

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 :**

**Etude phytochimique et activité antibactérienne  
d'une plante médicinale (*Sonchus oleraceus L.*)**

---

Présenté par :

- ABIDI Fatima zahra
- ARABA Sarra
- MERGUEGUE Sarra

Devant le jury composé de :

Président :	Mme DRIF Fahima	(M.C.B)	Université de Guelma
Examineur :	Mme BEDIQUI Soraya	(M.A.A)	Université de Guelma
Encadreur :	Mme GRARA Nedjoud	(Pr)	Université de Guelma
Co-encadreur :	Melle AISSANI Fatine		

**Juin 2018**

# Remerciement

*Avant tout, nous remercions infiniment « Dieu le Tout Puissant » de nous avoir donné le courage et la santé pour finir ce travail. Au moment où se finisse ce travail, permettons nous de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui nous ont dirigées, soutenues, aidées et encouragées.*

*Nous remercions, les membres du jury : **Mme DRIF Fahima**, et **Mme BEDIUI Soraya**, d'avoir acceptés de juger notre travail.*

*Nous remercions sincèrement **Mme GRARA Nedjoud**, professeure à l'université de 8 Mai 45 Guelma, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ses conseils et la confiance qu'elle nous accordée pour permettre de réaliser ce travail, et la coencadreure **AISSANI Fatine**, doctorante à l'université de 8 Mai 45, qui a été toujours avec nous pendant l'expérimentation.*

*Nous tenons à remercier, particulièrement, **Mme HIMER Ratiba**, la technicienne du laboratoire Bio- chimie, pour nous avoir aider et conseiller au cours de la réalisation de notre travail, aussi pour sa disponibilité.*

*Aux personnels du laboratoire de Bio-chimie et microbiologie pour leur aide. Nous adressons de sincères remerciements à tous nos collègues et amies du laboratoire et tous sans oublier les étudiants de master.*

*Enfin, pour leur soutien sans permanent, nous remercions de tout cœur nos parents, nos frères et sœurs pour leur amour, soutien et leur compréhension.*

*Merci à tous...*

# *DEDICASES*

*Ce modeste travail est dédié :*

*A mon exemple éternel, mon soutien moral, source de joie et de bonheur, à celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir grandir et réussir, que dieu te garde et te protège*

*mon très cher Père,*

*A la lumière de mes jours, source de mes efforts, la flamme de mon cœur, de ma vie et de mon bonheur,*

*Maman qui j'adore,*

*A toutes les personnes que j'aime et plus particulièrement, à mes chères sœurs «Linda » « Nassima» «Karima» «Meriem » et «Selma » Dont le grand privilège leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, assistance, et encouragements,*

*Je dédie particulièrement ce travail aux familles «Abidi et Zerari ».*

*À le personne le plus précieux de mon cœur à mon fiancé «Mohamed ».*

*A tous mes proches sans exception à tous ceux qui m'ont souhaité le succès et m'ont aidé de près ou de loin et j'espère que Dieu rendra mon travail utile.*

*ABIDI Fatima Zahra*

# *DEDICASES*

*J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents, qui m'avez dirigé et suivi pondent toute mes années d'étude et surtout ma mère pour leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation qu'elle ma donnée, je lui dit merci mille fois.*

*Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à: Mes sœurs : *Nasma , Wafa , Houda .**

*Et Mes frères : *Omar et Azzedine.**

*À le personne le plus précieuse de mon cœur à mon fiancé  
«Omar».*

*Et À toute la famille.*

*À tous mes amies et à tous mes profs durant ces longues années  
d'études, en spécifique à *M. Grara, et Aïssani.**

**MERGUEGUE Sara**

# DEDICASES

*C'est avec l'aide et la grâce du Dieu que j'ai achevé  
ce modeste travail que je dédie :*

*A ma très chère mère*

*Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par  
excellence, la source de tendresse et l'exemple du  
dévouement*

*qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta  
prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour  
mener à bien mes études.*

*A mon très cher père **AHMED***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le  
dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien  
au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon  
éducation et mon bien être.*

*A mon mari **OUSSAMA***

*Qui m'ont encouragé dans tous les moments difficiles.*

*Ma filles **JOURI***

*A mes chers frères et sœurs*

*Zaïd, Selma, Asma, Sadjida, Sadja.*

*A ma mère, mon oncle, ma tante,*

*A mes amis **RAJA, ASMA, MARWA.***

**ARABA Sara**

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre 01 : Etude bibliographique

I. Les plantes médicinales .....	3
II. La phytothérapie .....	3
III. Monographie de la plante médicinale étudiée .....	4
1. Les principales Espèces du genre <i>Sonchus</i> .....	5
2. Propriétés et usages .....	5
IV. Métabolites des plantes médicinales .....	7
1. Les métabolites primaires .....	7
2. Les métabolites secondaires .....	8
2.1. Composés phénoliques .....	9
2.2. Alcaloïdes .....	12
2.3. Stérols .....	13
2.4. Saponines .....	13
2.5. Terpénoïdes .....	13
3. Rôle biologique des métabolites secondaires .....	14
V. Les plantes médicinales comme source antibactérien .....	14

Chapitre 02 : Etude pratique

I. Matériel et Méthodes .....	17
1. Matériel végétal : .....	17
2. La récolte de la plante .....	17
3. Préparation des extraits : .....	18
4. Criblage phytochimique .....	20
5. Analyse phytochimique des extraits de <i>S. oleraceus L.</i> : .....	20
6. Méthodes de séparation chromatographiques .....	30
7. Tests d'activités antibactériennes: .....	32
II. Résultats et discussions .....	36

<b>1. Résultat de l'étude phytochimique .....</b>	<b>36</b>
<b>2. Analyses quantitatives des extraits E et A .....</b>	<b>39</b>
<b>2.1. Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>39</b>
<b>2.2. Dosage de flavonoïde .....</b>	<b>41</b>
<b>3. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....</b>	<b>41</b>
<b>4. Résultat de l'activité antibactérienne .....</b>	<b>46</b>
<b>4.1. Antibiogramme.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2. Méthode de diffusion en milieu solide (aromatogramme) .....</b>	<b>49</b>
<b>Conclusion et perspictive .....</b>	<b>53</b>
<b>Références bibliographique</b>	
<b>Annexes</b>	
<b>ملخص</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des figures

N	Titre	Page
1	la plante <i>sonchus oleraceus L.</i>	4
2	Les différentes parties de <i>Sonchus oleraceus L.</i>	7
3	Structure générale du noyau des flavonoïdes.	10
4	Différentes structures des tanins.	10
5	Structure des tanins hydrolysables.	11
6	Structure des tanins condensés.	11
7	Structure d'une molécule de coumarine.	12
8	Structures chimiques de lignine.	12
9	La formule des alcaloïdes.	13
10	Structure de la molécule d'isoprène.	14
11	La plante étudié <i>S.oleraceus</i> .	17
12	Carte géographique illustrant la région de récolte de la plante.	18
13	Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude.	19
14	Protocole expérimental pour la Préparation des extraits bruts par macération.	21
15	Protocole expérimental total.	25
16	schéma personnel de la méthode de dosage des polyphénols.	27
17	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.	28
18	Schéma personnel de la méthode de dosage des flavonoïdes.	29
19	Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	30
20	Rendement de l'extrait Éthanolique et Aqueux.	38
21	La quantité d'acide gallique en ( $\mu\text{g}$ ) des deux extraits A et E.	40
22	La quantité des quercétines en ( $\mu\text{g}$ ) des deux extraits A et E.	41
23	Chromatographie sur couche mince de l'extrait E et A de <i>S. Oleraceus</i> (après révélation au réactif de Chlorure d'aluminium).	44
24	Chromatographie sur couche mince de l'extrait E et A de <i>S. Oleraceus</i> sous l'UV (après révélation à la réactive de vanilline).	44
25	Chromatographie sur couche mince de l'extrait E et A de <i>S.</i>	45



	<i>Oleraceus</i> sous l'UV (après révélation au réactif de vanilline).	
<b>26</b>	chromatogramme des extraits (E et A) révélés par le chlorure d'aluminium.	45
<b>27</b>	Activité des antibiotiques sur les différentes souches testées.	48
<b>28</b>	Evaluation de l'activité antibactérienne d'extrait éthanolique sur les différentes souches bactériennes.	50
<b>29</b>	Evaluation de l'activité antibactérienne d'extrait aqueux sur les différentes souches bactériennes.	51

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>01</b>	la classification de la plante étudiée	5
<b>02</b>	Composition chimique de <i>Sonchus oleraceus</i> L	6
<b>03</b>	Classe majeure de composés antimicrobiens des plantes et mécanisme d'action	15
<b>04</b>	Source de prélèvement des souches testées.	32
<b>05</b>	Caractéristiques des extraits de la plante étudiée	36
<b>06</b>	Screening phytochimique de <i>Sonchus Oleraceus</i>	37
<b>07</b>	Les Rapports frontaux des taches et les Classes des composés identifiés dans l'extrait A et E pour la 11 <sup>ème</sup> feuille	43
<b>08</b>	Les Rapports frontaux des taches et les Classes des composés identifiés dans l'extrait A et E pour la 2 <sup>ème</sup> feuille	43
<b>09</b>	Les diamètres d'inhibition des souches testées vis-à-vis des antibiotiques.	49
<b>10</b>	Les diamètres d'inhibition d' <i>E.Coli2592</i> ® vis-à-vis de l'extrait aqueux.	51

## Liste des abréviations

**ADN**: Adénosine désoxyribonucléique.

**AG** : Acide gallique.

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium.

**ATB** : Antibiotique.

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**BLSE** : Beta Lactames à Spectre Elargi.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme .

**CN** : Gentamicine.

**COOH** : Carboxylique.

**D<sub>control</sub>** : diamètre de la boîte de pétri.

**D<sub>test</sub>** : diamètre de la zone d'inhibition.

**D** : Diamètre.

**Da** : Dalton.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**DO** : Densité optique.

**EA** : Extrait aqueux.

**EAG** : Equivalent acide gallique.

**ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines.

**EE** : Extrait éthanolique.

**EQ** : Equivalent quercitrine .

**EtOH**: Ethanole.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer III.

**GN 24** : *Acinetobacter baumannii* 312.

**GN** : Gelose nutritif.

**GN13** : *Acinetobacter baumannii* lit 07.

**GN15** : *Enterobacter* T3.

**H<sub>2</sub>O** : Eau distillée.

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

**HCl** : Acide chlorydrique.

**M.R** : Résistant à la Méthicilline (multi résistante).

**m**: Masse d'extrait brut.

**m<sub>0</sub>** : Masse de la plante sèche en poudre.

**MBR** : Bactérie multi résistante.

**Mg** : Magnésium.

**MH** : Muller Hinton.

**MRSA** : *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méthicilline.

**MS** : Matier sèche.

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

**NDF** : Fibre Détergent Neutr.

**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniaque .

**OH** : Alcoolique.

**P** : Pénicilline .G .

## Sommaire

---

**Ps** : podre sec.

**PT3** : référence de la souche en l'hôpital.

**R** : Résistante.

**R%** : Rendement.

**Rf** : Rapport frontal.

**S** : Sensible.

**S.Oleraceus** : *Sonchus Oleraceus*.

**T3** : Référence de la souche en l'hôpital .

**UFC** : Mc- farland.

**UV** : Ultraviolet.

**VA** : Vancomycine.

**®** : Référence.

**°C** : Degrés Celsius.

**µg** : Microgramme.

**µl** : Microlitre.

**µm** : micromètre.



# Introduction

Les plantes médicinales restent le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futures drogues (Maurice, 1997). L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes médicinales. Depuis le XVIII<sup>ème</sup> siècle, les savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent (Iserin et al, 2001).

L'étude de la phytochimie est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives qui ont des intérêts multiples en industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes...etc (Bahorun et al., 1996).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Sonchus*. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Sonchus oleraceus L.* Cette plante largement utilisée pour traiter les troubles digestives, troubles hépatiques, les ulcères, les brûlures, la diarrhée,...etc. (Da Silva, 2004).

La présente étude a pour objectif d'extraire les molécules bioactives, avec l'évaluation de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, vise à tester l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux et éthanolique des parties aériennes de la plante sur la croissance *in vitro* de certaines bactéries impliqués dans les pathologies. (Maiza et al., 2011).

Notre travail a été divisé en trois chapitres ; nous aborderons dans un premier chapitre une étude bibliographique qui concerne les métabolites secondaires avec description détaillée de la plante étudiée.

Le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail et qui porte sur :

- ✓ Le screening phytochimique des métabolites secondaires existant dans les parties aériennes des extraits aqueux et éthanoliques de la plante ;
- ✓ La préparation des deux extraits bruts de la plante ;
- ✓ Le dosage des polyphénols totaux, et des flavonoïdes,

## Introduction

---

- ✓ Une évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits, par la technique de diffusion en milieu solide (l'aromatogramme).

Cet aperçu expérimental est suivi par la citation des principaux résultats et leurs interprétations.



Etude bibliographique



## I. Les plantes médicinales

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française (2013) comme une « drogue végétale » c'est une plante ou une partie de plante, utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais (Sofowora, 2010).

Une plante est étudiée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine ou animale. Elle est utilisée de différentes manières (décoction, macération, infusion, etc.) et une ou plusieurs de ses parties peuvent être utilisées (racine, rhizome, feuilles, fleurs, tiges... etc.) (Baran,2000).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 (Benjlali et Zarira, 2005).

## II. La phytothérapie

La phytothérapie (En grec, Phytos : végétal et Therapein : soigner) est l'art de soigner par les plantes (Morel, 2008).Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles. 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 Zaid, 2004).

Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme (Iserin, 2001). L'exploitation des ressources naturelles, et notamment du monde végétal, est encore capitale à l'heure actuelle.

Elle est réalisée par :

- Etude chimio taxonomique : qui consiste à rechercher des catégories de molécules dans les plantes en fonction de leur appartenance botanique. Ainsi les Apocynacées, les Rutacées, les Rubiacées renferment souvent des alcaloïdes et c'est parmi ces familles que l'on recherche d'abord les alcaloïdes.
- Etude ethno pharmacologique : qui consiste à recueillir des renseignements sur l'utilisation des plantes auprès des populations vivant encore près de la nature.
- Etude pharmacologique : qui est caractérisée par l'observation du comportement des plantes dans leur environnement naturel. Les interactions plantes-plantes (allélopathie), plantes-

microorganismes, plantes-insectes, plantes-animaux sont associées à des signaux chimiques (Barnes et al., 2007).

### III. Monographie de la plante médicinale étudiée

#### Systematique de « *Sonchus oleraceus L* » (1)

- Nom Scientifique : *Sonchus oleraceus L.*
- Famille : *Asteraceae.*
- Nom en anglais : *annual sowthistle .*
- Nom en arabe : *Tifaf, Tilfaf, تَفَاف, تَفَاف* (el hindibaa el berry).



Figure 1 : La plante *sonchus oleraceus L*(2)

**Tableau 1 : la classification de la plante étudiée (3)**

Rang	Nom scientifique et nom commun
Royaume	<i>Plantae – Plantes.</i>
Sous-royaume	<i>Tracheobionta.</i>
Super division	<i>Spermatophyta.</i>
Division	<i>Magnoliophyta.</i>
Classe	<i>Magnoliopsida.</i>
Sous-classe	<i>Asteridae.</i>
Commande	<i>Asterales.</i>
Famille	<i>Asteraceae / Compositae - Famille Aster.</i>
Genre	<i>Sonchus L.</i>
Espèce	<i>Sonchus oleraceus L.</i>

### 1. Les principales Espèces du genre *Sonchus*

Le nom *Sonchus* désignait déjà la même plante en grec et en latin (sonchos) et les espèces du genre *Sonchus* en France (4) :

- *Sonchus aquatilis Pourr.*
- *Sonchus arvensis L.*
- *Sonchus asper L.*
- *Sonchus maritimus L.*
- *Sonchus oleraceus L.*
- *Sonchus palustris L.*
- *Sonchus tenerrimus L.*

### 2. Propriétés et usages

#### Usages culinaires :

Les jeunes feuilles, crues ou cuites, sont consommables avec un goût légèrement amer, elles peuvent être ajoutées aux salades, ou cuites (pour leur faire perdre leur amertume) comme les épinards. Les feuilles sont riches en sels minéraux et en vitamine C (5).

#### Propriétés médicinales

- Les feuilles sont utilisées comme un cataplasme avec une activité anti-inflammatoire.
- Une infusion de feuilles et de racines est fébrifuge et tonique.

- Le latex dans la sève est utilisé dans le traitement des verrues (5).
- Dans toute l’Afrique, on utilise *Sonchus oleraceus* principalement comme légume-feuilles cuit, mais il est également consommé cru.
- Les racines sont utilisées comme purgatif, abortif et vermifuge.
- L’utilisation du jus de feuilles pour traiter le mal d’oreille
- Les feuilles supprimeraient les infections, et sont utilisées comme sédatif, stomachique, diurétique et pour traiter les maladies du foie, dont l’hépatite.
- Traitement des problèmes oculaires, la gastrite, les salmonelloses et l’anémie.
- utilise le latex pour soigner la dépendance à l’opium et le cancer.
- Son plusieurs applications vétérinaires sont répertoriées (par ex. pour traiter la diarrhée, l’hématurie, et le prolapsus du vagin).
- Un aliment favori des lapins et des volailles et il est également utilisé comme fourrage pour le bétail (6).

### 3. Compositions chimiques

**Tableau 2: Composition chimique de *Sonchus oleraceus* L (7).**

Plante utilisée comme Fourrage (%)	Matière Sèche (frais)	Protéines brutes	Cellulose brute	Cendres	Lipides
<i>Sonchus oleraceus</i> :	8-13	18-27	6-10	14-23	5-6
Laiteron commun, laitue de lièvre			25 NDF		



Figure 2 : Les différentes parties de *Sonchus oleraceus* L(8)

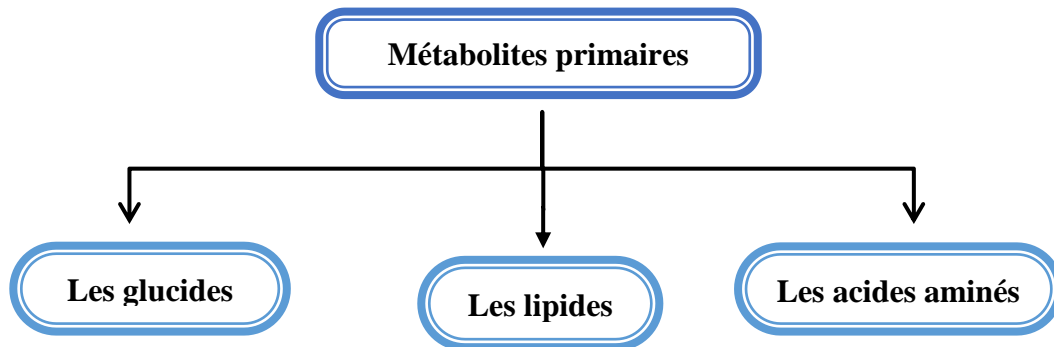
#### IV. Métabolites des plantes médicinales

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles 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).

##### 1. Les métabolites primaires

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme.

- 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.
- Les amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines (**Diallo, 2000**).



## 2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées) et sont classés selon leur appartenance chimique (**Judd et al., 2002**).

Donc les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt intervenaient dans des relations avec les stress biotique et abiotique ou améliorent l'efficacité de la reproduction (**Leurent, 2012**).

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue : (**Bruneton, 1999 ., Zenk et Juenger, 2007**)

- Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on citera les polyphénols, les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les phényl propanoïdes, les anthocyanes et les tannins.
- Les alcaloïdes, renferme un atome d'azote dans la structure. Parmi ces derniers, certains relèguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine.

- Les mucilages : Ce sont des polymères complexes de fructose, d'acide glucorinique et d'acide manuronique. Les mucilages sont des mélanges colloïdaux qui gonflent avec l'eau (agar agar).

Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Abderrazak et Joël , 2007**).

### 1. Composés phénoliques

Le terme « *polyphénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux.

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions (alcoolique (OH), carboxylique (COOH)). Ils sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant partie de l'alimentation animale. Ces composés présentent une grande diversité de structures, divisées en non flavonoïdes et flavonoïdes. La première est représentée par les acides phénoliques, qui comprennent les acides benzoïques. La seconde classe est constituée d'un noyau phénolique porteur d'une chaîne latérale insaturée en C3.

