

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité/ Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire  
Département : Biologie

---

**Thème : Evaluation de l'activité antimicrobienne de  
l'extrait méthanolique d'une plante médicinale «*Sonchus  
oleraceus L*»**

---

Présenté par :

- Chader Soumia
- Nezzar Hadjer

Devant le jury composé de :

Président : Mr. Mokhtari A.	(M.C.B)	Université de Guelma
Examineur : Mme. Amri S.	(M.C.B)	Université de Guelma
Encadreur : Mme. Ayed H.	(M.C.B)	Université de Guelma

**Juin 2018**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité/ Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire  
Département : Biologie

---

**Thème : Evaluation de l'activité antimicrobienne de  
l'extrait méthanolique d'une plante médicinale (*sonchus  
oleraceus L*)**

---

Présenté par :

- Chader Soumia
- Nezzar Hadjer

Devant le jury composé de :

Président : Mr. Mokhtari A.	(M.C.B)	Université de Guelma
Examineur : Mme. Amri S.	(M.C.B)	Université de Guelma
Encadreur : Mme. Ayed H.	(M.C.B)	Université de Guelma

**Juin 2018**

## **Remerciement**

*Nous remercions le bon Dieu de nous avoir offert la vie et la force pour aller de l'avant et être la fierté de nos proches et qui nous a donné la volonté et le courage pour faire ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre remerciement respectueux et profond reconnaissance à notre encadreur : **Madame Ayed H**, qui nous a orienté et conseillé tout au long de ce travail.*

*Nous remercions également les membres de jury, qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.*

*Notre remerciement s'adresse aussi aux techniciennes du laboratoire Mme (Ratiba et Wafa) université de Guelma pour nous avoir soutenus durant notre période de travail au laboratoire.*

*Un grand merci à **Madame Grara** et aussi n'oubliez pas **Madame Aissani** pour son aide précieuse.*

*Nous ne saurions oublier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.*

# Table des matières

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction .....1**

**Synthèse bibliographique**

**Chapitre I : Généralité sur les plantes médicinales.....3**

I. Phytothérapie.....3

I.1. Plantes médicinales .....3

I.2.1. Intérêt de l'étude des plantes médicinales .....3

I.3.2. Phytothérapie en Algérie .....4

I.2. Métabolites des plantes médicinales.....4

I.2.1. Métabolites premiers.....4

I.2.2. Métabolites secondaires.....5

I.2.2.1. Polyphénols..... 5

I.2.2.2. Flavonoïdes.....5

I.2.2.3. Tanins .....9

I.2.2.4. Coumarines.....10

I.2.2.5. Alcaloïdes.....11

I.2.2.6. Isoprénoïdes.....12

I.2.2.6.1. Terpénoïdes et Stéroïdes.....12

I.2.2.6.2. Saponines (Groupes de stéroïdes).....13

I.3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes.....14

I.3.a. Activité antifongique.....	14
I.3.b. Activité antivirale.....	14
I.3.c. Activité antibactérienne.....	14
I.4. Activité antimicrobienne des polyphénols.....	14
<b>Chapitre II : Etude botanique.....</b>	<b>16</b>
II. Présentation de la plante médicinale étudiée ( <i>Sonchus Oleraceus L</i> ).....	16
II.1. Historique sur la <i>S. Oleraceus L</i> .....	16
II.2. Description botanique.....	16
II.3. Systématique de la plante.....	17
II.4. Origine et distribution.....	17
II.5. Habitat.....	18
II.6. Phases du cycle de vie.....	19
II.7. Reproduction.....	19
II.8. Nutrition.....	19
II.9. Utilisation traditionnelle de <i>Sonchus oleraceus L</i> .....	20
II.10. Impacts généraux.....	20
II.11. Information de gestion.....	20
II.11.1. Contrôle physique.....	20
II.12.2. Pâturage.....	21
II.12.3. Lutte chimique.....	21
II.12.4. Contrôle biologique.....	21

---

---

**Etude expérimentale**

<b>Chapitre I : Matériel et méthodes d'analyse.....</b>	<b>23</b>
I. Matériel végétale.....	23
I.1. Extraction des polyphénols assiste par macération.....	23
II. Criblage phytochimique d'extrait méthanolique.....	24
III. Analyses quantitatives des extraits.....	27
III.1. Dosage des polyphénols totaux.....	27
III.2. Dosage des flavonoïdes.....	27
IV. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	27
IV.1. Dépôt des échantillons.....	27
IV.2. Révélation.....	27
IV.2.1. Vanilline sulfurique .....	27
IV.2.2. Chlorure d'aluminium.....	28
V. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits .....	29
V.1. Souches bactériennes testées .....	29
V.2. Méthode de diffusion en milieu gélosé .....	30
V.2.1. Préparation des dilutions des extraits à tester .....	30
V.2.2. Repiquage des souches bactériennes .....	31
V.2.3. Préparation de la suspension bactérienne et l'ensemencement des milieux de cultures.....	31
V.2.4. Imprégnation des disques.....	31
V.3. Tests de sensibilité des germes aux extraits.....	31
V.3.1. Préparation de l'inoculum pour les tests en milieu liquide.....	32

V.3.2. Préparation de la gamme de concentration.....	32
V.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	32
V.5. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	33
V.6. Détermination de la Concentration Minimale Fongicide.....	33
<b>Chapitre II : Résultat et discussion.....</b>	<b>35</b>
I. Evaluation d'extraction méthanolique.....	35
II. Evaluation d'activité antimicrobienne.....	42
<b>Conclusion.....</b>	<b>62</b>

**Références bibliographiques**

**Annexes**

**Résumé**

# Liste des abréviations

**%** : Pourcentage.

**°C** : Degré Celsius.

**µl** : Microlitre.

**A. radiata** : *Artemisia radiata*.

**A.compestris** : *Artemisia compestris*.

**AHA** : *Artemisia Herba Alba*.

**ATB** : Antibiotique.

**ATCC** : American type culture collection.

**BN** : Bouillon Nutritif.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CHCL<sub>3</sub>** : Chloroforme ou trichlorométhane.

**Cm** : Centimètre.

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide.

**CMF** : Concentration Minimale Fongicide.

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**D.O** : Densité Optique.

**DMSO** : Diméthylsulfoxydant.

**E. Coli** : *Echerichia coli*.

**E.C.B.U** : Examen cytobactériologique des urines.

**EAe** : Extrait d'acétate d'éthyle.

**EAq** : Extrait aqueuse.

**EBu** : Extrait butanol.

**EBr** : Extrait brut.

**Ech** : Extrait de chloroforme.

**EEP** : Extrait d'éther de pétrole.

**G** : Gramme.

**H** : Heure

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.

**HCl** : Chlorure d'hydrogène.

**HCL** : Chlorure d'hydrogène.

**Mg** : Milligramme.

**MH** : Muller Hinton.

**ml** : Millilitre.

**mm** : Millimètre.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.

**NaOH** : Hydroxyde de sodium.

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxyde d'ammonium.

**Ph** : potentiel hydrogène.

**R<sub>f</sub>** : Rapport frontale.

***S. asper*** : *Sonchus asper*.

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*.

***S. oleraceus*** : *sonchus oleraceus*.

**SDS** : Sabaurand Dextrose Agar.

**Ufc/ml** : Nombre de colonie formant par millilitre.

**V/V** : Volume par volume.

# Liste des figures

<b>Figures N°</b>	<b>Titre des figures</b>	<b>N° page</b>
Figure 01	Structure chimique de base des flavonoïdes	06
Figure 02	Structure des tannins hydrolysables	10
Figure 03	Structure des tannins condensés	10
Figure 04	Structure de base des coumarines	11
Figure 05	Structure de base des alcaloïdes	12
Figure 06	Structure de base d'isoprénoïdes	13
Figure 07	Structure de base des saponines	13
Figure 08	<i>Sonchus Oleraceus L</i>	17
Figure 09	Distribution de la <i>Sonchus oleraceus L</i>	18
Figure 10	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	38
Figure 11	Courbe d'étalonnage de la quercétine	38
Figure 12	Comparaison de teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux d'extrait d'une plante étudié	39
Figure 13	Observation des taches sous la lampe UV révélé par le Vanilline sulfurique	40
Figure 14	Observation des taches sous la lampe UV révélé par le Chlorure d'aluminium	41
Figure 15	Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées vis-à-vis aux antibiotiques	43
Figure 16	Histogramme de l'aromatogramme de différentes souches testées	44
Figure 17	Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées vis-à-vis à l'extrait méthanolique	46
Figure 18	CMI de la souche d' <i>E. Coli</i> 25922	50
Figure 19	CMI de la souche de <i>Staphylococcus. aureus PT3</i>	51
Figure 20	CMI de la souche de <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> 328	52
Figure 21	CMI de la souche d' <i>Enterobacter T3</i>	53
Figure 22	CMI de la souche d' <i>Aspergillus niger</i>	54
Figure 23	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) des souches testées	58
Figure 24	Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) d' <i>Aspergillus niger</i>	59

# Liste des tableaux

<b>Tableaux N°</b>	<b>Titre des tableaux</b>	<b>N° page</b>
Tableau 01	Différentes classes des flavonoïdes	07
Tableau 02	Différentes souches bactériennes testées	29
Tableau 03	Rendement d'extrait méthanolique	35
Tableau 04	Résultats des tests phytochimiques de l'extrait de <i>Sonchus Oleraceus L</i>	36
Tableau 05	Rapports frontaux des taches et les composés phénoliques identifiés dans l'extrait révélé par le Vanilline sulfurique	40
Tableau 06	Les rapports frontaux des taches et les composés phénoliques identifiés dans l'extrait révélé par le Chlorure d'aluminium	41
Tableau 07	Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées vis-à-vis aux antibiotiques	42
Tableau 08	Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées vis-à-vis à l'extrait méthanolique	44
Tableau 09	Valeurs des CMI, CMB de la souche d' <i>E.coli</i> testé par l'extrait méthanolique.	47
Tableau 10	Valeurs des CMI, CMB de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 328 testé par l'extrait méthanolique.	47
Tableau 11	Valeurs des CMI, CMB de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> PT3 testé par l'extrait méthanolique.	48
Tableau 12	Valeurs des CMI, CMB de la souche <i>Enterobacter T3</i> testé par l'extrait méthanolique.	48
Tableau 13	Valeurs des CMI et CMF d' <i>Aspergillus niger</i> testé par l'extrait méthanolique.	48

# Introduction

L'usage des remèdes à base de plantes utilisés au sein des pharmacopées traditionnelles pour le traitement des maladies de l'homme et de l'animal est très ancien. Il a évolué avec l'histoire de l'humanité. La grande majorité des populations rurales se soigne exclusivement avec des plantes médicinales en dépit de la toxicité des produits chimiques, ceci est dû au coût élevé des médicaments prescrits par la médecine moderne et à l'éloignement et/ou l'insuffisance des centres de santé. De nos jours, les vertus thérapeutiques des plantes présentent un regain d'intérêt grâce à l'amélioration des techniques extractives et aux progrès des méthodes d'analyses structurales pour la découverte de nouveaux principes actifs. On estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle obtenus par hémi-synthèse ou par modification d'un produit naturel (**Newman et al., 2007**).

Parmi les métabolites secondaires très recherchés dans diverses spécialités, apparaissent les polyphénols des végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire. Parmi les plus répondus sont cités les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Bou Behri, 2014**). Ces derniers et principalement les flavonoïdes sont essentiellement connus pour leurs nombreuses activités biologiques, parmi laquelle : leur action antimicrobienne (**Linderschmidt et al., 1986**).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail dont le but principal est d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait méthanolique de *Sonchus Oleraceus L*, une plante largement utilisée en médecine traditionnelle.

Ce travail a été divisé en deux parties : la première partie est une étude bibliographique qui regroupe deux chapitres dont la première concerne les plantes médicinales la deuxième chapitre présente l'étude botanique de *Sonchus Oleraceus L*. La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- Le screening phytochimique des métabolites secondaires existant dans les bulbes de la plante.
- Une évaluation des dosages des polyphénols et flavonoïdes totaux.
- Une évaluation de la chromatographie analytique sur couche mince d'extrait méthanolique.

- Une évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de cette plante, par la technique de diffusion en milieu solide (l'aromatogramme) et estimation de la concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF).
- Cet aperçu expérimental est suivi par la citation des principaux résultats et leurs interprétations.

# **Synthèse bibliographique**

# Chapitre I

## Généralité sur les plantes médicinales

## I. Phytothérapie

La phytothérapie est une science des plantes médicinales, elle vient du mot grec « phuton » plante et « Thérapie » : traitement (**Carillon, 2000**). Elle correspond donc à l'usage des plantes médicinales en thérapeutique (**Vacheron, 2011**). L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu et revêt une importance sanitaire et économique croissante (**O.M.S, 2000**). Elle est parfois connue aujourd'hui sous le nom de « remède de bonne femme », étymologiquement : Bona fama = grande renommée. Une citation de Galien dit : « la meilleure médecine, c'est la nature car elle guérit les trois quart de toutes les maladies » (**Grosmond, 2001**). Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres (**El- Rhaffari et al., 2004**).

### I.1. Plantes médicinales

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée comme des plantes dont au moins une partie possède des propriétés préventives ou curatives propriétés à l'égard des maladies humaines ou animales (**Ghabrier, 2010 ; Gazengel, 2013**). Plus précisément, une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée à l'état frais ou sous la forme des séchées (**Sofowora, 2010**). L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments (**Mohammedi, 2013**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**).

#### I.1.1. Intérêt de l'étude des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées de différentes manières (décoction, macération, infusion, etc.) et une ou plusieurs de leur parties peuvent être utilisées (racine, rhizome, feuilles, fleurs, etc.) (**Baran, 2000**). Elles sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (**Decaux, 2002**).

La plus grande partie des plantes, utilisée au niveau mondial, est destinée à la phytothérapie, à la production de molécules pour la médecine allopathique, à l'élaboration des

arômes. En parfumerie, on peut considérer trois domaines distincts : la parfumerie industrielle (détergents), la cosmétique et la parfumerie de bas de gamme et parfumerie de haute gamme (Benjilali et al., 2005).

### **I.1.2. Phytothérapie en Algérie**

Depuis longtemps, le traitement par les plantes est connu et pratiqué en Afrique. Il exploite des savoirs à partir des certains individus initiés que sont les tradipraticiens de santé et les herboristes. Ainsi, les plantes médicinales et les connaissances relatives aux plantes médicinales et aux médecines traditionnelles sont un patrimoine important au continent africain (Aouadhi, 2010).

Les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé en Algérie, bien souvent dans certaines régions rurales, il est difficile de savoir si l'herboriste aux plantes « miraculeuses » n'est pas préféré au médecin moderne (Benmerabet et al., 1982).

Auprès du Centre National du Registre de Commerce, montrent qu'en fin 2009, l'Algérie comptait 1.926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1.393 sédentaires et 533 ambulants. La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec (199) magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), de Bechar (100) et d'El Oued avec (60) magasins (Aouadhi, 2010).

## **I.2. Métabolites des plantes médicinales**

Les plantes renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux ou d'animaux. On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires (Hartmann, 2007).

### **I.2.1. Métabolites premiers**

Ils sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme tel : Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires (cellulose), les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires et les aminoacides représentent une source primaire de construction des protéines (Diallo, 2000).

## I.2.2. Métabolites secondaires

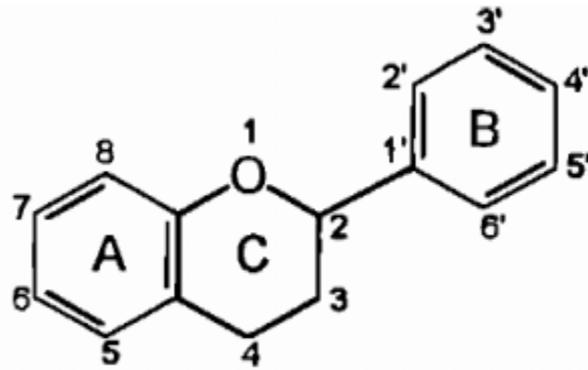
Ces derniers biosynthétisés à partir de métabolites primaires (**Krief, 2003**) sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002**). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (**Newman et al., 2012**). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**).

### I.2.2.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (**Boizot et al., 2006**), caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre (**Lugasiet al., 2003**), ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (**Bruneton, 1999**). Les polyphénols sont impliqués dans des nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et al., 2006**). La variété de phénols, des composés simples comme l'acide molécule donnant par la synthèse de l'aspirine à naissance des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols ont des propriétés anti-inflammatoires et antiseptiques (**Iserin et al., 2001**).

### I.2.2.2. Flavonoïdes

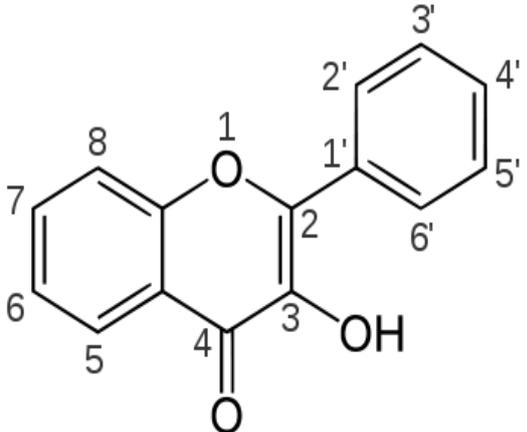
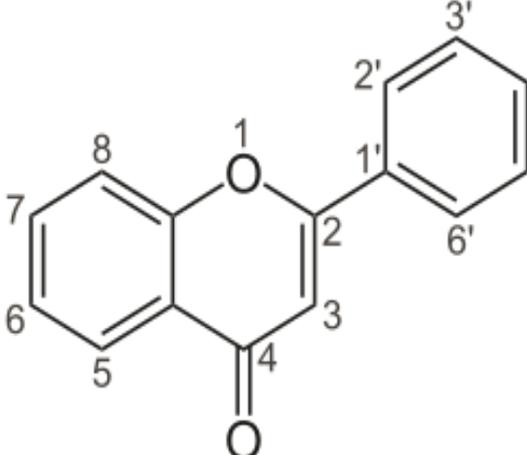
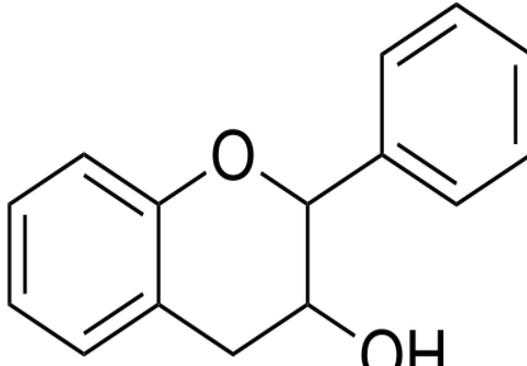
Le nom flavonoïde est dérivé du mot «Flavus» en latin, qui signifie jaune. L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C (**Bruneton, 1993**). Ils sont les plus représentatifs des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (**Benhammou, 2011**). Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux, ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à- dire liée à des oses et autres substances (**Heller et al., 1993**). Ils ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 (voir figure N°1) qui peut évoluer en un hétérocycle (Cycle C) (**Akroum, 2011**).

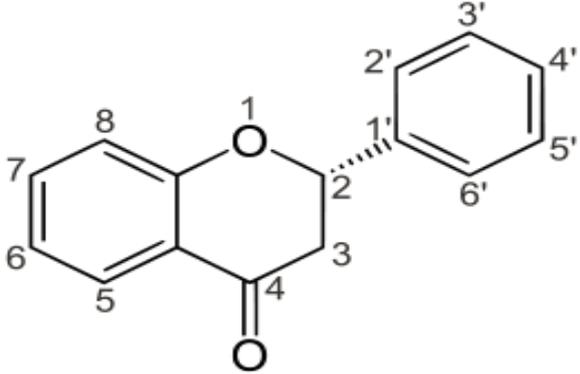
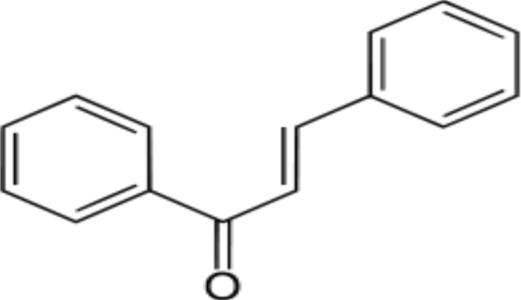
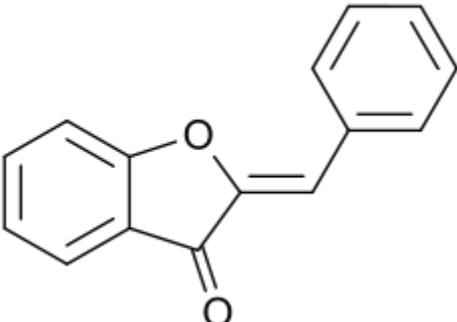
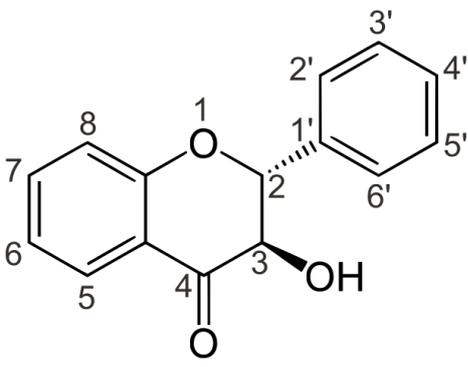
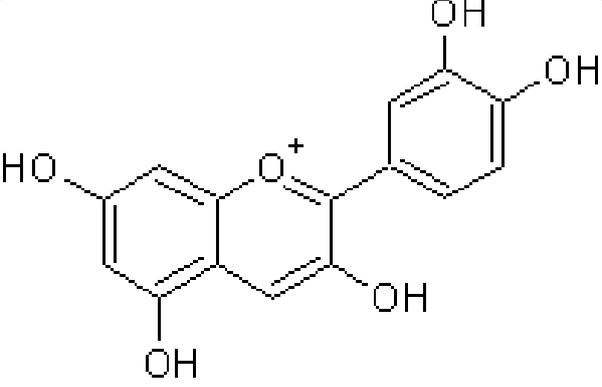


**Figure N° 01 :** Structure chimique de base des flavonoïdes (Nkhili, 2009).

On distingue différentes structures des flavonoïdes parmi lesquels se trouvent les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan - 3-oles, les flavylum, les chalcones, les aurones, les isoflavones, les isoflavonols, les isoflavanes, lesptérocarpanes, les coumaronochromones, les 3-arylcoumarines, les coumestanes, les roténoïdes. On peut les classés en 6 familles (voir tableau N°1) qui impliquent les flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols (De Rijkeet *al.*, 2006).

Tableau N° 01 : Différentes classes des flavonoïdes.

Classe de flavonoïdes	Figures
<p><b>Flavonols</b> Kaempférol-7méthyl (Valant et al., 2003)</p>	
<p><b>Flavones</b> 5, 7-dihydroxy-3, 4'-dimethoxyflavone (Ferchichi et al., 2006)</p>	
<p><b>Flavan-3-ols</b> 2-phényl-3-chromanol (Rauter et al., 1989)</p>	

<p><b>Flavanones</b> 5, 8, 4'-trihydroxyflavanone (<b>Rauter et al., 1989</b>)</p>	
<p><b>Chalcones</b></p> <p>3 4 2' 4' 6'</p> <p>Butéine OH OH OH OH H</p> <p>Phlorétine H OH OH OH OH (<b>Giulia et al., 1999</b>)</p>	
<p><b>Anthocyanidines</b></p> <p>3' 5'</p> <p>Pélagonidine H H</p> <p>Cyanidine OH H</p> <p>Péonidine. OCH3 H (<b>Giulia et al., 1999</b>)</p>	
<p><b>Flavanonols</b> 3-hydroxy-2,3-dihydro-2-phenylchromén-4-one (<b>Giulia et al., 1999</b>)</p>	
<p><b>Anthocyanes</b> (<b>Bruneton, 1999</b>)</p>	

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal. Ils sont largement abondants dans les légumes feuillés, ainsi que dans les téguments externes des fruits. On les trouve principalement dans les agrumes tel : le citron, l'orange, la pamplemousse et dans une moindre mesure : les abricots, les cerises, les mûres, les raisins, les papayes, les tomates et sarrasin. Leurs quantités importantes dans nombreuses plantes médicinales et très spécifiquement dans les herbes aromatiques (**Bronner et al., 1995**). Plusieurs rôles sont assurés principalement par les flavonoïdes la protection des plantes des rayons solaires UV et la coloration (jaune ou blanc) (**Jager et al., 2011**). Aussi ont des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. Ils ont un important champ d'action et possèdent des nombreuses vertus médicinales antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation (**Iserin et al., 2001**).

### **I.2.2.3. Tanins**

Le terme " tanin " (ou tannin) vient du mot *tannage*, un procédé datant du moyen âge et permettant la formation de cuir imputrescible par la création de liaisons entre les fibres de collagène de la peau fraîche (**Bruneton, 2009**). Ils sont des substances polyphénoliques de structure variée. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (**Paris et al., 1981**). Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (**Alkurd et al., 2008**). Les tanins sont très répandu dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacée, les rosacée (**Ghesterm et al., 2001**). Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabae et al., 2001**).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques (voir figures N° 2 et 3). Les tanins hydrolysables (**Bruneton., 1999**), et les tanins condensés (**Li et al., 2007**).

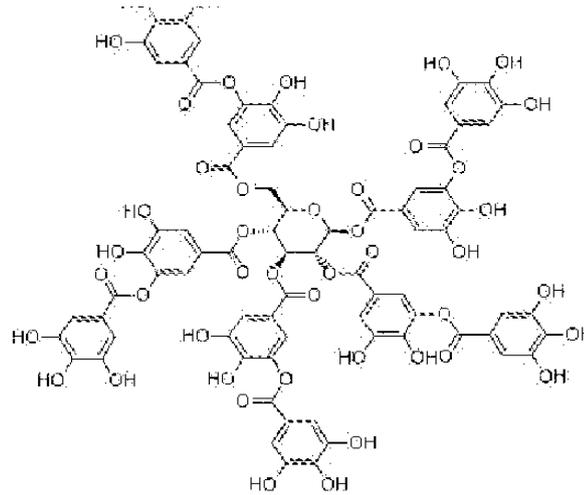


Figure N° 2 : Structure des tannins hydrolysables (Bruneton, 1999).

