



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de Fin d'Étude

En vue de l'obtention du diplôme de master dans le domaine des Sciences de la
Nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Pharmacotoxicologie

THEME :

Étude des activités biologique des espèces (*Punica granatum*, *Artemisia annua* et *Glycyrrhiza glabra*).

Présenté par :

Soutenu le : 09/07/2025

- AIT SAAD ALLAH Manel
- MOALI Malika

Devant le jury :

▪ KHALDOUN H.	Professeur	Université Blida-1-	Présidente
▪ DJAIRANE N.	Docteur	Université Blida-1-	Examinatrice
▪ CHERIF H.S	Professeur	Université Blida-1-	Promotrice
▪ NADJI S.	Master	Orpin center	Co-promotrice

Année universitaire : 2024 / 2025

Remerciements

Merci à Dieu le tout puissant de nous avoir guidé et donné la santé et la volonté d'accomplir ce mémoire

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à :

Notre Promotrice, Pr Cherif, pour son accompagnement précieux, son soutien constant, l'encadrement attentif et ses remarques constructives, qui ont grandement contribué à l'orientation et à la finalisation de ce travail.

Nos remerciements vont également à notre Co-promotrice, Mme Nadji du centre de Bien-être ORCID pour son engagement et son appui précieux.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble des membres du Jury :

Nous tenons à gratifier Pr Khaldoun .H, d'avoir acceptée de présider le jury de ce mémoire.

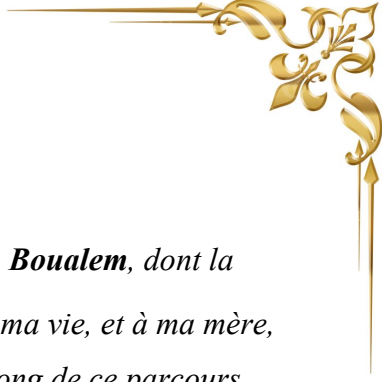
Nous adressons nos vifs remerciements à Dr. Djairène. N, pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le Juger.

Un grand merci à Mr. Youcef du département de Biotechnologies (FSNV) pour son soutien moral, et son soutien technique.

Merci notamment à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.



Dédicace



*À mes parents, source infinie d'amour et d'inspiration. À mon père, **Boualem**, dont la mémoire continue de me guider et de m'éclairer dans chaque étape de ma vie, et à ma mère, **Nassima** dont la force et le soutien indéfectible m'ont porté tout au long de ce parcours.*

*À mon frère, **Tarek**, mon complice et mon soutien de toujours, merci pour tes encouragements et ta présence constante.*

*À mon fiancé, **Meziane** ma force, merci pour ta patience, ton écoute et ton amour qui me donnent des ailes. À sa famille, qui m'a accueillie à bras ouverts et m'a soutenu avec tant de bienveillance, un immense merci.*

*À mon binôme, **Malika**, ma partenaire de travail et d'aventure, merci pour ta collaboration précieuse, ton énergie et ton soutien qui ont rendu ce parcours encore plus enrichissant.*

À mes amis(e), qui ont partagé mes joies, mes doutes et mes éclats de rire, votre amitié a rendu ce chemin plus léger et plus lumineux.

À toute ma famille, dont l'amour et les prières m'ont entourée à chaque instant, je vous suis profondément reconnaissante.

Enfin, à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à mon parcours scolaire et universitaire, par leurs conseils, leur aide ou leur soutien moral, je vous adresse ma gratitude la plus sincère.

Ce diplôme est aussi le vôtre.

Avec tout mon cœur,

AIT SAAD ALLAH Manel





Dédicace

Je dédie ce travail :

*À ma très chère mère **Ferkous Noura**, dont les prières silencieuses m'ont toujours portée.
Elle a été, et reste, ma force, mon refuge, mon inspiration. Que Dieu la protège.*

*À mon père **Rachid**, pour sa sagesse, son soutien indéfectible et ses efforts constants qui ont
nourri en moi le désir de réussir.*

*À mon homme **Aimene**, mon bras droit, mon allié de chaque instant, merci pour ta présence,
ton amour et ton soutien sans faille.*

*À mes frères **Nouh** et **Abde Raouf**, et à ma tendre sœur **Anfel**, merci pour vos
encouragements et vos sourires.*

*À tous ceux qui, de près ou de loin, ont semé en moi l'envie de continuer, de persévérer, de
croire : votre aide et vos paroles ont été des lumières sur ma route.*

*À mon binôme **Manel**, un merci pour ton implication, ta constance, et la complicité que nous
avons partagée dans cette aventure. Ta présence a ajouté plus de sens et de sérénité à ce
parcours exigeant.*

*À mes amies de cœur, **Nesrine**, **Chaima**, **Lyna**, merci pour vos mots d'encouragement, vos
gestes tendres et votre fidélité.*

*Enfin, à tous ceux que j'aime, et qui se reconnaîtront dans ces lignes
Je vous embrasse avec gratitude.*

MOALI Malika



Résumé

L'infection à *Helicobacter pylori*, bactérie parasitant l'estomac humain, est l'une des principales causes de troubles gastriques chroniques, avec une résistance croissante aux traitements conventionnels. Dans ce contexte, les plantes médicinales représentent une alternative thérapeutique prometteuse.

La présente étude a pour objectif d'évaluer le potentiel thérapeutique de trois plantes médicinales *Punica granatum*, *Artemisia annua* et *Glycyrrhiza glabra*, à usage traditionnel contre *H. pylori*. Les activités antioxydantes et anti-inflammatoires ont été analysées *in vitro*, tandis que l'activité antimicrobienne contre *H. pylori* a été explorée *in silico* par docking moléculaire, avec une estimation de la toxicité via ADMETlab 3.0.

Les résultats du criblage phytochimique ont montré la richesse des plantes en métabolites secondaires, principalement les polyphénols, avec des teneurs variant de 310,78 à 468,91 mg EAG/g MS. La réglisse est notable pour ses flavonoïdes (39,18 mg EQ/g MS), et ses tanins condensés (46,07 mg EC/g MS), et la grenade pour ses tanins hydrolysables (476,57 mg EAT/g MS). Les extraits éthanoliques et hydro-éthanoliques ont donné une bonne activité antioxydante (CE50 de 0,0079 à 0,0677 mg/ml, grenade surpassant l'acide ascorbique), et anti-inflammatoire, l'*Artemisia annua* affiche la meilleure performance avec un CE50 de 0,49 mg/ml, suivie de la grenade (0,9 mg/ml), équivalent au diclofénac. Ainsi que de fortes affinités de liaison des composés bioactifs avec les cibles bactériennes.

Ces données ont permis la formulation d'un sirop phytothérapeutique proposé comme complément alimentaire gastro protecteur. Les approches naturelles à visées thérapeutiques contre *H. pylori* sont de plus en plus envisageables.

Mots clés

Plantes médicinales, complément alimentaire, *Helicobacter pylori*, anti-inflammatoire, antioxydant, docking moléculaire.

Abstract

Helicobacter pylori infection, a bacterium that colonizes the human stomach, is one of the leading causes of chronic gastric disorders, with increasing resistance to conventional treatments. In this context, medicinal plants represent a promising therapeutic alternative.

This study aims to evaluate the therapeutic potential of three traditionally used medicinal plants *Punica granatum*, *Artemisia annua*, and *Glycyrrhiza glabra*—against *H. pylori*. Antioxidant and anti-inflammatory activities were analyzed *in vitro*, while antimicrobial activity against *H. pylori* was explored *in silico* through molecular docking, with toxicity estimated using ADMETlab 3.0.

Phytochemical screening revealed the plants' richness in secondary metabolites, primarily polyphenols, with contents ranging from 310.78 to 468.91 mg GAE/g DW. Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) stood out for its flavonoids (39.18 mg QE/g DW) and condensed tannins (46.07 mg CE/g DW), while pomegranate (*Punica granatum*) was notable for its hydrolyzable tannins (476.57 mg TAE/g DW). Ethanolic and hydro-ethanolic extracts exhibited strong antioxidant activity (IC₅₀ of 0.0079 to 0.0677 mg/mL, with pomegranate surpassing ascorbic acid) and anti-inflammatory activity, with *Artemisia annua* showing the best performance (IC₅₀ of 0.49 mg/mL), followed by pomegranate (0.9 mg/mL), comparable to diclofenac. Additionally, bioactive compounds demonstrated strong binding affinities to bacterial targets.

These findings supported the formulation of a phytotherapeutique syrup proposed as a gastroprotective dietary supplement. Natural therapeutic approaches against *H. pylori* are increasingly viable.

Keywords: medicinal plants, dietary supplement, *Helicobacter pylori*, anti-inflammatory, antioxidant, molecular docking.

ملخص

جرثومة المعدة (بكتيريا الملوية البوابية) وهي بكتيريا تستعمر المعدة البشرية، تُعد واحدة من الأسباب الرئيسية للاضطرابات المعوية المزمنة، مع تزايد المقاومة للعلاجات التقليدية. في هذا السياق، تمثل النباتات الطبية بديلاً علاجياً واعدً

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الإمكانات العلاجية لثلاث نباتات طبية تُستخدم تقليدياً - الرمان (*Punica granatum*)، والأرتيميسيا أنوا (*Artemisia annua*)، وعرق السوس (*Glycyrrhiza glabra*) - تم تحليل الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب في المختبر (*in vitro*)، بينما تم استكشاف النشاط المضاد للميكروبات ضد جرثومة المعدة باستخدام النمذجة الجزيئية (*in silico*) عبر الالتحام الجزيئي، مع تقدير السمية باستخدام أداة 3.0 ADMETlab.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي غنى النباتات بالمركبات الأيضية الثانوية، وخاصة البوليفينولات، بمحتويات تتراوح بين 310.78 و 468.91 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ من المادة الجافة. تميز العرقسوس بمحتواه العالي من الفلافونويدات (39.18 ملغ مكافئ كيرسيتين/غ من المادة الجافة) والتانينات المكثفة (46.07 ملغ مكافئ الكاتشين/غ من المادة الجافة)، بينما تميز الرمان بمحتواه العالي من التانينات القابلة للتحلل (476.57 ملغ مكافئ حمض التانيك/غ من المادة الجافة). أظهرت المستخلصات الإيثانولية والهيدروإيثانولية نشاطاً مضاداً للأكسدة قوياً (50IC من 0.0079 إلى 0.0677 ملغ/مل، مع تفوق الرمان على حمض الأسكوربيك) ونشاطاً مضاداً للالتهاب، حيث أظهرت الأرتيميسيا أنوا أفضل أداء (50IC = 0.49 ملغ/مل)، تليها الرمان (0.9 ملغ/مل)، وهو ما يعادل الديكلوفيناك. كما أظهرت المركبات النشطة بيولوجياً تقارباً قوياً مع الأهداف البكتيرية.

دعمت هذه النتائج صياغة شراب نباتي علاجي مقترح كمكمل غذائي وافي للمعدة. أصبحت الأساليب العلاجية الطبيعية ضد الجرثومة المعدية قابلة للتطبيق بشكل متزايد

الكلمات المفتاحي: النباتات الطبية، المكملات الغذائية، جرثومة المعدة، مضاد التهاب، مضاد للأكسدة، الالتحام الجزيئي.

Liste de figures

Figure 01 : Différentes parties de <i>Punica granatum</i>	4
Figure 02 : Localisation des composés polyphénoliques dans la grenade (<i>Punica Granatum</i> L).....	5
Figure 03 : Différents organes de l'armoise annuelle.....	8
Figure 04 : Différents organes végétaux de la réglisse.....	11
Figure 05 : Structure d' <i>Helicobacter pylori</i>	14
Figure 06 : Forme des drogues végétales.....	18
Figure 07 : Séchage, broyage, et tamisage des écorces de grenade.....	Annexe 2
Figure 08 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour les dosages des flavonoïdes.....	Annexe 2
Figure 09 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	Annexe 2
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosages des polyphénols.....	Annexe 2
Figure 11 : Structure 2D de glycéridienne.....	39
Figure 12 :Structure 3D de glycéridienne.....	39
Figure 13 : Structure 2D de punicalagine.....	39
Figure 14 : Structure 3D de punicalagine.....	39
Figure 15 :Structure 2D d'artémisinine.....	39
Figure 16 :Structure 3D de artémisinine.....	39
Figure 17 :Structure 2D de costumolides.....	40
Figure 18 :Structure 3D de costumolide.....	40
Figure 19 :Structure libre de l'uréase.....	40
Figure 20 :Uréase complexée avec l'acéthydroxamique.....	40
Figure 21 :Uréase complexée avec un inhibiteur.....	40
Figure 22 :Structure libre de CagA.....	41

Figure 23 :Structure de CagA associé à ASPP2.....	41
Figure 24 :CagA associé à la kinase PAR1b/MARK2.....	41
Figure 25 : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre l'artémisinine et l'uréase (1e9y.pdb).....	43
Figure 26 : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la costunolide et l'uréase (1e9y.pdb).....	43
Figure 27 : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la glycyrrhizine et l'uréase (1e9y.pdb).....	43
Figure 28 : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la punicalagine et l'uréase (1e9y.pdb).....	44
Figure 29 : 3D and 2D : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre l'artémisinine et CagA (3iec.pdb).ofartemisinin and CagA (3iec.pdb) non-bonded interactions.....	44
Figure 30 : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la costunolide et CagA (3iec.pdb).....	44
Figure 31 : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la glycyrrhizine et CagA (3iec.pdb).....	45
Figure 32 : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la punicalagine et CagA (3iec.pdb).....	45
Figure 33 : Graphique à barre de la toxicité aigüe par voie orale des composés étudiés.....	48
Figure 34 : Graphique radar de la toxicité aigüe par voie orale des composés étudiés.....	48
Figure 35 : Resultats de criblage	Annexe 3
Figure 36 : Evaluation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique (CE50=0.005 mg/ml).....	Annexe 2
Figure 37 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosages des tanins hydrolysables.....	Annexe 2
Figure 38 : Résultat de l'effet des extraits de plantes sur <i>Staphylococcus aureus</i>	Annexe 3
Figure 39 : Résultat de l'effet des extraits de plantes sur <i>Escherichia coli</i>	Annexe 3

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique et activités biologiques de <i>P.granatum</i>	Annexe 1
Tableau II : Composition chimique et activités biologiques de <i>A.annua</i>	10
Tableau III : Composition chimique et activités biologiques de <i>G.glabra</i>	13
Tableau IV : Matériel utilisé.....	Annexe 2
Tableau V : Préparation des solutions diluées pour le dosage des flavonoïdes.....	21
Tableau VI : Préparation des solutions diluées pour le dosage des tanins condensés.....	22
Tableau VII : Préparation des solutions diluées pour le dosage des polyphénols.....	24
Tableau VIII : Dilutions de l'extrait pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	25
Tableau IX : Dilutions de l'extrait pour l'évaluation de l'activité antioxydante.....	26
Tableau X : Rendement d'extraction.....	31
Tableau XI : Résultat de l'analyse qualitative.....	32
Tableau XII : Résultats du dosage des composés phénoliques.....	33
Tableau XIII : Résultats de l'évaluation des activités antioxydantes et anti-inflammatoires.....	36
Tableau XIV : Structures 2D et 3D des composés des plantes.....	39
Tableau XV : Structures tridimensionnelles de l'uréase.....	40
Tableau XVI : Structures tridimensionnelles de CagA.....	41
Tableau XVII : ΔG (kcal/mol) des quatre composés contre l'uréase (1e9y) et CagA (3iec).....	42
Tableau XVIII : Énergie de liaison (ΔG) et interactions non covalentes entre les quatre ligands et l'uréase.....	Annexe 3
Tableau XIX : Énergie de liaison (ΔG) et interactions non covalentes entre les quatre ligands et CagA.....	Annexe 3
Tableau XX : Résultats de la toxicité aiguë orale des quatres composés bioactifs.....	47
Tableau XXI : Préparation des solutions diluées pour le dosage des tanins hydrolysable.....	Annexe 2

Liste des abréviations

A.annua : *Artemisia annua*

A° : angle degré

ACD: Advanced Chemistry Development

APG I: Angiosperm Phylogeny Group I, 1998

APG II: Angiosperm Phylogeny Group II, 2003

APG III: Angiosperm Phylogeny Group III, 2009

APG IV: Angiosperm Phylogeny Group IV, 2016

CID : Compound Identifier

EAG : équivalent acide gallique

EC : équivalent catéchine

EMA : European Medicines Agency (Agence européenne des médicaments)

EQ : équivalent quercétine

ETA : équivalents d'acide tannique

G.glabra : *Glycyrrhiza glabra*

H. Pylori : *Helicobacter pylori*

LPSN: List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P.granatum : *Punica granatum*

PAMs : Plantes Aromatiques et Médicinales

PDB: Protein Data Bank

PDBQT: Protein Data Bank, Partial Charge, and Atom Type

PM : Plantes Médicinales

RCSB: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics

SMILES: Simplified Molecular Input Line Entry System

Table des matières

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre I Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les plantes médicinales	2
I.2. Utilisation en médecine traditionnelle	2
I.3. Etude botanique et chimique des trois plantes médicinales étudiées	3
I.3.1. <i>Punica granatum L.</i>	3
I.3.2. <i>Artemisia annua</i>	7
I.3.3. <i>Glycyrrhiza glabra L.</i>	10
I.4. Rappels sur les compléments alimentaires	12
I.5. Généralités sur le germe « <i>Helicobacter pylori</i> »	13
I.5.1. Morphologie	13
I.5.2. Classification LPSN	14
I.5.3. Mode de transmission :	14
I.5.4. Diagnostique et Traitements	15
I.5.5. Mode d'action des plantes médicinales testées sur <i>H.pylori</i>	15

Chapitre II Matériel et Méthodes

II.1. Lieu et durée du stage	18
II.2. Matériel	18
II.2.1 Matériel végétal	18
II.2.2. Matériel non biologique	19
II.3 Méthodes	19
II.3.1. Préparation de la drogue végétale	19
II.3.2. Préparation des extraits végétaux	19
II.4. Calcul du rendement d'extraction	20
II.5. Criblage phytochimique	21
II.5.1. Détection des quinones libres	21
II.5.2. Détection des terpénoïdes	21
II.5.3. Détection de la saponine	21
II.5.4. Détection des glycosides cardiaques	21
II.6. Dosage des composés phénoliques	22
II.6.1. Dosage des flavonoïdes	22

II.6.2. Dosage des tanins condensés.....	23
II.6.3. Dosage des polyphénols.....	24
II.6.4. Dosage des tanins hydrolysable.....	25
II.7. Évaluation des activités biologiques	25
II.7.1. Évaluation de l'activité anti inflammatoire <i>In Vitro</i>	25
II.7.2. Évaluation de l'activité antioxydante	26
II.7.3. Évaluation de l'effet antibactérien <i>in vitro</i> des extraits.....	28
II.8. Étude <i>in silico</i> : Docking moléculaire	29
II.8.2. Analyse par Docking moléculaire	30
II.9. Évaluation <i>in silico</i> de la toxicité des composés bioactifs.....	31
Chapitre III Résultats et discussion	
III.1. Résultat du rendement d'extraction	25
III.2. Résultat du criblage phytochimique.....	26
III.3. Résultat du dosage des composés phénoliques	27
III.4. Résultat des activités biologiques	29
III.4.1. Résultat de l'activité antioxydante.....	30
III.4.2. Résultat de l'activité anti-inflammatoire.....	31
III.4.3. Mécanismes moléculaires	32
III.5. Résultats du docking moléculaire	33
III.5.1. Résultat de la préparation technique pour le docking	33
III.5.2. Résultat de l'analyse par Docking moléculaire.....	36
III.5.3. Résultat de l'évaluation <i>in silico</i> de la toxicité des composés bioactifs.....	40
Conclusion	48

Introduction

Introduction

L'intérêt croissant pour les plantes médicinales en tant qu'alternatives thérapeutiques naturelles s'inscrit dans un contexte mondial marqué par la recrudescence des pathologies digestives chroniques et la montée de la résistance bactérienne, notamment celle d'*Helicobacter pylori* (Mégraud, 2018). Cette bactérie à Gram négatif, capable de coloniser l'épithélium gastrique humain, est impliquée dans la genèse de troubles allant de la gastrite chronique aux ulcères gastro-duodénaux, voire au développement du cancer gastrique (Kpossou et al., 2021). Face aux limites des traitements conventionnels, souvent associés à des effets secondaires et à une efficacité décroissante, la recherche de solutions complémentaires, mieux tolérées et issues du monde végétal, s'avère indispensable.

Dans cette perspective, trois espèces majeures de la pharmacopée traditionnelle ont été choisies pour leurs vertus reconnues : *Punica granatum* (grenade), *Artemisia annua* (armoise annuelle) et *Glycyrrhiza glabra* (réglisse). Chacune de ces plantes se distingue par une richesse en métabolites secondaires bioactifs – polyphénols, flavonoïdes, saponines, tanins ou lactones sesquiterpéniques – qui leur confèrent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes démontrées. Toutefois, l'intégration de ces extraits dans des formulations modernes requiert une validation scientifique rigoureuse, tant sur le plan de l'efficacité que de la sécurité d'emploi.

Le présent travail s'inscrit dans une démarche de valorisation rationnelle de ces ressources végétales. Il vise à caractériser la composition phytochimique et à évaluer les activités biologiques des extraits de *P.granatum*, *A.annua* et *G.glabra*, en mettant l'accent sur leur potentiel antioxydant, anti-inflammatoire et anti-*H. pylori*. L'étude associe des approches analytiques classiques (criblage phytochimique, dosage des composés phénoliques) à des évaluations biologiques *in vitro* et à des analyses *in silico* (docking moléculaire, prédiction toxicologique via ADMETlab 3.0).

