



Criblage phytochimique et Evaluation Biologique: Etude in vitro

Auteurs: Dr. Yosra TAHRI

Contexte de l'Étude

Valorisation d'un **extrait végétal innovant** riche en **métabolites secondaires**. Cette recherche vise à explorer le potentiel phytochimique et biologique pour des applications nutritionnelles et thérapeutiques.

Objectifs Scientifiques

- Criblage Phytochimique Multidimensionnel** : Caractérisation complète des constituants via UPLC-MS/MS, RMN et tests qualitatifs.
- Identification des Molécules Bioactives** : Mise en évidence des marqueurs chimiques (polyphénols, flavonoïdes, bufadiénoïdes).
- Évaluation Biologique in vitro** : Validation des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes.

Une Approche Méthodique

Cette étude suit une progression scientifique rigoureuse, allant de l'analyse chimique fondamentale à la validation biologique in vitro, pour démontrer l'efficacité du produit XPRO.

Richesse Phytochimique

Résultats comparatifs des teneurs en composés bioactifs

PARAMÈTRE	MÉTHODE DE DOSAGE	TENEUR MOYENNE (± SD)
Polyphénols Totaux	Folin-Ciocalteu	124.5 ± 2.3 mg GAE/g MS
Flavonoïdes Totaux	AlCl3 Colorimétrique	86.2 ± 1.8 mg QE/g MS
Tanins Condensés	Vanilline-HCl	15.4 ± 0.9 mg CE/g MS