La dernière classe est basée sur un squelette en C6-C3-C6, elle comprend plusieurs groupes qui se distinguent par le degré d'oxydation de l'hétérocycle central en C3.

Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base. Ces structures peuvent également être diversement substituées (glycosylées, estérifiées, acylée) (**Robbers et al ., 1996**).

#### • Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al ., 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. A l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Ghestern et al ., 2001 ., Bruneton , 1999**). Du point de vue structurale (figure 3), les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (**Harborne et Wiliams, 2000**).

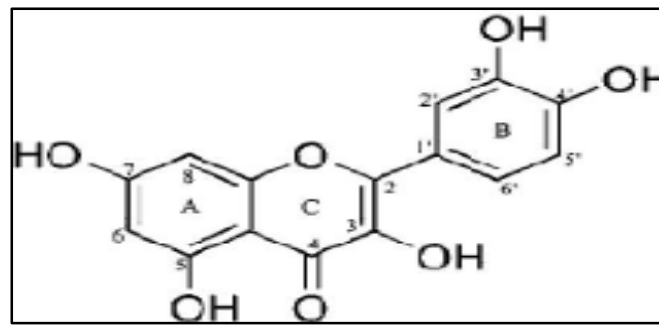


Figure 3 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

### • Tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée (figure 4), de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (Paris et Hurabielle, 1981).

présentent plusieurs activités biologiques : activités antibactériennes, antifongiques et antivirales assez spectaculaires (Chung *et al.*, 2010).

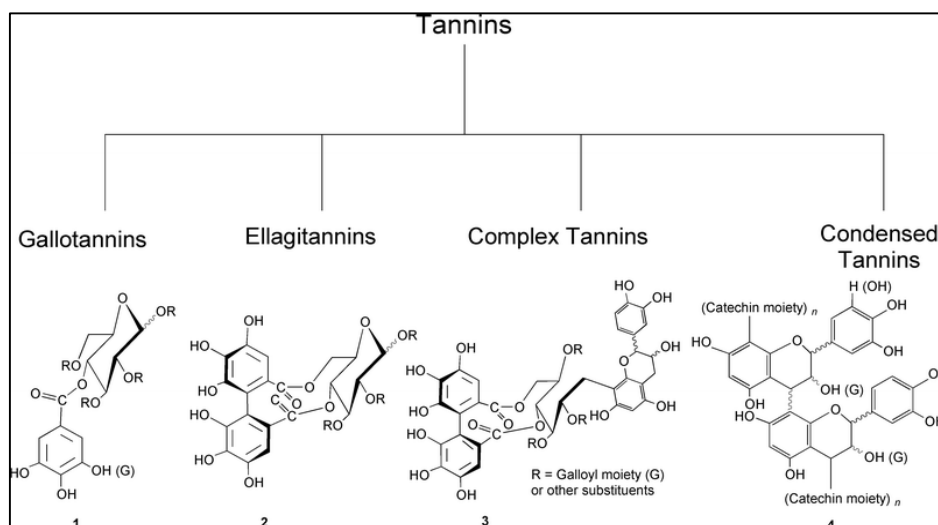


Figure 4: Différentes structures des tanins (Karamali et Teunis, 2001)

Ils sont divisés en deux groupes :

#### - Les tanins hydrolysables :

Ces tanins sont des diamètres d'acides galliques condensés sur des dérivés glycolyses. Ces composés donnent après hydrolyse à chaud à l'aide de solutions acides étendues une fraction glucidique (glucose) et une fraction polyphénolique (Doat, 1978).



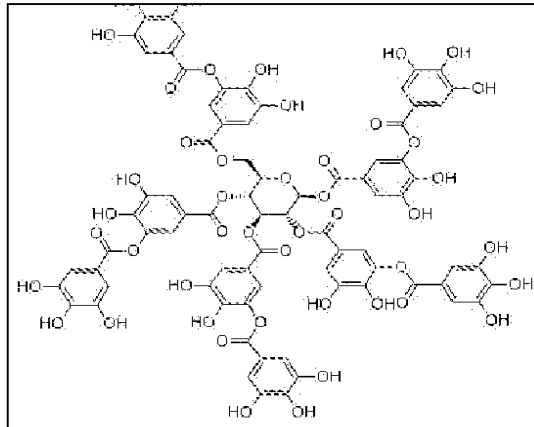


Figure 5: Structure des tannins hydrolysables (Bruneton, 1999)

- Les tanins condensés :

Ces tanins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils ne sont pas hydrolysés par les acides comme c'est le cas des tanins hydrolysables. Ils se transforment en présence d'acide fort ou d'agents d'oxydation en substances rouges qui sont les phlobaphènes (Ngom, 2000). Les tanins condensés donnent une structure hérissée du groupement hydroxyle OH du composé phénolique pour former des liaisons avec les protéines (Sarni et Cheynier, 2006).

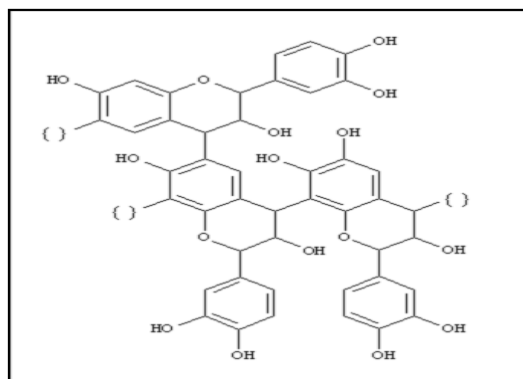


Figure 6: Structure des tanins condensés (Li, 2007)

• Coumarines

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).

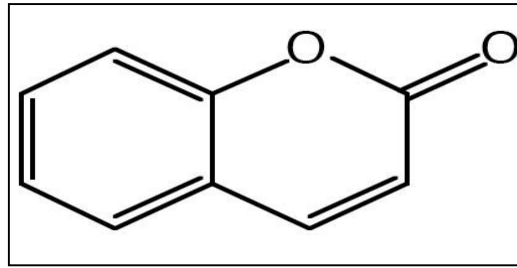


Figure 7: Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999)

### •Lignine

Ce sont des dimères des unités de phénylpropane (C6-C4) (Benarous, 2009). Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. La distribution botanique est large : plusieurs centaines des composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles, Ils ont été découvert dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruits et les graines (Midoun., 2011).

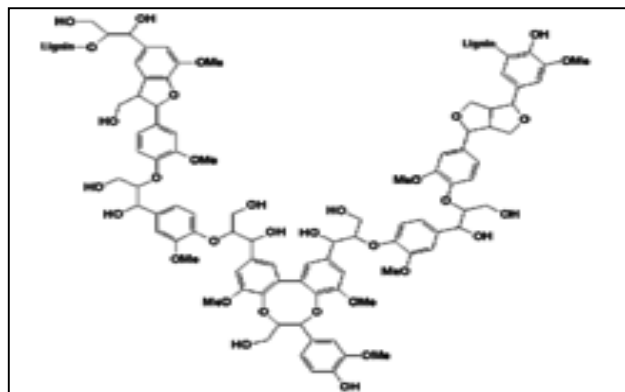


Figure 8 : Structures chimiques de lignine (Scalbert et Williamson, 2000).

### 2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (Guignard, 2000). Ce sont des substances organiques d'origine végétale, azoté et à caractère alcalin, de faibles poids moléculaires. Ils possèdent des structures hétérocycliques et se retrouvent dans environ 20% de toutes les espèces de plantes (Zhang et Björn, 2009). Les alcaloïdes sont connus comme doués de propriétés antimicrobiennes. Le mécanisme d'action des alcaloïdes est attribué à leur capacité à s'insérer avec l'ADN (Faizi et al., 2003).

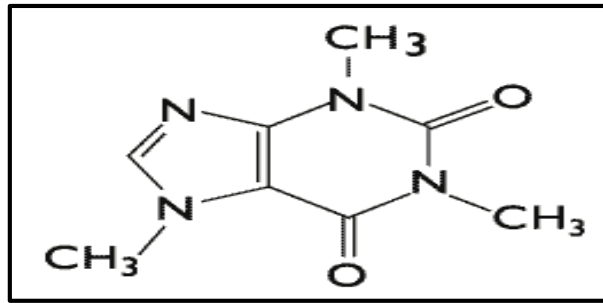


Figure 9 : La formule des alcaloïdes (Wilhelm, 1998)

### 3. Mucilages :

Sont des produits de la polymérisation de nombreux sucres dont certains peuvent être modifiés (exemple l'acide uronique qui est un polysaccharide hétérogène). Les mucilages ont la propriété de gonfler dans l'eau. On les utilise comme : laxatifs mécaniques et aussi adoucissants de la gorge (Ledard et Guinaudeau, 1997).

### 4. Stérols

Ce sont des dérivés des phytostérols. Ces composés sont naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes. Ils ne sont pas synthétisés par l'homme et l'animal, ils ne peuvent être apportés que par l'alimentation. Ils réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle. Les différents types de stérols, appelés phytostérols, sont des constituants de membranes cellulaires qui jouent un rôle très important dans la perméabilité de celles-ci et aussi dans la prolifération cellulaire (Bruneton, 1993 ., Rahal, 2004 ., Kartal, 2005).

### 5. Saponines

Le mot saponine est dérivé du mot latin « *sapo* ». Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon (Hart et al ., 2008), Ils sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou Polysaccharidique hydrophile (Wallace, 2004).

#### IV.2.6. Terpénoïdes

Appelés aussi terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène  $C_5H_8$  et ont pour formule de base des multiples de celle-ci ( $C_5H_8$ ). On peut considérer l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature. Leur

squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre eux. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles (Soldermann, 2002).

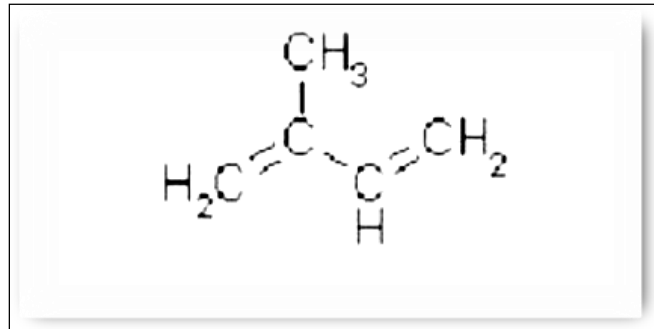


Figure 10 : Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia et al., 2007)

#### IV.3. Rôle biologique des métabolites secondaires (Wink, 2010)

- Défense contre les herbivores (insectes, vertébrés).
- Défense contre les moisissures et les bactéries.
- Défense contre les virus.
- Défense contre les autres plantes qui rivalisent pour lumière, eau et éléments nutritifs.
- La protection contre les rayons UV ou autre stress physique.
- A sélectionné des fonctions physiologiques.

#### V. Les plantes médicinales comme source antibactérien

Les recherches actuelles sur les molécules antimicrobiennes d'origine naturelle se concentrent principalement sur les plantes, car ils peuvent être achetés plus facilement et seront sélectionnés sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle (Yano et al., 2006). Le mécanisme d'action de ces composés passe par la désorganisation de la membrane plasmique, la formation des complexes avec la paroi, l'inhibition des enzymes, l'interaction avec l'ADN (Tableau 3).

**Tableau 3: Classe majeure de composés antimicrobiens des plantes et mécanisme d'action (Cowan, 1999)**

Classes	Sous classe	Exemples	Mécanisme d'action
<b>Phénols</b>	<b>Phénols simples.</b>	<b>Catéchol.</b>	<b>Privation en substrat.</b>
	<b>Acides phénoliques.</b>	<b>Acide cinnamique.</b>	<b>Perturbation de la membrane.</b>
	<b>Quinones.</b>	<b>Hypéricine</b>	<b>Liaison aux adhésines, complexe avec la paroi cellulaire.</b>
	<b>Flavonoïdes.</b>	<b>Chrysine.</b>	<b>Liaison aux adhésines, Complexe avec la paroi cellulaire.</b>
	<b>Flavones.</b>	<b>Abyssinone.</b>	<b>Inactive les enzymes.</b>
	<b>Flavonols Tannins.</b>	<b>Totarol Ellagitanine.</b>	<b>Liaison aux protéines Liaison aux adhésines Inhibition des enzymes Privation en substrat Complexe avec la paroi cellulaire Perturbation de la membrane Complexe aux ions de métaux.</b>
	<b>Coumarines.</b>	<b>Warfarine.</b>	<b>Interaction avec l'ADN eucaryote (activité antivirale).</b>

<b>Terpenoïdes, huiles essentiels.</b>		<b>Capsaïcine.</b>	<b>Perturbation de la membrane.</b>
<b>Alcaloïdes.</b>		<b>Berbérine Pipérine.</b>	<b>Intercalle avec la paroi et/ou l'ADN.</b>
<b>Lectines et polypeptides.</b>		<b>Agglutinine spécifique.</b>	<b>Bloque la fusion ou l'adsorption virale.  Forme des ponts disulfures.</b>



Etude pratique

## I. Matériel et Méthodes

Notre travail a été effectué au niveau du laboratoire de biochimie de l'université 8 mai 1945 Guelma.

### 1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce végétale appartenant à la famille Astéraceae / Compositae. Les organes végétaux choisis pour la réalisation des expérimentations de cette étude sont la partie aérienne puisque c'est à son niveau que se trouve la majorité des principales substances actives, en d'autre terme, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaire et secondaire.



Figure11 : La plante *Sonchus Oleraceus L* (6)

### 2. La récolte de la plante

Le matériel végétal de *Sonchus oleraceus L* a été récolté au moins du février 2018 au niveau d'une région (**beni mezline**) wilaya de Guelma.





**Figure12 : Carte géographique illustrant la région de récolte de la plante (Google Map-Guelma, 2018)**

### 3. Préparation des extraits

Après la récolte de matériel végétal, nous avons procédé au séchage à l'abri de la lumière, cette méthode est plus simple et économique, utilisé surtout pour les racines, tiges, graines et fruits. Le séchage à l'ombre est indiqué pour les feuilles et fleurs, car les feuilles vertes séchées au soleil jaunissent. Les pétales de fleurs perdent leurs couleurs vives, ce qui peut altérer les propriétés médicinales de ces métabolites. Les plantes aromatiques ne doivent pas rester trop longtemps au soleil pour ne pas perdre leur parfum (**Djeddis, 2012**). Le maximum admis de température pour une bonne dessiccation des plantes aromatiques ou des plantes contenant des huiles essentielles est de 30°C. pour les autres cas, la température de dessiccation peut varier de 15 à 70°C (**Delille, 2007**).

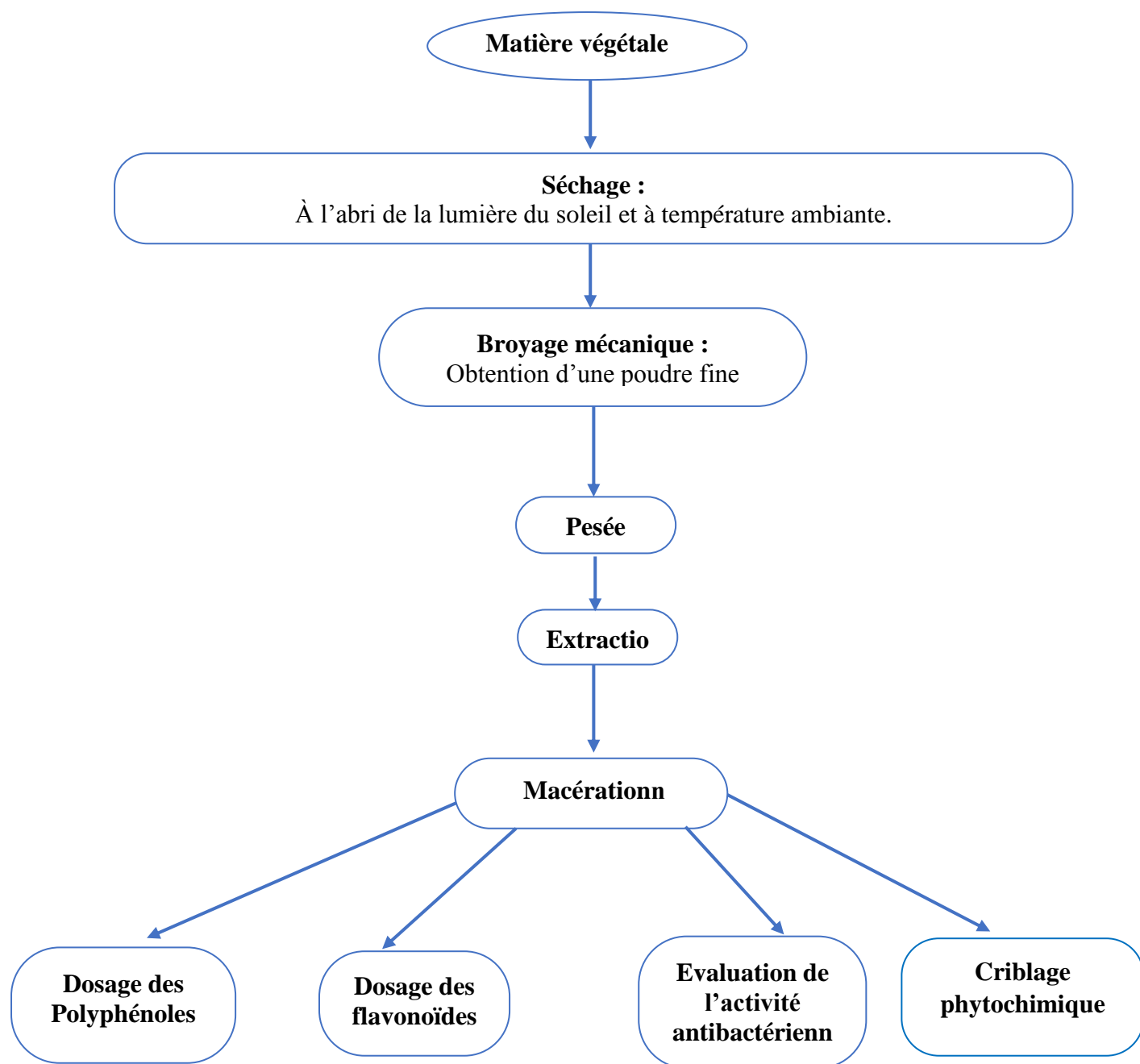


Figure 13 : Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude

#### 4. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe des principes actifs. En effet, la première étape était la recherche des grandes classes de composés chimiques appartenant aux métabolismes secondaires de la plante étudiée (**Trease et Evans, 1987**).

Deux solvants de polarités différentes ont été utilisés l'eau (H<sub>2</sub>O), éthanol (EtOH).

##### 4.1. L'épuisement du matériel végétal avec H<sub>2</sub>O

Une quantité de 10 g du matériel végétal est mise en contact avec 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer, l'ensemble est agité pendant une heure à l'air ambiant, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux différents tests phytochimiques (**Trease et Evan, 1987**).

##### 4.2. L'épuisement du matériel végétal avec l'EtOH

Une quantité de 5g du matériel végétal est mise en contact avec 50 ml d'EtOH à 95° dans un bécher, l'ensemble est agité pendant une heure à l'air ambiant, le mélange est filtré, et l'extrait éthanolique est soumis aux différents tests (**Trease et Evan, 1987**).

##### ➤ Préparation des extraits bruts par macération

Dans cette partie, nous avons tenté d'extraire les composés polaires de la plante. Les solvants utilisés sont l'EtOH (95°) et l'eau distillée, qui ont été choisis de manière à solubiliser le maximum de composés. Le ratio solide : liquide est 1/10 (mg/ml) (**Michel, 2011**).

Une quantité de 50g de la poudre végétale a été mélangée avec 500 ml d'EtOH dans un erlenmeyer, et 10g de la poudre a été mélangée avec 100 ml d'eau distillée.

Le mélange est maintenu sous une agitation magnétique pendant 24 h à température ambiante. La solution obtenue est ensuite filtrée sur papier filtre (Wattman N° 1 de diamètre 0.2 µm).

<sup>2</sup>Le filtrat a été ensuite récupéré, l'EtOH et l'eau sont concentrés sous vide à 35°C à l'aide d'un rota vapeur, l'eau éliminé par l'lyophilisation, l'extrait sec a été ensuite récupéré, pesé, étiqueté et conservé à +4°C jusqu'à l'utilisation.

L'extrait éthanolique concentré se présentait sous forme de pâte et la couleur verte alors que l'extrait aqueux présentait sous forme de pâte et la couleur marron, pour les différentes expérimentations, les pâtes étaient reprises dans le solvant approprié [eau, Diméthylsulfoxyde (DMSO) ou éthanol] aux concentrations souhaitées. (**Clevenge, 1928**).

