

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

*Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques  
Département des Sciences Biologiques*



## *Mémoire de fin d'études*



*En vue de l'obtention du Diplôme de Master 2  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Microbiologie Appliquée*

## *Thème*

**Evaluation de l'activité antimicrobienne de la plante  
*Helminthotheca echioides***

Présenté par : M<sup>elle</sup> BABOURI Katia

et

Melle CHAIANI Hanane

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente : M<sup>me</sup>.OUSSAID S.

M.A.A.

UMMTO

Promotrice : M<sup>me</sup>.ASMANI K.

M.C.B.

UMMTO

Examinatrice: M<sup>me</sup>.OUSSAID S.

M.A.A.

UMMTO

2017/2018

## **Remerciements**

*Avant toute chose, on tient à remercier Dieu le tout puissant, de nous avoir donnée la force, la patience et le courage pour réaliser ce travail.*

*On exprime d'abord nos profonds remerciements à notre promotrice **Mme ASMANI K.** pour l'honneur qu'elle nous a fait de nous encadrer, pour son soutien, son attention, ses bons conseils et pour ses qualités humaines. Pour tout cela on tient à lui exprimer toute notre gratitude.*

*Nous tenons à remercier **Mme OUSSAID S.** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **M<sup>r</sup> BOUACEM K.** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons aussi à remercier les ingénieurs des laboratoires communs et ainsi que les ingénieurs du laboratoire de microbiologie pour leur assistance et leur orientation tout au long de la manipulation.*

*Et enfin nos remerciements à toutes les personnes qui ont eu la gentillesse et la gratitude de nous aider de près ou de loin dans la réalisation de ce projet.*

**HANANE ET KATIA**

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mon cher père qui nous a quittés très tôt*

*Ma chère mère pour son sacrifice, son aide, ses conseils et sa  
patience.*

*A mes chers frères : Farouk et Amine*

*A mes chères sœurs : Mouni et Sara*

*A mon cher binôme Katia ainsi que toute sa famille*

*A toute ma famille et mes amis « es » pour leur présence et le  
soutien de tous les instants qu'ils m'ont apportés, avec toute  
mon affection et ma reconnaissance*

**CHAIANI HANANE**

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mon cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes  
mes années d'étude, pour ses encouragements et ses  
orientations.*

*Ma chère mère pour son sacrifice, son aide, ses conseils et sa  
patience.*

*A mes chers frères : Mohammed et Ahmed*

*A mes chères sœurs : Hayet et Zakia*

*A mes belles sœurs : Samia et Cécille*

*A mon cher binôme Hanane ainsi que toute sa famille*

*A toute ma famille et mes amis « es » pour leur présence et le  
soutien de tous les instants qu'ils m'ont apportés, avec toute  
mon affection et ma reconnaissance*

**BABOURI KATIA**

## *Liste des figures*

<b>Figure 01:</b> Structure de l'acide benzoïque (Bruneton, 1999).....	10
<b>Figure 02:</b> Structure de l'acide cinnamique (Gorham, 1977).....	11
<b>Figure 03:</b> Structure de base d'un flavonoïde (Heller et Forkmann, 1993).....	11
<b>Figure 04 :</b> Structure chimique de (a):tannin hydrolysable et (b): tannin condensé (Bimlesh et al., 2014).....	14
<b>Figure 05 :</b> Structure chimique des lignines (Wertz et al., 2015). ....	15
<b>Figure 06 :</b> Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999).....	15
<b>Figure 07:</b> Structure chimique des stilbènes (Perret, 2001).....	16
<b>Figure 08:</b> Exemple d'alcaloïde : la morphine (Osbourn et Lanzotti, 2009).....	18
<b>Figure 09:</b> Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia et al., 2007). ....	21
<b>Figure 10 :</b> Photographie représentant l'aspect morphologique d' <i>Helminthotheca echioides</i> L. A : fleur, B : plante, C : feuille (Holub, 1973). ....	25
<b>Figure 11 :</b> Ensemble des caractères écologiques de la Picride, fausse vipérine (Holzapfel, 1993).....	26
<b>Figure 12 :</b> Diagramme représentant le procédé de séchage à l'air libre des feuilles d' <i>H.</i> ....	30
<b>Figure 13 :</b> Protocole de préparation des extraits par macération. ....	35
<b>Figure 14 :</b> Diagramme représentant le procédé de dosage des polyphénols totaux.....	36
<b>Figure 15:</b> Représentation schématique de la gamme de dilutions pour l'évaluation de la CMI des extraits phénoliques. ....	39
<b>Figure 16 :</b> Résultats de L'IR de la poudre de la partie aérienne d' <i>Helminthotheca echioides</i> . 44	
<b>Figure 17 :</b> Inhibition de la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence des quatre extraits après 24heures d'incubation à 37°C. ....	50
<b>Figure 18 :</b> Inhibition de la croissance de <i>Bacillus cereus</i> en présence des quatre extraits après 24 heures d'incubation à 37°C.....	50
<b>Figure 19 :</b> Inhibition de la croissance d' <i>Escherichia coli</i> en présence des quatre extraits après 24 heures d'incubation à 37°C.....	51
<b>Figure 20 :</b> Inhibition de la croissance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (4392) et <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1315) en présence des quatre extraits après 24 heures d'incubation à 37°C.....	52
<b>Figure 21 :</b> Résultat de la CMI chez <i>Escherichia coli</i> .....	53

<b>Figure 22</b> : Résultat de la CMI chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . .....	53
<b>Figure 23</b> : Résultats de la CMI chez <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	54
<b>Figure 24</b> : Résultats de la CMI chez <i>Staphylococcus aureus</i> . .....	54
<b>Figure 25</b> : Résultat de la CMI chez <i>Klebsiella pneumoniae</i> . .....	54
<b>Figure 26</b> : Résultat de la CMI chez <i>Klebsiella pneumoniae</i> . .....	55

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01:</b> Différentes classes de flavonoïdes (Nkhili, 2009). .....	12
<b>Tableau 02:</b> Mode d'action de quelques composés phénoliques (Cowan, 1999).....	17
<b>Tableau 03 :</b> Appareillage, matériel, solvants, réactifs chimiques et solutions utilisés.....	28
<b>Tableau 04 :</b> Souches bactériennes, levure et moisissure utilisées. ....	29
<b>Tableau 05 :</b> Liste des antibiotiques testés.....	38
<b>Tableau 06 :</b> Résultats des tests phytochimiques effectués sur la partie aérienne d' <i>Helminthotheca echioides</i> . ....	40
<b>Tableau 07:</b> Résultats du dosage des polyphénols des quatres extraits de la partie aérienne d' <i>Helminthotheca echioides</i> . ....	45
<b>Tableau 08 :</b> Estimation des zones d'inhibition en présence des différents extraits.....	47

# *Sommaire*

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures.

Liste des tableaux

Introduction générale..... 01

## *Partie I : Synthèse bibliographique*

### *Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales et les métabolites secondaires*

1. Les plantes médicinales .....	03
1.1 Définition .....	03
1.2 Historique .....	03
1.3 Utilisation des plantes médicinales en thérapeutique.....	05
1.4 Les plantes, source naturelle d'anti-microbiens.....	06
1.5 Méthodes d'utilisation des plantes médicinales .....	07
2. Les métabolites secondaires .....	08
2.1 Définition .....	09
2.2 Biosynthèse .....	09
2.3 Classification.....	09
2.4. Les polyphénols.....	09
2.5. Les alcaloïdes .....	18
2.6. Les terpénoïdes .....	20

### *Chapitre II : Présentation de la plante Helminthotheca echioides*

1. Caractères généraux des Astéracées.....	23
--	----

1.1	Description botanique .....	23
1.2	Utilisations et intérêts économiques.....	23
2.	<i>Helminthotheca echioides</i> .....	24
2.1.	Position systématique.....	24
2.2	Description botanique .....	24
2.3	Distribution géographique et caractères écologiques.....	25
2.4	Propriétés biologiques et utilisation traditionnelle .....	27

## ***Partie II : Partie expérimentale***

### ***Chapitre I : Matériel et méthodes***

1.	Matériel .....	28
2.	Méthodes.....	31
2.1.	Screening chimique .....	31
2.2.	Analyses du spectre infrarouge (IR).....	33
2.3.	Extraction des polyphénols .....	33
2.4	Evaluation de l'activité anti-microbienne .....	36
2.5	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	39

### ***Chapitre II : Résultats et discussion***

1.	Screening phytochimique .....	40
2.	Résultats de l'infra rouge .....	44
3.	Dosage de polyphénols totaux.....	45
4.	Activités anti-microbiennes.....	47
	Conclusion et perspectives .....	56

Références bibliographiques.

Annexes.

# *Introduction générale*

## **Introduction**

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'Homme. En effet, le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'Homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux (**Baba-Aissa, 2000**). Les médecines « douces », particulièrement la phytothérapie, connaissent un succès considérable dans de nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, utilisent les plantes médicinales comme principal traitement, du fait de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne de ces populations (**OMS, 2008**).

Il est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicaments, grâce à la richesse des produits dits du métabolisme secondaire ; celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal (**Eddouks et al., 2007**). De plus, un grand nombre de ces molécules ont également des intérêts multiples, dans l'industrie alimentaire et en cosmétologie (**Awono et al., 2009**). Parmi ces composés, on retrouve les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

Par ailleurs, la maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques. En effet, le mésusage des antibiotiques peut conduire à la colonisation ou l'infection de patients par des bactéries résistantes aux antibiotiques, tel que *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) et des bacilles à Gram négatif multirésistants comme les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre étendu (BLSE) ou de carbapénémases (**Safdar et Maki, 2002 ; Tacconelli et al., 2009**). De ce fait, les végétaux sont de plus en plus utilisés pour l'extraction des substances physiologiquement actives ou pouvant être transformées en médicament. La recherche de nouvelles molécules possédant un pouvoir antibactérien est particulièrement très active, notamment au niveau des plantes de la pharmacopée africaine (**Atefibeibu, 2002**). L'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydantes et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou non connues dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (**Teixeira Da Silva, 2004**). De plus, un regain d'intérêt envers la phytothérapie durant ces dernières années

a permis d'approfondir l'analyse de son efficacité thérapeutique et surtout de son aspect toxicologique (Zeggwagh *et al.*, 2013). En Kabylie, des connaissances traditionnelles relatives aux plantes et à leurs propriétés sont encore assez répandues ; certaines espèces sont reconnues par la population comme étant bénéfiques pour la santé ou au contraire toxiques (Mohand Ait Youcef, 2006).

L'objectif de notre travail est de réaliser une étude phytochimique, et une évaluation des activités anti-microbiennes des extraits méthanoliques, éthanoliques et à l'acétate d'éthyle, de la partie aérienne de la plante *Helminthotheca echioides* L. (Nom commun: picride fausse-vipérine). Cette espèce, appartient à la famille des astéracées, une plante très répandue dans la région de Kabylie. Les feuilles et les tiges sont consommées après cuisson dans la région méditerranéenne (Boari *et al.*, 2013) et crues dans la région de Kabylie. Cette plante est également utilisée dans cette région comme cicatrisants des plaies et comme remèdes contre les ulcères d'estomac et les reflux gastro-œsophagiens, ainsi que pour nourrir le bétail surtout en période de lactation.

Ce travail est scindé en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui regroupe des généralités sur les plantes médicinales et les métabolites secondaire des plantes et à la présentation de la plante étudiée (*Helminthotheca echioides*). La seconde partie est expérimentale ; elle consiste en un premier chapitre qui présente la méthodologie utilisée pour la réalisation des analyses phyto-chimiques et l'évaluation de l'activité anti-microbienne de la plante étudiée, et un second chapitre qui présente et discute l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude pour en dégager des conclusions et des perspectives.

# *PARTIE I :*

*Synthèse bibliographique*

# *Chapitre I :*

*Généralités sur les plantes  
médicinales et les métabolites  
secondaires*

## 1. Les plantes médicinales

### 1.1 Définition

Les plantes médicinales sont définies par la pharmacopée française comme des drogues végétales qui peuvent être utilisées entières ou sous forme d'une partie de plante et qui possèdent des propriétés médicamenteuses. L'expression « drogue végétale » désigne une plante ou une partie de plante, utilisée le plus souvent sous la forme desséchée, ou à l'état frais dans la fabrication des médicaments.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit la plante médicinale comme « une Plante sauvage ou cultivée utilisée à des fins médicinales » (OMS, 2003). Ainsi, pour l'organisme international, les médicaments à base de plantes incluent : des plantes, des matières végétales, des préparations à base de plantes et des produits finis qui contiennent comme principes actifs des parties de plantes, d'autres matières végétales ou des associations de plantes (Sofowora, 2010).

En d'autres termes, on qualifie de plante médicinale toute plante possédant des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisées en médecine naturelle mais peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. La branche de la médecine qui utilise des plantes médicinales est appelée phytothérapie. Parmi les principes actifs les plus courants des plantes médicinales, on peut nommer les polyphénols, les terpènes, les stéroïdes et les alcaloïdes (Bruneton, 2009).

### 1.2 Historique

Depuis des millénaires, tous les peuples ont élaboré des médecines selon leur intelligence, leur génie, leur conception culturelle de la santé et de la maladie et les rapports qu'ils entretenaient avec leur environnement. L'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité. L'Homme, poussé par sa curiosité, fut tenté de goûter à tout ce qui lui tombait sous la main, s'exposant ainsi à l'immense pouvoir des végétaux apparemment inoffensifs. Au fil des siècles, apprenant à distinguer le comestible du mortel, à se servir des substances toxiques aux dépens de leurs ennemis, à reconnaître les vertus curatives cachées dans leur environnement naturel, nos ancêtres nous ont légué une longue chaîne de savoirs traditionnels dont l'ensemble constitue la médecine traditionnelle actuelle (Eddouks *et al.*, 2007).

Le tout premier témoignage de l'utilisation des plantes médicinales est la découverte de graines de pavots et de graines de ricin dans certaines tombes anciennes égyptiennes, révélant leur emploi dans cette partie d'Afrique dès 1500 av. J-C. Des écritures retrouvées sur des papyrus tels que le papyrus d'Ebers confirment que des plantes médicinales furent utilisées en Egypte ancienne. Plus tard, la Grèce antique se distingue avec l'apparition des premiers thérapeutes comme Hippocrate. Il rassembla et décrivit quelques 400 remèdes simples à base de plantes. Parmi les plantes médicinales décrites par Hippocrate figurent le pavot, la verveine, la menthe, la sauge et le romarin (**Sofowora, 2010**). Il différencia également l'usage interne et l'usage externe et définit la notion de dose qui permet de distinguer l'effet thérapeutique de l'effet toxique (**Colette-keller, 2004**). Théophraste d'Athènes, biologiste-botaniste, produisit un grand nombre de manuscrit dont le célèbre *Historia plantarum*, qui devint le livre de botanique standard en son temps et pendant des années après sa mort. Par la suite, Dioscoride publia la grande œuvre, *materia medica*, qui contenait la description de quelques 600 plantes médicinales (genévrier, bardane, pivoine, etc.) (**Sofowora, 2010**).

Au moyen âge, les écrits de Galien devinrent populaires avec plus de 500 livres. Il traitait les maladies essentiellement par les plantes médicinales. Les systèmes de médecine allopathique et homéopathique actuels sont basés sur les méthodes préconisées par Galien (**Callery, 1998 ; Wichti et Anton, 1999 ; Sofowora, 2010**).

Partout dans le monde, les plantes médicinales furent utilisées : les Mayas, Aztèques et Incas utilisaient la salsepareille, le tabac et le poivre. Puis vint la période du commerce entre l'Europe, le Moyen orient, l'Inde et l'Asie...Le développement des explorations furent à l'origine de découvertes importantes. En Europe, les plantes représentent l'essentiel de la pharmacopée jusqu'à la fin du XIXe siècle et l'avènement de la chimie moderne. Encore largement utilisées après la seconde guerre mondiale, elles furent ensuite supplantées par les médicaments de synthèse (**Wichti et Anton, 1999**).

Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées (**Carillon, 2000**). La pharmacologie s'oriente de plus en plus vers des traitements à base de plantes, car l'efficacité de la synthèse chimique a largement atteint ses limites, comme en témoigne l'antibiorésistance microbienne, à l'origine de la recrudescence des maladies nosocomiales (**Iserin, 2001**).

### 1.3 Utilisation des plantes médicinales en thérapeutique

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Iserin, 2001**). La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés (**Bruneton, 2009**).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique en tant qu'agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments (**Decaux, 2002**). La tubocurarine, le relaxant musculaire le plus puissant dérive du curare (*Chondroendron tomentosum*). La morphine, alcaloïde caractéristique des papavers (*papaver somniferum*) est l'analgésique le plus puissant, utilisé dans la chirurgie lourde et la thérapie anticancéreuse. Il est difficile d'imaginer le monde sans la quinine (dérivée du genre *Cinchona*) qui est un alcaloïde anti-malarique, sans la digoxine (du genre *Digitalis*) qui est cardiotonique, ou encore l'éphédrine du genre (*Ephedra*) que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre le rhume, comme stimulateur de l'automatisme cardiaque et du centre respiratoire bulbaire (**Iserin, 2001 ; Bruneton, 2009**).

Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées, huiles essentielles (**Iserin, 2001**). Ces plantes, connus depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens et antifongiques. Ces propriétés antifongiques ont été confirmées par de nombreux travaux sur les souches de levures, de dermatophytes et d'*Aspergillus* (**Pinto et al., 2003 ; Salgueiro et al., 2003**), et présentent un potentiel thérapeutique, principalement dans les maladies fongiques impliquant les muqueuses, la peau et autres infections des voies respiratoires. Certaines espèces de *Juniperus*, sont aussi utilisées en médecine populaire comme antiseptiques (**Newall et al., 1996**). *Juniperus communis* est traditionnellement utilisée pour le traitement des infections urinaires, *Juniperus oxycedrus* est utilisée comme un remède pour les infections dermatologiques (**Cosentino et al., 2003**) et *Juniperus phoenicea* est considérée comme anti-microbien et antioxydant (**Bouzouita et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007**).

#### 1.4 Les plantes, source naturelle d'anti-microbiens

Les plantes synthétisent de nombreuses molécules dotées d'une activité anti-microbienne. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne (Tegos *et al.*, 2002 ; Lewis et Ausubel, 2006). Une molécule phytochimique est considérée comme anti-microbienne, si elle est capable d'inhiber la croissance des micro-organismes pour des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 100 µg/mL et 1000 µg/mL. Pour les antibiotiques d'origine microbienne, des CMI, variant de 0.01 µg/mL à 10 µg/mL, sont suffisantes pour inhiber l'activité des micro-organismes (Tegos *et al.*, 2002).

En outre, le spectre d'action des anti-microbiens produits par les plantes est plus restreint que celui des antibiotiques conventionnels. En effet, ces derniers possèdent une activité anti-bactérienne importante contre les bactéries à Gram positif, mais sont peu actifs contre les bactéries à Gram négatif (Lewis, 2001). Cependant, certains composés, comme l'acide 3-famesyl-2-hydroxy benzoïque, isolé de la plante *Piper multiplinervium* présente une activité anti-bactérienne contre *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec des CMI comprises entre 6.25 µg/mL et 37.5 µg/mL (Rüegg *et al.*, 2006).

De nombreux autres anti-bactériens produits par des plantes, présentant une activité contre *Staphylococcus aureus* et des souches résistantes aux antibiotiques, ont été décrites dans la littérature (Gibbons, 2008). On peut citer comme exemple, la Xanthone, une molécule isolée de *Garcinia cambodgiae*, présente une haute activité anti-staphylococcique avec des CMI comprises entre 0.3 µg/mL et 1.25 µg/mL (Linuma *et al.*, 1998). L'hyperforine, produite par *Hypericum perforatum*, a démontré une importante activité contre des souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline et à la méthicilline, avec des CMI allant de 0.1µg/mL à 1µg/mL (Schemp *et al.*, 1999).

Les plantes ont développé plusieurs stratégies pour contrôler les infections bactériennes. La synthèse d'un grand nombre de molécules faiblement actives plutôt que de puissants antibiotiques, constitue l'une d'elles. Cependant, l'activité de ces anti-bactériens peut être augmentée lorsqu'ils sont couplés à d'autres molécules grâce à un effet synergique (Guinoiseau, 2010).

La berbérine est un alcaloïde qui cible l'ADN (Amin *et al.*, 1969). Ce composé constitue chez les bactéries, un substrat pour des transporteurs membranaires, appelés pompes d'efflux. Ces pompes rejettent la berbérine en dehors de la cellule, ce qui l'empêche

d'accéder à sa cible. Afin de pallier à ce problème, les plantes productrices de ce composé, *Berberis* sp., synthétisent une flavonolignane, la 5'-MHC, qui bloque ces pompes.

Par ailleurs, les plantes peuvent également produire des substances anti-bactériennes, capables de bloquer la voie du quorum sensing (QS), afin de lutter contre les infections causées par les bactéries formatrices de biofilms. En effet, les plantes *Pisum sativum* (Teplitski *et al.*, 2000 ; Bauer et Mathesius, 2004) et *Medicago truncatula* (Gao *et al.*, 2003) produisent des molécules qui perturbent la communication intercellulaire bactérienne en inhibant certaines voies de la régulation du QS (Bauer et Mathesius, 2004).

### 1.5 Méthodes d'utilisation des plantes médicinales

En phytothérapie traditionnelle, les plantes peuvent être utilisées fraîches, ce qui n'est pas toujours possible, ou séchées, entrant ensuite éventuellement dans des préparations diverses préservant leurs principes actifs. On les administre sous forme de teintures alcooliques, macérats, tisanes, compresses, baumes... Généralement, seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les racines, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs (Eddouks *et al.*, 2007).

Des procédés plus récents permettent d'obtenir l'ensemble des principes actifs, la plus rudimentaire consiste en un broyage fin (cryobroyage par exemple) de la plante après séchage et permet l'obtention d'une poudre. Cette poudre peut être ensuite présentée sous forme de comprimés, gélules, sachets, etc. Un autre procédé, l'extraction, optimisant le principe de la tisane, permet l'obtention d'une poudre purifiée et concentrée en principes actifs. Après le broyage grossier des plantes, la poudre est plongée dans une solution naturelle, le solvant (eau ou alcool), adaptée aux propriétés physicochimiques des principes actifs recherchés. Cette phase cruciale permet d'isoler tous les principes actifs et de conserver leur synergie d'action. Le liquide ainsi obtenu va ensuite subir une phase de filtration afin d'éliminer les composés solides non assimilables tels que la cellulose. Puis une phase de séchage modéré sous vide qui éliminera progressivement le solvant et d'éventuels contaminants (Bruneton, 2009). L'extrait sec ainsi obtenu bénéficie des avantages suivants :

- Concentration en principes actifs ;
- Uniformité de la teneur en principes actifs (indépendamment des variations naturelles, lieu, saison...);
- Biodisponibilité maximale par suppression des composés non assimilables ;

- Sécurité sanitaire : absence de contamination microbiologique et chimique.