L'objectif final est de proposer une formulation synergique sous forme de complément alimentaire, conçue pour la prévention et le soutien thérapeutique des affections gastriques liées à *H. pylori*.

Cette démarche intégrative, à l'interface de la pharmacognosie, de la biologie moléculaire et de la pharmacotoxicologie, s'inscrit dans les priorités actuelles de la recherche biomédicale visant à développer des solutions naturelles, efficaces et sûres, adaptées aux enjeux de santé publique contemporaine.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales, utilisées depuis des millénaires à travers diverses cultures, sont des végétaux contenant des métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes ou phénols, qui confèrent des propriétés thérapeutiques permettant de prévenir, soulager ou traiter des affections. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2008), environ 80 % de la population mondiale, principalement dans les pays en voie de développement, dépend de ces plantes pour les soins primaires, tandis que 25 % des médicaments modernes, comme l'aspirine (dérivée du saule) ou la morphine (issue du pavot), proviennent directement ou indirectement de ces végétaux. Employées en médecine traditionnelle, en phytothérapie ou comme base pour la synthèse de nouveaux médicaments, les PMs se présentent sous forme d'infusions, d'extraits standardisés, d'huiles essentielles ou de compléments alimentaires. Leur efficacité, validée par des études scientifiques, comme celles sur l'*hypericum* pour la dépression légère (Linde et al., 2008), dépend de la qualité des matières premières, des méthodes de préparation et des posologies. Cependant, l'usage des plantes médicinales et aromatiques (PAMs) comporte des limites, notamment des risques d'interactions médicamenteuses, une variabilité des principes actifs et des problèmes de toxicité, en cas de mésusage, comme avec la digitale pourpre (*Digitalis purpurea*). L'OMS (2013) recommande leur intégration dans les systèmes de santé avec une réglementation stricte, comme celle de l'Agence européenne des médicaments (EMA), pour garantir la sécurité et l'efficacité des PAMs. Face à la demande croissante pour des thérapies naturelles, la recherche en phytochimie et biotechnologie s'intensifie, mais la préservation de la biodiversité et la lutte contre la surexploitation des espèces, comme le ginseng (*Panax ginseng*), restent des défis majeurs. (Flagg, 2020)

I.2. Utilisation en médecine traditionnelle

Les plantes médicinales constituent une ressource fondamentale dans les systèmes de médecine traditionnelle à travers le monde, valorisées pour leurs composés bioactifs aux propriétés thérapeutiques. Leur utilisation, ancrée dans des savoirs empiriques millénaires, repose sur une connaissance approfondie des principes actifs, de leurs mécanismes d'action et de leurs limites, notamment en termes de toxicité ou d'interactions pharmacologiques (Rates, 2001).

Dans un contexte scientifique, l'étude de ces plantes vise à valider leur efficacité et leur sécurité par des approches rigoureuses, incluant des analyses phytochimiques et des essais cliniques.

Glycyrrhiza glabra (régliasse), utilisée en médecine ayurvédique et chinoise, contient de la Glycyrrhizine, un triterpénoïde aux propriétés anti-inflammatoires, antivirales et immunomodulatrices. Elle est traditionnellement prescrite pour les affections respiratoires, les ulcères gastriques et les troubles hépatiques, mais une consommation prolongée peut induire des effets secondaires tels que l'hypertension ou l'hypokaliémie en raison de l'inhibition de la 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase.

Punica granatum (grenade), largement exploitée dans les traditions méditerranéennes et moyen-orientales, est riche en polyphénols, notamment l'acide ellagique et les punicalagines, qui confèrent des effets antioxydants, antimicrobiens et cardioprotecteurs. Des études *in vitro* et *in vivo* suggèrent son potentiel dans la réduction de l'inflammation systémique, la prévention des maladies cardiovasculaires et le traitement des infections bactériennes.

Artemisia annua, pilier de la pharmacopée chinoise, est reconnue pour l'artémisinine, un sesquiterpène lactone à activité antipaludique puissante, ciblant les souches résistantes de *Plasmodium falciparum*. Ses propriétés antivirales et anticancéreuses, attribuées à la production de radicaux libres et à l'apoptose cellulaire, font l'objet de recherches approfondies.

I.3. Etude botanique et chimique des trois plantes médicinales étudiées

I.3.1. *Punica granatum* L.

I.3.1.1. Description botanique

Le grenadier (*Punica granatum* L) est un arbrisseau de 2 à 5 mètres de hauteur, à rameaux parfois épineux. Ses feuilles sont opposées, entières, glabres, luisantes, caduques, sans stipules, de forme oblongue. Les fleurs, grandes et régulières, sont rouge écarlate, sessiles, solitaires ou groupées par 2-3 au sommet des rameaux. Le calice est charnu, soudé à l'ovaire, avec 5 à 7 lobes coriaces persistants. Les pétales (5 à 7) sont insérés à la gorge du calice, les étamines nombreuses, et le style unique avec stigmate en tête. Le fruit, appelé balauste, est une baie charnue, subglobuleuse, contractée en col, de couleur jaune rougeâtre à rouge, contenant de nombreuses graines anguleuses, pulpeuses et acidulées.

Une autre description souligne que *Punica granatum* est un gros buisson ou arbuste épineux au feuillage caduc, cultivé pour ses fruits comestibles, dont la pulpe rouge cramoisie entoure les graines, enfermées dans une peau coriace allant du jaune au rouge foncé (Hmid, 2013) (Figure 01).



Figure 01 : Différentes parties de *Punica granatum* (A : Feuilles de grenade, B : Fleur de grenade, C : Fruit de grenade (Royal Botanic Gardens, Kew, 2024)

I.3.1.2. Étymologie et nomenclature

L'étymologie du nom du grenadier révèle son histoire et sa morphologie : le mot *Punica* dérive du latin *punicus*, signifiant « de Carthage », car les anciens Romains croyaient que l'arbre était originaire de cette région d'Afrique du Nord (Janick & Paull, 2008).

Le terme *granatum*, issu du latin *granatus* (« grenu, rempli de graines »), fait directement référence à la richesse en arilles rouges du fruit (Mabberley, 2017).

Ainsi, *Punica granatum* peut se traduire par « le fruit grenu de Carthage », alliant origine géographique et caractère morphologique.

Nom Scientifique : *Punica granatum*

Nom en français : Grenadier

Nom en arabe : الرمان

Nom en anglais : Pomegranate

I.3.1.3. Classification

La classification systématique de *Punica granatum*, repose sur les travaux les plus récents de la phylogénie moléculaire des plantes à fleurs, notamment selon le système APG IV (*Angiosperm Phylogeny Group IV, 2016*), qui constitue une mise à jour des classifications antérieures (APG I, II, III).

Ce système, basé sur des analyses génétiques, positionne l'espèce dans la famille des Lythraceae, au sein de l'ordre des Myrtales, et la rattache aux Eudicotylédones vraies supérieures.

- Règne : *Plantae*
- Clade : *Angiospermes (Plantes à fleurs)*
- Clade : *Eudicotylédones vraies supérieures*
- Ordre : *Myrtales*
- Famille : *Lythraceae*
- Genre : *Punica*
- Espèce : *Punica granatum*

I.3.1.4. Composition chimique et activités biologiques du grenadier

Toutes les parties de la grenade sont riches en différents métabolites secondaires justifiant leurs vertus thérapeutiques. (Tableau I, annexe 1)

FEUILLES

- Sucres
- Flavonoïdes
- Tannins
- Ellagitannins

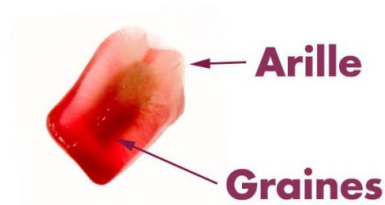


ÉCORCE - RACINE - FLEUR

- Acide gallique
- Acide ellagique
- Punicalagine
- Ellagitannins

GRAINES

- Acide linoléique
- Acide punique
- Acide stéarique



ARILLE

- Eau
- Fructose et glucose
- Composés phénoliques et flavonoïdes

Figure 02 : Localisation des composés polyphénoliques dans la grenade (*Punica Granatum* L) (Bruno, 2016).

I.3.1.4.1. Écorce

L'écorce de grenade est traditionnellement utilisée dans le traitement des ulcères et de la diarrhée (Moga et al., 2021), et sert également d'alimentation pour les animaux ruminants (Hernández-Corroto et al., 2020).

Diverses propriétés pharmacologiques ont été identifiées dans les écorces de grenade, telles que des capacités antiprolifératives, anti-inflammatoires et des effets contre le cancer (Wong et al., 2021).

Des recherches ont été menées sur les écorces de fruits pour leur potentiel d'activités antioxydantes contre le cancer du sein (*Moga et al., 2021*). En outre, on a découvert plus de 48 composés chimiques dans l'écorce de grenade, y compris des alcaloïdes, des anthocyanes, des anthocyanidines, des tanins, des flavonoïdes, des composés phénoliques, des proanthocyanidines, des stérols, des terpènes et des xanthonoïdes. (*Wang et al., 2018 ; Guerrero-Solano et al., 2020 ; Wong et al., 2021*).

I.3.1.4.2 Fleurs

Les fleurs de grenade fleurissent pendant l'été et attirent différents oiseaux sur leurs arbres. Les utilisations traditionnelles des fleurs de grenadier comprennent le traitement des troubles cardiovasculaires, du diabète et la gestion de l'obésité. (*Wang et al., 2018*)

Grâce à leurs propriétés antimicrobiennes identifiées, les fleurs de grenadier se sont avérées efficaces dans le traitement des bactéries courantes telles que *Salmonella enteritidis* et *Salmonella Kentucky* qui causent des infections intestinales. (*Ben Ajmia et al., 2016*)

De plus, les fleurs sont riches en composants bioactifs tels que les tanins, les terpènes, les terpénoïdes, les flavonoïdes et les huiles organiques (*Ge et al., 2021*)

Les tanins les plus fréquemment trouvés dans les fleurs sont les acides ellagiques, la punicatannin C (*Wong et al., 2021*)

I.3.1.4.3. Feuilles

Différentes utilisations traditionnelles des feuilles de grenade ont été enregistrées et étudiées. Ils sont utilisés pour le traitement et la gestion du cholestérol et de la perte de poids corporel (*Wang et al., 2018*) et la néphropathie diabétique (*Mestry et al., 2016*).

Les feuilles de la plante présentent des propriétés anti-inflammatoires, anticholinestérase et cytotoxiques (*Bekiret al., 2013*). De plus, des propriétés antibactériennes et antibiotiques (*Trabelsi et al., 2020*).

De plus, des propriétés antidiabétiques ont également été déterminées par (*Mestry et al., 2016*), (*Pottathil et al., 2020*) et des propriétés anticancéreuses. En raison de la variété de ses effets et propriétés, la grenade est réputée riche en alcaloïdes, flavonoïdes et tanins, ainsi qu'en variétés de glucose (*Wong et al., 2021*).

I.3.1.4.4. Graines

Parmi les usages fréquents des graines de grenade, on note la prévention des avortements spontanés (*Moga et al., 2021*) et le soin des problèmes urinaires (*Wong et al., 2021*).

D'autres caractéristiques pharmaceutiques des graines de grenade, on trouve des effets antimicrobiens (*Setiadhi et al., 2017*), ainsi que des vertus anticancéreuses et antioxydantes (*Esther et al., 2020*).

Les graines de grenade contiennent une multitude de composés phytochimiques, y compris des anthocyanes, des tanins, des acides gras, des flavonoïdes, des ligands et divers stérols comme certaines huiles organiques volatiles. (*Juhaimi et al., 2017 ; Wang et al., 2018 ; Ko et al., 2021 ; Moga et al., 2021 ; Wong et al., 2021*).

I.3.2. *Artemisia annua*

I.3.2.1. Description botanique

Artemisia annua est une plante annuelle dont l'aire de répartition native s'étend de l'Europe de l'Est jusqu'au Vietnam, mais qui s'est maintenant naturalisée dans une grande partie du monde.

Elle possède une tige ligneuse unique qui atteint environ un mètre de hauteur. La plante a de plus petites branches avec des feuilles vertes qui sont divisées en trois folioles. Les fleurs poussent en petits bourgeons avec une couche extérieure verte et les pétales intérieurs sont généralement jaunes. Les feuilles, les bourgeons floraux et les fleurs possèdent également des trichomes glandulaires où l'artémisinine est produite et stockée. (*Lommen et al. 2006*) (**Figure 03**).



Figure 03 : Différents organes de l'armoise annuelle (A : Parties supérieure et inférieure de la plante. (Vuyck, 1906), B : parties aériennes de l'armoise annuelle (Anonyme 4)).

I.3.2.2. Étymologie et nomenclature

Le nom latin de la plante *Artemisia annua*, fait référence au nom de la déesse grecque de la chasse et de la forêt « Artémis » et du terme annus - en français "année". Une autre théorie veut que la grande reine perse *Artemisia* ait autrefois donné son nom à la plante. (**anonyme (1)**).

Nom scientifique : *Artemisia annua*

Nom en français:Armoise annuelle

Nom en anglais : AnnualMugwort

Nom en arabe : شیح حولي *shīḥ ḥawlī*

I.3.2.3. Classification et systématique

La systématique moderne, fondée sur la phylogénie moléculaire, permet de classer précisément les plantes médicinales comme *Artemisia annua* , source d'artémisinine utilisée contre le paludisme, au sein du Domaine Biota (le niveau taxonomique le plus élevé dans la classification moderne des êtres vivants), en suivant le système **APG IV** pour sa position parmi les angiospermes.

- Règne : *Plantae*
- Sous-Règne : *Viridaeplantae*
- Infra-Règne : *Streptophyta John*
- Classe : *EquisetopsidaC.*
- Clade : *TracheophytaSinnott*
- Clade : *Spermatophyta*
- Sous-Classe : *MagnoliidaeNovák*
- Super-Ordre : *Asteranae*
- Ordre : *Asterales*
- Famille : *Asteraceae*
- Sous-Famille : *Asteroideae*
- Tribu : *Anthemideae*
- Sous-Tribu : *Artemisiinae.*
- Genre : *Artemisia L*
- Espèce : *Artemisia annua L*

I.3.2.4. Composition chimique et activités biologiques de l'Armoise annuelle

L'armoise annuelle est une plante médicinale réputée pour ses propriétés pharmacologiques, notamment contre le paludisme, et pour la diversité de ses composés bioactifs. Chaque partie de la plante (feuilles, tiges, racines, fleurs) possède une composition chimique spécifique et des activités biologiques distinctes. (Bhakuni, 2001 ; Ekiert et *al.*, 2021) (Tableau II).

Tableau II: Composition chimique et activités biologiques de l'armoise annuelle.

Partie de la plante	Composition chimique	Activités biologiques
Feuilles	- Artémisinine (lactone sesquiterpénique) - Acides phénoliques (caféique, férulique, salicylique, p-coumarique) - Flavonoïdes (rutine, naringine, kaempférol, quercétine, artemetin, casticin) - Coumarines - Huiles essentielles (camphène, camphre, β-caryophyllène, β-pinène) - Groupes fonctionnels : alcools, éthers, chaînes aliphatiques, composés aromatiques, alcènes, nitriles, amines, acides carboxyliques (Youyou et al., 2015 ; Ekiert et al., 2021)	- Antipaludique : Artémisinine, principe actif majeur contre le paludisme (Soumaila et al., 2023) - Antioxydante et anti-inflammatoire : Acides phénoliques et flavonoïdes protègent contre le stress oxydatif et l'inflammation (Ekiert et al., 2021) - Antivirale et immunostimulante : Effet antiviral et renforcement de l'immunité (Tachema, 2020) - Anticancéreuse : Effet <i>in vitro</i> sur certains cancers (sein, poumon) (Bhakuni, 2001)
Tiges	- Faible teneur en artémisinine - Flavonoïdes, composés phénoliques, huiles essentielles (en moindre quantité) - Riches en fibres, lignification avec l'âge (Ekiert et al., 2021)	- Antioxydante et antimicrobienne : Activité modérée liée aux flavonoïdes et composés phénoliques, moins étudiée que les feuilles (Ekiert et al., 2021; Bhakuni, 2001)
Racines	- Très faible teneur en artémisinine - Composés phénoliques, polysaccharides, traces de saponines - Artémisinine variable selon les manipulations génétiques ou les conditions de culture (Bhakuni, 2001)	- Immunomodulateur : Polysaccharides favorisant la modulation de l'immunité (Chougouo, 2020) - Antipaludique : Activité faible comparée aux feuilles (Bhakuni, 2001)

I.3.3. *Glycyrrhiza glabra L.*

I.3.3.1. Description botanique

Selon Morton (1977), cette plante herbacée buissonnante, vivace, mesure de 1 à 2 mètres de haut.

Elle se distingue par une racine cylindrique rampante, émettant des stolons de 1,5 à 1,8 mètre. Ses feuilles alternes, composées de 4 à 8 paires de folioles vert jaunâtre, contrastent avec ses fleurs pourpres ou violettes d'environ 10 mm, regroupées en grappes de 10 à 15 cm. Les fruits, sous forme de gousses oblongues et plates de 15 à 30 mm, légèrement poilues, renferment 2 à 4 graines réniformes. (**Figure 04**)

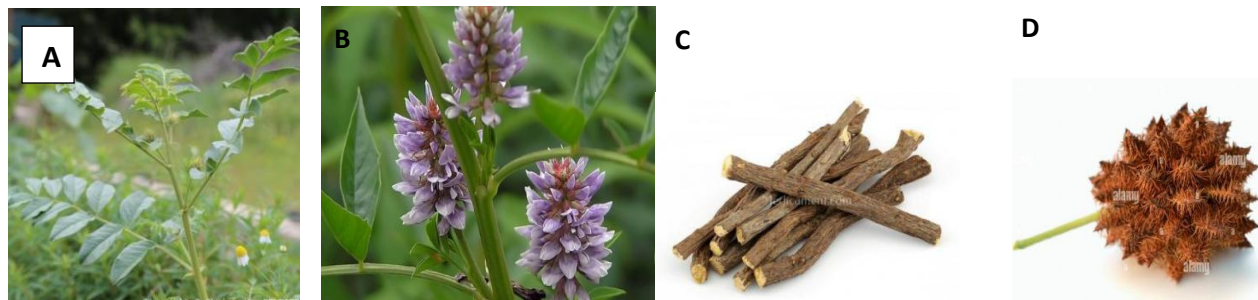


Figure 04 : Différents organes végétaux de la réglisse (A : Partie aérienne de réglisse, B : Fleurs et graines de réglisse, C : Racines de réglisse, D : Fruit de réglisse)

I.3.3.2. Étymologie et nomenclature

L'étymologie du nom botanique révèle ses caractéristiques. En grec, *glycyrrhiza* se décompose de *glycys* (« doux, sucré ») et *rhidza* (« racine »), évoquant la saveur sucrée de la racine. Le nom du genre, *glabra*, vient du latin *glaber* (« glabre »), en référence à la gousse lisse et sans poils (**Gaby, 1988 ; Couplan, 2000**).

Nom scientifique : *Glycyrrhiza glabra*

Français : La réglisse

Anglais : Licoriceroot

Arabe : Arquesousse عرق السوس

I.3.3.3. Classification et systématique

La réglisse (*Glycyrrhiza glabra*), plante médicinale utilisée depuis l'Antiquité, est reconnue pour ses racines riches en glycyrrhizine, un composé aux propriétés anti-inflammatoires, antivirales et sucrantes.

Utilisée dans les traditions médicales à travers le monde, elle est aujourd'hui classée avec précision selon le système **APG IV (2016)**, qui organise les plantes à fleurs selon leur phylogénie.

- **Règne** : *Plantes (Plantae)*.
- **Clade** : *Angiospermes (Angiosperms)*.
- **Clade** : *Eudicots (Eudicots)*.
- **Clade** : *Rosids (Rosids)*.
- **Clade** : *Eurosids I (Eurosids I)*.
- **Ordre** : *Fabales*.
- **Famille** : *Fabacées (Fabaceae)*.
- **Sous-famille** : *Faboideae (Faboideae)*.
- **Tribu** : *Galegeae (Galegeae)*.
- **Genre** : *Glycyrrhiza (Glycyrrhiza)*.
- **Espèce** : *Glycyrrhiza glabra (Glycyrrhiza glabra)*.

I.3.3.4. Composition chimique et activités biologiques

La plante *Glycyrrhiza glabra*, communément appelée réglisse, se caractérise par une composition chimique riche en composés bioactifs, notamment dans ses racines, offrant de nombreuses vertus biologiques aux applications thérapeutiques variées.

Ainsi, chaque partie de *Glycyrrhiza glabra* contribue à ses vertus médicinales, avec une concentration et un profil chimique spécifiques. Les racines sont la partie la plus riche en composés actifs et la plus utilisée en phytothérapie, tandis que les feuilles sont une source importante d'huiles essentielles aux propriétés antimicrobiennes (**Tableau III**).

Tableau III : Composition chimique et activités biologiques de la réglisse.