➤ **Calcul de rendement**

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = 100 m/m_0$$

R : Rendement en pourcentage (%)

m: Masse d'extrait brut.

m<sub>0</sub>: Masse de la plante sèche en poudre

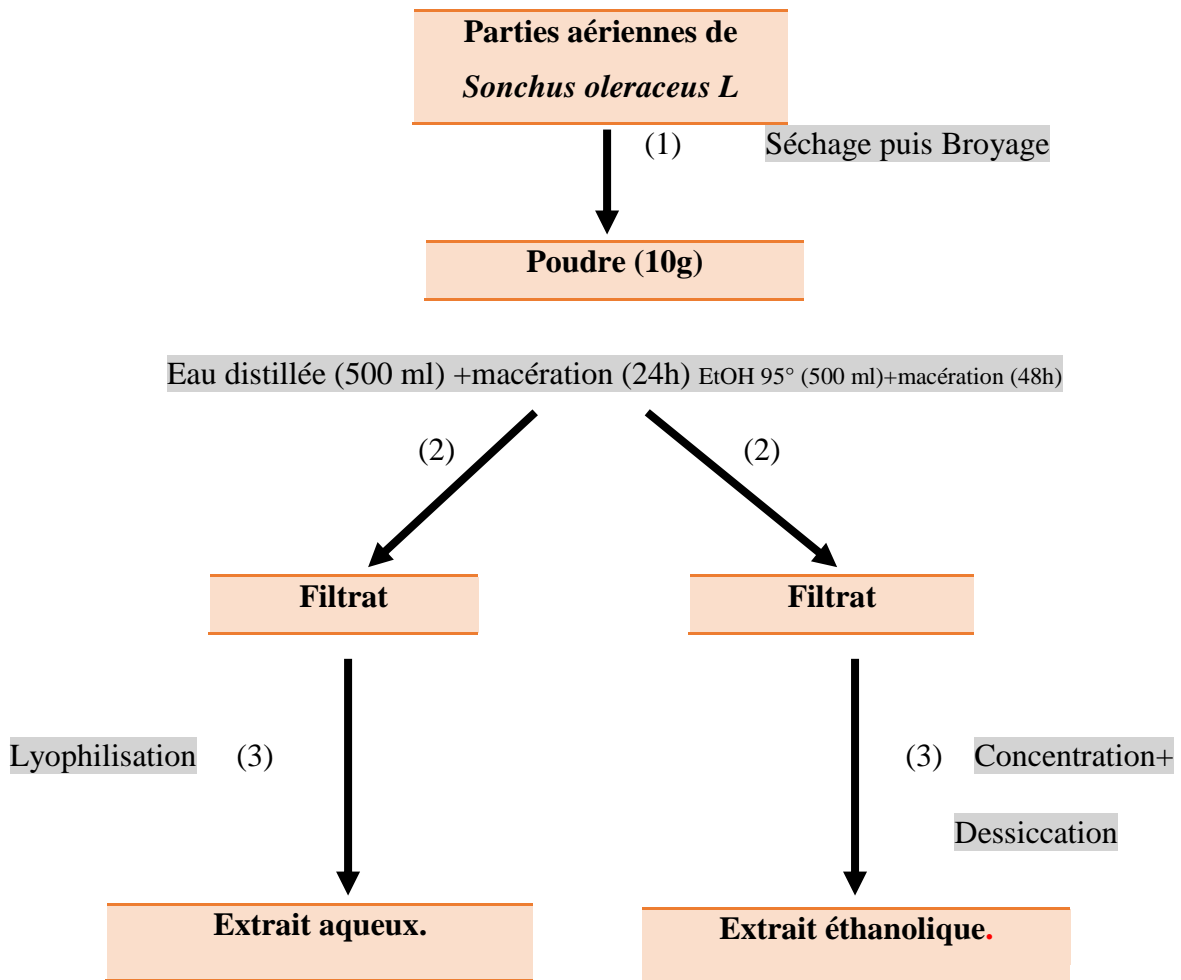


Figure 14 : Protocol expérimental pour la Préparation des extraits bruts par macération

## 5. Analyse phytochimique des extraits de *S. oleraceus* L:

### 5.1 Analyses qualitatives

Dans le but de mettre en évidence les composés supposés bioactifs dans les extraits de *S. oleraceus*, des tests phytochimiques analytiques ont été réalisés.

#### ➤ Tanins

Préparer l'infusion de la plante en poudre à 10% (2g de la poudre sèche sont recouvertes de 20 ml d'eau très chaude ou bouillante), après 5 à 6 minutes, on agite légèrement et on filtre. une portion de filtrat est diluée avec de l'eau distillée dans un rapport de 1 :4, puis on ajoute trois gouttes de Chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) à 10%. Une couleur bleu ou vert indique la présence de tanins (**Bouchouka, 2016**)

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (Tanins galliques), vert ou bleus-vert (Tanins catéchiques) (**Tresse et Evans, 1987**).

#### ➤ Test de détection des Saponosides :

La détection des saponosides a été réalisée en ajoutant 10 ml ou quelque goutte d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux et éthanolique, après l'agitation dans un tube à essai, Le tube à essai est secoué vigoureusement pendant environ 30 secondes, puis on laisse reposer une demi-heure.

La teneur en saponosides est évaluée selon les critères suivants (**Tresse et Evans, 1987**).

- Pas de mousse : test négatif
- Mousse moins de 1 cm : test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm : test positif
- Mousse plus de 2 cm : test très positif.

#### ➤ Test des alcaloïdes :

#### Macération en milieu alcalin :

Une quantité de 2 mg de matériel végétal est mise dans un bécher de 50 ml avec 10 ml d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) à 10%, l'ensemble est porté sur un agitateur pendant 3h.

Ensuite, le mélange est filtré et réparti dans trois tubes, on ajoute :

- Dans le premier tube, 1ml de filtrat plus 5 gouttes du réactif de Mayer (solution de tétra-iodomercure de potassium : 5g d'iodure de potassium et 1,36g de chlorure de mercure et 100 ml de l'eau distillée). Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité blanc ou blanc-jaunâtre.

- Dans le deuxième tube, 1ml de filtrat plus 5 gouttes du réactif de Wagner. S'il apparaît un précipité brun, donc on est en présence d'alcaloïdes (**Bruneton, 1993**).

➤ **Test des flavonoïdes :**

Dans un flacon, on met 5g de poudre avec 75ml de HCL et 10 ml d'éthanol, on laisse macérer pendant 2 jours, on filtre le mélange puis on soumet le macéra aux tests suivants :

- 1- On alcalinise 10ml de filtrat par l'ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH), l'apparition de la couleur jaune claire indique la présence des flavonoïdes.
- 2- On ajoute 2,5ml d'alcool iso amylique avec 5ml de filtrat, la phase alcoolique se colore en jaune indique la présence des flavonoïdes libres.
- 3- Après évaporation sous vide de la phase aqueuse du premier test, on dissout le résidu avec 5ml de HCl dilué et on chauffe légèrement, puis on le refroidit pour réaliser les tests suivants :
  - On ajoute 2,5ml d'alcool iso amylique, l'apparition de la couleur jaune indique la présence des flavonoïdes hétérosidiques.
  - On ajoute une petite quantité de Magnésium (Mg: 50mg) à l'extrait de HCl (3ml), la couleur rouge indique la présence des flavonoïdes ; rouge violacé : les flavonones ; et la couleur rouge cerise : les flavonoïdes (**Bruneton, 1993**).

➤ **Tests des polyphénols :**

**Test au chlorure ferrique**

A 2 ml d'une solution d'extrait (50mg/ml), il a été ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%.une coloration bleu-noirâtre ou vert plus ou moins foncé témoignait de la présence des polyphénols (**Khelifi, 2011**).

**Composé phénolique :**

Un volume de 10ml de chlorure d'hydrogène (HCl) est ajouté à 10ml d'infusé éthanolique .un test positif est révélé par la coloration rouge en présence des polyphénols.

➤ **Test s des terpénoïdes (test de Laskowski) :**

A 1ml de l'extrait éthanoïque et aqueux, on ajoute 0,4ml de chloroforme (CHCl<sub>3</sub>) et 0,6ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré.la présence des terpénoïdes est mis en l'interphase (**Khan et al ., 2010**). Th

➤ **Test des stérols et polyterpènes :**

La mise en évidence des stérols et polyterpènes a été faite à partir de la réaction de Lieberman-Buchard. 1g d'extrait a été dissout à chaud dans 1ml d'anhydride acétique puis, 0,5ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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, 2011**).

➤ **Tests des composés réducteurs :**

La réduction des composés réducteurs consiste à traité 1ml de l'extrait éthanolique (EE) et aqueux (EA) avec 2ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffé. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

➤ **Test des lipides :**

Sur du papier filtre, ont été déposé quelque gouttes de la solution d'extrait (A et E) Le papier était ensuite séché à température ambiante. La présence de taches translucides aux sites de dépôt des gouttes était révélatrice de la présence des lipides (**Khelifi, 2011**).

➤ **Tests des anthraquinones libres (réaction de Borntrager) :**

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

➤ **Tests des coumarines :**

Leur détection consiste à :

Evaporer à sec 5ml d'eau chaude, puis diviser le volume en deux parties :

Prendre le demi-volume comme témoin et ajouter à l'autre volume en 0,5ml de NH<sub>4</sub>OH(10)%

Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière UV (**Bruneton, 1999**).

➤ **Détection des Gommés et Mucilages:**

Dissoudre 100 mg d'extrait dans 10 ml d'eau distillée et y ajouter 25 ml d'alcool absolu sous agitation constante.

Un précipité blanc ou nuageux indique la présence de gommés et de mucilages (**Whistler et Bemiller, 1993**).

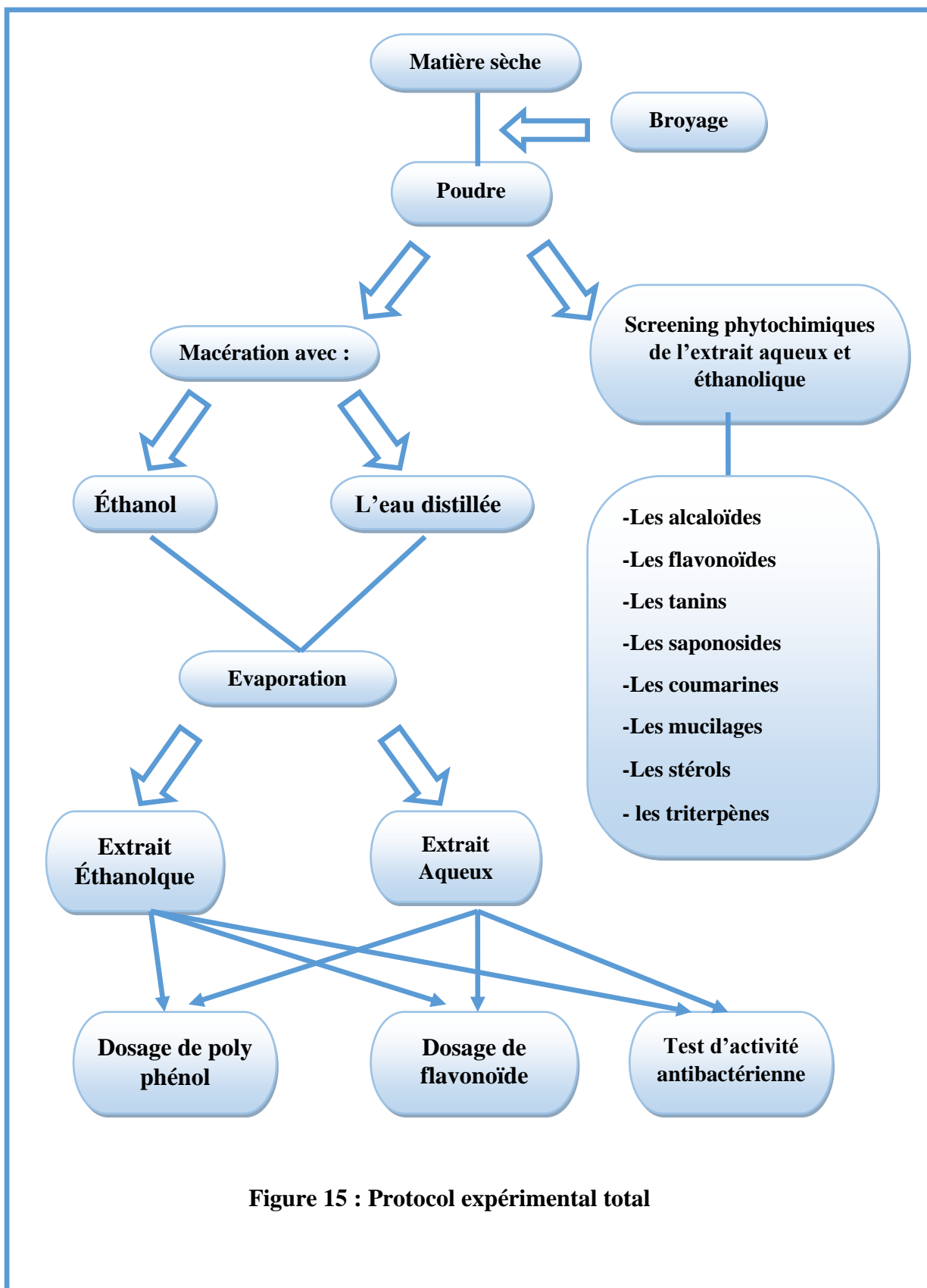


Figure 15 : Protocol expérimental total



## 5.2. L'analyse quantitatives

### 1. Dosage des polyphénols totaux

Les composés polyphénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir aisément. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié au moins un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside ...).

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode adaptée par Singleton et Ross (en 1965) avec le réactif de Folin-Ciocalteu. La réduction du Folin entraîne une diminution de ses propriétés colorimétriques, sa couleur initialement jaune vire au bleu en solution après la réaction avec les composés phénoliques, ce qui permet le dosage des phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 765 nm. (Nacoulma , 1996).

#### Procédure expérimentale :

- Une solution mère d'acide gallique a été préparée avec une concentration de 5mg/ml à partir de laquelle on a préparé une série de solutions filles de 10 de concentrations (0.25 ; 0.50 ; 0.75 ; 1.0 ; 1.25 ; 1.50 ; 1.7 ; 2.0 en µg/ml). Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir de ces solutions filles d'acide gallique.
- 100µl de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à moitié.

Après agitation puis repos pendant 2 minutes, 2,5 ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 20% été ajoutés gamme. On ajoute ensuite 400 µL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75g.L-1).

- les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm sur un spectrophotomètre Thermo électron corporation.

Les extraits à doser ont été préparé de la même manière que la courbe d'étalonnage et dans les même conditions, chaque concentration est répétée trois fois et l'absorbance est lue à 765nm (Marian et Fereidoon, 2004)

Cette procédure est résumée dans le schéma ci-dessous :

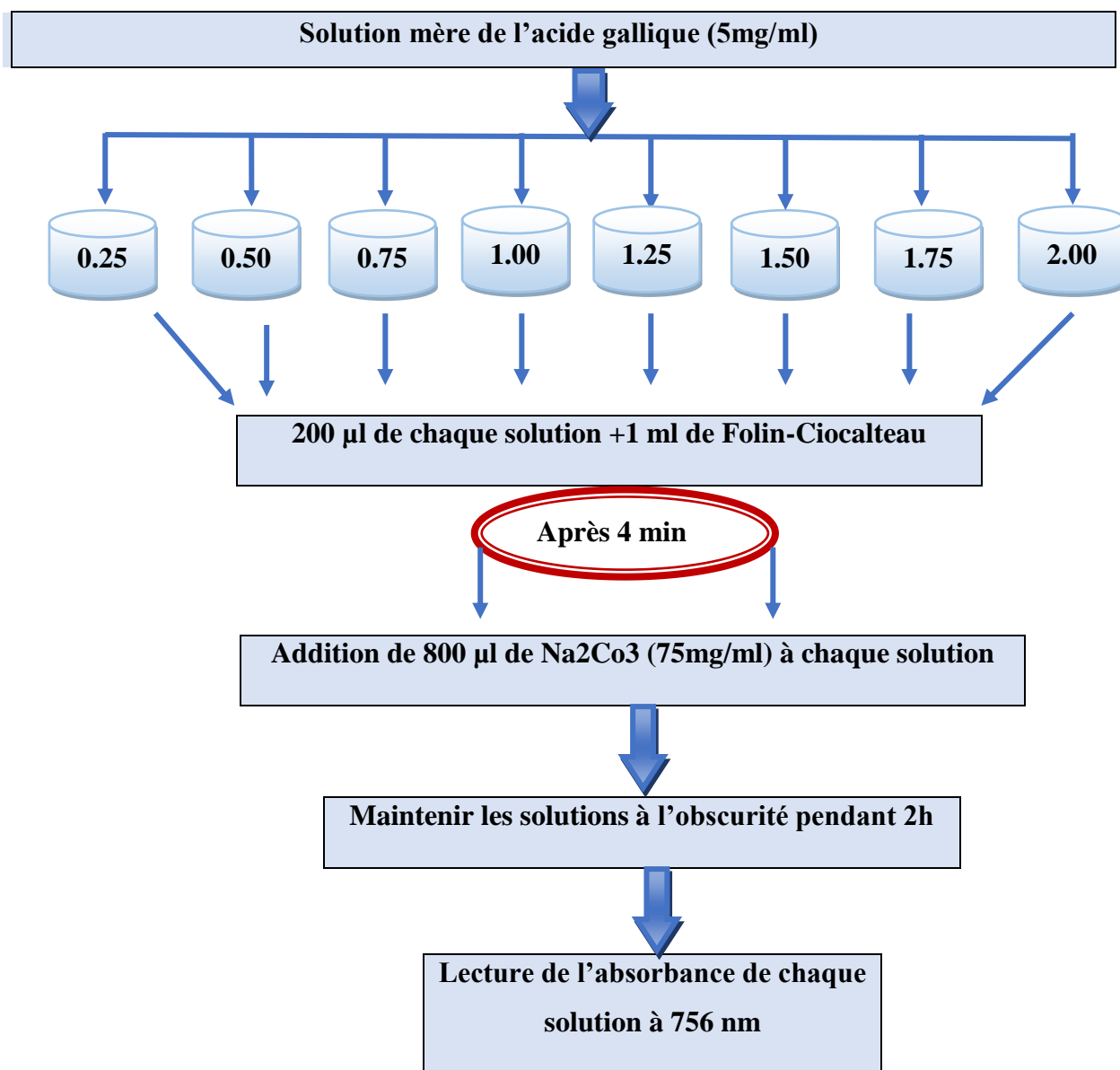


Figure 16 : schéma de la méthode de dosage des polyphénols

### Courbe d'étalonnage

A partir d'une solution mère de l'acide gallique de 5 mg/ml, une série de solutions filles est ainsi préparée. Ensuite, nous avons suivi le même protocole entrepris pour doser les échantillons.

La courbe d'étalonnage d'acide gallique est représentée dans la figure ci-dessous :

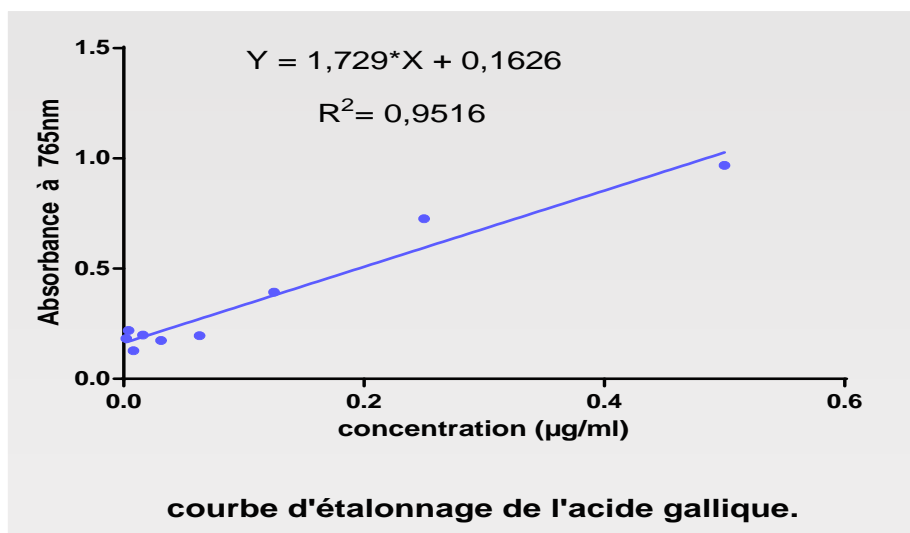


Figure 17: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

### 2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes comme l'un des groupes les plus diverse et répandue des composés naturels, se sont probablement les composés phénoliques naturels les plus importants. Ces composés possèdent un large spectre d'activités chimiques et biologiques, y compris les propriétés anti-radicalaires (Djeridane *et al.*, 2010).