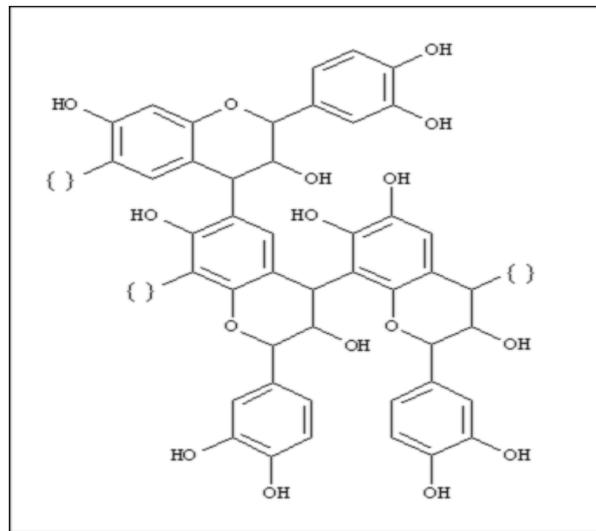
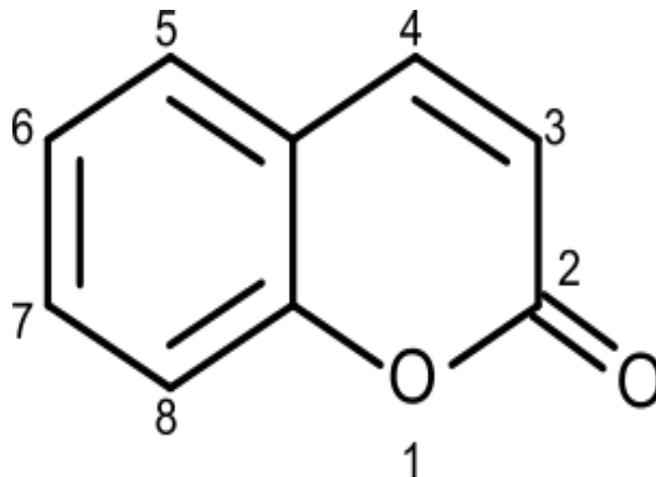


Figure N° 3 : Structure des tannins condensés (Li et al, 2007).

#### I.2.2.4. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorota* Wild., *Fabaceae*) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1982 (Bruneton, 1993). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (voir figure N°4) (Ford et al., 2001). Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques (Benayache, 2005). Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (Bruneton, 1999). Aujourd'hui, près de 1000

composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces des plantes et dans les microorganismes. Dans les plantes, on les rencontre chez les *Apiacées*, les *Astéracées*, les *Fabacées*, les *Rosacées*, les *Rubiacees*, les *Rutacées* et les *Solanacées*. Du point de vue structural, ils sont classés en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines, les pyranocoumarines, les coumarines substitués en position 3 et/ou 4. Le dernier groupe serait celui des dimères (**Sakagamiet al., 2005**). Ils possèdent des propriétés très diverses. Les coumarines du méliot (*Melilotus*) et du marronnier d'Inde (*Aesculushippo castanum*) contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines soignent les affections cutanées et que la khelline de la khella (*Ammi visnaga*,) est un puissant vasodilatateur coronarien (**Iserin et al., 2001**).



**Figure N° 4 :** Structure de base des coumarines (**Bruneton, 1999**).

#### **I.2.2.5. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (voir figure N°5) (**Schauenberg et al., 2005**). Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux (**Hess, 2002**). Le regroupement d'un tel ensemble est par ailleurs confirmé par des réactions communes de précipitation avec les « réactifs généraux des alcaloïdes » (**Bruneton, 2009**).

Ils peuvent être présents dans tous organes (**Ziegler et al., 2008**). Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue (**Roux et al. ; 2007**). Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent

ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (Ziegler et al., 2008). Elles possèdent presque toutes une molécule d'azote (-N—) qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques employés pour traiter certains types de cancer. D'autres, comme l'atropine, ont une action directe sur le corps: activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (Iserin et al., 2001).

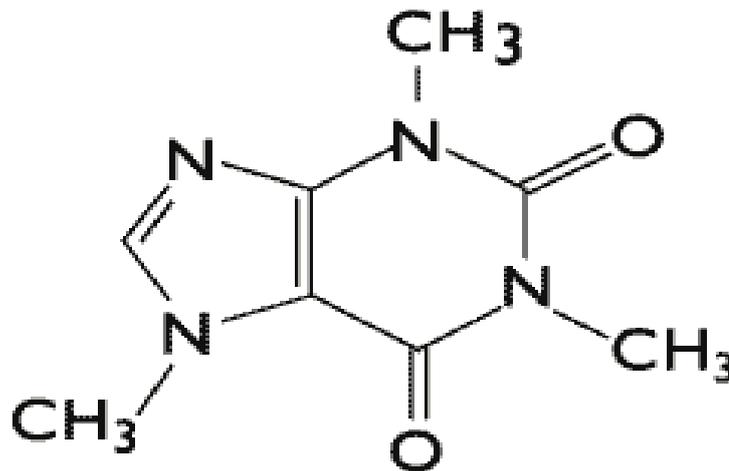


Figure N° 05 : Structure de base des alcaloïdes (Schauenberg et al., 2005).

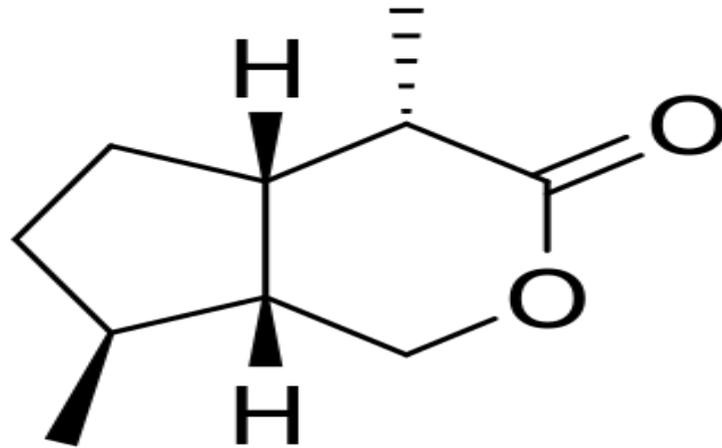
### I.2.2.6. Isoprénoïdes

#### I.2.2.6.1. Terpénoïdes et Stéroïdes

Terpénoïde ou terpène inventé par **Kekulé**, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe : « *Pistacia Terebinthus* » (Ayad, 2008). Les terpénoïdes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique (voir figure N° 6) ou de chaîne ouverte (Hellal, 2011).

Les stéroïdes constituent un groupe des lipides dérivant des triterpénoïdes (lipides à 30 atomes de carbone (C<sub>30</sub>). Les stéroïdes sont dérivés des triterpènes-tétra-cycliques et possèdent un squelette cyclopentaperhydro phénanthrène. Beaucoup des stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiennes (Hanson, 2003).

En effet les plantes synthétisent plus de vingt-deux mille dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (Conolly, 1992). Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (Seenivasan, 2006) c'est-à-dire leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (Hernandez-Ochoa, 2005).

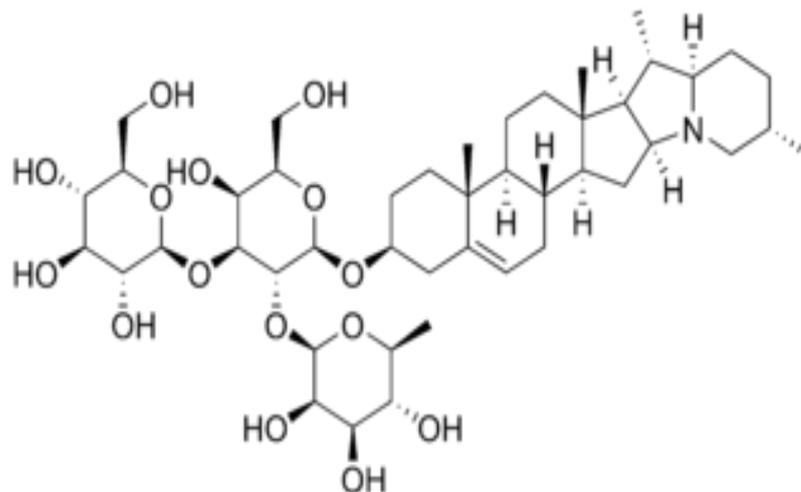


**Figure N° 06 :** Structure de base d'isoprénoïdes (Hernandez-Ochoa, 2005).

Parmi les terpènes les plus importants on trouve : l' $\alpha$ -pinène, le  $\beta$ -pinène, le  $\delta$ -3-carène, le limonène, le carotène. Deux de propriétés fondamentales de terpènes sont leurs caractères odoriférants (géranium) et leurs sensibilités à la lumière. Un grand nombre d'entre eux possède des propriétés antiseptiques (Klaas et al., 2002).

#### I.2.2.6.2. Saponines (Groupes de stéroïdes)

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon (Hart et al., 2008), parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres (voir figure N°7) (Manach, 2004). Ils sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpéniques ou stéroïdes. (Wallace, 2004).



**Figure N° 07 :** Structure de base des saponines (Manach, 2004).

### I.3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes

Ces études focalisées sur l'activité antimicrobienne des différents extraits de plantes médicinales, ces derniers suggèrent que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al ., 2009**). D'autres chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang et al., 2008**).

#### I.3.a. Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des plantes médicinales a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (**Billerbeck et al., 2002**) et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes (**Teixeira Da Silva, 2004**).

#### I.3.b. Activité antivirale

Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques des extraits telles que les monoterpénols. Des nombreuses pathologies virales sévères traitées avec des extraits ont montrées des améliorations importantes (**Reichling, 2003**).

#### I.3.c. Activité antibactérienne

Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique (**Remmal, 1993**). Ils sont connus que le traitement de ces infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Mais, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration dans les recherches médicales (**Ali-Shtayeh et al., 1998**)

### I.4. Activité antimicrobienne des polyphénols

Le contact de l'homme avec les micro-organismes se trouve depuis la naissance, ce contact va progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut distinguer 3 groupes : les

barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle et l'immunité acquise (**Kaufmann, 1997**).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (**Billing et al., 1998**).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Une contamination de végétaux par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la mise en place de mécanismes de défense de la plante (**Macheix et al., 2005**).

Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésions microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**Cowan, 1999**).

# Chapitre II

## Etude botanique

## II. Présentation de la plante médicinale étudiée (*Sonchus Oleraceus L*)

Nom commun

- Sow thistle, sow chardon, milk chardon (anglais).
- Laiteron maraîcher, laiteron potager (français).

### II.1. Historique sur *S. oleraceus L*

Aux États-Unis, *S. Oleraceus L* a été observé en Californie en 1824. Au cours des années 1800, des Européens en grand nombre s'installèrent dans de nombreuses parties du monde, portant leurs récoltes avec eux. Ainsi, ils ont emmené *S. oleraceus L* en Australie et en Nouvelle-Zélande (et sans doute beaucoup d'autres pays) pendant cette expansion (**Guertin, 2003**). Aux Antilles, cette espèce a été observée vers la fin des années 1800 et elle a été récoltée en 1885 à Porto Rico, 1892. En Guadeloupe et 1897 en Jamaïque. Enregistre des introductions transitoires à l'île Campbell subantarctique dans un sol de jardin et signale que l'espèce avait déjà été trouvée près de la colonie d'Enderby, dans les îles Auckland (**Meurk, 1975**).

### II.2. Description botanique

*Sonchus oleraceus L* est une plante annuelle ou bis-annuelle qui peut atteindre 1,4 m de haut à partir d'une courte racine pivotante (**Hutchinson et al, 1984**). L'usine est glabre et excrète un jus laiteux lorsqu'il est brisé. Les tiges sont dressées, simples et ramifiées au-dessus. Les bases de tiges sont épaisses et creux. Les feuilles sont oblongues à obovales ou lancéolées et ont des lobes pennés ou rognés. Les feuilles mesurent de 6 à 35 cm de long, de 1 à 15 cm de large et sont alternes (**Hyatt, 2006**). Les feuilles des tiges manquent de tiges et ont des lobes basaux aigus légèrement courbés vers le bas. Les bords des feuilles peuvent être faiblement ou rarement piquants et sont mous au toucher. Trois verticilles de bractées involucre entourent les capitules (**Ditomaso et al., 2007**). Ces bractées involucre ont une longueur de 9 à 13 mm et sont lancéolées, rétrécissant à des pointes minces. Les capitules sont constitués de 25 à 150 ligules, rayons jaunes. Chaque capitule mesure de 1,5 à 2,3 cm de diamètre. Les graines sont brunes et aplaties avec deux à quatre nervures longitudinales et une aigrette blanche, (**Klin kenberg, 2010**).



Figure N° 08 : *Sonchus oleraceus* L (Chirila, 1989).

### II.3. Systématique de la plante

- Domaine : *Eukaryota*.
- Royaume : *Plantae*.
- Embranchement : *Spermatophyta*.
- Sous-embranchement : *Angiospermae*.
- Classe : *Dicotyledonae*.
- Ordre: *Asterales*.
- Famille : *Asteraceae*.
- Genre: *Sonchus*.
- Espèce : *Sonchus oleraceus* L (Stevens, 2012).

### II.4. Origine et distribution

*S. oleraceus* L est originaire d'Europe (Matthei *et al.*, 1993) d'Afrique du nord et d'Asie occidentale. Elle s'est propagée en Amérique du nord et du sud, en Inde, en Chine, en Australie (Hegi, 1929 ; Grieson, 1980) dans les îles du Pacifique et dans les îles antarctiques (Walter, 1968). Il est considéré comme une espèce cosmopolite (Gleason *et al.*, 1991 ; Lambinon *et al.*, 1992). Dans les pays pratiquant des pratiques agricoles extensives, bien que *S. oleraceus* L soit répandu, certaines distinctions quantitatives peuvent être faites en fonction de conditions favorables pour l'espèce. Par exemple, il se produit dans tous les états des États-

Unis, mais une plus grande densité est enregistrée le long de la côte du pacifique, ainsi que dans les états du sud-ouest et du sud-est (**Anonyme, 1976**).

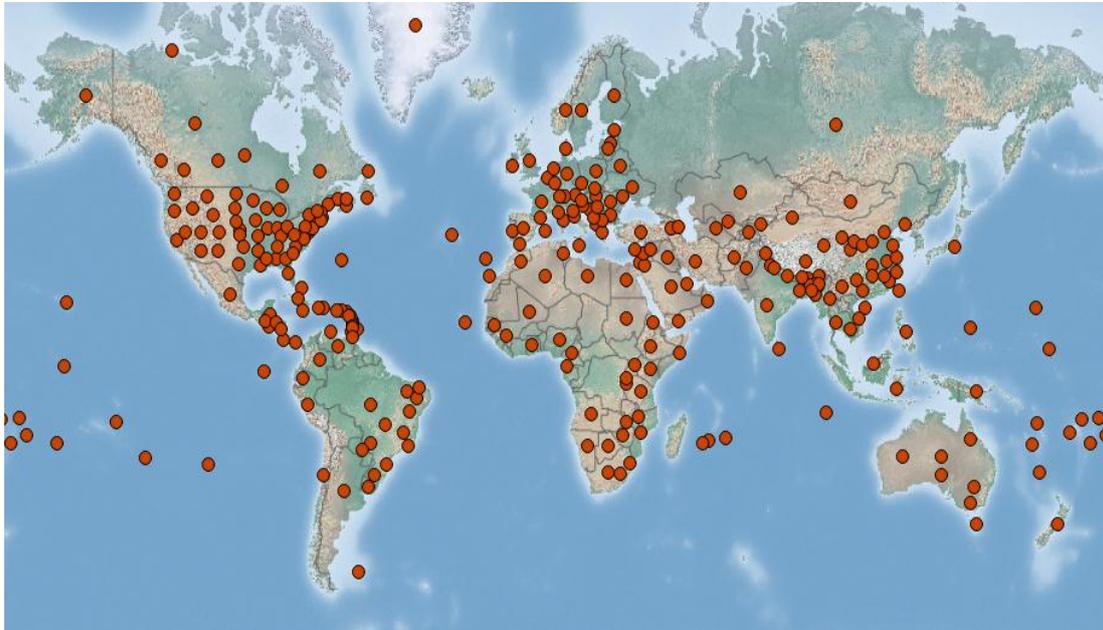


Figure N° 09 : Distribution de la *Sonchus oleraceus* L.

## II.5. Habitat

*S. oleraceus* L est une mauvaise herbe fréquente et pousse dans les zones perturbées en terrain cultivé, les jardins, les dunes de sable, les terrains vagues, les bords des routes, près des voies navigables, les zones brûlées, les chantiers de construction et les cours de fer. Il pousse rarement dans des communautés fermées comme la forêt ou les pâturages, car il a besoin de lumière pour germer et croître et il est brouté par le bétail sauvage et d'élevage. Dans les zones désertiques, il ne se trouve généralement qu'à proximité des cours d'eau (**Guertin, 2003**). Il croît du niveau de la mer à plus de 2500 m. *S. oleraceus* L se trouve sur de nombreux substrats différents, y compris les sols salins, mais jamais sur la tourbe acide (**Lewin, 1948**). Elle se rencontre principalement sur des sols relativement humides, riches en sodium, en phosphore, en potassium et en calcium (**Kovacevic, 1961**). L'espèce est présente dans un large éventail de climats, du nord du Canada frais (**Hutchinson et al., 1984**) au Kenya tropical et à l'Ouganda (**Prota, 2014**).

## II.6. Phases du cycle de vie

*Sonchus oleraceus* L, produit des graines prolifiques, jusqu'à 8 000 par plante (Chauhan et al., 2006) sont capables de germer toute l'année, en particulier après la pluie (Csiro, 2007). Essais sur le terrain. L'Australie a montré que les graines de *S. oleraceus* L peuvent maintenir leur viabilité pendant 8 mois ou plus si elles restent dans les 2 premiers centimètres du sol, tandis que les graines enfouies plus profondément peuvent rester viables pendant 30 mois ou plus (Chauhan et al., 2006). *S. oleraceus* L germe de février à juin en Californie. Des graines qui germent en automne hivernal dans une phase végétative en rosettes (Hutchinson et al., 1984).

## II.7. Reproduction

*Sonchus oleraceus* L se reproduit uniquement par graines. Les graines sont principalement dispersées par le vent, bien qu'on les ait trouvés attachés aux vêtements (Ridley, 1930) et aux plumes et fourrure d'oiseaux et d'animaux (Parker, 1992). La hauteur de la plante affecte distance de dispersion potentielle (Hutchinson et al., 1984). Les graines peuvent aussi être dispersées par les animaux étant passés à travers le tube digestif. Les fleurs sont pollinisées par les abeilles solitaires et des espèces de mouches (Lewin, 1948). Les fleurs sont également compatibles et les graines sont produites par autopolinisation et fertilisation (Hutchinson et al., 1984).

## II.8. Nutrition

Des expériences de germination de graines menées en Australie ont montré que la germination de *Sonchus oleraceus* L peut se produire dans une large gamme de températures (Widderick et al., 2010). La germination des graines était plus élevée dans des conditions de lumière, mais une certaine germination s'est produite dans l'obscurité comme bien. Alors que la salinité de faible niveau était favorisée par les graines, certaines graines ont germé à teneur élevée en sel. La germination a été inhibée à des niveaux élevés de stress osmotique. Cela suggère que *S. oleraceus* L à une certaine capacité à germer dans des conditions de stress hydrique. La gamme de pH pour la germination était large, avec une germination de 90% entre pH 5 et 8. Germination déclinée à 77% ou plus à pH 8 à 10 L'émergence des semis était la plus graines placées à la surface du sol, aucun plant n'a émergé des graines placées à 5cm (Chauhan et al., 2006), ou inférieure à 2 cm (Widderick et al., 2010).

## II.9. Utilisation traditionnelle de *Sonchus oleraceus* L

*S. oleraceus* L a été consommé par les peuples dans de nombreuses régions du monde en tant que légume à salade et en pot. Les chardons de truie annuels (*S. oleraceus* L) ont de nombreuses utilisations en tant qu'aliment humain et en tant que médicaments et herbes médicinales en Afrique et en Asie, où ils sont également utilisés pour l'alimentation des bovins et autres animaux d'élevage. En Afrique et ailleurs *S. oleraceus* L est prélevé dans la nature, mais apparemment il est cultivé commercialement à petite échelle en Indonésie (Proto, 2014). En Nouvelle-Zélande, *S. oleraceus* L est très apprécié comme légume vert, généralement cuit avec de la viande. Le jus est utilisé comme tonique et laxatif, et la sève blanche peut être traitée comme chewing-gum (Terrain, 2013).

## II.10. Impacts généraux

*Sonchus oleraceus* L est un problème majeur en tant qu'espèce de nombreuses cultures, en particulier des champs de légumes ouverts. Il est particulièrement problématique dans les cultures d'hiver et dans les systèmes de travail du sol dans le sud de l'Australie, le sud-est du Queensland et le nord de la Nouvelle-Galles du Sud. Il utilise l'humidité précieuse stockée du sol pendant les périodes de jachère, ce qui réduit le rendement des récoltes futures (Widderick et al., 1999). Cette plante est également un important hôte alternatif de parasites et de maladies des cultures (Csiro, 2007). Il est un hôte connu d'un large éventail de maladies virales, y compris le virus de la mosaïque de la pastèque. Le virus de la mosaïque du pepino, le virus de la tache bronzée de la tomate et le virus de la mosaïque de la luzerne. Il est l'hôte de l'aleurode castor (*Trialeuro desricini*), des aleurodes Bemisia, la noctuelle du cotonnier (*Helicoverpa armigera*) et le nématode *Radopholus similis* (Grubben, 2004). Il est également susceptible d'être un hôte important pour le mildiou (*Bremia lactucae*), l'un des pires maladies de la laitue qui est une culture légumière importante dans le monde (Vieira et al., 2006).

## II.11. Information de gestion

### II.11.1. Contrôle physique

Des populations petites ou isolées de *Sonchus oleraceus* L peuvent être enlevées manuellement alors que les plantes sont jeunes, avant l'ensemencement. La racine pivotante doit être retirée, car la reproduction peut se produire si elle est laissée dans le sol (Rnrees, 2000 à Guertin, 2003). Les coupures sont souvent inefficaces car les fleurs continuent à être produites (Flora Base, 2010). Travail du sol minimal des cultures est recommandé car cela

permettra de maintenir la plus grande partie de la banque des graines près de la surface du sol, ce qui favorise la germination des graines, favorise l'émergence et favorise la dégradation des graines et la prédation. Si les semis sont contrôlés efficacement pendant une période de 6 à 12 mois, ce type de contrôle devrait réduire considérablement la banque de graines (**Widderick et al., 2010**). Les méthodes de paillage et de stérilisation du sol peuvent compléter les autres efforts de gestion (**Rnrees, 2000 à Guertin, 2003**).

### II.12.2. Pâturage

Pâturage de *S. oleraceus L* par les bovins et les ovins suppriment efficacement les infestations pâturages, et affaiblit les plantes permettant d'utiliser plus efficacement d'autres méthodes de lutte (**Zollinger et al., 1999**). Ils font aussi d'excellents aliments pour le bétail.

### II.12.3. Lutte chimique

Pour le contrôle de *Sonchus oleraceus L*, un herbicide de pré-émergence contenant de l'isoxabène peut être utilisé, des savons herbicides lorsque les plantes sont jeunes, ou du glyphosate quand les plantes sont mûres. Recommandent le 2,4-D, clopyralide, le dicamba, le glyphosate et le picloram pour le contrôle de *Sonchus oleraceus L* (**Rice., 1992 in Guertin., 2003**). *S. oleraceus L* a développé une résistance au chloresulfuron dans le sud du Queensland et l'atrazine du nord de la Nouvelle-Galles du Sud (**Adkins et al., 1997. Chauhan et al., 2006 dans CSIRO., 2007**) et tous les herbicides de laitue (*Lactuca sativa*) (**University of California Riverside, non daté à GUERTIN., 2003**). Une étude récente réalisée en Californie a également trouvé du bromure de méthyle et les fumigants sont inefficaces contre *S. oleraceus L* (**Shrestha et al., 2009**). Apparemment pulvérisation de spots de Lontrel® 10ml / 10L avec un agent mouillant peut être utilisé pour contrôler la plante, de préférence au stade de la rosette (**Flora Base., 2010**).

### II.12.4. Contrôle biologique

Les agents biologiques font actuellement l'objet de recherches en tant que possibilité de gestion *S. oleraceus L* et d'autres espèces de *Sonchus* en Australie (**CSIRO, 2007**). Les espèces de *Sonchus* ont avait déjà été la cible de la lutte biologique au Canada (**Peschekn, 1984 dans CSIRO., 2007**). Des prospections préliminaires d'agents de lutte biologique ont été réalisées dans le sud de la France et Europe du Nord. Actuellement le champignon de la rouille *Miyagia pseudosphaeria* et une espèce d'acariens *Eryophyides* non identifiés sont deux organismes Australie avec un potentiel de contrôle. Le projet CSIRO se concentrera sur la

détermination de l'impact de ces agents de contrôle potentiels sur l'espèce indigène australienne (*Sonchus hydrophilus* et activités mégalocarpes et sur la mauvaise herbe *S. oleraceus* L) (CSIRO., 2007).

# **Etude expérimentale**

# Chapitre I

## Matériel et méthodes d'analyse

L'ensemble de ce travail a été effectué au laboratoire de chimie et microbiologie du département de biologie de l'université de **8 Mai 1945 Guelma**.

## I. Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce végétale appartenant à la famille d'*Asteraceae*s. Les parties utilisées sont les tiges et les feuilles séchées et récoltées à partir de la région de **Beni Mazline – Guelma**, ces derniers sont broyés finement à l'aide d'un broyeur pour avoir une poudre végétale.