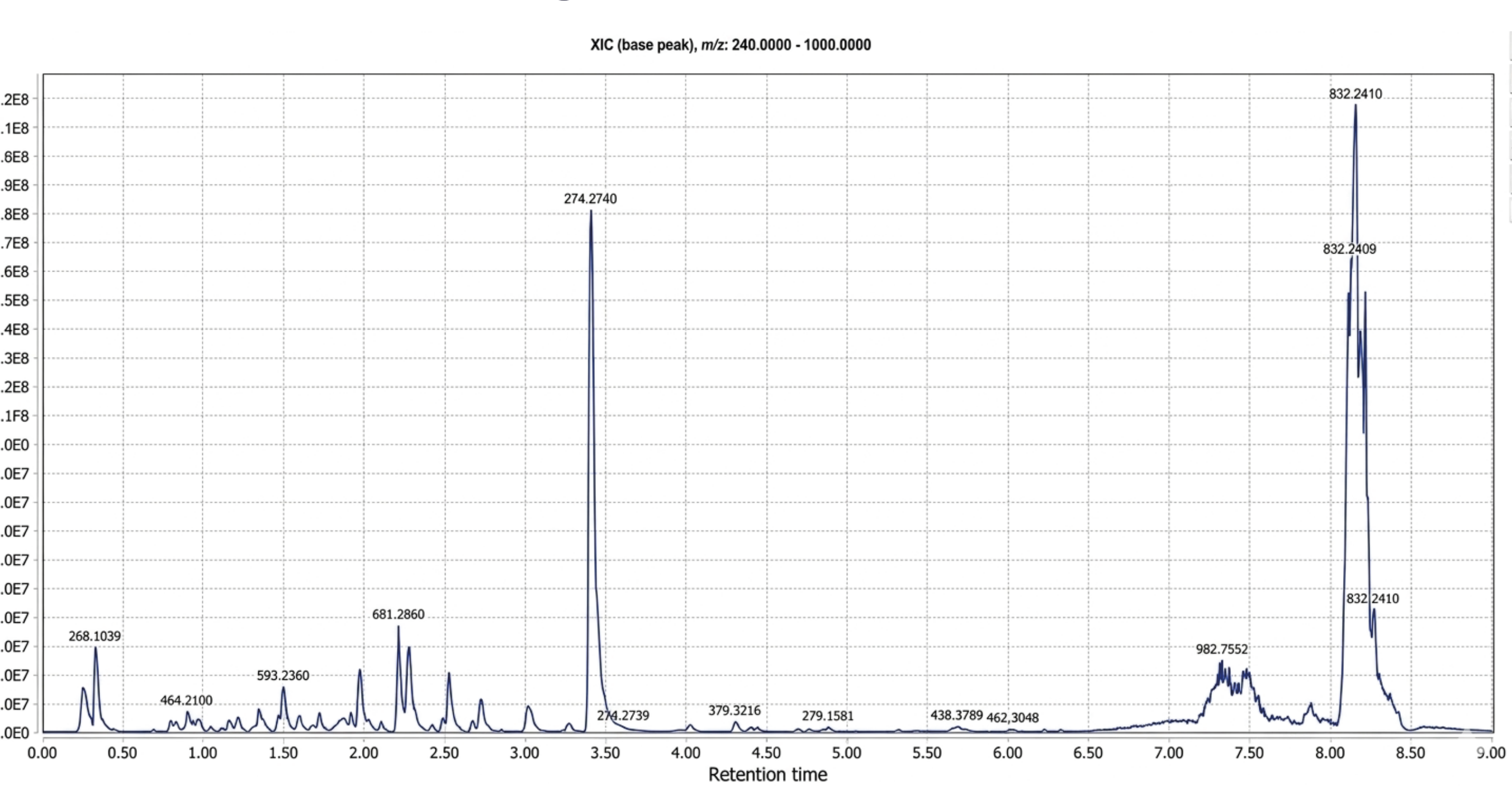
Résultat Clé

Les dosages quantitatifs confirment que **Xpro est exceptionnellement riche** en polyphénols et flavonoïdes, familles moléculaires reconnues pour leurs puissantes activités biologiques.

Analyse UPLC-MS/MS

Une approche analytique de haute précision a été déployée pour identifier les métabolites secondaires complexes présents dans XPRO. Ce flux de travail intègre la séparation chromatographique et la spectrométrie de masse haute résolution.

Profil Chromatographique



Molécules Identifiées (1/2)

Structures Types

Représentation schématisée des familles identifiées

Technique HRMS

Analyse par spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS). Identification précise basée sur la masse exacte et le profil de fragmentation.

Traitement MZmine

Le logiciel MZmine a permis la déconvolution des pics et l'ajustement des données pour identifier les composés majoritaires.

Composés Majoritaires

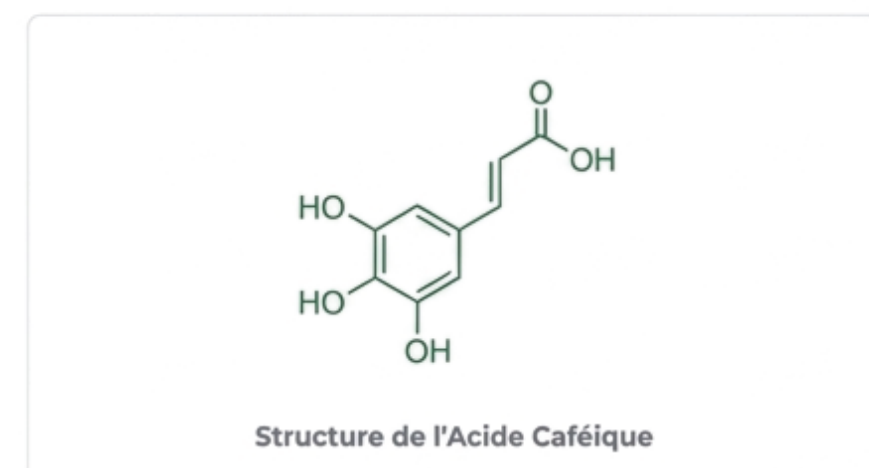
Liste des 9 molécules identifiées par ordre d'importance ou d'abondance