En Europe, certaines plantes reconnues comme plantes médicinales sont soumises comme les médicaments à une autorisation de mise sur le marché. De ce fait, les produits extraits de certaines plantes ne sont vendus que dans les pharmacies et parfois sur ordonnance.

## 2. Les métabolites secondaires

Le métabolisme secondaire dérive du métabolisme primaire et fournit des métabolites à faibles quantités, mais dont l'application dans différents domaines, en particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance (**Harbone, 1998**). Les composés phénoliques, les alcaloïdes ainsi que les huiles essentielles font partis du groupe des métabolites secondaires (**Haddouchi et Benmansour, 2008**).

### 2.1 Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ces métabolites sont généralement caractérisés par leurs faibles concentrations dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total) (**Newman et Cragg, 2012**). Ces derniers n'exercent donc pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante. Leur absence n'entraîne pas une mort immédiate mais peut cependant limiter la survie, la fécondité ou l'apparence d'un organisme (**Guignard, 1996**).

Les métabolites secondaires sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Ils ont essentiellement pour rôle d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les biosynthétise en lui conférant un avantage sur d'autres organismes (**Coffi et al., 2012**). Les métabolites secondaires ont donc des fonctions biologiques qui peuvent s'avérer essentiels (**Scharf et al., 2014**) :

- les pigments isoprénoïdes et les parfums (isoprénoïdes volatils) des plantes attirent les insectes pollinisateurs (essentiels pour la reproduction) ;
- moyens de défense contre des agressions d'origines biotiques et abiotiques ;
- communication entre plantes, micro-organismes ou animaux (hormones, phéromones, ...).

Les plantes produisent plus de 200.000 métabolites secondaires. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils

représentent une immense valeur économique, en particulier pour l'industrie pharmaceutique et cosmétique (Crozier *et al.*, 2006).

## 2.2 Biosynthèse

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, et résulte généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate (Verpoorte et Alfermann, 2000). La plupart des précurseurs sont issus de la glycolyse, de la voie des pentoses phosphate, et du métabolisme des lipides. Ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires (Mayer, 2004).

Du point de vue synthétique, ces métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés en deux catégories : ils peuvent être de type phyto-anticipines ou de constitution, c'est-à-dire synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par opposition aux métabolites induits ou phytoalexines qui sont synthétisés uniquement en cas de stress et sont donc formés de novo (Litvak et Monson, 1998).

## 2.3 Classification

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes (Hennebelle *et al.*, 2004):

- les terpènes (par exemple : les substances volatiles des plantes, les glycosides, les caroténoïdes, les stérols, ...);
- les composés phénoliques (par exemple : les acides phénoliques, les coumarines, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins, la lignine, ...);
- les composés azotés (par exemple : les alcaloïdes, les glucosinolates, ...).

## 2.4. Les polyphénols

### 2.4.1. Définition

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux. Ces composés sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (Bruneton, 1999). La grande majorité des composés phénoliques dérivent de l'acide cinnamique formé par la voie du shikimate (Gorham, 1977). Ils sont solubles dans la solution de carbonate de sodium. Chimiquement, ils sont réactifs et

donnent souvent lieu à des liaisons hydrogènes, ou chélate des métaux pour les O-dihydroxyphénols (catéchol). Ils sont également sensibles à l'oxydation (Gorham, 1977).

### 2.4.2. Classification

La classification de ces substances a été proposée par Harborne (1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base (Macheix *et al.*, 2006).

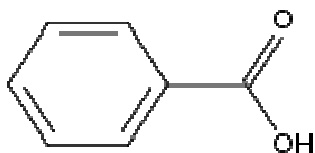
#### 2.4.2.1. Polyphénols monomériques

##### a) Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (Haslam, 1994). Ils se divisent en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Pandey et Rizvi, 2009).

- **Acide phénol dérivé d'acide benzoïque :**

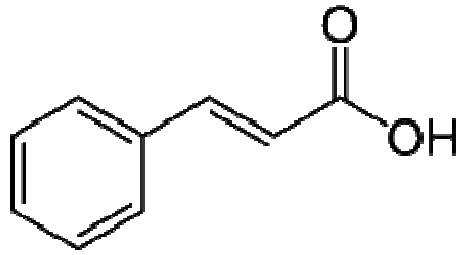
Se sont des **hydroxybenzoïque** et ont une structure générale de base de type (C6-C1) (Figure 01). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Harrar, 2012). Les plus répandus sont: l'acide salicylique et l'acide gallique (Bruneton, 1999).



**Figure 01:** Structure de l'acide benzoïque (Bruneton, 1999).

- **Acide phénol dérivé d'acide cinnamique :**

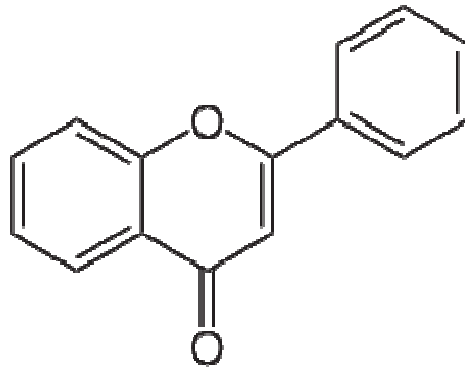
Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (Figure 02) sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique (Haslam, 1994). Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques et comprennent essentiellement l'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (Pandey et Rizvi, 2009).



**Figure 02:** Structure de l'acide cinnamique (Gorham, 1977).

### b) Les flavonoïdes

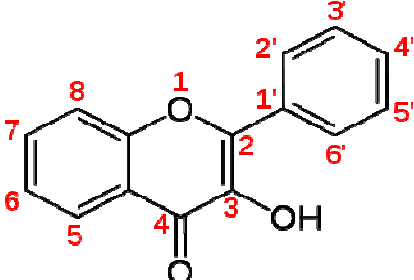
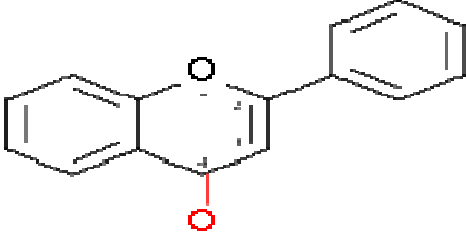
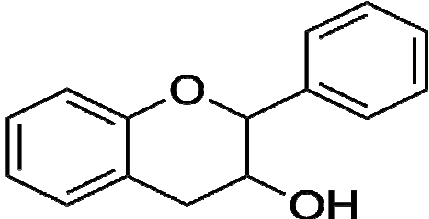
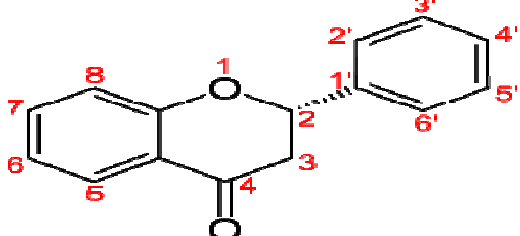
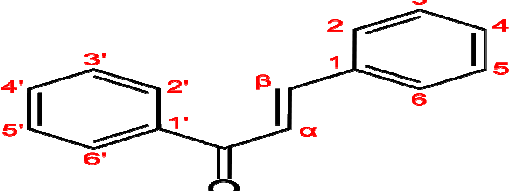
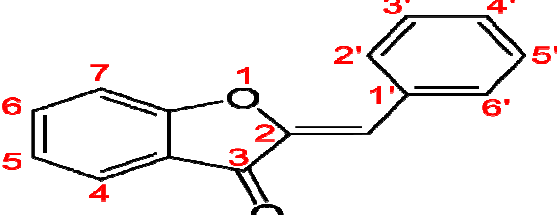
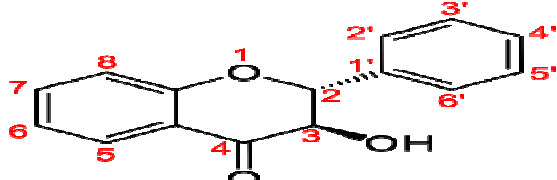
C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Benhammou, 2011). En 2003, environ 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grunhage, 2003) ; certains sont des pigments quasi-universels des végétaux. Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liée à des oses et autres substances (Figure 03) (Heller et Forkmann, 1993).

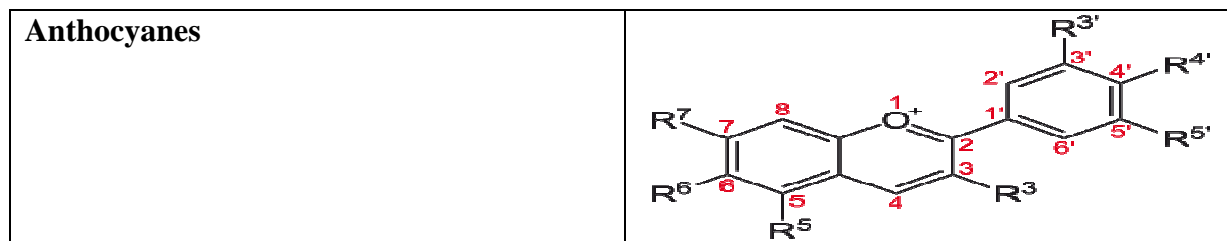


**Figure 03:** Structure de base d'un flavonoïde (Heller et Forkmann, 1993).

La nature chimique des flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont représentées dans le tableau 1.

Tableau 01: Différentes classes de flavonoïdes (Nkhili, 2009).

<p><b>Flavonols</b></p>	
<p><b>Flavones</b></p>	
<p><b>Flavan-3-ols ou flavanols ou catéchines</b></p>	
<p><b>Flavanones</b></p>	
<p><b>Chalcones</b></p>	
<p><b>Aurones</b></p>	
<p><b>Flavanonols</b></p>	



### 2.4.2.2. Polyphénols sous forme de polymères

#### a) Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al., 2006**). Ces composés naturellement produits par les plantes, se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (**Mangan, 1988 ; Mcsweeney et al., 2001 ; Makkar, 2003**). Grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (**Khenaka, 2011**), aussi à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, les protéines peuvent former avec ces derniers des complexes stables, d'où leurs propriétés de tanner à la peau (**Haslam, 1998**).

Ils sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les *conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée* (**Ghestern et al., 2001**). Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabae et Ree, 2001**). En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type d'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (**Rira, 2006**).

- **Les tanins hydrolysables**

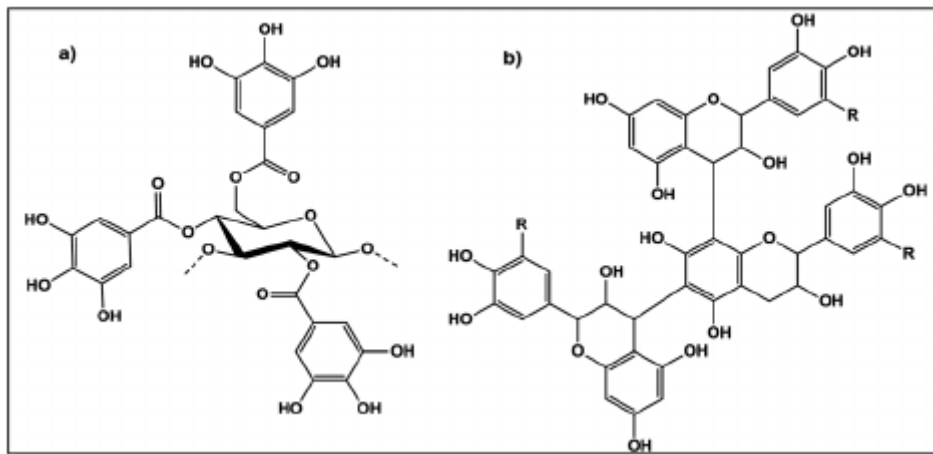
Se sont des hétéropolymères possédant un noyau central constitué d'un polyol ; il s'agit souvent d'un D-glucose (**Figure 04**). Comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides (généralement le glucose) et des acides phénoliques (**Leinmuller et al., 1991**). Selon la nature de l'acide phénol on distingue :

- les tanins galliques ou gallo-tanins : par hydrolyse ils libèrent l'ose et l'acide gallique ;

- les tanins ellagiques ou ellagi-tanins : par hydrolyse, ils libèrent l'ose, l'acide HHDP (acide hexahydroxy diphénique) et différents dérivés (acide ellagique et acide chébulique).

- **Tanins condensés**

Se sont des tanins non hydrolysables et sont plus complexes que les tanins galliques (**Figure 04**). Ils possèdent un squelette phényl-2-chromane de flavonoïdes (**Alilou, 2012**). Il est admis aujourd'hui que ces tanins sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4-dioles). On peut les qualifier encore de tanins flavaniques (**Richter, 1993**).



**Figure 04** : Structure chimique de (a):tanin hydrolysable et (b): tanin condensé (**Bimlesh et al., 2014**).

### b) Les lignines

C'est le polymère aromatique naturel le plus abondant ; il constitue 15 à 40% de la matière sèche des arbres et 5 à 20% des tiges des plantes annuelles (**Figure 05**) (**Privas, 2013**). Les lignines forment une barrière mécanique en rigidifiant les parois cellulaires (**Cruz et al., 2001**). De goût désagréable et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux micro-organismes et herbivores. La lignification est d'ailleurs une réponse courante à l'infection ou à la blessure (**Murry et al., 1982**).

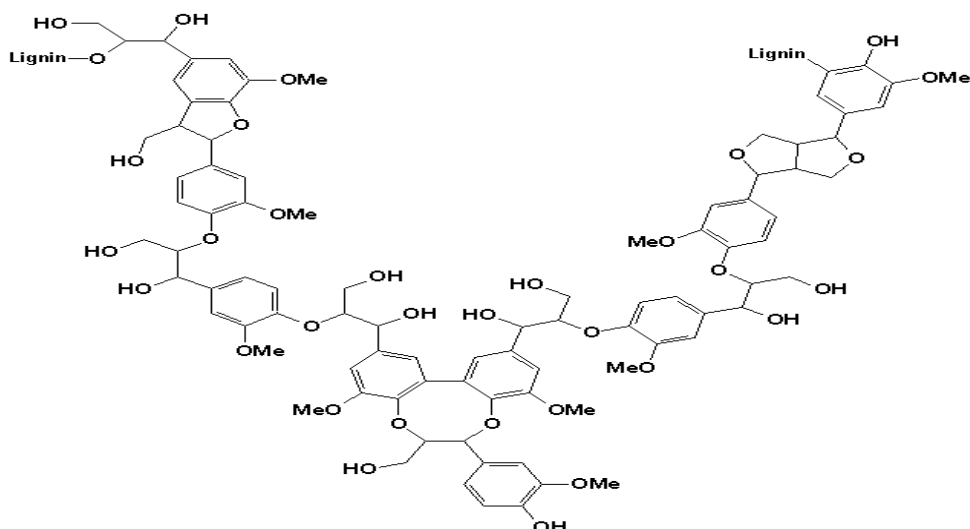


Figure 05 : Structure chimique des lignines (Wertz *et al.*, 2015).

### c) Les coumarines et les stilbènes

- Les coumarines

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal surtout chez certaines familles de Dicotylédones : Rutacées (bergamote), Fabacées (fève Tonka), Apiacées (Khella), Loganiacées, Solanacées, Astéracées, Hippocastanacées (marronnier d'inde) (Crozier *et al.*, 2006). Ce sont des substances naturelles dérivant de la benzo- $\alpha$ -pyrone ; ils résultent de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxycinnamique (Figure 06) (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). Elles sont plus ou moins solubles dans l'eau (Bruneton, 1999).

Les coumarines sont formées dans les feuilles et s'accumulent surtout dans les racines et les écorces, ainsi que dans les tissus âgés ou lésés. Cette substance ainsi que ses dérivés ont des actions phytobiologiques (Hostettmann, 1992), bactériostatiques et anti-fongiques (Rufini et Sampaolo, 1977). Elles ont également un effet anti-œdémateux (Hoult et Paya, 1996).

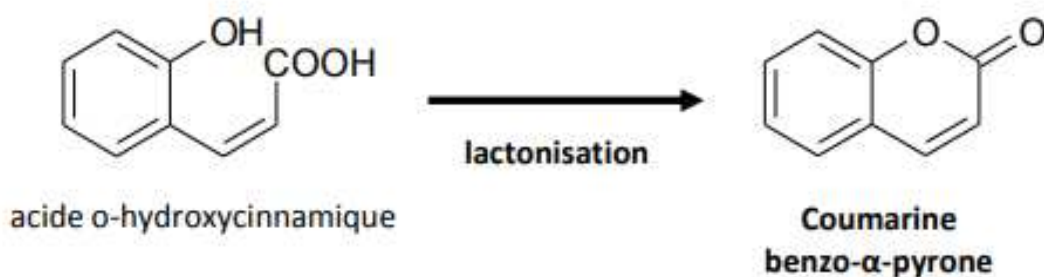
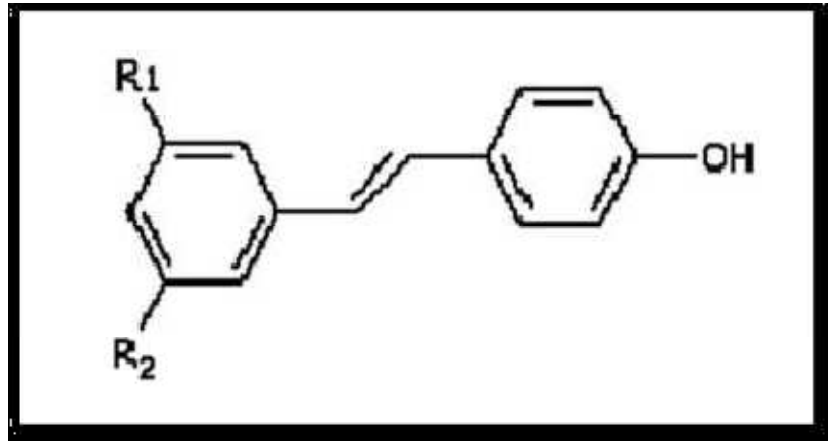


Figure 06 : Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999).

- **Les stilbènes**

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison (**Figure 07**). Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action des enzymes oxydases et peroxydases (**Perret, 2001**).



**Figure 07:** Structure chimique des stilbènes (**Perret, 2001**).

#### 2.4.2.3. Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques (**Mohammedi, 2013**):

- Celle de l'acide shikimique (shikimate) ;
- Celle issue de l'acétate-malonate.

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte (**Martin et Tsitohaina, 2002**).

#### 2.4.2.4. Principaux composés phénoliques à pouvoir antimicrobien

De nombreuses études *in vitro* menées sur les composés phénoliques les ont confirmés comme agents anti-microbiens contre un grand nombre de micro-organismes pathogènes, avec des spectres d'activités variables (**Scalbert, 1999**). En effet certains quinones présentent un effet bactériostatique sur les bactéries à Gram positif mais pas vis à vis des bactéries à

Gram négatif (**Riffel et al., 2002**). Les acides-phénols ont des propriétés antiseptiques, antifongiques et anti-bactériennes (**Bruneton, 1999**).

Des récentes études ont montré que les coumarines exercent plusieurs activités antimicrobiennes (**Benidicte et Hooper, 1998**) : inhibitions de la croissance de *Saccaromyces cerevisiae* et de la germination des spores d'*Aspergillus niger*. Pour l'activité anti-bactérienne on note qu'ils sont plus efficaces contre les Gram positifs (**Benkiki, 2006**).

Les flavonoïdes avec leurs différentes classes dont les plus importantes sont les flavones, flavonols, flavonones, flavonones 3-oles, flavanes-3,4 dioles, et les anthocyanidines (**Marfak, 2003**), ont un grand potentiel antibactérien (**Alan et Miller, 1996**). En se complexant avec des composants de la parois, ces derniers inhibent la croissance microbienne (**Rojas et al., 1992 ; Perret et al., 1995**) en perturbant leurs métabolismes énergétiques (**Jones et al., 1994**).

D'autre part, les tanins sont largement connus par leurs propriétés inhibitrices des micro-organismes et des enzymes grâce à leur pouvoir à former des complexes stables avec les protéines et en les précipitant (**Nguz et al., 1996**). Ils exercent une activité anti-bactérienne par interaction avec la membrane cellulaire qui induit un changement morphologique de la bactérie, en inhibant l'activité des protéases, des protéines de transport et des adhésines (**Cowan, 1999**). Des effets inhibiteurs de la réplication des virus ont été également décrits *in vitro* (**Bruneton, 1999 ; Charpentier et al., 2008**). Le tableau 2 présente le mode d'action de quelques composés phénoliques.

**Tableau N°2:** Mode d'action de quelques composés phénoliques (**Cowan, 1999**).

Différents composés phénoliques	Exemples	Mécanismes
Phénols simples	Catéchol	Privation de substrat
Acides phénoliques	Acide cinnamique	Désactivation des enzymes
Quinones	Hypericin	Liaison aux protéines
Flavonoïdes	Abyssinone	Inhibition des enzymes
Tannins	Ellagotannin	Interruption de la fonction membranaire

## 2.5. Les alcaloïdes

### 2.5.1. Définition

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles, le plus souvent d'origine végétale, azotée et basique (Schauenberg et Paris, 2005). Les alcaloïdes ont une structure complexe ; leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (Figure 08). Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce, ils peuvent s'accumuler uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles ou dans les fruits (Ziegler et Facchini, 2008). La partie dans laquelle les alcaloïdes s'accumulent n'est pas forcément celle où ils sont synthétisés. Dans le tabac par exemple, la nicotine est produite dans les racines mais transférée ensuite vers les feuilles où elle est stockée (Mann *et al.*, 1994). Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3% du poids sec de la drogue (Roux et Catier, 2007). Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, ils sont le plus souvent combinés à des acides organiques ou à des tanins (Ziegler et Facchini, 2008).

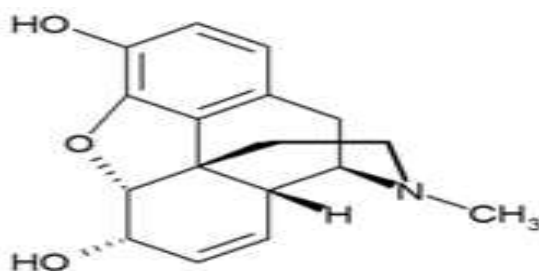


Figure 08: Exemple d'alcaloïde : la morphine (Osbourn et Lanzotti, 2009).

### 2.5.2. Propriétés et Biosynthèse

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes d'un point de vue biologique car certaines constituent le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes (Hess, 2002). Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau; ils sont cependant solubles dans l'alcool plus à chaud qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque (Cowan, 1999).