### I.1. Extraction des polyphénols assiste par macération

#### I.1.1. Mode opératoire

La méthode utilisée est celle de **Bruneton, 1993 ; Markham, 1982** modifiée. 100 g de la drogue végétale et 1L d'un mélange de solvant méthanol –eau (80/20) sont introduits dans un erlenmeyer de 1L. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 72 heures .Après une double filtration sur papier filtre, les filtrats ont été soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapeur (BUCHI - zwitterbland) à 40°C puis tous les extraits sont conservés à froid jusqu'à leur utilisation (**Fadili, 2015**). Après l'évaporation, le macérât a été dissous dans l'eau (150 ml) et agité jusqu'à dissolution sous agitation magnétique et maintenu à 4°C pendant une nuit pour précipiter un maximum de chlorophylles. L'extrait obtenu est considère comme étant l'extrait brut (EBr). Un volume 50ml de EBr qui a été séché jusqu'à l'élimination de l'eau puis conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation.

L'autre fraction d'EBr est initialement additionnée à l'éther de pétrole, le mélange est laissé décanter, et la phase organique supérieur est récupérée. L'extraction est refaite plusieurs fois (3 fois) jusqu'à ce que le solvant (150 ml) devienne transparent. L'éther de pétrole est par la suite évaporé et l'extrait résultant est considéré comme étant la fraction de l'éther de pétrole (EEp). La phase aqueuse résiduelle est soumise à une autre extraction par le chloroforme, et enfin par l'acétate d'éthyle en suivant les mêmes étapes que la première extraction par l'éther de pétrole. Cinq fractions sont obtenues ; l'EBr, l'EEp, la fraction du chloroforme (ECh), la fraction de l'acétate d'éthyle (EAe) et la fraction aqueuse (EAq) résiduelle.

Les cinq fractions ont été séchées et conservées à 4 °C jusqu'à son utilisation (**Trabsa, 2015**). La poudre lyophilisée ou évaporée des extraits est pesée et dissoute dans le 5 ml méthanol afin d'avoir des solutions méthanoliques (**Voir l'annexe N° 1**).

### I.1.2. Calcul de rendement

**Rendement de l'extrait :** Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante (Falleh et al., 2008).

$$R (\%) = (M_{\text{ext}}/M_{\text{éch}}) \times 100.$$

**R :** est le rendement en %.

**M<sub>ext</sub> :** est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

**M<sub>éch</sub> :** est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

## II. Criblage phytochimique d'extrait méthanolique

Dans le but de mettre en évidence les composés supposés bioactif dans les extraits préparés, des tests phytochimiques analytiques sont réalisé :

### II.1. Tanins

Il est préparé une infusion de la plante en poudre à 10% (2g de la poudre séché est recouvertes de 20ml d'eau très chaude ou bouillante), après 5 à 6 minutes, le mélange est homogénéisé et filtré légèrement. Un volume du filtrat est diluée avec de l'eau distillée de 1/4 puis trois gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 10% sont ajoutées. Une couleur bleu ou vert indique la présence de tanins (Bouchouka, 2016).

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1mL de l'extrait méthanolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de Chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) diluée. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (Tanins galliques), vert ou bleu-vert (Tanins catéchiques) (Trease et al., 1987).

### II.2. Saponosides

Les saponines sont des glycosides contenus dans les plantes qui doivent leur nom au fait qu'elles moussent lorsqu'on les mélange avec l'eau bouillante (Hans, 2007). Pour la détection des saponines, 2 g de poudre placé dans une fiole jaugée sont agités pendant 30 minutes. Le mélange est ensuite filtré. Après refroidissement le filtrat est agité verticalement. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (Koffi et al., 2009).

La teneur en saponosides est évaluée comme suit :

Pas de mousse : test faiblement positif.

Mousse moins de 1cm = test positif

Mousse de 1-2 cm = test positif

Mousse plus de 2 cm = test très positif (Seladji, 2013).

### II.3. Alcaloïdes

- **Macération en milieu alcalin**

Une quantité de 2 mg du matériel végétal est mise dans un bécher de 50 ml avec 10 ml d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) (10%), l'ensemble est porté sur un agitateur pendant 3 heures. Ensuite, le mélange est filtré et réparti dans un tube, on ajoute 1ml de filtrat plus 5 gouttes du réactif de Mayer un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité blanc ou blanc – jaunâtre (**Bendif, 2017**).

### II.4. Flavonoïdes

- **Réaction à la cyanidine**

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait méthanolique avec 1 ml d' HCL concentré et 0,5g de tournure de magnésium. Il se produit un précipité après quelques minutes d'une couleur rose orangée (flavoës) ou rose – violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols). La présence des flavonoïdes se traduit par l'apparition d'une couleur rose ou rouge (**Bruneton, 1993**).

- **Criblage des flavonoïdes**

Il est introduit dans un tube à essai 5 ml l'infusé, 5 ml de d'alcool chlorhydrique (alcool à 50%) et 1ml d'alcool iso amylique est chauffée pendant 15 minutes au bain – marie. En présence de leucoanthocyane, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brune – rouge (**Ben El Hadj, 2014**).

### II.5. Terpénoïdes (test de Slakowski)

1ml de l'extrait méthanolique, il est additionné 0,4 ml de chloroforme ( $CHCl_3$ ) et 0,6 ml de ( $H_2SO_4$ ) concentré. la présence de terpénoïdes est mise en évidence par l'apparition d'un anneau marron, violette – bleu ou verte à l'interphase (**Khan, et al., 2011**).

### II.6. Stérols et polyterpènes

La mise en évidence des stérols et polyterpènes a été faite à partir de la réaction de Lieberman – Buchard. Un gramme d'extrait est dissout à chaud dans 1ml d'anhydride acétique puis, 0,5 ml d'acides sulfurique ( $H_2SO_4$ ) concentré y ont été coulés. L' apparition d'une coloration violette virant ensuite au bleu puis au vert était signe de la présence des stérols et polyterpènes (**Khelifi et al., 2011**).

## II.7. Test des lipides

Sur du papier filtre, ont été déposées quelques gouttes de la solution d'extrait. Le papier était ensuite séché à température ambiante. La présence de tâche translucide aux sites de dépôt des gouttes était révélatrice de la présence des lipides (**Trease et al., 1987**).

## II.8. Anthraquinones libre (réaction de borntrager)

On ajoute 2,5 ml d'une solution de l'ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH) (20%), à 5ml des extrait préparé puis agiter. L'apparition d'une coloration plus ou moins rouge violacée indique la présence des Anthraquinones libre (**Bendif, 2017**).

- **Anthracenosides**

Pour mettre en évidence ces composés il faudra d'ajouter 10 ml d'HCL (10%) a 20 ml de l'extrait méthanolique, puis porter l'ensemble a reflux pendant 30 minutes. Refroidir la solution et l'extrait 3 foie avec 10ml d'éther – diéthylique. Ensuite, chacune de ces familles est détectées séparément : La détection des anthracenosides est réalisée par le réactif de borntrager, en traitant 8ml de la solution extractive étherique ce dernier. Un test positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive variant de l'orange– rouge au violet – pourpre (**Bendif, 2017**).

## II.9. Coumarines

Les coumarines sont révélés à partir de 5 ml d'extrait placé dans un tube porté à ébullition jusqu'à l'obtention d'un volume de 1 ml, ce volume est ajouté à 1ml d'eau chaude. Après agitation, le volume total est divisé en deux volumes, l'un sert de témoin et l'autre est ajouté à 0.5 ml de NH<sub>4</sub>OH (10%) puis examiné sous lampe UV. L'émission de la fluorescence indique la présence des coumarines (**Bruneton, 1999**).

## III. Analyses quantitatives des extraits

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires ont été effectuées sur l'extrait méthanolique de *Sonchus Oleraceus L.*

### III.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénolique des fractions d'extrait est estimée par la méthode de Folin - Ciocalteu (**Li et al., 2007**). Brièvement 1ml de réactif de Folin – Ciocalteu (1/10) est ajouté à 200 µL de chaque extrait ou standard avec de dilutions convenables. Après 4 minutes, 800µL d'une solution de carbonate de sodium (75mg /ml) est additionnés au milieu réactionnel. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765 nm. La teneur en polyphénols totaux est estimée à partir de l'équation de régression de la

gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0 - 150 µg /ml) et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de poids sec (mgEqAG/g Ps) (**Trabsa, 2015**). Cette procédure est résumée dans un schéma (**voir annexe N° 3**).

### III.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la classe la plus importante des polyphénols. Nous avons adopté la méthode au trichlorure d'aluminium (**Ayoola, 2008**). La teneur en flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine de différentes concentrations (20,40, 60, 80, 100, 200) (µg/ml) et est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec (mgEQ/g Ps). 1 ml d'échantillon ou du standard (préparé dans le méthanol) est ajouté à 1ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Après 30 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm (**Trabsa, 2015**). Cette procédure est résumée dans un schéma (**voir annexe N° 3**).

## IV. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode repose sur la séparation de différents constituants d'un extrait selon leur affinité de migration dans la phase mobile (**Ekoumou, 2003 ; Debete, 2005**) qui est en générale un mélange de solvant ; adapté au type de séparation recherché), et leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu polyphénolique et flavonoïque de l'extrait (**Ferrari, 2002**).

### IV.1. Dépôt des échantillons

Le dépôt fait linéairement de façon ponctuelle avec un capillaire (pipette capillaire) à usage unique. Il doit être posé perpendiculairement et prudemment sur la plaque pour ne pas gratter le gel. Un séchage est obligatoire après chaque dépôt (**Sine, 2003**).

### IV.2. Révélation

Après développement et évaporation du solvant de migration les tâches sont visualisées sous UV à λ égale 254 nm ou 365 (**Merghem, 1995**).

#### IV.2.1. Vanilline sulfurique

Après pulvérisation, la plaque est chauffée à l'étuve quelques minutes à 110°C. Elle permet de mettre en évidence les tris terpènes (coloration violet, rose et orange), les stéroïdes (coloration bleu) et les tanins (coloration rouge).

**IV.2.2. Chlorure d'aluminium**

La solution est pulvérisée sur le chromatogramme puis sécher à température ambiante. Le  $\text{AlCl}_3$  permet de révéler les flavonoïdes, les lactones et les composés terpéniques (Sofowora, 2010) (voir annexe N°4).

## V. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits

### V.1. Souches bactériennes testées

Les différents extraits de plante sont testés sur des micro-organismes comprenant des bactéries et des champignons dont la particularité morphologique est résumée dans le tableau suivant :

**Tableau N° 02 :** Différentes souches bactériennes testées.

Souches Testés	Gram négatif / positif
<i>Staphylococcus aureus</i> PT3 (homme).	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 328/ ECBU/ urine.	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	-
<i>Enterobacter</i> T3	+

Les différentes espèces bactériennes utilisées dans cette étude sont des souches de référence de type ATCC et des souches cliniques et un champignon (*Aspergillus niger*).

Les résultats sont interprétés par mesure du diamètre en mm de la zone d'inhibition autour du disque et comparés aux limites acceptables des diamètres d'inhibition de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2013).

#### A. Repiquage des souches bactériennes

Les bactéries sont conservées par des repiquages continus dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (Gélose Nutritive) (CM 325, Oxoid) et incubés pendant 18 h à 37 °C. Après la culture, les souches d'essai sont lavées avec du sérum physiologique (Wilimington, USA), afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0,5.

#### B. Préparation des extraits

Les différents extraits et les fractions sont dissouts dans le DMSO pour avoir une concentration de 100 mg/ml. L'extrait méthanolique pur a été utilisé comme témoins ou standard dans les mêmes conditions.

#### C. Ensemencement des milieux de cultures

La suspension bactérienne sont introduite dans le milieu de culture liquide, puis 20 ml est déposée sur une boite de pétri 90 mm de diamètre.

#### **D. Dépôt des échantillons et incubation**

Le milieu de cultureensemencé est percé (quatre puits de 6 mm de diamètre par boîte de pétri) à l'aide d'une pipette pasteur stérilisée, une laquelle il est déposé alors 50µl de chaque extrait dans les puits réalisés. La boîte est incubée à l'abri de la lumière, pendant une nuit à une température de 37 °C.

#### **E. Lecture du résultat**

Le diamètre du halo d'inhibition est mesuré au bout de 24 h, avec une précision de 0.1 mm et l'effet est calculé comme une moyenne de trois essais répétés. En effet, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 6 mm. Elle est limitée pour un diamètre compris entre 6 et 14 mm, et moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible (**Duraffourd, 1990**).

### **V.2. Méthode de diffusion en milieu gélosé**

L'activité antibactérienne des différents extraits végétaux est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par (**Bauer et al., 1966**) et reprise par (**Ananil et al., 2000**). A partir des jeunes colonies de 18 à 24 h, une suspension bactérienne est réalisée dans l'eau distillée stérile pour chaque souche. La turbidité de cette suspension est ajustée à 0,5 Mc Farland puis diluée au 1/100. L'inoculum estensemencé par inondation sur des boîtes de pétri contenant la gélose Mueller-Hinton (**SFM, 2008**). Les disques imprégnés l'extrait et des différentes fractions sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Les boîtes pétri sont d'abord laissées pendant 1h à la température ambiante pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 h (**Adesokan et al., 2007**). L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque (**Doughari et al., 2007**).

#### **V.2.1. Préparation des dilutions des extraits à tester**

L'extrait à tester est : l'extrait méthanolique et les trois fractions : chloroforme, éther de pétrole et l'extrait brut. Les différentes fractions sont solubilisées dans les solvants appropriés. Les screening antimicrobien sont effectué dans une concentration (1 mg / ml), trois répétitions sont effectuées pour chaque extraits, le DMSO est utilisé comme témoin.

#### **V.2.2. Repiquage des souches bactériennes**

Avant les tests, les souches bactériennes subissent une série de repiquage continus pendant une nuit à 37°C pour les bactéries et pour *Aspergillus niger* est 30°C pendant 48 h, par la méthode des stries pour s'assurer de leur pureté (afin d'obtenir une culture jeune, et des colonies isolées), les souches qui vont servir à la préparation de l'inoculum sont cultivées sur

la gélose GN pour les bactéries, les champignons été cultivés sur Sabouraud Dextrose Agar (SDA). Puis ont été conservés au réfrigérateur à 4°C (Bendif, 2017).

### V.2.3. Préparation de la suspension bactérienne et l'ensemencement des milieux de cultures

Les différentes colonies bien isolées sont prélevées et émulsionnées dans une solution saline, ensuite des dilutions sont faites afin de standardiser la suspension bactérienne. Les concentrations des inocula sont évaluées par turbidité, et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 600 nm). Une DO de (0.08 à 0.1) correspond à  $1-2 \times 10^8$  ufc /ml (0.5 Mc Farland) pour les souches bactériennes. La même technique est utilisée pour *Aspergillus niger*, une densité de (0,12 - 0,15) correspond à  $10^6$  (U / ml). La suspension bactérienne préparée est coulée à l'aide d'un écouvillon stérile sur le milieu de culture gélose de Muller Hinton (MH) pour les souches bactériennes et sur le milieu Sabouraud pour les champignons supplémenté avec 2 % glucose.

### V.2.4. Imprégnation des disques

Les disques stériles de 6 mm de diamètre sont imprégnés dans 50  $\mu$ L d'extraits à tester par disque ils sont séchés, puis déposés stérilement sur surface du milieu préalablement ensemencé. Chaque boîte a reçu 4 à 6 disques.

### V.3. Tests de sensibilité des germes aux extraits

Le test de sensibilité des bactéries aux différentes fractions des extraits est réalisé *in vitro* par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Rebecca *et al.*, 2011). Les différentes souches bactériennes sont repiquées par la méthode de stries sur gélose Mueller Hinton, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. A partir de ces cultures jeunes, des colonies pures sont isolées pour préparer l'inoculum bactérien. Chaque colonie est mise en suspension dans 2,5 ml d'eau distillée stérile. La turbidité de la suspension est mesurée à l'aide d'un densitomètre et ajustée à 0,5 Mc Farland. L'ensemencement de l'inoculum est réalisé par écouvillonnage en effectuant des stries serrées sur la gélose. Cette opération est répétée 3 fois en tournant la boîte de 60°. Des disques stériles de papier buvard de 6 mm de diamètre, sont imprégnés de 20  $\mu$ l d'extrait et les disques de témoin négatif sont imprégnés de méthanol. Tous les disques, une fois séchés dans l'étuve à 37°C, sont déposés délicatement sur le milieu gélosé ensemencé préalablement avec une suspension bactérienne des souches testées. Des disques standards de Gentamicine (10 $\mu$ g) sont utilisés comme témoins positifs. Les tests sont

réalisés en triplicata pour chaque extrait. Après incubation à 37° C pendant 18 à 20 heures, les diamètres des zones claires d'inhibition autour des disques sont mesurés en mm (**Biyiti et al., 2004**), un extrait est considéré comme actif s'il produit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10 mm Une 48 zone d'inhibition supérieure à 14 mm correspond à une activité antibactérienne très significative (**Ramzy et al., 2010**).

### **V.3.1. Préparation de l'inoculum pour les tests en milieu liquide**

Deux colonies bactériennes de 24 heures ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et émulsionnées dans un tube à essai contenant 10 ml de bouillon Muller-Hinton stérile. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 3 heures. Après cette incubation, une suspension de 0,3 ml de cette pré-culture a été prélevée et diluée dans 10 ml de bouillon Muller-Hinton stérile pour les bactéries et dans 10 ml puis homogénéisée.

### **V.3.2. Préparation de la gamme de concentration**

La gamme de concentration a été obtenue par la méthode de la double dilution. Pour ce faire, une solution de concentration de 50 mg/ml des extraits retenus a été préparée. Une série de dilution de raison 2 a été effectuée à partir de cette solution afin d'obtenir des gammes de concentrations allant de 50 à 0,78 mg/ml.

### **V.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

Pour chaque extrait de plante, on prépare par la méthode de double dilution (**Sikder et al., 2011**). Une gamme de concentrations stérile, allant de 25 à 0,024 mg/ml avec l'eau distillée. Il est préparé également pour chaque souche bactérienne, un inoculum dont la turbidité est ajustée a 0,5 Mc Farland (soit  $10^8$  ufc/ml) et ramené à  $10^6$  ufc/ml dans du bouillon Mueller-Hinton deux fois concentré. Ensuite, il est ajouté 1ml de chaque concentration et 1 ml de l'inoculum bactérien. La gamme de concentration de chaque extrait subit alors une dilution de moitié [25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,125 ; 1,56 ; 0,78 ; 0,39 ; 0,195 ; 0,097 ; 0,048 ; 0,024 mg/ml]. Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après l'incubation la croissance bactérienne dans chaque tube se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe (**NCCLS.1999**).

### V.5. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

Après la lecture des CMI, le contenu des tubes dans lesquels il n'y a pas eu de croissance visible a servi à ensemencer la GMH sur des stries de 5 cm. Cette série de boîtes de Pétri est nommée B. La CMB est déterminée en comparant la croissance bactérienne des boîtes A et B. Ainsi, la plus petite concentration du tube qui a moins de 0,01% de bactéries viables par rapport à l'inoculum initial est la CMB. Le rapport CMB/CMI permet de préciser la modalité d'action de la substance (**Fauchere, 2002**). L'extrait est bactéricide quand sa CMB est égale à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4. Il est dit bactériostatique quand sa CMB est supérieure à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est plus élevé que 4. Lorsque ce rapport est égal à 32 la souche est dite tolérante (**Kamanzi, 2002**).

### V.6. Détermination de la Concentration Minimale Fongicide

Un (1 ml) de Sabouraud liquide ensemencé par *Aspergillus niger* est introduit dans des tubes à essai, 1 ml d'extrait végétal de différentes concentrations de 50 mg/ml à 0,195 mg/ml est ajouté. Un des tubes recevra, en plus d'un (1 ml) de Sabouraud, 1 ml d'eau distillée stérile utilisée comme témoin. Ces tubes ensemencés sont incubés à 30°C pendant 48 h, le dénombrement des germes après 48 h d'incubation est réalisé directement en milieu Sabouraud liquide par la mesure de la turbidité. Cette opération est effectuée en faisant la différence entre la valeur de DO relevée avant et après l'incubation pour chaque tube.

La CMF a été déterminée par l'utilisation d'une gamme de dilution de l'agent antimicrobien, additionnée à une série de tubes d'un milieu de culture Sabouraud liquide. Sa détermination s'est effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance des germes étudiés, l'inhibition s'était traduite par l'absence de culture visible dans les tubes, par conséquent c'est le premier tube où la valeur di était égale à df ( $di = df$ ) avec (di : la valeur de DO du tube expérimental avant incubation et df : la valeur de DO du tube expérimental après incubation).

Les concentrations minimales inhibitrices sont exprimées en mg/ml. La concentration minimale fongicide (CMF) est la concentration de l'antimicrobien qui survient plus 0,01% de germes pour sa détermination, le tube témoin est dilué jusqu'à  $10^{-4}$ . Cette dilution qui a représenté 0,01% de survie est repiquée par stries de 5 cm sur gélose sabouraud puis incubée à 30°C pendant 48 heures. Le nombre de germes obtenu sur la strie de la dilution  $10^{-4}$  est comparé à celui de chaque tube expérimental également repiqué par strie de 5 cm. Ainsi, le premier tube test dont le nombre de germes présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution  $10^{-4}$  a correspondu à la CMF (**Moroh, 2008**).

# Chapitre II

## Résultat et discussion

## I. Analyse phytochimique

La préparation des extraits à partir de *Sonchus oleraceus L* a été effectuée en deux grandes étapes, la première est une extraction par un mélange méthanol - eau (80/20 V/V) pour obtenir initialement l'extrait brut contenant les polyphénols totaux. La deuxième étape fractionnement a été réalisée par trois solvants à polarité différents : l'acétate d'éthyle, l'éther de pétrole et le chloroforme ces derniers permettant de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction et donc selon leur degré de glycosylation (Merkhem, 1982).

De ce fait, cinq différentes fractions ont été obtenues successivement : l'extrait méthanolique, fraction d'éther de pétrole, fraction de chloroforme, fraction acétate d'éthyle et fraction aqueuse. Une partie de l'extrait méthanolique lyophilisé est consacrée au screening phytochimique et la chromatographie sur couche mince (CCM). Les cinq fractions sont consacrées aux tests antimicrobiens.

Le tableau N°4 illustré le rendement de l'extrait méthanolique (par rapport au poids de la poudre végétale) il est bien observé que la fraction aqueuse donne un meilleur rendement (73 %) pour l'extrait méthanolique a été enregistré un rendement de (0.93 %) suit par la fraction d'acétate d'éthyle et du chloroforme (0.10 % et 0.075 %). En fin le rendement d'éther de pétrole est le plus faible (0.06 %).

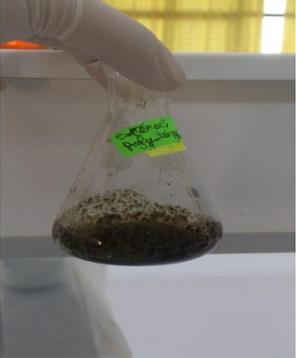
**Tableau N° 03 :** Rendement d'extraction méthanolique.

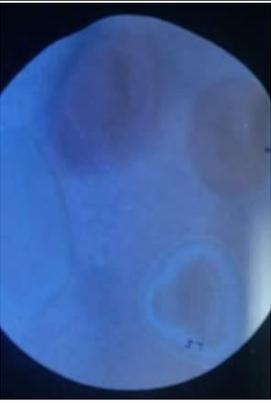
Extrait	Extrait méthanolique	Fraction d'éther de pétrole	Fraction de Chloroforme	Fraction Acétate d'éthyle	Fraction aqueuse
Rendement	0.98 %	0.06 %	0.075 %	0.10 %	73 %

Quelque études dirigé par (Dao-Zong et al., 2011) ont déterminé le rendement de six espèces de *Sonchus* allait du plus bas 96,5 mg/g (*S. asper*) au plus haut 121,5 mg /g (*S. brachyotus*). Le rendement de notre plante est plus élevé comparé aux études et résultats précédents

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés phénoliques existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le tableau N°4.

Tableau N° 04 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait de *Sonchus Oleraceus L.*

			
Flavonoïdes ++	Tanins galliques ++	Saponosides -	Stérols et polyterpènes +

				
Alcaloïdes +++	Anthraquinoses +++	Coumarines ++	Lipides -	Terpénoides +++

- Négative ; + Faiblement positif. ++ Positif ; +++ fortement positif.

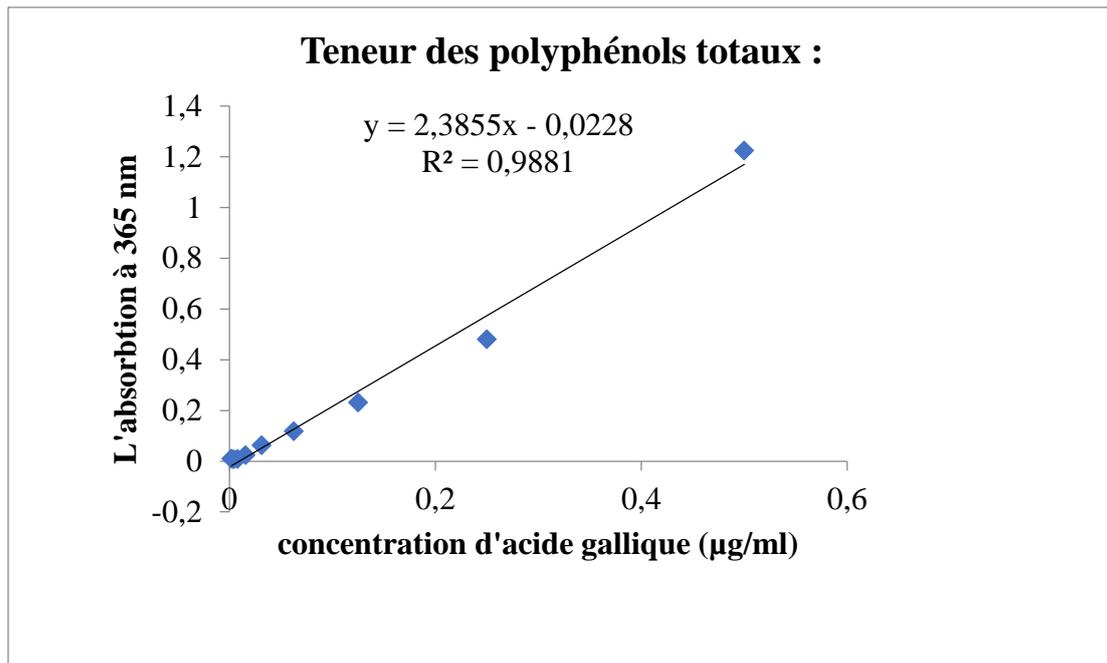
Les résultats obtenus montrent la richesse de l'extrait en que notre extrait est riche aux flavonoïdes, alcaloïdes, tanins galliques, terpénoïdes, coumarines, anthraquinoses, stérols et polyterpène. D'une part, sa pauvreté en saponosides et en lipides

Des études réalisées sur les espèces d'*Artémisia* appartenant à la même famille que *S. Oleraceus L* indiquent que toutes les classes de composés phénoliques sont présentes dans le genre avec une dominance particulière de terpènes et de flavonoïdes **Wright, 2002**. Il est décelé l'absence des saponines et des alcaloïdes. En revanche **Sellami et al., 2010** confirment la présence des alcaloïdes. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans la présente étude.