MOLÉCULE IDENTIFIÉE	TR (MIN)	m/z [M+H] ⁺	FORMULE	ABONDANCE (%)
Alatanin 2	8.16	832.2382	C ₂₈ H ₄₀ O ₁₆	26.60%
Hexadecapreninane	3.41	274.2740	C ₁₆ H ₃₄ O ₂	10.24%
Polygonatine B	0.72	194.1176	C ₁₆ H ₁₈ O ₂	2.56%
Scillارين-O-β-glucoside	2.28	547.2899	C ₂₈ H ₄₀ O ₉	1.52%
Scilliglaucosidine-3-O-β-glucoside	2.21	561.2692	C ₂₈ H ₄₀ O ₁₀	1.48%
Glucosylphaeoside	8.43	709.3424	C ₂₈ H ₄₀ O ₃	1.28%
Adenosine	0.33	268.1041	C ₁₀ H ₁₆ NO ₄	1.26%
Phytosphingosine	3.45	318.0040	C ₁₈ H ₃₄ NO ₃	0.55%
Fugaxin	1.13	561.1841	C ₂₇ H ₄₀ O ₁₅	0.09%

Note : L'Alatanin 2 représente plus du quart de l'abondance relative totale détectée, suggérant un rôle biologique prépondérant potentiel pour ce composé spécifique.

Analyse LC-ESI-MS

Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse avec Ionisation par Electro spray (ESI-MS/MS)



Technique LC-ESI-MS

Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse avec Ionisation par Electro spray. Identification précise basée sur le temps de rétention (T_R) et le rapport masse/charge (m/z).

Rôles Biologiques Majeurs

- 1. **Puissants Antioxydants**
Acides phénoliques et flavonoïdes neutralisent les radicaux libres.
- 2. **Anti-inflammatoires**
Inhibition des voies enzymatiques (COX, LOX) par la quercétine.

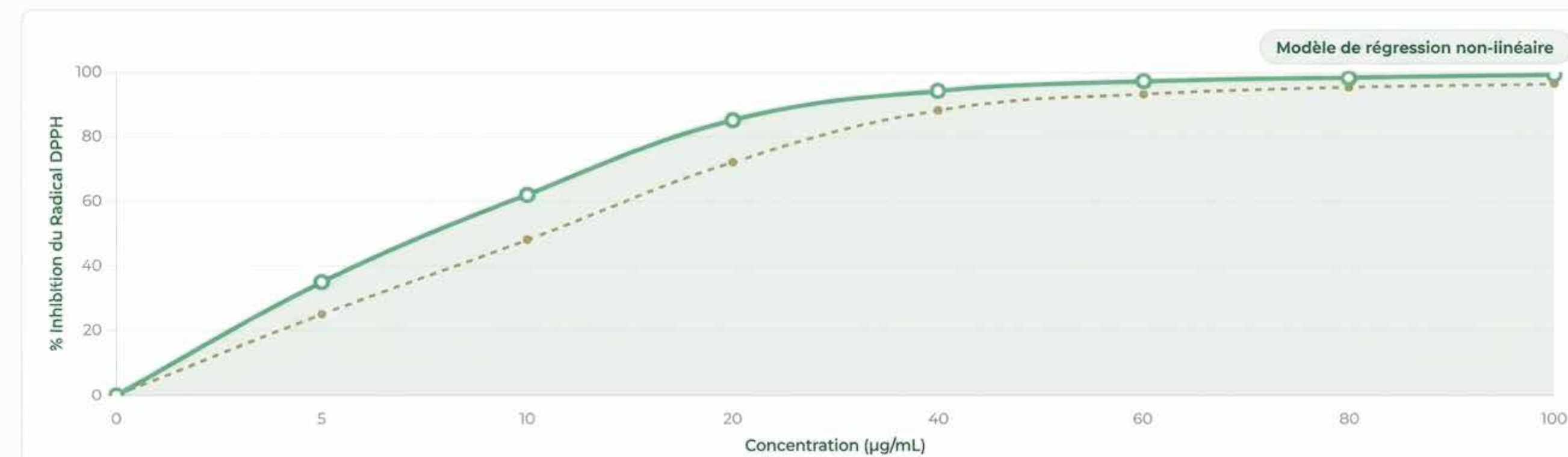
Profil des Composés Phénoliques

Identification par temps de rétention (T_R) et masse moléculaire (m/z)