Partie de la plante	Composition chimique principale	Activités biologiques principales
Racines	Glycyrrhizine, acide glycyrrhizique, flavonoïdes, polysaccharides, coumarines, sucres (Dilekh et al., 2019)	Anti-inflammatoire, anti-ulcéreux, hépatoprotecteur, immunostimulant, antioxydant, neuroprotecteur, œstrogénique (Sharma et al., 2013 ; Dilekh et al., 2019)
Tiges	Saponines, flavonoïdes, polysaccharides, huiles essentielles (moins concentrées) (Fenghour et al.(2010) ; Dilekh et al., (2019))	Anti-inflammatoire, soutien général des propriétés de la plante (Fenghour et al.,(2010) ; Dilekh et al., (2019))
Feuilles	Huiles essentielles (méthacrylonitrile, acide benzoïque, linalool, anéthole, estragole, eugénol). (Hammadou, 2019)	Antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, antioxydante. (Hammadou, 2019)
Fleurs et graines	Flavonoïdes, huiles essentielles. (Belabbas, 2021).	Aromatiques, propriétés antimicrobiennes potentielles. (Belabbas, 2021).

I.4. Rappels sur les compléments alimentaires

Les compléments alimentaires sont des denrées alimentaires destinées à compléter le régime alimentaire normal en apportant des nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique, sous des formes dosées comme gélules, comprimés ou poudres ou même des sirops (**Rezak, 2023**).

Leur intérêt principal est de compenser des carences, maintenir l'équilibre nutritionnel et améliorer la santé générale (**anonyme (3), 2025**).

Les compléments alimentaires à base de plantes utilisent les propriétés naturelles des végétaux, riches en molécules actives, vitamines et minéraux, pour soutenir l'organisme et favoriser le bien-être. Certaines plantes sont utilisées pour la digestion (fenouil, menthe poivrée), ou la vitalité (ginseng, gingembre) (anonyme (2), 2023).

Concernant leur efficacité, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) évalue rigoureusement les ingrédients des compléments alimentaires, demandant des preuves cliniques solides pour valider leurs effets bénéfiques. Pour les plantes, l'évaluation est en cours, mais des preuves traditionnelles et scientifiques sont prises en compte par l'Agence européenne des médicaments (EMA).

I.5. Généralités sur le germe « *Helicobacter pylori* »

I.5.1. Morphologie

Helicobacter pylori est une bactérie spiralée et incurvée, présentant un aspect de bâtonnet d'environ 0,5 µm de large et 3 à 5 µm de long.

Cette entité possède une structure ultra micrographique spécifique à une bactérie Gram négatif. Sur les échantillons de tissus et les frottis de biopsie colorés au Gram, la bactérie est généralement perçue comme étant plus petite et plus courbée que les organismes cultivés, qui eux sont plus longs et moins en spirale (Figure 05).

Dans les cultures plus anciennes, les cellules s'assemblent en sphères, créent des structures en forme de U et perdent leurs cylindres cytoplasmiques ainsi que leur membrane. (Windsor & O'Rourke, 2000).

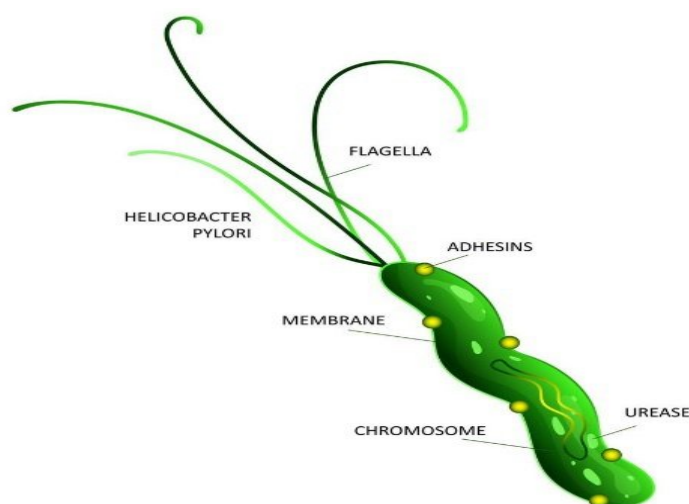


Figure 05 : Structure d'*Helicobacter pylori* (Anonyme (5), 2023)

I.5.2. Classification LPSN

D'après la Liste des noms de procaryotes ayant une position établie en nomenclature (LPSN), *Helicobacter pylori* est une bactérie à Gram négatif de la famille des *Helicobacteraceae*, largement étudiée pour son implication dans les maladies gastro-intestinales. (Marshall et al., 1985 ; Goodwin et al. 1989)

- *Domaine Bacteria*
- *Division Pseudomonadota*
- *Classe Epsilonproteobacteria*
- *Ordre Campylobacterales*
- *Famille Helicobacteraceae*
- *Genre Helicobacter*
- *Espèce Helicobacter pylori*

I.5.3. Mode de transmission :

Le mécanisme précis de transmission d'*Helicobacter Pylori* reste mal compris, toutes les suppositions étant encore en cours d'examen (selles, salive, eau...) le modèle de transmission le plus probable semble être celui d'une propagation directement interhumaine de nature oro-orale ou féco-orale.

La transmission oro-orale pourrait se produire via la salive, sans qu'il soit clairement établi si la bouche constitue un véritable réservoir (salive) ou simplement un lieu de passage temporaire (régurgitation du contenu gastrique, vomi). Il est effectivement probable que le mode de transmission soit féco-oral, comme l'indiquent les résultats d'une amplification génique démontrant l'existence d'une excrétion fécale de bactéries viables (Khalifa et al., 2010 ; Zagari et al., 2018 ; Duan et al., 2024).

Dans les pays en développement, la transmission par voie hydrique semble également essentielle. *H. pylori* présente un éventail d'hôtes limité et se retrouve principalement chez l'Homme et certains primates. Il est rare d'avoir isolé *H. pylori* chez des animaux de compagnie ; par conséquent, la présence d'animaux domestiques peut représenter un risque d'infection à *H. pylori*. (Brown et al., 2001 ; Dore et al., 2001 ; Lu, 2005 ; Leclerc, 2006).

I.5.4. Diagnostique et Traitements

La détection d'*Helicobacter pylori* repose sur des tests invasifs, utilisant des prélèvements gastriques pour l'histologie ou la culture, et des tests non invasifs, basés sur des échantillons périphériques comme le sang, l'haleine, les selles, l'urine ou la salive, pour identifier des anticorps, antigènes ou l'activité uréase. (Shakir et al., 2023) Chaque méthode présente des avantages et limites spécifiques.

Concernant le traitement, bien que *H. pylori* soit sensible à de nombreux antibiotiques *in vitro*, aucun n'est efficace en monothérapie *in vivo* en raison de sa localisation dans un mucus visqueux. La clarithromycine, administrée deux fois par jour pendant 10 à 14 jours, atteint un taux d'éradication de 40 %, mais reste insuffisante seule. Les bithérapies, combinant un antibiotique à un composé de bismuth ou un autre antibiotique, sont encore utilisées dans certains pays, mais les trithérapies, associant deux antibiotiques à un composé de bismuth, sont privilégiées.

Les antibiotiques comme la tétracycline, l'amoxicilline, les imidazoles et les macrolides sont couramment employés, bien que la furazolidone soit mal tolérée et que des antibiotiques comme la ciprofloxacine ou les fluoroquinolones ne dépassent pas 90 à 95 % d'éradication. L'action précise des composés de bismuth, efficaces *in vivo* et *in vitro*, reste méconnue (Kusters et al., 2006 ; Sun et al., 2025).

I.5.5. Mode d'action des plantes médicinales testées sur *H.pylori*

I.5.5.1. *Glycyrrhiza glabra*

La racine de réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) exerce une activité anti-*H. pylori* via la glycyrrhizine, l'acide glycyrrhétique (GA), les flavonoïdes et l'extrait GutGard.

La glycyrrhizine induit l'autophagie dans les cellules gastriques (100-200 μ M), augmentant les marqueurs LC3B-II et LAMP1 (1,5-1,65 fois), inhibant la croissance intracellulaire de *H. pylori* (réduction de 2,08-2,7 fois) et réduisant l'inflammation (ROS, IL-8, IL-6) et HMGB1 (Khan et al., 2023). L'acide glycyrrhétique agit bactéricidement sur les souches extracellulaires, y compris résistantes (CMI50/90 50/100 mg/L), en perturbant l'arylamine N-acétyltransférase (Krausse, 2004). Les flavonoïdes (glabridine, licochalcone A) inhibent les membranes et enzymes bactériennes (CMI 3,13 μ g/mL) (Fukai et al., 2002).

GutGard inhibe la synthèse protéique (45-50 %), la DNA gyrase et la dihydrofolate réductase (*Asha et al., 2012*). Ces composés offrent un potentiel contre les souches résistantes, mais des études *in vivo* sont nécessaires.

I.5.5.2. *Punica granatum*

D'après **Mayyas et al. (2021)**, l'extrait d'écorce de grenade, inhibe *H. pylori* via une action bactéricide (CMI 0,163 mg/mL, zone d'inhibition 32,53 mm) grâce aux composés phénoliques (acide gallique, catéchines) qui perturbent la membrane et le métabolisme bactérien. Il inhibe l'uréase (CI50 6,3 mg/mL), rendant la bactérie sensible à l'acidité gastrique, et agit en synergie avec le métronidazole (FIC 0,313), réduisant sa CMI. L'extrait de l'écorce de grenade limite l'adhésion bactérienne et réduit l'inflammation et la chronicité de l'infection (84,6 % à 23 %) grâce à ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Il est prometteur en combinaison avec des antibiotiques.

I.5.5.3. *Artemisia annua*

L'artémisone, dérivé de l'artémisinine, inhibe *H. pylori* (CMI50/90 0,25/0,5 mg/L), tuant les souches, y compris les plus résistantes, en 48 h via la génération de radicaux libres (rupture de la liaison endo peroxyde).

Stable en milieu acide, l'artémisone montre une synergie avec l'amoxicilline (60 %), la clarithromycine (40 %) et le métronidazole (20 %), en augmentant la perméabilité bactérienne. La dihydroartémisinine réduit la charge intracellulaire (1 log10 à 2× CMI), mais l'activité intracellulaire reste limitée. L'artémisone est un candidat prometteur, notamment en combinaison, mais nécessite des études supplémentaires (**Sisto et al., 2016**).

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

Dans le cadre de cette étude, nous avons mené une analyse approfondie des activités biologiques de trois plantes médicinales : *Glycyrrhiza glabra*, *Punica granatum* et *Artemisia annua*, sélectionnées pour leurs potentiels bioactifs.

Ces investigations ont inclus un criblage phytochimique pour identifier les métabolites secondaires, le dosage des flavonoïdes, des tanins condensés, des polyphénols, ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydante, anti-inflammatoire (*In vitro*) et antibactérienne spécifique contre *Helicobacter pylori* par le docking moléculaire (*In silico*). Une évaluation de la toxicité (*In silico*) a également été réalisée afin de valider la sécurité des composés chimiques des trois plantes. La formulation d'un sirop a nécessité, cependant, l'intégration du Costus indien (*Saussurea costus*) aux trois drogues végétales.

L'objectif principal de ce travail vise à développer un complément alimentaire présentant un potentiel thérapeutique contre les infections gastriques liées à *H. pylori*.

II.1. Lieu et durée du stage

Cette étude prospective a duré 5 mois : de janvier à juillet 2025 et a été menée dans les structures scientifiques suivantes :

- "Orpin Center", un centre de recherche et développement et de bien-être situé à Bab - Sebt, Blida
- Laboratoire de PFE n°107 à l'Université Saad Dahleb Blida 1, faculté de SNV
- Laboratoire de développement et de contrôle des préparations pharmaceutiques hospitalières. Service de chimie analytique ; Département de pharmacie, Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar- Annaba.

II.2. Matériel

II.2.1 Matériel végétal

Les fruits matures de *Punica granatum* ont été récoltés localement en septembre 2024 dans une zone rurale de Blida (Algérie),

En revanche, les racines sèches de *Glycyrrhiza glabra* ont été achetées en février 2025 à Médéa (Algérie) dans une herboristerie.

Quant à l'espèce *Artemisia annua*, elle a été récoltée en juillet 2024, au niveau de la pépinière du centre Orpin à douaouda (zeralda, Algérie) et récupérée sous forme de parties aériennes séchées.

Les écorces, les racines ainsi que les parties aériennes séchées ont été conservées dans des fûts en fibre spéciale pour le stockage des matières premières dans un endroit sec à l'abri de la lumière et l'humidité. (Figure 06)



Figure 06 : Forme des drogues végétales utilisées (Originale, 2025) (A : écorce de grenade, B : racine de réglisse, C : feuilles de l'armoise)

II.2.2. Matériel non biologique

L'ensemble des réactifs, verrerie et appareillage utilisés dans la partie expérimentale sont consignés dans (Tableau IV, annexe)

II.3 Méthodes

II.3.1. Préparation de la drogue végétale

Les racines de réglisse et les parties aériennes de l'armoise annuelle (tiges et feuilles) fournies sous forme séchées ont été broyées en fine poudre puis tamisées.

Cependant, les écorces de grenade (Figure 07, annexe 2), ont été soigneusement nettoyées et découpées en petits morceaux puis séchées dans un séchoir à plateaux à circulation d'air chaud ($T^{\circ} : 35$) pendant 15min.

Après séchage, les morceaux de l'écorce de grenade ont été broyés à l'aide d'un broyeur mécanique (Pulverisette, Fritsch, Allemagne) et tamisés dans un tamis ayant un diamètre de 500 μm . Et puis le broyat obtenu a été conservé dans des boîtes en plastique à température ambiante dans un endroit sec à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à utilisation.

II.3.2. Préparation des extraits végétaux

II.3.2.1 Extrait de *Punica granatum*

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée par le biais de la technique de macération (Hadrichet *al.*, 2014).

Une masse de 5 g de matière végétale sèche (l'écorce de grenade) sous forme de poudre a été macérée dans 62,5ml d'éthanol pur. Après une agitation de 24h à température ambiante et à l'obscurité, une filtration a été faite sur papier filtre.

Le filtrat obtenu a été débarrassé de son solvant par évaporation à 50°C dans une étuve, afin d'obtenir un extrait sec. Ce dernier a été conservé à -20°C pour les éventuelles expérimentations.

II.3.2.2 Extrait d'Artemisia annua

20g de poudre d'armoise annuelle sont combinés avec un mélange d'éthanol et d'eau (70/30, v/v), sous agitation pendant 48 heures à température ambiante.

Par la suite, le macérat a été soumis à une filtration basique pour séparer la phase liquide des résidus solides. Nous avons concentré cette phase liquide en utilisant un évaporateur rotatif à 45 °C sous vide, puis nous avons séché l'extrait concentré dans une étuve à la même température pendant trois jours, afin d'obtenir le produit final sous forme d'extrait sec. Cette méthode permet d'extraire les principes actifs tout en réduisant leur dégradation due à la chaleur. (**Chougouo et al., 2023**).

II.3.2.3 Extrait de Glycyrrhiza glabra

Une quantité de 4 g de poudre de réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) a été pesée avec précision, puis mise en contact avec un mélange hydro-éthanolique préparé à raison de 100 mL d'éthanol et 100 ml d'eau distillée, soit un rapport 50 :50, pour un volume total de 200 mL. L'extraction a été réalisée à température ambiante sous agitation continue pendant 4 heures afin de permettre une bonne diffusion des composés bioactifs. À l'issue de cette étape, la solution obtenue a été filtrée afin de séparer le résidu végétal de l'extrait liquide. Le filtrat a ensuite été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif pour éliminer le solvant et récupérer l'extrait brut de réglisse (**Tian et al., 2008**)

II.4. Calcul du rendement d'extraction

Le poids en extraits sec a été calculé par la différence entre le poids du ballon plein (après élimination du solvant) et le poids du ballon vide.

Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage.

Il est calculé par la formule suivante : **$R\% = (PF/PI) \times 100$**

Où :

R : le rendement en pourcentage.

PF : le poids de l'extrait sec en g.

PI : le poids de la poudre mise à l'extraction en g. (Lehout et Laib, 2015)

II.5. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique a été réalisé au Laboratoire d'analyse n°107 à l'Université

Saad Dahleb Blida 1, Faculté SNV

Afin de détecter divers métabolites secondaires présents dans les extraits éthanoliques et hydro-éthanoliques de *Glycyrrhiza glabra*, *Punica granatum*, et *Artemisia annua*, plusieurs tests de criblage phytochimique ont été réalisés d'après le protocole de (Bruneton, 1993).

II.5.1. Détection des quinones libres

Pour l'identification des quinones libres, 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1 % a été ajouté à 2 ml d'extraits. Un virage au rouge du mélange obtenu a confirmé la présence de quinones libres.

II.5.2. Détection des terpénoïdes

Le test de Salkowski a été utilisé pour détecter les terpénoïdes dans les extraits. À 2 ml d'extrait, 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) ont été ajoutés. La formation de deux phases distinctes, de couleur brune à l'interface, a indiqué un résultat positif pour les terpénoïdes.

II.5.3. Détection de la saponine

Pour tester la présence de saponines, 5 ml d'extrait de chaque plante ont été agités vigoureusement pendant 15 secondes. La présence d'une mousse persistante pendant au moins 20 minutes a confirmé la présence de saponines.

II.5.4. Détection des glycosides cardiaques

Les glycosides cardiaques ont été détectés en ajoutant 2 ml de chloroforme et 2 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) à 2 ml d'extrait de chaque plante, puis en agitant. La formation d'une couche brun rougeâtre foncé dans le mélange indiquait la présence de glycosides cardiaques.

II.6. Dosage des composés phénoliques

Le dosage a été réalisé au Laboratoire de développement et de contrôle des préparations pharmaceutiques hospitalières. Service de chimie analytique ; Département de pharmacie, Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar- Annaba.

II.6.1. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes, des composés poly phénoliques présents dans de nombreux végétaux, possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et cardioprotectrices, ce qui les rend d'un intérêt particulier dans les industries pharmaceutique et nutraceutique.

Principe Le dosage des flavonoïdes totaux dans les extraits végétaux a été réalisé selon une méthode colorimétrique reposant sur la complexation du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) avec les groupes hydroxyles des flavonoïdes, formant un complexe jaune dont l'intensité est mesurable par spectrophotométrie.

Une solution de trichlorure d'aluminium à 10 % a été obtenue en dissolvant 10 g d' AlCl_3 dans 100 ml de méthanol. En parallèle, l'acétate de sodium (CH_3COONa) a été mis en solution en dissolvant 0,984 g de sel dans 100 ml d'eau distillée. Une solution standard de quercétine a été préparée dans les mêmes conditions expérimentales afin de tracer une courbe d'étalonnage servant de référence (Les résultats sont exprimés en équivalents de quercétine (EQ)) (**Figure 08, Annexe 02**).

Les extraits végétaux ont été testés à cinq concentrations différentes par dilution méthanoïque : 1/50, 1/25, 1/20, 1/10 et 1/5, correspondant respectivement à l'ajout de 20 μl , 40 μl , 50 μl , 100 μl et 200 μl d'extrait, complétés par 980 μl , 960 μl , 950 μl , 900 μl et 800 μl de méthanol, pour un volume final de 1 ml. À chaque solution diluée, 0,5 ml de la solution d' AlCl_3 et 0,5 ml de celle de CH_3COONa ont été incorporés. (**Tableau V**).

Tableau V : préparation des solutions diluées pour le dosage des flavonoïdes

Concentration	1/50	1/25	1/20	1/10	1/5
V μl (méthanol)	980	960	950	900	800
V μl (extrait)	20	40	50	100	200

Un blanc réactionnel a été également mis en place, constitué de 1 ml de méthanol, 0,5 ml d' AlCl_3 et 0,5 ml de CH_3COONa , sans extrait, afin de servir de référence lors des mesures spectrophotométriques. Tous les tubes ont été incubés pendant 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière, pour permettre le développement du complexe flavonoïde- AlCl_3 . Après incubation, l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 415 nm. Cette absorbance a permis de déterminer la teneur en flavonoïdes totaux par comparaison avec la courbe d'étalonnage obtenue à partir de la quercétine.

II.6.2. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés, sont des composés phénoliques complexes et leur dosage est généralement réalisé par des méthodes colorimétriques, comme celle basée sur la réaction avec la vanilline en milieu acide.

Principe : La méthode de dosage des tanins condensés repose sur la réaction colorimétrique entre la vanilline et les unités flavan-3-ols présentes dans ces tanins, en présence d'acide chlorhydrique (HCl). Cette réaction forme un complexe coloré rouge, dont l'intensité peut être mesurée par spectrophotométrie. Pour la réalisation de ce dosage, une solution de vanilline à 1 % a été préparée en la dissolvant dans du méthanol. De même, une solution d'acide chlorhydrique à 8 % a été diluée, également dans le méthanol. Une solution mère de catéchine (1 mg/ml dans le méthanol) a été préparée pour servir de standard, et des dilutions de cette solution standard ont été réalisées pour établir une courbe d'étalonnage (**Figure 09, annexe 2**).

L'extrait végétal a été dilué selon huit concentrations différentes : 1/50, 1/40, 1/25, 1/20, 1/10, 1/5, 1/4 et 1/2. Pour chaque dilution, un volume spécifique de la solution mère (entre 20 μl et 500 μl) a été complété par du méthanol (entre 980 μl et 500 μl) afin d'obtenir un volume total constant. Un blanc réactionnel a également été préparé, contenant uniquement le méthanol et les réactifs, sans extrait, pour servir de référence. Ensuite, à chaque tube de dilution (et au blanc), ont été ajoutés successivement 2,5 ml de la solution de vanilline à 1 %, puis 2,5 ml de la solution de HCl à 8 % (**Tableau VI**).