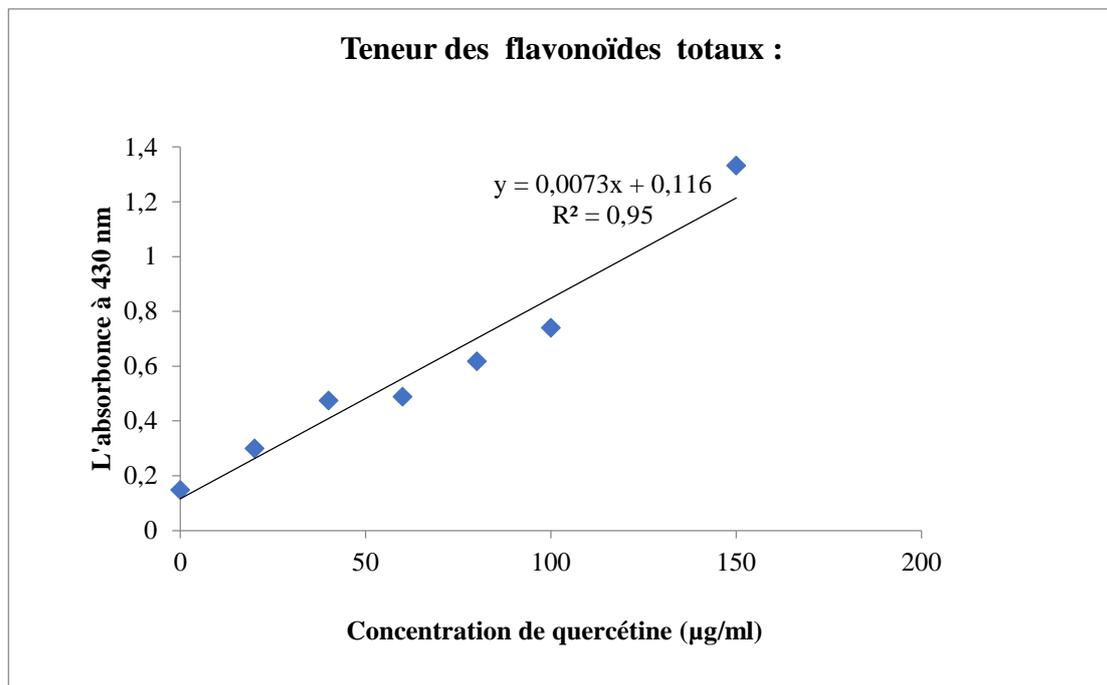
Ces différences sont dû au choix du solvant et au mode d'extraction aux conditions climatiques dures des endroits où elles sont cultivées (température élevée, grande exposition au soleil, sécheresse et salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tel que les polyphénols (**Falleh et al., 2008**).

Les tests phytochimiques préliminaires effectués sur *Sonchus oleraceus L* étaient de types qualitatifs. Il a été observé la présence dans les extraits flavonoïdes, d'alcaloïde, de tanins galliques, des terpénoïdes, des coumarines, anthraquinoses, les stérols et poly terpène.

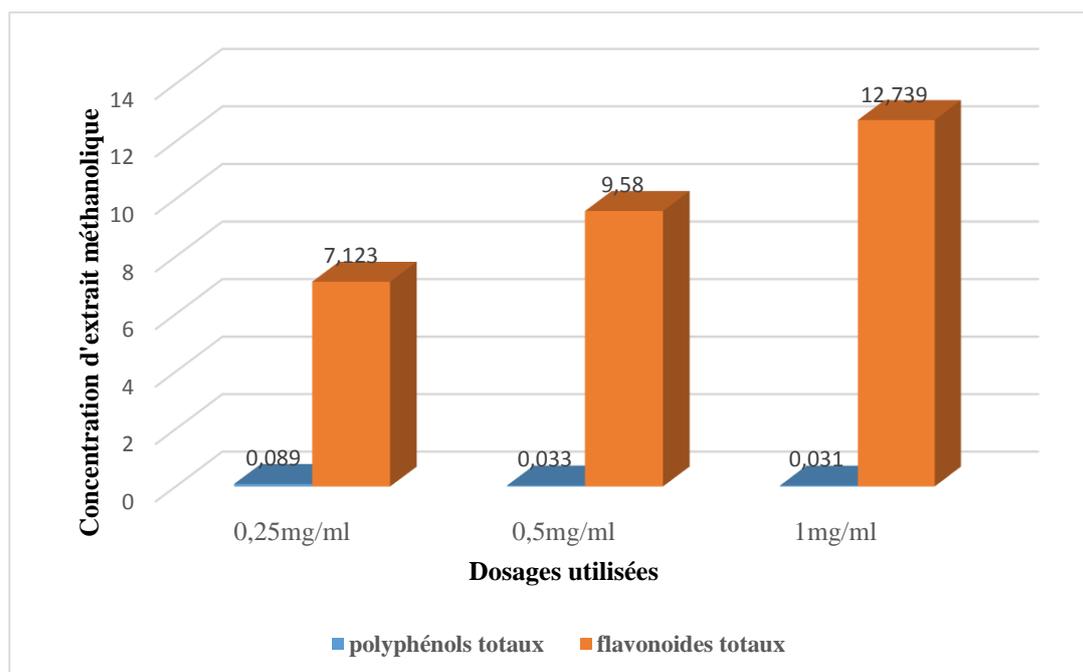
La quantité de polyphénols et flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique et de la quercétine par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EAC/g Ps) / (mg EQ/g Ps). Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait brut ont varié consécutivement de  $0.031 \pm 0.022$  à  $0.089 \pm 0.022$  mg EAG/g Ps, et de  $7.123 \pm 0.116$  à  $12.739 \pm 0.116$  mg EQ/g Ps).



**Figure N° 10 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure N° 11 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine.



**Figure N° 12** : Comparaison de teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux d'extrait de plante étudiés.

Ces résultats obtenus sont inférieures à ceux déterminés par **Dao-Zong et al., 2011** qui trouvent des valeurs pour la teneur en composés phénoliques totaux (417,3 mg EQ/g Ps) et (148,5 mg EQ/g Ps) pour les flavonoïdes totaux.

Pour **Florence et al., 2011** les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux plus élevée  $10.53 \pm 1.29$  mg EAG/g,  $0.98 \pm 0.10$  mg EQ/g Ps respectivement. Les résultats sont donc contradictoires avec ceux réalisés par *S. oleraceus*.

**Bouchouka, 2015** indique que les parties aériennes d'*A. radiata* (*Asteraceae*) ont de forte teneurs en composés phénoliques ( $20,88 \pm 0,08$  mg EAG/g MS). Pour **Djeridane et al., 2010** le taux des polyphénols totaux de l'extrait brut est : 14,36 mg EAG/g Ps pour *A. radiata* (*Asteraceae*). Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus.

Les études de **Hamada et al., 2015** sont réalisées sur les feuilles et les fleurs d'*A. radiata* (*Asteraceae*) illustrent une teneur de  $572,74 \pm 12,7$  mg EAG/g Ps, de l'extrait brut obtenu par macération dans le MeOH 70%. Cette valeur est supérieure à la nôtre.

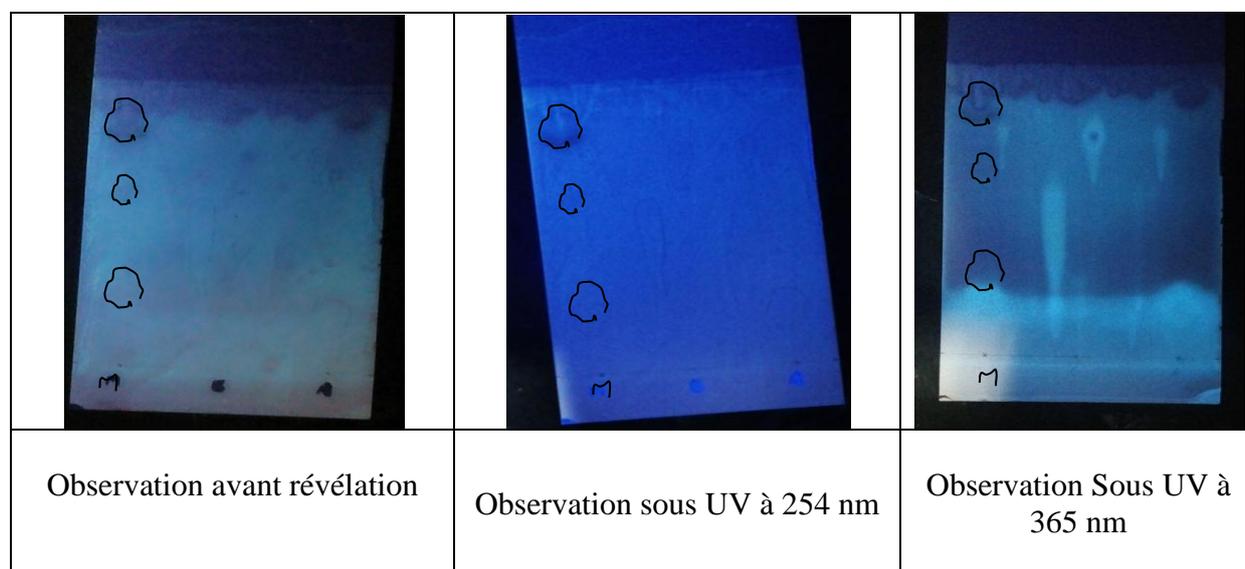
L'extrait méthanolique des parties aériennes de *A. radiata* (*Asteraceae*) récolté au sud de Maroc donnent les teneurs suivantes :  $216,31 \pm 6,14$  mg EAC/g d'extrait (**Bammou et al., 2015**). Alors le non concordance des résultats avec notre étude serait dû probablement au choix du solvant, au mode d'extraction ou la période de récolte et leur condition de développement.

L'analyse par chromatographie sur couche mince et l'observation des chromatogrammes de l'extrait sont effectuées sous une lampe à UV à 254 nm et 365 nm. Les deux systèmes de migration sont constitués de chloroforme, de méthanol et d'eau (60V/40V/4V) et butanol, acide acétique, eau (40V/10V/50V) a permis d'avoir une très bonne séparation chromatographique et une meilleur visibilité des taches.

Les trois taches de couleur vert à jaune, orange et rouge observées nous informent, après révélation des chromatogrammes avec Vanilline sulfurique, sur la présence de flavonoïdes, de terpénoïdes et des tanins dont les rapports frontaux sont consécutivement : 5,4 ; 7,8 ; 0,96. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau et les figures suivant :

**Tableau N° 5 :** Rapports frontaux des taches et les composés phénoliques identifiés dans l'extrait révélé par le Vanilline sulfurique.

Front du solvant = 8.7				
Taches	Distance parcourue	Rf	Couleur sous UV	types des composés phénoliques possibles
1	4.7	5.4	Vert à jaune	Flavonoïde
2	6.8	7.8	Orange	Terpénoïde
3	8.4	0.96	Rouge	Tanins

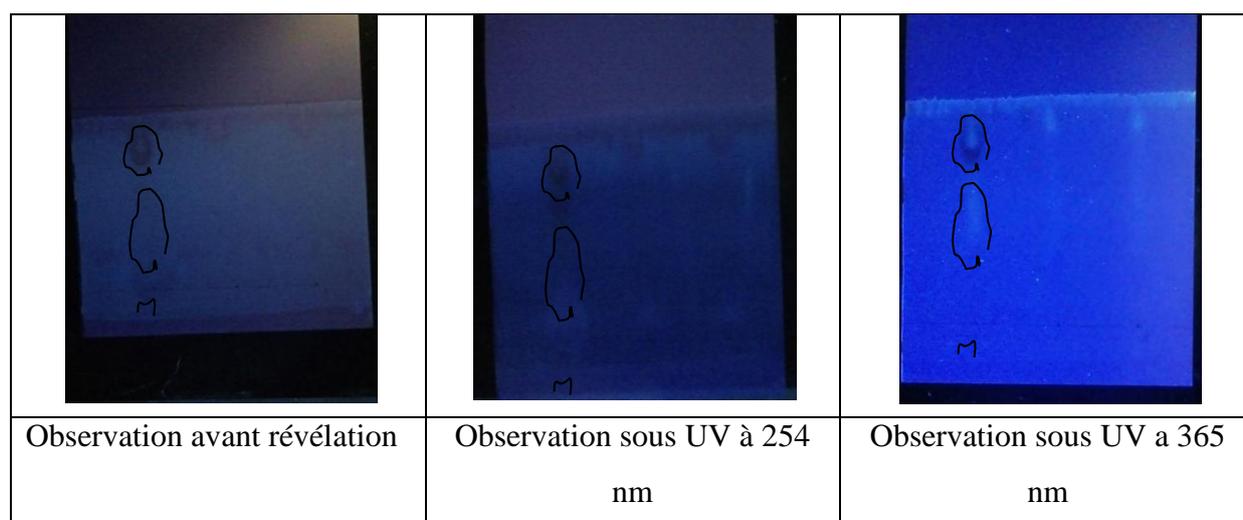


**Figure N° 13 :** Observation des taches sous la lampe UV révélé par le Vanilline sulfurique.

Les tâches de couleur brun et fluorescence observées nous informent que la révélation par l'ALCL3 indique la présence de tannins et flavonoïdes dont rapports frontaux sont consécutivement : 0,19 ; 0,82. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau et les figures suivant :

**Tableau N° 6 :** Rapports frontaux des taches et les composés phénoliques identifiés dans l'extrait révélé par le Chlorure d'aluminium.

Front du solvant = 12.8				
Taches	Distance parcourue	Rf	Couleur sous UV	Types des composés phénoliques possibles
1	2,5	0,19	Brun	Tannins
2	10,5	0,82	Fluorescence	Flavonoïdes



**Figure N°14 :** Observation des taches sous la lampe UV révélée par le Chlorure d'aluminium.

Nous remarquons, dans cette analyse qualitative, que l'extrait méthanolique est le plus riche en flavonoïdes totaux, en terpènes et en tanins.

Les spots ont été visualisés des longueurs d'onde  $\lambda$  254 nm et  $\lambda$  365 nm, cette dernière a donné des fluorescences plus claires et distinctes que la première longueur d'onde.

La CCM a permis de séparer les composés de l'extrait méthanolique en fonction de leur solubilité dans la phase mobile. La révélation par trichlorure d'aluminium reflète la présence de tanins (Wagner *et al.*, 1996), les taches ont une coloration brune. La révélation à

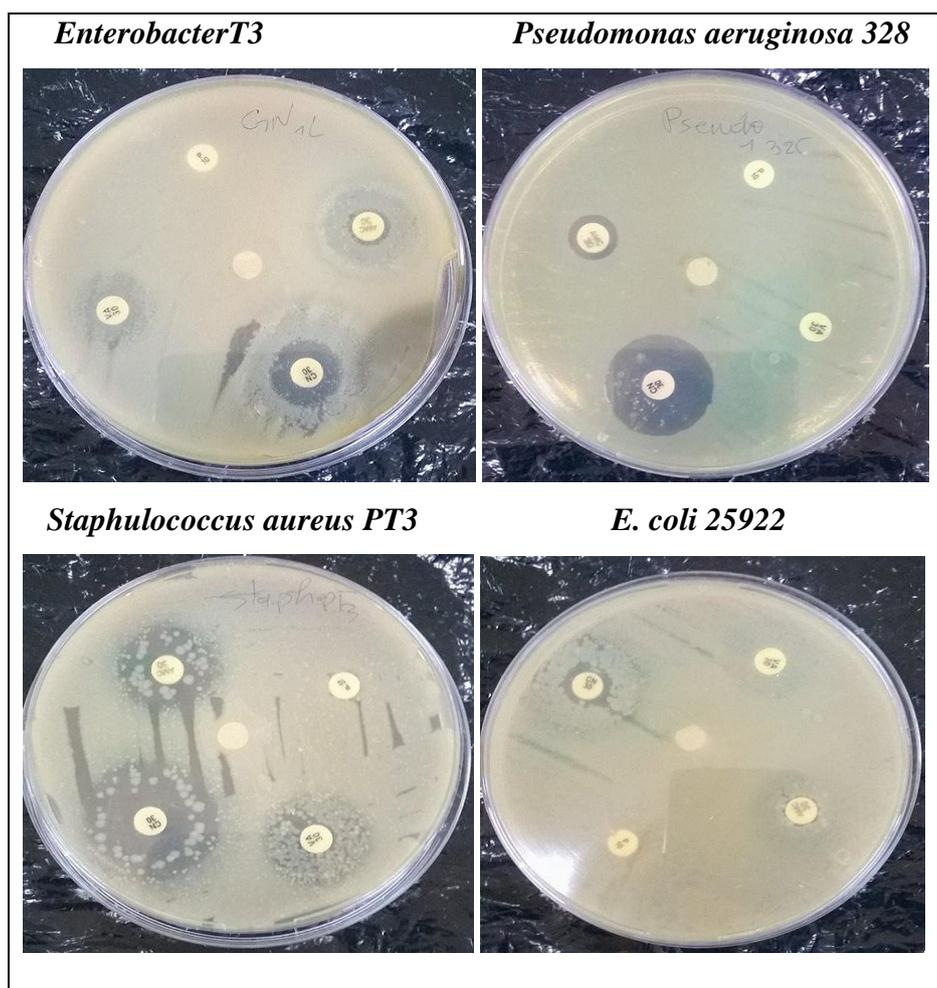
la vanilline sulfurique permet de supposer la présence des flavonoïdes avec des spots de couleur orange, jaune-orange, marron (Kabran, 2011 ; Benamar, 2010)

## II. Evaluation d'activité antimicrobienne

Le tableau N° 7 la figure N° 15 montre le profil de sensibilité aux antibiotiques sur les souches choisies. Il est bien montré l'existence de souches sensible et d'autres résistances.

**Tableau 07 :** Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées vis-à-vis aux antibiotiques.

	<b>Diamètres des zones d'inhibitions (mm)</b>			
	Gentamicine (30 µg)	Vancomycine (30 µg)	Pénicilline (10 µg)	Ampicilline (30µg)
<i>E. coli</i> 25922	13	/	/	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 328	13	/	/	9
<i>Staphylococcus aureus</i> PT3	27	19	/	20
<i>Enterobacter</i> T3	18	10	/	13

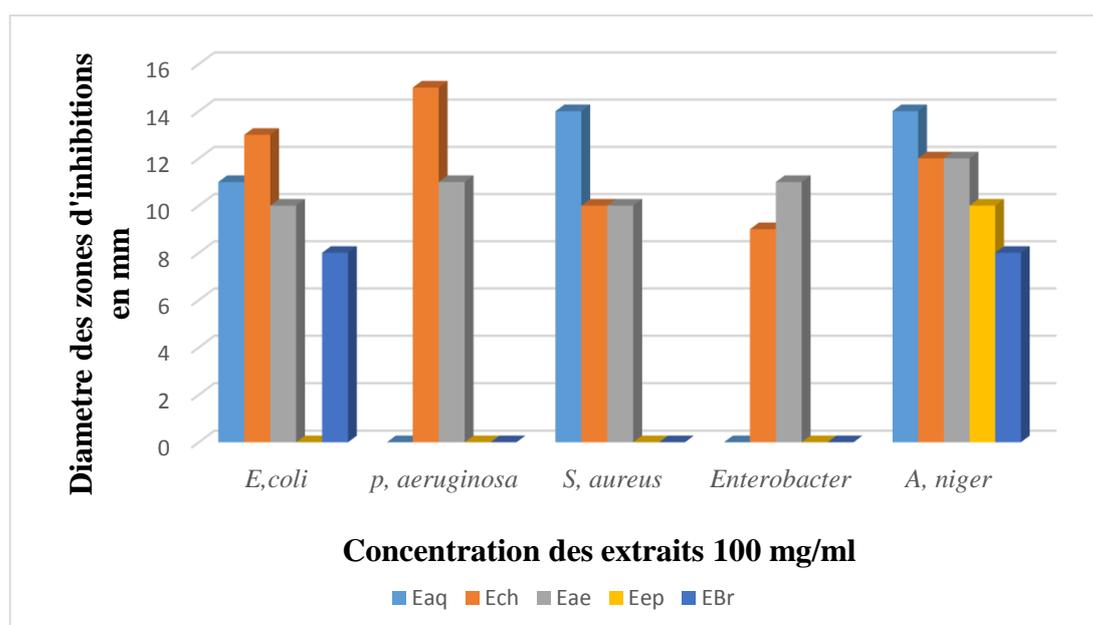


**Figure N° 15 :** Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées vis-à-vis aux antibiotiques.

La méthode de diffusion des disques a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de l'extrait méthanolique de plante étudiée sur les souches choisies bactérien et le champignon se traduit par l'apparition de zones d'inhibition. Les résultats du test de l'aromatogramme sont mentionnés dans le tableau N° 8 et la figure N° 16.

**Tableau N° 8 :** Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées vis-à-vis à l'extrait méthanolique.

Diamètres des zones d'inhibitions (mm)					
Fractions testés Souches	Fraction aqueuse	Fraction chloroforme	Fraction d'acétate d'éthyle	Fraction d'éther de pétrole	Extrait méthanolique
	100 mg/ml	100 mg/ml	100 mg/ml	100 mg/ml	100 mg/ml
<i>E. coli</i> 25922	11	13	10	R	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 328	R	15	11	R	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	10	10	R	R
<i>Enterobacter</i> T3	R	9	11	R	R
<i>Aspergillus niger</i>	14	12	12	10	8



**Figure N° 16 :** Histogramme de l'aromatogramme de différentes souches testées.

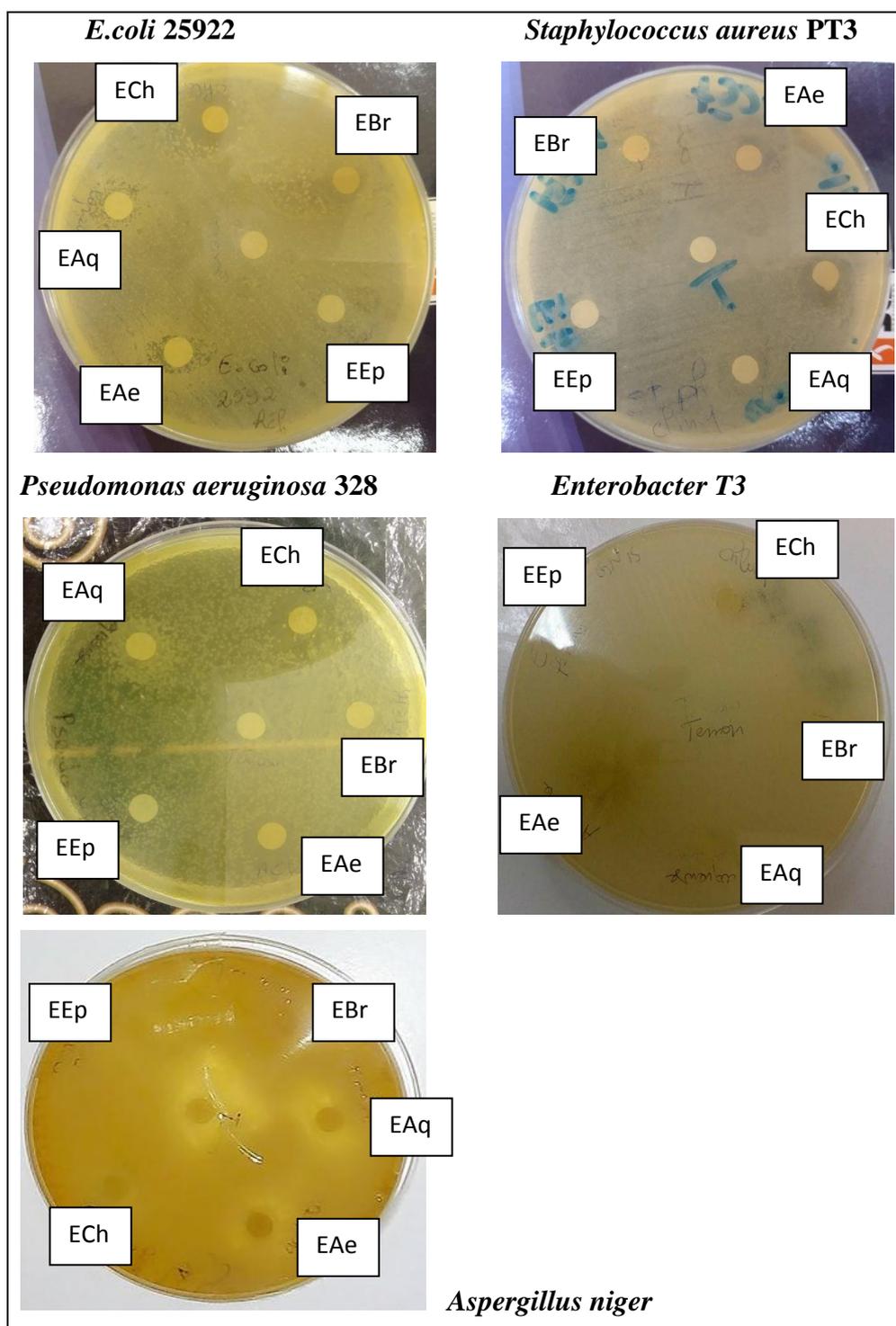
La souche d'*E. Coli* **25922** s'est manifestée sensible vis-à-vis les extraits (EAq, Ech, EAe et EBr) avec des zones d'inhibitions (11 mm, 13 mm, 10 mm et 8 mm) respectivement. D'autre part résistance vis-à-vis l'EEp. Les constatations de **Kahlouche-Riachi, 2014**, illustrent que *E. coli* a montré une résistance en présence d'extrait d'*Ahb* avec un diamètre d'inhibition égale 7,33 mm, ces résultats sont contradictions avec ceux obtenus par la présente étude.