N°	IDENTIFICATION	TR (MIN)	[M+H] ⁺ M/Z	FAMILLE CHIMIQUE
1	Acide quinique	1.753	191.00	Acide cyclitol
2	Acide caféique	9.667	179.00	Acide hydroxycinnamique
3	Acide syringique	11.273	197.00	Acide hydroxycinnamique
4	Acide p-coumarique	15.383	163.00	Acide hydroxycinnamique
5	Acide trans-férulique	19.106	193.00	Acide hydroxycinnamique
6	Quercétine	24.358	447.00	Flavonoïde glycoside
7	Acide trans-cinnamique	29.250	147.00	Acide phénolique
8	Naringénine	31.190	271.00	Flavonane
9	Apigénine	31.933	269.00	Flavone

Activité Antioxydante

Test de piégeage du radical DPPH



Principe du Test

Mesure de la capacité à réduire le radical stable DPPH• (violet) en hydropurine (jaune) par transfert d'électrons, quantifiée par spectrophotométrie.

Comparaison IC50

Xpro: 8.5 µg/mL
Trolox: 10.2 µg/mL

Activité Supérieure

Xpro démontre une capacité de piégeage des radicaux significativement supérieure au standard.

Activité Anti-inflammatoire

Résultats & Corrélation Phytochimique

Inhibition du NO

Xpro démontre une capacité significative à inhiber la production de monoxyde d'azote (NO) dans les macrophages stimulés par le LPS.

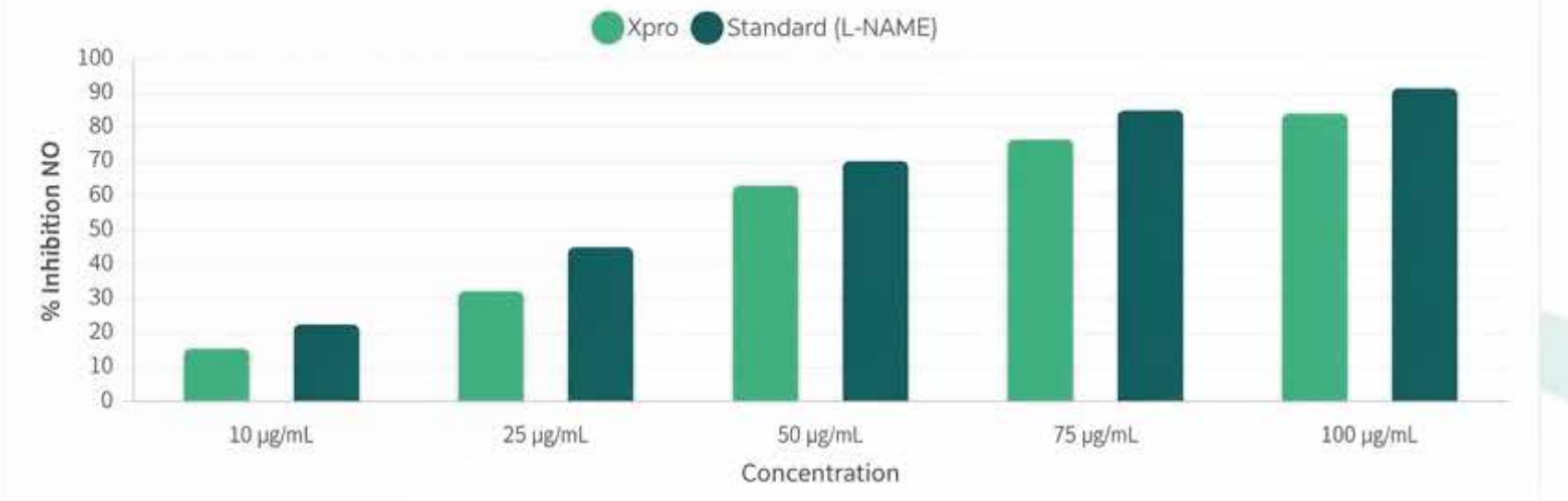
IC50 = 42.5 µg/mL

Corrélation Phytochimique

L'activité observée est fortement corrélée à la présence de molécules bioactives identifiées :

