultats de l'analyse chromatographique de huile essentiel par GC/MC a montré la présence des nombreux composé bioactif de huile de S. costus par les polyphénols comme costinolide et hydrocostinolide nous avons également évalué l'effet antioxydant de la plante dans plusieurs étude par le méthodes DPPH ,ABTS . L'interaction synergétique entre le huile essentiel de S.costus avec quelques antibiotique a été évaluée par leur activité antimicrobienne et antifongique contre de nombreuse souche bactérienne phytopathogenes. Ces études ont révélé que S.costus contient des constituants chimique et principe actif et peut jouer un rôle important dans la médecine .

**Les mots clés :** S.costus Chromatographique GC / MS ; Effet antioxydant, Effet antibactérien ; Effet antifongique

القسط الهندي نبات طبي عطري ينتمي إلى عائلة Astaceae . بسبب ثرائه في المستقبلات الثانوية مثلا لبوليفينول والفلافونويد ، فإنها النبات له أنشطة بيولوجية متعددة. فيهذا لسياق، يركز العمل الحالي على دراسة كيميائية نباتية وتقييم لأنشطتها المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا والفطريات من خلال مقارنتها بالدراسات على نفس النبات التي أجريت في بلدان أخرى (الهند،باكستان،إلخ) نتائج أظهرت التحليل الكروماتوغرافي للزيت العطري بواسطة GC / MC وجودا لعدد من المركبات ا لنشطة بيولوجيا لزيت S. Costus بواسطة البوليفينول مثل costinolide وhydrocostinolide كما قمنا أيضا بتقييم التأثير المضاد للأكسدة للنبات في العديد من الدراسات بواسطة طرق DPPH ، ABTS . تم تقييم التفاعلات أزربيين الزيت العطري لعطر S.costus مع بعض المضادات لحبوية من خلال نشاطه المضاد للميكروبات والفطريات ضد العديد من السلالات البكتيرية الممرضة للنبات. كشفت هذه الدراسات أن S.costus تحت ويعلى مكون اتكيميائية ومكونات نشطة ويمكن أن تلعب دورا مهما في الطب.

الكلمات المفتاحية: S.costus Chromatographique GC / MS؛ تأثير مضاد للأكسدة، تأثير مضاد للجراثيم. تأثير مضاد

## Abstract

Indian Costus is an aromatic medicinal plant belonging to the Astaceae family. Due to its richness in secondary metabolites such as polyphenols and flavonoids, this plant has multiple biological activities. In this context, the present work focuses on a phytochemical study and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities, antifungal wells by comparing with studies on the same plant conducted in other countries (India, Pakistan ...) the results of chromatographic analysis of essential oil by GC/MC showed the presence of the many bioactive compound of oil of S. costus by polyphenols like costinolide and hydrocostinolide we also evaluated the antioxidant effect of the plant in several studies by DPPH ,ABTS methods . The synergistic interaction between the essential oil of S.costus with some antibiotics was evaluated by their antimicrobial and antifungal activity against many bacterial phyto pathogens. These studies revealed that S.costus contains chemical constituents and active principle and can play an important role in medicine.

**Key words:** S.costus ; GC/MS chromatography; Antioxidant effect ; Antibacterial effect ; Antifungal effect