La méthode trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) est simple, peu coûteuse et offre une bonne sensibilité. Cette méthode permet de déterminer la teneur en flavonoïdes totale, qui forment un complexe avec AlCl<sub>3</sub> en présence d'autres composés polyphénoliques, qui ne peut pas former un complexe avec AlCl<sub>3</sub> même (Matyushchenko et Stepanova, 2003).

La teneur en flavonoïdes a été estimée en utilisant la méthode, et a été calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercitrine et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (Ayoola *et al.*, 2008).

**Procédure expérimentale :**

Les flavonoïdes constituent la classe la plus importante des polyphénols. Pour les quantifier deux extraits éthanolique et l'extrait aqueux, nous avons adopté la méthode au trichlorure d'aluminium.

Les étapes à suivre sont :

- ✓ La teneur en flavonoïdes est déduite à partir d'une micro gamme d'étalonnage établie avec la quercitrine de différentes concentrations et est exprimée en milligramme d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ )
- ✓ 1ml d'échantillon ou le standard (préparé dans l'éthanol) est ajouté à 1ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans l'éthanol).
- ✓ Après 30 minutes de réaction,
- ✓ la lecture a été faite au moyen du spectrophotomètre à 430 nm. Chaque valeur est la moyenne de trois lectures (Ayoola *et al.* , 2008).

Cette procédure est résumée dans le schéma ci-dessous :

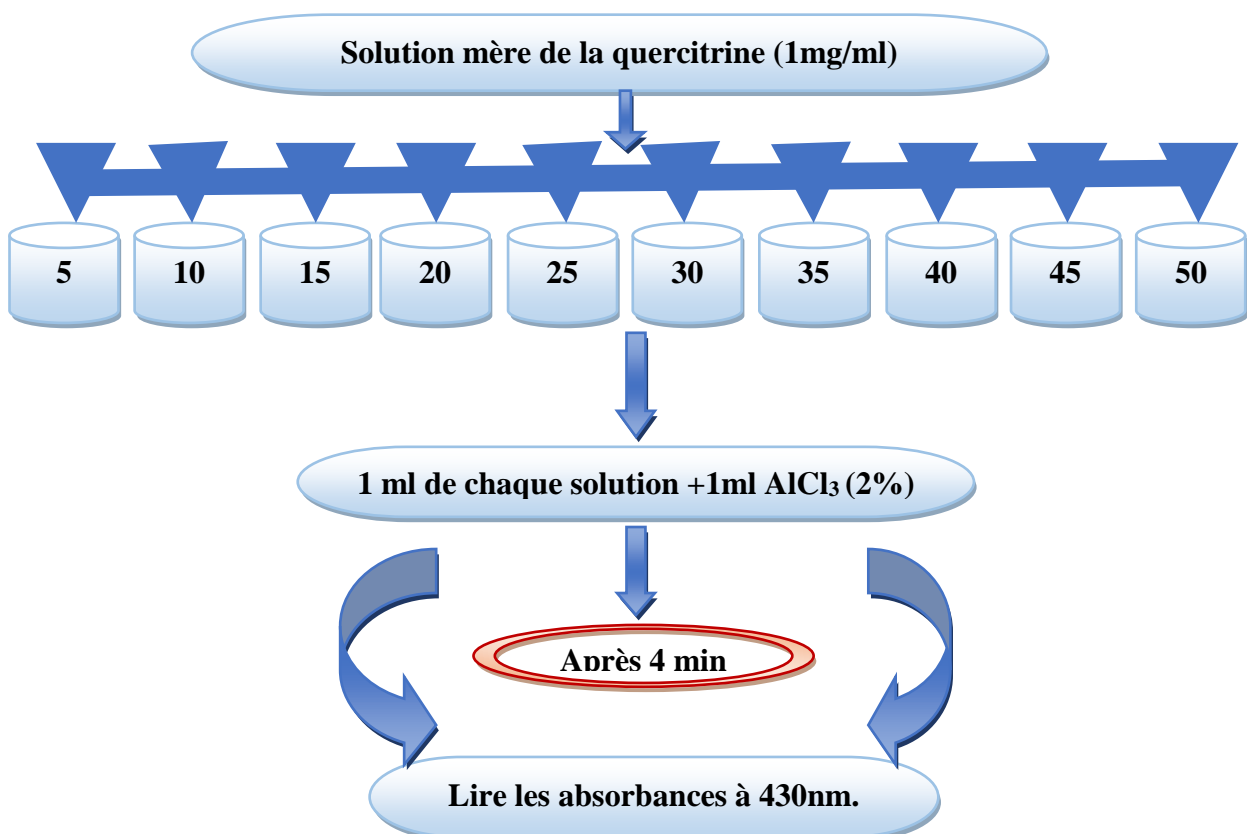


Figure 18 : Schéma de la méthode de dosage des flavonoïdes

### Courbe d'étalonnage

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique, la quercétine considérée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage, et delà le calcul de la teneur de flavonoïde dans notre extrait.

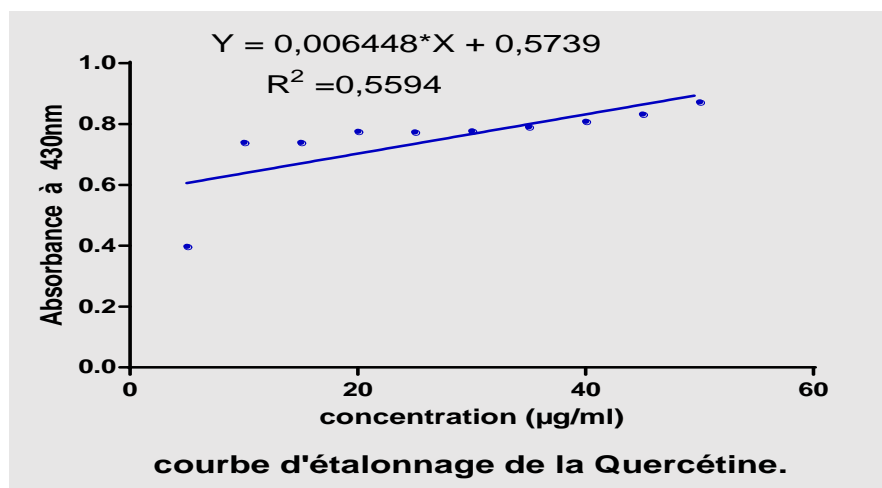


Figure 19 : Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux

## 6. Méthodes de séparation chromatographiques

### ❖ Séparation et identification par chromatographie sur couche mince (C.C.M)

La chromatographie sur couche mince est une méthode rapide de contrôle dont la phase stationnaire est constituée d'une couche mince et uniforme, de 0,25cm d'épaisseur, de silice séchée, finement pulvérisée et appliquée sur un support approprié (feuille d'aluminium ou de verre). La phase mobile ou éluant se propage à la surface de la plaque par capillarité (Anton *et al.*, 1998).

Il s'agit d'une technique d'analyse, très utile et simple à mettre en œuvre. On l'utilise généralement pour (Zarrou, 2012) :

- connaître la composition d'un échantillon.
- connaître la composition d'une fraction séparée sur colonne.
- visualiser la pureté d'un produit.

### ❖ Préparation du solvant de migration

Les deux solvants de migration sont préparés selon les proportions suivantes (Gwenola *et al.*, 2011) :

- Butanol – Acide acétique – Eau distillé (40V : 10V : 50V).
- Chloroforme – Méthanol – Eau distillé (60V : 40V : 4V).

❖ **Dépôt des échantillons**

A 1 cm du bord de la plaque, (10x10cm) : Déposer 8µL de l'extrait sur la plaque à l'aide d'un capillaire. Les points sont disposés sur une ligne horizontale et séché immédiatement sous courant d'air chaud (Erika et al., 2008).

❖ **Migration**

La plaque ainsi préparée est introduite dans la cuve à chromatographie au fond de laquelle se trouve l'éluant approprié (Antonot et Marcha, 1998). La phase mobile parcourt alors la phase stationnaire provoquant ainsi une succession de partage des constituants entre les deux phases, ce qui permet une séparation des constituants entre les deux phases. La migration est arrêtée lorsque le front du solvant sont 10 à 15 cm. La plaque est ensuite séchée (Marouf, 2002).

❖ **Révélation**

La plaque est séchée à température ambiante, on examine les taches des constituants sous lumière UV puis on révèle la plaque par pulvérisation avec:

**1. Chlorure d'aluminium:** préparer une solution de chlorure d'aluminium à 1% dans l'éthanol. La solution est pulvérisée sur le chromatogramme puis sécher à température ambiante. Cette solution révèle les flavonoïdes, les lactones sesquiterpéniques.

**2. Vanilline sulfurique:** préparer une solution composée de 1 g de vanilline, 2 ml d'acide sulfurique et d'éthanol à 95%. Après pulvérisation, la plaque est chauffée à l'aide d'un séchoir, la révélation met en évidence des triterpènes (coloration violet, rose et orange), des stérols (coloration bleu) et des tanins (coloration rouge) (Sofowora, 1993., Harborne, 1998., Oua, 1988).

❖ **Calcule le rapporte frontale (R<sub>f</sub>)**

Pour révéler les taches sur la plaque, on pulvérise la plaque avec une solution de Ninhydrine, d'une manière homogène. Après révélation, on obtient des taches colorées (spots), caractérisés par leurs rapports frontaux (R<sub>f</sub>) (Marouf, 2002).

Le R<sub>f</sub> est donné par la formule suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par l'échantillon}}{\text{Distance parcourue par lesolvant}}$$

R<sub>f</sub> : Rapporte frontale

## 7. Tests d'activités antibactériennes :

### 7.1. Les souches testées :

Les germes testés proviennent du laboratoire de microbiologie de l'hôpital IBN ZOHR, et HAKIM OKBI, Guelma.

Les 13 souches bactériennes ont été isolées à partir de prélèvement des malades ayant des infections. les bactéries ont été testés pour déceler l'activité antibactérienne des deux extraits aqueux et éthanolique de la plante sont citées dans le tableau suivants :

**Tableau 4 : Source de prélèvement des souches testées**

Souche	Source de prélèvement	Catégorisation
<i>Acinetobacter baumannii</i> 312. ECBU.BMR	Sexe : Homme Prélèvement : Infection urinaire	Gram (-)
<i>Acinetobacter baumannii</i> lit 07.	Sexe : Homme Prélèvement : Pus	
<i>E. coli</i> 379 BLSE	Prélèvement : Infection urinaire	Gram (-)
<i>E. coli</i> 2592		
<i>E. coli</i> 2322.BLSE/ECBU ®		
<i>E. coli</i> 2592 ®		
<i>E. coli</i> 376.ECBU /BLSE		
<i>K.pneumoniae</i> 380	Prélèvement : Infection urinaire	Gram (-)
<i>Enterobacter</i> T3/lac+ .BLSE	Sexe : femme Prélèvement : Pus	Gram (-)
<i>P.aeruginosa</i> 328/ECBU. <i>Sensible</i>	Prélèvement : Infection urinaire	Gram (+)
<i>S. aureus</i> 358 /MRSA	Sexe : Homme prélèvement : Pus	Gram (+)
<i>S. aureus</i> M.R		
<i>S. aureus</i> PT3		

**ATCC**: American Type Culture Collection ; **M.R** : Résistant à la Méthicilline (multi résistante) ; **MRSA** : *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méthicilline ; **ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines ; **BLSE** : Beta Lactames à Spectre Elargi. ; **MBR** : Bactérie multi résistante ; **PT3** : référence de la souche en l'hôpital. ; **T3** : référence de la souche en l'hôpital ; **®** : Référence.

Ces souche sont conservées et maintenues par des repiquages continus, sur gélose nutritive en boites après ensemencement, incubation puis conservation au réfrigérateur à 4°C.

## 7.2. L'antibiogramme :

### ➤ Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes à tester ont été repiquées par la méthode des stries dans des boites de pétri contenant de la gélose nutritive, puis incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir des colonies isolées (**CA-SFM, 2013**).

### ➤ Préparation de l'inoculum

Les colonies bien isolées furent prélevées et émulsionnées dans une solution saline (5ml d'eaux physiologique) dans un tube à essai, ensuite des dilutions ont été faites afin de standardiser la suspension bactérienne. Les concentrations bactériennes des inocula sont évaluées par turbidité, et sont exprimées par la mesure 0,08 à 0,1nm de la densité optique (DO à 625 nm) par un spectrophotomètre (**CA-SFM, 2013**).

### ➤ Préparation des milieux de culture

La gélose de Muller Hinton (MH) est coulée et répartie dans des boites de pétri stériles. Ces dernières sont séchées pendant 30 min à une température ambiante avant leur emploi (**CA-SFM, 2013**).

### ➤ Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries serrées. En tournant la boite d'environ 60 C°, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les boites (**Adouane, 2016**).

Les antibiotiques utilisés sont : Ampicilline (AMP), Gentamicine (CN), Pénicilline .G (P), Vancomycine (VA).

À la surface des boites de pétris ensemencé (étalé) par une suspension bactérienne, les antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince stérile puis incubées pendant 18 à 24 heures à



37 C°. Après se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance (Choi et al., 2006).

➤ **Lecture du résultat**

L'activité antibactérienne est déterminée à l'aide d'un pied à coulisse mesurant le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré au bout de 24 h, avec une précision de 0,1 mm. En effet, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 6 mm et supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible (Duraffourd, 1990).

### 7.3. L'aromatogramme

L'étude du pouvoir antibactérien des extraits végétaux (EE et EA) cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est le remplacement des antibiotiques par des extraits aromatiques (Benzeggouta, 2005)

❖ **Préparation de l'inoculum**

Chaque espèce estensemencée au préalable sur une gélose nutritive, pour obtenir une culture de 18 à 24 h. Ensuite, 4 à 5 colonies bactériennes bien isolées sont mises en suspension dans l'eau physiologique (10 ml). Puis cette suspension est ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une DO entre 0,08 à 0,13 à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ  $10^8$ UFC/ ml (CA-SFM, 2013).

❖ **Préparation des extraits**

Les extraits aqueux (A) et éthanoliques (E) sont utilisés de différents doses : 50, 100, 150, 200 mg/ml (Bouchouka, 2016). Une fois les géloses Muller – Hinton (MH) sontensemencés, les disques ont été imbibés de chaque extrait et placé sur la surface de la gélose MH à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzen.

❖ **Incubation et Lecture**

Les résultats sont observés pendant lendemain des expériences (18 à 24 heures) à 37C° pour toutes les boites et mesurant les diamètres des halos clairs tout autour des disques, ou zones d'inhibition (Benzeggouta, 2004).

### 7.4. Pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition réalisée par la mesure du diamètre d'inhibition est issu de la réponse bactérienne par rapport au diamètre de la boite. Ce dernier est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}} / D_{\text{control}}) \times 100$$

**D<sub>test</sub>** : diamètre de la zone d'inhibition.

**D<sub>control</sub>** : diamètre de la boîte de pétri.

## II. Résultats et discussions

### 1. Résultat de l'étude phytochimique

#### 1.1. Caractérisation des extraits

La préparation des extraits à partir des parties aériennes des plantes étudiées a été effectuée en deux grandes étapes.

Deux extractions ont été effectuées, l'extrait éthanolique s'est présenté sous forme de partie vert foncé alors que l'extrait aqueux est révélé sous forme de partie marron. L'aspect ainsi que le rendement de chaque extrait sont représentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 5: Caractéristiques des extraits de la plante étudiée**

Extrait	Aspect	Couleur
Éthanolique	Liquide	Vert
Aqueux	Liquide	Marron

#### 1.2. Test préliminaire de la composition chimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur la partie aérienne (tiges et feuille, flaire) broyées en poudre de *sonchus oleraceus L*, en utilisant des réactifs spécifiques de révélation. Le screening a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plantes. Les réactions de précipitations et de complexassions avec formation de complexes insolubles et colorés (mousse) sont la bases de détection de ces composés chimiques. Les résultats de ces expériences sont exprimés dans le tableau suivant :

Tableau 6: Résultats du Screening phytochimique de *Sonchus Oleraceus L*

L'extrait Composés	Résultats	
	E.A	E.E
Tanins	-	+
Saponosides	+	-
Alcaloïdes	++	++
Flavonoïdes	++	++
Polyphénols	++	++
Terpénoïdes	++	++
Stérols et polyterpènes	+	-
Composés réducteurs	+++	++
Lipides	+	-
Anthraquinones libres	-	-
Coumarines	-	+
Gommes et Mucilages	-	-

+++ : Réactive fortement positive, ++ : Réactive moyennement positive, + : Réactive faiblement positive, - : Réactive négative, **E.A** : Extrait aqueux, **EE** : Extrait éthanolique.

Les résultats des tests de caractérisation phytochimique pour les deux extraits aqueux et éthanolique ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des polyphénols, des terpénoïdes et des composés réducteurs. On a noté l'absence des gommes et mucilages ainsi que les anthraquinones dans les deux extraits. En revanche, les tanins, les coumarines sont révélés uniquement dans l'extrait aqueux et les lipides dans l'extrait éthanolique.

Bien entendu, les tests de caractérisation présentent des imprécisions car ils sont basés sur l'analyse qualitative. La composition chimique des extraits varie selon les organes et suivant les espèces (**Kahlouche, 2014**).

Nos résultats sont en accord avec ceux de (**Maria Antonia Gatto et al., 2011**). Ces auteurs ont noté la présence des flavonoïdes et des polyphénols. Pour *S.oleraceus*, de plus un autre screening phytochimique sur *S.oleraceus* et *S.asper*, récoltée dans le sud d'Afrique montre la présence des polyphénols, des alcaloïdes, des phytates alors que les saponosides sont présents en faible quantité (**Jimoh et al., 2011**).

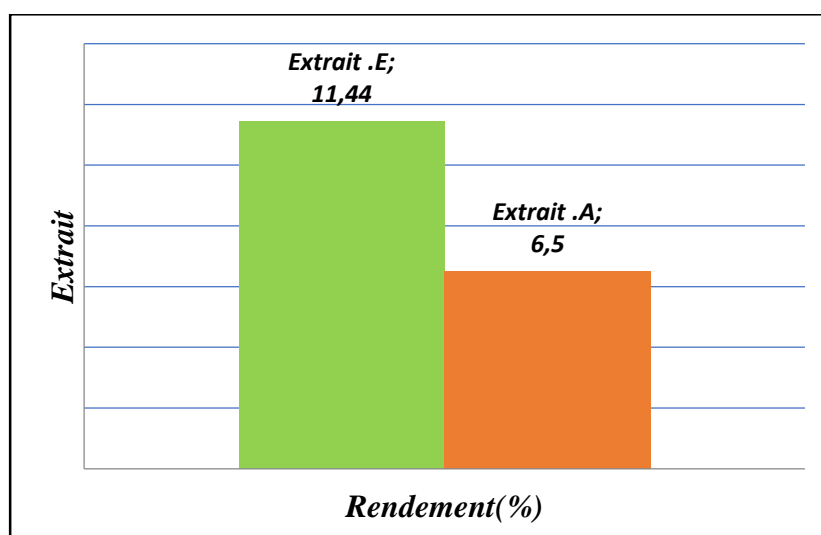
Des études chimiques sur les espèces d'*Artemisia* de la famille *Asteraceae* indiquent que toutes les classes de composés phytochimiques sont présentes dans le genre avec une référence particulière à terpénoïdes et flavonoïdes (Turk, 2012).

Le travail mené par Moufid, 2012 montre que des études phytochimiques ont clairement démontré que les principaux constituants d'*Artemisia herba alba* sont les sesquiterpènes lactones, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les huiles essentielles avec une variabilité spécifique de ces constituants en fonction de la zone géographique.

Ces différences de composition phytochimique sont liées aux facteurs biotiques et abiotiques sur la synthèse des métabolites secondaires par les plantes. En effet, il existe plusieurs facteurs externes pouvant influencer la composition chimique des métabolites secondaires: le sol, les agents pathogènes, la température, la lumière et le taux d'humidité (Bourgaud, 2012).