Tableau VI : Préparation des solutions diluées pour le dosage des tanins condensés

Dilution	1/50	1/40	1/25	1/20	1/10	1/5	1/4	1/2
V μl (méthanol)	980	975	960	950	900	800	750	500
V μl (S. mère)	20	25	40	50	100	200	250	500

Les mélanges ont été incubés pendant 20 minutes dans un bain-marie à 30 °C, à l'abri de la lumière directe, afin de permettre la formation optimale du complexe coloré.

Enfin, la lecture de l'absorbance a été effectuée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, ce qui a permis de quantifier les tanins condensés par extrapolation à partir de la courbe standard (**Figure 09**) établie avec la catéchine.

II.6.3. Dosage des polyphénols

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits testés.

Principe : Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin–Ciocalteu, qui repose sur une réaction d'oxydoréduction entre les polyphénols présents dans l'échantillon et le réactif de Folin–Ciocalteu (RFC). Cette réaction produit un complexe coloré bleu, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques, mesurable par spectrophotométrie. Pour la mise en œuvre de cette méthode, une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5 % a été préparée en dissolvant 7,5 g de Na₂CO₃ dans 100 ml d'eau distillée. Le réactif de Folin–Ciocalteu a été utilisé sous forme diluée (1/10), en mélangeant 5 ml de RFC avec 45 ml d'eau distillée. Une solution standard d'acide gallique a été préparée dans du méthanol à une concentration de 0,2 mg/ml, afin d'établir une courbe d'étalonnage servant de contrôle positif (**Figure 10, annexe 2**).

Les extraits ont été dilués selon différentes concentrations en préparant une série de mélanges avec des volumes croissants de la solution mère (S. mère) d'extrait (de 25 à 200 µl), complétés avec du méthanol (de 175 à 0 µl) pour un volume final constant de 200 µl. Ensuite, pour chaque échantillon dilué, 1 ml du RFC dilué a été ajouté et le mélange a été laissé au repos pendant 5 minutes. Par la suite, 800 µl de la solution de Na₂CO₃ à 7,5 % ont été ajoutés à chaque tube. Le mélange final a été incubé pendant 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière, pour permettre le développement complet de la coloration (**Tableau VII**).

Tableau VII : Préparation des solutions diluées pour le dosage des polyphénols

V(méthanol) μl	200	175	150	125	100	75	50	25	0
V(S.mère) μl	0	25	50	75	100	125	150	175	200

Un blanc réactionnel a été préparé pour corriger l'absorbance due uniquement au RFC et au méthanol, sans présence d'extrait végétal. Ce blanc contenait 1 ml de RFC et 200 μl de méthanol, laissé au repos pendant 5 minutes, puis complété avec 800 μl de Na₂CO₃. Il a été incubé dans les mêmes conditions que les échantillons. La lecture des échantillons a été réalisée par spectrophotométrie, en comparant les absorbances à la courbe d'étalonnage construite à partir des différentes concentrations d'acide gallique.

II.6.4. Dosage des tanins hydrolysable

Les tanins hydrolysables, sont largement présents dans les plantes et jouent un rôle clé dans leurs propriétés antioxydantes. Leur quantification est essentielle pour évaluer leur activité biologique et leur teneur dans les extraits naturels. La méthode utilisant l'iodate de potassium (KIO₃) est basée sur l'oxydation spécifique des groupes galloyles. L'acide tannique, un tanin hydrolysable standard, est utilisé pour établir la courbe d'étalonnage.

Principe : Le dosage des tanins hydrolysables repose sur la réaction entre les groupes galloyles des tanins et le KIO₃, qui produit une coloration mesurable par spectrophotométrie, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en tanins. Pour la mise en œuvre de cette méthode, une solution de KIO₃ à 2,5 % a été préparée en dissolvant 2,5 g de KIO₃ dans 100 ml d'eau distillée. Une série de dilutions de l'extrait a été réalisée dans du méthanol, pour un volume final constant (**Tableau XIII, annexe 2**). Pour chaque échantillon dilué, 2,5 ml de la solution de KIO₃ ont été incubés à 30 °C pendant 7 minutes. Ensuite, 0,5 ml de l'extrait dilué a été ajouté, le mélange a été agité et incubé à 30 °C pendant 2 minutes supplémentaires. Un blanc a été préparé en incubant 2,5 ml de KIO₃ à 30 °C pendant 7 minutes, suivi de l'ajout de 0,5 ml de méthanol. Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide tannique (ETA). La courbe d'étalonnage de l'acide tannique montre une réponse linéaire entre l'absorbance et la concentration dans la plage de 10 à 100 μg/mL, avec un coefficient de corrélation supérieur à 0,99.

II.7. Évaluation des activités biologiques

II.7.1. Évaluation de l'activité anti inflammatoire *In Vitro*

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait éthanolique des plantes étudiées, en comparaison avec celle du Diclofénac sodique est estimée par le calcul des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines.

Principe : L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait a été réalisée à l'aide du test de dénaturation de l'albumine. L'extrait végétal a été préparé par macération éthanolique et hydro-éthanolique, suivi d'une récupération du résidu par dissolution dans de l'eau distillée, à une concentration finale de 10 mg/ml. De même, une solution standard de diclofénac sodique a été préparée dans l'eau distillée à la même concentration de 10 mg/ml, afin de servir de référence positive.

Des dilutions successives de l'extrait éthanolique ont été préparées dans de l'eau purifiée, en mélangeant des volumes croissants de solution mère (de 100 à 2000 µl) avec des volumes décroissants d'eau purifiée (de 1900 à 0 µl) pour un volume final constant de 2 ml. Chaque dilution a été testée dans des tubes réactionnels contenant 2 ml de l'extrait dilué, 2,8 ml de tampon phosphate (pH 6,4), et 200 µl d'albumine sérique bovine. Pour le témoin négatif, 2 ml d'eau distillée ont été utilisés à la place de l'extrait, avec les mêmes volumes de tampon et d'albumine (**Tableau VIII**).

Tableau VIII : Les dilutions de l'extrait pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire

V(EP) µl	1900	1800	1600	1200	1000	0
V(S mère) µl	100	200	400	800	1000	2000

Le diclofénac, en tant que contrôle positif, a été testé de la même manière : 2 ml de la solution de diclofénac, mélangés à 2,8 ml de tampon pH 6,4 et 200 µl d'albumine. Un témoin du diclofénac a été également préparé avec 2 ml d'eau, 2,8 ml de tampon et 200 µl d'albumine, afin de vérifier l'effet isolé du tampon et du solvant.

Tous les tubes ont été incubés dans un bain-marie à 37 °C pendant 15 minutes, pour simuler la température physiologique, puis chauffés à 72 °C pendant 10 minutes afin d'induire la dénaturation thermique des protéines. L'activité anti-inflammatoire est évaluée par la capacité des échantillons à inhiber la dénaturation de l'albumine, ce qui peut ensuite être mesuré par lecture spectrophotométrique.

II.7.2. Évaluation de l'activité antioxydante

Le radical DPPH (2,2 diphényles 1-picryl hydrazyl) est largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante des molécules biologiques, c'est un radical synthétique organique stable, qui peut être réduit en présence des antioxydants par transfert d'électron ou de proton.

Ainsi, la coloration violette typique du DPPH se dissipe et l'intensité de la réaction dépendra du potentiel antioxydant des substances testées.

Principe : L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits végétaux a été réalisée par la méthode du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), une méthode spectrophotométrique couramment utilisée pour mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres. Tout d'abord, une solution mère de l'extrait végétal a été préparée à la concentration souhaitée dans le méthanol. Le réactif DPPH a été préparé en dissolvant 0,04 g de DPPH dans 1 litre de méthanol, de manière à obtenir une solution violette ayant une absorbance initiale d'environ 1,2 à 515 nm. Une courbe d'étalonnage a également été établie à l'aide d'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence (**Figure 35, annexe 2**).

Des dilutions successives de l'extrait ont ensuite été préparées en mélangeant des volumes croissants de solution mère (de 100 à 1000 µl) avec des volumes décroissants de méthanol (de 900 à 0 µl) afin d'obtenir un volume total constant de 1 ml.

Pour chaque dilution, 100 µl de l'extrait dilué ont été ajoutés à 1,9 ml de la solution de DPPH. Un témoin négatif a été préparé dans les mêmes conditions, en ajoutant 100 µl de méthanol pur à 1,9 ml de DPPH, afin de corriger l'absorbance de référence (**Tableau IX**).

Tableau IX: Les dilutions de l'extrait pour l'évaluation de l'activité antioxydante

V(méthanol)) µl	900	800	700	600	500	400	300	200	100	0
V(Sol mère) µl	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000

L'ensemble des tubes a été incubé à température ambiante pendant une durée comprise entre 60 et 120 minutes, à l'abri de la lumière afin d'éviter toute dégradation du réactif. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, et le pourcentage d'inhibition du DPPH a été calculé pour chaque concentration d'extrait, en comparaison avec le témoin. L'activité antioxydante est ainsi exprimée en pourcentage d'inhibition ou en CE₅₀ (concentration efficace à 50 %), en référence à la courbe standard de l'acide ascorbique.

Dans le cadre de cette étude, les plantes médicinales initialement étudiées pour leurs propriétés thérapeutiques ont été complétées par l'ajout de *Saussurea costus* (costus), en raison de ses composés bioactifs reconnus, notamment les sesquiterpènes lactones et les huiles essentielles, aux effets anti-inflammatoires, antimicrobiens et antioxydants (Pandey et al., 2007).

II.7.3. Évaluation de l'effet antibactérien *in vitro* des extraits

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits des drogues végétal contre deux bactéries modèles, *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et *Escherichia coli* (Gram négatif).

La gélose Mueller-Hinton a été choisie comme milieu de culture de référence, en raison de sa composition standardisée et de sa recommandation pour les tests de sensibilité aux antibiotiques. Elle a été préparée en dissolvant 38 g de poudre commerciale dans un litre d'eau distillée, suivie d'une stérilisation par autoclavage ou ébullition.

Le milieu a ensuite été versé dans des boîtes de Pétri stériles (environ 20 ml/boîte), laissé à solidifier pendant 30 minutes à température ambiante, puis conservé au réfrigérateur jusqu'à utilisation.

Les extraits de plantes (grenade, armoise, réglisse) ont été dilués dans de l'eau distillée stérile afin d'obtenir des concentrations finales de 100, 75, 50 et 25 mg/ml. Chaque concentration a été appliquée sur des disques de papier stériles, à raison de 20 µL par disque, puis les disques ont été laissés à sécher dans des conditions aseptiques.

Les suspensions bactériennes ont été préparées à partir de cultures pures âgées de 24 heures. À l'aide d'un écouvillon stérile, une colonie de chaque souche a été suspendue dans 5 ml d'eau physiologique stérile (NaCl 0,9 %), homogénéisée à l'aide d'un vortex, puis ajustée à une turbidité équivalente à 0,5 McFarland (environ $1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

Le test de diffusion sur gélose (méthode des disques) a ensuite été réalisé. La surface des boîtes de gélose a étéensemencée uniformément avec chaque suspension bactérienne. Quatre disques imprégnés des différentes concentrations d'extrait ont été disposés sur chaque boîte. Un disque de contrôle positif contenant un antibiotique de référence (ampicilline ou ciprofloxacine) a été ajouté, ainsi qu'un disque de contrôle négatif imbibé uniquement d'eau distillée.

Les boîtes ensemencées ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque ont été mesurés en millimètres à l'aide d'une règle stérile ou d'un pied à coulisse. Ces mesures ont permis de quantifier l'effet antibactérien de chaque extrait à différentes concentrations.

II.8. Étude *in silico* : Docking moléculaire

II.8.1. Préparation des ligands et des structures protéiques de *Helicobacter pylori*

II.8.1.1. Téléchargement des structures chimiques :

La préparation des ligands issus de plantes médicinales a été réalisée selon une approche systématique. Les structures chimiques des composés bioactifs, incluant la glycyrrhizine (CID : 28), la punicalagine (PubChem CID : 16129719), le costunolide (PubChem CID : 5281437) et l'artémisinine (PubChem CID : 68827), ont été téléchargées depuis la base de données PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) (**Tableau XIV**).

Chaque molécule a été obtenue au format **SDF** ou **mol** en sélectionnant l'option de téléchargement correspondante.

II.8.1.2. Modélisation avec ACD/ChemSketch :

Dans les cas où une structure n'était pas disponible, le logiciel ACD/ChemSketch a été utilisé pour dessiner manuellement la molécule, puis enregistrée au format **mol**.

Par la suite, une optimisation géométrique a été réalisée à l'aide de ChemTool pour minimiser l'énergie conformationnelle des ligands.

Les fichiers **mol** ont été importés dans ChemTool, et la fonction « MM2 → Minimize Energy » a été exécutée pour atteindre une conformation de basse énergie.

Les structures optimisées ont été enregistrées au format **MDL MolFile** pour une utilisation ultérieure.

II.8.1.3. Préparation des cibles (protéines) :

Pour les protéines cibles de *Helicobacter pylori*, les structures tridimensionnelles de l'uréase et de la protéine CagA ont été téléchargées depuis la banque de données RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>).

Pour l'uréase, la structure libre (PDB ID : 1E9Z) et deux structures complexées avec des ligands (PDB ID : 1E9Y, complexée avec l'acétohydroxamique, et 6QSU, complexée avec un inhibiteur) ont été sélectionnées.

Pour CagA, la structure libre (PDB ID : 4DVY) et deux structures complexées (PDB ID : 4IRV, associée à ASPP2, et 3IEC, associée à la kinase PAR1b/MARK2) ont été retenues.

Les structures complexes ont été privilégiées afin de faciliter l'identification des sites actifs grâce à la présence de ligands (cofacteurs ou inhibiteurs).

II.8.1.4 Identification des acides aminés du sites actif

L'identification des acides aminés constitutifs des sites actifs a été réalisée en deux étapes complémentaires.

Tout d'abord, les structures complexes (1E9Y pour l'uréase, 4IRV et 3IEC pour CagA) ont été analysées à partir de la littérature.

Les résidus situés dans un rayon de 5 Å autour des ligands ont été sélectionnés et notés. Pour l'uréase, les acides aminés clés identifiés incluent Lys219 (impliqué dans la carbamylation) ainsi que His221, Asp362, qui coordonnent les ions nickel essentiels à l'activité enzymatique. Pour CagA, les acides aminés importants pour les interactions avec les protéines hôtes, ont été identifiés comme résidus clés.

En parallèle, une recherche bibliographique a été conduite sur PubMed et Google Scholar à l'aide de requêtes telles que « *H. pylori* urease active site résidus » pour confirmer les résultats. Les bases de données Catalytic Site Atlas (<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/CSA/>) et Binding DB (<https://www.bindingdb.org/>) ont également été consultées pour valider les résidus impliqués dans les sites actifs.

Cette approche combinée a permis une caractérisation précise des sites d'interaction pour les études de docking moléculaire ultérieures.

II.8.2. Analyse par Docking moléculaire

II.8.2.1. Préparation technique pour le docking

Des simulations de docking moléculaire ont été réalisées à l'aide d'**AutoDock Vina**[a] afin d'étudier les affinités de liaison entre CagA, l'uréase et quatre composés naturels : l'artémisinine, la costunolide, la glycyrrhizine et la punicalagine. Les ligands ont été modélisés et optimisés énergétiquement à l'aide du champ de force MM2, tandis que les structures des protéines cibles (ID PDB : 1E9Y pour CagA et 3IEC pour l'uréase) ont été récupérées depuis la Protein Data Bank RCSB (<http://www.rcsb.org>).

Avant le docking, toutes les molécules d'eau cristallographiques ainsi que les ligands co-cristallisés ont été retirés. Des atomes d'hydrogène ont été ajoutés pour compléter les structures.

Les ligands et les cibles ont été convertis au format PDBQT (Banque de données sur les protéines, charge partielle et type d'atome) à l'aide d'**AutoDockTools** v1.5.6.

II.8.2.2. Paramétrage des grilles de docking

Les grilles de docking ont été définies avec des centres aux coordonnées (128, 127, 88) pour CagA et (19, -6, 48) pour l'uréase, et des tailles de grille de $28 \times 24 \times 30 \text{ \AA}^3$ et $26 \times 24 \times 26 \text{ \AA}^3$, respectivement. Les ligands ont été considérés comme flexibles tout au long du processus de docking.

Les résultats de docking ont été visualisés et analysés à l'aide de Discovery Studio Visualizer v4.0[b].

II.9. Évaluation *in silico* de la toxicité des composés bioactifs

L'évaluation préclinique de la sécurité d'utilisation des composés bioactifs majeurs extraits de *Punica granatum*, *Artemisia annua*, *Glycyrrhiza glabra* et *Costus indien* a été réalisée à l'aide d'une approche *in silico*, basée sur la plateforme **ADMETlab 3.0**. Cette analyse visait à prédire les risques toxicologiques potentiels, en particulier la **toxicité aiguë orale**, avant toute formulation à visée humaine.

Les **quatre principaux composés** sélectionnés pour l'évaluation sont les suivants :

- **Glycyrrhizine** (*G. glabra*) – CID PubChem: 14982
- **Punicalagine** (*P. granatum*) – CID : 16129719
- **Costunolide** (*Costus indien*) – CID : 5281437
- **Artémisinine** (*A. annua*) – CID : 68827

Pour chacun de ces composés, la structure chimique au format **SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System)** a été extraite de la base de données **PubChem**. Ces chaînes ont été saisies dans l'interface de **ADMETlab3.0** afin de prédire différents paramètres ADMET, avec un focus particulier sur les **indicateurs de toxicité aiguë**, notamment la **DL50 orale chez le rat** (dose létale médiane prédite) et la **probabilité de toxicité élevée**.

Chapitre III :

Résultats et discussion

III.1. Résultat du rendement d'extraction

Les résultats des rendements des extraits hydro-éthanoliques (EHE) et éthanoliques (EE) sont regroupés dans le tableau X.

Tableau X : Rendement d'extraction

Plante	Grenade (EE)	Armoise annuelle (EHE)	Réglisse (EHE)
Rendement	1.25%	0.025%	1.86%

Le tableau X présente les valeurs calculées du rendement d'extraction de l'EE de grenade, de l'EHE de l'armoise annuelle et de l'EHE de réglisse. La réglisse présente le rendement le plus élevé en composés phénoliques avec **1,86 %**, ce qui suggère une forte concentration des métabolites dans ses racines, pour la grenade elle affiche un rendement intermédiaire de **1,25 %**, indiquant une teneur notable en composés phénoliques, probablement dominés par des ellagitannins et des flavonoïdes, enfin l'armoise annuelle montre le rendement le plus faible avec **0,25 %**, ce qui reflète une moindre abondance de composés phénoliques par rapport aux autres plantes.

- *Glycyrrhiza glabra* affiche le rendement le plus élevé avec **1,86 %**, traduisant une extraction particulièrement efficace des composés phénoliques et saponines à partir des racines. Ce rendement élevé est cohérent avec la littérature récente, qui souligne la richesse de la réglisse en glycyrrhizine et autres métabolites hydrosolubles, favorisant une extraction optimale dans les solvants hydro-alcooliques (**Pastorino et al., 2021**)
- *Punica granatum* présente un rendement intermédiaire de **1,25 %**. Ce résultat s'explique par la forte teneur en tanins hydrolysables (punicalagines, acide ellagique) de l'écorce, dont l'extraction est favorisée par l'éthanol. Des études récentes confirment que l'écorce de grenade, particulièrement riche en polyphénols, permet d'obtenir des rendements supérieurs à ceux des graines ou de la pulpe (Zhang et al., 2023)
- *Artemisia annua* enregistre le rendement le plus faible, soit **0,25 %**, ce qui reflète une moindre abondance de composés phénoliques extractibles dans les parties aériennes par rapport aux autres espèces.

Ce faible rendement est en accord avec les observations de **Chougouo et al. (2023)** qui montrent que l'extraction des flavonoïdes et de l'artémisinine est moins efficace dans les extraits hydro-alcooliques que dans les solvants plus apolaires.

La comparaison des rendements d'extraction met en évidence l'importance du choix de la partie de plante et du solvant pour optimiser la récupération des métabolites bioactifs. La richesse en saponines et polyphénols de la réglisse et de la grenade justifie leurs rendements élevés, alors que la composition chimique plus diversifiée et moins concentrée de l'armoise annuelle explique son rendement plus faible. Ces différences influencent directement la concentration en composés actifs des extraits, et donc leur potentiel pharmacologique dans les tests biologiques ultérieurs.

III.2. Résultat du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique qualitatif des extraits de *Punica granatum* (écorce), *Artemisia annua* (parties aériennes) et *Glycyrrhiza glabra* (racines) a révélé des profils distincts en métabolites secondaires, confirmant la richesse et la diversité de ces espèces en composés bioactifs

Les résultats de l'analyse qualitative par screening phytochimique des trois plantes étudiées sont rapportés dans le tableau XI.

Tableau XI : Résultat de l'analyse qualitative

plante	Quinones libres	Saponines	Terpénoïdes	Glycosides cardiaques
<i>Artemisia annua</i>	+++	++	+++	++
<i>Punica granatum</i>	++	+	+	+
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	++	+++	++	++

(+) signifie la présence.

Les résultats du screening affichés dans le tableau XI ont révélés des profils phytochimiques distincts chez *Artemisia annua*, *Punica granatum* et *Glycyrrhiza glabra*.