- **Bufadiénoïdes**
Procardarine A, Scillaren A (connus pour moduler l'inflammation)
- **Flavonoïdes**
Quercétine, Isoquercétine (inhibiteurs puissants de la NOS)

Cinétique d'Inhibition du NO



COMPOSÉ / EXTRAIT	CONCENTRATION (MG/ML)	% INHIBITION NO (± SD)
Xpro (Extrait Global)	100	84.2 ± 3.1 %
Xpro (Extrait Global)	50	62.8 ± 2.5 %

Conclusion

Xpro exerce un **effet anti-inflammatoire** notable dose-dépendant, comparable aux standards pharmacologiques à haute concentration.

Activité Antimicrobienne

Vue d'ensemble des souches testées

L'évaluation du spectre antimicrobien de Xpro a été réalisée sur un panel représentatif de pathogènes, incluant des bactéries Gram-positives, Gram-négatives et des souches fongiques, afin de déterminer son potentiel comme agent de biocontrôle à large spectre.

Bactéries Gram Positives (+)

- **Listeria Ivanovii**
Pathogène alimentaire
- **Bacillus amyloliquefaciens**
Bactérie du sol / contaminant
- **Staphylococcus aureus**
Pathogène majeur (infections cutanées/systémiques)

Bactéries Gram Négatives (-)

- **Pseudomonas aeruginosa**
Opportuniste résistant
- **Escherichia coli**
Indicateur d'hygiène / Pathogène intestinal
- **Salmonella enterica**
Pathogène alimentaire majeur

Champignons & Levures

- **Candida albicans**
Levure pathogène opportuniste responsable de candidoses.
- **Fusarium spp.**
(F. solani, F. oxysporum)
Champignons filamenteux pathogènes des plantes et producteurs de mycotoxines.
- **Aspergillus niger**
Moissure commune, responsable d'altération alimentaire et production d'ochratoxine.

Couverture Spectrale Large

Activité Antibactérienne

Évaluation Biologique In Vitro

Zone d'Inhibition (IZ)

Diamètre du halo (en mm) autour du disque imprégné. Reflète la sensibilité de la souche bactérienne à l'extrait Xpro.

MIC & MBC

MIC: Concentration Minimale Inhibitrice
MBC: Concentration Minimale Bactéricide.

Interprétation Ratio

Le rapport MBC/MIC détermine le type d'activité :

- Ratio ≤ 4 : Effet **Bactéricide** (tue)
- Ratio > 4 : Effet **Bactériostatique** (inhibe)

Résultats par Souche Bactérienne

Comparaison des concentrations actives (µg/mL) et détermination de l'effet

SOUCHE BACTÉRIENNE	TYPE	ZONE (MM)	MIC (MG/ML)	MBC (MG/ML)	EFFET
Listeria Ivanovii	Gram +	12	10 ⁻¹	10 ⁻¹	Bactéricide
Bacillus amyloliquefaciens	Gram +	13	10 ⁻¹	10 ⁻¹	Bactéricide
Staphylococcus aureus	Gram +	9	10 ⁻¹	10 ⁻¹	Bactéricide
Escherichia coli	Gram -	10	10 ⁻¹	10 ⁻¹	Bactéricide
Pseudomonas aeruginosa	Gram -	12	10 ⁻²	10 ⁻¹	Bactéricide
Salmonella enterica	Gram -	14	10 ⁻²	10 ⁻¹	Bactériostatique

Efficacité Prouvée

Xpro démontre une activité antibactérienne significative avec des zones d'inhibition de **7 à 23 mm**, comparable aux standards antibiotiques (Ampicilline), et un effet majoritairement bactéricide.