### 1.3. Rendement de l'extraction

Le calcul des rendements par rapport au poids sec de la poudre végétale (Tableau 7) a montré que l'extrait éthanolique (EE) représente le rendement le plus élevé de 11,44% par rapport l'extrait aqueux (EA) par un rendement de 6,50%. Les rendements d'extraction observés dépendent à la fois de l'organe de la plante et aussi du solvant d'extraction. On constate que le rendement d'extraction obtenu avec l'éthanol est le plus élevé.



**Figure 20: Rendement de l'extrait Éthanolique et Aqueux**

La méthode d'extraction par macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact d'eau avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement d'extrait à pression réduite permet d'obtenir le maximum des

composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale.

En effet, le rendement n'est pas relatif; il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. D'autre part, la méthode d'extraction affecte également le contenu total en phénol et flavonoïdes (**Lee et al ., 2003**).

Nos résultats sont en accord avec ceux de (**Dehimat ,2014**), qui a montré que les résultats obtenus lors du calcul des différents rendements d'extraction à partir de la plante *Matricaria pubscen* de la familles des Asteraceae, ont montré que l'extraction par la méthode solide liquide a donné les proportions les plus élevées de l'ordre de (44.22%) et (9.96%) respectivement avec l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux .

De plus, le non sélectivité de l'EtOH explique peut-être le rendement relativement élevée de son extrait (**Ousameur et Ksikis, 2016**).

Le rendement d'extraction est aussi liée à la localisation géographique de la plante, le stade phénologique et les facteurs environnementaux tels que la température, et la qualité su sol (**Bruneton, 1993**).

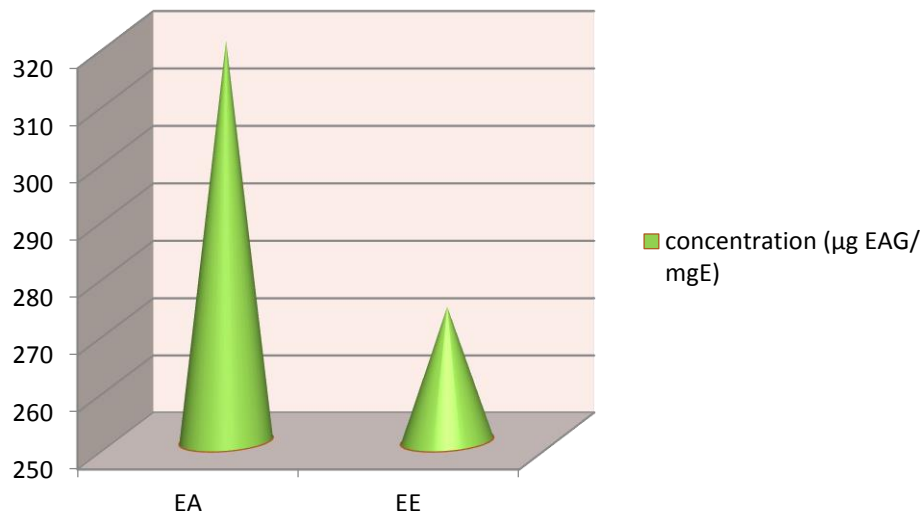
## 2. Analyses quantitatives des extraits E et A

### 2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 1,729. x + 0,169$$

La spectrophotométrie UV/Visible a permis de quantifier le taux des polyphénols présents dans les deux extraits préparés à partir de la plante *S.Oleraceus*, les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant :



**EA** : extrait aqueux ; **EE** : extrait éthanolique ; X : concentration en µg EAG/ mg E ; Y : dose de l'extrait éthanolique et aqueux.

**Figure 21: La quantité d'acide gallique en (µg) des deux extraits A et E**

Les résultats montrent que l'extrait aqueux est le plus riche en polyphénols totaux, 319,84 µg EAG (équivalent d'acide gallique) /mg d'extrait, tandis que des teneurs faibles sont enregistrées dans l'extrait éthanolique 273,50 µg EAG/mg E d'extrait.

Ceci peut être expliqué par la différence de solubilité de ces composés dans les solvants d'extraction choisis, sachant que les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et dont les solutions aqueuses peu solubles dans les solvants organiques apolaires (**Macheix et al ., 2005**).

Nos résultats sont confirmés par le travail de **Dehimat, 2014** sur la plante *Matricaria pubescen*, de mémé famille que la plante *Sonchus oleraceus* les résultats obtenus montre que l'extrait aqueux est plus riche en polyphénols totaux, tandis que des teneurs faibles sont observées avec l'extrait éthanolique.

Le taux de polyphénols varie selon la plante étudiée et diffère d'une partie à une autre dans la même plante (**Bouayed et al ., 2007**), ceci est expliquée par le fait que les polyphénols sont plus présents dans les cellules photosynthétiques (**Škerget et al.,2005**), pour lutter contre les insectes et l'invasion microbienne (**Harborne et Williams,2000**).

La détermination des teneurs des polyphénols dans des extraits des plantes médicinales dont *Artemisia campestris*, ont montré que la teneur en polyphénols totaux de la partie aérienne d'un extrait éthanolique 70% (v/v) est de l' ordre de 20.38 mg EAG/g Ps, cette teneur est

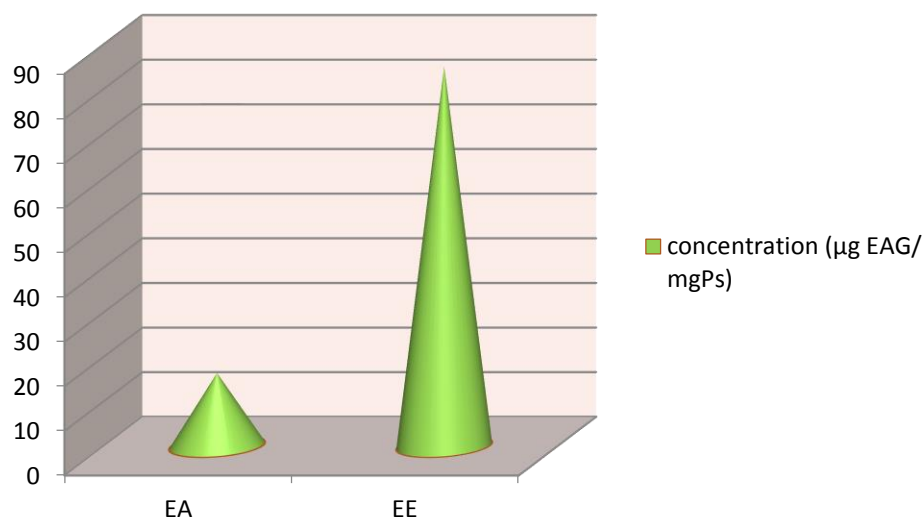
relativement élevée. (Djeridane et al., 2006) Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales (Boudjouref, 2011).

### II.2.2. Dosage de flavonoïde

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), la quercétine a été utilisée comme étalon. L'absorbance a été lue dans à une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 0,006448. X + 0,5739$$

Les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant :



**EA** : extrait aqueux ; **EE** : extrait éthanolique ; **X** : concentration en µg EQ/mg Ps ;  
**Y** : dose de l'extrait éthanolique et aqueux.

**Figure 22 : La quantité des quercétines en (µg) des deux extraits A et E**

On détermine la concentration des flavonoïdes dans deux extraits éthanoliques 95% et extrait aqueux. Cette teneur a été estimée à 85,12 et 16,42 µg EQ/mg Ps (équivalent de quercétine/poudre sec) Dans les deux extraits respectivement.

**Djeridane et al ., 2006** ont déterminé la concentration des flavonoïdes dans deux extraits éthanoliques 70 % et 80 % (v/v). Cette teneur a été estimée à 7.46 et 5 mg ER/g Ps dans les deux extraits respectivement. Cependant, **Akrout et al ., 2011** ont estimé cette valeur à 56,31 µg ER/mg d'extrait quand l'extraction est réalisée avec une solution alcoolique à 50%. Alors que **Saoudi et al ., 2010** ont trouvé une teneur de 131,89 mg EQ/g d'extrait de feuilles aqueux.



### II.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)

L'identification des composés est basée sur la comparaison des  $R_f$  et les couleurs observées sous lampe UV des taches apparues sur CCM avec des étalons notés dans les mêmes conditions expérimentales.

Les résultats du screening phytochimique par CCM des deux extraits sont répertoriés dans le tableau. Les taches (orange, jaune, bleu, verte, rose, pourpre,...) observées sous UV à 366nm peuvent correspondre à plusieurs classes de métabolites secondaires. Afin de préciser la nature des composés révélés, des réactifs spécifiques aux flavonoïdes, aux lactones sesquiterpènes, aux stérols, aux polyterpènes, aux tanins et aux saponosides (vanilline sulfurique) ont été utilisés.

Les chromatogrammes des deux extraits ont été obtenus avec un premier gradient Butanol-acide acétique-eau (40-10-50) et le 2<sup>ème</sup> gradient était : chloroforme-méthanol-eau (90-10-1). L'eau et l'éthanol sont responsables de l'extraction des composés polaires (**Bruneton, 2009**). Après révélation par le trichlorure d'aluminium, l'extrait aqueux contient des flavonoïdes caractérisés par une fluorescence jaune sous UV à 366nm, alors que l'extrait éthanolique contient des flavonoïdes sous UV à 366nm et des sesquiterpènes lactones caractérisée par une extinction sous UV à 366nm et une couleur violette grisâtre au visible.

Le chromatogramme des extraits testés révélé par le réactif de trichlorure d'aluminium présente des fluorescences. Les produits colorés en jaune sont probablement des flavonoïdes à base de rutine (**Wagner et Bladt, 1996**). L'intensité de coloration des produits séparés est proportionnelle à leur concentration. Après révélation par la Vanilline sulfurique du 2<sup>ème</sup> chromatogramme du 2<sup>ème</sup> gradient, l'extrait aqueux contient des saponosides et des triterpènes caractérisés par une couleur violette et orangé au visible respectivement, on note que l'extrait éthanolique contient des triterpènes et des saponosides caractérisés par une couleur violette et marron respectivement au visible.

Les travaux de (**Priyadarsinee et al ., 2014**) Sur *Sonchus asper*, a permis de révéler la présence de 4 spots dans l'extrait méthanolique correspondant aux flavonoïdes, aux tanins catéchiques, aux stérols et aux lignanes. La CCM a permis de donner des informations sur les constituants majoritaires de l'extrait par la fluorescence ; coloration après révélation ; le nombre de constituants de chaque extrait et leur facteur de rétention ( $R_f$ ). L'absence de

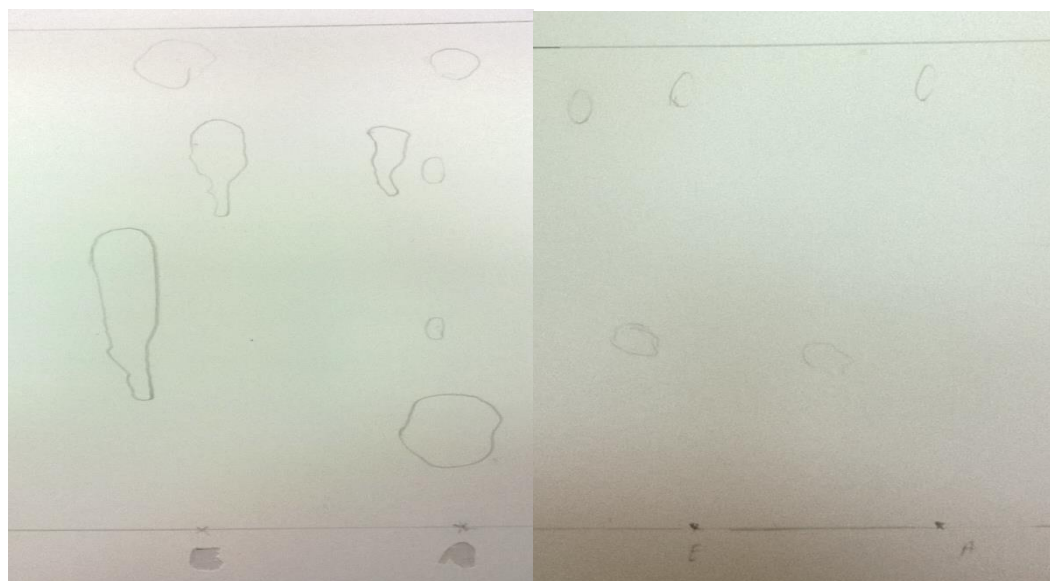
certaines composés dans les extraits étudiés pourrait s'expliquer par leur présence en faible teneur.

**Tableau 7 : Les Rapports frontaux des taches et les Classes des composés identifiés dans l'extrait A et E pour la 1<sup>ère</sup> feuille (Akhanovna et al ., 2013)**

Front du solvant = 128mm					
Taches	Distance parcourue	R <sub>f</sub>	Couleurs sous UV	Types de	Extrait
1	91mm	7,10	Fluorescence Jaune	Flavonoïdes	A
2	96mm	7,50	Fluorescence Jaune	Flavonoïdes	A
3	12mm	9,37	Fluorescence Jaune	Flavonoïdes	A
1	59mm	4,60	Violette grisâtre	Sesquiterpènes Lactones	E
2	95mm	7,42	Fluorescence Jaune	Flavonoïdes	E
3	12mm	9,37	Fluorescence Jaune	Flavonoïdes	E

**Tableau 8 : Les Rapports frontaux des taches et les Classes des composés identifiés dans l'extrait A et E pour la 2<sup>ème</sup> feuille (Akhanovna et al ., 2013)**

Front du solvant = 87mm					
Taches	Distance parcourue	R <sub>f</sub>	Couleurs sous UV	Types de	Extrait
1	78mm	8,96	Violet	Saponosides	E
3	8mm	9,19	Orangé	Triterpène	E
4	47mm	5,40	Violet	Triterpènes	A
5	80mm	9,19	marron	Saponoside	A



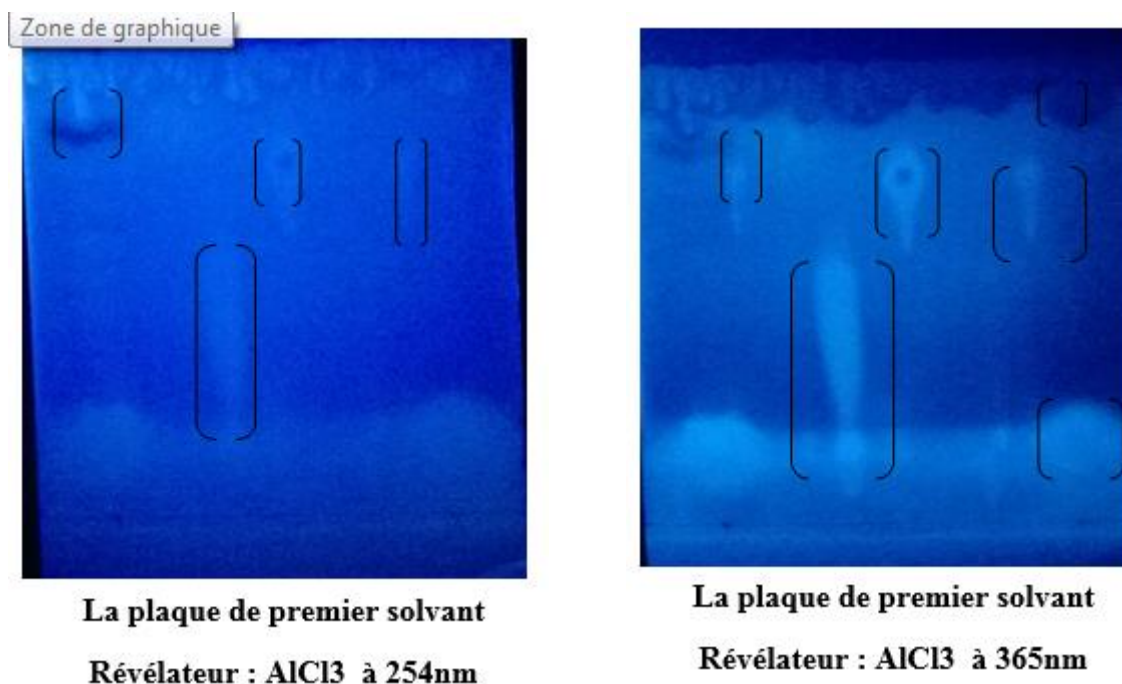
La plaque de premier solvant

Révélateur :  $AlCl_3$  à l'œil nu

La plaque du deuxième solvant

Révélateur : vanilline à l'œil nu

Figure 23: Chromatographie sur couche mince de l'extrait E et A de *S. Oleraceus* (après révélation au réactif de trichlorure d'aluminium)



La plaque de premier solvant

Révélateur :  $AlCl_3$  à 254nm

La plaque de premier solvant

Révélateur :  $AlCl_3$  à 365nm

Figure 24 : Chromatographie sur couche mince de l'extrait E et A de *S. Oleraceus* sous l'UV (après révélation à la réactive de trichlorure d'aluminium)

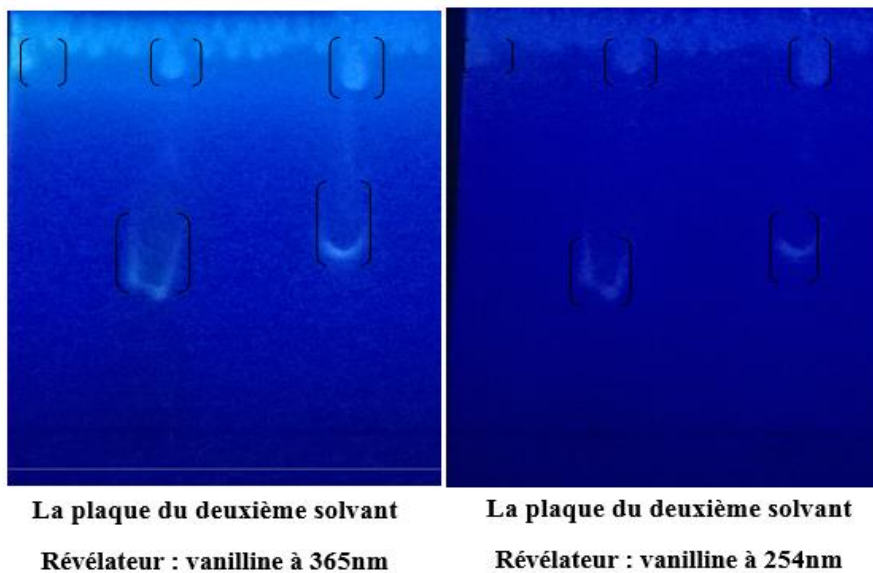


Figure 25 : Chromatographie sur couche mince de l'extrait E et A de *S. Oleraceus* sous l'UV (après révélation au réactif de vanilline)

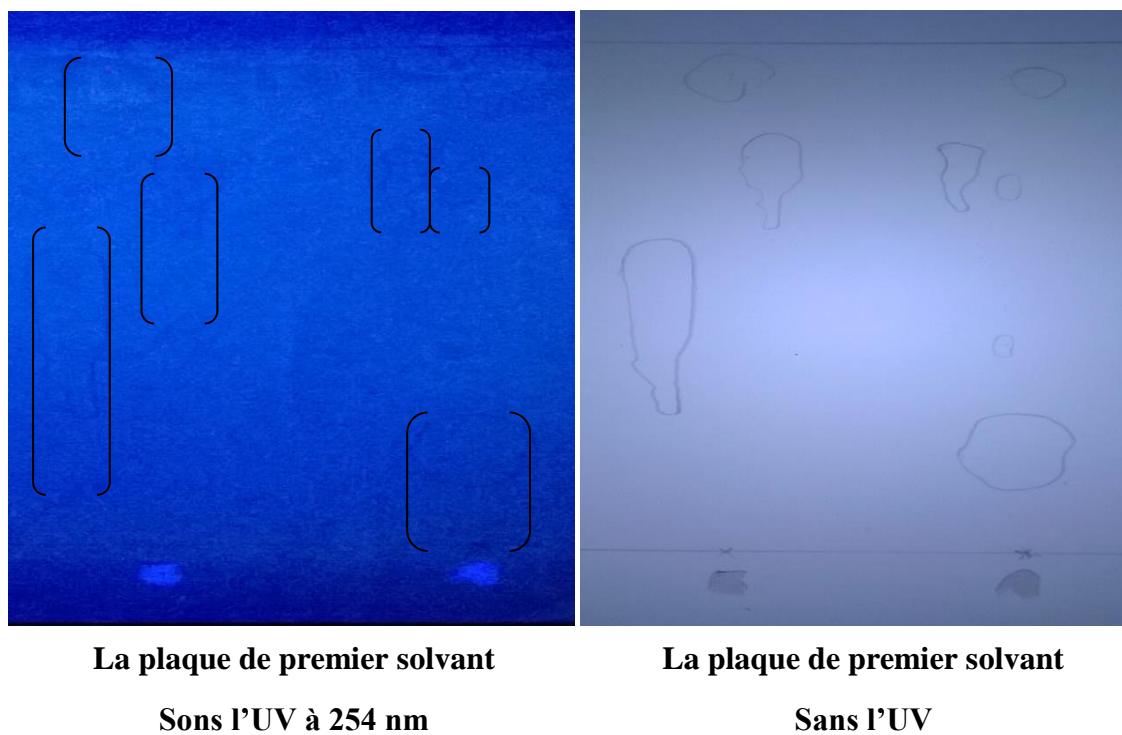


Figure 26: chromatogramme des extraits (E et A) révélés par le trichlorure d'aluminium

Nos résultats sont conformes avec les travaux de (**Kahlouche, 2014**) qui a prouvé qu'après révélation et visualisation de la CCM sous UV, a permis de mettre en évidence de nombreuses fluorescences (avec en particulier des Rf de l'ordre de 0,28- 0,38 -0,36 mm verdâtre ; 0,81, 0,47, 0,53, 0,62 et 0,43mm marron ; 0,71, 0,28 et 0,81en mm bleu. Une fluorescence bleue violette (Rf 0,71, 0,81 mm) est nettement observée pour les parties aériennes d'*Artemisia herba alba*.