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques uniques (Ziegler et Facchini, 2008). Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (Nacoulma, 2012), tels que:

- la phénylalanine (précurseur du noyau isoquinoléine) ;
- le tryptophane (précurseur du noyau indole) ;
- l'ornithine (précurseur de l'éphédrine...) ;
- la méthionine intervenant dans les processus de transméthylation, etc...

Certains alcaloïdes (issus de plantes rares ou difficiles à cultiver) ont été reproduits par synthèse. D'autres sont des dérivés de produits naturels (héroïne dérivé de la morphine, LSD ...).

### 2.5.3. Classification

#### a) Selon l'origine biosynthétique

On distingue trois types d'alcaloïdes :

- **alcaloïdes vrais** : Ils comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique et sont bio-synthétiquement formés à partir d'un acide aminé ;
- **pseudo-alcaloïdes** : ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés ;
- **proto-alcaloïdes** : se sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés (**Bruneton, 1999**).

#### b) Selon leur composition chimique et structure moléculaire

Les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes :

- **Phénylalanines**: comme capsaïcine chez le piment, colchicine chez colchique.
- **Alcaloïdes isoquinoléiques** : comme: morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine continues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine et ergotoxine de l'ergot des céréales (**Gonzalez et al., 1984**).
- **Alcaloïdes quinoléiques**: se trouvent dans les écorces de Cinchona (**Donatien, 2008**).
- **Alcaloïdes pyridiques et pipéridiques**: par exemple: ricinine chez ricin.
- **Alcaloïdes dérivés du tropane** : comme scopolamine et atropine chez la belladone.
- **Alcaloïdes stéroïdes**: racine de vétrate, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple (**Gonzalez et al., 1984**)

#### 2.5.4. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle de défense contre les herbivores ; chez l'Homme ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques ainsi que de nombreuses utilisations en thérapeutique, notamment au niveau du système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire (Mccalley, 2002 ; Stöckigt *et al.*, 2002 ; Gazengel et Orecchioni, 2013). Parmi les effets physiologiques que l'on peut noter :

- des effets sur l'activité cérébrale et le système nerveux : stimulant, euphorisant, excitant, hallucinogène, antalgique, hypnotique, paralysant, vomitif... ;
- des effets sur le système cardio-vasculaire : régulateur de la tension sanguine (hypertension, hypotension), bronchodilatateur....

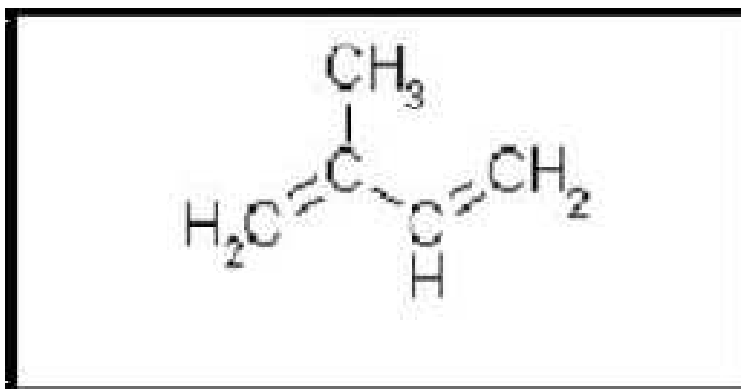
De nombreux travaux ont d'ailleurs montré l'intérêt des alcaloïdes dans l'activité antiplasmodiale, antispasmodique, anticancéreuse et sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson). Leurs effets laxatif et antirhumatismal, ont été également révélés (Zirih *et al.*, 2005 ; 2006 ; Iserin *et al.*, 2007 ; Zirih *et al.*, 2007 ; N'Guessan *et al.*, 2009).

Ces nombreuses activités conduisent à une utilisation importante des drogues à alcaloïdes, soit sous forme de préparation galéniques, soit le plus souvent, pour l'extraction des alcaloïdes qu'elles renferment. Ces alcaloïdes sont utilisés eux mêmes ou servent de matière première d'hémi-synthèse (Gazengel et Orecchioni, 2013).

### 2.6. Les terpénoïdes

#### 2.6.1. Définition

Appelés aussi terpènes, ils constituent un vaste groupe de métabolites secondaires. Se sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Hellal, 2011). En effet les plantes synthétisent plus de vingt deux milles dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (Conolly, 1992). Ils répondent dans la plupart des cas à la formule générale (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (Seenivasan, 2006), c'est-à-dire que leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique (**figure 09**) à 5 atomes de carbone (Hernandez-Ochoa, 2005).



**Figure 09:** Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia *et al.*, 2007).

### 2.6.2. Biosynthèse

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux. Ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isopréniques (Bhats *et al.*, 2005).

#### a) Voie de mévalonate

Se fait dans le cytosol et le réticulum endoplasmique, la plus anciennement connue, utilise l'acétyl-CoA comme point de départ, tout comme la biosynthèse des acides gras (Sharkey, 1991).

#### b) Voie desoxyxylulose-5- phosphate

La voie de desoxyxylulose-5-phosphate (DXP) fut découverte chez les organismes procaryotes, puis généralisée selon les dernières recherches aux chloroplastes des plantes supérieures. Cette voie donne naissance aux précurseurs d'isoprènes, monoterpènes, diterpènes et tétraterpènes et ce à partir des produits issus directement de la photosynthèse, la pyruvate et glycéraldéhyd 3-phosphate (Lichtenthaler, 1999).

### 2.6.3. Classification

Les terpènes sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyle butadiène, appelées unités isopréniques (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des anneaux. De ce fait une classification rationnelle, basée sur ce nombre qu'ils renferment, est possible (Bottine, 2011).

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes ou monoterpènes en C<sub>10</sub>, les sesquiterpènes en C<sub>15</sub>, les diterpènes en C<sub>20</sub>, les triterpènes C<sub>30</sub> et les tétraterpènes C<sub>40</sub> (**Guignard, 1996**).

# *Chapitre II :*

*Présentation de la plante  
Helminthotheca echioïdes*

## 1. Caractères généraux des Astéracées

Le mot Grec « Aster » signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Les Asteraceae (anciennement appelées Composées) sont une famille appartenant aux Dicotylédones, comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites dont 750 endémiques. C'est une des familles les plus importantes des Angiospermes.

Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues : rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes (Yuan H *et al.*, 1992). Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues. (Junich K *et al.*, 1994) ; bien que généralement ce soit des plantes herbacées à feuilles isolées (Yuan H *et al.*, 1992).

### 1.1 Description botanique

Les Astéracées, sont présentes principalement dans les régions tempérées et froide du globe (Lee *et al.*, 2003). Ce sont majoritairement des plantes herbacées, même si la famille comprend aussi des arbres, des arbustes ou des lianes, mais rarement des plantes aquatiques. Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige. Les feuilles sont le plus souvent alternes, mais aussi opposées ou radiales, simple exstipulées (Khallouki *et al.*, 2000). Les composées sont répartie en fonction de leurs fleurs en deux type: l'un ayant des fleurs à corolles ligulées et l'autre à corolles tubulées (Pistelli *et al.*, 1998).

### 1.2 Utilisations et intérêts économiques

La famille des Astéracées est anciennement connue pour ses propriétés médicinales et pharmacologiques. Les plantes de cette famille sont utilisées comme remède en médecine traditionnelle. De nombreuses espèces figurent également dans les pharmacopées ; elles sont utilisées pour leur activités anti-microbiennes (Lacaille-Dubois *et al.*, 2000) , anti-fongiques (Kaipnazarov *et al.*, 2004), anti-inflammatoires (Hostettmann *et al.*, 1995 ; Dey *et al.*, 1991), anti-ulcéreuses ( Manitto, 1981), antibiotiques (Voutquenne, 1997), antivirales (Voutquenne, et al.,1998) et anti-tumorales (Voutquenne *et al.*, 2002). La famille des Astéracées est d'ailleurs réputée pour sa grande richesse en composés naturels ; elle est source de polyphénols, de flavonoïdes, de coumarines, de terpènes, d'alcaloïdes, de lactones, de tanins et d'huiles essentielles, qui possèdent souvent des activités biologiques intéressantes (Benali, 2016).

Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires: La laitue est la plante la plus cultivée de la famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol. De nombreuses autres espèces ont une utilisation ornementale, telle que la marguerite, le dahlia, le zinnia, le cosmos, le chrysanthème et l'aster. Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie: l'Arnica (*Arnica montana* L.), la camomille (*Matricariachamomilla* L. et *Anthemisnobilis* L.), le pied de chat (*Antenaria DjiocaGartn*), le tussilage (*Tussilagofarfara* L.). Certains comme le genre *Pyrethrum* fournissent un insecticide, d'autres (genre *Artemisia*) sont utilisés comme plantes médicinales et dans la fabrication de liqueurs comme l'absinthe ou le génépi (**Gausсен et al., 1982**).

## **Helminthotheca echioides**

### **2.1. Position systématique**

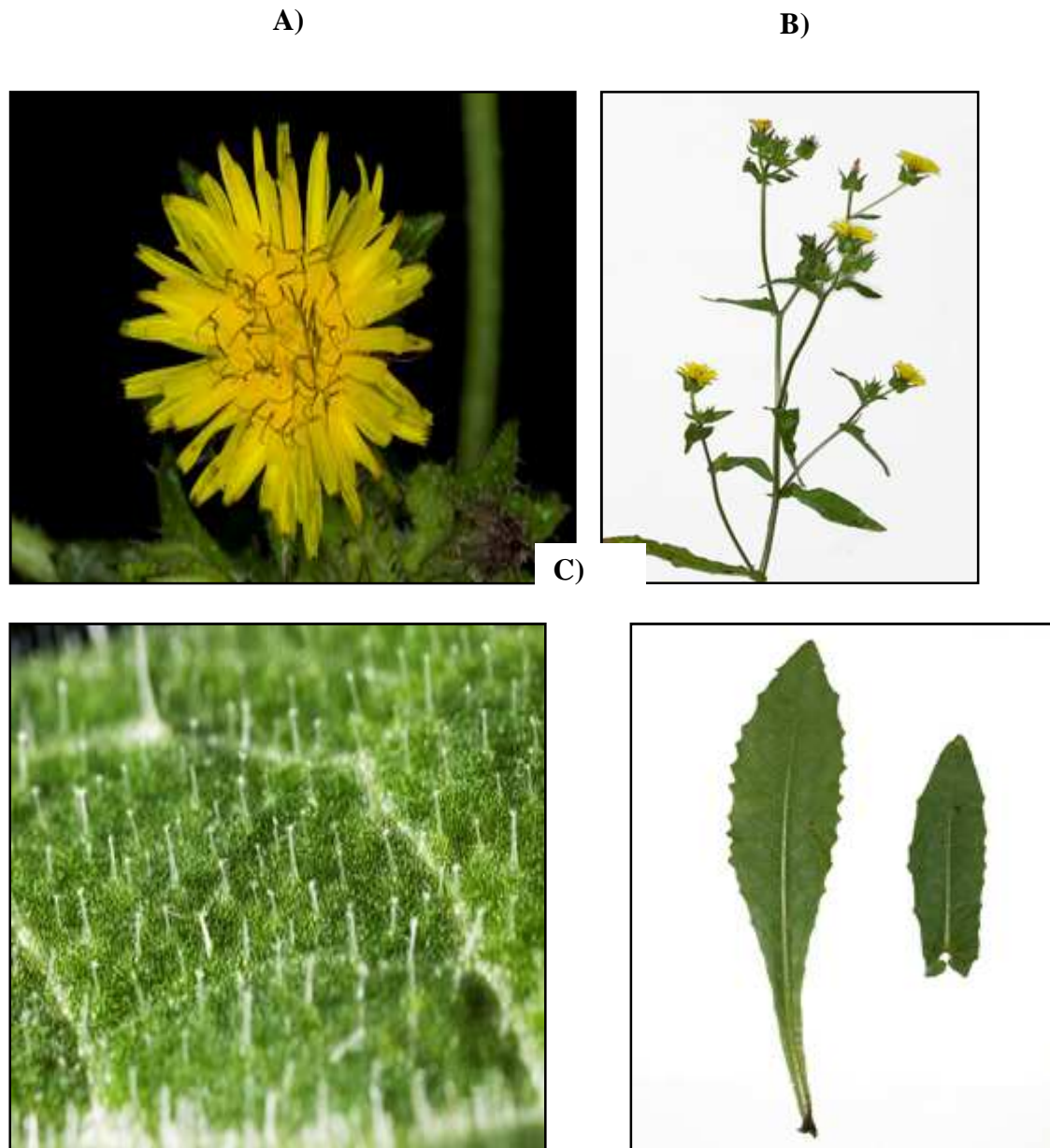
*Helminthotheca echioides*, appelée communément, Picride fausse vipérine, est une espèce de plante herbacée de la famille des Astéracées (**Bell, 1982**). Elle est classée selon **Holub, (1973)** comme suit :

- Domaine: Eukaryota
- Royaume: Plantae
- Embranchement: Spermatophyta
- Sous-embranchement: Angiospermae
- Classe: Dicotyledonae
- Ordre: Asterales
- Famille: Asteraceae
- Genre: *Picris*
- Espèces: *Helminthotheca echioides*

### **2.2 Description botanique**

*Helminthotheca echioides* (**Figure 10**) est une plante herbacée annuelle ou vivace qui peut atteindre 1 m de haut avec une structure ramifiée (**Holzappel, 1994 ; Vibrans, 2015**). La tige et les feuilles hérissées de poils durs de la Picride fausse vipérine, dessinent des contours grossiers, qui peuvent évoquer les traits de certains membres de la famille *Boraginaceae*. Les feuilles basales sont étroitement oblancéolées à elliptiques, atteignant 30 cm de long, obtuses à aiguës à l'apex, sinueuses à dentées en marge, décalées vers une base qui ressemble au pétiole (**Vibrans, 2015**). Généralement, elle a une racine

pivotante simple mais parfois aussi un système racinaire ramifié (Holzapfel, 1994). Elle a des fleurs jaunes et des akènes jaunes ou rougeâtres, légèrement ridés transversalement, brusquement terminés par un poil aussi long que l'akène (Tela Botanica, 2016).



**Figure 10** : Photographie représentant l'aspect morphologique d'*Helminthotheca echioides* L.

**A** : fleur, **B** : plante, **C** : feuille (Holub, 1973).

### 2.3 Distribution géographique et caractères écologiques

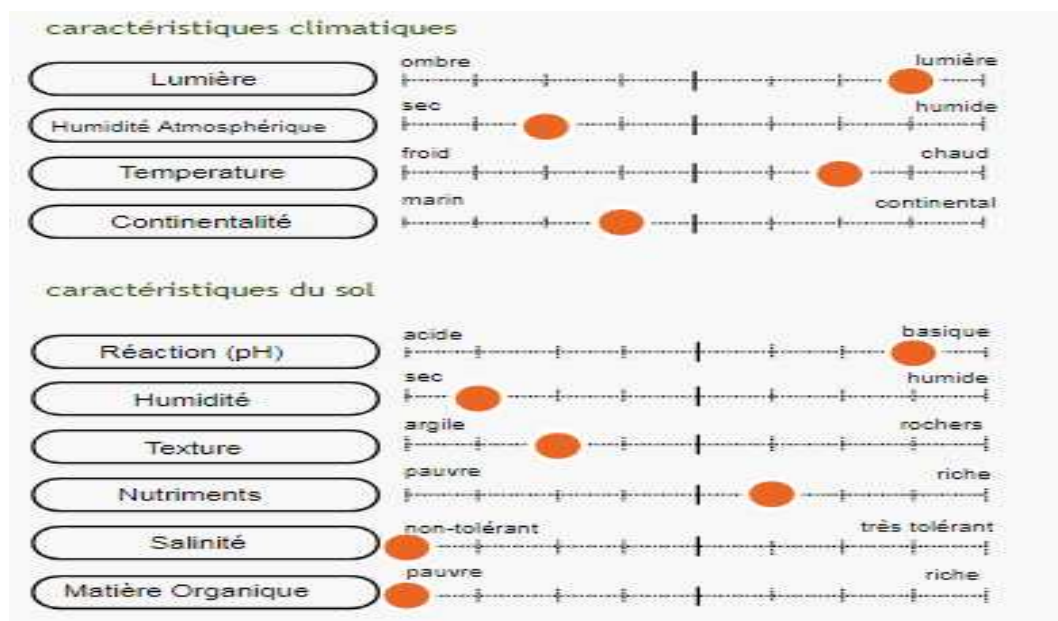
Il y a quelques divergences dans le placement de la distribution originale de *H. echioides* avec certaines sources, suggérant qu'elle était originaire de la seule région méditerranéenne occidentale (Tremetsberger *et al.*, 2015). D'autres élargissant son aire de

répartition naturelle à des pays aussi éloignés que la Russie et l'Ukraine en Europe, et en Azerbaïdjan et en Iran en Asie centrale (Greuter, 2006 ; Usda-Ars, 2016). *H. echioides* est considérée comme introduit, établi ou naturalisée en Australie, au Turkménistan, en Afrique du Sud, au Canada, aux États-Unis, en Argentine, au Chili, en Uruguay et dans d'autres pays européens (Holzapfel, 1994 , Grace, 2006 , Sirbu et Oprea, 2013 , Daisie, 2015 , Usda-ars, 2016).

*Helminthotheca echioides* est souvent associée à des habitats agricoles. Cette plante sauvage fréquente également les milieux habités par l'Homme, les jardins, les champs cultivés, les vergers, les bords de routes... Autant d'endroit où elle peut trouver une terre riche, bien exposée, tassée par le passage des pieds, des véhicules ou des machines (Vibrans, 2015).

Aux États-Unis, elle est surtout classée comme une espèce de plateau obligatoire qui ne se rencontre jamais dans les zones humides et seulement dans la région Arid West. En France et en Corse, on la trouve sur les bords des routes et des champs ainsi que dans les terrains vagues. En Nouvelle-Zélande, elle a été signalée comme une adventice commune des terres incultes, des pâturages, des zones urbaines et des lisières (Slovák et al., 2007).

Elle est capable de survivre à des climats secs et semble pousser à partir de pousses basales après des périodes sèches. *H. echioides* peut pousser dans une grande variété de types de sols et préfère les sols secs. Elle ne pousse pas bien à l'ombre. *H. echioides* survit bien dans des conditions difficiles, telles que la sécheresse. Il a été rapporté que cette espèce pouvait se contenter d'un sol argileux, à pH basique et riche en nutriments (Figure 11) (Holzapfel, 1993).



**Figure 11** : Ensemble des caractères écologiques de la Picride, fausse vipérine (Holzapfel, 1993).

## 2.4 Propriétés biologiques et utilisation traditionnelle

Beaucoup de propriétés médicinales ont été attribuées à cette plante, telles que l'activité antimicrobienne et anti-oxydante ainsi que la cicatrisation. De plus, comme la plante contient des tannins, elle a la propriété de resserrer les tissus, les capillaires, et les orifices, et elle tend à diminuer les sécrétions des glandes et des muqueuses. On l'utilise dans le traitement des diarrhées, des hémorragies, des angines...etc. Elle présente également des propriétés dépuratives ; elle purifie le sang et débarrasse l'organisme des principes toxiques nuisibles à la santé en les éliminant par la peau (sudorifiques), les reins (diurétiques) ou l'intestin (purgatifs ou laxatifs) (**Leclerc, 1954**).

En médecine traditionnelle, cette plante est surtout utilisée pour ses propriétés vulnérables ; en applications externes, elle contribue à la guérison des plaies, des blessures et des contusions. Dans la région de Kabylie, *H. echioides*, appelée Hlafa, est très répandue. Elle est considérée par la population locale comme un excellent cicatrisant des plaies et comme remède contre les ulcères d'estomac et les reflux gastro-œsophagiens.

En outre, il a été également rapporté, que dans cette même région, cette plante était consommée crue et servait de nourriture aux bétails, particulièrement durant les périodes de lactation, en raison de sa grande valeur nutritive. En méditerranée, les jeunes feuilles au centre de la rosette ainsi que les tiges, se mangent crues dans des salades composées, bouillies en soupe ou revenues à la poêle (**Boari et al., 2013**).

# *PARTIE II*

## *PARTIE EXPERIMENTALE*

*MATERIES*  
*ET*  
*METHODES*

- **Cadre de l'étude**

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein des laboratoires communs I et II d'analyses physico-chimiques, ainsi que le laboratoire pédagogique de Microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO) durant la période de Mars à Juin 2018.

L'objectif principal de ce travail, est de déterminer les propriétés phytochimiques et anti-microbiennes de la poudre obtenue par la méthode de séchage à l'air libre des feuilles d'*Helminthotheca echioides*.

## 1. Matériel

### a) Matériel de laboratoire

L'ensemble des appareillages, matériel, verrerie, solvants, réactifs chimiques utilisés sont cités dans le **Tableau 3**.

**Tableau 03** : Appareillage, matériel, solvants, réactifs chimiques et solutions utilisés.

Appareillage, matériel, verrerie de laboratoire	Solvants et solutions
-Agitateurs magnétiques, balance de précision 0,001g (KERN 770), bain-marie, étuve (MEMMERT), plaque chauffante (RYPA), spectrophotomètre visible (EV 9200), réfrigérateur, autoclave (WEBECO), bec bensen. -Béchers, burette, éprouvette, cristallisoirs, mortier, tamis, spatules, pince, anse de platine, micropipettes, pipettes Pasteur, cuves, tubes à essai, papier filtre, écouvillons, embouts en plastiques stériles.	Acide chlorhydrique Ammoniaque Acétate de sodium Acide gallique Chloroforme Chlorure ferrique Carbonate de sodium Eau distillée Ethanol Hydroxyde de sodium Isobutanol Méthanol Propanol Sulfate de sodium anhydre Réactif de Folin-ciocalteu. Eau physiologique stérile (9g/l)

- **Milieux de culture**

On utilise la gélose nutritive Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes aux différentes concentrations de nos quatre extraits. On utilise aussi les milieux Sabouraud et PDA pour les levures et moisissures.

## b) Matériel biologique

- **Souches microbiennes testées**

Les tests d'activité anti-microbienne des différents extraits phénoliques de notre plante ont été effectués sur sept souches bactériennes dont cinq sont référencées, une levure et une moisissure. Ces souches ont été fournies par le laboratoire pédagogique de Microbiologie de l'Université de Tizi-Ouzou (**Tableau 04**).