Artemisia annua se distingue par une forte présence de quinones libres (+++) et de terpénoïdes (+++), cohérente avec ses sesquiterpènes comme l'artémisinine, et une présence modérée de saponines (++) et glycosides cardiaques (++) (Ashok et al., 2013 ; Rizzello et al., 2014). *Punica granatum* montre une présence modérée de quinones libres (++) et faible de saponines (+), terpénoïdes (+) et glycosides cardiaques (+), avec une incohérence sur les saponines, absentes dans certains extraits selon Ali Redha et al., (2018), mais détectées par Bhandary et al., (2012) et Bouzid (2019). *Glycyrrhiza glabra* excelle avec une forte présence de saponines (+++), notamment la glycyrrhizine, une présence modérée de quinones libres (++) , terpénoïdes (++) et glycosides cardiaques (++) , confirmée par plusieurs études (Schmid et al., 2018 ; Khan et al., 2016 ; Varsha et al., 2013 ; Chandrasekharan et al., 2020). Comparativement, *A. annua* est la plus riche en quinones et terpénoïdes, *G. glabra* domine par les saponines, tandis que *P. granatum* présente des niveaux plus faibles, probablement influencés par les parties de la plante ou les méthodes d'extraction. Ces différences reflètent leurs usages médicaux, mais des analyses standardisées comme l'HPLC sont nécessaires pour lever les incohérences, notamment sur les saponines de *P. granatum* et la présence de glycosides cardiaques.

III.3. Résultat du dosage des composés phénoliques

Le dosage quantitatif des composés phénoliques a été réalisé sur les extraits éthanolique de *Punica granatum* (écorce), et hydro-éthanolique d'*Artemisia annua* (parties aériennes) et *Glycyrrhiza glabra* (racines), en intégrant également le Costus indien (*Saussurea costus*) pour la formulation synergique. Les teneurs ont été exprimées en mg par gramme de matière sèche (mg/g MS) pour les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les tanins condensés et les tanins hydrolysables, et les résultats sont décrits dans le tableau XII.

Tableau XII : Résultats du dosage des composés phénoliques

Plante	Polyphénols (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/g MS)	Tanins condensés (mg EC/g MS)	Tanins hydrolysables (mg EAT/g MS)
Armoise annuelle	468,912533	26,7464	9,091346154	90 ,881051
Costus	492,927067	37,8654	10,6490977	386,1007397
Grenade	425,097905	28,8638	19,04896926	476,5699301
Réglisse	310,77701	39,1814	46,06626326	197,164133

EAG : équivalent acide gallique

EQ : équivalent quercétine

EC : équivalent catéchine

EAT : équivalents acide tannique

Le tableau XII présente les concentrations (exprimées en mg par gramme de matière sèche – MS) de quatre grandes familles de composés : Polyphénols, Flavonoïdes, Tanins condensés, Tanins hydrolysables.

Ces composés sont connus pour leurs actions antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et, dans certains cas, hépatoprotectrices.(Zehor, 2024) L'évaluation comparative permet ainsi d'identifier quelles espèces pourraient être privilégiées pour des applications ciblées.

- *Punica granatum*(écorce) présente la plus forte teneur en polyphénols totaux et en tanins hydrolysables, principalement sous forme de punicalagines et d'acide ellagique. Cette richesse explique la capacité antioxydante et antimicrobienne supérieure de l'extrait, en accord avec (Zhang et al., 2023).
- *Artemisia annua* se distingue par une teneur élevée en flavonoïdes hydrosolubles (lutéoline, apigénine, quercétine), responsables de son activité antioxydante et anti-inflammatoire. Cette composition est conforme aux données de (Umer et al., 2022).
- *Glycyrrhiza glabra* affiche des teneurs modérées en polyphénols et flavonoïdes, mais sa spécificité réside dans la présence de saponines triterpéniques (glycyrrhizine), non quantifiées par la méthode Folin-Ciocalteu mais essentielles à ses effets biologiques. La littérature confirme que la glycyrrhizine et les flavonoïdes (liquiritigénine) contribuent à l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de la réglisse (Zhang et al., 2009).
- *Saussurea costus* (Costus indien) présente des teneurs plus faibles en polyphénols et flavonoïdes, mais une originalité chimique par ses lactones sesquiterpéniques (costunolide), qui confèrent une activité complémentaire.

Comparaison et pertinence pharmacologique

Les extraits les plus riches en tanins hydrolysables et polyphénols (*P.granatum*) sont aussi ceux qui présentent les meilleures performances antioxydantes et antimicrobiennes contre *H. pylori*. Les plantes à flavonoïdes variés (*A.annua*) offrent une double activité antioxydante et anti-inflammatoire, pertinente pour la modulation du stress oxydatif et de l'inflammation digestive.

Les résultats de quantification des composés phénoliques valident le choix des plantes, et sont en parfaite cohérence avec la littérature récente et soutiennent l'intérêt pharmacologique de ces extraits dans la prévention et la prise en charge des troubles digestifs liés à l'inflammation et à l'infection, ce qui justifie leur s dans une perspective synergique pour la formulation d'un complément alimentaire multi-cible capable d'agir sur le stress oxydatif, l'inflammation chronique et l'infection gastrique.

III.4. Résultat des activités biologiques

Nous avons évalué également l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de plantes testées par une méthode basée sur l'inhibition de la dénaturation de l'albumine de l'œuf. Les résultats obtenus montrent que ces plantes possèdent un pouvoir anti-inflammatoire, ce qui supporte son usage pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Ainsi, l'évaluation par le test au DPPH montre que les extraits possèdent une activité antioxydante. Ce travail contribue à la valorisation des produits naturels dans le développement de nouveaux agents antioxydants pour des applications thérapeutiques ou industrielles.

Les résultats des activités antioxydante et anti-inflammatoire évaluées *in vitro* sur les plantes étudiées en comparaison avec les produits de référence sont décrits dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Résultats de l'évaluation des activités antioxydantes et anti-inflammatoires

Plante	Activité antioxydante CE50 (mg/mL)	Activité anti-inflammatoire CE50 (mg/mL)
<i>Artemisia annua</i>	0,0217	0,49
Costus	0,0093	1,6138
Grenade	0,0079	0,9
Réglisse	0,0677	3,2812
Produits de référence	0,056	/
Acide ascorbique		
Diclofenac	/	0,9

III.4.1. Résultat de l'activité antioxydante

Les extraits de *Punica granatum* (écorce), *Artemisia annua* (parties aériennes) et *Glycyrrhiza glabra* (racines) présentent des profils antioxydants distincts, évalués par le test DPPH.

- *Punica granatum* : D'après le tableau XIII l'extrait d'écorce de grenade affiche une activité antioxydante très élevée, attribuée à sa richesse en tanins hydrolysables (punicalagines, acide ellagique) et polyphénols totaux. Cette capacité à neutraliser les radicaux libres est confirmée par (**Parisi et al., 2022**), qui démontrent une forte corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de grenade
- *Artemisia annua* : L'extrait se distingue par une activité antioxydante significative, portée par une teneur élevée en flavonoïdes hydrosolubles (lutéoline, apigénine, quercétine). Sachant que **Umer et al., (2022)** montrent que la lutéoline module la voie Nrf2, renforçant la défense cellulaire contre le stress oxydatif
- *Glycyrrhiza glabra* : L'activité antioxydante, bien que modérée, est portée par la glycyrrhizine et les flavonoïdes (liquiritigénine). **Zhou et al., (2021)** démontrent que la glycyrrhizine active la voie Nrf2 et augmente l'expression de HO-1, contribuant à la protection contre le stress oxydatif

- *Saussurea costus* : Concernant le *Costus indien*, les données spécifiques sur l'activité antioxydante sont encore limitées. Néanmoins, sa composition phytochimique (flavonoïdes, costunolide, acide chlorogénique) laisse supposer une activité antioxydante modérée. Une étude menée par **Vijayalakshmi et al., (2008)** a montré que les extraits méthanoliques du rhizome de *S. costus* présentaient une capacité à réduire les radicaux DPPH, avec une IC₅₀ comparable à celle de certains extraits de plantes médicinales.

III.4.2. Résultat de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par l'inhibition de la dénaturation de l'albumine *in vitro*.

- *Punica granatum* : Les ellagitannins et l'acide ellagique inhibent significativement COX-2 et LOX, et régulent négativement la voie NF-κB, réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-1β, IL-6). (**Parisi et al., 2022**) confirment l'effet multi-cible de l'extrait de grenade sur les voies inflammatoires majeures
- *Artemisia annua* : Les flavonoïdes (lutéoline, apigénine) inhibent la libération des prostaglandines et l'activation de la voie MAPK. (**Ghanem et al., 2022**) rapportent une réduction significative de l'inflammation aiguë, comparable à celle du diclofénac dans des modèles animaux.
- *Glycyrrhiza glabra* : La glycyrrhizine et la liquiritigénine inhibent la production de TNF-α, IL-1β et PGE2, tout en activant Nrf2. (**Zhou et al., 2021**) montrent que cette modulation réduit l'inflammation et protège la muqueuse digestive.
- *Saussurea costus* : Pour le costus indien les données sont moins nombreuses mais très prometteuses. Les lactones sesquiterpéniques, notamment la costunolide, ont été rapportées comme agents anti-inflammatoires via l'inhibition de la voie NF-κB et la suppression de la phosphorylation des protéines MAPK (**Lin et al., 2015**). Une étude *in vivo* a montré que l'extrait méthanolique de rhizome réduit significativement l'œdème de la patte induit au carraghénane chez les rats, avec une efficacité comparable à celle de l'indométacine (**Kumari et al., 2023**).

Les extraits de grenade et d'armoise annuelle montrent une efficacité anti-inflammatoire supérieure, agissant sur plusieurs cibles moléculaires, tandis que la réglisse et le costus indien complète cet effet par une modulation du stress oxydatif associé à l'inflammation chronique.

III.4.3. Mécanismes moléculaires

- **Mécanisme antioxydant :** Activation de la voie Nrf2/Keap1, augmentation de l'expression des enzymes SOD, CAT, HO-1, inhibition des voies MAPK et NOX (**Zhou X, et al., 2021. Umer, et al., 2022**).
- **Mécanisme anti-inflammatoire :** Inhibition de NF- κ B, COX-2, LOX, MAPK, réduction des cytokines pro-inflammatoires, modulation de l'inflammasome NLRP3 (**Ghanem L, et al., 2022 ; Parisi et al., 2022**)

◆ Résultat de l'activité antibactérien *in vitro* des extraits

▪ *Escherichia coli* :

Témoin négatif : absence de zone d'inhibition.

Témoin positif : zone d'inhibition de 2,6 cm.

Grenade, armoise, réglisse : absence de zones d'inhibition à toutes les concentrations.

▪ *Staphylococcus aureus* :

Témoin négatif : absence de zone d'inhibition.

Témoin positif : zone d'inhibition de 2,1 cm.

Grenade : zones d'inhibition de 1,5 cm (25 mg/ml), 1,8 cm (50 mg/ml), 2,0 cm (75 mg/ml), 2,7 cm (100 mg/ml).

Armoise : absence de zones d'inhibition.

Réglisse : zones d'inhibition de 1,5 cm (25 mg/ml), 1,5 cm (50 mg/ml), 1,9 cm (75 mg/ml), 2,5 cm (100 mg/ml).

Les extraits de grenade et de réglisse montrent une activité antibactérienne dose-dépendante contre *S. aureus*, avec des zones d'inhibition maximales de 2,7 cm (grenade, 100 mg/ml) et 2,5 cm (réglisse, 100 mg/ml). Aucun extrait n'a montré d'activité contre *E. coli*. L'armoise s'est révélée inefficace contre les deux bactéries. Le témoin positif valide la méthode avec des zones d'inhibition attendues.

L'activité des extraits de grenade et de réglisse contre *S. aureus* peut être attribuée à leurs composés bioactifs, comme les polyphénols (punicalagines, acide ellagique) pour la grenade et la glycyrrhizine pour la réglisse, qui perturbent les membranes ou les enzymes bactériennes (**Viuda-Martos et al., 2010 ; Wang et al., 2015**). L'absence d'effet contre *E. coli* s'explique par la barrière des lipopolysaccharides des Gram négatif (**Nikaido, 2003**). L'inefficacité de l'armoise pourrait résulter d'une faible concentration en composés actifs ou d'une limitation de la méthode de diffusion (**Kalemba & Kunicka, 2003**). Des tests supplémentaires, comme la CMI, sont nécessaires pour approfondir ces observations.

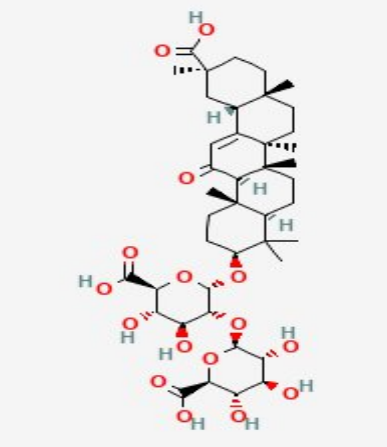
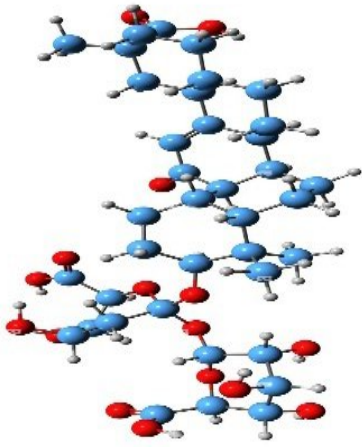
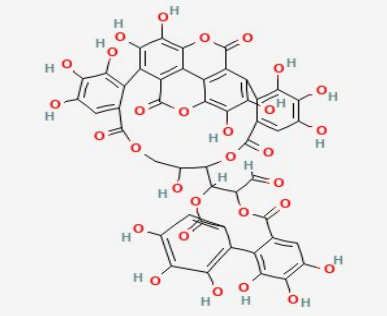
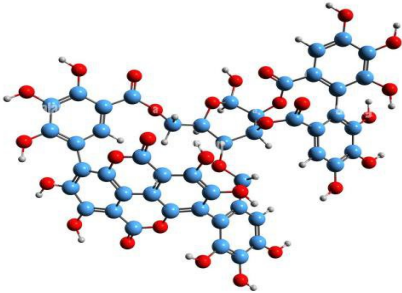
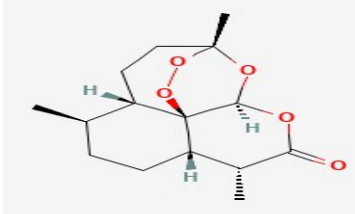
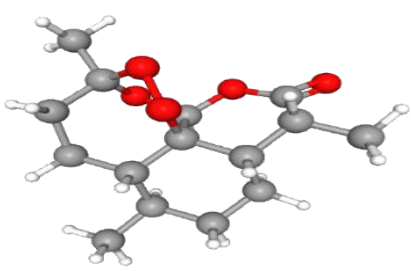
III.5. Résultats du docking moléculaire

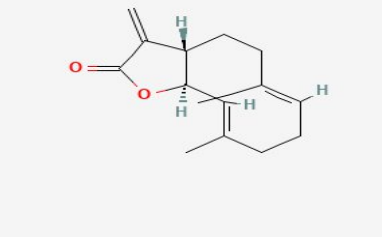
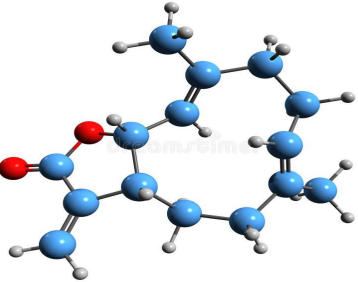
III.5.1. Résultat de la préparation technique pour le docking

III.5.1.1 Les ligands des plantes

Le tableau XIV montre les résultats de la recherche des structures 2D et 3D des ligands des plantes étudiées.

Tableau XIV : Structures 2D et 3D des composés des plantes

Les ligands	La structure 2D	La structure 3D
Glycyrrhizine	 Figure 11	 Figure 12
Punicalagine	 Figure 13	 Figure 14
Artémisinine	 Figure 15	 Figure 16

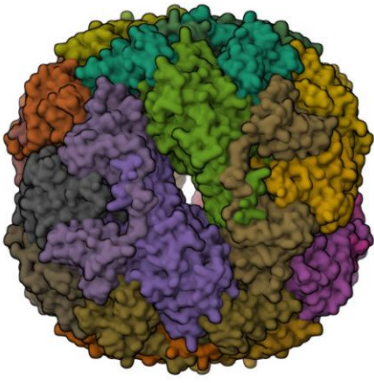
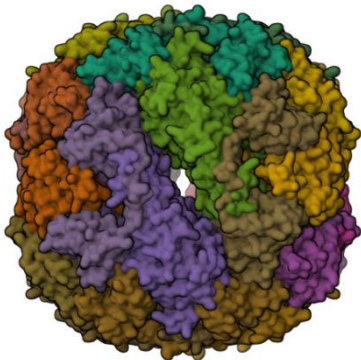
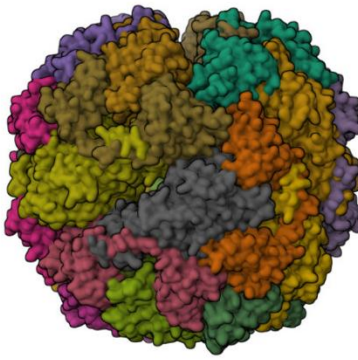
Costunolide	 Figure 17	 Figure 18
--------------------	---	--

III.5.1.2. Les protéines cibles

III.5.1.2.1. Les structures tridimensionnelles de l'uréase

les structures tridimensionnelles de l'uréase téléchargées depuis la banque de données RCSB PDB sont citées dans le tableau XV.

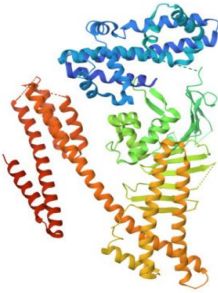
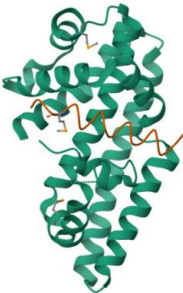
Tableau XV: Structures tridimensionnelles de l'uréase

La structure libre	complexée avec l'acétohydroxamique	complexée avec un inhibiteur
 Figure 19	 Figure 20	 Figure 21

III.5.1.2.2 Structures tridimensionnelles de CagA

les structures tridimensionnelles de la protéine CagA, téléchargées depuis la banque de données RCSB PDB sont citées dans le tableau XVI.

Tableau XVI : Structures tridimensionnelles de CagA

la structure libre	associée à ASPP2	associée à la kinase PAR1b/MARK2
 Figure 22	 Figure 23	 Figure 24

III.5.1.3. Les acides aminés du site actif**III.5.1.3.1. Les acides aminés du site actif de l'uréase**

Les acides aminés identifiés comme étant à proximité du ligand (rayon de 5 Å) dans la structure de l'uréase sont :

ALA 169 (chaîne B), KCX 219 (lys impliqué dans la carbamylation) (chaîne B) , HIS 221 (chaîne B), HIS 248 (chaîne B), HIS 274 (chaîne B), GLY 279 (chaîne B), ASP 362 (chaîne B), ALA 365 (chaîne B). (Bank, n.d.), (Ha NC et *al.*, 2001).

III.5.1.3.2. Les acides aminés du site actif de CagA associée à ASPP2 :

Les acides aminés identifiés dans la structures de CagA associée à ASPP2 sont :

CagA : Ile105, Val107, Phe114, Trp212, Phe219. (UniProt. (n.d.)).

ASPP2 : Tyr754, Lys751, Asn755, Met762. (UniProt. (n.d.-b)).

(Protein Data Bank in Europe, 2014), (Nešić, D et *al.*, 2014).

III.5.1.3.3. Les acides aminés du site actif de CagA associée à la kinase PAR1b/MARK2 :

Les acides aminés identifiés dans la structure de CagA associée à MARK2 sont :

CagA : Leu950, Arg952, Val956, Leu959, Phe948, His953, Lys955

MARK2 : E136, F138, D139 et autres dans le site de substrat (Protein Data Bank in Europe, 2010 ; UniProt. (n.d.-c)).

III.5.2. Résultat de l'analyse par Docking moléculaire

Parmi tous les composés étudiés, la glycyrrhizine a montré la plus forte affinité de liaison envers l'uréase et CagA, avec des scores de docking de $-9,7$ kcal/mol et $-6,6$ kcal/mol, respectivement. Cette forte affinité est principalement médiée par des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes avec des résidus clés au sein des sites actifs (**Figures 27 et 31**). La punicalagine montre également une affinité remarquable pour l'uréase ($-9,1$ kcal/mol) et CagA ($-8,4$ kcal/mol), avec des énergies de liaison comparables à celles d'antibiotiques classiques. Par rapport aux flavonoïdes d'*A. annua* (artémisinine) et le costunolide du Costus indien présentent des affinités modérées, mais leur profil multi-cible renforce l'effet synergique attendu en formulation (**Tableau XVII**).

Globalement, les interactions non covalentes stabilisant les complexes ligand–enzyme impliquent principalement des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes, avec des contributions électrostatiques supplémentaires observées dans le cas de la punicalagine (**Tableaux XVIII et XIX ; Figures 25–32**).

Tableau XVII : ΔG (kcal/mol) des quatre composés contre l'uréase (1e9y) et CagA (3iec).