Pour les extraits Ech, EAq et EBr de *Pseudomonas aeruginosa* **328** était le germe le plus sensible des diamètres de 15 mm et 11 mm. En présence d'extrait d'AHA *Pseudomonas aeruginosa* a développé des diamètres d'inhibition 19 mm, les diamètres obtenus sont supérieur à ceux obtenus par **Kahlouche-Riachi, 2014**.

Vis-à-vis les extraits EAq, Ech et EAe *S. aureus* **PT3** a montré une sensibilité avec des diamètres consécutifs de 14 mm, 10 mm et 10 mm. Par contre elle était résistante contre les extraits EEp et EBr. D'après **Kahlouche-Riachi, 2014** en présence d'extrait d'AHA, *Staphylococcus aureus* a développé un diamètre d'inhibition de 13,66 mm, Ce résultat est proche de celui obtenus dans la présente étude.

*Enterobacter* **T3** a montré une sensibilité de 9 mm et 11 mm contre l'Ech et EAe respectivement. Par ailleurs, elle a montré une résistance avec l'EAq, EEp et EBr.

L'*Aspergillus niger* a enregistré les diamètres des zones d'inhibition de 14 mm, 12mm, 20 mm, 10 mm et 8 mm qui a montré une sensibilité avec les différents extraits utilisées EAq, Ech, EAe, EEp et EBr respectivement.



**EAq**= Extrait aqueuse.

**ECh**= Extrait de chloroforme.

**EBr**= Extrait brut

**EAe**= Extrait d'acétate d'éthyle.

**EEp**= Extrait d'éther de pétrole.

**Figure N° 17** : Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées vis-à-vis à l'extrait méthanolique.

Les résultats obtenus prouvent l'existence d'une activité antimicrobienne. Donc il est intéressant d'estimer les CMI, CMB et CMF. Dans le rapport CMB/CMI calculé, l'extrait est validé comme bactéricide lorsqu'il est inférieur ou égal à 4 et bactériostatique, lorsqu'il est supérieur à 4 selon (Carbomelle, 1987 ; Marmonier, 1990 ; Berche et al., 1991).

Les résultats et les rapports de la CMI, CMB et CMF sont mentionnés dans les tableaux N° 9, 10, 11, 12 et 13 et les figures N°

**Tableau N°9 :** Valeurs des CMI, CMB de la souche d'*E.coli* testé par l'extrait méthanolique.

<i>E. coli</i> 25922	CMI	CMB	CMB/CMI
Fraction chloroforme	1/32	1/16	2
F. d'acétate d'éthyle	1/8	1/16	0.5
Extrait méthanolique	1/8	1/64	0.125
F. aqueuse	1/32	1/32	1
F. d'éther de pétrole	/	/	/

**Tableau N°10 :** Valeurs des CMI, CMB de la souche *Pseudomonas aeruginosa* 328 testé par l'extrait méthanolique.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 328	CMI	CMB	CMB/CMI
F. chloroforme	1/32	1/64	0.5
F. d'acétate d'éthyle	1/8	1/16	0.5
F. méthanolique	1/8	1/16	0.5
F. aqueuse	1/32	1/32	1
F. d'éther de pétrole	/	/	/

**Tableau N°11 :** Valeurs des CMI, CMB de la souche *Staphylococcus aureus* PT3 testé par l'extrait méthanolique.

<i>Staphylococcus aureus</i> PT3	CMI	CMB	CMB/CMI
Fraction chloroforme	1/2	1/2	1
F. d'acétate d'éthyle	1/2	1/2	1
Extrait méthanolique	1/2	1/2	1
F. aqueuse	1/2	1/2	1
F. d'éther de pétrole	1/2	1/2	1

**Tableau N°12 :** Valeurs des CMI, CMB de la souche *Enterobacter T3* testé par l'extrait méthanolique.

<i>Enterobacter T3</i>	CMI	CMB	CMB/CMI
Fraction chloroforme	1/128	1/128	1
F. d'acétate d'éthyle	1/64	1/128	0.5
Extrait méthanolique	1/32	1/16	2
F. aqueuse	1/32	1/128	0.25
F. d'éther de pétrole	/	/	/

**Tableau N°13 :** Valeurs des CMI et CMF d'*Aspergillus niger* testé par l'extrait méthanolique.

<i>Aspergillus niger</i>	CMI	CMF	CMF/CMI
Fraction chloroforme	1/2	1/2	1
F. d'acétate d'éthyle	1/2	1/2	1
F. méthanolique	1/2	1/2	1
F. aqueuse	1/2	1/2	1
F. d'éther de pétrole	1/2	1/2	1

D'après les tableaux ci-dessous la souche d'*E.coli* **25922** était plus sensible à l'EAq et Ech avec une concentration CMI de 1/32, tandis qu'elle était moins sensible à l'EAE et EBr avec une concentration de 1/8. Par ailleurs, elle a montré une résistance à l'EEp.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* **328** était plus sensible à l'EAq et Ech avec une concentration CMI de 1/32, tandis qu'elle était moins sensible à l'EAE et EBr avec une concentration de 1/8. Par ailleurs, elle a montré une résistance à l'EEp.

Aux fractions issues de l'extrait méthanolique, *Staphylococcus aureus* **PT3** était plus sensible avec les concentrations les plus élevées 1/2 et 1/4. Par contre, il a été remarqué que pour le reste de série de dilution à partir de la concentration 1/18 de 1/128 vu trouble pour toutes les fractions testées.

Pour *Enterobacter* **T3** était plus sensible à Ech avec une concentration CMI de 1/128, tandis qu'elle était moins sensible à l'EAE, EBr et l'EEp avec une concentration de 1/64 et 1/32 respectivement.

L'*Aspergillus niger* était plus sensible à l'extrait méthanolique avec les concentrations les plus élevées 1/2 et 1/4. Par ailleurs, il a été remarqué à partir de la concentration 1/18 de 1/128 ont vu trouble a été observé pour toutes les fractions testées. La figure suivante représente la série de dilution en milieu liquide (CMI).

Les figures N°18, 19, 20, 21 et 22 résument les différentes concentrations minimales bactéricide et fongicide :

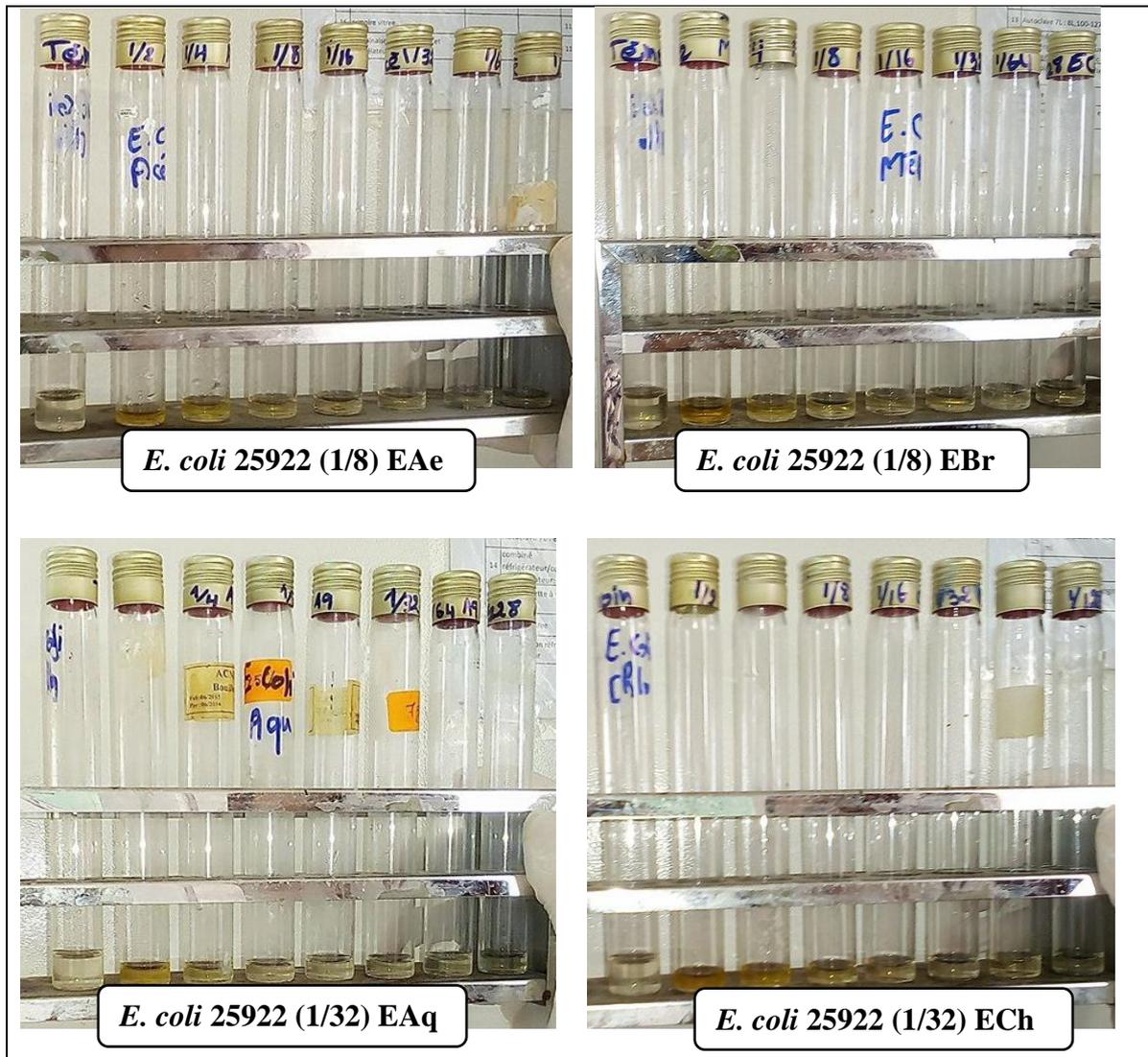


Figure N°18 : CMI de la souche d'*E. Coli* 25922.

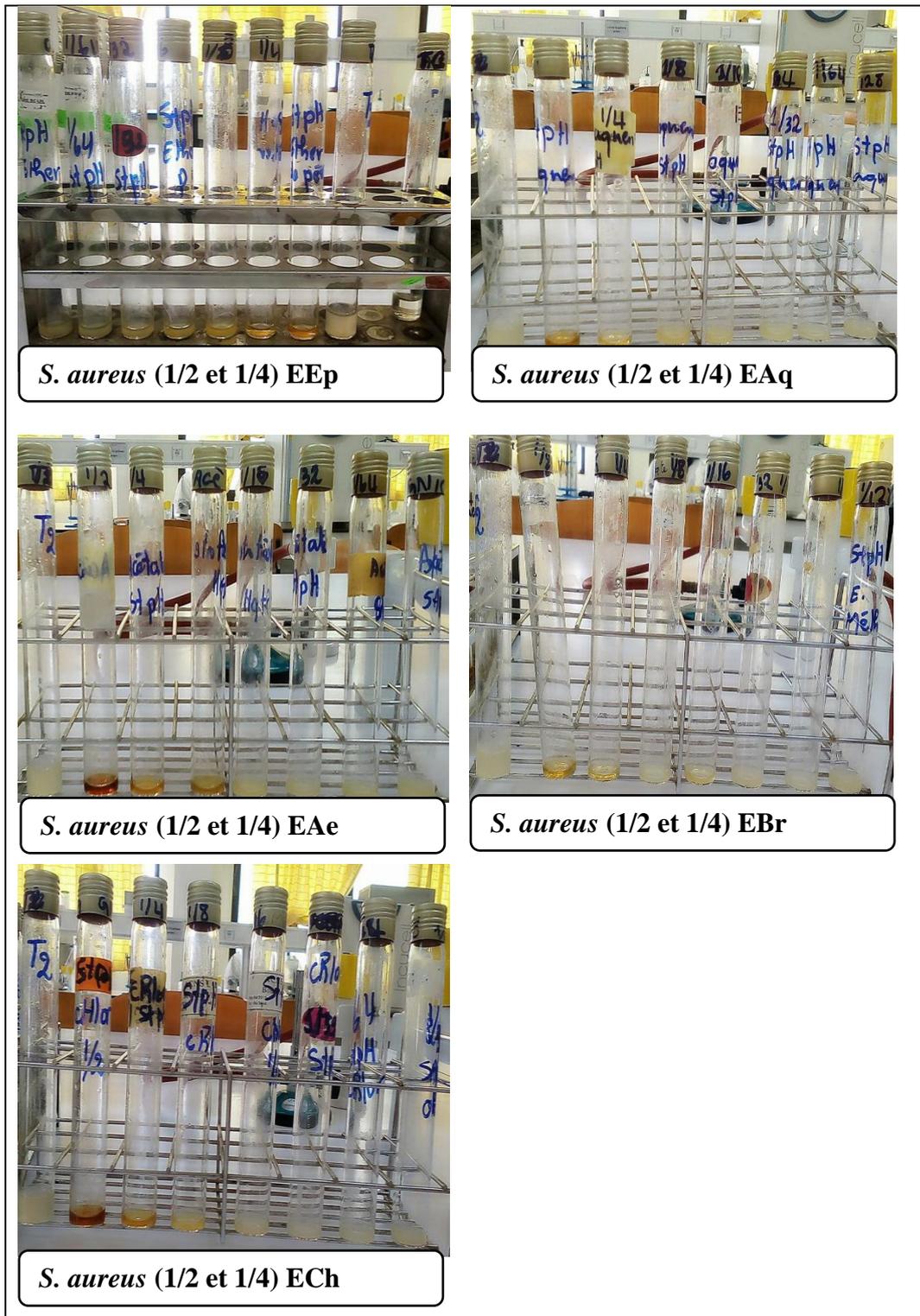


Figure N° 19 : CMI de la souche de *Staphylococcus aureus* PT3.

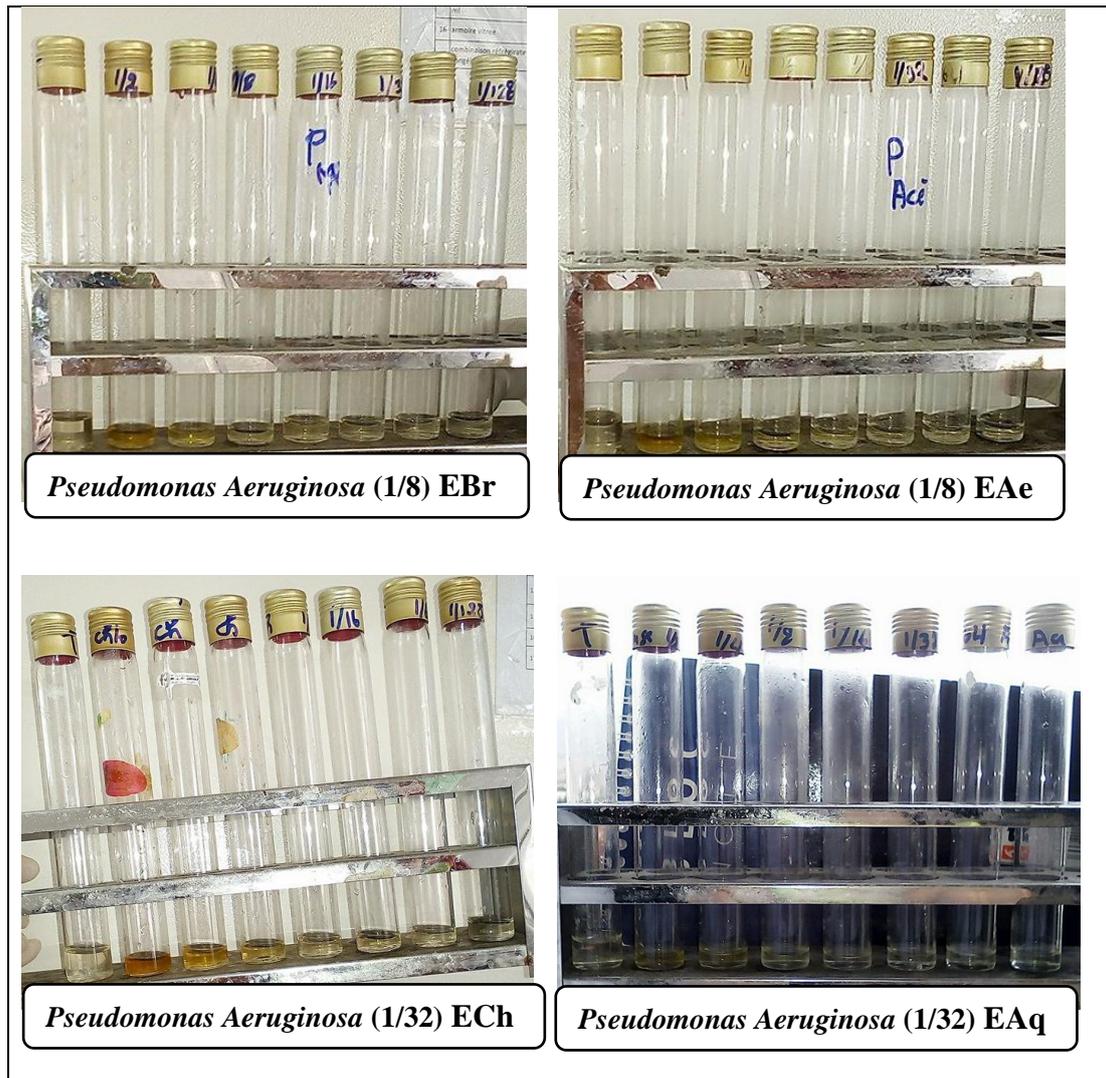


Figure N° 20 : CMI de la souche de *Pseudomonas Aeruginosa* 328.

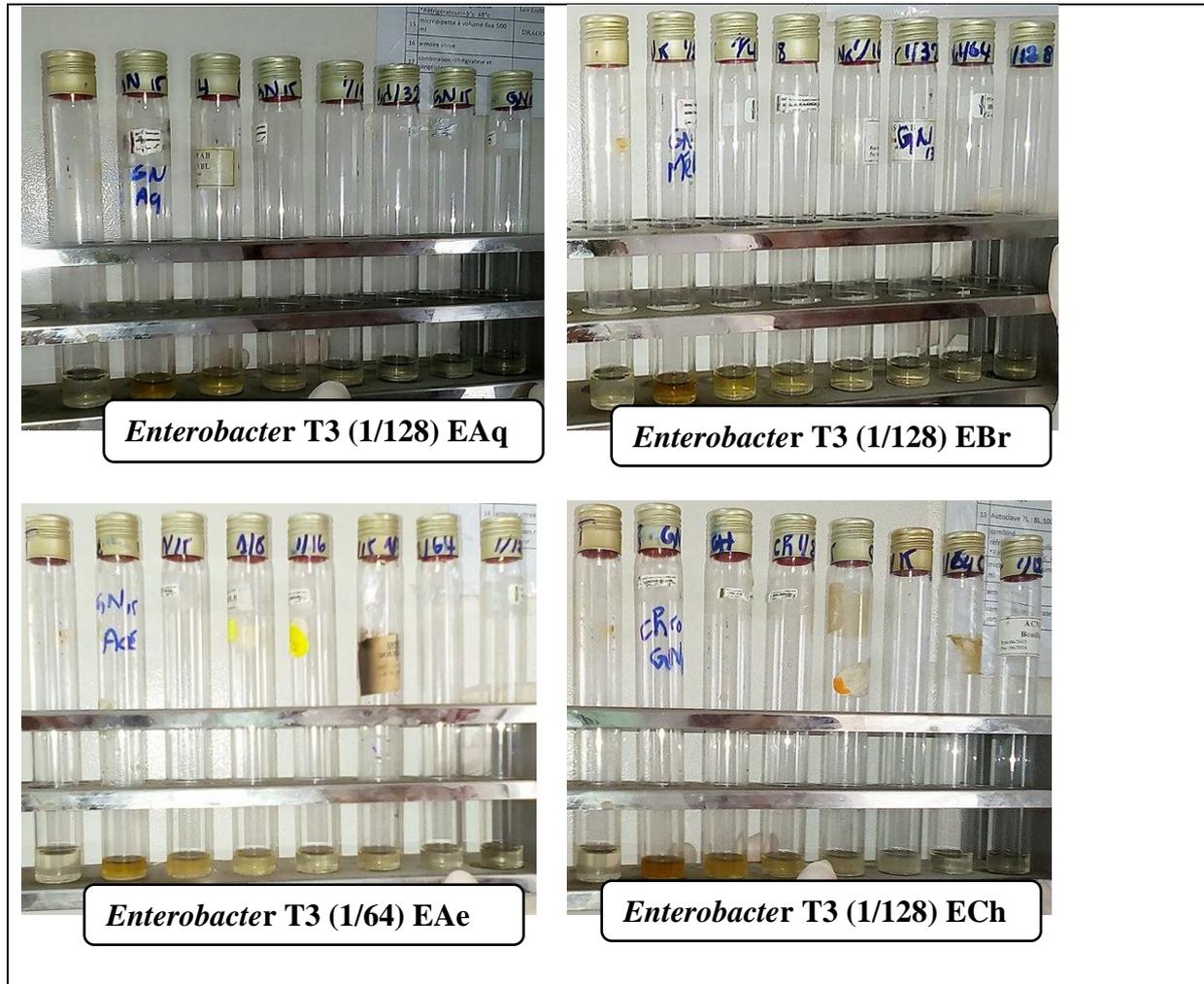


Figure N° 21 : CMI de la souche d'*Enterobacter T3*.

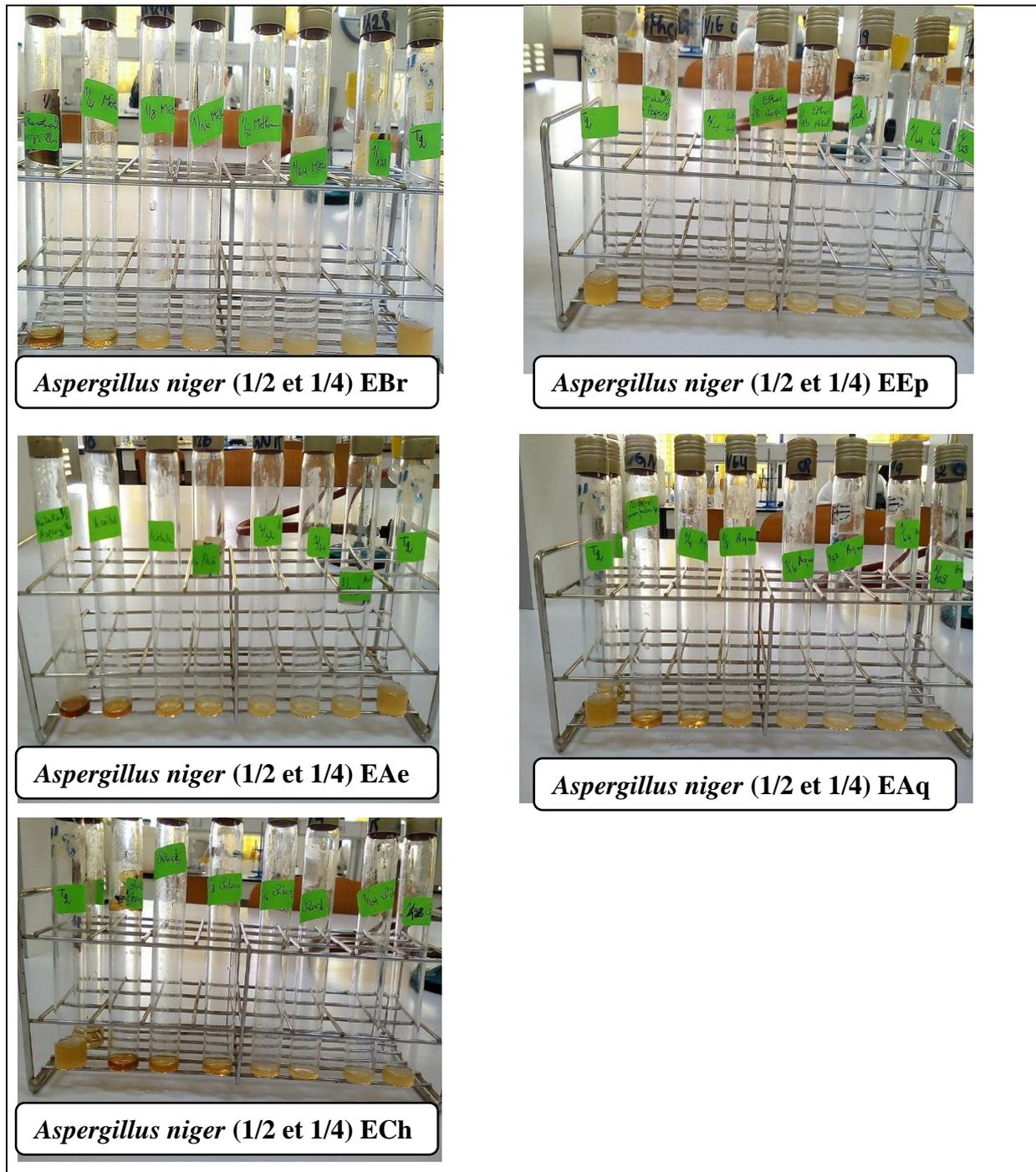
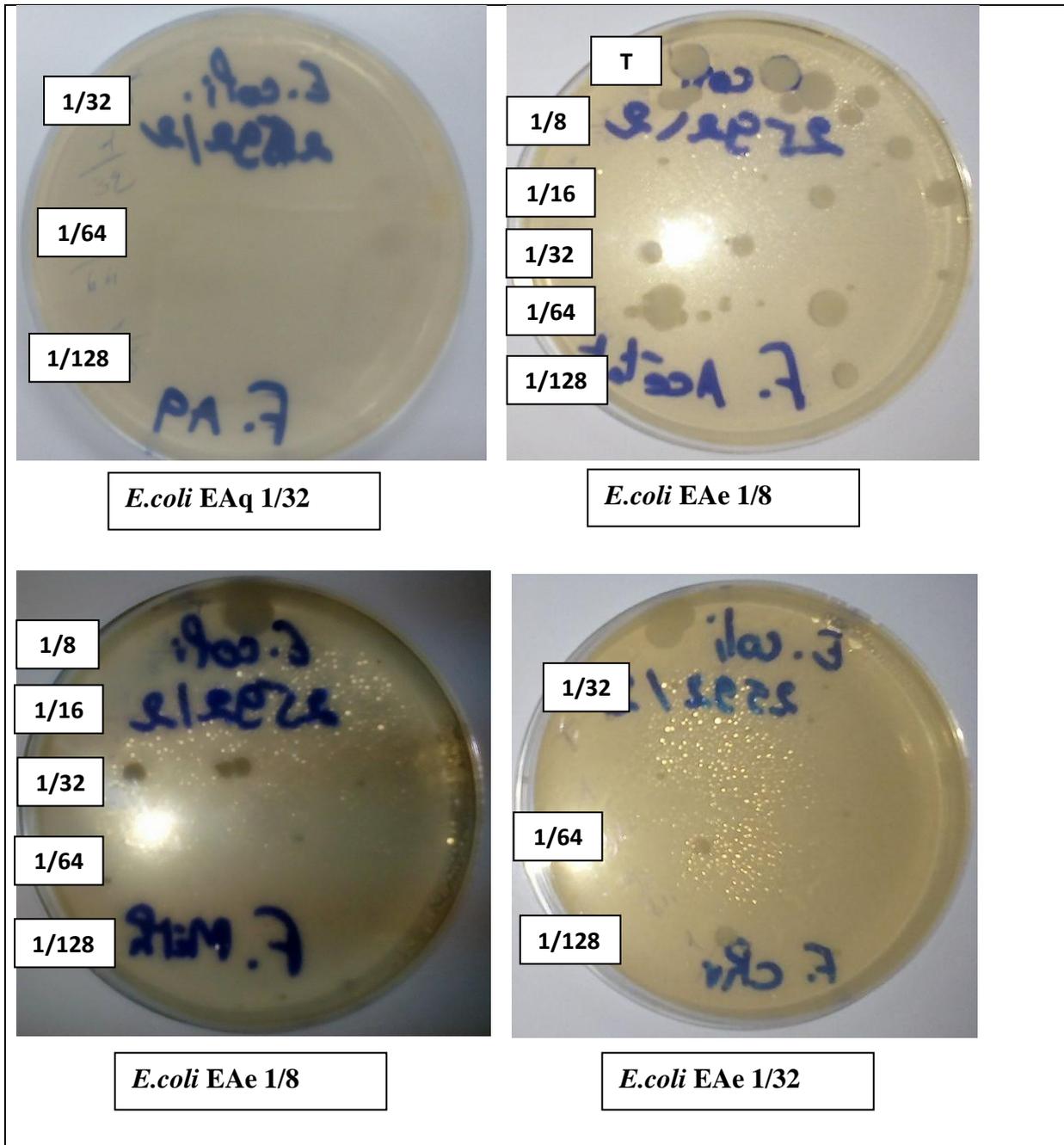
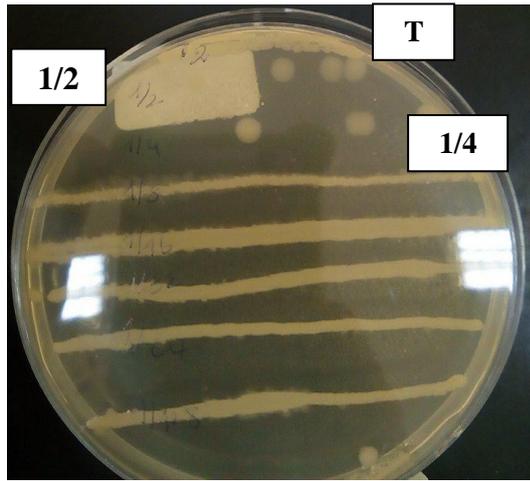