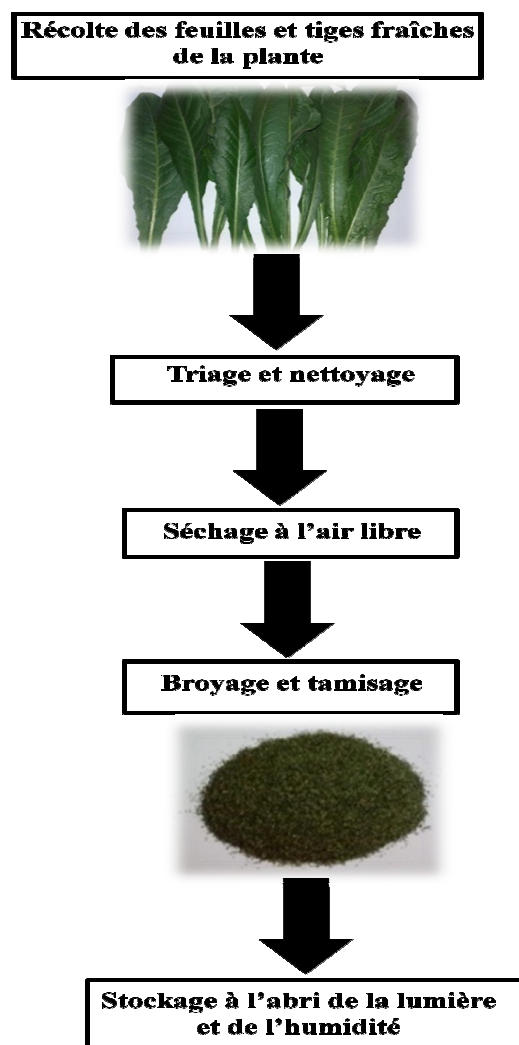
**Tableau 04** : Souches bactériennes, levure et moisissure utilisées.

Souches	Type	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie Gram positif	ATCC 25923
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie Gram négatif	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie Gram négatif	ATCC 27853
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bactérie Gram positif	WBCM 000000009
<i>Bacillus cereus</i>	Bactérie Gram positif	ATCC 10876
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bactérie Gram négatif	CHU de Tizi-Ouzou (Patient N°1315)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bactérie Gram négatif	CHU de Tizi-Ouzou (patient N°4392)
<i>Candida albicans</i>	Levure	/
<i>Aspergillus niger</i>	Moisissure	/

### c) Matériel végétal

#### • Echantillonnage de la plante et conservation

La plante *Helminthotheca echioides* a été récoltée dans le village d'Ait Ahmed, dans la région de Maâtkas (wilaya de Tizi-Ouzou) durant le mois de Mars 2018. Les feuilles et les tiges ont été triées, lavées à l'eau du robinet, essuyées à l'aide d'un papier absorbant, puis séchées à l'air libre à l'abri de la lumière. Après séchage pendant 20 jours, ces dernières ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre. La poudre ainsi obtenue a été tamisée sur un tamis d'un diamètre d'environ 250 $\mu$ m pour avoir une poudre fine et homogène. Cette dernière a été ensuite conservée dans un récipient en verre et stockée à l'abri de lumière et de l'humidité jusqu'à l'extraction.



**Figure 12 :** Diagramme représentant le procédé de séchage à l'air libre des feuilles d'*H. echioides*.

## 2. Méthodes

### 2.1. Screening chimique

Les tests phytochimiques consistent à rechercher de façon qualitative les différentes familles des métabolites secondaires existants dans la partie aériennes (tige et feuille) d'*Helminthotheca echioides* L. Dans ce travail, ce screening concerne la recherche de: flavonoïdes, tanins, tanins galliques, anthocyanes, leuco-anthocyanes, quinones libres, saponosides, glucosides, coumarines et stéroïdes.

Les résultats sont exprimés selon le type de réaction :

(-) : Absence totale ; (+) : Présence en trace ; (++) : Présence en quantité abondante ; (+++) : Présence en quantité très abondante.

- **Préparation de l'infusé**

Dans un Erlenmeyer de 250 mL, 20g de poudre végétale ont été macérées dans 100 ml d'eau distillée bouillante. Après infusion pendant 5 mn, une filtration a été réalisée sur papier filtre. L'infusé obtenu a été ajusté à 100 mL d'eau distillée et conservé pour la recherche des différents composés chimiques de cette plante.

- **Recherche des composés chimiques**

- a) **Recherche des flavonoïdes**

Deux grammes de poudre de la plante ont été Macérées dans 40 mL de HCl dilué à 1% pendant 24h. Dix millilitres du filtrat ont été rendus basique par l'ajout d'une solution de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes.

- b) **Recherche des tanins**

Cinq millilitres de l'infusé ont été introduits dans un tube à essai, une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 5% a été ajoutée goutte à goutte en présence des tanins, une coloration verdâtre apparaît.

- c) **Recherche des tanins galliques**

Le filtrat a été saturé par l'acétate de sodium puis quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  ont été ajoutées. La réaction est considérée positive lorsqu'une coloration bleue noirâtre apparaît.

**d) Recherche des anthocyanes**

Dans un Erlenmeyer, 5 mL d'infusé ont été introduits puis quelques gouttes d'HCl ont été ajoutées. La réaction positive se traduit par une coloration rouge.

**e) Recherche des leuco-anthocyanes**

A 2g de poudre, 20 mL de (propanol /acide chlorhydrique) (v/v) ont été ajoutés. Le mélange est porté au bain marie bouillant pendant quelques minutes. Les leuco-anthocyanes sont détectées grâce à une coloration rouge de la solution.

**f) Recherche des stéroïdes**

Dans une capsule, on induit 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml de l'extrait, qui sont repris dans un tube à essai dans lequel sont ajoutés 0,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive.

**g) Recherche des quinones libres**

Deux millilitres d'HCl (1N) ont été ajoutés à 2g de poudre végétale, auxquels 20 mL de chloroforme ont été ajoutés. Le mélange a été laissé au repos pendant 3h puis filtré. Cinq millilitres d'ammoniaque (1/2) ont été ajoutés au filtrat. La réaction positive est déterminée par l'apparition d'une couleur rouge-violette.

**h) Recherche des saponosides**

Cinq millilitres d'HCl à 0,1N ont été déposés dans un tube à essais et 5 mL de NaOH 0,1N ont été mis dans un autre tube. Dans chacun des tubes, 2 à 3 gouttes d'infusé ont été ajoutées. Le mélange a été agité verticalement pendant 30 sec et laissé au repos pendant 15 min. Une réaction positive est déterminée par la présence d'une mousse persistante. On distingue deux cas :

- Le premier cas : en présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes le même volume de mousse ;
- Le deuxième cas : si la plante contient des saponines triterpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse, parfois plus importante et plus stable.

**i) Recherche des glucosides**

Quelques gouttes d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ont été ajoutées à 2g de poudre végétale. Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence des glucosides.

### j) recherche des alcaloïdes

Cinq grammes de poudre ont été macérées dans 50 mL de HCl à 1% pendant 2h. Après filtration, quelques gouttes du réactif de Mayer ont été ajoutées au filtrat L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes.

### k) Identification des coumarines

La présence des coumarines a été révélée à partir de 2 mL de l'infusé à 5 %, placé dans un tube dans lequel sont ajoutés 3 mL de NaOH (10%). Après agitation de la solution, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence des coumarines.

## 2.2. Analyses du spectre infrarouge (IR)

La poudre d'*H. echinoides* a été analysée en spectroscopie infrarouge afin de rechercher les principaux groupements fonctionnels présents dans cette plante. L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe et les intensités de l'absorption.

La spectroscopie infrarouge est un moyen de diagnostic permettant de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans une molécule (**Brügel, 1962**). En effet, l'expérience montre que certaines fréquences de vibration, dites « fréquences de groupe », sont caractéristiques de la présence d'un groupement chimique dans la molécule étudiée. Ainsi, la spectroscopie infrarouge est un très puissant moyen de caractérisation pour identifier des groupements moléculaires et obtenir de nombreuses informations microscopiques sur leur conformation et leurs éventuelles interactions (**Conley, 1966**).

## 2.2. Extraction des polyphénols

### 2.2.1. Extraction par macération

- **Principe**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste à laisser séjourner la matière végétale dans un solvant pour extraire les principes actifs (composés phénoliques) (**Leybros et Fremeaux, 1990**).

- **Mode opératoire**

Les composés phénoliques ont été extraits de la plante par macération, en utilisant trois solvants différents : le méthanol, l'éthanol et l'acétate d'éthyle.

**a) Extraction méthanolique des polyphénols**

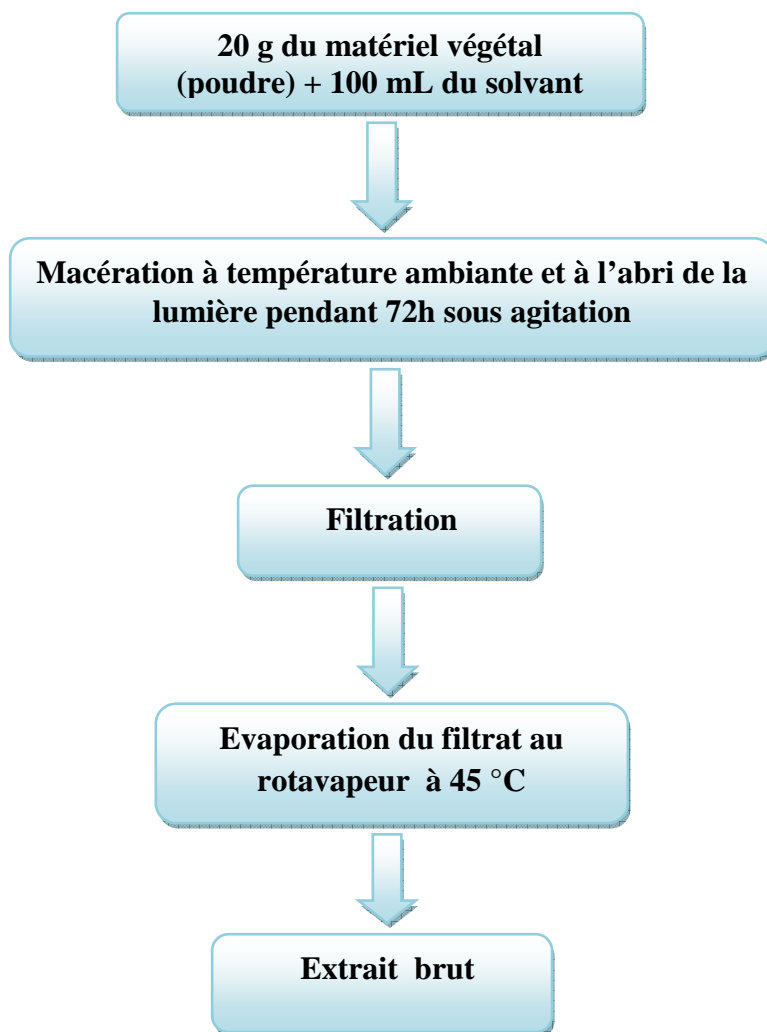
- Mélanger 20g de poudre de la plante dans 100 mL de méthanol dans le premier extrait (85% de méthanol mélangé avec 15% d'eau distillée) dans le deuxième extrait (85% de méthanol mélangé avec 15% d'acide formique) pour un meilleur rendement ;
- Laisser macérer pendant 72 h sous agitation (conservation à 4°C, protection du flacon avec du papier aluminium contre la lumière) ;
- Filtrer au papier filtre (réaliser cette étape deux fois) ;
- Evaporer le filtrat au rotavapeur à 45°C ;
- Conserver au frais avec du papier aluminium.

**b) Extraction Ethanolique des polyphénols**

- Mélanger 20g de poudre de la plante dans 100 mL d'éthanol ;
- Laisser macérer pendant 72 h sous agitation (conservation à 4°C, protection du flacon avec du papier aluminium contre la lumière) ;
- Filtrer au papier filtre (réaliser cette étape deux fois) ;
- Evaporer le filtrat au rotavapeur à 45°C ;
- Conserver au frais avec du papier aluminium.

**c) Extraction des polyphénols avec l'Acétate d'éthyle**

Dix grammes de poudre ont été macérées dans 100 mL de solvant à température ambiante et à l'abri de la lumière et sous agitation magnétique pendant 24 h. Le mélange a été ensuite filtré trois fois en utilisant le papier wattman. Le filtrat obtenu a été évaporé à sec à l'aide du rotavapeur. L'extrait récupéré est mis à l'étuve dans un cristalliseur pour faire évaporer le reste du solvant. L'extrait obtenu a été conservé à -20°C jusqu'à son utilisation.



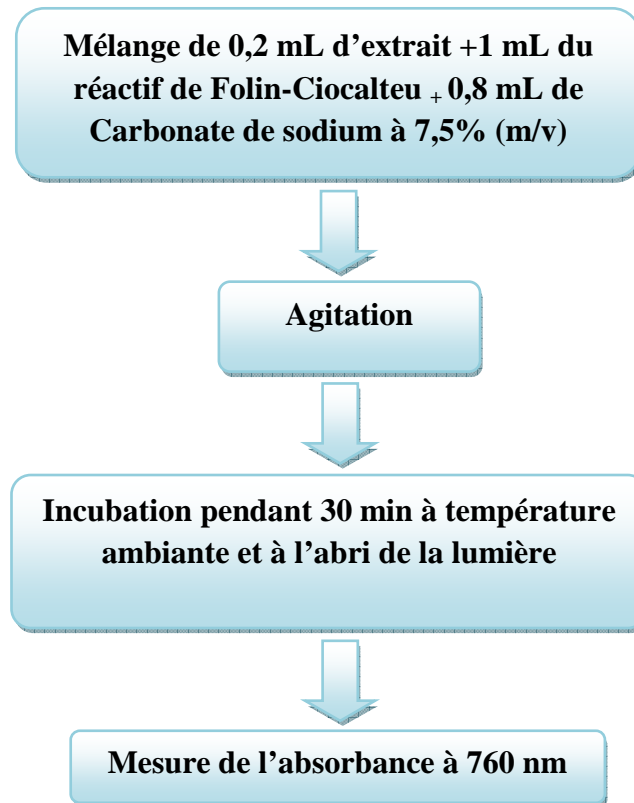
**Figure 13 :** Protocole de préparation des extraits par macération.

### 2.2.2 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Boizot et Charpentier, 2006). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés.

Dans un tube à essai, 0,2 mL de l'extrait, ont été mélangés avec 1 mL du réactif Folin-Ciocalteu et 0,8 mL de la solution de carbonates de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5% (m/v). Le mélange a été agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min et

l'absorbance a été mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/mL de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure 14 :** Diagramme représentant le procédé de dosage des polyphénols totaux.

- **Préparation de la courbe d'étalonnage**

La solution standard de l'acide gallique est de 0,5mg/mL (éthanol à 10%) (Ojeil *et al.*, 2010). Les dilutions réalisées sont regroupés dans l'annexe 2.

### 2.3 Evaluation de l'activité anti-microbienne

L'évaluation de l'activité anti-microbienne des extraits de notre plante, a été réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) (Treki *et al.*, 2009). Cette technique repose sur l'apparition d'une zone d'inhibition dans le milieu de culture, autour du disque contenant l'extrait de la plante actif (Bssaibis *et al.*, 2009).

- **Préparation des disques**

Les disques ont été préparés à partir du papier Whatman, avec un diamètre de 6 mm. Ces derniers ont été ensuite mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes, puis conservés jusqu'à l'utilisation.

- **Stérilisation du matériel et des milieux de culture**

Les milieux de culture, Muller Hinton, Sabouraud et PDA, ont été stérilisés à l'aide d'un autoclave pendant 15 min à 121°C. Les milieux ont été ensuite coulés dans les boîtes de pétri à 4 mm de hauteur puis séchés sur la paillasse durant quelques minutes dans la zone de stérilité, assurée par le bec bunsen.

- **Revivification et repiquage des souches**

Pour permettre aux bactéries stressées de récupérer leurs potentialités, 1 mL de la suspension bactérienne a été prélevée et additionnée à 9 mL de BHIB. Les tubes ont été incubés pendant 24h à 37°C.

Les bactéries ont été ensemencées à l'aide d'une anse sur gélose nutritive en réalisant des stries serrées, puis incubées à 37°C. De même, *Candida albicans* a été repiqué sur gélose Sabouraud, *Aspergillus niger* sur le milieu PDA. Ces dernières ont été incubées à 28°C pendant 3 à 5 jours.

- **Préparation de l'inoculum et standardisation**

A partir d'une culture pure des souches à tester, quelques colonies bien isolées et identiques ont été raclées. L'anse a été déchargée dans 5 mL d'eau physiologique stérile à 0.9% ; la suspension bactérienne a été homogénéisée et la turbidité a été ajustée à 0,5 McFarland, ce qui correspond à  $1-2 \times 10^8$  UFC/mL pour les bactéries ( $D.O = 0,08$  à  $0,1/\lambda = 625$  nm),  $1-5 \times 10^6$  UFC/mL pour *C. albicans* ( $D.O = 0,12$  à  $0,15 / \lambda = 530$  nm) (NCCLS, 2001) et  $10^6$  spores / mL pour les champignons filamenteux ( $\lambda = 530$  nm) (Pfaller *et al.*, 1998).

- **Préparation de l'aromatogramme**

L'ensemencement des souches testées a été réalisé par écouvillonnage sur la surface des milieux de culture. Quatre disques imprégnés de chaque extrait phénolique ont été

déposés délicatement sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. De même, des disques contenant des antibiotiques (témoins positifs) et des disques imprégnés de DMSO (témoin négatif) ont été utilisés afin de comparer les résultats avec ceux obtenus avec les extraits testés. Les boîtes de Pétri ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries, à 28°C pendant 24 h pour *C. albicans* et 48h pour la souche de champignon. Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) ont été ensuite mesurés (Biyiti *et al.*, 2004). Quatre disques ont été également imprégnés par les quatre solvants utilisés pour l'extraction des polyphénols, afin de confirmer que ces derniers n'ont aucun effet inhibiteur contre les souches testées.

**Tableau 05** : Liste des antibiotiques testés.

Nom	Abréviation	Quantité par disque
Sulfaméthoxazole/ Triméthoprime	SXT	10 µg
Céfoxitine	FOX	10 µg
Céfotaxime	CTX	10 µg
Kanamycine	K	10 µg
Céfalexine	CN	10 µg
Oxacilline	OX	10 µg
Amoxicilline	AX	10 g

#### • Lecture des résultats

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques. Après mesure des zones d'inhibition, les souches sont classées en :

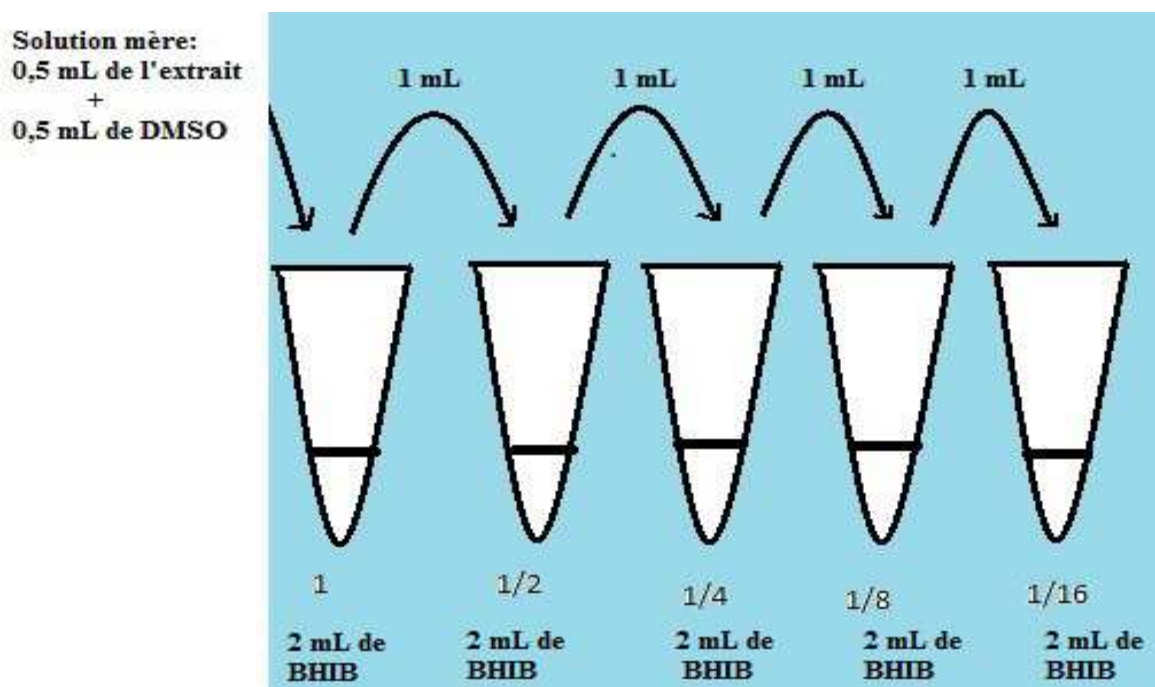
- Souche non sensible (-) ou résistante : diamètre < à 8mm ;
- Souche sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm ;
- Souche très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm ;
- Souche extrêmement sensible (+++) : diamètre > à 20 mm (Ponce *et al.*, 2003).

## 2.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration en extrait méthanolique/acide formique capable d'inhiber en 18 à 24 heures la multiplication

bactérienne. La détermination de la CMI s'est effectuée selon la méthode des microdilutions décrite par **Guinoiseau, (2010)** avec quelques modifications. Cette méthode consiste à réaliser une gamme décroissante de concentration en extrait méthanol/acide formique dans des tubes contenant un milieu de culture liquide (BHIB) ainsi qu'une quantité de suspension bactérienne standardisée. Cette technique s'effectue comme suit :

Un volume de 0.5 mL de l'extrait brut (méthanol/acide formique) a été prélevé et mélangé à 0.5 mL de DMSO (solution mère). Un millilitre de ce mélange a été ajouté dans un tube contenant 2mL de BHIB, formant ainsi la dilution au demi. Une série de dilutions, jusqu'à la dilution au 1/16, a été réalisée à partir de la dilution au demi, afin de constituer une gamme de concentration de l'extrait phénolique à tester. Une fois les dilutions réalisées, 10  $\mu$ l de l'inoculum bactérien standardisé à  $10^6$  UFC/mL ont été ajoutés dans chacun des tubes de la gamme de dilutions ainsi que le tube contenant la solution mère.



**Figure 15:** Représentation schématique de la gamme de dilutions pour l'évaluation de la CMI des extraits phénoliques.





*RESULTS*  
*ET*  
*DISCUSSION*

## 1. Screening phytochimique

L'analyse phytochimique permet de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante. Le résultat de ce criblage phytochimique est résumé dans le **Tableau 06**. Ce screening révèle la présence ou l'absence de métabolites secondaires au niveau de la feuille et de la tige d'*Helminthotheca echioïdes*. En effet, six composés bioactifs ont été identifiés : les flavonoïdes, les tanins, les tanins galliques, les coumarines, les glucosides et les stéroïdes en quantité abondante, et les anthocyanes en faible quantité, ainsi qu'une absence totale de saponines, de leuco-anthocyanes et de quinones libres dans la partie aérienne d'*H. echioïdes*.