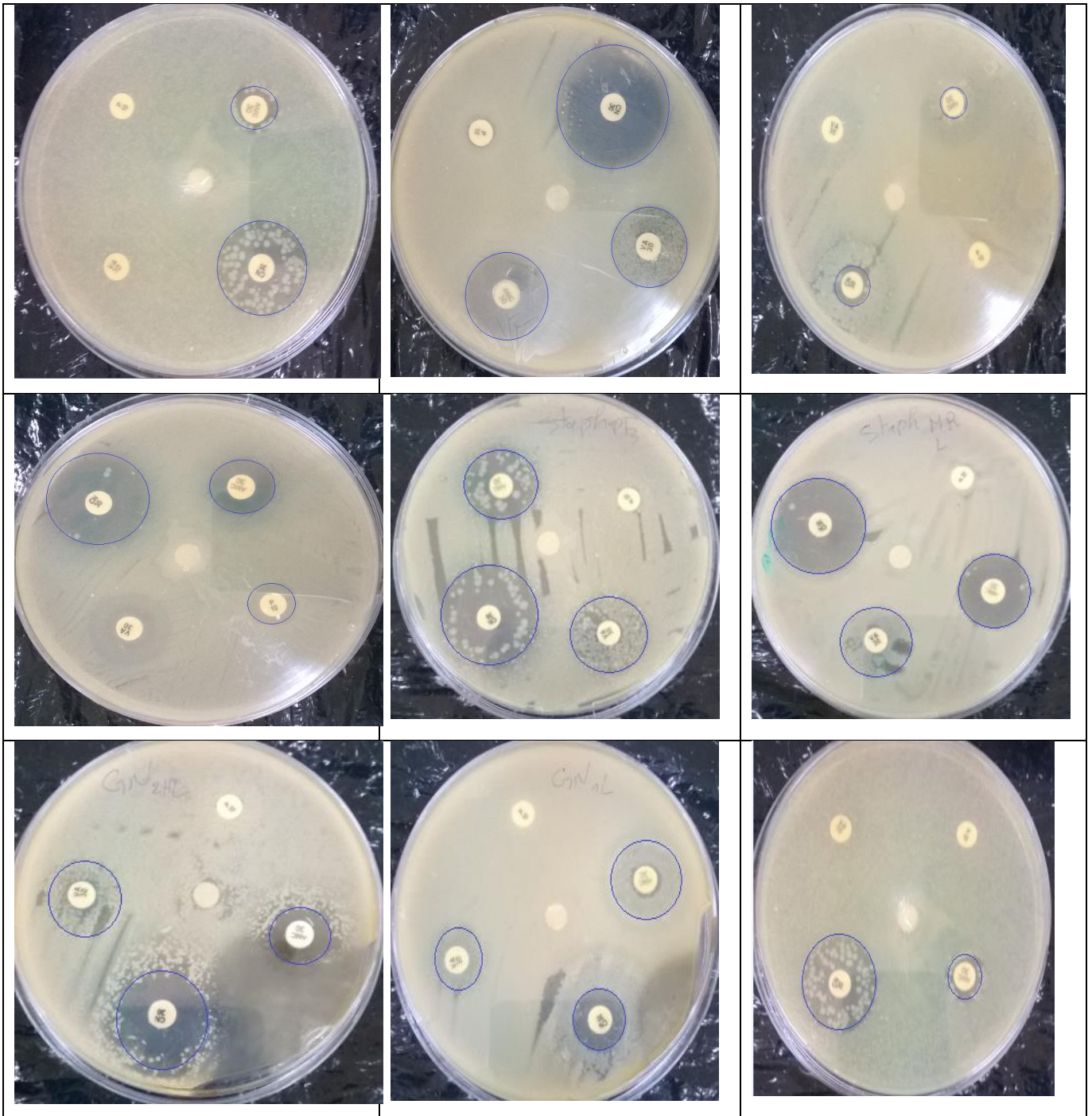
Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Abou El-Hamd et al ., 2010** qui ont détecté la présence des flavonoïdes dans *Artemisia herba-alba* avec une grande variation structurale, , allant de la commune flavones et flavonols glycosides flavonoïdes.

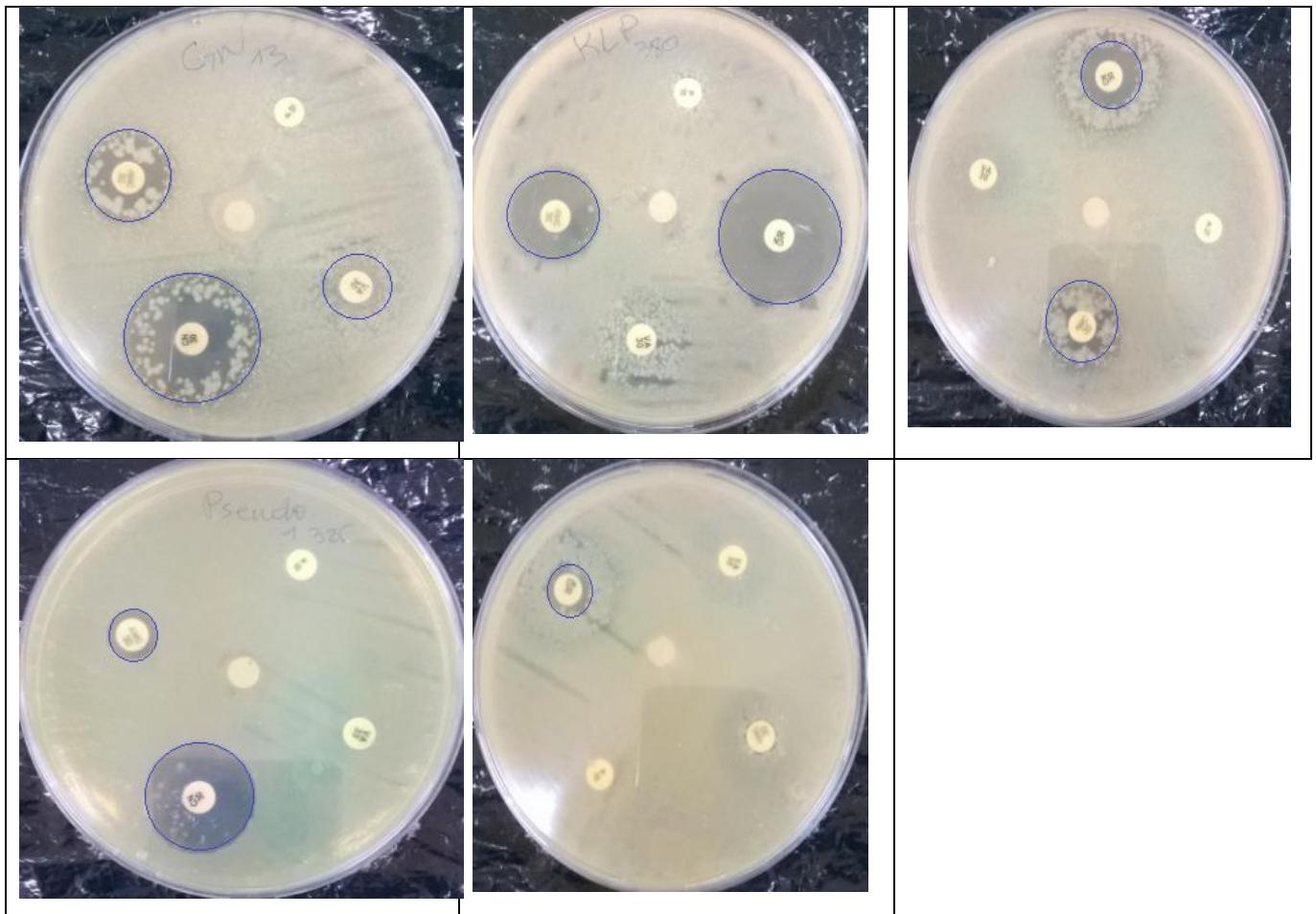
Les Lactones sesquiterpéniques sont parmi les produits naturels importants trouvés dans des espèces d'*Artemisia* et sont en grande partie responsable de l'importance de ces plantes dans la médecine et la pharmacie. Plusieurs types de structures de lactones sesquiterpéniques ont été trouvés dans les parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* ce qui peut justifier la présence de ces composées dans *Sonchus Oleraceus* (**Kahlouche, 2014**).

## II.4. Résultat de l'activité antibactérienne

### II.4.1. Antibiogramme

La mise en contact de différentes souches avec l'antibiotique a permis de réaliser un antibiogramme afin de déterminer le diamètre d'inhibition et par conséquent voir la sensibilité ou la résistance bactérienne vis-à-vis de ces derniers. Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 27** et le **tableau 10**. On remarque que la série d'ATB testée a un effet variable sur les souches cibles, ils ont un effet inhibiteur sur certaines et sont soumis à une résistance avec d'autres.





**Figure 27 : Activité des antibiotiques sur les différentes souches testées (Antibiogramme)**

Nous remarquons que les souches bactériennes testées ont montré une sensibilité à la Gentamicine (G), dont les diamètres d'inhibitions variés entre 10 et 28 mm (*E. Coli* 2592, *E. coli* 376.CBU /BLSE), alors qu'elles ont été résistantes à la Penicilline G, sauf l'*E. Coli* 379 BLSE qui a été sensible à la Pénicilline G (le diamètre d'inhibition de 11mm). Ampicilline (AMP), Gentamicine (CN), Penicilline G (P) et la Vancomycine (VN).

Ampicilline a un effet inhibiteur sur: *Acinetobacter baumannii* 312. ECBU.BMR ; *Acinetobacter baumannii* lit 07 sensible à Imp ; *E. coli* 379 BLSE ; *E. coli* 2592 ; *E. coli* 376.CBU /BLSE ; *P.aeruginosa* 328/ECBU ; *S. aureus* 358/MRSA ; *S. aureus* M.R ; *S. aureus* PT3 *sen c jaune* ; *K.pneumoniae* 380; *Enterobacter* T3, avec des diamètres d'inhibitions de : 12, 18, 15, 18, 2, 2, 19, 19, 2, 19, 08 mm respectivement. *E. coli* 2322.BLSE/ECBU® et *E. coli* 2592 ® sont résistantes à l'Ampicilline.

Tableau 9 : Les diamètres d'inhibition des souches testées vis-à-vis des antibiotiques

<i>Souche</i> \ <i>ATB</i>	Les diamètres d'inhibition (mm)							
	Ampiciline (AMP)		Gentamicine (CN)		Penicilline .G (P)		Vancomycine (VA)	
	D	C	D	C	D	C	D	C
<i>Acinetobacter baumannii</i> 312. ECBU.BMR	12	S	18	S	0	R	0	R
<i>Acinetobacter baumannii</i> lit 07 sensible à Imp.	18	S	26	S	0	R	0	R
<i>E. coli</i> 379 BLSE	15	S	24	S	11	S	18	S
<i>E. coli</i> 2592	18	S	13	S	0	R	0	R
<i>E. coli</i> 2322.BLSE/ECBU ®	0	R	22	S	0	R	0	R
<i>E. coli</i> 2592 ®	0	R	1	S	0	R	0	R
<i>E. coli</i> 376.CBU /BLSE	2	S	28	S	0	R	19	S
<i>P.aeruginosa</i> 328/ECBU.	2	S	26	S	0	R	18	S
<i>S. aureus</i> 358 /MRSA	19	S	26	S	0	R	0	R
<i>S. aureus</i> M.R	19	S	25	S	0	R	19	S
<i>S. aureus</i> PT3 sen c. jaune	2	S	26	S	0	R	19	S
<i>K.pneumoniae</i> 380	19	S	26	S	0	R	0	R
<i>Enterobacter</i> T3	08	S	14	S	0	R	1	S

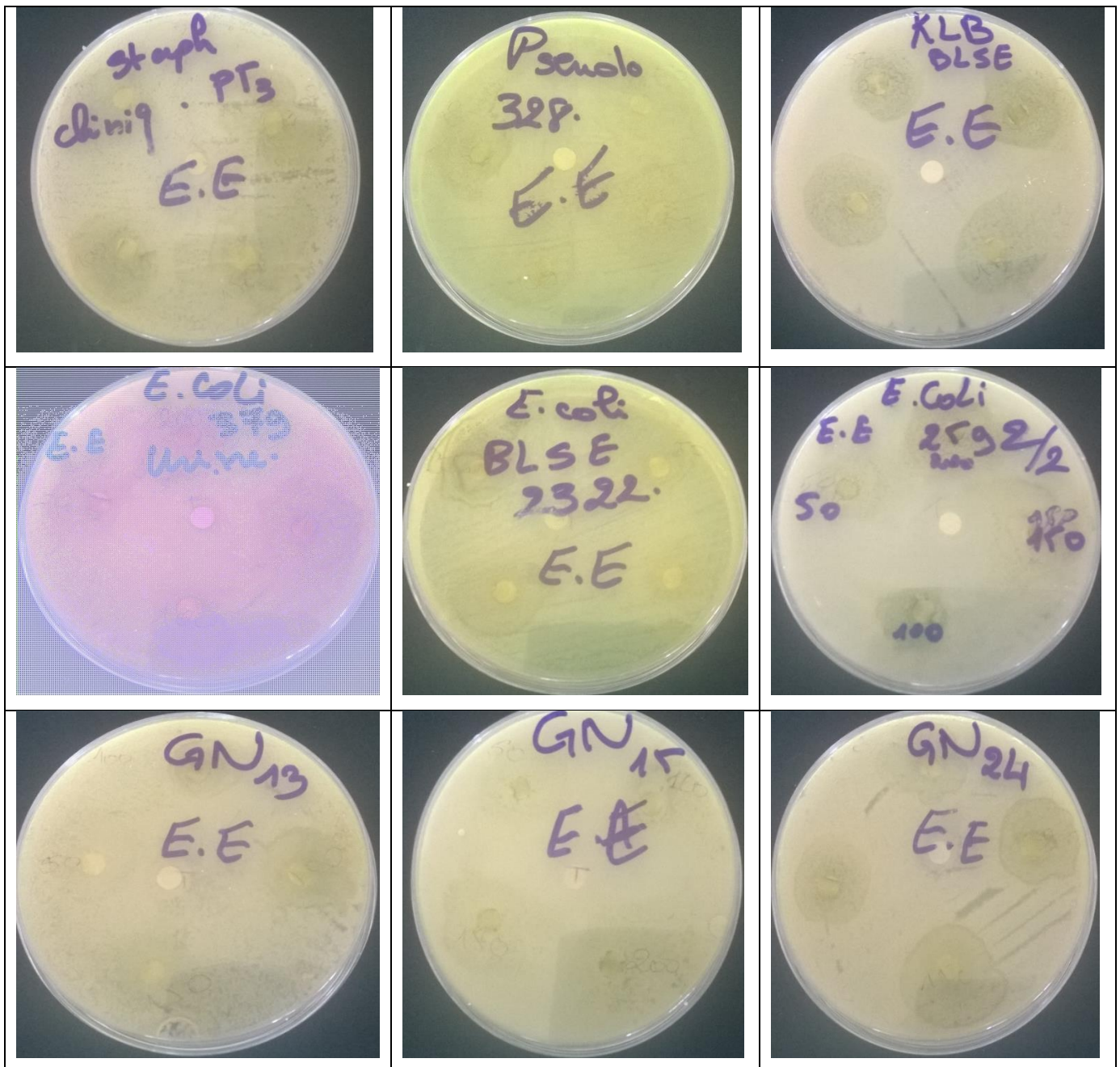
S: Sensible. R: Résistance. D : Diamètre (cm). C : Catégorisation. ® : Souche référence.

#### II.4.2. Méthode de diffusion en milieu solide (aromatogramme)

La méthode de diffusion des disques a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des deux extraits aqueux et éthanolique de *sonchus oleraceus* vis-à-vis des souches bactériennes utilisées, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait.



Les résultats du test de sensibilité bactérienne aux extraits (aromatogrammes) sont indiqués sur le tableau 11 et la figure suivante :



GN13 : *Acinetobacter baumannii* lit 07. GN15 : *Enterobacter* T3. GN 24 : *Acinetobacter baumannii* 312.

**Figure 28 : Evaluation de l'activité antibactérienne d'extrait éthanolique sur les différentes souches bactériennes**

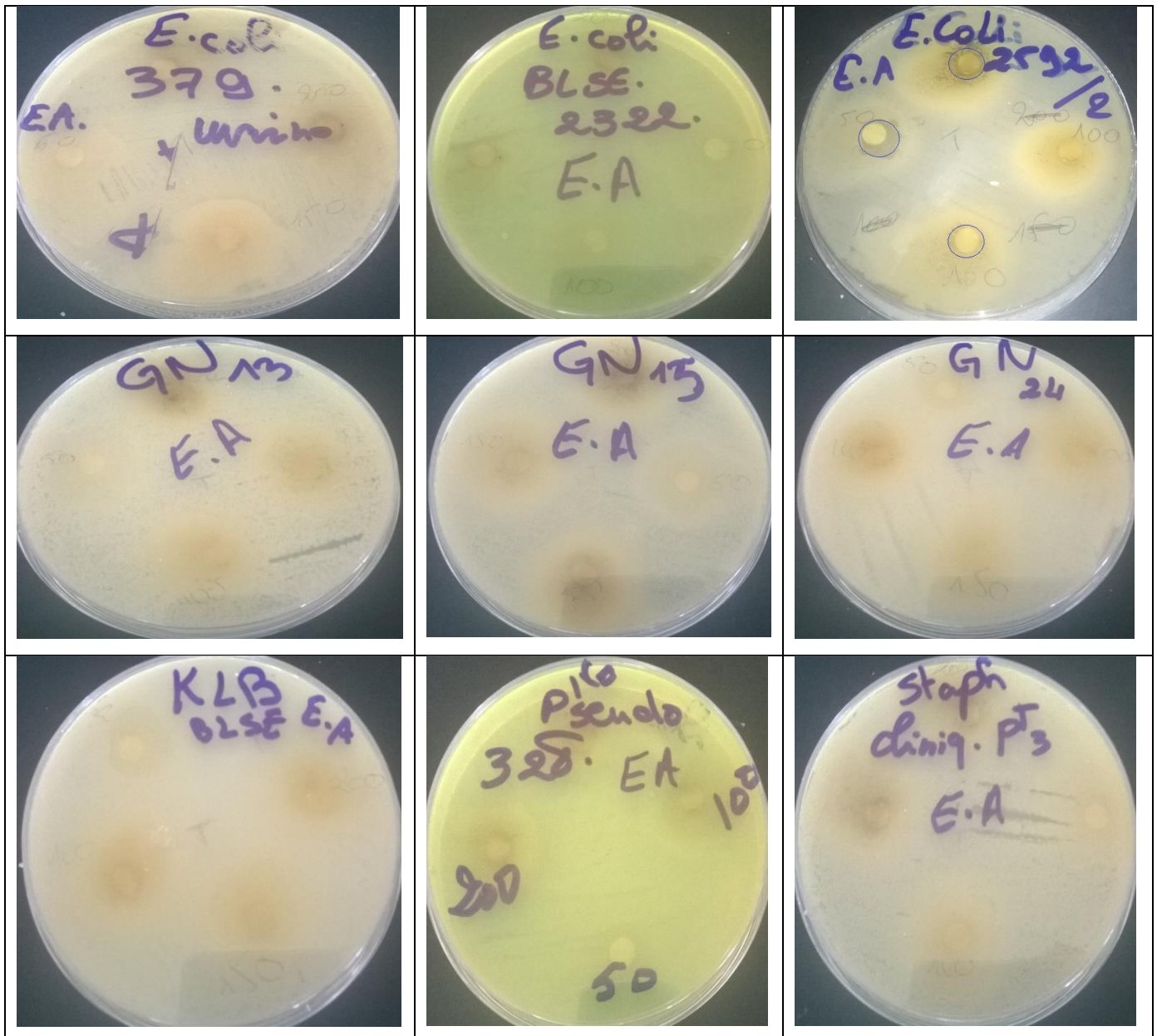


Figure 29 : Evaluation de l'activité antibactérienne d'extrait aqueux sur les différentes souches bactériennes

Tableau 10 : Les diamètres d'inhibition d'*E. Coli 2592*® vis-à-vis de l'extrait aqueux

doses (mg/ml)	50	150	200
Bactérie			
<i>D'E. Coli 2592</i> ®	12mm	9mm	15mm

Nous remarquons que les différentes souches ne réagissent pas à l'extrait éthanolique de *S. oleraceus*, tandis que l'extrait aqueux a réagi avec la souche d'*E. Coli 2592*®, avec des zones d'inhibition de l'ordre de 12, 9, 15mm relatifs aux concentrations : 50,150 et 200 mg/ml de l'extrait aqueux respectivement.