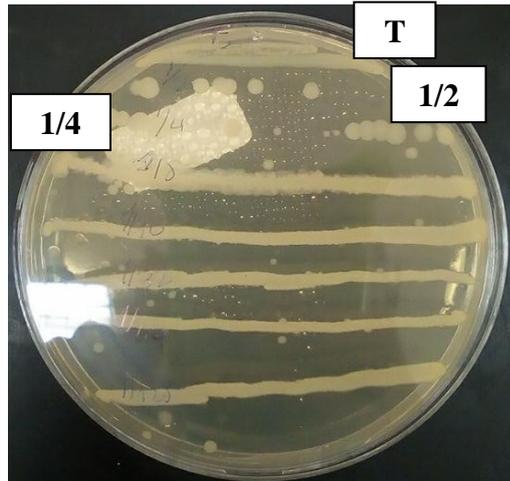
Figure N° 22 : CMI de la souche d'*Aspergillus niger* (CMI).

D'après les rapports de CMB/CMI indiqués dans les tableaux précédents qui était compris entre 0,125 et 2, on peut déduire que l'extrait méthanolique possède un pouvoir bactéricide sur les quatre souches testées. La figure N°23 présenté la CMB des souches testées.

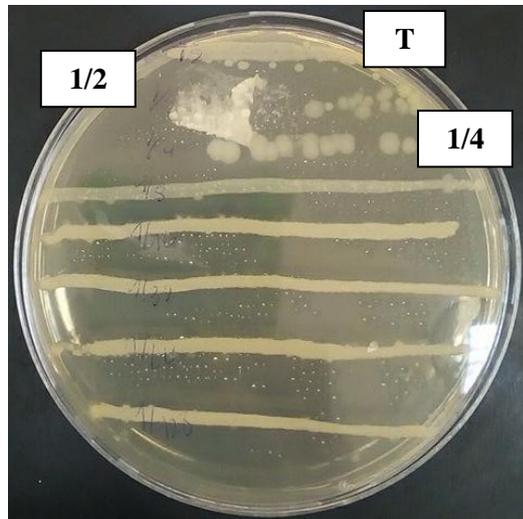




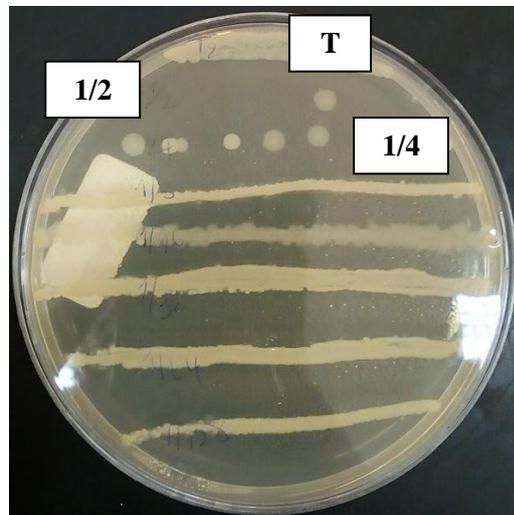
*S aureus* ECh (1/2, 1/4)



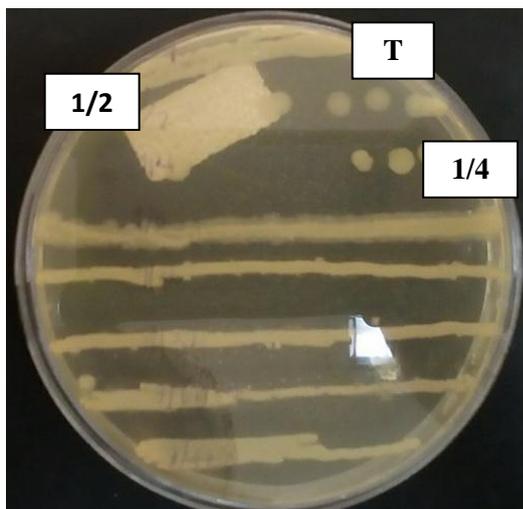
*S aureus* EEp (1/2, 1/4)



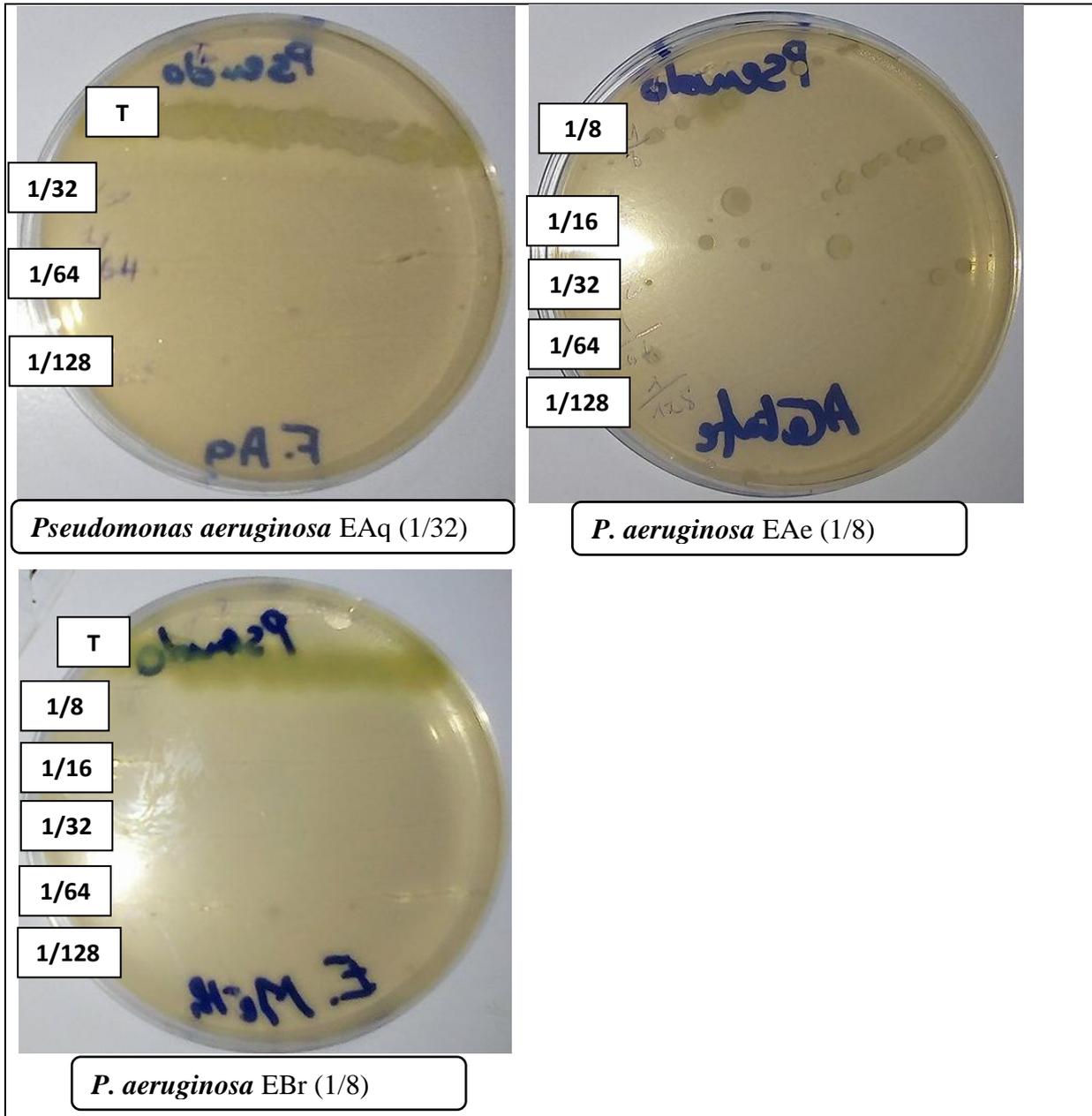
*S aureus* EAe (1/2, 1/4)

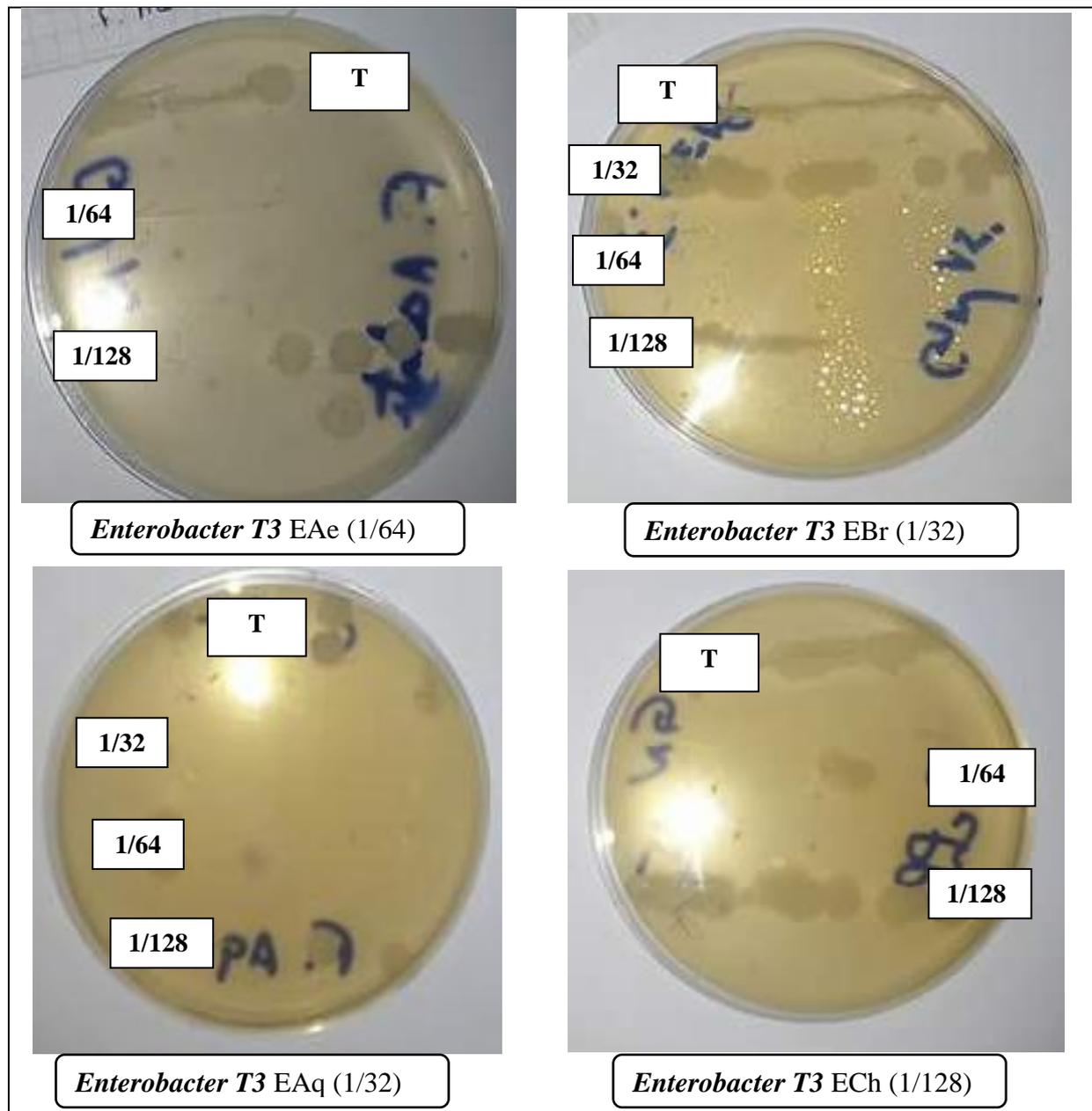


*S aureus* EBr (1/2, 1/4)



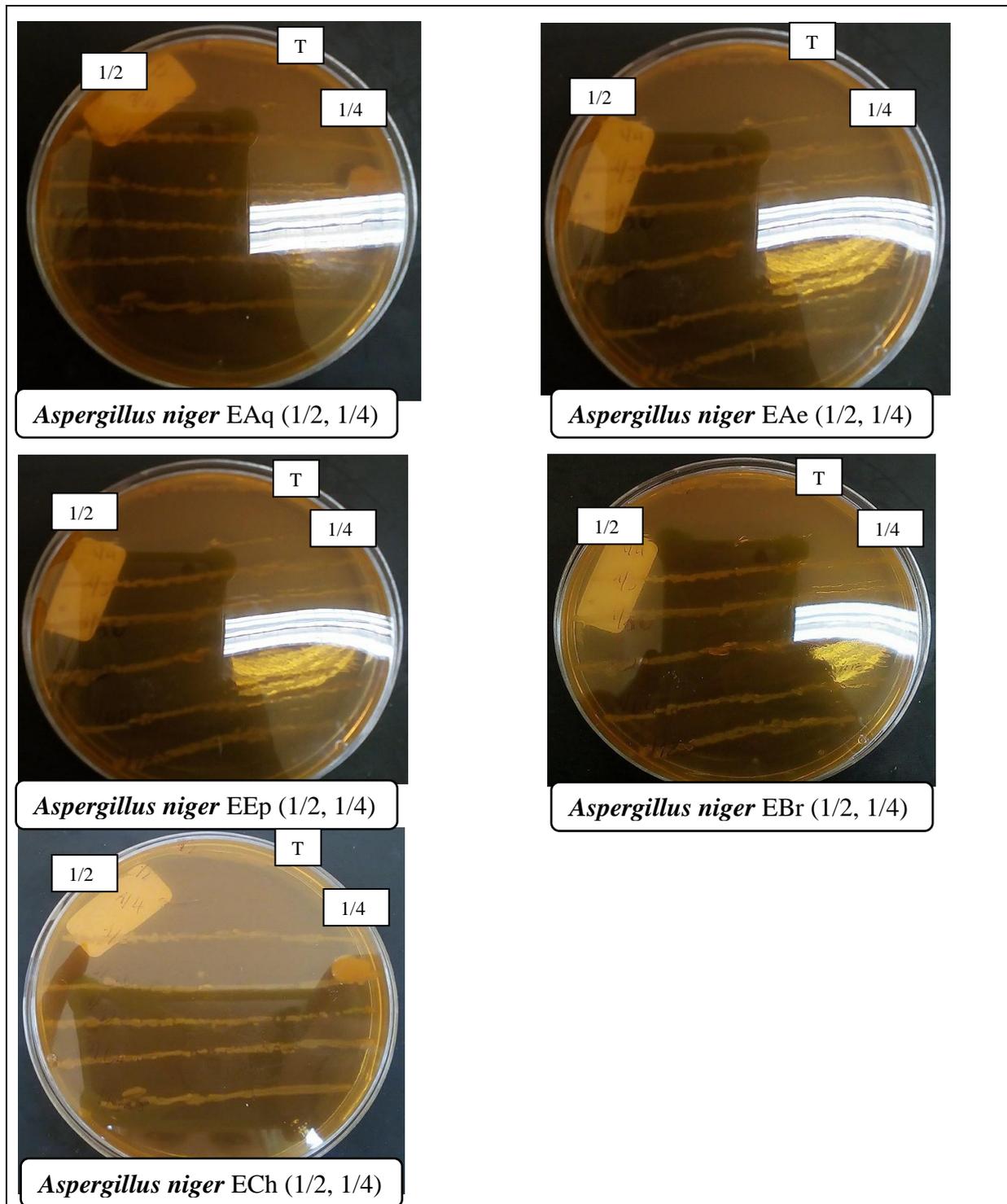
*S aureus* EAq (1/2, 1/4)





**Figure N° 23 :** Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) des souches testées.

D'après le rapport CMF/ CMI indique dans le tableau N°13, on peut déduire que l'extrait méthanolique possède un pouvoir fongistatique. La figure N° 24 résume la CMF d'*Aspergillus niger*.



**Figure N° 24 :** Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) d'*Aspergillus niger*.

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes et les triterpénoïdes (**Rojas et al., 1992**).

Ces résultats obtenus sont similaires à ceux publiés par **khan et al., 2010** qui avait montré que les extraits méthanolique, butanolique, d'éther de pétrole et l'extrait aqueuse exercent une activité antibactérienne et antifongique. Ces autres suggèrent que le pouvoir antibactérien et antifongique est dû à la richesse de la plante en métabolite secondaires tels que les polyphénols, les tannins, les flavonoïdes...etc. Les mêmes constatations sont fait par **Aboaba et al, 2001 ; Mohanta et al., 2007**).

Ces travaux réalisés par **Narod et al., 2004** confirment l'effet antibactérien des extraits d'éther de pétrole, de méthanol et d'eau préparés à partir des feuilles et des tiges de *Toddalia asiatica* actif contre les bactéries gram négatif et gram positif

**Khan et al., 2010** ont suggéré que l'extraits méthanoliques de *S. asper* ceci est plus efficaces pour inhiber la croissance bactérienne que la croissance fongique, probablement aux polyphénols et flavonoïdes présents dans l'extrait, ces résultats concourent avec ceux de **Baydar et al., 2006; Rodriguez et al., 2007**.

Les travaux réalisés par **Florence, 2011** montrent que l'extrait méthanolique préparés de feuilles de *S. asper* et *S. oleraceus* représenté une activité nulle (CMI) pour les souches *E. coli*, *S. aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* pour *S. asper* et une activité bien enregistré pour *S. aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (CMI) 5 et 2.5 respectivement. Les différences dans les valeurs obtenues sont liées aux parties de la plante utilisées dans l'extraction.

**Algiannis et al., (2001)** ont proposé une classification basée sur les valeurs des actions inhibitrices des extraits de plantes basées sur les valeurs obtenus de CMI, quand la valeur est égale à 500 µg/ml. Les extraits sont considérés comme puissants inhibiteurs. Si elle est comprise entre 600-1500 µg/ml. Elles sont des inhibiteurs modérés et si la valeur est supérieure à 1600 µg/ml. Les extraits sont de faibles inhibiteurs. Ces derniers ont aussi montré que la croissance d'*Aspergillus niger*. Les différences dans les valeurs obtenues sont liées à la partie de la plante.

**Kabuki et al., 2000** ont rapporté que les spectres antimicrobiens de la catéchine brute étaient plus efficaces contre les bactéries gram positif que gram négatif est lié aux structures de l'enveloppe cellulaire qui comprend une membrane cytoplasmique et un composant de

paroi cellulaire. Les bactéries Gram-négatives possèdent une membrane externe entourant la paroi cellulaire ce qui limite la diffusion de composés hydrophobes à travers son revêtement de lipo-polysaccharide. La membrane externe des bactéries gram positives peut être pénétrée plus facilement et les molécules bioactives peuvent perturber le cytoplasme membrane, perturber la force motrice du proton (PMF), flux d'électrons, transport actif et coagulation de la cellule (**Burt, 2004**). Par conséquent, la différence structurelle des bactéries joue un rôle important dans leur susceptibilité.

# **Conclusion et perspective**

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Dans le présent travail, différents aspects de *sonchus oleraceus L* ont été étudiés : les propriétés phytochimique qualitatives et quantitatives d'extrait méthanolique de *Sonchus oleraceus L* et leur effet antimicrobienne.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés. Sur le plan phytochimique, les résultats montrent une composition riche et variée en métabolites secondaires. Ces résultats ont été confirmés par une chromatographie analytique sur couche mince sur l'extrait méthanolique après épuisement de l'extrait de plante par des solvants organiques à polarité croissante. L'analyse chromatographique sur plaque de silice a permis de mettre en évidence une fluorescence avec le réactif chlorure d'aluminium et vanilline sulfurique qui nous laisse supposer la présence des flavonoïdes, des terpènes et des tanins. Alors que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes était conséquente.

L'activité antimicrobienne des différents extraits de *sonchus oleraceus L* a été déterminée sur quatre souches bactériennes et un champignon selon la méthode de diffusion disque, les résultats indiquent que les quatre extraits possèdent une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées sauf l'extrait d'éther de pétrole qui n'avait aucune action sur les souches testées à faible concentration. Par contre, il a manifesté une bonne activité précisé sur *S. aureus* et l'*Aspergillus niger*.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail d'activité antimicrobienne ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les différents extraits en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante. L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur l'activité antimicrobienne des extraits de cette plante.

# **Références bibliographiques**

- **Abderrazak M., and joël R. (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris, p : 177.
- **Aboaba O.O., Efuwape B.M. (2001).** Antibacterial properties of some Nigerian species. Biol. Res. Commun. Vol (13), p : 183-188.
- **Adesokan A., Akanji M A., and Yakubu M.T. (2007).** Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chloranthes* tem bark, African Journal of Biotechnology. Vol 6 (22), p: 2502 – 2505.
- **Ali-Shtayeh M.S., Yaghmour Rm-R., Faidi Yr., Salem K., and Al-Nuri Ma. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. Journal of ethnopharmacology Vol (60), p : 265-271.
- **Alkurd A., Hamed T. R., and Al-Sayyed H. (2008).** Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. Journal of Agricultural Sciences. Vol (4), p : 265 – 274.
- **Anadriamobololona T, (2010).** Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas du foret d'Ankafobe. Mémoire d'études approfondies de biochimie, p : 55.
- **Ananil K., Hudson J. B. de Souzal c., Akpaganal K., Towe g. H.N., Amason J. T. and Gbeassor. (2000).** Investigation of medicinal plants of TOGO for antiviral and antimicrobial activities. Phannaceutical Biology Vol 38 (1), p : 40-45.
- **Anonymous, (1976).** Selected Weeds of the United States. Agriculture Handbook No. 366. Washington DC, USA : Agricultural Research Service, US Government Printing Office, p : 168.
- **Aouadhi S, (2010).** Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mémoire de master en toxicologie : Faculté de Médecine de Tunis, p : 76.
- **Ayoola G. A., Ipav S. S., Solidiya M. O., Adepoju-Bello A. A., Coker H., and Odugbemi T. O. (2008).** Phytochemical screening and free radical scavenging activities of the fruits and leaves of *Allan blackia floribunda* oliv (Guttiferae). International journal of health research. Vol 1 (2), p: 81-93.
- **Bammou M., Sellam K., El Rhaffari L., Bouhlali E., Daoudi A., Ibijbjen J., and Nassiri L. (2015).** Bioactivity of *Anvillea radiata* Coss. & Dur. collected from the southeast of Morocco. European Scientific Journal. Vol (11), p : 21.