**Tableau 06** : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la partie aérienne d'*Helminthotheca echioïdes*.

Métabolites secondaires	Tige et feuille	Résultats
Anthocyanes	(+)	
Leuco-anthocyanes	(-)	
Tanins	(+++)	
Tanins galliques	(+++)	

<p><b>Flavonoïdes</b></p>	<p>(+++)</p>	
<p><b>Saponosides</b></p>	<p>(-)</p>	
<p><b>Quinones libres</b></p>	<p>(-)</p>	
<p><b>Glucosides</b></p>	<p>(+++)</p>	

coumarines	(+++)	
Stéroïdes	(+++)	

(-) : Absence ; (+) : Présence en trace ; (++) : Présence en quantité abondante ; (+++) : Présence en quantité très abondante.

Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire, d'une grande importance, puisqu'elles révèlent la présence de constituants connus par leurs activités physiologiques et leurs vertus médicinales. Les recherches effectuées sur *H. echinoides* ont révélé la présence d'importants métabolites secondaires. L'ensemble de ces groupes chimiques ainsi identifiés, possèdent des propriétés pharmacologiques diverses, justifiant les utilisations multiples de cette plante en médecine traditionnelle (Ouedraogo, 2001).

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense contre les agresseurs qui provoquent des maladies chez les végétaux (Mohammedi, 2013). C'est pour cela que les plantes des zones semi-arides comme *H. echinoides*, produisent plusieurs types de métabolites secondaires afin de se défendre et pouvoir résister aux contraintes imposées par le climat et le milieu (Rira, 2006).

Un grand nombre d'effets biologiques sont accordés à ces composés. Il est connu que les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux, mais remplissent également

des fonctions très importantes chez les plantes en les protégeant contre le stress hydrique et en leur conférant une tolérance aux métaux lourds présents dans les sols. De plus, les flavonoïdes protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation, car ce sont des anti-oxydants réputés pour leur action anti-radicalaire (**Makhloufi, 2010**). A ces effets s'ajoutent des propriétés antivirales, anti-fongiques, anti-allergiques et anti-inflammatoires (**Benzahi, 2001**).

En outre, on note la présence des tanins dans notre plante ; ces composés donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles, les rendant ainsi impropres à la consommation pour les insectes et le bétail (**Eberhard et al., 2005**). Les plantes peuvent produire des substances phénoliques (tannoïdes) en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs: déficience en éléments nutritifs, baisse de l'intensité lumineuse, sécheresse et les températures élevées (**Rira, 2006**). Grâce à leur astringence, les tanins sont utilisés en thérapeutique comme anti-diarrhéiques, vasoconstricteurs, homéostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes. Leurs propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques ont été clairement démontrées dans le traitement des diarrhées infectieuses et de dermatites. De plus, les tanins possèdent une forte activité anti-oxydante, en piégeant les radicaux libres et en inhibant la formation des radicaux superoxydes (**Bediaga, 2011**).

La Picris fausse vipérine renferment également des coumarines ; ces dernières possèdent des actions bactériostatiques, anti-fongiques et anti-virales (**Rufini et Sampaolo, 1977**). Ces composés sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes, prévenant ainsi de la peroxydation des lipides membranaires (**Diallo, 2005**). Concernant les composés terpéniques, il a été mis en évidence la présence de stéroïdes. Les stérols forment la base des stéroïdes qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines. Ils sont connus par leurs activités cytostatiques, insecticides, anti-inflammatoires et analgésiques (**Bruneton, 1999**).

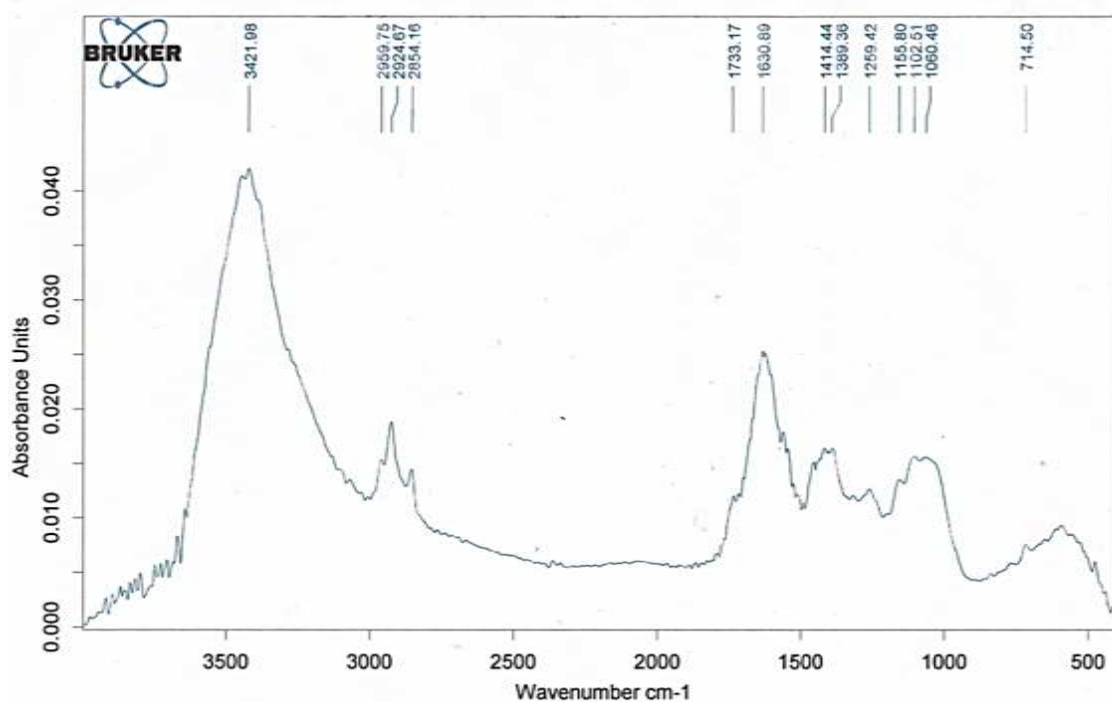
Dans une étude, l'analyse phytochimique sommaire des extraits de plantes *Tridax procumbens* et *Chromolaena odorata*, appartenant à la famille des Astéracées, a permis de mettre en évidence la présence des tannins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, confirmant ainsi la richesse de cette famille botanique en métabolites secondaires (**Agban et al., 2103**). Une autre analyse phytochimique sur un ensemble de plantes de la famille des Astéracées est en accord avec nos résultats (**Koffi et al., 2009**).

Par ailleurs, les travaux réalisés par **Baouane et Rezzik, (2017)**, ont montré que *H. echinoides* renferment des teneurs importantes en Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub>, CaO, MgO,

$\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$  et  $\text{P}_2\text{O}_5$ , avec des valeurs qui varient entre 3100 ppm et 97900 ppm. Cette richesse en minéraux suggère que les feuilles et les tiges de cette plante peuvent constituer une alternative pour traiter certaines carences en minéraux.

## 2. Résultats de l'infra rouge

Les résultats du spectre Infrarouge (IR) sont présentés dans la **Figure 16**.



**Figure 16** : Résultats de L'IR de la poudre de la partie aérienne d'*Helminthotheca echioides*.

Selon les résultats d'analyse spectroscopique infrarouge de la poudre de la partie aérienne d'*H. echioides*, nous constatons que le spectre IR présente plusieurs pics d'absorption de 500 à 3500  $\text{cm}^{-1}$ . En effet, le spectre a enregistré une large bande d'absorption à 3421  $\text{cm}^{-1}$  qui correspond à la vibration de type élongation du groupement hydroxyle (OH) et eau d'hydratation. Nous notons également la présence des pics à 1733  $\text{cm}^{-1}$ . Ce pic correspond aux liaisons C=O des cétones. Une bande d'absorption à 1630  $\text{cm}^{-1}$  a également été observée. Cette bande indique la présence des liaisons C=C des phénols. Nous remarquons également l'apparition des pics aux environs de 1414, 1389, 1259  $\text{cm}^{-1}$  qui correspondent au groupement C-H.

Les cétones sont des composés organiques de la famille des carbonylés, connus principalement pour leurs propriétés cicatrisantes et régénérantes, ce qui explique donc l'utilisation dans la médecine traditionnelle d'*H. echioides* pour soigner les plaies. Fort nombreuses, les cétones élisent domicile dans diverses familles botaniques telles que les

Astéracées, les Lamiacées, les Cistacées, les Myrtacées, etc. Dans la famille des Astéracées, l'activité anti-fongique et anti-virale des cétones est renforcée par l'action des lactones sesquiterpéniques qui en font de formidables anti-parasitaires. Les cétones sont également dotés de propriétés mucolytiques, lipolytiques et cholérétiques ; des propriétés qui ne sont pas connues chez *H. echioides*, mais qui sont potentiellement présentes chez cette plante en raison de la présence de ce groupement chimique (Leray, 2010).

Les phénols sont des composés omniprésents dans le règne végétal. Les nombreuses propriétés de ces composés relatives à la santé, largement décrites dans des études épidémiologiques, sont principalement fondées sur leurs activités antioxydantes : ils peuvent piéger les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et sont même des chélateurs de certains ions métalliques (Dugas, 2000). Ces composés participent à la protection de la plante vis-à-vis de son environnement biologique (agents pathogènes) ou physique (rayonnement U.V) (Macheix, 1996).

### 3. Dosage de polyphénols totaux

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. L'extraction des polyphénols par macération, bien que généralement longue et exigeante en solvants organiques qui sont chers et dangereux pour la santé (Garcia, 2010), est la seule méthode utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles (Ben Amor, 2008). La teneur en PPT est exprimée en mg équivalent acide gallique/mL d'extrait de la plante (mg EAG/mL Extrait de plante). Les résultats correspondant à la quantité de polyphénols contenus dans chaque extrait sont présentés dans le **Tableau 07**.

**Tableau 07:** Résultats du dosage des polyphénols des quatres extraits de la partie aérienne d'*Helminthotheca echioides*.

Type de solvant	Teneur en poly phénols (mg /mL d'extrait de la plante)
Extrait méthanolique/acide formique	14 ,14
Extrait méthanolique/eau distillée	14,14
Extrait éthanolique	6 ,7
Extrait à l'acétate d'éthyle	1,26

A partir de ces résultats, on peut déduire que le méthanol présente le meilleur solvant d'extraction avec 14,14mg EAG /mL d'extrait de la plante, suivi de l'éthanol avec 6,7 mg EAG /mL d'extrait de la plante et enfin l'extrait à d'acétate d'éthyle qui présente la plus faible teneur en PPT avec 1,26 mg EAG/mL d'extrait de la plante.

Les résultats montrent que les composés polyphénoliques sont abondants dans la partie aérienne de cette plante, confirmant les résultats de l'analyse spectroscopique IR. Les teneurs élevées en polyphénols dans les extraits méthanoliques, éthanoliques sont liées à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires (**Ghedadba et al., 2014**). La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins (**Garcia, 2010**). Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (**Koffi, 2010**). Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (**Jokic, 2010 ; Garcia , 2010**).

L'addition de 15% d'acide formique et de 15% d'eau distillée au méthanol dans les deux solvants préparés a augmenté de façon remarquable son pouvoir extractants. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Bourgou, (2016)** et ceux de plusieurs auteurs qui ont révélé que les solvants mixtes sont très efficaces pour extraire les polyphénols. Selon **Mohammedi et Atik, (2011)**, l'utilisation de solvants mixtes comme le méthanol/acide formique et méthanol/eau distillée, aboutit à un fort enrichissement des extraits en polyphénols. La supériorité des solvants mixtes seraient dues à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les extraits obtenus par des solvants mixtes comparés à ceux obtenus par des solvants purs comme l'extrait éthanolique et l'extrait à l'acétate d'éthyle (**Trabelsi et al., 2010**). La macération et le soxhlet sont considérés comme étant des méthodes conventionnelles d'extraction des composés phénoliques approuvées par divers auteurs pour leurs efficacités (**Liu et al., 2013**).

### 3. Activités anti-microbiennes

L'activité anti-microbienne des quatre extraits de la partie aérienne d'*H. echinoides* a été testée vis-à-vis de quelques souches bactériennes et d'une levure et moisissure, via la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Après incubation, l'effet anti-microbien des extraits est estimé par la présence ou l'absence de la croissance microbienne. Les résultats des tests anti-microbiens sont regroupés dans le **Tableau 08** et illustrés par les **Figures 17, 18, 19, et 20**.

**Tableau 08** : Estimation des zones d'inhibition en présence des différents extraits.

Extraits Souches	Extrait N°1 (Méthanol + Acide formique)	Extrait N°2 (Méthanol + Eau distillée)	Extrait N°3 (Ethanol)	Extrait N°4 (Acétate d'éthyle)	Témoin Négatif (DMSO)
<i>Staphylococcus aureus</i>	14 mm	9 mm	11 mm	9 mm	0 mm
<i>Escherichia coli</i>	16 mm	6 mm	6 mm	6 mm	0 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 mm	6 mm	6 mm	6 mm	0 mm
<i>Bacillus cereus</i>	14 mm	6 mm	6 mm	6 mm	0 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1315)	17 mm	6 mm	6 mm	6 mm	0 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (4392)	12 mm	6 mm	6 mm	6 mm	0 mm
<i>Candida albicans</i>	12 mm	6 mm	6 mm	6 mm	0 mm
<i>Aspergillus niger</i>	80 mm	72 mm	52 mm	66 mm	0 mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	20 mm	9 mm	6 mm	6 mm	0 mm

A partir de ces résultats, on constate que l'extrait méthanol/acide formique de la partie aérienne de la plante *H. echinoides*, exerce une activité inhibitrice sur toutes les souches bactériennes étudiées, ainsi que sur *C. albicans* et *A. niger*, avec un degré de sensibilité qui diffère d'une souche à une autre. Le pouvoir anti-bactérien le plus élevé de l'extrait méthanol/acide formique a été observé pour *E. faecalis* avec une zone d'inhibition de 20 mm, ainsi que pour *E. coli* et *K. pneumoniae* (4392), avec un diamètre d'inhibition de 16 mm et 17 mm, respectivement. Aucune zone d'inhibition n'a été observée avec les autres extraits, ce qui signifie qu'il n'y a pas d'effets anti-bactériens contre les souches testées, à l'exception de *S. aureus* qui a montré un faible diamètre. Les témoins négatifs, le DMSO et les solvants utilisés, n'ont exercé aucune activité inhibitrice ; les colonies se développant normalement en leur présence. La multi-résistance de la souche *Enterococcus faecalis* et des deux souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae*, à nécessiter la réalisation d'un antibiogramme comme indiqué dans annexe 02.

Cependant, nos quatre extraits présentent une activité anti-fongique vis-à-vis d'*A. niger*, avec un diamètre d'inhibition de 80 mm avec l'extrait méthanol/acide formique, de 72 mm avec l'extrait méthanol/eau distillée, de 52 mm avec l'extrait éthanolique et de 66 mm avec l'extrait d'acétate d'éthyle.

Les activités anti-microbiennes observées peuvent être expliquées par les résultats de l'analyse phytochimique, qui a révélé la présence de composés tels que les tanins, les flavonoïdes dont les propriétés anti-microbiennes ont déjà été démontrées (**Bouziid, 2011**). L'effet anti-microbien de ces phénols est dû à une inhibition de l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des micro-organismes (**Dhaouadi et al., 2010**).

Par ailleurs, l'effet bactériostatique dépend de la concentration de l'extrait utilisé. D'après la littérature, on peut considérer qu'un extrait possède une action bactériostatique, si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10 mm (**Hassan et al., 2006**). On peut donc considérer que notre extrait méthanol/acide formique présente une action bactériostatique contrairement aux autres extraits. Cela peut s'expliquer par le fait que l'extrait méthanol/acide formique est plus riche en polyphénols, réputés pour leurs activités anti-microbiennes (**Havsteen, 2002**).

L'étude de l'activité anti-microbienne de *Chromolaena odorata*, appartenant à la famille des Astéracées, a montré que les extraits de cette plante ont une activité marquée sur *S. aureus* et *E. coli* et une action moins marquée sur *C. albicans*. La même étude rapporte

également que les extraits des feuilles de *Tridax procumbens*, appartenant aux Astéracées également, ont inhibé *S. aureus* à près de 98% et *E. coli* à près de 70%. Son activité sur *Candida albicans* est moyenne (Agban *et al.*, 2013). D'autres auteurs, à partir des extraits méthanolique et à l'acétate d'éthyle de feuilles de *T. Procumbens* récoltés en Inde, ont aussi montré une activité anti-microbienne significative sur *S. aureus*, *E. coli* et d'autres bactéries comme *K. pneumoniae*, *Salmonella tiphy* et *B. cereus* (Bharathi *et al.*, 2012). Pai *et al.*, (2011), ont montré aussi que la plupart des bactéries source d'infections nosocomiales sont sensibles à l'activité inhibitrice des extraits aqueux et éthanolique de *T. procumbens*. Irobi, (1997), a montré que les extraits éthanoliques des écorces de racines de *C. odorata* ont une activité anti-bactérienne très élevée sur *S. aureus*, sur *E. coli*, *Pseudomonas sp*, *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella sp*, *Bacillus stearothermophilus* et *Bacillus thuringiensis*. Toutes ces études confirment que les plantes de la famille des Astéracées ont un bon potentiel anti-microbien.

De plus, le fait que tous les extraits testés ont eu un effet inhibiteur sur *A. niger*, avec des diamètres d'inhibitions importants, suggère que notre plante serait plus efficace comme anti-fongique que anti-bactérien. Ceci pourrait être du à la présence des cétones, comme l'a démontré l'analyse spectroscopique IR, réputés pour leurs activités antifongiques et parasitaires (Leray, 2010). L'évaluation de l'activité anti-fongique des extraits aqueux des feuilles de *C. odorata*, ont montré une inhibition *in vitro* de la croissance de *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton rubrum*. En outre, l'évaluation de l'activité anti-fongique d'*Artemisia mesatlantica*, a montré une activité inhibitrice contre *Aspergillus niger* et *Penicillium expansum*, venant ainsi alimenter notre hypothèse concernant le caractère anti-fongique d'*H. echioides* (Ngono Ngane, 2006 ; Bencheqroun *et al.*, 2012).

Nos résultats sont en accord avec ceux de El Hassany *et al.*, (2004), qui ont montrés un pouvoir anti-microbien contre *B. cereus*, *E. coli* et *E. faecalis* à partir d'extrait de la plante *Anivillea radiata* de la famille des Astéracées, et ceux de Talbi, (2005) réalisés sur la plante *Artemisia campestris* appartenant à la même famille botanique.

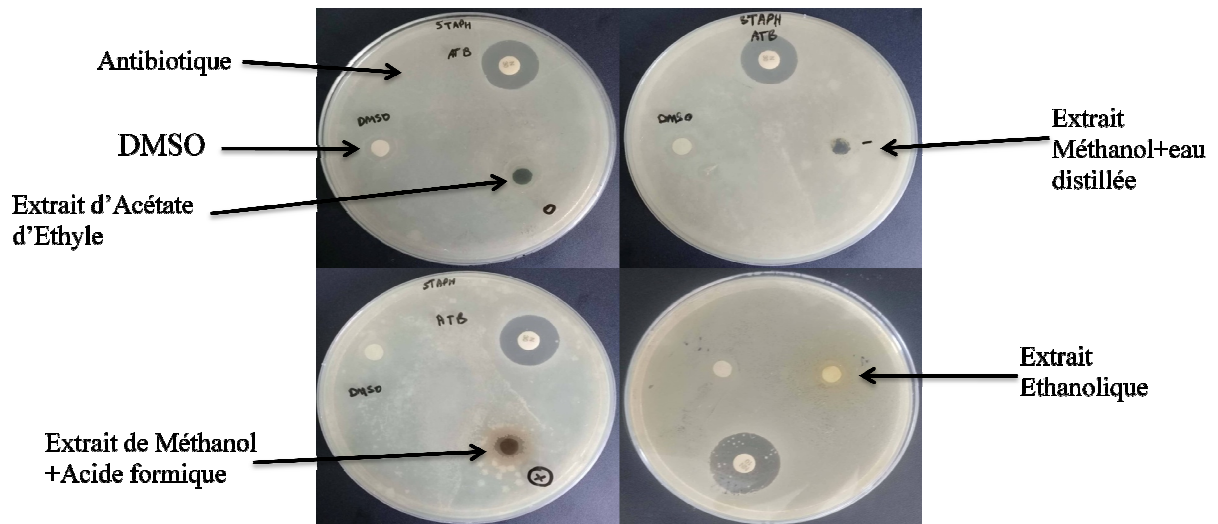


Figure 17 : Inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* en présence des quatre extraits après 24heures d'incubation à 37°C.

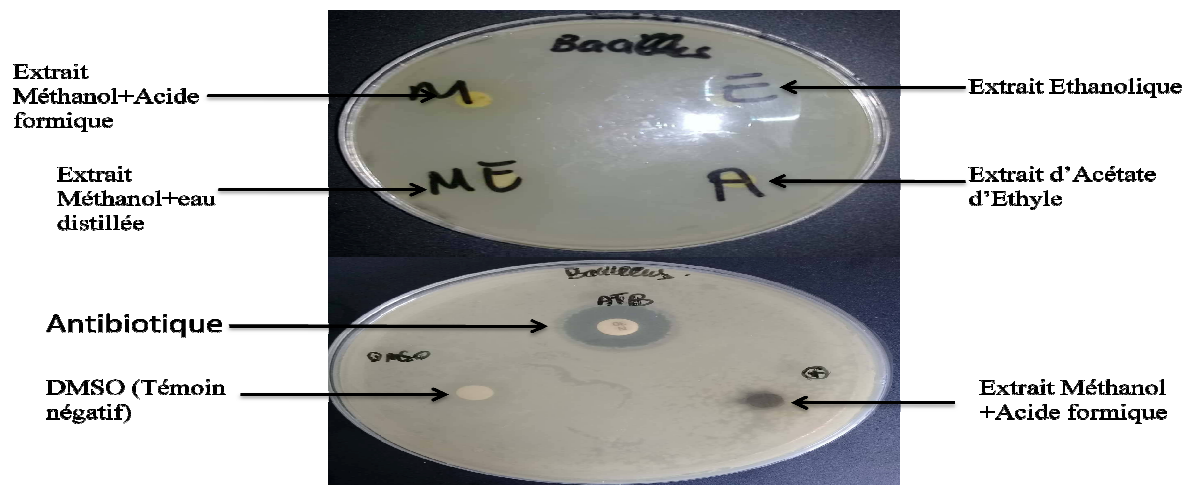


Figure 18 : Inhibition de la croissance de *Bacillus cereus* en présence des quatre extraits après 24 heures d'incubation à 37°C.