Activité Antifongique

Évaluation Biologique In Vitro de Xpro

Souches Testées

L'activité antifongique a été évaluée sur trois souches pathogènes majeures :

- Candida albicans (Levure)
- Fusarium solani/oxysporum (Moississures)
- Aspergillus niger (Moississure)

Interprétation

Effet Fongicide
Tue les champignons (Ratio MFC/MIC ≤ 2)

Effet Fongistatique
Inhibe la croissance (Ratio MFC/MIC > 2)

Résultats d'Inhibition

Comparaison des zones d'inhibition (IZ) et type d'activité

SOUCHE FONGIQUE	ZONE D'INHIBITION (MM)	VISUALISATION IZ	TYPE D'ACTIVITÉ
Candida albicans	~ 7 mm		Fongicide
Fusarium solani / oxysporum	15 - 20 mm		Fongistatique
Aspergillus niger	~ 14 mm		Fongistatique

Efficacité Remarquable

Xpro démontre une activité puissante contre les moississures du genre *Fusarium* (IZ jusqu'à 20 mm), surpassant potentiellement certains standards, tout en maintenant un effet fongicide ciblé sur les levures.

Interprétation Biologique

Analyse des Ratios MBC/MIC & MFC/MIC

Efficacité Antimicrobienne
Vue Comparative

Critères d'Interprétation

Effet Bactéricide / Fongicide

Ratio MBC/MIC = 1-2

Le produit tue les micro-organismes. La concentration nécessaire pour tuer est très proche de celle pour inhiber.

Effet Bactériostatique / Fongistatique

Ratio MBC/MIC > 2 et ≤ 10

Le produit inhibe la croissance sans nécessairement tuer la totalité de la population microbienne.

Performance Globale

Xpro démontre un profil majoritairement bactéricide sur les bactéries Gram (+) et fongicide sur *Candida*, confirmant son potentiel comme conservateur naturel et agent thérapeutique.

Matrice de Sensibilité

Cartographie de l'efficacité de Xpro par souche

Groupe	Souche 1	Souche 2	Souche 3
Gram Positif (+) Patois épave	Listeria Ivanovii 1 Bactéricide	Bacillus amyloliquefaciens 1 Bactéricide	Staph. aureus 1 Bactéricide
Gram Négatif (-) Résistance élevée	P. aeruginosa 1 Bactéricide	E. coli 1 Bactéricide	S. enterica 4 Bactériostatique
Champignons Eutariotes	Candida albicans 1 Fongicide	Fusarium solani 10 Fongistatique	Aspergillus niger 10 Fongistatique

Synthèse des Activités Biologiques

Efficacité In Vitro Validée

Impact Global

Protection Cellulaire

Action préventive contre le stress oxydatif et l'inflammation.

Contrôle Pathogène

Inhibition efficace des bactéries et champignons.

Validation Scientifique

"Xpro démontre un potentiel thérapeutique multi-cibles, validant son utilisation comme additif fonctionnel."

Performance Biologique Triple Action

Résultats Clés

Activité Antioxydante	Activité Anti-inflammatoire	Activité Antimicrobienne
Capacité élevée de piégeage des radicaux libres démontrée par tests colorimétriques.	Mécanisme d'action confirmé par la réduction de la production de médiateurs inflammatoires.	Action bactéricide et fongicide marquée sur souches pathogènes.
DPH ABTS TAC	IC50 Performant Neutralisation + Haut potentiel	Mécanisme Clé Inhibition NO ✓ Protection tissulaire
Inhibition IZ 7 - 23 mm Ratio MBC/MIC Favorable		

Synergie d'Action

La combinaison des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes confère à Xpro un profil biologique complet pour la santé animale.

Aliment plus **EFFICACE**,
élevage plus **RENTABLE**