- **Baran J-M. (2000).** Daturas, plantes magiques, hallucinogènes et médicinales à l'île de la réunion et dans le monde. Thèse Doctorat en Médecine : Université de Nancy, France, p : 12-17.
- **Bauer A.W., Kirby W-M., Sherris T-C., and Truck M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, American Journal of Clinical Pathology. Vol(45), p : 493 - 496.
- **Baydar NG, Sagdic O, Ozkan G, Cetin S. (2006).** Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts. Int. J. Food Sci. Technol. Vol (41), p : 799-804.
- **Ben El Hadj A-I., Bahri R., Chaouachi M., Boussaïd M., and Harzallah-Skhiri F. (2014).** Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicu* Poir. Organs. Industrial Crops and Products. Vol (62), p : 188-195.
- **Benamar H. (2010).** Journal of Biological Sciences, p: 1-9.
- **Benayache F. (2005).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (*Fabaceae*) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Constantine : Université Mentouri- Constantine- Algérie ; p : 199.
- **Benbrinis S. (2012).** Evaluation des activités antioxydant et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Mémoire de magister. Setif : Université Ferhat Abbas-Setif-Algérie, p 59.
- **Bendif H. (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques *Lamiaceae* : *Ajugaiwa L. Schreb.*, *Teucrium polium L.*, *Thymus munbyanus sub sp. coloratus* (Boiss & Reut.) Greuter & Burdet et Rosmarinu sericalyx Jord & Fourr. Thèse de Doctorat en biologie. Kouba : l'école normale supérieure de kouba-Algérie, p : 42, 43, 61.
- **Benhammou N. (2011).** Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en biologie. Tlemcen : Université Abou bakr Belkaïd, Tlemcen-Algérie, p : 113.
- **Benjlali B., and Zrira S. (2005).** Plantes Aromatiques et Médicinales : Atouts du secteur et exigences pour une valorisation durable. Actes Editions, Rabat, p : 346.
- **Berche P., Gaillard J.L., and Simonet M. (1991).** Les bactéries des infections humaines. Editeur Flammarion, Médecine et Sciences, p : 660.

- **Bergogne-Berezin, E and Dellamonica P. (1995).** Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris, p : 486.
- **Biallo D., Sanogo R., and Yasambou H. (2004).** Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana L. (Rhamnaceae)*. C. R. Chimie. Vol (7), p : 1073-1080.
- **Billerbeck G. (2002).** Les contaminations biologiques des biens culturels : Essai d'utilisation d'huile essentielle en traitement de l'aire. Ed : Elsevier. p : 357-365.
- **Billing J., and Sherman P-W. (1998).** Antimicrobial Functions of Spices : Why Some Likeit Hot. Q. Rev. Biol. Vol (73), p : 3-49.
- **Biyiti L-F., Meko'o L., Tamze V., and Amvam H. (2004).** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine. Vol (13), p : 11–20.
- **Boizot N, and Charpontier J-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénolique des organes d'un arbre forestier. le cahier des techniques de l'Inra, p : 79-82 (Cited In DjemaiZoueglache S, 2008).
- **Boriky D., Berrada M., Talbi M., Keravis G., and Rouessac F. (1996).** Phytochemistry, Vol 43(1), 309-311.
- **Bou Behri C. (2014).** Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimique. Thèse Doctorat. Biskra : Université de Biskra, p : 8.
- **Bouchouka E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydant et antibactérienne de quelques plantes sahariennes. Thèse Doctorat. Annaba : Université Badji Mokhtar –Annaba – Algérie, p : 48. 69.
- **Bronner W-E., and Beecher G-R. (1995).** Extraction and measurement of prominent flavonoïdes in orange and grapefruit juice concentrates. J. Chromatog. A. Vol (705), p : 247-256.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3ème Ed, Paris. France. p : 1120.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie – Phytochimie. Plantes médicinales. 4e éd., revue et augmentée, Paris, France : Tec & Doc - Éditions médicales internationales, p : 1288.
- **Burt S. (2004).** Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbiol. Vol (94), p : 223-253.

- **Carbomelle B., Denis F., Mannonier A., Pinon G., and Vague R. (1987).** Bactériologie médicale : Techniques usuelles, SIIVIRP (éd), Paris p : 228–282.
- **Carrillon E. (2000).** La phytothérapie face à l'évolution médicale. Recherche et l'évaluation relative à la médecine traditionnelle, p : 12-18.
- **CA-SFM. (2013).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Valable sur : <http://www.sfm.asso.fr/> (**consulté le : 06/ 02 / 2018 à 19 : 12**).
- **Chirila C. (1989).** Cartarea buruienilor din culturile agricole. Redactia de propaganda tehnica agricola, Bucuresti, Romania.
- **Clement R. P. (2005).** Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1<sup>ère</sup> partie) À Législation. Vol (4), p : 171.
- **Connolly J-d., And Hill R. (1992).** Dictionary of Terpenoides. Ed. Chapman and Hall. CRC Press, New York. USA. p : 2156.
- **Cowan M. J. (1999).** Plants Products As Microbial Agents. Clin Microbiol Rev. Vol (12) p : 564-582.
- **CSIRO. (2007).** Management And Control Of Sowthistles In Australia. Common Wealth Scientific and Industrial Research Organisation valable sur : <http://www.csiro.au/science/SowthistleControl.html>. (**Consulté le 22/02/2018 à 21 :26**).
- **Da Silva J. A., and December. (2004).** Mining the essential oils of the Anthemideae. African Journal of Biotechnology Vol. 3 (12), p : 706-720.
- **Dao-Zong X., Xin-Fen Y., Zhuo-Ying Z., and Zhuang-Dan Z. (2011).** Antioxidant and antibacterial activity of six edible wild plants (*Sonchus* spp.) in China. Natural Product Research Vol 25(20) p : 1893–1901.
- **Davies J., And Davies D. (2010).** Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiol Mol Biol Rev. Vol (74) p : 417-433.
- **De Rijke E., Out P., Niessen W M A., Ariese F., Gooijer C., And Brinkman U A T. (2006).** Analytical separation and detection methods for flavonoids. Journal of Chromatography A. Vol (1112) p : 31 - 63.
- **Debete J-M. (2005).** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (*Caesal piniaceae*) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse Doctorat. Bamako : Université de Bamako p : 79.
- **Decaux I. (2002).** Phytothérapie : Mode d'emploi. Ed:Lebien public. p : 6.

- **Deleu-Quettier C. (2000).** Les polyphénols bioactifs de l'aubépine et du sarrasin (*Fagopyrum esculentum*) : obtention in vivo et in vitro. Thèse Doctorat. Lille : Université des Sciences et Technologies de Lille, p : 53-56.
- **Diallo D. (2000).** Ethnopharmacological Survey Of Medicinal Plants In Mali And Phytochemical Study Of Four Of Them : *Glinusop positifolius* (*Aizoaceae*), *Diospyros*. Thèse Doctorat : Université Lausanne, p : 148-176.
- **Ditomaso J., and Healy E. (2007).** Weeds of California and Other Western States. Vol. 1. University of California Agriculture and Natural Resources Communication Services, Oakland, CA, p : 834.
- **Djeridane A., Yousfi M., Brunel JM., and Stocker P. (2010).** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome Arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. Food and Chemical Toxicology. Vol (48), p : 2599–2606.
- **Djeridane A., Yousfi M., Najemi B., Vidal N., Lesgards JF., and Stocker P. (2007).** Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.* Vol (224), p : 801-809.
- **Doughari J.H., Pukuma M.S., and De N. (2007).** Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. and *Moringa oleifera* L. on *Salmonella typhi*, African Journal of biotechnology. Vol 6 (19), p : 2212 - 2215.
- **Duraipandiyan V., and Ignacimuthu S. (2009).** Antibacterial and antifungal activity of Flindersine isolated from the traditional medicinal plant, *Toddalia asiatica* (L.) Lam. J. Ethno. Vol (123) p : 494-498.
- **Ekoumou C. (2003).** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse Doctorat. Bamako : Université de Bamako. P : 63.
- **Elghozi J.L., and Duval D. (1992).** Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. p : 289.
- **Elqaj M., Ahami A., and Belghyti D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- **El-Rhaffari L., and Zaid A. (2004).** Pratique de la phytothérapie dans le Sud- Est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, p : 293-318.

- **Endougou E. A. M. (2015).** *Neoboutonia melleri var velutina* (Prain) Pax & K. Hoffm (*Euphorbiaceae*) : Evaluation des propriétés hépato protectrice et antioxydant. Thèse Doctorat. Maroc : Université de Lille 2 – Maroc. p : 61.
- **Fadili K., Amalich S., N'dedianhoua S., K. Bouachrine M., Mahjoubi M., El Hilali F., and Zair T. (2015).** Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydant des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc : *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides* Vol 17(1), p : 24.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., and Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. Vol (331), p : 372-379.
- **Fauchere L-L, and Avril J-L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Editions Ellipses. p : 56-58.
- **Ferchichi L., Merza J., Landreau A., Le Ray A.M., Legseir B., Seraphin D., and Richomme P. (2006).** Occurrence of isocoumarinic and phenolic derivatives in *Artemisia campestris* L. sub sp. *campestris*. *Biochem Syst. and Ecol*. Vol (34), p : 829-832.
- **Ferrari J (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des *Thymelaeaceae* et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse Doctorat : Université Lausanne p : 125.
- **Ferron A. (1976).** Bactériologie médical à l'usage des étudiants en médecine. 8ème édition. Ed. Groun et Roques, France, p : 362-378.
- **Florence O. J, Adeolu A. A, and Anthony J. A. (2010).** Comparison of the Nutritive Value, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Sonchus asper* and *Sonchus oleraceus*. *Rec. Nat. Prod.* 5. Vol 1 (2011) p : 29-42.
- **Fomba M. (2006).** Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus* a coagulasse négatif à l'hôpital du point G. Thèse Doctorat en pharmacie, p : 89-95.
- **Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., and Api A.M. (2001)** -The *in vitro* dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*. Vol (39), p : 153-162.

- **Garcia-Ruiz A., Bartolome B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V. (2008).** Potential of phenolic compound for control lincacetic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. Vol (19) p : 835–841.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. p : 275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Giulia Di C., Nicola M., Angelo A. Lzzo., and Francesco C. (1999).** Flavonoids : Old and new aspects of a class of naturaltherapeuticdrugs. *Life Sci*. Vol 65 (4), p : 337- 353.
- **Grieson A. (1980).** Compositae. In *Flora of Ceylon*. Vol. I, New Delhi, India: Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd.
- **Grosmond G. (2001).** La phytothérapie Bulletin des GTV, HS : Elevage et agriculture biologique. *Métabolites des plantes*. p : 143-145
- **GUERTIN P. (2003).** USGS Weeds in the West project : Status of Introduced Plants in Southern Arizona Parks Factsheet for : *Sonchus L.* spp. Valable sur : [http://sdrsnet.snr.arizona.edu/data/sdrs/ww/docs/sonc\\_spp.pdf](http://sdrsnet.snr.arizona.edu/data/sdrs/ww/docs/sonc_spp.pdf).(Consulté le 22/02/2018 à 19:21).
- **Guignard J-l. (1996).** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. p : 274.
- **Hamada D., and Ladjel S. (2015).** Chemical Composition, *in vitro* Anti-microbial and Antioxidant Activities of the Methanolic Extract of *Anvillea Radiata* (Asteraceae). *RJPBCS*. Vol 6(2), p : 1367.
- **Hans W. K. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p : 6-7.
- **Hanson J. R. (2003).** Natural products : the secondary metabolites. Ed. Royaume : Université. Royal society of chemistry, Italy. p : 137.
- **Hart K.J., Yánez-Ruizd R., Duvals M., Mcewann R., and Newboldc J. (2008).** Plant Extracts To Manipulate Rumen Fermentation. *Animal Feed Science And Technology*. Vol (147), p : 8–35.
- **Hegi G. (1929).** *Illustrierte Floravon Mittel-Europa*. VI/2. Munich, Germany : J.F. Lehmanns Verlag.
- **Hellal Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibacteriennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister en biologie. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou-Algérie, p : 78.

- **Heller W., And Forkmann G. (1993).** The flavonoïdes. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK, p : 399-425.
- **Hennebelle T. (2006).** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamia les productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacees) et *Lippia alba* (Verbenacees). Thèse de Doctorat. Lille : Université des Sciences et Technologies de Lille. Maroc, p : 93-96.
- **Hernandez-Ochoa L.R. (2005).** Substitution des solvants et matières actives de synthèse par combiné (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse Doctorat. Toulouse : Institut national polytechniques, Toulouse-France, p : 255.
- **Hess M. (2002).** Alcaloïdes, Nature's Curse or Blessing 1ère édition. Ed. Wiley- VCH, New York. USA, p : 297.
- **Huang G., Jiang J., and Dai D. (2008).** Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. African Journal of Biotechnol. Vol 7 (9), p : 1335-1338.
- **Hutchinson I., Colosi J and Lewin R. (1984).** The Biology of Canadian Weeds. 63. *Sonchus asper* L Hill and *S. oleraceus* L. Canadian Journal of Plant Science. Vol 64(3), p : 731-744.
- **Hyatt P. (2006).** *Sonchus Oleraceus* L. In : Flora of North America Editorial Comite, eds. 1993- Flora of North America North of Mexico. 12+ vols. New York and Oxford. Vol (19), p : 275.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage De Meux A., Moulard F., Zha E., De La Roque R., De La Roque O., Vican P., Deelesalle –Feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., and Botrel A. (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse, p : 10-12-14-15-16.
- **Jürgen R., Paul.S., Ulrike S., and Reinhard S. (2009).** Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: ForschKomplementmed. Vol (16), p : 79–90.
- **Kabran gay roger, (2011)** -European Journal of scientific rescearh. Vol 63 (4); p: 592-603.

- **Kabuki T., Nakajima H., Arai M., Ueda S., Kuwabara Y., Dosako S. (2000).** Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. *Food Chem.* Vol (71), p : 61-66.
- **Kahlouche-Riachi F. (2014).** Evaluation Chimique et Activité Antibactérienne De Quelques Plantes Médicinales D'Algérie. Thèse Doctorat. Constantine : Université Mantouri. Constantine – Algérie, p : 54.
- **Kanter M., Coskun O., and Uysal H. (2006).** The antioxidative and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage. *Arch. Toxicol.* Vol 80 (4), p : 217-224.
- **Karumi Y., Onyeyili P.A. and Ougudua V.O. (2004).** Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume de la pomme). *Journal of Medicine and scientific.* Vol 4(3), p : 179-182
- **Kaufmann S. (1997).** Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer ; R.G. Landes, New York ; Austin, p : 345.
- **Kempf S., and Zeitouni. (2009).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences *Pathologie Biologie, Journal of Medicine and scientific.* Vol 62(4), p : 165-192.
- **Khan A., Qureshi R., Ullah F., Gilani S., Nosheen A., and Sahreen S. (2011).** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research.* Vol 5 (25), p : 6017-6023.
- **Khan R-A., Khan M-R., Sahreen S., and Bokhari J. (2010).** Antimicrobial and phytotoxic screening of various fractions of *Sonchus asper*. *African Journal of Biotechnology.* Vol 9(25), p : 3883-3887.
- **Khanbabae K., and Ree T.R. (2001).** Tannins : Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry.* Vol (18), p : 641-649. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Khelifi D., Hamdi M., El Hayouni A., Cazaux S., Souchard J.P., Couderc F., and Bouajila J. (2011).** Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (*Globulariaceae*) leaves. *Molecules.* Vol (16), p : 10592-10603.
- **Khelifi D., Sghaier R.M., Amouri S., Laouini D., Hamdi., and Bouajila M. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of

- Artemisia herba-alba*, *Rutachalpensis* L., and *pegarium harmala* L. Food and Chemicaltoxicology. Vol (55), p: 202-208.
- **Klaas C. A., Wagner G., Laufer S., Sosa S., Loggia R. D., Bomme U., Pahl H. L., and Merfort I. (2002).** Studies on the anti-Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals prepared from *Arnica* flowers, *Planta Med.* Vol (68), p : 385-391.
  - **Klinkenberg B. (EDITOR) (2010).** *Sonchus oleraceus* L. In : E-Flora BC : Electronic Atlas of the Plants of British Columbia. Lab for Advanced Spatial Analysis. Department of Geography, University of British Columbia. Vancouver, BC. [10 September 2010] valable sur : <http://www.geog.ubc.ca/biodiversity/eflora/index.shtml>. (Consulté le : 25/02/2018 à 17 : 51).
  - **Koffi N., Beugré K., Guédé N., Zirihi D. and Laurent A. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte- d'Ivoire). *Sciences & Nature.* Vol 6 (1), p : 1-15.
  - **Kohanski M.A., Dwyer D.J., and Collins J.J. (2010).** How antibiotics kill bacteria : from targets to networks. *Nat Rev Microbiol.* Vol (8), p : 423-435.
  - **Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B., Lawrence C.A., and Collins J.J. (2007).** A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell.* Vol (130), p : 797-810.
  - **Krief S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées, p : 343.
  - **Laid M., Hegazy F., and Ahmed A. (2008).** Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herba alba*. *Phytochemistry lett.* Vol (1), p : 85-88.
  - **Lambinon J., Langhe J., Delvosalle L., and Duvigneaud J. (1992).** Nouvelle Flore de la Belgique, du Grand-Duche de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisines (English title not available) [Ed. by 4.]. Meise, Belgium: Editions du patrimoine du Jardin botanique national de Belgique, p : 1092.
  - **Leclerc H., Gaillard J.L., and Simonet M. (1995).** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris, p : 56.

- **Lemuel L. D., Dana R.M., Siddharth P., and Robert B.H.R. (2010).** Meseuarl thiadrirculeg resistant *Acinetobacter baumannii* : a descriptive study in a city hospital. BMC Infectious Diseases. Vol (10), p : 196.
- **Lewin R. (1948).** The Biological Flora of the British Isles *Sonchus L.* Journal of Ecology. Vol 36(1), p : 203-223.
- **Leybros J., and Fremeaux P. (1990).** Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, Génie des procédés. Vol. (2J2780), p : J 2780.1-J 2780.22.
- **Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., and Jiang Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food chemistry. Vol (102), p : 771-776.
- **Linderschmidt R., Trylka A., Goad M. and witschi H. (1986).** The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice. Toxicology. Vol (38), p : 151–160.
- **Lugasi A., Hovari J., Sagik., and Biro L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. J. Acta.biologica. szegediensis. Vol (47) (1-4), p : 119-125. (Cited in Mohammedi Z, 2005).
- **Lutge U., Kluge M., and Bauer G. (2002).** Botanique 3ème Ed : Technique et documentation.Lavoisier .Paris, p : 211.
- **Madigan M. T., Martinko J. M., and Parker J. [EDS] (1997).** Biology of Microorganisms, 8th ed. Prentice Hall Upper Saddle River Press, London, p : 986.
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., and Jimenez L. (2004).** Polyphenols : food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition. Vol (79), p : 727 – 747.
- **Marc T., Gerard W., and Denis L. (2001).** Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition, p : 426.
- **Marian N., and Fereidoon S. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A. Vol (1054), p : 95-111.
- **Markham K.R. (1982).** Techniques of flavonoid identification (Chapitre 1 et 2). London : Academic Press. P ; 1-113.
- **Marmonier A. (1999).** Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. Bactériologie Médicale, technique usuelles, p : 227–236.

- **Matthei O., Marticorena C., and Stuessy T. F. (1993).** La flora adventici adel Archipelago de Juan Fernandez. In : Gayana Botanica. Chile : Universidad de Concepcion, .2. Vol (50), p : 69-102.
- **Merghem R., Jay M., Viricel M.R., Bayet C., and Voirin B. (1995).** Five 8-C-benzylated flavonoids from *Thymus hirtus* (Labiata). *Phytochemistry*. Vol (38), p : 637-640.
- **Mohammedi. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie, P 84.
- **Mohanta T.K., Patra J.K., Rath S.K., Pal D.K., and Thatoi H.N. (2007).** Evaluation of antimicrobial activity and phytochemical screening of oils and nuts of *Semicarpus anacardium* L.f. *Sci. Res. Essay*. Vol (2), p : 486-490.
- **Moroh J., Bahi C., and Dje K. (2008).** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morindamorindoides*(Baker) milne-redheat (*Rubiaceae*) sur la croissance in vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bull Soc Roy Sci Liège*. Vol (77), p : 44–61.
- **Nacoulma-Ouedraogo O.G. (1996).** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso, cas du plateau central, Tome I et II. Thèse Doctorat d'Etat : Université d'Ouagadougou, p : 105.
- **Narod F.B., Gurib-Fakim A., and Subratty A.H. (2004).** Biological investigations into *Antidesma madagascariense* Lam. (*Euphorbiaceae*), *Faujasiopsis flexuosa* (Lam.) C. Jeffrey (*Asteraceae*), *Toddalia asiatica* (L.) Lam. and *Vepris lanceolata* (Lam.) G. Don (*Rutaceae*). *J. Cell Mol. Biol*. Vol (3), p: 15-21.
- **Nauciel C., and Vilde J.L. (2005).** Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson. Paris, p : 5-10.
- **Nazaruk J. (2008).** Anti-oxidant activiy and total phenolic content in *Cirsium* five species from north-east region of Poland. *Fitoterapia*. Vol (79), p : 194-6.
- **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1997).** Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility test, Vithed. Wayne, PA : Approved Standard, M2–A6. Valable sur : <http://www.jcm.asm.org/content/38/9/3341.full> (Consulté le 07/05/2018 à 17 :52).
- **Newman D.J., and Cragg G. M. (2007).** Natural Products as Sources of New Drugs over the last 25 Years. *Journal of Natural Products*. Vol (70), p : 461–477.

- **Newman D.J., and Cragg G.M. (2012).** Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75), p : 311-335.
- **Nkhili E-Z. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad, Marrakech. Maroc. P : 327.
- **Nukaga M., Mayama K., Hujer A-M., Bonoma R-A., and Knox J-R. (2003).** Ultrahigh resolution of class A beta-lactamase : on the mechanism and specificity of the extended spectrum SHV-2 enzyme. *J. Mol. Biol.* Vol (328), p : 289-301.
- **PARIS M., and HURABIELLE. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. p : 102-103-104-107.
- **Parker C. (1992).** Weeds Of Bhutan. *Weeds Of Bhutan.*, Vi. P : 236.
- **Patrick B., Jean L., and Michel S. (1988).** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris, P : 100-108-274.
- **POOLE K. (2012).** Bacterial stress responses as determinants of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother.* Vol (67), p : 2069-2089.
- **PROTA. (2014).** PROTA 4U web data base. Grubben GJH, Denton OA, Eds. Wageningen, Nether lands : Plant Resources of Tropical Africa. valable sur : <http://www.prota4u.org/search.asp>. (Consulté le : 16/03/2018 à 19 : 10).
- **Quettier-Deleu C., and Vasseur J. (2000).** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology.* Vol (72), p : 35-42.
- **Ramzi A.M., Salah A.A., Sidgi H., Faisal M.A., Sama A.Z., and Ulrike L. (2010).** Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities and phytochemical Screening of Some Yemeni Medicinal Plants. *Evidence Complementary and Alternative Medicine.* Vol 7(3), p : 323–330.
- **Randerath K. (1971).** Chromatographie sur couches minces. Gauthier-Villars. Paris, p : 16.
- **Rauter A.P., Branco I., Tostaoz., Pais M.S., Gonzalez A.G., and Bermejo J.B. (1989).** Flavonoids from *Artemisia campestris Subsp Maritima*. *Phytochemistry.* Vol 28 (8), p : 2173-2175.
- **Rebecca N., John D.K., Deo O., and John K. (2011).** Antibacterial activity and phytochemical screening of eleven plants used as poultry ethno medicines in Southern Uganda. *Agricultural journal.* Vol 6(6), p : 303–309.

- **Remmal A., Bouchkhi T., Rhayouk., Ettaybi M., and Tantouielraki. (1993).** Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. ESS. Oil Res.* Vol 5 (2), p : 179-184.
- **Richard C., and Kiredjian M. (1995).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts : *Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucelle, Bordetella*. 2ème édition. Ed Institut. Pasteur .Paris, p : 42-43.
- **Ridley H. (1930).** The Dispersal of Plants Throughout the World. Ashford, Kent, UK : Reeve and Co, p : 744.
- **Rizk A. (1982).** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, Elsevier B.V. Amsterdam. Vol 52 (2), p : 35-42.
- **Rodriguez N., Amils R., Jimenez-Ballesta R., Rufo L., and dela-Fuente V. (2007).** Heavy metal content in *Erica andevalensis*: an endemic plant from extreme acidic environment of Tinto River and its soils. *Arid Land Res. Manage.* Vol (21), p : 51-65.
- **Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., and Mata R. (1992).** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* Vol (35), p : 275-283.
- **Saffidine K. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L.* Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas-Setif-Algérie, p : 71, 72.
- **Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., Takashi Y., and Fujisawa S. (2005).** Molecular requirements of lignin-carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry* Vol (66), p : 2108 - 2120.
- **Sarker S., Latif Z., and Gray I. (2005).** Natural Product Isolation. *In* : Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa), p : 1-23.
- **Schauenberg P., and Paris F. (2005).** Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2ème édition. Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel. Suisse, p : 396.
- **Seenivasan P (2006).** In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *Journal of complementary and alternative medicine.* Vol. (9), p : 6-39.
- **Seladji S-M. (2013).** Etude Phytochimique Et Activités Biologiques Des Composés Phénoliques Des Extraits De La Partie Aérienne De *Pituranthos Chloranthus*

(guezze) De La Région De Biskra. Mémoire Master Acadimique En Biologie. Talmcen : Université Abou BekerBelkaid, Talmcen, p : 31-45.

- **Sellami S., Mezrket A. and Dahmane T. (2010).** Activite Nematicide De Quelques Huiles Essentielles 6+Contre Meloidogyne Incognita Nematol. Medit, Vol (38), p : 195-201 195.
- **SFM, (2008).** Société Française de Microbiologie, Recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Valable sur : [www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM](http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM). (Consulté le 025/04/2018 à 14 :42).
- **Sikder M., Kaiser M., Parvez M., Hossian A., Akhter F., and Rashid M. (2011).** Preliminary Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Leaf Extracts of *Mesua gassarium* (Burm.f.). Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. Vol 10(1), p : 83 – 87.
- **Sine J. (2003).** Séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses éditions marketing S A, p : 99-101.
- **Skiada A., Markogiannakis A., Plachouras D., and Daikos G. (2011).** Adaptive resistance to cationic compound in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents*. Vol (37), p : 187-193.
- **Sofowora A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition Karthala, p : 22.
- **Steven P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S., and Peter W. (2004).** Microbiology of Water borne Diseases. Ed Elsevier Academic Press, p : 71-132.
- **STEVENS P.F. (2012).** Angiosperm Phylogeny Web site. Valable sur : <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (Consulté le : 16/03/2018 à 19 :45).
- **Teixeira Da Silva J, (2004)** -Mining the essential oils of the Anthemideae. Afr. J. Biotechnol. Vol (3) pp : 706- 720.
- **TERRAIN. (2013).** Thistle (SmoothSow). Taranaki Educational Resource : Research, Analysis and Information Network. Valable sur : <http://www.terrain.net.nz/friends-of-te-henui-group/weeds/sow-thistle.html>. (Consulté le 16/03/2018 à 19 : 10).
- **Trabsa H. (2015).** Activité antioxydant et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : *Sedum sediforme* et *Lycium arabicum*. Thèse Doctorat. Sétif : Université. Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie, p : 30-32.
- **Trease E., and Evans W. (1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 3 th Ed, p : 61-62.