Au vu de ces résultats, nous avons fait ressortir que l'extrait aqueux montre un effet important contre d'*E. Coli 2592 s*, Les extraits aqueux et éthanolique ont un effet comparable entre eux concernant les autres souches bactériennes testées.

Nos résultats vont dans le sens inverse de ceux de **Khan et al ., 2010** qui ont montrés que l'extrait aqueux de *Sonchus asper* a une activité inhibitrice contre *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *B. subtilis*. Une autre étude réalisée par **Duraipan et ignacimuithes, 2009** a rapportée des résultats similaires au cours de l'examen préalable des activités antibactériennes de diverses fractions de la plante médicinale traditionnelle.

Nos résultats vont dans le sens inverse que ceux de **Boulberhane et Nabti, 2017**, qui ont étudié l'activité antibactérienne des différents extraits hydroméhanoliques d'*Artemisia compestris L* de la famille d'Asteraceae sur plusieurs souches dont *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possède un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées.

L'efficacité de l'extrait AHA (*Artemisia herba alba*) contre *Pseudomonas aeruginosa* bactérie Gram (-) peut être expliquée par la dominance des lactones sesquiterpéniques (**Laid, 2008**), en effet, les bactéries ont une sensibilité à ce type de métabolites ceci confirme l'effet de notre plante sur la bactérie *E. Coli 2592*®.

Ceci confirme les conclusions de (**Cushnie, 2003**) qui affirme que chaque composé agit différemment sur les microorganismes. C'est-à-dire, qu'un composé peut avoir une action très importante sur un germe et une action moindre, voire même nulle sur un autre (**Kahlouche, 2014**).



Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

La flore de la région de Guelma est caractérisée par une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaire avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, la plante *Sonchus oleraceus* a fait l'objet d'une étude phytochimique de son extrait éthanolique et aqueux et d'une évaluation de son potentiel antibactérien.

Le screening phytochimique de l'extrait éthanolique et aqueux révèle que la partie aérienne de *Sonchus oleraceus* est riche en divers métabolites secondaires, de plus le dosage des polyphénols et des flavonoides totaux dans les extraits aqueux et éthanoliques confirme la présence de ces métabolites en quantité considérable.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne de *Sonchus Oleraceus* révèle une faible activité sur les souches testées (cliniques et de références), sauf pour *E. Coli 2592®*, qui montre une sensibilité à l'extrait aqueux. Cette action antibactérienne, reste tout de même faible comparativement à celle observée avec les substances de référence (antibiotiques).

La plante étudiée se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches.

En perspective, il serait intéressant de :

- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies sur l'activité antioxydante des composés polyphénoliques.
- faire un screening plus complet des principaux groupes chimiques potentiellement actifs, d'identifier et d'isoler le ou les principes actifs.
- Il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel antimicrobien de l'extrait aqueux et éthanolique.



# Références bibliographiques

- ABDERRAZAK. M, JOËL. R., 2007., La botanique de A à Z. Ed., Dunod. Paris., pp. 177.
- ABOU EL-HAMD H. Mohamed, MAGDI. A, EL-SAYED MOHAMED. E, HEGAZY SOLEIMAN. E, HELALY ABEER. M, ESMAIL and NAGLAA S. MOHAMED., 2010., Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba* Rec., *Nat., Prod.* 4:1 1-25.
- ADOUANE Selma.,2016 ., Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès., Mémoire de magistère en sciences agronomiques, Univ Mohamed Khider – Biskra.188 p.
- AKHANOVNA. J, MAMYRBEKOVA. B, BOUAB. B, DIABY. A, and BEKRO. Y.A., 2013.,Screening phytochimique bio guidé et évaluation in vitro des propriétés purgatives de *Anchomanes difformis* (Blume) Engl., une plante utilisée en Côte d'Ivoire dans le traitement folklorique de la constipation., *Nature & Technologie.*, 09 : 20 – 26.
- AKROUT. A, GONZALEZ. L.A, H.E. JANI, *et al.*, 2011., Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsute* from southern Tunisia., *Food and Chemical Toxicology.*, 49 , pp. 342-347.
- ANTON, BOUTAOUI N., 1998 ., Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria chamomilla* (Asteraceae) ., étude de la phase acétate d'éthyle., Mémoire de Magister., Univ de Constantine 1., 21-42-50-89-92.
- ANTONOT .E, MARCHAL. R., 1998., Chromatographie Stage MAPEN., 5.
- AYoola G. A, IPAV S. S, SOLIDIYA M. O, ADEPOJU-Bello A. A, COKER H. A. B. and ODUGBEMI T. O., 2008., Phytochemical screening and free radical scavenging activities of th fruits and leaves of *Allanblackia floribunda* Oliv (Guttiferae)., *International journal of health research.*, 1 (2) : 81-93.
- BAHORUN T. GRESSIER B. TROTIN F. BRUNET C. DINE T. LUYCKX M. VASSEUR J. CAZIN M.,CAZIN J. C. and PINKAS M., 1996., Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.*, 46: 1086-1089.
- BARAN. J.-M., 2000., Daturas, plantes magiques, hallucinogènes et médicinales à l'île de la Réunion et dans le monde. Thèse de doctorat en médecine., Univ de Nancy, France.
- BARNES. J, ANDERSON L.A, and PHILLIPSON. J.D., 2007., Herbal Medicines., Ed 3: Pharmaceutical Press., p: 3- 233.

- BENAROUS. K., 2009., Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*,
- 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., Univ Mentouri-Constantine., Algérie., 199 p.
- BENDIF., 2017 ., Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L, *Thymus munbyanus* subsp., *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr., Thèse de doctorat en science biologique. l'école normale supérieure de kouba-alger.
- BENJILALI. B, ZRIRA. S., 2005., Plantes Aromatiques et Médicinales : Atouts du secteur et exigences pour une valorisation durable. Actes Editions, Rabat, 346 p.
- BENZEGGOUTA Naïrouz., 2004., Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments., Mémoire de magister en pharmaco chimie., Univ Mentouri de Constantine Institut de Chimie.,Algérie.,118p.
- BOUAYED J, RAMMAL H, DICKO A, et al. 2007) Chlorogenic acid, a polyphenol from *Prunus domestica* (Mirabelle), with coupled anxiolytic and antioxidant effects. *J Neurol Sci* 262: 77–84.
- BOUCHOUKA Elmouloud ., 2016., Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes., doctorat en science., univ de BADJI mokhtar –annaba., 114P.
- BOUDJOUREF Mourad., 2011., Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L., mémoire de magistère en biochimie., Univ Ferhat Abbes., Sétif ., 78P.
- BOULBERHANE saoussene. and NABTI hichem., 2017., Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antifongique des deux plantes : *Artemisia compestris* L. et *Ephédra alata alenda* Staph., Mémoire de Master en Sciences Biologiques., univ Badji Mokhtar – Annaba.
- BOURGAUD F., 2012., Plantes à parfum, aromatiques et médicinales., *Phytomedicine* 17: 548550.
- BRUNETON J., 1999., Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation., 3éme ed, Paris. France., 1120p.



- BRUNETON J., 2009., Pharmacognosie, phytochimie ,plantes médicinales,4ème édition Lavoisier., 1292 pages.
- BRUNETON. J., 1993., Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. Paris, éd Technique et Documentation Lavoisier., 915 p.
- CALSAMIGLIA. S, BUSQUET. M, CARDOZOP. W, CASTILLEJOS. L., 2007., Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science*. Vol. (90): 2580–2595.
- CA-SFM, 2013., Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie..
- CHOI. H, JEDRYCHOWSKI. W, SPENGLER. J, CAMANN. DE, WHYATT. RM, RAUH. V., 2006., International studies of prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and fetal growth., *Environ Health Perspect.*, 114:1744–1750.
- CHUNG, CHENNI. M., 2010., Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale: *Bryonia dioïca.*, Thèse de Magister., Univ d'Oranes- Senia., Oran. Algérie., 138 p.
- CLEVINGER. J.F., 1928., Apparatus for the determination of volatile oil., *Journal of the American Pharmacists Association.*, 17, 345-349...
- COWAN N. M., 1999., Plant products as antimicrobial agents., *Clinical microbiology Reviews.*, Vol. 12(4): 564-582.
- CUSHNIE TP, HAMILTHOH VES, LAMB AJ., 2003., Assessment of the antimicrobial activity of selected, flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports., *Microbiol Res.*, 158(4):281-9.
- DA SILVA. J.A.T. 2004., Mining the essential oils of the Anthemidea., *African Journal of Biotechnology.*, 3 (12) : 706-720.
- DEHIMAT abd elouahab., 2014., Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Matricaria pubscens.*, Magister en Biologie., Univ A.MIRA-BEJAIA., 95P.
- DELILLE. L., 2007 ., Les plantes médicinales d'Algérie. Éd. BERTI, Alger, 122 P.
- DIALLO. D., 2000., Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius (Aizoaceae)*, *Diospyros.*, Thèse de doctorat, Lausanne., 148-176.

- DJEDDIS., 2012 ., Les huiles essentielles "Des mystérieux métabolites secondaires": Manuel de formation destiné aux étudiants de Master., ED., Presses Académiques Francophones Grece, 64 p.
- DJERIDANE. A, YOUSFI. M, NADJEMI. B, BOUTASSOUNA. D, STOCKER. P, VIDAL. N., 2006., Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds., *J. Food Chemistry.*, 97: 654–660.
- DOAT., 1978., Contribution à l'étude des extraits bruts de la plante (*Urtica dioica* ). Mémoire de Master., Univ de Kasdi Merbah Ourglala., 35p.
- DURAFFOURD. C, D'HERVICOURT. L, and LAPRAZ J.C., 1990., Cahiers de phytothérapie clinique., 1.Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques., 2ème éd. Masson, Paris.
- DURAIPANDIYAN. V, IGNACIMUTHU. S., 2009., Antibacterial and antifungal activity of Flindersine isolated from the traditional medicinal plant., *Toddalia asiatica* (L.) Lam. J. Ethno., 123: 494-498.
- EL-RHAFFARI. L, ZAID. A., 2004., Pratique de la phytothérapie dans le Sud- Est du Maroc.
- ERKAN. N, AYRANCI. G, and AYRANCI. E., 2008., Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L), extract blackseed (*Nigella sativa* L), essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol., *J. Food Chemistry.*, 110, 76-82.
- FAIZI. S, R.A. KHAN. S, AZHER. S.A, KHAN. S TAUSEEF, and A. AHMAD., 2003., New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthia longifoliavar. pendula.*, *Planta Medica*, 69: 350-355.
- GHESTERM. A, SEGUIN. E, PARIS. M, ORECCHIONI. A., 2001., Le préparateur en Pharmacie., 2ème ed., Ed. Tec et Doc, Paris., France. 275.
- GUIGNARD J.L., 2000., Abrégé de Biochimie végétale, 2ème édition., Préface de Pierre Potier, Dunod, Paris, 274 pages.
- GWENOLA. A, TAKOA. T, KITATANI. L., 2001., A simple screening method for antioxidant and isolation of several antioxidants produced by marin bacteria from fish and shellfish., *Biosc Biotechnol Biochem.*, 58, 1780-1783.

- **HARBONE.** J, WILLIAMS C., 2000., Advances in flavonoid research since., *Phytochemistry.*, 55, 481-504.
- **HARBORNE.** J.B., 1998., Textbook of Phytochemical Methods., A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis., 5th Edition, Chapman and Hall Ltd., London, 21-72.
- **HART.** K.J, YÁNEZ-RUIZD. R, DUVALS. M, MCEWANN. R, NEWBOLDC. J., 2008., Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal feed science and technology.* Vol. (147), 8–35.
- **HARTMANN.** T., 2007., From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism., *Review. Phytochemistry* 68 2831–2846.
- **ISERIN.** P., 2001., Larousse encyclopédie des plantes médicinales., Identification, Préparations, soins., 2nd edition., Dorling Kindersiey Limited., Londres. Edition : Larousse., p.10-17 p.132.
- **JIMOH** O.A, HALILU M.E, AMINU. C, MUHAMMAD T.U, HUDU A.S., 2011., Phytochemical screening and antifungal evaluation of methanolic extract of *schwenckia americana* L.(solanaceae)., *Continental J., Pharmacology and Toxicology Research* 4 (1),1 – 4.
- **JUDD.** W.S, CAMPBELL. C.S, KELLOGG. E.A, and STEVENS. P., 2002., Botanique Systématique: une perspective phylogénétique., Ed 1: DEBOECK., p: 84-336.
- **KAHLOUCHE-RIACHI** FOULLA, 2014. Evaluation Chimique Et Activité Antibactérienne De Quelques Plantes Médicinales D’Algérie. Thèse de doctorat en sciences.
- **KARAMALI.** K, TEUNIS. V. R., 2001., Tannins: Classification and Definition., *Natural Product Reports.*, 18: 641–649.
- **KARTAL.** M, MITAINE-OFFER. A.C, ABU-ASAKER. M, MIYAMOTO. T, CALIS. I, WAGNER. H, LACAILLE-DUBOIS. M.A., 2005., Two new triterpene saponins from *Eryngium campestre*; *Chem., Pharm. Bull*; 318–1320; 53
- **KHAN** Rahmat Ali, KHAN Muhammad Rashid, SAHREEN Sumaira, And BOKHARI Jasia., 2010., Antimicrobial and phytotoxic screening of various fractions of *Sonchus asper.*, *African Journal of Biotechnology* Vol., 9(25), pp. 3883-3887.

- KHLIFI. D, HAMDI. M, EI HAYOUNI. A, CAZAUX. S, SOUCHARD. J.P, COUDERC. F, and BOUJILA J., 2011., Global chemical composition and antioxidant and anti tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae)leaves. *Molecules*, 16, 10592-10603.
- LAID. M. M-E. F. HEGAZY, and A. A. AHMED., 2008., Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herbaalba*. *Phytochemistry lett.*, 1, 85-88.
- LEDARD. F, GUINAUDEAU. H., 1997., Encyclopédie des plantes et leurs propriétés-Algo Vision.
- LEE K.W, KIM. Y.J, LEE H.J, and LEE C.Y., 2003., Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than *Teas* and *Red Wine*., *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ., P 51, 7292-7295.
- LEURENT., 2012., Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêts économique *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* et évaluation de leur activité antibactérienne., Mémoire de Magister., Univ de Constantine 1, 2- 5- 41.
- Li. H.B, CHENG. K.W, WONG. C.C, FAN. K.W, CHEN. F, JIANG. Y., 2007., Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae., *J. Food chemistry*., 102: 771-776.
- MACHEIX J., FLEURIET A., JAY ALLEMAND C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses.
- MAIZA.K. HAMMICHE. V and MAIZA-BENABDESSELAM. F., 2011., Traditional medicine in North Sahara “the Deffi”., *Life Sciences Leaf lets.*, 16:551-560.
- MARIA ANTONIA Gatto , ANTONIO Ippolito , VITO Linsalata , NICHOLAS A. CASCARANO , Franco Nigro , SEBASTIANO Vanadia , DONATO Di Venere., 2011., Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetables., *journal of Postharvest Biology and Technology*., 61,72–82.
- MARIAN Naczka, and FERIDOON Shahidi., 2004., Extraction and analysis of phenolics in food., *Journal of Chromatography A.*, 1054:95-111.
- MAROUF. A., 2002 ., Analyse instrumentale à l'usage des biologistes., 2ème édition., Dar el Gharb. Oran. 17-20.
- MAURICE. N., 1997., L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire duXXIe siècle. Ed.Lavoisier, Paris.p. 12-14.

- MATYUSHCHENKO N.V, and STEPANOVA T.A., 2003., Quantitative determination of the total content of flavonoids in the new phytopreparation Elima., *Pharmaceutical Chemistry Journal* 37: 261- 263.
- MICHEL .M, 2011., Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification; application aux méthodologie bioactives de l'argousier (*hippophae rhamnoides*). Thèse de doctorat, Ecole doctorale sciences et technologies, Univ d'Orleans France.
- MIDOUN. T., 2011., Extraction Des Composes Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltametrie Cyclique., Mémoire de Master: 53p.
- MOREL J-M., 2008., Traité pratique de phytothérapie: remèdes d'hier pour médecine de demain., Paris., Grancher.
- MOUFID Abderrahmane and Mohamed EDDOUKS, 2012., Faculty of Sciences and Techniques Errachidia, B.P., 21, Errachidia, 52000, Morocco Pakistan *Journal of Biological Sciences* 15(24) ,1152-115.
- NACOULMA-Ouedraogo O. G., 1996 ., Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso, cas du plateau central, Tome I et II Thèse de Doctorat d'Etat., Univ d'Ouagadougou.
- NGOM., 2000., Evaluation de l'activité biologique de l'exterit éthyle acétate du (*Thé vert*) et l'extrait butanolique de la plante (*Chrysanthemum sp*), vis à vis la toxicité induit par la streptozotocine., Mémoire de Master., Univ de Constantine 1., 45 -48- 49- 55.
- OUA/CSTR., 1988 ., Pharmacopée africaine, méthodes générales d'analyse., Edn 1 Publisher, Lagos (Nigeria), 254p.
- OUSAMEUR nadia & KSIKIS chahrazad, 2016, Fractionnement des extraits obtenus de deux plantes spontanées sahariennes et évaluation de leur activité antioxydant, Mémoire Master Académique, Univ Kasdi Merbah-Ouargla.
- PARIS. M, HURABIELLE., 1981., Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie., Tome 1., Ed Masson., Paris.102-103-104-107.
- PRIYADARSINEE Mallik, SAGAR Kumar Mishra, KUNJA Bihari Satapathy., 2014., Studies on the antibacterial and antioxidant activities of *Sonchus asper* (L.) Hill and *Seseli diffusum* (Roxb. ex Sm.) Sant. & Wagh., *IOSR Journal of Pharmacy and Biological*

*Sciences (IOSR-JPBS)*, e-ISSN: 2278-3008, p-ISSN:2319-7676. Volume 9, Issue 6 Ver. IV., PP 24-27.