Composé	Cible	ΔG (kcal/mol)	Interactions dominantes
Glycyrrhizine	Uréase	$-9,7$	Liaisons hydrogène, hydrophobes
	CagA	$-6,6$	Hydrogène, interactions π - π
Punicalagine	Uréase	$-9,1$	Hydrogène, électrostatiques
	CagA	$-8,4$	Hydrogène, électrostatiques
Artémisinine	Uréase	$-7,8$	Hydrophobes
	CagA	$-7,2$	Hydrophobes
Costunolide	Uréase	$-7,5$	Hydrophobes, faibles H-bonds
	CagA	$-7,0$	Hydrophobes

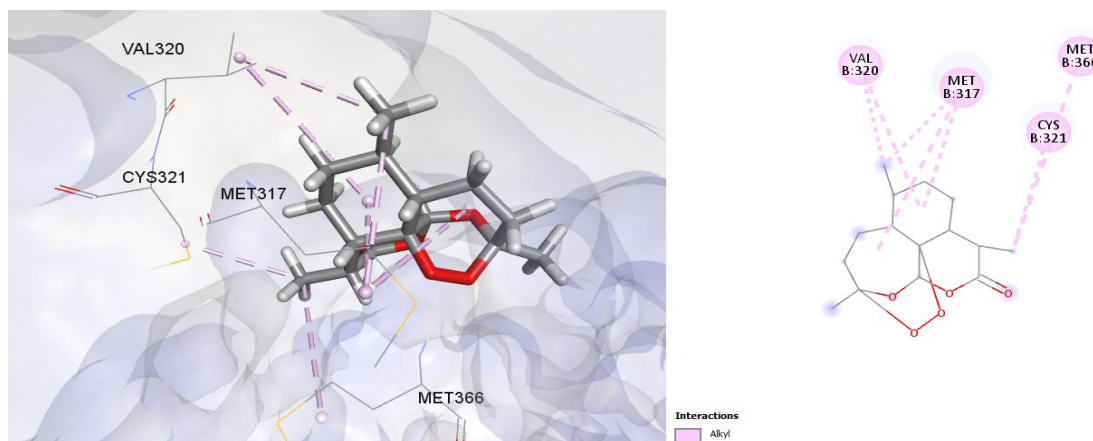


Figure 25: Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre l'artémisinine et l'uréase (1e9y.pdb).

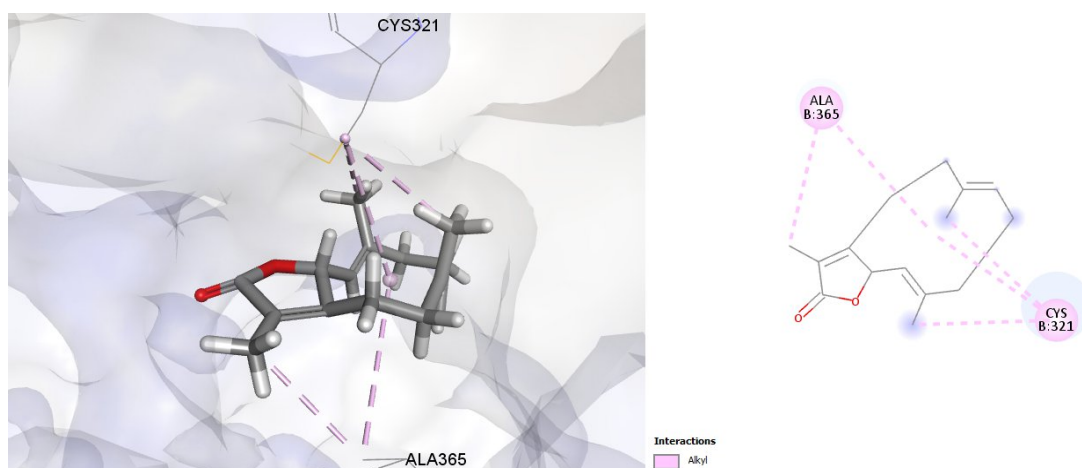


Figure 26: Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la costunolide et l'uréase (1e9y.pdb).

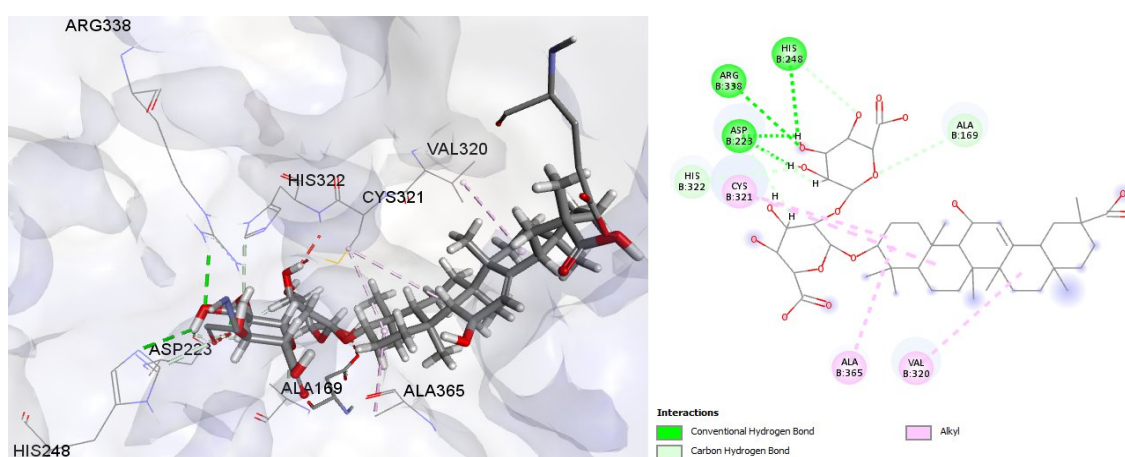


Figure 27: Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la glycyrrhizine et l'uréase (1e9y.pdb).

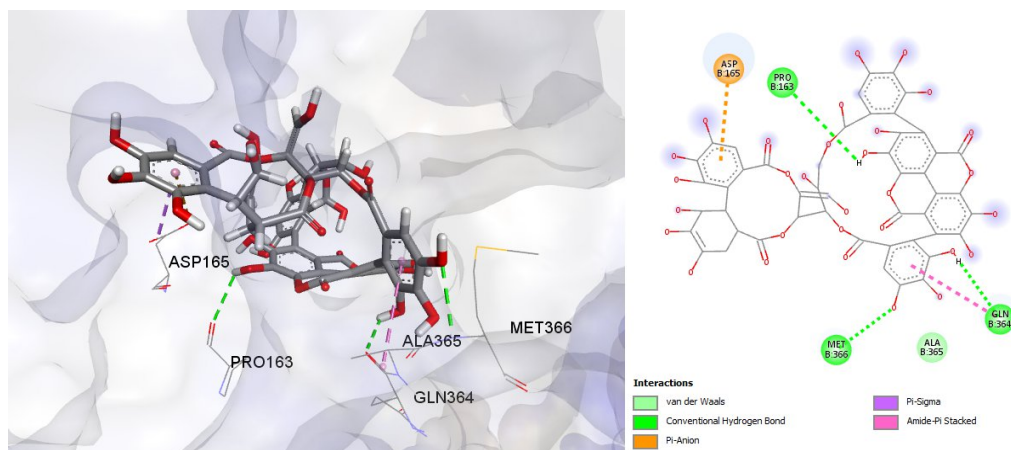


Figure 28: Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la punicalagine et l'urée (1e9y.pdb).

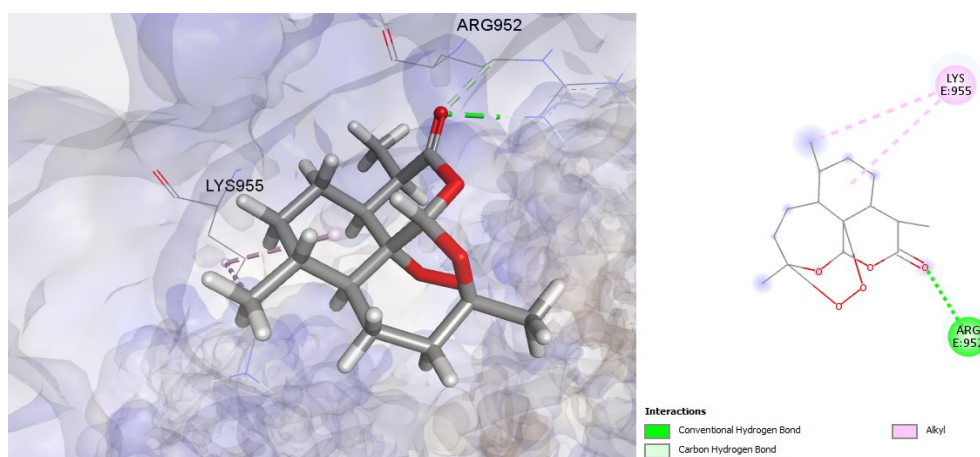


Figure 29 : 3D and 2D Fig. 5 : Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre l'artémisinine et CagA (3iec.pdb).ofartemisinin and CagA (3iec.pdb) non-bonded interactions.

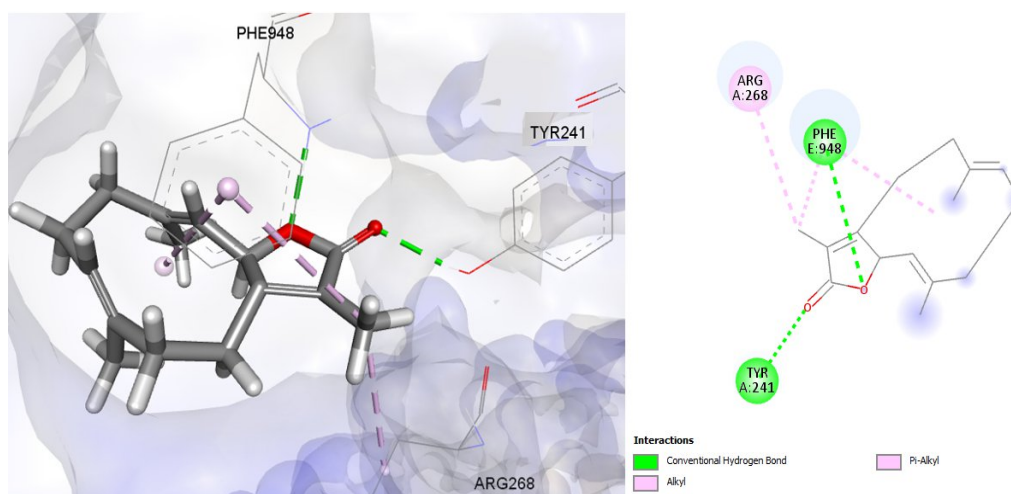


Figure 30: Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la costunolide et CagA (3iec.pdb).

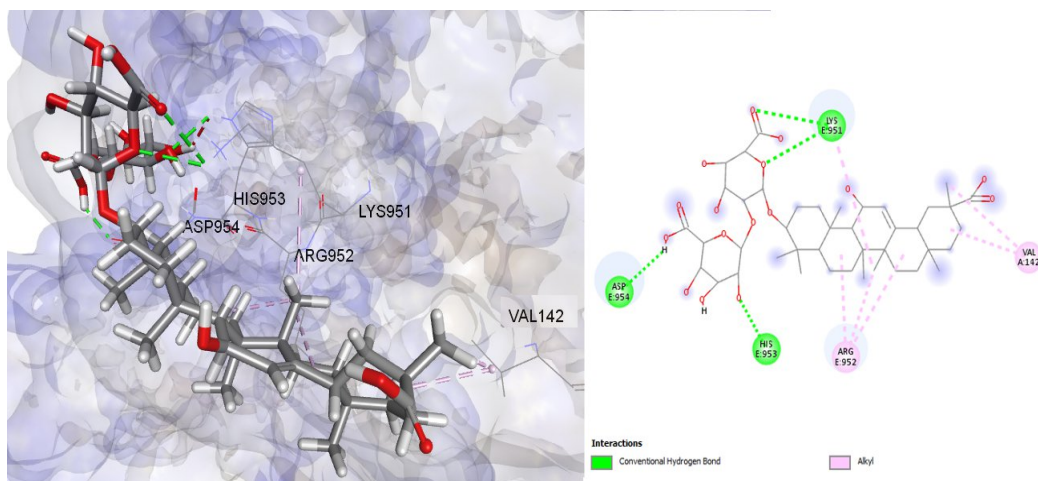


Figure 31: Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la glycyrrhizine et CagA (3iec.pdb).

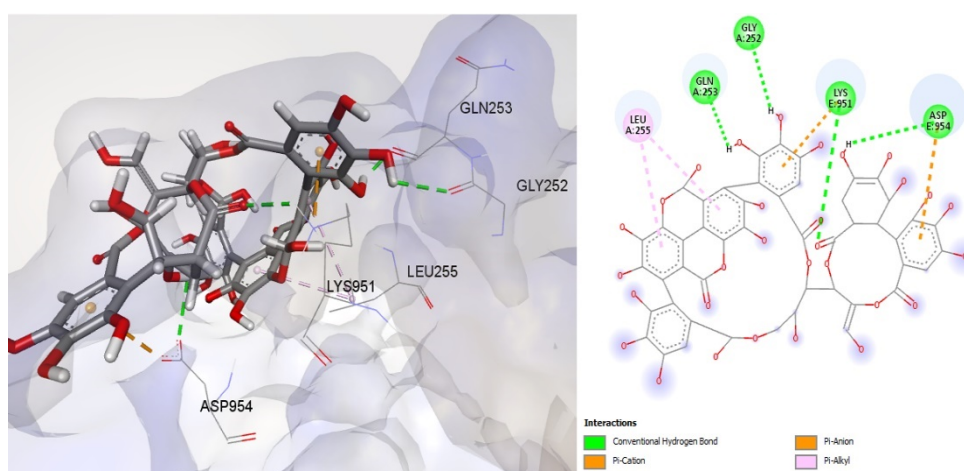


Figure 32: Présentation 3D et 2D des interactions non covalentes entre la punicalagine et CagA (3iec.pdb).

L'approche par le docking moléculaire a permis de prédire les interactions entre les composés bioactifs des extraits végétaux (*P.granatum*, *A.annua*, *G.glabra* et *S.costus*) et différentes cibles moléculaires impliquées dans la virulence ou l'inflammation induite par *Helicobacter pylori*. Cette analyse *in silico* complète les résultats *in vitro* et *in vivo*, en apportant une explication mécanistique à l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire observée.

Les interactions observées sont principalement des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes et, pour la punicalagine, des contributions électrostatiques, stabilisant fortement le complexe ligand-protéine.

Ces résultats corroborent les effets inhibiteurs *in vitro* observés pour la glycyrrhizine sur l'uréase et la CagA (Khan U, et al. 2023), et pour la punicalagine sur les enzymes bactériennes et inflammatoires (Parisi V, et al. 2022).

Les résultats de docking moléculaire et les études *in vitro* mettent en évidence le potentiel anti-*Helicobacter pylori* de plusieurs composés naturels. La glycyrrhizine inhibe significativement la croissance intracellulaire de *H. pylori* et réduit l'inflammation via l'autophagie et l'inhibition de la protéine HMGB1, mécanismes cohérents avec ses fortes affinités de docking (Khan et al., 2023). La punicalagine exerce un effet multi-cible sur les enzymes bactériennes et les voies inflammatoires, avec une efficacité comparable aux antibiotiques de référence (Parisi et al., 2022). L'artémisinine inhibe les souches résistantes de *H. pylori* et montre une synergie avec les antibiotiques, en accord avec ses affinités modérées mais multiples observées par le docking (Sisto et al., 2016). Enfin, le costunolide interagit de manière modérée avec l'uréase (-7,5 kcal/mol) et la CagA (-7,0 kcal/mol) de *H. pylori*, via des interactions principalement hydrophobes, avec de faibles liaisons hydrogène pour l'uréase et uniquement hydrophobes pour CagA, expliquant son activité dose-dépendante (CMI 100-200 µg/ml) sans inhibition de l'uréase, conformément aux données *in vitro* (Park et al., 1997). Bien que moins puissant que la glycyrrhizine ou la punicalagine, le costunolide pourrait contribuer de manière synergique dans des formulations ciblant la croissance bactérienne et l'inflammation, renforçant son potentiel gastroprotecteur.

Le docking moléculaire confirme la capacité des principaux composés de *Punica granatum*, *Artemisia annua*, *Glycyrrhiza glabra* et *Saussurea costus* à interagir de façon stable et spécifique avec les cibles moléculaires majeures de *H. pylori*. Ces résultats *in silico* expliquent et prédisent l'efficacité antimicrobienne et anti-inflammatoire observée *in vitro*, justifiant la stratégie de formulation synergique pour une application gastroprotectrice naturelle.

III.5.3. Résultat de l'évaluation *in silico* de la toxicité des composés bioactifs

Les résultats de l'évaluation *in silico* de la toxicité aiguë orale des composés bioactifs glycyrrhizine, punicalagine, costunolide et artémisinine, réalisée à l'aide de la plateforme ADMETlab 3.0, révèlent des probabilités variables de toxicité élevée chez le rat, exprimées en termes de DL50 orale (Tableau XX).

Tableau XX : Résultats de la toxicité aiguë orale des quatre composés bioactifs

Composé	Toxicité aiguë par voie orale ; dose létale 50 (DL₅₀)	Interprétation
<i>Glycyrrhizine</i>	0,038	Très faible toxicité
<i>Punicalagine</i>	0,082	Très faible toxicité
<i>Costunolide</i>	0,243	Toxicité modérée potentielle
<i>Artémisinine</i>	0,754	Toxicité modérée (surveillance requise)

L'évaluation *in silico* de la toxicité aiguë orale des composés bioactifs majeurs extraits de *P.granatum*, *A.annua*, *G.glabra* et *S.costus*, réalisée via la plateforme ADMETlab 3.0, révèle des profils de toxicité variés pour la glycyrrhizine, la punicalagine, le costunolide et l'artémisinine. La glycyrrhizine (*G. glabra*) affiche la probabilité de toxicité la plus faible (0,038), suggérant une sécurité relative pour une administration orale aiguë. La punicalagine (*P. granatum*), avec une probabilité de 0,082, présente un risque légèrement supérieur mais demeure dans un intervalle de faible toxicité. En revanche, le costunolide (*Costus indien*) montre un risque modéré (0,243), nécessitant une prudence accrue. L'artémisinine (*A. annua*) se distingue par la probabilité de toxicité la plus élevée (0,754), indiquant un risque significatif qui appelle à une évaluation approfondie.

Ces résultats soulignent la nécessité de confirmer ces prédictions par des *études in vitro et in vivo* pour garantir la sécurité d'utilisation de ces composés dans des applications thérapeutiques. (Figure 33 et 34).

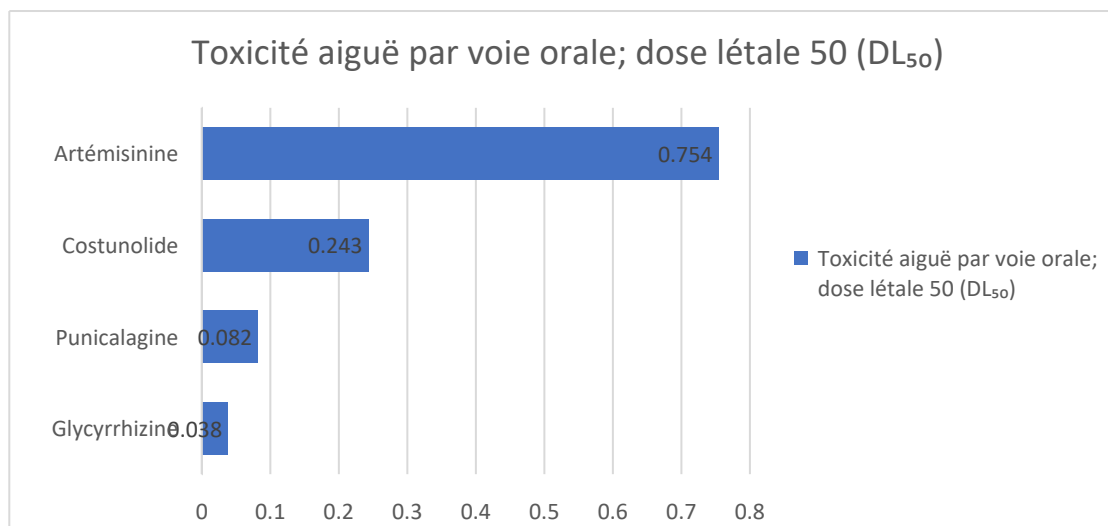


Figure 33 : Graphique à barre de la toxicité aiguë par voie orale des composés étudiés

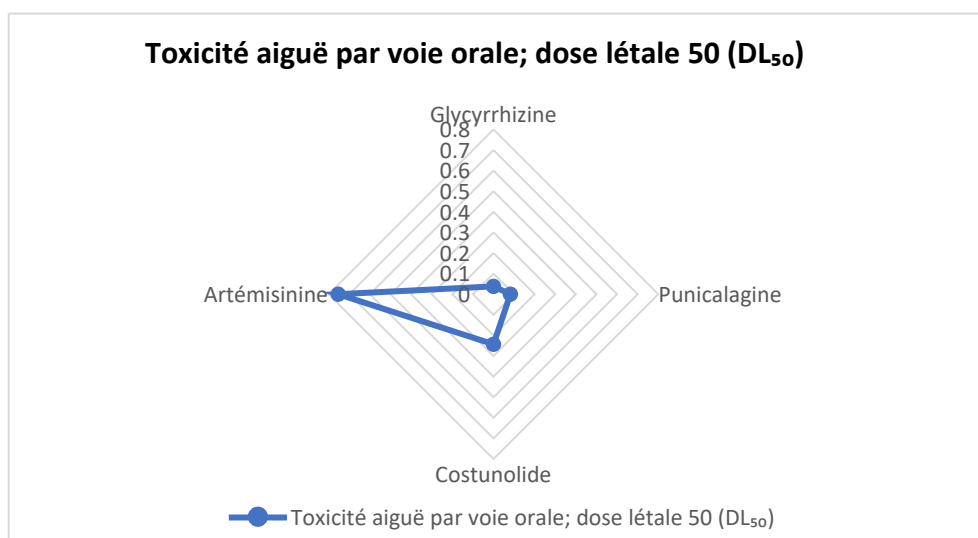


Figure 34 : Graphique radar de la toxicité aiguë par voie orale des composés étudiés

Les études sur la toxicité de la glycyrrhizine, de la punicalagine, du costunolide et de l'artémisinine, comparées aux prédictions *in silico* d'ADMETlab 3.0, révèlent des profils de sécurité variés, mettant en lumière les forces et les limites des modèles *in silico* pour évaluer la toxicité aiguë et chronique. Pour la glycyrrhizine, ADMETlab 3.0 prédit une faible probabilité de toxicité aiguë orale (0,038), cohérente avec sa DL50 élevée (12 700 mg/kg), suggérant une sécurité pour une administration unique.