- **Vacheron S. (2011).** La phytothérapie Dans la prise en charge Des Troubles Veineux à l'Officine, la phyto-aromathérapie à l'officine niveau 2, p : 7-9.
- **Valant-Vetschera K., Fischer R., and Wollenweber E. (2003).** Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae) : new results and chemosystematic interpretation. *Biochem. Syst. Ecol.* Vol (31), p : 487-498.
- **Wagner H., Blatt S., and Zgainski E. (1983).** Drogen analyse-dünnschicht-chromatographische analyse von arznei drogen. Thèse Doctorat : Université Springer-Verlag-Berlin, p : 176-179.
- **Wallace R. (2004).** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of nutrition society.* Vol. (63), p : 621–629.
- **Widderick M., Walker S., Sindel B., and Bell K. (2010).** Germination, emergence, and persistence of *Sonchus oleraceus*, a major crop weed in subtropical Australia. *Weed Biology and Management.* Vol 10(2), p : 102-112.
- **Ziegler J., and Facchini P. (2008).** Alkaloid Biosynthesis : Metabolism and Trafficking. *Annu. Rev Plant Biol.* Vol 7 (59), p : 35 – 769.

# Annexes

## Annexe N° 01

### I. Matériel screening phytochimique

#### I.1. Les produits chimiques, les réactifs et les révélateurs

- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>, HCl, NH<sub>4</sub>OH, NaOH, DMSO.
- Réactif de Mayer.
- Révélateur de vanilline sulfurique, révélateur de chlorure d'aluminium.
- Eau distillée.

### II. Matériel bactériologique

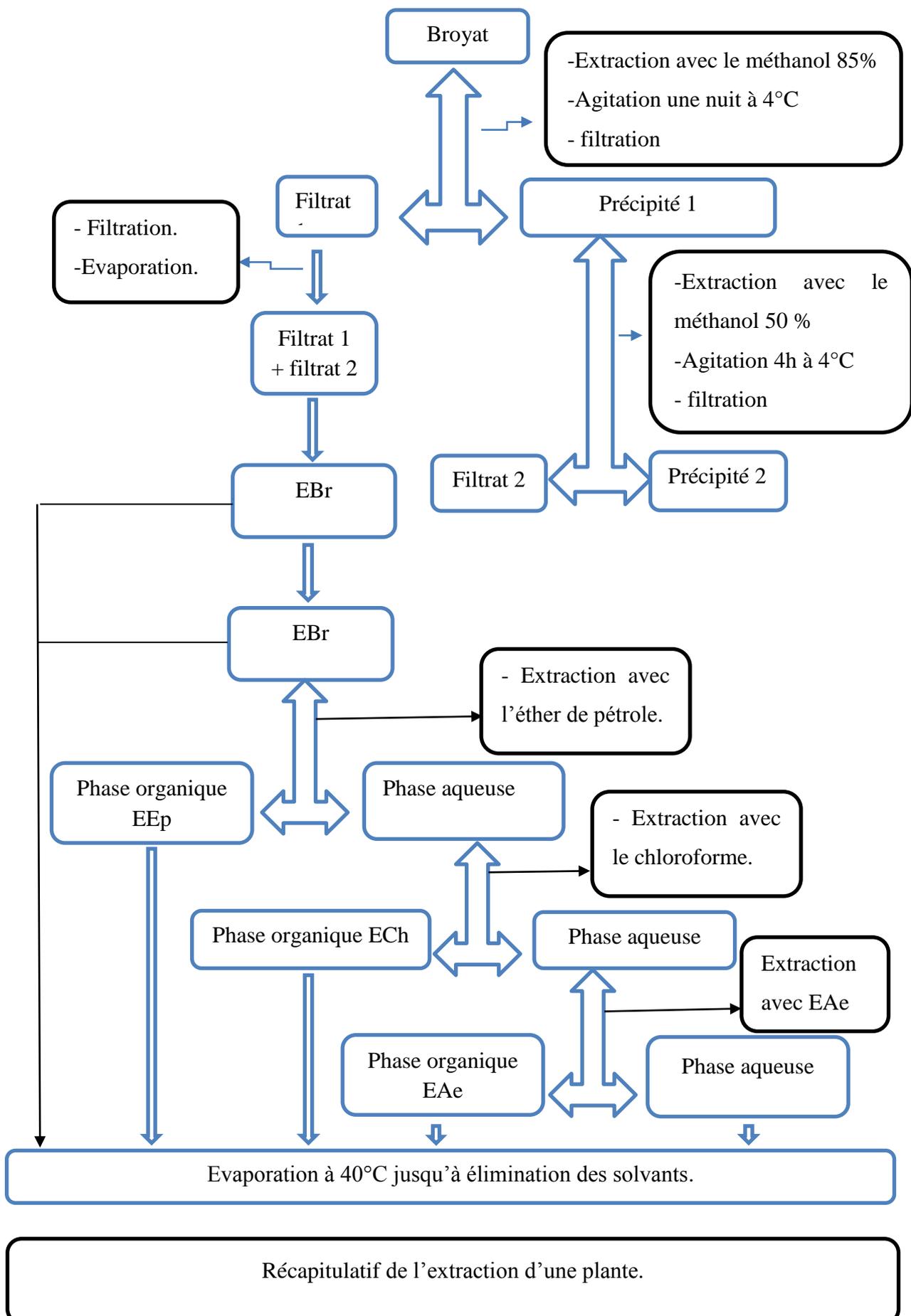
#### II.1. Produits utilisés

- Méthanol, l'eau physiologique
- Gélose Nutritive, Gélose de Mueller Hinton, Gélose Sabouraud, Bouillon Mueller Hinton, Bouillon Sabouraut.

#### II.2. Les équipements

- Autoclave.
- Four pasteur.
- Etuve.
- Bain maré.
- Réfrigérateur.
- Balance.
- Balance de précision.
- Agitateur Vortex.
- Spectrophotomètre.

## Annexe N° 2



## Annexe N° 3

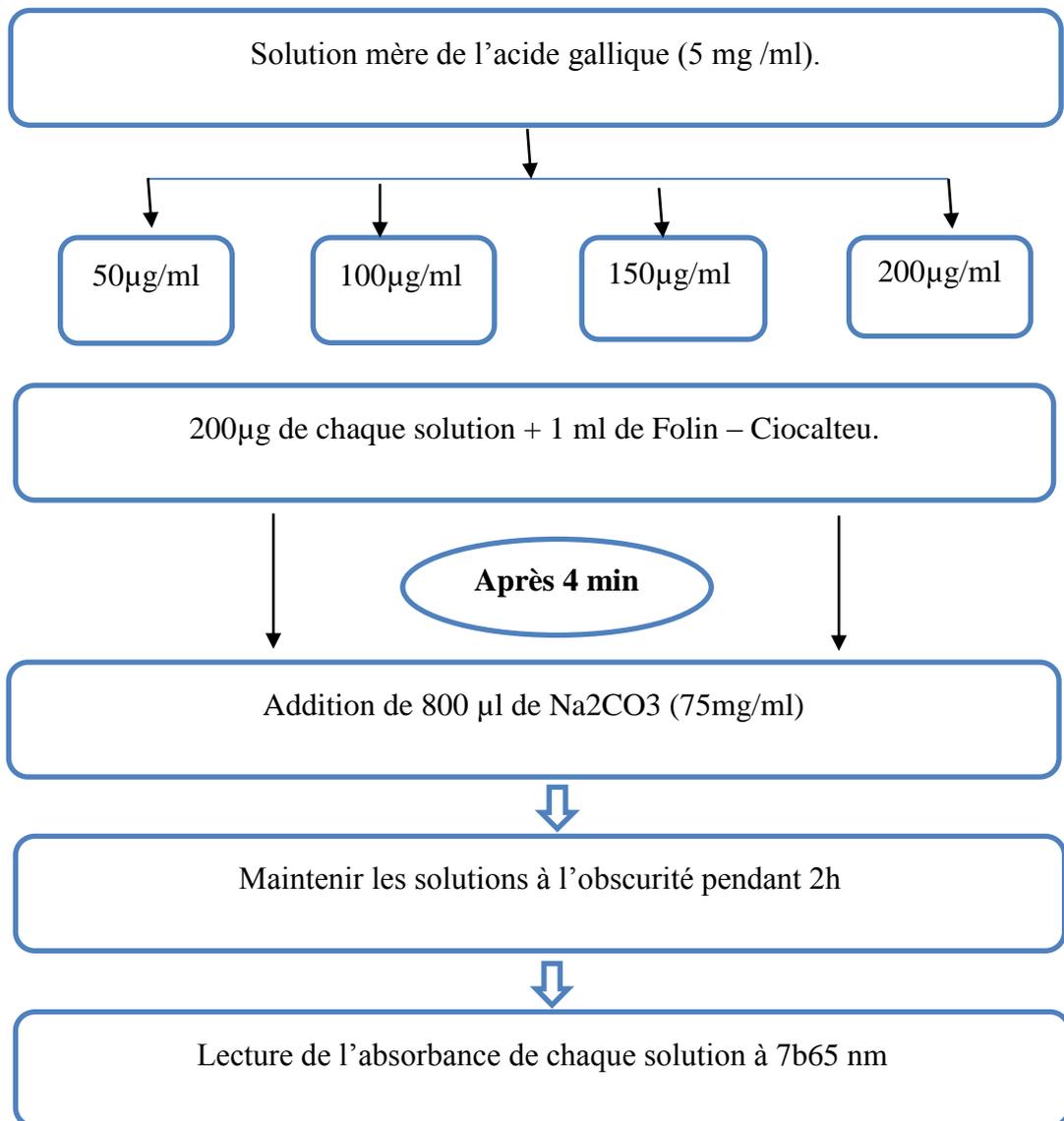


Schéma illustratif de la méthode de dosage des polyphénols.

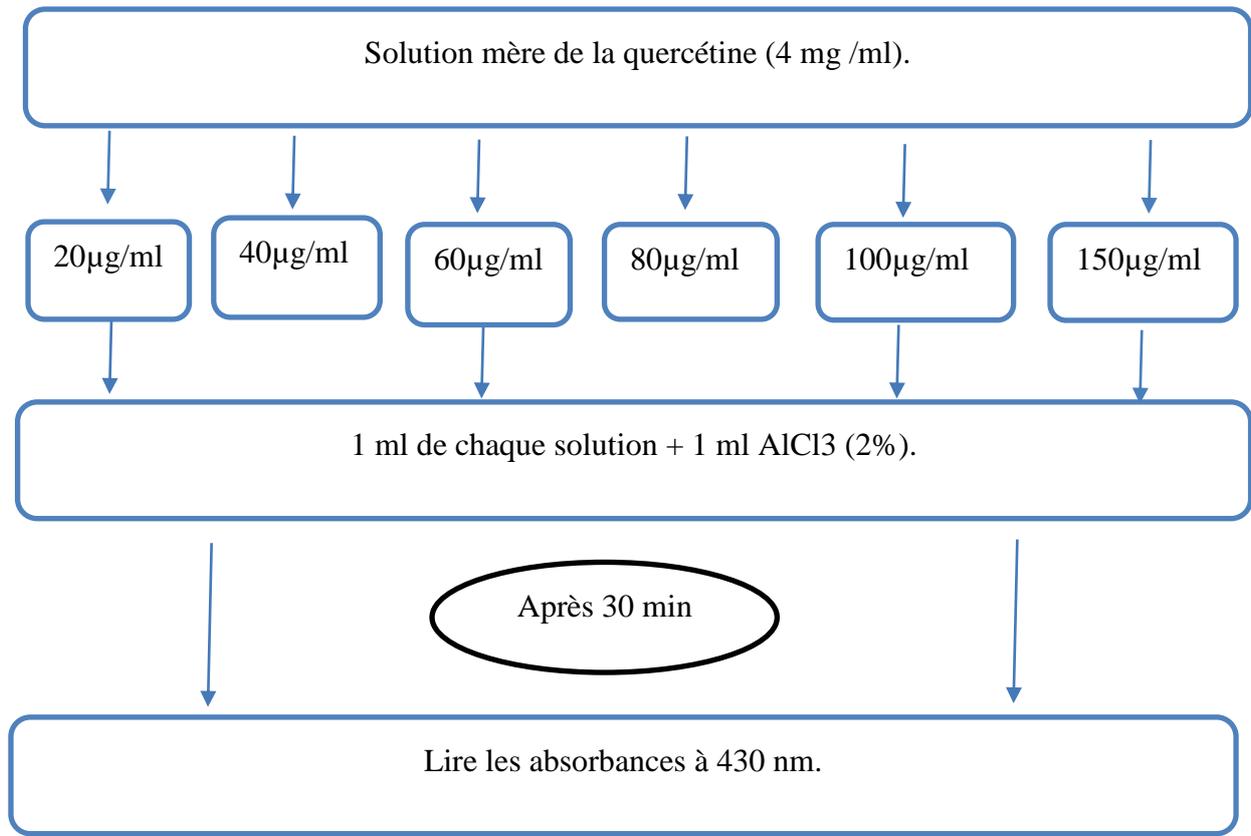


Schéma illustratif de la méthode de dosage des flavonoïdes.

---

**Annexe N° 4****III. Solutions utilisées****III.1. Préparation de solution de tétra-iodomercure de potassium**

- Iodure de potassium.....5g.
- Chlorure de mercure et 100 ml l' .....1,3b6 g.
- Eau distillée..... 1 litre.

**III.2. Préparation de vanilline sulfurique**

- Vanilline.....1g.
- Acide sulfurique..... 2 ml.
- Ethanol..... 95 %.

**III.3. Préparation de chlorure d'aluminium**

- chlorure d'aluminium .....1mg.
- éthanol.....1 ml.

### III.4. Récapitulatif des révélateurs de plaque de CCM

Réactifs	Composés révélés	Mode opératoire
Anisaldéhyde sulfurique (Deleu-Quettier, 2000).	Réactif polyvalent	Une solution de p-anisaldéhyde à 0,5% a été préparée dans un mélange de méthanol/acide acétique/acide sulfurique (85 :10 :5). Puis pulvérisée sur la plaque. Après un chauffage intense, les composés organiques apparaissent sur la plaque sous forme des taches colorées en lumière du jour.
Dragendorff modifié selon Munier (Randerath, 1971).	Alcaloïdes	Un volume d'une solution de 17g de sounitrate de bismuth et 200 g d'acide tartrique dans 800 ml d'eau a été mélangé avec un volume d'une solution de 160 g d'iodure de potassium dans 400 ml d'eau. Cinquante millilitres de cette solution ont été dilués extemporanément dans 500 ml d'eau. Cent grammes d'acide tartrique ont ensuite été dissouts dans la dilution qui était pulvérisée sur la plaque.
Perchlorure de fer (Wagner, et al., 1983)	Polyphénols	Une solution de FeCl <sub>3</sub> à 10% a été préparée dans un mélange méthanol/eau (1:1) puis vaporisée sur la plaque. Les polyphénols apparaissent sous forme des taches de couleur en lumière du jour.
Neu (Wagner et al., 1983).	Flavonoïdes	Une solution de diphénylborate d'éthanolamine à 1% a été préparée dans le méthanol. Cinq pour cent de PEG 4000 (polyoxyéthylène glycol 4000) y ont été ajoutés et la solution, vaporisée sur la plaque. Les flavonoïdes

		apparaissent sous forme de taches fluorescentes orange, jaune, bleu et vert à 366 nm.
Diméthylamino-cinnamaldehyde (DMACA)	Proanthocyanidines (tannins catéchiques)	Deux grammes de p-diméthyl-amino-cinnaldéhyde ont été dissouts dans 100 ml de méthanol puis 3,5 ml d'acide chlorhydrique concentré y ont été ajoutés. Le mélange a été vaporisé sur la plaque. Les tannins apparaissent sous forme de taches vertes (catéchines) ou bleues (proanthocyanidines) selon leur nature chimique.
1,1-diphényl-2-picrylhydrazole (DPPH) (Hennebelle, 2006).	Composés anti-radicalaires	Une solution méthanolique de DPPH a été préparée à 2mg/ml et la plaque était trempée dans la solution pendant 5 secondes. Les composés anti-radicalaires apparaissaient en jaune sur la plaque.

## Annexe N° 5

**IV. Milieux de cultures solides****III.1. Gélose nutritive****❖ Composition**

- Extrait de viande de bœuf .....5 à 10g.
- Peptone.....10g.
- Chlorure de sodium.....5g.
- Agar .....15g.
- Eau distillée .....1000ml.

**❖ Préparation**

- Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,5 et stériliser à 120°C pendant 20min

**III.3. Gélose Mueller Hinton****❖ Composition**

- Infusion de viande de bœuf .....4g.
- Hydrolysate acide de caséine .....17,5g.
- Amidon de maïs.....1,5g.
- Agar .....12g.

**❖ Préparation**

- Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,3 et stériliser à l'autoclave 15min à 121°C.

**III.4. Préparation de l'eau physiologique****❖ Composition**

- Chlorure de sodium .....9g.
- Eau distillée .....1000g.

**❖ Préparation**

- Après dissolution de chlorure de sodium dans l'eau distillée, ajuster le pH et stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 30 min.

### III.5. Préparation du sodium 0.5 Mac Farlandt :

#### ❖ Composition

- BaC<sub>12</sub> déshydraté à 1 % .....0, 5ml.
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1% .....99, 5 ml.

#### ❖ Préparation

- Mélanger 1% d'une solution de BaC<sub>12</sub> dans 1% de l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

#### - Solution de BaC<sub>12</sub> à 1 %

Dissoudre 1 g de BaC<sub>12</sub> dans 100ml d'eau distillée.

#### - Solution d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1%

Prélever 1 ml d'acide sulfurique et compléter le volume jusqu'à 100 ml par l'eau distillée.

### III.b6. Préparation de bouillon de sabouraud

#### ❖ Composition

- Tryptone .....5g/l.
- Peptone pepsique de viande .....5g/l .
- Glucose .....20g/l.

PH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : 5,7+/-0,2.

#### ❖ Préparation

- Mettre en solution 30 grammes de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complété.
- Réparer en tube flacons stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Tenir le flacon soigneusement fermé entre +2 et +3 °C usage in vitro. Ne pas ingère, ne pas inhaler.

## Résumé

*Sonchus Oleraceus L* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Asteraceae*, cette espèce connue sous le nom de « Tefafe ». L'extrait organique a été obtenu par macération en utilisant trois solvants : chloroforme, acétate d'éthyle et l'éther de pétrole. Les rendements obtenus sont : la fraction aqueuse (73%), l'extrait méthanolique (0.93%), fraction d'acétate d'éthyle (0.10%), fraction de chloroforme (0.07%) et la fraction d'éther de pétrole (0.06%). Le screening phytochimique sur l'extrait méthanolique a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les composés phénoliques, les coumarines, les anthraquinones, les composés réducteurs, les stérols et les terpènes. La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de  $0.089 \pm 0.022$  mg EAG/g Ps d'extrait méthanolique. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode  $AlCl_3$ , leur teneur est de  $12.739 \pm 0.116$  mg EQ/g Ps dans l'extrait méthanolique. La chromatographie sur couche mince a montré avec le révélateur vallinine sulfurique la présence de flavonoïdes, terpénoïde et tanins avec les rapports frontaux : 5,4 ; 7,8 ; 0,96 respectivement. D'autre part, le révélateur  $AlCl_3$  a informé sur la présence de flavonoïdes et une fluorescence avec les rapports frontaux : 0.19 ; 0.82 respectivement. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes et un champignon, selon la méthode de diffusion de disque. La concentration minimale inhibitrice (CMI) manifestée par les cinq fractions sur *P. aeruginosa*, *Enterobacter T3* et *E.Coli* variant entre 1/8 et 1/128 mg/ml et sur *Aspergillus niger* a été 1/2 et 1/4 mg/ml. La plus faible valeur de CMI/CMB a été observée avec *E.coli* 0.125. Tandis que la plus grande valeur de ces mêmes a été obtenue sur *E.coli* et *Enterobacter T3* égale 2 pour Ech et EBr. Par ailleurs, la valeur de CMI/CMF a été obtenue sur *Aspergillus niger* et *S. aureus* égale 1 avec une concentration de 1/2. L'extrait méthanolique a exercé une activité bactéricide pour *P. aeruginosa*, *Enterobacter T3* et *E.Coli* et une activité bactériostatique pour *S. aureus* et fongistatique sur *Aspergillus niger*. Cela justifie les utilisations médicinales d'une plante

**Mots clés :** *sonchus oleraceus L*, activité antibactérienne, activité antifongique. L'extrait méthanolique,

## Abstract

*Sonchus Oleraceus* L is a medicinal plant belonging to the family *Asteraceae*, this species known as "Tefafe". The organic extracts were obtained by maceration using three solvents : chloroform, ethyl acetat and petroleum ether. The yields are : aqueous extract (73%), methanolic extract (0.93%), ethyl acetat extract (0.10%), chloroform extract (0.07%) and petroleum ether extract (0.06%). The phytochemical secreening on the methanolic extract has made it possible to highlight the presence of the secondary metabolites : alkaloids, flavonoids, tannins, phenolic compounds, coumarins, anthraquinoses, reducing compositions, sterols and terpenes. The total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it is  $0.089 \pm 0.022$  mg EAG / g of methanolic extract. The flavonoids were evaluated using the  $AlCl_3$  method, their content is  $12.739 \pm 0.116$  mg EQ / g Ps in the methanolic extract. Thin layer chromatography showed with the vallinine sulfuric developer the presence of flavonoids, terpenoids and tannins with frontal ratios : 5.4, 7.8 and 0.96 respectively. On the other hand, the developer ALCL3 reported on the presence of flavonoids and fluorescence with frontal ratios : 0.19, 0.82 respectively Antimicrobial activity was determined on four bacterial strains and a fungus, according to the disk diffusion method. The minimum inhibitory concentration (MIC) expressed by the five fractions on *P. aeruginosa*, *Enterobacter* T3 and *E. coli* varying between 1/8 and 1/128 mg / ml and on *Aspergillus niger* was 1/2 and 1/4 mg / ml. The lowest value of MIC / CMB was observed with 0.125 E.coli. While the highest value of these same was obtained on E.coli and *Enterobacter* T3 equals 2 for Ech and methanolic extract. In addition, the value of CMI / CMF was obtained on *Aspergillus niger* and *S. aureus* equal 1 with a concentration of 1/2. The methanolic extract exhibited bactericidal activity for *P. aeruginosa*, *Enterobacter* T3 and *E. coli*, and bacteriostatic activity for *S. aureus* and fungistatic activity on *Aspergillus niger*. This justifies the medicinal uses of a plant.

**Keywords :** *Sonchus oleraceus* L, antimicrobial activity, antifungal activity, the methanol extract.

## الملخص

*Sonchus Oleraceus* L هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Asteraceae ، هذه الأنواع المعروفة باسم "Tefafe". تم الحصول على المستخلصات العضوية عن طريق النقع باستخدام ثلاثة مذيبات: كلوروفورم، أسيتات إيثيل وأثير البترول. بلغت العائدات: المستخلص المائي 73 %، مستخلص الميثانول 0.93 % ، مستخلص أسيتات إيثيل 0.10 %، مستخلص الكلوروفورم 0.07 % وأخيرا مستخلص أثير البترول 0.06 % . الاختبارات الفيتوكيميائية للمستخلص الميثانول لديها تصاريح لتسليط الضوء على وجود المركبات الثانوية: فلويدات، الفلافونويد والعفص والمركبات الفينولية، الكومارين، anthraquinoses الحد من المؤلفات الجامدة وتربين. تم تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية باستخدام فولين-Ciocalteu لتعطي ما يلي  $0.022 \pm 0.089$  ملغ EAG / غرام من المستخلص الميثانولي. كذلك تم تقييم الفلافونويد باستخدام طريقة AICI3 لتعطي  $0.116 \pm 12.739$  ملغ EAG / غرام في مستخلص الميثانول. كما أظهرت طبقة رقيقة اللون من الكبريتيك المطور vallinine وجود مركبات الفلافونويد، تيربينويد والعفص مع نسب التالية: 5.4، 7.8 و 0.96. من ناحية أخرى أبلغ المطور ALCL3 عن وجود مركبات الفلافونويد مع ظهور اشعاع بقيم مختلفة: 0.19، 0.82 على التوالي. تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على أربع سلالات بكتيرية والفطريات وفقا لطريقة نشر القرص. كان الحد الأدنى للتركيز مثبط (MIC) التي أعربت عنها السلالات الخمسة من المكورات العنقودية الذهبية، الزنجارية الزائفة، الأمعائية T3 و *E.coli*. تتراوح بين 8/1 و 128/1 ملغ / مل والرشاشيات النيجر 2/1 و 4/1 ملغ / مل. وقد لوحظ أدنى قيمة MIC 0.125 و *E.coli* مع CMB / مع *E.coli* في حين تم الحصول على أعلى قيمة من هذه نفسها على *E.coli* والامعائية T3 يساوي 2 Ech والمستخلص الميثانولي. بالإضافة إلى ذلك تم الحصول على قيمة ب 1 CMI / CMF و CMI / CMB على *Aspergillus niger* و *S. aureus* بتركيز 2/1. أظهر مستخلص الميثانول نشاط مبيد للجراثيم ل *P. aeruginosa*، *Enterobacter* و T3 و *E. coli* والنشاط الكابح لفطر *Aspergillus niger* و نشاط جراثيمي لأنثى المكورات العنقودية عند التراكيز المنخفضة و هذا ما يبرر الاستخدامات الطبية لنبته.

**الكلمات المفتاحية:** *sonchus oleraceus* L، نشاط مضاد للجراثيم، نشاط مضاد للفطريات. المستخلص الميثانولي