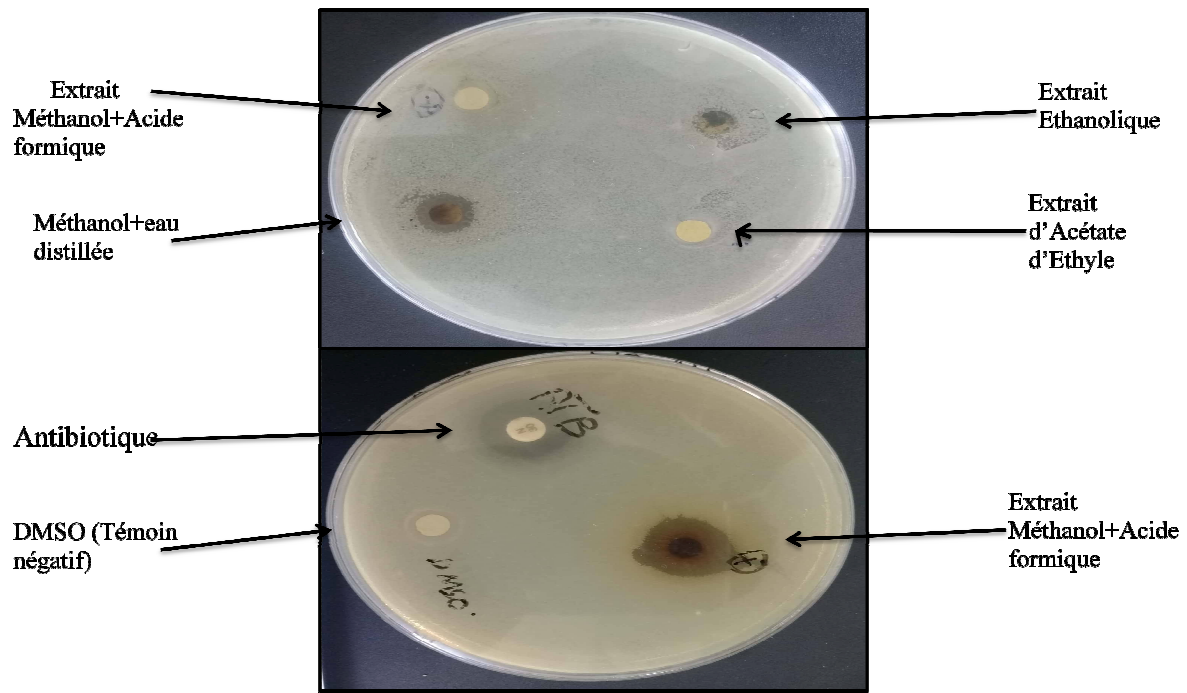


Figure 19 : Inhibition de la croissance d'*Escherichia coli* en présence des quatre extraits après 24 heures d'incubation à 37°C.

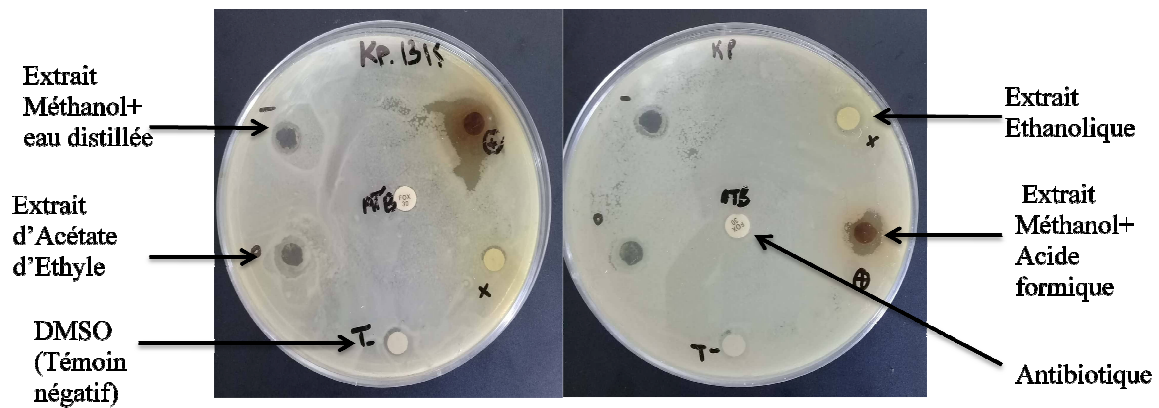


Figure 20 : Inhibition de la croissance de *Klebsiella pneumoniae* (4392) et *Klebsiella pneumoniae* (1315) en présence des quatre extraits après 24 heures d'incubation à 37°C.

## 1.2. La concentration minimale inhibitrice (CMI)

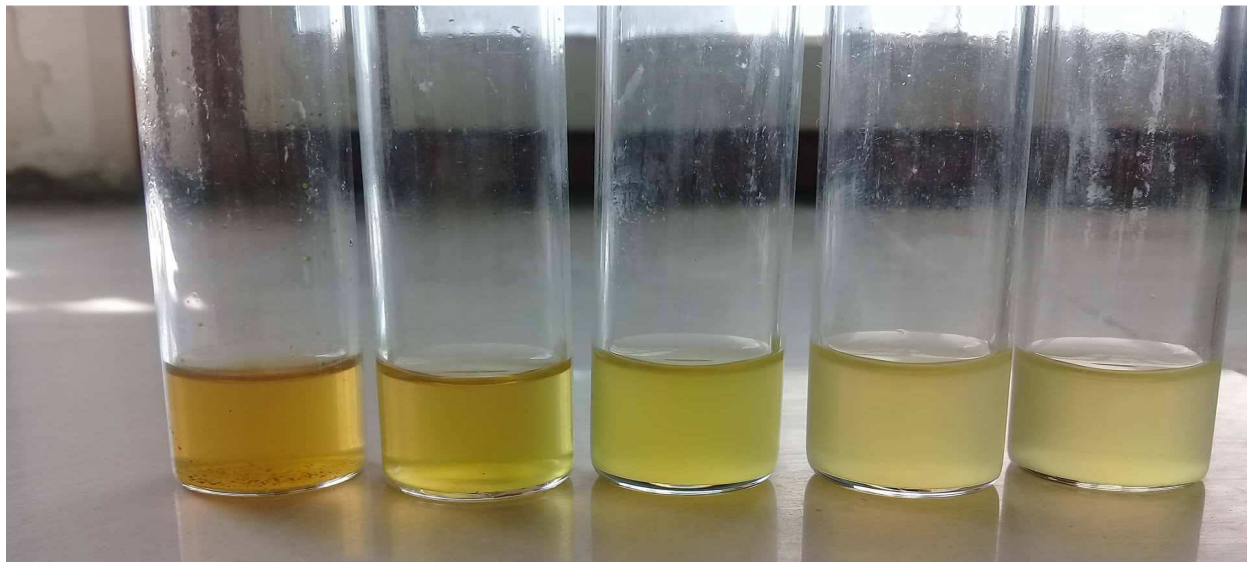
D'après les Figures 21, 22, 23, 24, 25 et 26 représentant les résultats de la CMI sur la gamme de dilutions, on observe un trouble dans toutes les différentes dilutions, ce qui traduit

la croissance des souches bactériennes. Par contre, au niveau de la solution mère, aucun trouble n'a été observé.

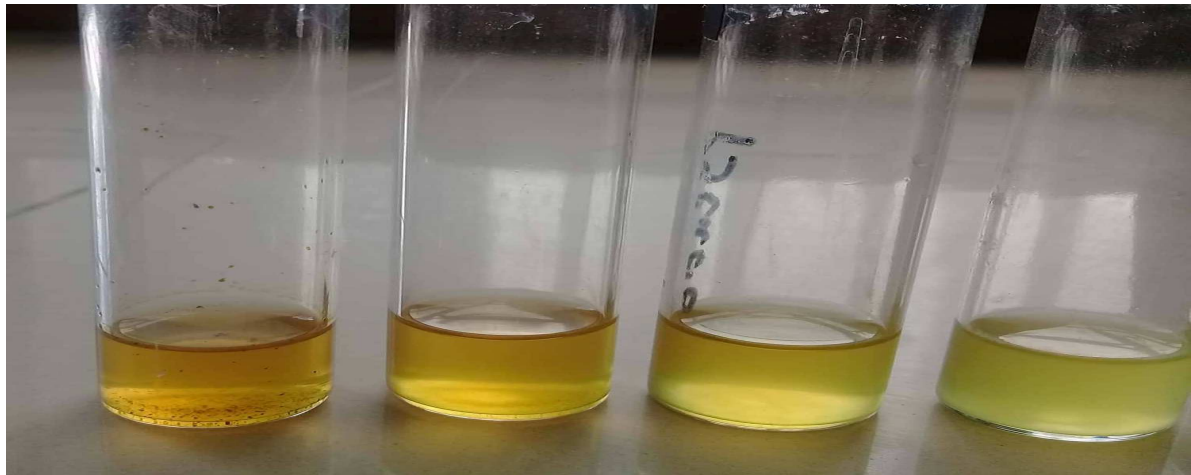
Ces résultats montrent clairement que l'extrait de la partie aérienne de la plante *Helminthotheca echioides* ne peut pas être utilisé à l'état dilué. Cependant l'extrait méthanol/acide formique, exerce un effet bactériostatique sur les souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* et *Enterococcus faecalis*.



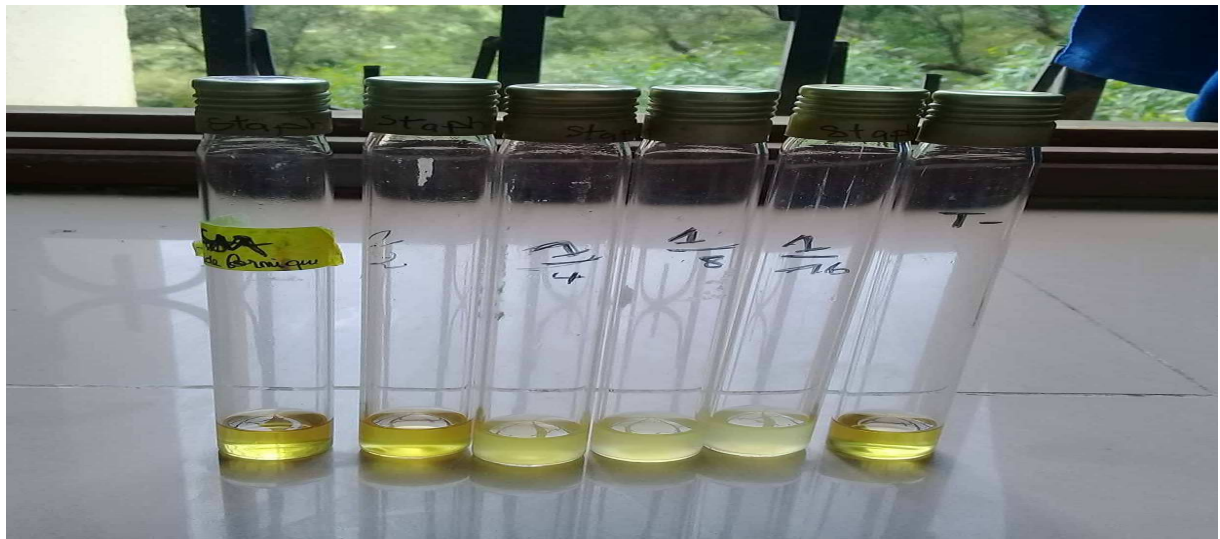
**Figure 21** : Résultat de la CMI chez *Escherichia coli*.



**Figure 22** : Résultat de la CMI chez *Pseudomonas aeruginosa*.



-Figure 23 : Résultats de la CMI chez *Enterococcus faecalis*.



-Figure 24 : Résultats de la CMI chez *Staphylococcus aureus*.



Figure 25 : Résultat de la CMI chez *Klebsiella pneumoniae*.



**Figure 26 :** Résultat de la CMI chez *Klebsiella pneumoniae*.

*Conclusion et  
perspectives*

## **Conclusion et perspectives**

Le présent travail est consacré à la détermination de la composition chimique et des propriétés anti-bactériennes et anti-fongiques des polyphénols, extraits de la picris fausse vipérine, *Helminthotheca echioides*, récoltée dans la région de Maâtkas en Mars 2018.

Le screening phytochimique a montré la présence de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les tanins galliques, les glucosides, les stéroïdes, les coumarines et les anthocyanes. De plus, les résultats obtenus dans cette étude, montrent que l'extrait de polyphénol méthanol/acide formique de la partie aérienne d'*H. echioides*, présente *in vitro*, une activité inhibitrice importante sur sept souches bactériennes et deux champignons testés. La présence majeure des composés phénoliques seraient à l'origine de l'activité anti-microbienne de cette plante. D'ailleurs, ces composés sont bien connus pour leurs propriétés anti-microbiennes. Les performances anti-bactériennes et anti-fongiques mises en évidence, méritent d'être approfondies, afin d'envisager des perspectives d'application de cette plante comme agent de bioconservation ou tout simplement en thérapeutique. Par ailleurs, la richesse de notre plante en polyphénols, suggère que cette dernière pourrait également avoir des activités anti-oxydantes, qu'il serait intéressant d'exploiter.

En outre, cette étude ne fait que confirmer, que la famille des Astéracées, constitue une ressource inestimable pour l'industrie pharmaceutique. D'autant plus, que ces dernières années, la phytothérapie par les plantes riches en polyphénols et principalement en flavonoïdes a connu un grand regain. De plus, les espèces végétales, d'aussi grande importance pour la santé des populations, méritent d'être étudiées scientifiquement pour leur meilleure utilisation.

Notre travail n'est qu'une étude préliminaire sur les innombrables propriétés que peut renfermer cette plante, et les résultats obtenus semblent encourageants. Pour la suite de ce travail, nous pouvons envisager quelques perspectives :

- Elargir l'étude sur d'autres parties de la plante (racines et fleurs) ;
- Extraire les Huiles Essentielles ;
- Tester les extraits de la plante sur d'autres souches microbiennes, particulièrement des souches fongiques ;
- Evaluer l'effet anti-aflatoxinogène des extraits ;
- Evaluer l'activité anti-oxydante de cette plante.

- **Artemisia Mesatlantica.** Hassania K. BENCHEQROUN, Mohamed GHANMI, Badr SATRANI , Abderrahman Aafi Et Abdelaziz CHAOUCH .2012. **Activité Antimicrobienne Des Huiles Essentielles d'Artemisia Mesatlantica, Plante Endémique Du Maroc. Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of An Endemic Plant In Morocco**bulletin De La Société Royale Des Sciences De Liège, Vol. 81, P. 4 - 21
- **Abayomi Sofoworaplantes Medicinales Et Médecine Traditionnelle d'Afrique.** Editions Karthala, 2010.
- **Abbayes H. D., Chadefaud M., De Ferre Y., Feldman J., Gausson H., Grasse P. P., Leredde M. C., Ozenda P., Prevot A.R., 1963 Botanique, Anatomie, Cycle Evolutif, Systématique.** Ed. Masson Etcie, Paris. France. 1039 P.
- **Alan Crozier, Michael N. Clifford, Hiroshi Ashihara .2006.** By Blackwell Publishin Ltd (Livre).
- **Alan L., Miller N.D. 1996 . Antipxydant Flavonoides, Function And Clinical Usage.** *Alternative Medecine, Review.* 1(2) : 4-10 .
- **Ali Amine Zeggwagh, Younes Lahlou, Et Yassir Bousliman.2013.***Enquete Sur Les Aspects Toxicologiques De La Phytotherapie Utilisee Par Un Herboriste A Fes, Maroc*  
*Citethis: Thepanafricanmedicaljournal2013;14:125. Doi:10.11604/Pamj..14.125.17*  
46
- **Alilou H., 2012 ,Etude Phytochimique Et Antifongique De Deux Plantes Du Sud Du Maroc : Asteriscus Graveolens Subsp. Odorus (Schousb.) Greuter Et Asteriscus Imbricatus (Cav) DC.** Thèse De Docorat En Sciences. Université Ibn Zohr. Agadir, Maroc. 215p.
- **Amégninou Agban ,Koffi Apeti Gbogbo, Eyana Kpemissi Amana, Kokou Tegueni, Komlan Batawila.2013.** Laboratoire De Botanique Et Ecologie Végétale, Université De Lomé, Togo Kossi Koumaglo Laboratoire Des Extraits Végétaux Et Aromes Naturels, Université De Lomé, Togo Koffi Akpagana *European Scientific Journal , Edition Vol.9, No.36 ISSN: 1857 – 7881 (Print) E - ISSN 1857-7431*

- Amin,A. H., Subbaiah,T.V., Abbasi, K. M. 1969.Berberine Sulfate: Antimicrobial Activity, Bioassay, And Mode Of Action. Canadian Journal Of Microbiology, Vol. 15,N°9, Pp. 1067-1076.
- Ansari F, Erntell M, Goossens H, Davey P. 2006.The European Surveillance Of Antimicrobial Consumption (ESAC) Point-Prevalence Survey Of Antibacterial Use In 20 European Hospitals . Clin Infect.15;49(10):1496-504.
- Atefbeibu E.S.I., 2002. Contribution A L'étude Des Tanins Et De L'activité Antibactérienne De Acacia Nilotica Var Adansonll. Thèse De Doctorat. Université Cheikh Anta Diop. Dakar, Sénégal. 37 P.
- Awono A, Manirakiza D, Ingram V. 2009. Mobilisation Et Renforcement Des Capacités Des Petites Et Moyennes Entreprises Impliquées Dans La Filière Des Produits Forestiers Non Ligneux En Afrique Centrale. CIFOR: Cameroun. Http: Camerounforêt. Com/Fr/Bibliotheque/10666.
- B. Ben Amor. 2008 Maîtrise De L'aptitude Technologique De La Matière Végétale Dans Les Opérations D'extraction De Principes Actifs ; Texturation Par Détente Instantanée Contrôlée DIC. Thèse De Doctorat En Génie Des Procédés Industriels. Université De La Rochelle. France. Pp. 187.
- BABA-AISSA F., 2000. Encyclopédie Des Plantes Utiles, Flore D'Algérie Et Du Maghreb, Substances Végétales D'Afrique, D'Orient Et D'Occident. Ed. EDAS, Alger. Algérie. 368 P.
- Bahorun T., Gressier B., Troitin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C., Pinkas M., 1996.Oxygen Species Scavenging Activity Of Phenolic Extracts From Hawthorn Fresh Plant Organs And Pharmaceutical Preparations. *Arznei. Forschung*. Vol. (46): 1086-1089.
- Benarba B., Belabid L., Righi K., Bekkar A., Elouissi M., Khaldi A., Hamimed A., 2015. Ethnobotanical Study Of Medicinal Plants Used By Traditional Healers In Mascara (North West Ofalgeria), Journal Of Ethnopharmacology, 175; 626-637.
- BENHAMMOU N., 2011. Activité Antioxydante Des Extraits Des Composés Phénoliques De Dix Plantes Médicinales De L'Ouest Et Du Sud-Ouest Algérien.

**Thèse De Doctorat En Biologie. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen.Algérie. 113 P.**

- **Benidicte F, Hooper D.C. 1998. Effect Of Mutation In GRIA Of Topoisomerase IV, From *Staphulococcus Aureus* On Quinplene . Ang. 42(8): 2109- 2112.**
- **Benkiki N. 2006. Etude Phytochimiques Des Plantes Médicinales Algérienne : *Ruta Montana, Matricaria Pubescences Et Hypericum Perfoliatum* Thèse De Doctorat .Université De BATNA.**
- **Benzahi K., 2001. Contribution A L'étude Des Flavonoïdes Dans La Plante *Cynodon Dactylon* L« Chiendent ». Mémoire De Magister. Université d'Ouargla, Ouargla (Algérie).**
- **Bharathi V., Varalakshmi B., Gomathi S., Shanmuga Priya A. And Karpagam T. 2012 Antibacterial Activity Of *Tridax Procumbens* Linn. International Journal Of Pharma Sciences And Research (IJPSR), 3 (4), 364-367.**
- **Biyiti LF, Meko'o DJL, Tamzc V. 2004. Recherche De l'Activité Antibactérienne De Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. Trad Pharmacol Med Afr 13: 11–20**
- **BOIZOT N., CHARPENTIER J.P., 2006. Méthode Rapide D'Evaluation Du Contenu En Composés Phénoliques Des Organes D'Un Arbre Foustier. Le Cahier Des Techniques De L'Inra. Pp79-82.**
- **BOTTINE Djamel Eddine. 2011. Evaluation De L'activité Antioxydante Et Antibacterienne D'une Plante Endémique Algerienne *Ampelodesma Mauritanica*. Thèse Magister. Annaba: Université Badji Mokhtar, , 90 P**
- **Bourgou, S., Serairibeji, R., Medini,F.Et Ksouri.,R.2016 .Effet Du Solvant Et De La Méthode D'extraction Sur La Teneur En Composés Phénoliques Et Les Potentialités Antioxydantes d'*Euphorbiahelioscopia*.Journal Of New Sciences, Agriculture And Biotechnology, 28(12) : 1649-1655**
- **BOUSSAHEL S., 2011. Étude Biochimique Et Histologique De L'Effet De Quelques Extraits Des Plantes Toxiques Dans La Région De Sétif. Thèse De Magister En Biologie Et Physiologie Végétale. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 86 P.**

- **BOUZID W., YAHIA M., ABDEDDAIM M., ABERKANE M.C Et AYACHI.2011. Evaluation De L'Activite Antioxydante Et Antimicrobienne Des Extraits De l'Aubepine Monogyne. *Lebanese Science Journal*. Vol. (12): 59-69.**
- **Bouزيد W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M.C Et Ayachi A. 2011. Evaluation De L'Activite Antioxydante Et Antimicrobienne Des Extraits De L'aubepine Monogyne. *Lebanese Science Journal*. Vol. (12): 59-69.**
- **Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni MM. 2008. Composition Chimique Et Activité Antioxydante, Antimicrobienne Et Insecticide De L'huile Essentielle De *Juniperus Phoenicea*. *Société Chimique De Tunisie*. 10 : 119 - 125.**
- **Bruneton J. 2009. *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales*. 4<sup>e</sup> Ed : Lavoisier ; Paris. P.1269.**
- **Bruneton J., 1999. *Pharmacognosie . Plantes Médicinales*, Éd. Lavoisier, Techniques Et Documentation, Paris, 405.**
- **Bruneton J., 1999. *Pharmiognosie . Phytochimie . Plantes Médicinales*, 2eme Ed,; Éditions Médicales Internationales, Tec Et Doc Lavoisier, Paris, P 1120.**
- **Bruneton, J. 1999. *Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes Médicinales*. 3eme Edition, Editeur Technique Et Documentation, Paris.**
- **BSSAIBIS F. Et Al., 2009. Activité Antibactérienne De *Dittrichia Viscose L.* ;Rev. *Microbiol. Ind. San Et Environn*. Vol. 3(1) ; P: 44-55.**
- **Callery, E. Le Grand Des Herbes.1998. Le Guide Pratique De La Culture, Du Séchage Et Des Vertus De Plus De 50 Herbes.**
- **Carillon E. 2000. *La Phytothérapie Face A L'évolution Médicinale*. Ed :Phyto . 10-15.**
- **Charpentier B., Florence H-L., Alain H. 2008. *Guide Du Préparateur En Pharmacie* 3em Edition Masson. P.1358.**
- **Chromosome Numbers And Mode Of Reproduction In *Picris Hieracioides S.L.* (Asteraceae), With Notes On Some Other *Picris* Taxa Marek Slovák, Barbora Singliarovà And Patrik Mràznordic *Journal Of Botany* 25: 238! 244, 2007**
- **Coffi , R. Philippe , E. T. Zannou Boukari Et I. Glitho.2012. Efficacité Des Composés Métabolites Secondaires Extraits Des Folioles Du Palmier A Huile**

Contre Les Larves De La Mineuse Des Feuilles, *Coelaenomenodera Lameensis* (Coleoptera: Chrysomelidae) Bulletin De La Recherche Agronomique Du Bénin (BRAB) Numéro Spécial Productions Végétales & Animales Et Economie & Sociologie Rurales.