Cependant, l'observation clinique d'**Eustache et al. (2020)** d'un patient de 68 ans consommant 70 mg/jour de glycyrrhizine via du Pastis montre une toxicité chronique grave (hypokaliémie, alcalose métabolique, suppression rénine-aldostérone) due à l'inhibition de l'enzyme 11 β -HSD2, exacerbée par l'âge, l'hypertension, l'éthylisme et la dénutrition. Cette discordance souligne que les prédictions *in silico* sous-estiment les risques métaboliques chroniques,

Qui ne sont pas capturés par les modèles axés sur la toxicité aiguë. En revanche, l'étude d'**Edeas (2010)** sur la punicalagine chez des rats Sprague-Dawley nourris avec un régime à 6 % pendant 37 jours montre une absence de toxicité significative, avec seulement une réduction initiale de la consommation alimentaire, de l'index d'utilisation alimentaire et du taux de croissance, attribuée à une faible appétence et non à une toxicité systémique. Les analyses sanguines (urée et triglycérides faibles) et histopathologiques (absence de lésions hépatiques ou rénales) corroborent la faible probabilité de toxicité aiguë prédite par ADMETlab (0,082), confirmant la sécurité à court terme de la punicalagine, même à haute dose. Pour le costunolide, l'étude d'**Eliza J et al. (2010)** rapporte une absence de toxicité aiguë jusqu'à 160 mg/kg chez des rats, sans changements comportementaux ou mortalité, et un effet antihyperglycémiant significatif chez des rats diabétiques (glycémie réduite de 385,6 à 137,4 mg/dl à 20 mg/kg). Cependant, ADMETlab prédit une probabilité de toxicité modérée (0,243), suggérant un risque plus élevé que celui observé *in vivo*, probablement en raison des limites des modèles *in silico*, qui ne tiennent pas compte du métabolisme de premier passage ou des spécificités biologiques. Enfin, l'étude ARTEMIP (**Cordis, 2012**) sur l'artémisinine montre une embryotoxicité et une tératogénicité liée à la production de ROS par le pont peroxyde, confirmées par des tests *in vitro* et *in vivo*, avec des malformations embryonnaires (squelette, hématopoïèse, vascularisation) au premier trimestre. Ces résultats concordent avec la probabilité élevée de toxicité aiguë prédite par ADMETlab (0,754), mais cette dernière ne capture pas les mécanismes spécifiques de toxicité reproductive, bien que des modifications (liants alkyle, antioxydants) puissent réduire ce risque. En somme, tandis que les prédictions d'ADMETlab sont globalement cohérentes pour la toxicité aiguë (punicalagine, artémisinine), elles sous-estiment les risques chroniques (glycyrrhizine) ou surestiment les risques aigus (costunolide), soulignant la nécessité d'intégrer des études *in vivo et in vitro* pour une évaluation complète des profils de sécurité, particulièrement pour les effets à long terme ou spécifiques comme la toxicité reproductive.

Conclusion

Conclusion

L'infection à *Helicobacter pylori* reste un problème de santé publique majeur, en raison de sa forte prévalence et de sa capacité à provoquer des pathologies gastro-intestinales graves. Face aux limites des traitements conventionnels, notamment la résistance croissante aux antibiotiques, l'exploration d'alternatives thérapeutiques naturelles s'avère essentielle et une démarche prometteuse.

Dans ce travail, nous avons étudié le potentiel pharmacologique de trois plantes médicinales : *Punica granatum*, *Artemisia annua* et *Glycyrrhiza glabra*. Ces espèces, connues pour leurs usages traditionnels, ont été soumises à une approche expérimentale et numérique combinée.

L'évaluation *in vitro* de leurs extraits a révélé des activités antioxydantes et anti-inflammatoires notables, soutenant leur intérêt en tant qu'agents protecteurs de la muqueuse gastrique. L'analyse *in silico*, à travers le docking moléculaire, a permis de prédire une forte affinité de certains composés bioactifs avec des cibles clés de *H. pylori*, suggérant une activité antimicrobienne potentielle. De plus, les données issues de la plateforme ADMETlab 3.0 ont mis en évidence des profils toxicologiques favorables.

L'ensemble de ces résultats a conduit à la formulation d'un complément alimentaire phytothérapeutique sous forme de sirop, combinant les trois plantes étudiées. Cette formulation constitue une première étape vers le développement d'un produit gastro protecteur naturel, destiné à soutenir ou prévenir les infections liées à *H. pylori*.

Pour approfondir ce travail, des études *in vivo*, suivies d'essais cliniques, seraient nécessaires afin de confirmer l'efficacité et la sécurité de la formulation proposée. Cette étude ouvre ainsi la voie à de nouvelles perspectives en phytothérapie à visée digestive, en valorisant des ressources végétales locales aux effets prometteurs.

Références bibliographiques

- [a] O. Trott, A. J. Olson. (2010). AutoDockVina : improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 31 455-461.
- [b] Dassault systèmesbiovia, discovery studio modeling environment, release 2017, San Diego: Dassault systèmes, 2016. 11373617.
- Academy of Sciences, 111(4), 1562–1567. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320631111>
- acetohydroxamic acid. <https://www.rcsb.org/structure/1E9Y>
- Ali Redha, A., Hasan, A., &Mandeel, Q. (2018). Phytochemical determinations of Pomegranate (*Punica granatum*) Rind and Aril extracts and their antioxidant, antidiabetic and antibacterial activity. *Nat Prod Chem Res*, 6(4), 1-9.
- Anonyme (1) <https://artemisia-shop.de/fr/blogs/artemisia/einjaehriger-beifuss>
- Anonyme (2) Plantes ou préparations de plantes - Synadiet. (2023, January 4). Synadiet. <https://www.synadiet.org/les-complements-alimentaires/plantes-ou-preparations-de-plantes/>
- Anonyme (3). (2025, May 9). Les compléments alimentaires : quel intérêt et quelle efficacité ? - Synadiet. Synadiet. <https://www.synadiet.org/leur-role/>
- Asha, M. K., Debraj, D., Prashanth, D., Edwin, J. R., Srikanth, H., Muruganantham, N., Dethe, S. M., Anirban, B., Jaya, B., Deepak, M., & Agarwal, A. (2012). *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of a flavonoid rich extract of *Glycyrrhiza glabra* and its probable mechanisms of action. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(2), 581–586. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.11.033>)
- Bekir, J., Mars, M., Souchard, J. P., &Bouajila, J. (2013). Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 470–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.036>
- Belabbas Souheila, B., & zed Abeoub, C. (2021). Etude de l'activité antioxydant et antibactérien des extraits aqueux et méthanoliques de la plante médicinale *Glycyrrhiza glabra* L. de quatre régions.
- Ben Ajmia, W , Makni, M., Ammar, S., Khannous, L., Hassana, A. B., Bouaziz, M., Es-Safi, N. E., &Gdoura, R. (2016). Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum* L. extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.007>
- Benoît Bock & al. (2024). Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine et régions avoisinantes. Version 9.01 du 23 janvier
- BOUZID, A. (2019). Screening phytochimique et activités biologiques des extraits d'écorces et de membranes de la grenade (*Punica granatum* L.) (By HAMID OUJANA A., BELABBASSI O., KHEN M.A., BEN SAMEOUNE Youcef, BEN DEKKEN, Amina, & Fatima) [Thesis]. <http://dspace.univ-ghardaia.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/5909/1/document%20m%C3%A9moire.pdf>

Références bibliographiques

- Brown, L. M., Thomas, T. L., L. J., MA, Chang, Y. S., You, W. C., Liu, W. D., Zhang, L., & Gail, M. H. (2001). *Helicobacter pylori* Infection in Rural China: Exposure to Domestic Animals During Childhood and Adulthood. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 33(9), 686–691. <https://doi.org/10.1080/00365540110026845>
- Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2e édition, Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 915 p.
- Bruno, G. (2016). Chapter 14 – Pomegranate juice and extract. In R. R. Watson & V. R. Preedy (Eds.), *Fruits, Vegetables, and Herbs* (pp. 293-312), Academic Press.
- CHOUGOUO-NKUITCHOU KENGNE, R. D., N'Guessan GnamanClemence, C., Kouakou, S. L., Djoko, E., Tuo Kouassi, A., Lia, A., Aka Any-Grah, S., N'Guessan, A., Dally, I., & Koffi, A. (2023). Comparative study of the processes for obtaining secondary metabolites from leaves and stems of *Artemisia annua* (Asteraceae). *Journal Africain De Technologie Pharmaceutique Et Biopharmacie (JATPB)*, 1(2), 42–56. <https://doi.org/10.57220/jatpb.v1i2.30>
- Chougouo-Nkuitchou, R. D., N'guessan, A., Nkamenjo, C., Djoko, E., Kouamouo, J., Tane, P., ... & Wouessidjewe, D. (2020). Formulation de Gélules à Base de Feuilles et de Tiges d'*Artemisia Annua*. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE*, 21(4).
- components of pomegranate waste used in food and cosmetic applications: a review. *Foods*, 10(3), 657. <https://doi.org/10.3390/foods10030657>
- Couplan F. (2000). Dictionnaire étymologique de botanique. Delachaux et Niestle, Paris, p 85-97.
- Dilekh F., Messaoudi I. (2019). Etude de quelques activités biologiques de glycyrrhizin extrait de la plante médicinale *Glycyrrhiza glabra* L. de deux régions.
- Dore, M. P., Sepulveda, A. R., El-Zimaity, H., Yamaoka, Y., Osato, M. S., Mototsugu, K., Nieddu, A. M., Realdi, G., & Graham, D. Y. (2001). Isolation of *Helicobacter pylori* From Sheep—Implications for Transmission to Humans. *The American Journal of Gastroenterology*, 96(5), 1396–1401. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.03772.x>
- Duan, Y., Xu, Y., Dou, Y., & Xu, D. (2025). *Helicobacter pylori* and gastric cancer: mechanisms and new perspectives. *Journal of Hematology & Oncology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01654-2>
- Esther, L. E., Khusro, A., Immanuel, P., Esmail, G. A., Al-Dhabi, N. A., & Arasu, M. V. (2020). Photo-activated synthesis and characterization of gold nanoparticles from *Punica granatum* L. seed oil: An assessment on antioxidant and anticancer properties for functional yoghurt nutraceuticals. *Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology*, 206, 111868. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111868>
- Farag, M. A., & Wessjohann, L. A. (2012). Volatiles profiling in medicinal licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) roots using steam distillation and solid-phase microextraction (SPME) coupled to chemometrics. *Journal of Food Science*, 77(11), C1179-C1184.
- Fenghour M., Mekimah M., Cherbal A. E. (2010). Les Vertus therapeutiques de *Glycyrrhiza glabra* (Doctoral dissertation, université de jijel).

- Ferreira JF, Luthria DL, Sasaki T, Heyerick A. (2010). Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. *Molecules*. Apr 29;15(5):3135-70. doi: 10.3390/molecules15053135. PMID: 20657468; PMCID: PMC6263261.
- Figure 02 :Noreen, S., Hashmi, B., Aja, P. M., &Atoki, A. V. (2025). Phytochemicals and pharmacology of pomegranate (*Punica granatum* L.): nutraceutical benefits and industrial applications: a review. *Frontiers in Nutrition*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1528897>.
- Figure 03 : A : Vuyck, L. (1906) Flora Batava. 22. Band. Vincent Loosjes, Haarlem. Tafel 1697
- Figure 03 : B : Anonyme (4) https://seedfella.com/cdn/shop/files/il_fullxfull.2143649740_qk5a.jpg?v=1738157313
- Figure 04 : A : <https://www.altheaprovence.com/reglisse-glycyrrhiza-glabra/>
- Figure 04 :B : https://www.picturethisai.com/fr/wiki/Glycyrrhiza_glabra.html
- Figure 04 :C : <https://www.medicament.com/4404-racine-de-r%C3%A9glisse-3366961210009.html>
- Figure 04 :D : <https://www.alamyimages.fr/photo-image-la-reglisse-glycyrrhiza-glabra-de-fruits-72731444.html>
- Figure 05 :Anonyme (5). (2023, February 28). *Helicobacter pylori* ilustração da estruturacelular | Vetor Premium. . Freepik. https://br.freepik.com/vetores-premium/helicobacter-pylori-ilustracao-da-estrutura-celular_38787674.htm#from_element=cross_selling_vector?sign-up=google
- Flagg, A. J. (2020). Traditional and current use of ginseng. *Nursing Clinics of North America*, 56(1), 109–121. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2020.10.011>
- Fukai, T., Marumo, A., Kaitou, K., Kanda, T., Terada, S., & Nomura, T. (2002). Anti-*Helicobacter pylori* flavonoids from licorice extract. *Life Sciences*, 71(12), 1449–1463. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(02\)01864-7](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(02)01864-7)
- Gaby A. (1988). Deglycyrrhizinated licorice treatment of pepticulcer. *Food chemistry*, 56: 150-160
- Ge, S., Duo, L., Wang, J., GegenZhula, N., Yang, J., Li, Z., & Tu, Y. (2021). A unique understanding of traditional medicine of pomegranate, *Punica granatum* L. and its current research status. *Journal of Ethnopharmacology*, 271, 113877. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113877>
- Ge, S., Duo, L., Wang, J., GegenZhula, N., Yang, J., Li, Z., & Tu, Y. (2021). A unique understanding of traditionalmedicine of pomegranate, *Punica granatum* L. and itscurrentresearchstatus. *Journal of Ethnopharmacology*, 271, 113877
- Ghanem et al. (2022). *Natural Product Research*, 36(4), 569–578.
- Ghanem, L., El Gendy, M., & Farag, M. A. (2022). Artemisinin and its derivatives: A novel therapeutic strategy against oxidative stress and inflammation. *Natural Product Research*, 36(4), 569–578. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1881569>
- Guerrero-Solano, J. A., Jaramillo-Morales, O. A., Jiménez-Cabrera, T., Urrutia-Hernández, T. A., Chehue-Romero, A., Olvera-Hernández, E. G., & Bautista, M. (2020). *Punica protopunica*Balf., the Forgotten Sister of the Common Pomegranate

- (*Punica granatum* L.): Features and Medicinal Properties—A Review. *Plants*, 9(9), 1214. <https://doi.org/10.3390/plants9091214>
- Ha NC, Oh ST, Sung JY, Cha KA, Lee MH, Oh BH (2001). Supramolecular assembly and acid resistance of *Helicobacter pylori* urease. *Nat Struct Biol.* Jun;8(6):505-9. doi: 10.1038/88563. PMID: 11373617.
 - HAMMADOU Ferial, S. O. (2019). Etude de l'activité antioxydant et anti-inflammatoire des extraits aqueux et méthanoliques de la plante médicinale *Glycyrrhiza glabra* L. de quatre régions.
 - Hatano, T., Yasuhara, T., Fukuda, T., Noro, T., & Okuda, T. (1989). Phenolic constituents of licorice. II. Structures of licopyranocoumarin, licoaryl coumarin and glisoflavone, and inhibitory effects of licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(11), 3005-3009.
 - Hernández-Corroto, E., Plaza, M., Marina, M. L., & García, M. C. (2020). Sustainable extraction of proteins and bioactive substances from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) using pressurized liquids and deep eutectic solvents. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 60, 102314. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102314>
 - <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00544>
 - https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/100427/tab/taxo
 - <https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl>
 - INSERM (Salle de presse). (2020, July 2). L'Artemisia plante miracle, vraiment ? *Salle De Presse De L'Inserm*. <https://presse.inserm.fr/canal-detox/lartemisia-plante-miracle-vraiment/>
 - Kalembe, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813-829.
 - Khalifa, M. M., Sharaf, R. R., & Aziz, R. K. (2010). *Helicobacter pylori*: a poor man's gut pathogen? *Gut Pathogens*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/1757-4749-2-2>
 - Khan, S., Pandotra, P., Manzoor, M. M., Kushwaha, M., Sharma, R., Jain, S., ... & Gupta, S. (2016). Terpenoid and flavonoid spectrum of *in vitro* cultures of *Glycyrrhiza glabra* revealed high chemical heterogeneity: platform to understand biosynthesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 124, 507-516.
 - Khan, U., Karmakar, BC, Basak, P. et coll. (2023). La glycyrrhizine, un inhibiteur de HMGB1, induit une fonction de dégradation autolysosomale et inhibe l'infection à *Helicobacter pylori*. *Mol Med* 29, 51. <https://doi.org/10.1186/s10020-023-00641-6>
 - Ko, K., Dadmohammadi, Y., & Abbaspourrad, A. (2021). Nutritional and bioactive
 - Kpossou, A. R., et al. (2021). Infection par *Helicobacter pylori* : prévalence et facteurs associés dans une population tout venant d'après une recherche par test respiratoire à l'urée marquée au carbone 14. *Pan African Medical Journal*, 40, 266. <https://doi.org/10.11604/pamj.2021.40.266.22378>
 - Krausse, R. (2004). *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of Extractumliquiritiae, glycyrrhizin and its metabolites. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(1), 243–246. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh287>

- Kumari, R., Negi, M., Thakur, P., Mahajan, H., Raina, K., Sharma, R., Singh, R., Anand, V., Ming, L. C., Goh, K. W., Calina, D., Sharifi-Rad, J., & Chaudhary, A. (2023). *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch.: a comprehensive review of its pharmacology, phytochemicals, ethnobotanical uses, and therapeutic potential. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397(3), 1505–1524. <https://doi.org/10.1007/s00210-023-02694-0>
- Kusters, J. G., Van Vliet, A. H. M., & Kuipers, E. J. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter Pylori* Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 449–490. <https://doi.org/10.1128/cmr.00054-05>
- Leclerc, H. (2006). Sur quelques aspects épidémiologiques de l'infection à *Helicobacter pylori*. *Bulletin De L Académie Nationale De Médecine*, 190(4–5), 949–962. [https://doi.org/10.1016/s0001-4079\(19\)33277-7](https://doi.org/10.1016/s0001-4079(19)33277-7)
- Maison de l'Artemisia. (2020, December 11). *L' Artemisia annua - La Maison de l'Artemisia - Cette plante peut sauver des millions de vie*. La Maison De L'Artemisia - Cette Plante Peut Sauver Des Millions De Vie. <https://maison-artemisia.org/l-artemisia-du-cote-agronomique/artemisia-annua/>
- Mayyas A, Abu-Sini M, Amr R, Akasheh RT, Zalloum W, Khadair A, Hamad I, Aburjai T, Darwish RM, Abu-Qatouseh L. (2021). Novel *in vitro* and *in vivo* anti-*Helicobacter pylori* effects of pomegranate peel ethanol extract. *Vet World*. Jan;14(1):120-128. doi: 10.14202/vetworld.2021.120-128. Epub 2021 Jan 16. PMID: 33642795; PMCID: PMC7896906.
- Mégraud, F. (2018). *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance. *Gut*, 67(6), 1140–1147. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314604>
- Mestry, S. N., Dhodi, J. B., Kumbhar, S. B., & Juvekar, A. R. (2016). Attenuation of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats by *Punica granatum* Linn. leaves extract. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(3), 273–280. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.06.008>
- Moga, M. A., Dimienescu, O. G., Bălan, A., Dima, L., Toma, S. I., Bîgiu, N. F., & Blidaru, A. (2021). Pharmacological and Therapeutic Properties of *Punica granatum* Phytochemicals: Possible Roles in Breast Cancer. *Molecules*, 26(4), 1054. <https://doi.org/10.3390/molecules26041054>
- Moga, M. A., Dimienescu, O. G., Bălan, A., Dima, L., Toma, S. I., Bîgiu, N. F., & Blidaru, A. (2021). Pharmacological and Therapeutic Properties of *Punica granatum* Phytochemicals: Possible Roles in Breast Cancer. *Molecules*, 26(4), 1054. <https://doi.org/10.3390/molecules26041054>
- N, S. N., Dhodi, J. B., Kumbhar, S. B., & Juvekar, A. R. (2016). Attenuation of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats by *Punica granatum* Linn. leaves extract. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(3), 273–280. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.06.008>
- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593–656.
- Parisi, V., Santoro, V., Donadio, G., Bellone, M. L., Diretto, G., Sandri, C., ... & Braca, A. (2022). Comparative chemical analysis of eight *Punica granatum* L. peel