- RAHAL. S., 2004., Chimie des Produits Naturels et des Etres Vivants, 39-44, pharmacie dossier, 2001. 2ème Ed., Tec et Doc. Paris., 275., (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- ROBBERS et al, ROBBERS, J.E., SPEEDIE, M.K., TYLER, V.E., 1996., Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology., Williams & Wilkins, Baltimore.
- SAOUDI .M, ALLAGUI .M.S, ABDELMOULEH. A, JAMOUSI. K, and EL FEKI A., 2010., Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats., *Exp.Tox.Pathol.*62: 601–605.
- SARNI. M, MANCHADO. P, CHEYNIER., 2006., Activité antioxydants des extrait des graines de la plante (*Nigelle sativa L*). Mémoire de Master. Univ de Constantine 1, 5-7.
- SCALBERT A., WILLIAMSON G., 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*. Vol. (130): 2073-2085.
- SEYOUM. A, ASRES. K, ELFIKY F.K., 2006., Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids., *Phytochemistry.*, 67, 2058–2070.
- SKERGET M, KONTRNIK. P, HADOLIN. M, HRAS. A. R, SIMONIC. and M, KNEZ. Z.,2005., Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonoles insome plant materials and their antioxidant activities., *J. Food chemistry.*, 89, 191-198.
- SOFOWORA. A, 1993 ., Screening Plants for Bioactive Agents In: Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa. John Wiley & Sons Ltd, 274 p. ISBN-13: 978-0471103677.
- SOFOWORA. A., 2010., Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique., Edition Karthala., p.22.
- SOLDERMANN,N., juin 2002., « Etude et développement du processus Tandem réaction de Diels Alder/réarrangement de Irland-Claisen : Application à la synthèse de la Juvabione »,Thèse de Doctorat., Univ de Neuchâtel.,
- TREASE E, and EVANS W.C., 1987., Pharmacognosie, Billiaire Tindall., London 3 th Ed., P61-62.
- TURK J Biol 36., 2012., Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia L.* species from western Anatolia., 75-84 c Tubitak doi:10.3906/biy-0912-27.

- WALLACE. R.J., 2004., Antimicrobial properties of plant secondary metabolites., *Proceedings of nutrition society.*, Vol. (63) : 621–629.
- WIGNER HXS, BLADT, GAIN., 1996, Plant drug analysis ,Springer ,Berlin , Germany., P360.
- WIGNER HXS, BLADT, GAIN., 1996, Plant drug analysis, 2ème Ed Springer ,Berlin , Germany., P360.
- WILHELM. N., 1998., Botanique générale., 10ème Ed., De boeck. Paris, bruxelles., 319p.
- WINK., 2010., microbiologie.cours et question de révision. dunod., 159p.
- YANO. Y, SATOMI. M, OIKAWA. H., 2006., Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus.*, *International J., Food Microbiology.*, 111: 6-1.
- ZARROUR. B., 2012 ., Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria Pubescens* (Astéracées) et évaluation de leur activité antioxydante ., Mémoire de master., Univ., Kasdi Merbah, Ouargla.
- ZENK. M.H, JUENGER. M., 2007., Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds., *Phytochemistry Review* 68, 2757 – 2772.
- ZHANG, WEN JING , b LARS OLOF BJÖRN., 2009., The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants *Fitoterapia* FITOTE-01795; Pages 12.

### **Les sites web**

- [http://idao.cirad.fr/content/adventoi/especes/s/sonol/sonol\\_fr.html](http://idao.cirad.fr/content/adventoi/especes/s/sonol/sonol_fr.html). consulté 23/03/2018.
- [http://uses.plantnet-project.org/fr/Sonchus\\_oleraceus\\_\(PROTA\)](http://uses.plantnet-project.org/fr/Sonchus_oleraceus_(PROTA)) consulté 27/04/2018
- <http://www.cuniculture.info/Docs/Elevage/Figur-tropic/chapitre3/plantes-00-Composition.htm>.consulté 25/03/2018.
- <http://www.cuniculture.info/Docs/Elevage/Figur-Tropic/chapitre3/plantes-00-Composition.htm> ; consulté 24/03/2018.
- <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/1795/sonchus-oleraceus>. consulté 05/04/2018.
- <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/1795/sonchus-oleraceus>. consulté 14/04/2018.
- <https://plants.usda.gov/core/profile>. consulté 27/04/2018.
- [www.crstra.dz/flores/sonchs-oleraceus-l.php](http://www.crstra.dz/flores/sonchs-oleraceus-l.php) .consulté 23/2/2018.



# Annexes



## Annexe 1 : Préparation des milieux de cultures

### 1-Gélose de Muller Hinton

Gélose Muller Hinton (38g) plus 1L d'eau distillée. Porté à ébullition avec agitation jusqu'à la dissolution complète de la poudre.

La solution a ensuite été stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 30 min

### 2-Gélose nutritif

Dissoudre 39 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 à 121°C. Ensuite conserver dans un endroit frais en absence d'humidité.



Figure 1 : préparation des gélose

## Annexe 2 : Préparation des solutions

### 1-L'eau physiologique

Est une solution à 9 %

9g de NaCl pour 1 litre d'eau distillé

Après préparation, stériliser cette solution et la conserver à 4 °C jusqu'à son utilisation.

### Annex 3 : les résultats phytochimiques

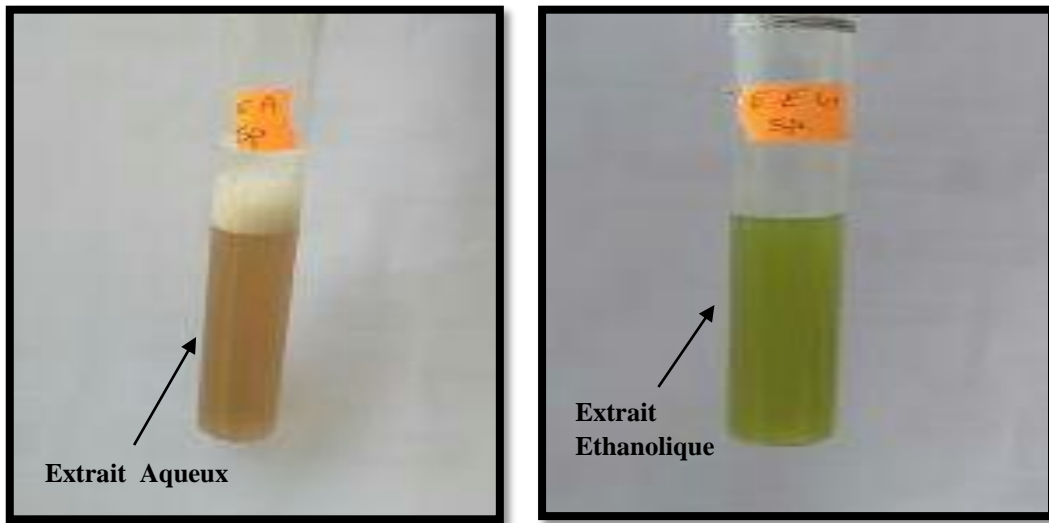


Figure 2 : le test de saponoside

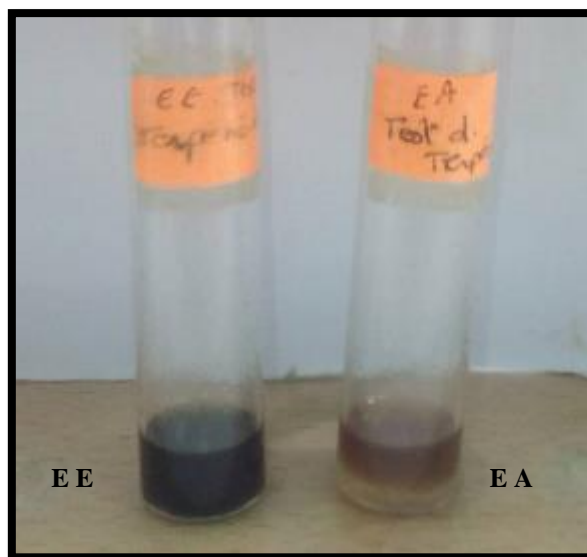


Figure 3: Détection de terpénoïde

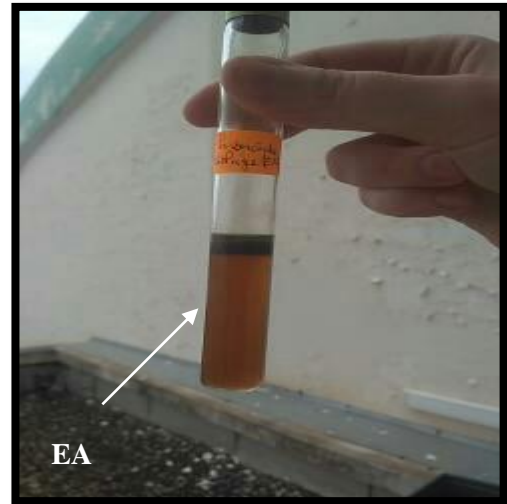
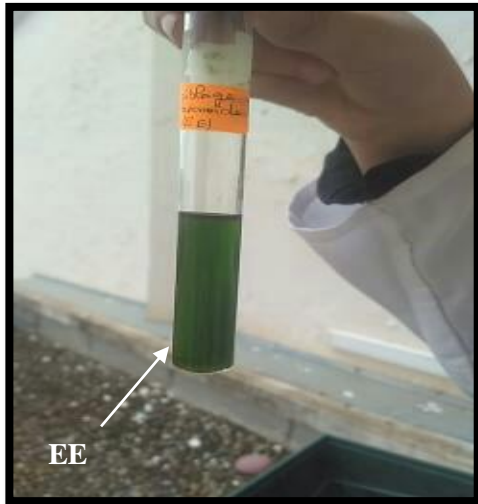


Figure 3 : tests des flavonoïdes



Figure 4 : Détection des polyphénols



Figure 5 : Détection des alcaloïdes

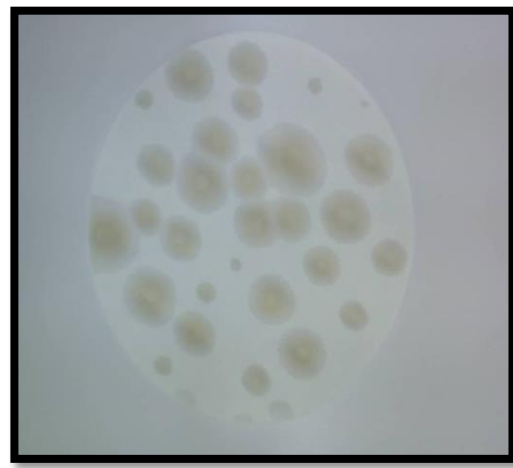
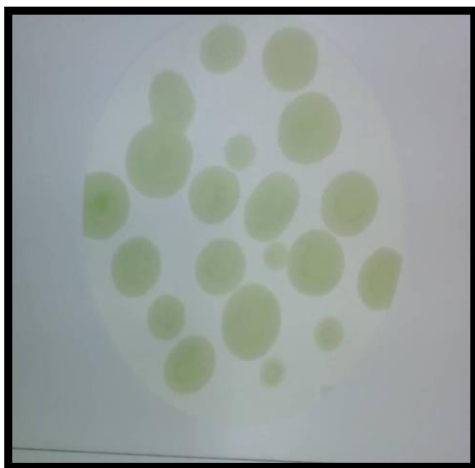
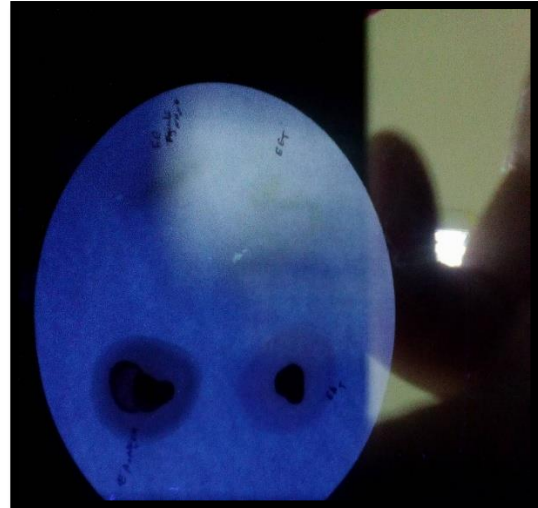
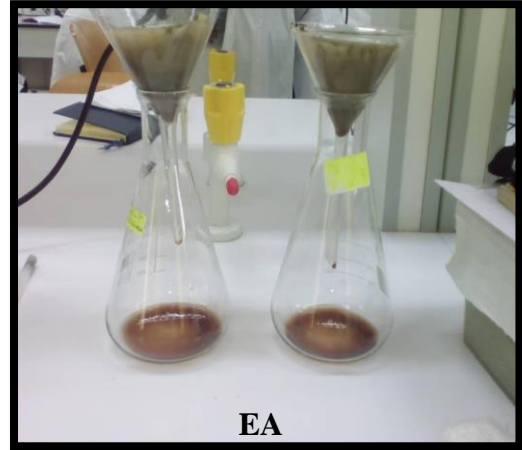
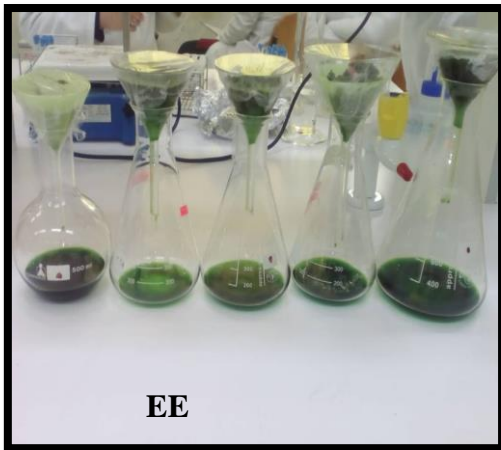


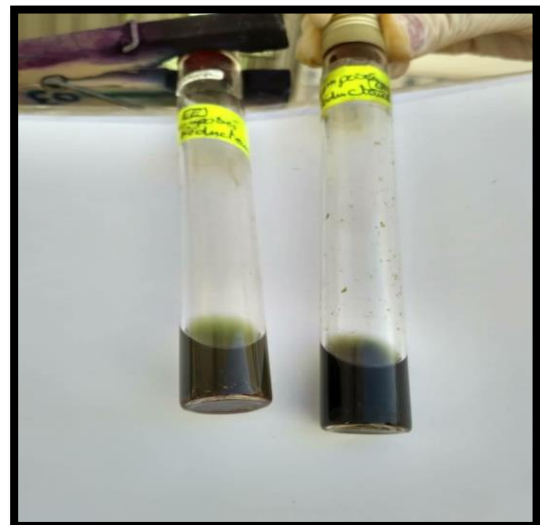
Figure 6 : Test des lipides



**Figur 7 : Tests des coumarines**



**Figure 8 : filtration des deux extraits éthanolique et aqueux**



**Figure 9 : test des composés réducteurs**



Figure 10 : autovapeur



Figure 11 : les deux extraits après séchages

## Résumé

Les échecs thérapeutiques et les coûts de plus en plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes appellent à trouver d'autres alternatives de soins. Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude phytochimique et d'évaluer l'activité antibactérienne des parties aériennes de *Sonchus oleraceus* L ; c'est une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracées, qui est très répandue dans le Nord-est de l'Algérie.

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux et éthanolique a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires chez les deux extraits : alcaloïdes, flavonoïdes, polyphénols, terpénoïdes et composés réducteurs. Les extraits aqueux et éthanolique ont été obtenus par macération en utilisant deux solvants : l'éthanol et l'eau distillée. Cette extraction a permis d'obtenir un rendement de 11,44% et 6,5% respectivement.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin -Ciocalteu révèle la présence des quantités moyennement importantes en polyphénols, elles sont de 319,84 µg EAG/mg d'extrait dans l'extrait aqueux, et de 273,50 µg EAG/mg d'extrait dans l'extrait éthanolique. De même, les flavonoïdes ont été dosés par la méthode d'AlCl<sub>3</sub> avec une valeur de 16,42 µg EQ/mg d'extrait pour l'E.A et 51,01 µg EQ/mg d'extrait pour l'E.E, ce qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes.

L'analyse qualitative des extraits par chromatographie sur couche mince (CCM) a révélé la présence des Sesquiterpènes lactones, flavonoïdes, saponosides et triterpènes.

La méthode de la diffusion en milieu gélosé a été utilisée pour tester l'activité antibactérienne des deux extraits sur treize souches dont sept sont des souches de références impliquées dans plusieurs infections humaines.

Par ailleurs, les résultats ont montré que l'extrait aqueux a exercé une activité modérée contre *E. coli* 2592 ®, alors que l'extrait éthanolique était inactif contre les souches testées.

**Mots-clés :** Plante médicinale, extrait éthanolique, extrait aqueux, activité antibactérienne, *Sonchus oleraceus*, métabolites secondaires.

## **Abstract**

Therapeutic failures and the rising costs of treating infections caused by resistant bacteria call for other care alternatives. This work aims to evaluate the phytochemical study and the antibacterial activity of the aerial parts of *Sonchus oleraceus L*; it is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family, which is widespread in northeastern Algeria.

Phytochemical analysis of the aqueous and ethanolic extract revealed the presence of secondary metabolites in both extracts: alkaloids, flavonoids, polyphenols, terpenoids and reducing compounds. The aqueous and ethanolic extracts were obtained by maceration using two solvents: ethanol and distilled water. This extraction gave a yield of 11.44% and 6.5% respectively.

Quantitatively, the evaluation of total polyphenols content by adopting the Folin - Ciocalteu method reveals the presence of moderately important amounts of polyphenols, they are 319,84  $\mu\text{g}$  EAG / mg of extract in the aqueous extract, and 273,50  $\mu\text{g}$  EAG / mg of extract in the ethanolic extract. Similarly, the flavonoids were measured by the  $\text{AlCl}_3$  method with a value of 16.42  $\mu\text{g}$  EQ / mg of extract for E.A and 51.01  $\mu\text{g}$  EQ / mg of extract for E.E, which leads us to conclude that this plant contains a considerable amount of flavonoids.

The qualitative analysis of the extracts by thin layer chromatography (TLC) revealed the presence of Sesquiterpenes lactone, flavonoid, saponosides and triterpenes.

The diffusion method in agar medium was used to test the antibacterial activity of the two extracts on thirteen strains, seven of which are reference strains involved in several human infections. In addition, the results showed that the aqueous extract exerted a moderate activity against *E. coli* 2592  $\text{\textcircled{R}}$ , whereas the ethanolic extract was inactive against the tested strains.

**Key words:** Medicinal plant, ethanolic extract, aqueous extract, antibacterial activity, *Sonchus oleraceus*, secondary metabolites.

## ملخص

الفشل العلاجي وارتفاع تكاليف علاج العدوى التي تسببها البكتيريا المقاومة تتطلب خيارات الرعاية البديلة هذا العمل جزء من دراسة كيميائية نباتية وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للأجزاء الهوائية من *Sonchus Oleraceus. L*؛ هو نبات طبي تابع لعائلة أستراسيا ، وهو منتشر على نطاق واسع في شمال شرق الجزائر .التحليل الكيميائي النباتي للمستخلص المائي والإيثانولي كشف عن وجود مستقلبات ثانوية في كلا المستخلصين: فلويدات ، فلافونويد ، بوليفينول ، تيربينويدز ، ومركبات الراجعة.

تم الحصول على المستخلصات المائية والإيثانولية عن طريق النقع باستخدام مذيبين: الإيثانول والماء المقطر. أنتج هذا الاستخراج عائداً قدره 11.44% و6.5% على التوالي.

من الناحية الكمية، فإن تقييم محتوى البوليفينول الكلي من خلال اعتماد طريقة Folin-Ciocalteu يكشف عن وجود كميات معتدلة من Polyphénols، فهي 319.84 ميكروغرام EAG / mg من المستخلص المائي، و50 273 ميكروغرام EAG / mg من ستخلص الإيثانول.

وبالمثل، تمت معايرة الفلافونويد بواسطة طريقة AIC<sub>3</sub> بقيمة 16.42 ميكروغرام من مكافئ EQ / mg من مستخلص EA و51.01 ميكروغرام من مكافئ EQ / mg من مستخلص EE ، يقودنا إلى الاستنتاج أن هذا النبات يحتوي على كمية معتبرة من الفلافونويد.

وكشف التحليل النوعي للمستخلصات بواسطة اللوني طبقة رقيقة (TLC) وجود Sesquiterpenes ، Lactone و triterpenes و saponoside استخدمت طريقة الانتشار في وسط أجار لاختبار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصين على ثلاثة عشر سلالة، سبعة منها هي سلالات مرجعية تشارك في العديد من الإصابات البشرية بالإضافة إلى ذلك، أظهرت النتائج أن المستخلص المائي قد مارس نشاطاً معتدلاً ضد *E. coli 2592*، في حين أن المستخلص الإيثانولي كان غير نشط ضد السلالات المختبرة.

**الكلمات المفتاحية:** نبات طبي، مستخلص إيثانول، مستخلص مائي، نشاط مضاد للجراثيم، مستقلبات ثانوية، *Sonchus oleraceus*