- Colette-Keller D. 2004. Les Plantes Médicinales. ALS (Séance Du 25 Avril 2004). P 58.
- Cosentino, S., Barra, A., Pisano, B., Cabisa, M., Pirisi, F. And Palmas, M. .2003. Composition And Antimicrobial Proprieties Of Sardinian Juniperus Essential Oils Against Food Borne Pathogens And Spoilage Microorganisms. *J Food Prot* .66 : 1288-1291.
- Cosentino S., Tuberoso CIG., Lisano B. 1999.. Sarinian Thymus Essential Oils. *Letters In Applied Microbiology*.29:130-135.
- COWAN N. M., 1999. Plant Products As Anti Microbial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 12(4): 564-582.
- CRUZ J.M., DOMINGUEZ J.M., DOMINGUEZ H., PARAJO J.C., 2001.Antioxidant And Antimicrobial Effects Of Extracts From Hydrolysates Of Lignocellulosic Materials. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*. Vol.49 (5):2459-2464.
- DAISIE, 2015. Fournir Des Inventaires D'espèces Exotiques Envahissantes Pour l'Europe. Passerelle Européenne Des Espèces Exotiques Envahissantes. [Www.Europe-Aliens.Org/Default.Do](http://www.Europe-Aliens.Org/Default.Do)
- Decaux I. 2002. *Phytothérapie : Mode D'emploi*. Ed : Le Bien Public. Pp 6  
Delaquis, P.J., Stanich K., Girard B.And Mazza G., (2001). Antimicrobial Activity Of Individual And Mixed Fractions Of Dill, Cilantro, Coriander And Eucalyptus Essential Oils. *Int. J. Food Microbiol.*, 74: 101-109
- DHAOUADI K., RABOUDI F., ESTEVAN C., BARRAJON E., VILANOVA E., HAMDAOUI M., FATTOUCH S., 2010. Cell Viability Effects And Antioxidant And Antimicrobial Activities Of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric Food Chem*. Vol. (59): 402-406.
- Diallo A., 2005. Etude De La Phytochimie Et Des Activités Biologiques De *Syzygium Guineense* WILLD (Myrtaceae), Thèse De Doctorat, Mali, 42 P.

- Diallo D., 2000. Ethno Pharmacological Survey Of Medicinal Plants In Mali An Phytochemical Study Of Four Of Them: *Glinus Oppositifolius* (Azoceae), *Diospyros Abyssinica* (Ebenaceae), *Entada Africana* (Minosaceae), *Trichilia Emetic* (Meliaceae). Thèse De Doctorat De Recherche, Faculté Des Sciences De L'université De Lausanne Suisse.
- DJELLOUL DAOUADJI S., 2010. Detection De Biofilm A Staphylocoques Sur Catheters Veineux. Thèse De Magister En Biologie Moléculaire Et Cellulaire.
- DONATIEN K., 2008. Enquête Ethnobotanique De Six Plantes Médicinales Maliennes - Extraction, Identification D'Alcaloïdes - Caractérisation, Quantification De Polyphénols : Etude De Leur Activité Antioxydante. Thèse De Doctorat Mention Chimie Organiques. Université Paul Verlaine De METZ – UPV- M. France. 150 P.
- Dupont F. Guignard J.L. 2012. Abrégé De Botanique 15ème Edition. Editions Masson, Paris.
- E. Koffi, T. Sea, Y. Dodehe And S. Soro. 2010. Effect Of Solvent Type On Extraction Of Polyphenols From Twenty Three Ivorian Plants. J. Animal & Plant Sci. Vol. 5. Pp. 550-558.
- EDENHARDER R., GRÜNHAGE D., 2003.Free Radical Scavenging Abilities Of Flavonoids As Mechanism Of Protection Against Mutagenicity Induced By Tertbutyl Hydroperoxide Or Cumene Hydroperoxide In *Salmonella Typhimurium* TA102. *Mutat. Res.* Vol. (540): 1–18.
- EDENHARDER R., GRÜNHAGE D., 2003.Free Radical Scavenging Abilities Of Flavonoids As Mechanism Of Protection Against Mutagenicity Induced By Tertbutyl Hydroperoxide Or Cumene Hydroperoxide In *Salmonella Typhimurium* TA102. *Mutat. Res.* Vol. (540): 1–18.
- El Hassani, B., El Hanabali, F., Akssira, M., Mellouki,F., Haidour,A., Barrero, A.F. 2013.Germacranolodes. From *Anviellea Radiata*. *Fitoterapia*,2004, Vol.75,N°6,Pp. 573-576.
- European Scientific Journal December Edition Vol.9, No.36 ISSN: 1857 – 7881 (Print) E - ISSN 1857- 7431

- **EVALUATION DES ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES DE TRIDAX PROCUMBENS (ASTERACEAE), JATROPHA MULTIFIDA (EUPHORBIACEAE) ET DE CHROMOLAENA ODORATA (ASTERACEAE)**
- **Fouché GP. , Marquet A. Et Hambuckers A. 2000. Les Plantes Medicinale : De La Plante Au Médicament. Exposition Temporaire De 19.09 Au 30.09.2000. Fruit And Vegetable Samples. Molecules. Vol. 15. Pp. 8813-8826.**
- **Gao, M., Teplitski, M., Robinson, J. B., Bauer, W.D. 2003. Production Of Substances By Medicago Truncatula That Affect Bacterial Quorum Sensing. Molecular Plant-Microbe Interactions, Vol. 16, N°9, Pp. 827-834.**
- **Gardens Ablaze. *Lathyrus Oderatus* ,2012. À Partir De : [Http:// Www.Botanique.Org](http://www.Botanique.Org).**
- **GAZENDEL JM., ORECCHIONI AM., 2013. Le Préparateur En Pharmacie – Guide Théorique Et Pratique. 2ème Ed. Ed. Tec Et Doc, Paris. France. 1443 P.**
- **Gibbons, S. 2008.Phytochemicals For Bacterial Resistance-Strengths, Weaknesses And Opportunities;Planta Medical, Vol. 74, N°6,Pp. 594-602.**
- **GONZÁLEZ A.G., BARRERA J.B., GARCÍA T.Z., ROSAS F.E., 1984 Sesquiterpene Lactones From *Centaure* A Species. *Phytochemistry*. Vol. 23(9): 2071–2072.**
- **González-Gallego J., Sánchez-Campos. S. Et Tuñón M.J., 2007. Anti-Inflammatory Propreties Of Dietary Flavonoids. *Nutricim Hospitalaria* 22(3):287-293.**
- **GORHAM J., 1977.Lunularic Acid And Related Compounds In Liverworts, Algae And Hydrangea. *Phytochemistry*. Vol. (16):249-253.**
- **Greuter W, 2006. Compositions (Pro Parte Majore). Compositae [Ed. Par Greuter, W. \ Raab-Straube, E. Von]. Euro + Med Plantbase - La Ressource D'information Pour La Diversité Végétale Euro-Méditerranéenne.**
- **GUIGNARD JL., 1996- Biochimie Végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 P.**
- **Guinoiseau, E. Molécules Antibactériennes Issues D'huiles Essentielles: Separation, Identification Et Mode D'action. Thèse De Doctorat.Corse: Université De Corse-Pasquale Paoli, 2010.**

- GURIB-FAKIM A., 2006. Medicinal Plants: Traditions Of Yesterday And Drugs Of Tomorrow. *Molecular Aspects Of Medicine*. Vol. (27): 1-93.
- HANDA S.S., 2008. An Overview Of Extraction Techniques For Medicinal And Aromatic Plants. (Eds) *Extraction Technologies For Medicinal And Aromatic Plants*. International Centre For Science And High Technology, Trieste. Italy. Pp 21-54.
- Harbone J.B. 1998. *Phytochemical Methods A Guide To Moderns Techniques Of Plants Analysis*, 3<sup>rd</sup> Edition. P. 412.
- HARBORNE J.B., 1980. Plant Phenolics: Encyclopedia Of Plant Physiology. *New Series*. Vol. (8): 329-402.
- HARRAR A.E.N., 2012. Activités Antioxydante Et Antimicrobienne D'Extraits De *Rhamnus Alaternus* L. Thèse De Magister Biochimie Et Physiologie Expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 73 P.
- HASLAM E., 1998- Practical Polyphenolics: From Structure To Molecular Recognition And Physiological Action. Ed. Cambridge University Press, Cambridge. UK. 422p.
- HAVSTEEN B. H., 2002. The Biochemistry And Medical Significance Of The Flavonoïdes, *Pharmacology And Therapeutics*. 96: 67-202.
- Hayouni EA., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. (2007). The Effects Of Solvents And Extraction Method On The Phenolic Contents And Biological Activities In Vitro Of Tunisian *Quercus Coccifera* L. And *Juniperus Phoenicea* L. Fruit Extracts . *Food Chemistry*, 10 :10-16
- Hong Yao, Bin Wu, Yiyucheng, Haibin Qu., 2009. High Throughput Chemiluninescence Platform For Evaluating Antioxydative Activity Of Total Flavonoid Glycosides From Plant Extracts. *Food Chemistry*. 115:380-386.
- HELLAL Z., 2011- Contribution A L'étude Des Propriétés Antibacteriennes Et Antioxydantes De Certaines Huiles Essentielles Extraites Des Citrus. Application Sur La Sardine (*Sardina Pilchardus*). Mémoire De Magister En Biologie, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie. 78p.

- HELLER W., FORKMANN G., 1993. The Flavonoids. Advances In Research Since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia Of Plant Physiology. Ed. Chapman Et Hall, London. UK. Pp 399-425.
- HENNEBELLE T., SAHPAZ S., BAILLEUL F., 2004. Polyphénols Végétaux, Sources, Utilizations Et Potentiel Dans La Lutte Contre Le Stress Oxydatif. *Phytothérapie*. Vol (1): 3-6.
- HERNANDEZ-OCHOA L.R., 2005. Substitution De Solvants Et Matières Actives De Synthèse Par Combiné (Solvant/Actif) D'origine Végétale. Thèse De Doctorat.
- HESS M., 2002. Alkaloids, Nature's Curse Or Blessing 1ère Edition. Ed. Wiley-VCH, New York. USA. 297 P.
- Heywood, V.H. 1996. Flowering Plants Of The World. 3th Edition, Oxford University Press, Oxford, Pp. 141-145, 149-152.
- Holub,. 1973: Contribution To The Taxonomy And Nomenclature Of *Leuzea Conifera* DC. And *Rhaponticum* Auct. - *Folia Geobot. Phytotax.* 8: 377-395.
- Holzapfel S, 1994. Une Révision Du Genre *Picris* (Asteraceae, Lactuceae) Si En Australie. *Willdenowia*, 24 (1-2): 97-218.
- Rapports Sur Le Chromosome IPCN, 2015. Index Des Nombres De Chromosomes Végétaux (IPCN), Site Web De Tropicos. St. Louis, Missouri, États-Unis: Missouri Botanical
- HOULT J. R. S., PAYA M., 1996. Pharmacological And Biochemical Actions Of Simple Coumarine: Natural Products With Therapeutic Potential. *Gen Pharmacol.* Vol (27): 711-722.
- Irobi, O.N. Antibiotic Properties Of Ethanol Extract Of *Chromolaena Odorata* (Asteraceae), *Phytochemistry*, Vol 35 (2), 111-115, 1997.
- Iserin P., 2001. *Encyclopedie Des Plantes Medicinales*. Ed : Larousse Bourdasse .Paris . P.335
- ISERIN P., MASSON M ., RESTELLINI J P., 2007. *Larousse Des Plantes Médicinales. Identification, Préparation, Soins* .Ed. Larousse, Paris. France. 335 P.

- **Jean Bruneton Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales (4e Ed.), Lavoisier (2009)**
- **Jones G.A.T.A., Mcallister I.A.D. And Cheng K-J. 1994. Effect Of Sainfoin (Onobrychis Viciifolia Scop) Condensed Tannins On Growth And Proteolysis By Four Satains Of Rumminal Bacteriat . Applied And Environmental Microbiology. 60 (4): 1374-1378.**
- **Judd W. S., Campbell C. S., Kellogg E. A. Stevens P. 2002. Botanique Systématique. Une Perspective Phyllogénétique. Paris, Bruxelles, De Boek Université, 282.**
- **KAMRA D.N., AGARWAL N., CHAUDHARY L.C., 2006. Inhibition Of Ruminant Methanogenesis By Tropical Plants Containing Secondary Compounds. International Congress Series. Vol. (1293) : 156–163.**
- **KHANBABAE K ., REE T.R., 2001. Tannins:Classification And Defenition. Journal Of Royal Society Of Chemistry. Vol. (18): 641-649.**
- **KHENAKA K., 2011.Effet De Diverses Plantes Médicinales Et De Leurs Huiles Essentielles Sur La Méthanogénèse Ruminale Chez L"Ovin. Thèse De Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 81p.**
- **Koffi N'GUESSAN 1 , Beugré KADJA , Guédé N. ZIRIHI , Dossahoua TRAORÉ 1 & Laurent AKÉ-ASSI.2009. Sciences & Nature Vol. 6 N°1 : 1 - 15 (2009) Article Original Screening Phytochimique De Quelques Plantes Médicinales Ivoiriennes Utilisées En Pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire) 1 Université De Cocody-Abidjan (Côte-d'Ivoire), UFR Biosciences, Laboratoire De Botanique. 22 BP 582 Abidjan 22. 2 Université De Cocody-Abidjan, Laboratoire De Biochimie. Sciences & Nature Vol. 6 N°1 : 1 – 15.**
- **Léandre K. KOUAKOU 1, Kouakou J-C. ABO 2 , Flavien TRAORE 2 & Ehouan E. EHILE .2008. Effet Antihypertensif De Bpf2 , Une Fraction D'extrait Aqueux De Feuilles De Bidens Pilosa L. (Asteraceae), Pharmacologie Et Pharmacopée, UFR Des Sciences De La Nature, Université d'Abobo-Adjamé, 02 BP : 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire 2Laboratoire De Physiologie Animale, UFR Biosciences, Université De Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire Sciences & Nature Vol. 5 N°1 : 29 - 37**

- LEINMÜLLER E, STEINGASS H, MENKE KH., 1991. Tannins In Feeds For Ruminants. II Effects On Rumen Metabolism In Vitro. *Übersichten Zur Tierernährung*. Vol. (19):45–70.
- Les Fabaceae *Genista Pilosa*, 2012. Disponible A Partir De : [Http://Www.Herbierimages.Be/Index\\_Fichiers/Fabaceae.Html](http://www.herbierimages.be/index_fichiers/fabaceae.html).
- Lewis, K., 2001. In Search Of Natural Substrates And Inhibitors Of MDR Pumps. *Journal Of Molecular Microbiology And Biotechnology*, Vol. 3, N°2, Pp. 247-254.
- Lewis, K., Ausubel, F. M., 2006. Prospects For Plant-Derived Antibacterials. *Nature Biotechnology*, Vol. 24, N°12, Pp. 1504-1507.
- LEYBROS J, FREMEAUX P., 1990. Extraction Solide-Liquide Aspects Théoriques. *Techniques De L'ingénieur, Génie Des Procédés*. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780.22.
- LICHTENTHALER H.K., 1999. The 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphate Pathway Of Isoprenoid Biosynthesis In Plants. *Annual Review Of Plant Physiology And Plant Molecular Biology*. Vol. (50): 47-65.
- Linuma M., Ito, T., Miyake, R., Tosa, H., 1998. Tanaka, T., Chelledurai, V. Xanthone From *Garcinia Cambogia*. *Phytochemistry*, Vol. 47, N°6, Pp. 1169-1170.
- LITVAK M.E., MONSON R.K., 1998. Patterns Of Induced And Constitutive Monoterpène Production In Conifer Needles In Relation To Insect Herbivory. *Oecologia*. Vol. (114): 531-540.
- LITVAK M.E., MONSON R.K., 1998. Patterns Of Induced And Constitutive Monoterpène Production In Conifer Needles In Relation To Insect Herbivory. *Oecologia*. Vol. (114): 531-540.
- M. Eddouks, M. L. Ouahidi, O. Farid, A. Moufid, A. Khalidi, A. Lemhadri, 2007. L'utilisation Des Plantes Médicinales Dans Le Traitement Du Diabète. *Phytothérapie*, Volume 5, Pp 194–203
- MACHEIX J.J., FLEURIET A., SARNI-MANCHADO P., 2006. Les Polyphénols En Agroalimentaire. Ed. Tec Et Doc, Paris. France. Pp:1-28.

- Maire, R. (1987). La Flore De l'Afrique Du Nord. Les Légumineuses, Le Chevalier Ed. Paris XVI.
- MAKKAR H.P.S. 2003. Effects And Fate Of Tannins In Ruminant Animals, Adaptation To Tannins, And Strategies To Overcome Detrimental Effects Of Feeding Tannin-Rich Feeds. *Small Ruminant Research*. Vol. (49) : 241-256.
- MANGAN J. L. 1988. Nutritional Effects Of Tannins In Animal Feeds. *Nutr. Res. Rev.* Vol. (1) : 209-231.
- Mann, J. ; Davidson, R. S. ; Hobbs, J. B. ; Banthorpe, D. V. ; Harborne, J. B. Natural Products. Longman. 1994, Ch. 7, 389.
- Marek Slovák, Barbora Singliarovà And Patrik Mráz .2007. *Nordic Journal Of Botany* 25: 238!244.
- Marfak A. 2003. Radiolyse Gamma Des Flavonoides . Etude De Leur Réactivité Avec Les Raducaux Issus Des Alcools : Formation Des Depsides ; These De Doctorat .Université De Limoges : 23-25.
- MAURICE N., 1997. L'herboristerie D'antan A La Phytothérapie Moléculaire Du Xxie Siècle. Ed. Tec Et Doc, Paris. France. Pp 12-14.
- MAYER A.M., 2004. Resistance To Herbivores And Fungal Pathogens: Variations On A Common Theme. A Review Comparing The Effect Of Secondary Metabolites, Induced And Constitutive, On Herbivores And Fungal Pathogens. *Isrel Journal Of Plant Sciences* . Vol. (52): 279-292.
- MCSWEENEY C.S., PALMER B., MCNEILL D.M. And KRAUSE D.O., 2001. Microbial Interaction With Tannins: Nutritional Consequences For Ruminants. *Animal Feed Science And Technology*. Vol. (91): 83-93.
- MEDDOUR A., YAHIA M., BENKIKI N., AYACHI A., 2013. Étude D L'activité Antioxydante Et Antibactérienne Des Extraits D'un Ensemble Des Parties De La Fleur Du *Capparis Spinosa* L. *Lebanese Science Journal*. Vol. (14): 49-60.
- MEDJROUBI K., BENAYACHE F., BENAYACHE S., AKKAL S., KHALFALLAH N., ACLINOU P., 1997. Guaianolides From *Centaurea-Musimomum*. *Phytochemistry*. Vol. (45), 1449-1451.