- cultivars and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Antioxidants*, 11(11), 2262.
- Park JB, Lee CK, Park HJ.(1997).Anti-*Helicobacter pylori* effect of costunolide isolated from the stem bark of *Magnolia sieboldii*. *Arch Pharm Res.* Jun;20(3):275-9. doi: 10.1007/BF02976157. PMID: 18975164.
 - PDBe < EMBL-EBI. <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/3iec/index>
 - PDBe < EMBL-EBI. <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/4irv>
 - Pottathil, S., Nain, P., Morsy, M. A., Kaur, J., Al-Dhubiab, B. E., Jaiswal, S., & Nair, A. B. (2020). Mechanisms of Antidiabetic Activity of Methanolic Extract of *Punica granatum* Leaves in Nicotinamide/Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetes in Rats. *Plants*, 9(11), 1609. <https://doi.org/10.3390/plants9111609>
 - Protein Data Bank in Europe. (2010). PDB 3iec structure summary < Protein Data Bank in Europe
 - Protein Data Bank in Europe. (2014). PDB 4irv structure summary < Protein Data Bank in Europe
 - Rezak H.Y. (2022-2023). Cours Hydro-Bromatologie 5eme année Pharmacie . In Cours Hydro-Bromatologie 5eme Année Pharmacie 2022-2023 (pp. 1–5). <https://facmed.univ-constantine3.dz/wp-content/uploads/2023/04/les-complements-alimentaires.pdf>
 - Rizzello, F., De Paolis, A., Durante, M., Blando, F., Mita, G., &Caretto, S. (2014). Enhanced production of bioactive isoprenoid compounds from cell suspension cultures of *Artemisia annua* L. using β -cyclodextrins. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(10), 19092-19105.
 - Schmid, C., Dawid, C., Peters, V., & Hofmann, T. (2018). Saponins from European licorice roots (*Glycyrrhiza glabra*). *Journal of natural products*, 81(8), 1734-1744.
 - Septembre-Malaterre, A., Rakoto, M. L., Marodon, C., Bedoui, Y., Nakab, J., Simon, E., Hoarau, L., Savriama, S., Strasberg, D., Guiraud, P., Selambarom, J., &Gasque, P. (2020). *Artemisia annua*, a Traditional Plant Brought to Light. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 4986. <https://doi.org/10.3390/ijms21144986>
 - Setiadhi, R., Sufiawati, I., Zakiawati, D., Nur'aeny, N., Hidayat, W., &Firman, D. R. (2017). Evaluation of antibacterial activity and acute toxicity of pomegranate (*punica granatum* L.) seed ethanolic extracts in swiss webster mice. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 2(2), 119. <https://doi.org/10.15562/jdmfs.v2i2.536>
 - Shakir, S. M., Shakir, F. A., & Couturier, M. R. (2023). Updates to the Diagnosis and Clinical Management of *Helicobacter pylori* Infections. *Clinical Chemistry*, 69(8), 869–880. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvad081>
 - Sharma V., Agrawal R. C., Pandey S. (2013). Phytochemical Screening And Determination Of Anti-Bacterial And Anti-Oxidant Potential Of *Glycyrrhiza glabra* root extracts. *Journal of Environmental Research And Development* 7: 1552-1558.
 - Sisto, F., Scaltrito, M. M., Masia, C., Bonomi, A., Coccè, V., Marano, G., Haynes, R. K., Miani, A., Farronato, G., &Taramelli, D. (2016). *In vitro* activity of artemisone and artemisinin derivatives against extracellular and intracellular *Helicobacter pylori*.

International Journal of Antimicrobial Agents, 48(1), 101–105.

<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.03.018>

- Soumaila, M., Moutari, S. K., Mamoudou, O. A., Moussa, I., All, M., & Kalid, I. (2023). Evaluation *in vivo* de l'activité antiplasmodiale des extraits de *Artemisia annua* L., *Alisicarpus ovalifolius* (SCHUM. et THONN.) J. LEONARD. et de *Securidakalongepediculata* FRESS. chez la souris nmri infestée par le *Plasmodium berghei* NK 65. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 39(2), 800-810.
- Tachema, A., Haouatti, F., Smail, A., Toumi, P., & Zitouni, H. (2020). Plantes et COVID 19 Le recueil des données. *ResearchGate*.
- Tian M, Yan H, Row KH. Extraction of glycyrrhizic acid and glabridin from licorice. *Int J Mol Sci*. (2008) Apr;9(4):571-577. doi: 10.3390/ijms9040571. Epub 2008 Apr 16. PMID: 19325770; PMCID: PMC2635700.
- Umer.Y, Saeed, M., & Khan, H. (2022). Luteolin: A flavonoid with anticancer and anti-inflammatory effects through modulation of signaling pathways. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 869972. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.869972>
- UniProt. (n.d.). UniProt. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P55980/entry> (CagA)
- UniProt. (n.d.-b). UniProt. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q13625/entry> (ASPP2)
- UniProt. (n.d.-c). UniProt. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q7KZI7/entry> (MARK2)
- Varsha, S., Agrawal, R. C., & Sonam, P. (2013). Phytochemical screening and determination of anti-bacterial and anti-oxidant potential of *Glycyrrhiza glabra* root extracts. *Journal of environmental Research and Development*, 7(4A), 1552.
- Vijayalakshmi MA, Sarada NC.(2008). Screening of *Costus speciosus* extracts for antioxidant activity. *Fitoterapia*. Apr;79(3):197-8. doi: 10.1016/j.fitote.2007.11.014. Epub 2007 Nov 29. PMID: 18178325.
- Viuda-Martos, M., et al., (2010). Pomegranate and its derivatives as a source of antimicrobial compounds. *Food Control*, 21(8), 1127-1132.
- Wang, D., Özen, C., Abu-Reidah, I. M., Chigurupati, S., Patra, J. K., Horbanczuk, J. O., Jóźwik, A., Tzvetkov, N. T., Uhrin, P., & Atanasov, A. G. (2018). Vasculoprotective Effects of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *Frontiers in Pharmacology*,
- Wang, D., Özen, C., Abu-Reidah, I. M., Chigurupati, S., Patra, J. K., Horbanczuk, J. O., Jóźwik, A., Tzvetkov, N. T., Uhrin, P., & Atanasov, A. G. (2018). Vasculoprotective Effects of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *Frontiers in Pharmacology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00544>
- Wang, L., et al. (2015). Antibacterial activity of licorice extract against Gram-positive bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 172, 44-50.
- Wang, Z. Y., & Nixon, D. W. (2001). Licorice and cancer. *Nutrition and Cancer*, 39(1), 1-11.
- Windsor, H. M., & O'Rourke, J. (2000). BACTERIOLOGY AND TAXONOMY OF *HELICOBACTER PYLORI*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 29(3), 633–648. [https://doi.org/10.1016/s0889-8553\(05\)70135-7](https://doi.org/10.1016/s0889-8553(05)70135-7)

- Windsor, H. M., & O'Rourke, J. (2000). BACTERIOLOGY AND TAXONOMY OF *HELICOBACTER PYLORI*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 29(3), 633–648. [https://doi.org/10.1016/s0889-8553\(05\)70135-7](https://doi.org/10.1016/s0889-8553(05)70135-7)
- Wong, T. L., Strandberg, K. R., Croley, C. R., Fraser, S. E., Venkata, K. C. N., Fimognari, C., Sethi, G., & Bishayee, A. (2021). Pomegranate bioactive constituents target multiple oncogenic and oncosuppressive signaling for cancer prevention and intervention. *Seminars in Cancer Biology*, 73, 265–293. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.01.006>
- Zagari, R. M., Rabitti, S., Eusebi, L. H., & Bazzoli, F. (2017). Treatment of *Helicobacter pylori* infection: A clinical practice update. *European Journal of Clinical Investigation*, 48(1). <https://doi.org/10.1111/eci.12857>
- Zehor, C. H. O. U. A. R. I. (2024). *Troubles Métaboliques et Cellulaires chez le Rat Wistar Exposé à l'Aluminium et Soumis à un Traitement par les Composés Bioactif: Coumarine et Acide caféique* (Doctoral dissertation).
- Zhang, H., Wang, M., Yu, G., Pu, J., Tian, K., Tang, X., Du, Y., Wu, H., Hu, J., Luo, X., Lin, L., & Deng, Q. (2023). Comparative analysis of the phenolic contents and antioxidant activities of different parts of two pomegranate (*Punica granatum* L.) Cultivars: 'Tunisia' and 'Qingpi.' *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1265018>
- Zhang, Q., & Ye, M. (2009). Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice). *Journal of Chromatography A*, 1216(11), 1954-1969.
- Zhao et al. (2020). *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 5120.
- Zhou, X., Zhang, Q., & Li, M. (2021). Protective effect of glycyrrhizin on oxidative stress and inflammation via Nrf2 and NF-κB pathways. *International Immunopharmacology*, 94, 107468. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107468>.

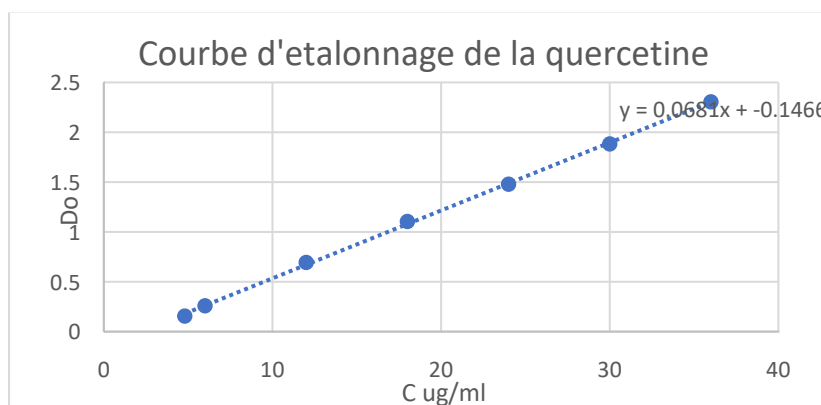
Annexes

Tableau I : Composition chimique de *Punica granatum*

Partie de la plante	Composés principaux
Peau (péricarpe)	Punicalagines (α et β) Punicaline Acide ellagique Acide gallique Anthocyanines (cyanidine, delphinidine, pelargonidine) Flavonoïdes (quercétine, kaempférol, lutéoline) Tannins hydrolysables (corilagine, casuarinine, granatine A et B)
Graines	Acide punicoïque Acides gras :linoléique, oléique, palmitique, stéarique Stérols : β -sitostérol, stigmasterol, campesterol Tocophérols (vitamine E) Ursolic acid Alcaloïdes :pelletierine, isopelletierine
Jus	Anthocyanines (cyanidine-3-glucoside, delphinidine-3-glucoside) Flavonoïdes : quercétine, catéchine Acides organiques : citrique, malique, fumarique, succinique Sucres : glucose, fructose, saccharose Minéraux : potassium, calcium, magnésium, fer, zinc
Feuilles	Flavonoïdes : apigénine, lutéoline Tannins : punicafoline, punicaline Acides phénoliques : acide chlorogénique, acide caféique
Écorce et racines	Alcaloïdes : pelletierine, isopelletierine, méthylpelletierine Tannins : punicalagine, punicaline Acides phénoliques : acide ellagique, acide gallique

Tableau IV: Matériel non biologique

Matériel non biologique		
Verrerie	Appareils	Réactifs
Tube a essai	Balance électrique	Éthanol (solvant)
Pipette	Sécheur	L'eau distillé
Bécher	Broyeur	Fec13 (réactif)
Entonnoir	Agitateur	Hcl (réactif)
Endophl	Évaporateur	Acide sulfurique (réactif)
	Etuve	Anhydride acétique (réactif)

**Figure 07 :** séchage, broyage, et tamisage des écorces de grenade (originale, 2025)**Figure 08:** Courbe d'étalonnage de Quercétine pour les dosages des flavonoides.

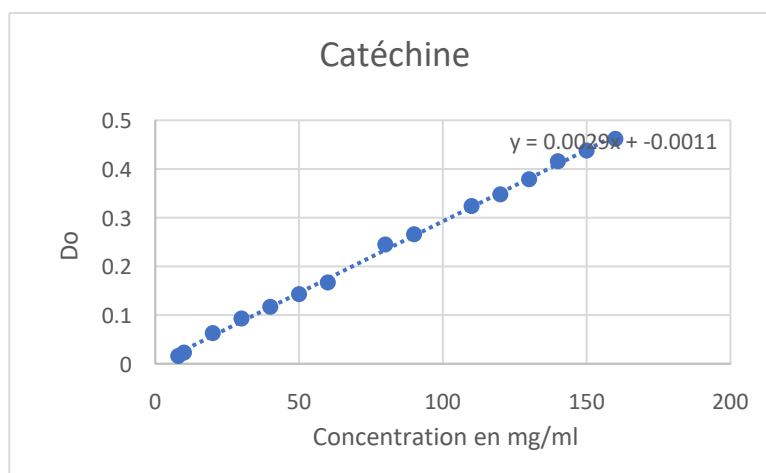


Figure 09 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins condensés.

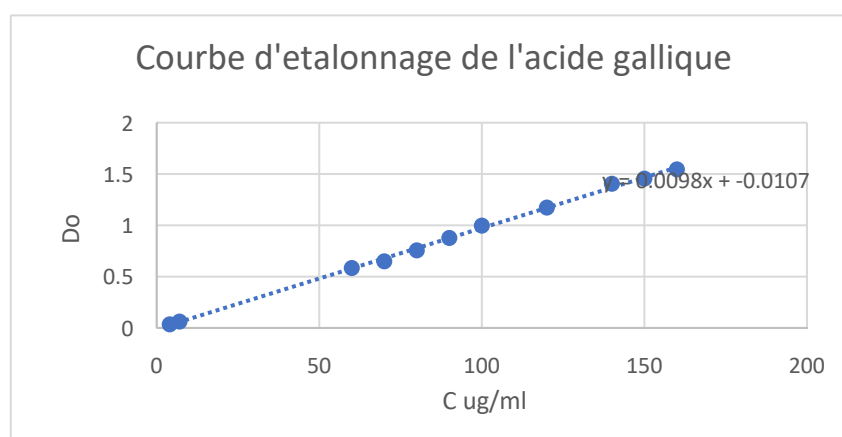


Figure 10 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour les dosages des polyphénols

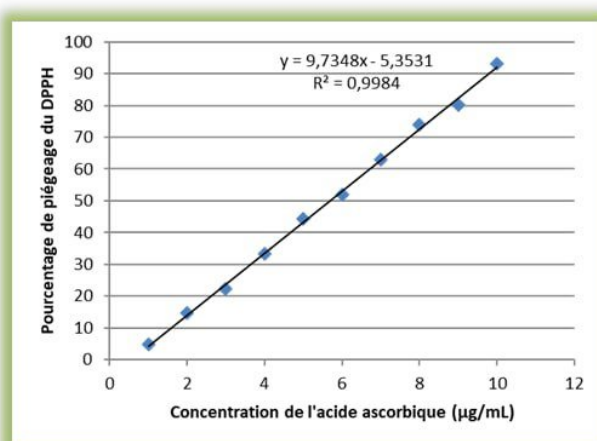
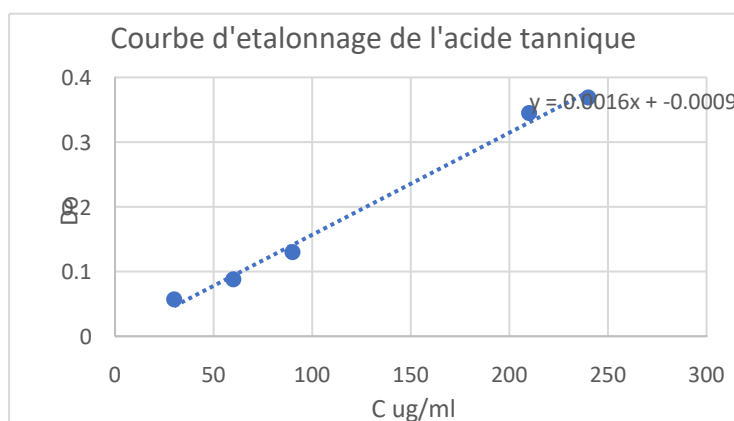


Figure 36 : Evaluation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique (CE50=0.005 mg/ml)

Tableau XXI : Préparation des solutions diluées pour le dosage des tanins hydrolysables

Dilution	1/50	1/40	1/25	1/20	1/10	1/5	1/4	1/2
V ul (méthanol)	980	975	960	950	900	800	750	500
V ul (S.mère)	20	25	40	50	100	200	250	500

**Figure 37 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosages des tanins hydrolysables**

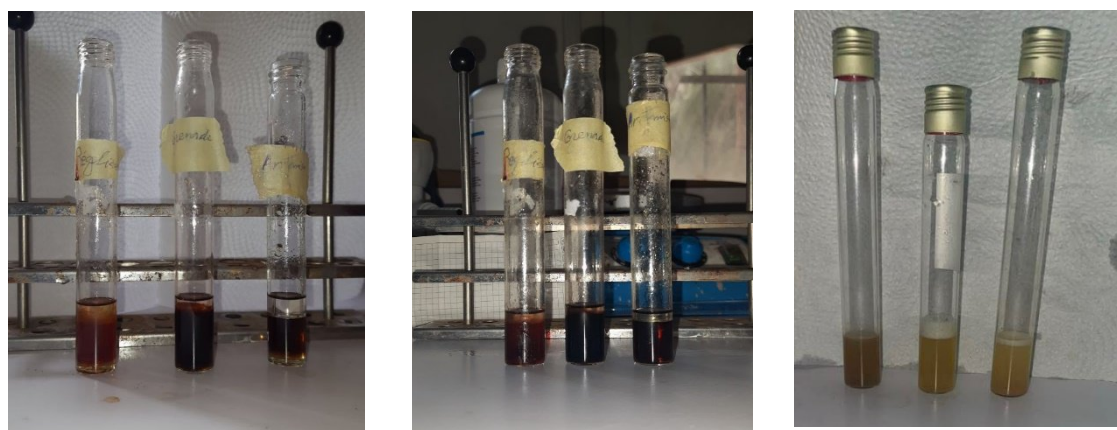


Figure 35 : Résultats de criblage (A: Présence des Terpénoides ; B: Présence des Glucides cardiaques ; C: Présence des saponines)

Tableau XVIII : Énergie de liaison (ΔG) et interactions non covalentes entre les quatre ligands et l'uréase (1e9y.pdb).

Ligand	H-Bonds		Hydrophobic interactions		electrostatic interactions	
	interactingresidue	length (Å)	interactingresidue	length (Å)	interactingresidue	length (Å)
<i>Artemisinin</i>			MET 317 VAL 320 MET 317 MET 317 VAL 320 CYS 321 MET 366	4.44 5.27 5.17 5.03 4.12 3.72 5.15		
<i>Costunolide</i>			CYS 321 ALA 365 ALA 365 CYS 321 CYS 321	4.79 5.32 3.90 4.37 3.99		
<i>Glycyrrhizin</i>	ARG 338 ASP 223 HIS 248 ASP 223 ALA 169 HIS 248 HIS 322 ASP 223 ASP 223	2.70 3.08 2.95 1.97 3.57 3.22 3.20 3.53 2.37	VAL 320 CYS 321 CYS 321 ALA 365	4.59 5.26 4.43 4.69		
<i>Punicalagine</i>	MET 366 PRO 163 GLU 364	2.70 2.99 2.62	ASP 165 GLN 364	3.79 4.61	ASP 165	4.20

Tableau XIX : Énergie de liaison (ΔG) et interactions non covalentes entre les quatre ligands et CagA (3iec.pdb).

Ligand	H-Bonds		Hydrophobic interactions		electrostatic interactions	
	interactingresidue	length (Å)	interactingresidue	length (Å)	interactingresidue	length (Å)
<i>Artemisinin</i>	ARG 952	2.03	LYS 955	4.88		
	ARG 952	3.48	LYS 955	5.09		
<i>Costunolide</i>	TYR 241	2.16	ARG 268	4.41		
	PHE 948	2.36	PHE 948	4.44		
			PHE 948	4.53		
<i>Glycyrrhizin</i>	LYS 951	2.81	VAL 142	4.42		
	LYS 951	2.69	ARG 952	5.18		
	HIS 953	2.59	ARG 952	5.25		
	ASP 954	2.16	VAL 142	3.82		
			LYS 951	4.45		
			ARG 952	4.20		
<i>Punicalagine</i>	LYS 951	2.58	LEU 255	3.61	LYS 951	5.01
	GLN 253	1.81	LEU 255	3.79	ASP 954	5.04
	GLY 252	2.84				
	ASP 954	2.71				



Figure 38 : Résultat de l'effet des extraits de plantes sur *Staphylococcus aureus* (A : Grenade, B : Réglisse, C : Armoise annuelle).



Figure 39 : Résultat de l'effet des extraits de plantes sur *Escherichia coli* (A : Réglisse, B : Grenade, C : Armoise annuelle).



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de Fin d'Étude

En vue de l'obtention du diplôme de master dans le domaine des Sciences de la
Nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Pharmacotoxicologie

THEME :

Étude des activités biologiques des espèces (*Punica granatum*, *Artemisia annua* et *Glycyrrhiza glabra*).

Présenté par :

- AIT SAAD ALLAH Manel
- MOALI Malika

Devant le jury :

- KHALDOUN H.
- DJAIRANE N.
- CHERIF H.S
- NADJI S.

Professeur
Docteur
Professeur
Master



Université Blida-1
Université Blida-1
Université Blida-1
Orpin center

Soutenu le : 09/07/2025

Examinatrice
Dr. Djairane N

Présidente
Examinatrice
Promotrice
Co-promotrice