- MOHAMMEDI., 2013. Etude Phytochimique Et Activités Biologiques De Quelques Plantes Médicinales De La Région Nord Et Sud Ouest De L'Algérie. Thèse De Doctorat En Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 169 P.
- MURRY R. D. H., Mendez J., Brown S. A., 1982. The Natural Coumarins Occurrence Chemistry And Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley And Sons, UK. New York. England. 702 P.
- N. Boizot Et J-P. 2006. Charpentier. Méthode Rapide D'évaluation Du Contenu En Composés Phénoliques Des Organes D'un Arbre Forestier. Cah. Tech. INRA. N°. Special. . Pp. 79-82.
- N. Ghedadba, 2015. Polyphénols Totaux, Activités Antioxydante Et Antimicrobienne Des Extraits Des Feuilles De Marrubium Deserti De Noé *In Phytotherapie* 13(2):118-129
- N. Ghedadba ,L. Hambaba,A. Ayachi,M. C. Aberkane,H. Bousselsela,S. M. Ouel d-Mokhtar. April 2015 Polyphénols Totaux, Activités Antioxydante Et Antimicrobienne Des Extraits Des Feuilles De *Marrubium Deserti* De Noé. Volume 13, [Issue 2](#), Pp 118–129
- NACOULMA AP., 2012. Reprogrammation Métabolique Induite Dans Les Tissus Hyperplasiques Formés Chez Le Tabac Infecté Par *Rhodococcus Fascians*: Aspects Fondamentaux Et Applications Potentielles. Thèse De Doctorat En Sciences Pharmaceutiques. Université Libre De Bruxelles Europe. Belgique. 92 P.
- Najla Trabelsi <sup>Un</sup> ,Megdiche Wided <sup>Un</sup> ,Riadh Ksouri, <sup>Un</sup>hanen Falleh, <sup>Un</sup>samia Oue slati <sup>Un</sup>bourgou Soumaya, <sup>B</sup>hafedh Hajlaoui, <sup>C</sup>chedly Abdelly , 2010. <sup>A</sup>effets Du Solvant Sur Les Teneurs En Composés Phénoliques Et Les Activités Biologiques Des Feuilles D' Halophyte *Limoniastrum Monopetalum*
- National Committee For Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (2001) Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing: Eleventh Informational Supplement, M100- S11, Wayne, PA, USA
- Newall, C., Anderson, L. And Phillipson, J. 1996. Herbal Medicines. A Guide For Health Care Professionals. London: The Pharmaceutical Press

- **NEWMAN D.J., CRAGG G.M., 2012. Natural Products As Sources Of New Drugs Over The 30 Years From 1981 To 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.**
- **Ngono Ngane E. R. E., Ndifor F., Biyiti L. Antifungal Activity Of *Chromolaena Odorata* (L) King Robinson (Asteraceae) Of Cameroon. *Phytochemistry*, Vol 52. 103- 109, 2006.**
- **Nguz K. (1996). Evaluation De La Degradation Des Tannins. *Phytochimiques* . 225 230.**
- **NKHILI E-Z., 2009. Polyphénols De L'Alimentation : Extraction, Interactions Avec Les Ions Du Fer Et Du Cuivre, Oxydation Et Pouvoir Antioxydant. Thèse De Doctorat En Sciences Des Aliments. Université Cadi Ayyad, Marrakech. Maroc. 327 P.**
- **Nordic Journal Of Botany 25: 238!244, 2007**
- **Ojeil A., EL Darra N., El Hajj Y., Bou Mouncef P., Richard G. 2010.**
- **Ozenda, P. 1977. Flore Du Sahara, 2ème Edition, Centre National De La Recherche Scientifique, Paris, P 437.**
- **P. Garcia-Salas, A. Morales-Soto, A. 2010. Segura-Carretero And A. Fernández-Gutiérrez. Phenolic-Compound-Extraction Systems For Fruit And Vegetable Samples. *Molecules*. Vol. 15. Pp. 8813- 8826.**
- **Pai C., Kulkarni U., Borde M., Murali S., Mrudula P. And Deshmukh Y. 2011. Antibacterial Activity Of *Tridax Procumbens* With Special Reference To Nosocomial Pathogens. *British J. Pharm. Res.*, 1(4), 164-173,.**
- **Pan, Afr Med J., 2013. The Pan African Medical Journal: Enquete Sur Les Aspects Toxicologiques De La Phytothérapie Utilisée Par Un Herbevoriste A Fes, Maroc.**
- **PANDEY KB Et RIZVI SI., 2009. Plant Polyphenols As Dietary Antioxidants In Human Health And Disease. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*. Vol. 2(5) : 270 – 278.**
- **Pawlowska AM, De Leo M, Braca A. 2006. Phenolics Of *Arbutus Unedo* L. (Ericaceae) Fruits: Identification Of Anthocyanins And Gallic Acid Derivatives. *J. Agric. Food Chem.*, 54 (26): 10234-38.**

- **PERRET C., 2001- Analyse De Tanins Inhibiteurs De La Stilbène Oxydase Produite Par *Botrytis Cinerea*. Thèse De Doctorat .Université De Neuchâtel.Suisse. 184 P.**
- **Pfaller MA, Messer SA, Karlsson Å. 1998. Evaluation Of The Etestmethod For Determining Fluconazole Susceptibilities Of 402 Clinical Yeast Isolates By Usingthree Different Agar Media. J Clin Microbiol 36(9): 2586–9**
- **Phytothérapie Octobre 2007, Volume 5, , Pp 194–203 L'utilisation Des Plantes Médicinales Dans Le Traitement Du Diabète Au Maroc**
- **Pinto, E., Palmeira, A., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Goncalves, M.J., Pina-Vaz, C., Rodrigues, A., Oliveira, S. 2003. Antifungal Activity Of Oregano Oils (*Lippia Graveolens* And *Origanum Virens*) On Dermatophyte Species. *Clin Microbiol Infec.* 9 (1), 222- 230.**
- **Prabuseeninivasan S., Jajacumar M., Ignacimuthus S. 2006.In Vitro Antibacterial Activity Of Some Plant Essential Oil. *Biomed Central Complémentart And Alternative Medecine.* 6 (39).**
- **Crozier, Michael N. Clifford, Hiroshi Ashihara .2006. Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure And Role In The Human Diet. Alan By Blackwell Publishing Ltd**
- **Ponce A.G., FRITZ R., DELVALLE C. & Roura S.I .2003. Antimicrobiol Activity Of Essential Oils On The Native Microflora Of Organic Swiss Chard.**
- **PRIVAS E., 2013. Matériaux Ligno-Cellulosiques «Élaboration Et Caractérisation Laboration ». Thèse De Doctorat En Science Et Génie Des Matériaux, L'École Nationale Supérieure Des Mines, Paris. France. 166 P.**
- **R. T. CONLEY. *Infrared Spectroscopy*. Alin And Bacon Inc., 1966.**
- **Réseau De Conservation Des Plantes De Nouvelle-Zélande, 2016. Réseau De Conservation Des Plantes De Nouvelle-Zélande. Wellington, Nouvelle Zélande. [Http://Www.Nzpcn.Org.Nz/Default.aspx](http://Www.Nzpcn.Org.Nz/Default.aspx)**
- **RICHTER G., 1993.Métabolisme Des Végétaux. Physiologie Et Biochimie. Ed. Presses Polytechniques Et Universitaire, Romandes. Suisse. 526 P.**

- Riffel A, Medina L-F, Stefani V, Santos R-C, Bizani, Brandelle .2002. *In Vitro* Antibacterial Activity Of A New Series Of 1, 4- Naphtaquinones. *Brazillian Journal Of Medical And Biological Research*. 35(7). 811-818
- RIRA M., 2006. Effet Des Polyphénols Et Des Tanins Sur L'Activité Métabolique Du Microbiote Ruminal D'Ovins. Thèse De Magister En Biochimie Et Microbiologie Appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 P.
- Rojas A., Hernandez L., Perrada-Mirrandra R., Matg R., 1992. Screening For Antibacterial Activity Of Crude Drug Extract And Pure Natural Products From Mexican Medicinal Plants . *Journal Of Ethnopharmacology*. 35: 275-283.
- ROUX D., CATIER O., 2007. Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. 3ème Édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. 141 P.
- Ruegg, T., Calderon, A. I., Queiroz, E. F., Slis, P. N., Marston, A., Rivas. F., Ortega-Barria, E., Hostettmann, K., Gupta, M. P. 2006. 3-Farnesyl-2-Hydroxybenzoic Acid Is A New Anti Hlicobacter Pylori Compound From *Piper Multiplinervium*. *Journal Of Ethnopharmacology*, Vol. 103 , N°3, Pp.461-467.
- RUFINI L., SAMPAOLO G., 1977. Plants Off. Aromi. Saponi., *Cosmétol. Aerosol*. Vol.59:9-75. (Leguminosae) Based On Analysis Of The Plastid *MATK* Gene Resolves Many Well-Supported Subclades Within The Family. *American Journal Of Botany*, 11, 1846-2004.
- S. Jokić, D. Velić, M. Bilić, A. Bucić-Kojić, M. Plan Inić And S. Tomas. 2010. Modelling Of The Process Of Solid-Liquid Extraction Of Total Polyphenols From Soybeans. *J. Food Sci.* Vol. 28.). Pp. 206- 212.
- Safdar N, Maki DG. 2002. The Commonality Of Risk Factors For Nosocomial Colonization And Infection With Antimicrobial-Resistant Staphylococcus Aureus, Enterococcus, Gram-Negative Bacilli, Clostridium Difficile, And Candida. *Ann Intern Med.* Jun 4;136(11):834-44.
- Salgueiro L.R., Cavaleiro, C., Pinto E., Pina-Vaz C., Rodrigues A.G., Palmeira A., Tavares C., Costa-Oliveira S. 2003. Chemical Composition And Antifungal Activity Of The Essential Oil Of *Origanum Virens* On *Candida* Species. *Planta Med.* 69: 871-874

- Scalbert A.1991. Antibacterial Properties Of Tannins .*Phytochemistry* . 30 : 3875-3883.
- Scharf DH, Heinekamp T, Brakhage A.2014. Human And Plant Fungal Pathogens: The Role Of Secondary Metabolites. *Plos Pathog* 10:E1003859. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003859>.
- SCHAUENBERG P., PARIS F., 2005. Guide Des Plantes Médicinales. Analyse, Description Et Utilisation De 400 Plantes. 2ème Edition. Ed. Delachaux Et Niestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 P.
- Schempp, C. M., Pelz, K., Wittmer, A., Schopf, E., Simon, J. C. 1999.Antibacterial Activity From St John's Wort Against Multiresistant *Staphylococcus Aureus* And Gram Positif Bacteria. *The Lancet*, Vol.353, N°9170, P. 2129.
- SEENIVASAN P., 2006.In Vitro Antibacterial Activity Of Som Plant Essential Oils. *Jornal Of Complementary And Alternative Medicine*. Vol. (9): 6-39.
- SHARKEY T.D.H.E., 1991.Stomatal Control Of Trace Gas Emissions. Trace Gas Emission Dy Plants. *Physiological Ecology. A Series Of Monographs, Texts, And Treatises*. Ed. Ca, Academic Press, San Diego. USA. Pp 335-339.
- SINGANUSONG R., Chen S.S., 2004 Flavonoids In Food And Their Health Benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.* Vol (59) : 113-122.
- SINGLETON V. L., ORTHOFER R., And LAMUELA-RAVENTOS R. M., 1999.Analysis Of Total Phenols And Other Oxidation Substrates And Antioxidants By Means Of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 152-177.
- Sîrbu C; Oprea A, 2013. Une Nouvelle Contribution Sur La Flore Vasculaire De Roumanie. *Acta Horti Botanici Bucurestiensis*, 40 (1). 19-26.
- Spichiger R. E., Savolainen V. V., Figeat M., Jeanmoned D. 2002. *Botanique Systématique Des Plantes A Fleur*. Presses Polytechniques Et Universitaires Romandes, CH -Lausanne. 255
- Spichiger, R.E., Savolainen, V.V., Figeat, M. Jeanmonod, D. 2004. *Botanique Systématique Des Plantes A Fleurs: Une Approche Phylogénétique Nouvelle Des*

**Angiospermes Des Régions Tempérées Et Tropicales. 3ème Edition, Presses Polytechniques Et Universitaires Romandes, Lausanne, Pp. 202-211.**

- **Taconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Mantengoli E, Spanu T, Pan A, . 2009. Antibiotic Usage And Risk Of Colonization And Infection With Antibiotic-Resistant Bacteria: A Hospital Population-Based Study. *Antimicrob Agents Chemother*;53(10):4264-9. Tec & Doc. 4ème Ed, Paris. France. 1288 P**
- **Tegos, G., Stermitz, F. R., Lomovskaya, O., Lewis, K. 2002. Multidrug Pump Inhibitors Remarkable Activity Of Plant Antimicrobials. *Antimicrobial Agents Andchemotherapy*, , Vol. 46, N°10, Pp. 3133-3141.**
- **TEIXEIRA DA SILVA J. A., 2004- Mining The Essential Oils Of The *Anthemideae*. *Afr. J. Biotechnol.* Vol. (3): 706-720.**
- **Tela Botanica, 2016. Tela Botanica - Le Réseau De Botanique Français (Tela Botanica - Le Réseau De La Botanique Francophone). Montpellier, France. [Http://Www.Tela-Botanica.Org](http://www.tela-botanica.org).**
- **Teplitski, M., Robinson, J.B., Bauer, W.D. 2000. Plants Substances That Mimic Bacterial N- Acyl Homoserine Lactone Signal Activities And Affect Population Density-Dependent Behaviors In Associated Bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, Vol. 13, N°6, Pp. 637-64.**
- **Tosso TJ; Ferreyra ER; Munoz SL, 1986. Graines De Mauvaises Herbes Portées Par L'irrigation. Identification, Pouvoir Germinatif Et Répartition Des Espèces En Saison D'irrigation. (Semillas De Malezas Transportadas Por El Riego.) Identificación, Poder Germinativo Y Distribución De Especies, En Una Temporada De Riego.) *Agricultura Tecnica*, 46 (2). 125-129.**
- **TREKI A.S., MERGHEM R., DEHIMAT L., 2009. Etude Phytochimique Et Evaluation De L'activité Antibactérienne D'une Labiée: *Thymus Hirtus*. *Sciences & Technologie*. Vol. (29): 25 29.**
- **TREKI A.S., MERGHEM R., DEHIMAT L., 2009. Etude Phytochimique Et Evaluation De L'activité Antibactérienne D'une Labiée: *Thymus Hirtus*. *Sciences & Technologie*. Vol. (29): 25 29.**
- **Tremetsberger K; Angeles Ortiz M; Terrab A; Balao F; Casimiro-Soriguer R; Talavera M; Talavera S, 2015. Phylogéographie Au-Dessus Du Niveau De**

L'espèce Pour Les Espèces Pérennes Dans Un Genre Composite. *Plantes Aob*, 8, 1-17.

- UNESCO (U: United, N: Nations, E: Educational, S: Scientific ,And (C): Cultural, O: Organization) ., 1960- Les Plantes Médicinales Des Régions Arides. *Recherche Sur Les Zones Arides*. Vol. 13, Paris, 99 P.
- USDA-ARS, 2016. Réseau D'information Sur Les Ressources Génétiques (GRIN). Système National De Matériel Phytogénétique. Base De Données En Ligne. Beltsville, Maryland, États-Unis: National Germplasm Resources Laboratory. <https://Npgsweb.Ars-Grin.Gov/Gringlobal/Taxon/Taxonomysearch.aspx>
- USDA-NRCS, 2016. La Base De Données PLANTS. Baton Rouge, États-Unis: National Plant Data Centre. <http://Plants.USda.Gov/>
- VERPOORTE R., ALFERMANN A.W., 2000- Metabolic Engineering Of Plant Secondary Metabolism. Ed. Kluwer Academic, Dordrecht. Netherlands. 286 P.
- Vibrans H, 2015. Mauvaises Herbes Du Mexique (Malezas De Mexico). <http://Www.Conabio.Gob.Mx/Malezasdemexico/2inicio/Home-Malezas-Mexico.Htm>
  - W. BRÜGEL. *An Introduction To Infrared Spectroscopy*. Methuen & Co. Ltd., 1962
  - T. CONLEY. *Infrared Spectroscopy*. Alin And Bacon Inc., 1966.
- Wichtl M. Et Anton R., 2003. - *Plantes Thérapeutiques*. 2ème Ed, Paris, P 692.
- Wichtl, M., Anton, R., 1999. *Plantes Thérapeutiques :Tradition, Pratique Officinale, Science Et Thérapeutique*. 3ed. Paris :Tec& Doc Lavoisier,
- Wojciechowski M.F., Lavin M. Sanderson M.J. 2004. Une Phylogénie Des Légumineuses (Leguminosae) En Se Basant Sur L'Analyse Du Plastide Mat K Gène Résout De Nombreux Subclades Bien Pris En Charge Au Sein De La Famille
- Yafei Liu, Ting Li Jiao, Zhu Ling Guo, Xiaolong Shi, Xingbin Yang, 2013 , Effets Différentiels D'extraits Enrichis De Polyphénols Provenant De Pelures De Fruits D'aubépine Et De Chair Sur Le Cycle Cellulaire Et L'apoptose Dans Des Cellules

**De Carcinome Du Sein MCF-7 Humain Chimie Alimentaire Volume 141, Numéro2 ,  
Pages 1008-101.**

- **YAO L.H., JIANG Y.M., SHI J., TOMAS-BARBERAN F.A., DATTA N., Yasukawa K., Akihisa T., Kasahara Y., Ukiya M., Kumaki K., Tamura T., Yamanouchi S., Takido M. 1998. Inhibitory Effect Of Heliantriol C; A Component Of Edible Chrysanthemum, On Tumor Promotion By 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate In Two-Stage Carcinogenesis In Mouse Skin. *Phytomedicine*, 5, 215-218.**
- **Z. Mohammedi And F. Atik. 2011. Impact Of Solvent Extraction Type On Total Polyphenols Content And Biological Activity From *Tamarix Aphylla* (L.) Karst. *Inter. J. Pharma. Bio. Sci.* Vol. 2. Pp. 609-615.**
- **ZIEGLER J., FACCHINI P.J., 2008- Alkaloid Biosynthesis: Metabolism And Trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* Vol (59): 735 – 769.**



## Liste des annexes

### Annexe 1

**Tableau 05** : Méthodologie des dilutions de l'étalon (acide gallique).

Dilutions à réaliser (mg/L)	V <sub>2</sub> (mL)	V <sub>F</sub> (mL)	Concentration finale (mg/mL)
500 (SM)			0,5
450	0,9	0,1	0,45
400	0,8	0,2	0,4
350	0,7	0,3	0,35
300	0,6	0,4	0,3
250	0,5	0,5	0,25
200	0,4	0,6	0,2
150	0,3	0,7	0,15
100	0,2	0,8	0,1
50	0,1	0,9	0,05
0	0	1	0

Les calculs sont réalisés avec la loi suivante :

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Avec : C<sub>1</sub> : concentration de la SM (mg/mL)

V<sub>1</sub> : volume final (1 mL)

C<sub>2</sub> : concentration de la dilution (mg/mL)

V<sub>2</sub> : volume de la SM à diluer (mL)

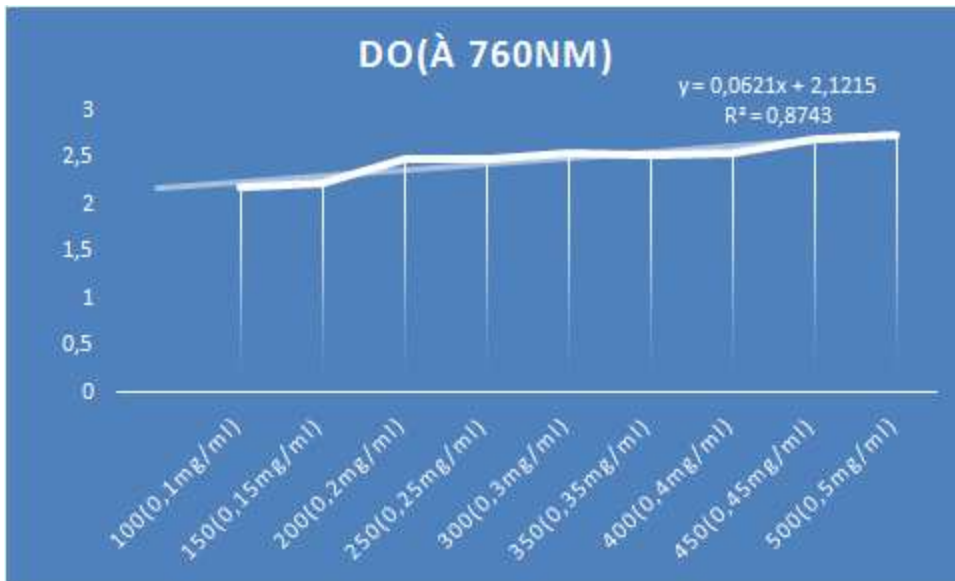
On calcule par exemple la dilution 450 :

$$C_1V_1 = C_2V_2 \rightarrow 0,5 \times 1 = 0,45 \times V_2 \rightarrow V_2 = 0,45 \times 1 / 0,5 \rightarrow V_2 = 0,9 \text{ mL}$$

$$V_F = V_1 - V_2 \rightarrow V_F = 1 - 0,9 \rightarrow V_F = 0,1 \text{ mL}$$

## Liste des annexes

---



Courbe d'étalonnage linéaire

## Liste des annexes

---

## Annexe 02

**Tableau 02: résistance et sensibilité des souches testées**

Antibiotique	Ox	CM	AMX	AM	VA	AN	FOS	OFX	IPM	FOX	N	CN	CMX
Enterococcus feacalis	R	R	S	-	S	-	-	-	-	R	-	-	R
Klebsiella pneumoniae(1315)	-	-	R	R	-	-	-	-	S	R	-	-	R
Klebsiella pneumoniae(4392)	-	-	-	R	-	S	S	S	-	R	-	-	-
Staphylococcus aureus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-
Pseudomonas aeruginosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	S	-
Escherichia coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-
Bacillus cereus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-

## Résumé :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie. Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui renferment des principes actifs différents.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation et de la caractérisation de la partie aérienne de la plante *Helminthotheca echioides*, une plante médicinale de la famille des Astéracées, utilisée dans la médecine traditionnelle dans la région de Kabylie. Pour cela, la composition phytochimique et le pouvoir anti-microbien de cette plante, ont été étudiés.

Le screening phytochimique a montré que la plante étudiée est très riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les tanins galliques, les coumarines, les glucosides, les stéroïdes et les anthocyanes. Les analyses spectroscopiques infrarouges ont également montré la présence de deux principaux groupements fonctionnels dans cette plante, les phénols et les cétones. La teneur en polyphénols totaux est de 14.14mg/mL, de 6.7 mg/mL et de 1.26 mg/mL, dans les extraits méthanoliques, éthanoliques et d'acétate d'éthyle, respectivement.

Cette étude a montré également que *H. echioides* possède une activité antibactérienne et antifongique. L'extrait méthanol/acide formique possède la plus grande activité inhibitrice sur toutes les souches testées tels que *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition de 20 mm, de 17 mm, de 16 mm, de 15 mm et de 14 mm, respectivement. Les résultats de l'aromatogramme ont aussi montré, que cette plante peut être utilisée comme antifongique, avec des zones d'inhibition de 12 mm pour *Candida albicans* et de 66 mm pour *Aspergillus niger*.

Ce travail constitue une étude préliminaire qui permet de mettre en évidence l'intérêt de l'utilisation de cette plante en phytothérapie. De plus, elle permettra de mettre en lumière les innombrables bienfaits de cette plante dont les propriétés ont longtemps été sous-estimées.

**Mots clés :** *Helminthotheca echioides*, Astéracées, métabolites secondaires, polyphénols, screening phytochimique, activité antimicrobienne.

## Summary:

Medicinal plants have been used since ancient times by men and are the basis of herbal medicine. Their effectiveness depends on their compounds, very numerous and varied according to the species, which contain different active ingredients.

This work is part of the valorization and characterization of the aerial part of the plant *Helminthotheca echioides*, a medicinal plant of the family Asteraceae, used in traditional medicine in the region of Kabylie. For that, the phytochemical composition and the antimicrobial power of this plant, were studied.

Phytochemical screening showed that the plant studied is very rich in secondary metabolites such as flavonoids, tannins, gallic tannins, coumarins, glucosides, steroids and anthocyanins. Infrared spectroscopic analyzes also showed the presence of two main functional groups in this plant, phenols and ketones. The total polyphenol content is 14.14 mg / mL, 6.7 mg / mL and 1.26 mg / mL in the methanolic, ethanolic and ethyl acetate extracts respectively.

This study also showed that *H. echioides* has antibacterial and antifungal activity. The methanol / formic acid extract has the greatest inhibitory activity on all tested strains such as *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*, with a 20 mm inhibition diameter, 17 mm, 16 mm, 15 mm and 14 mm, respectively. The results of the aromatogram also showed that this plant can be used as antifungal, with inhibition zones of 12 mm for *Candida albicans* and 66 mm for *Aspergillus niger*.

This work constitutes a preliminary study which makes it possible to highlight the interest of the use of this plant in herbal medicine. In addition, it will highlight the innumerable benefits of this plant whose properties have long been underestimated.

**Key words:** *Helminthotheca echioides*, Asteraceae, secondary metabolites, polyphenols, phytochemical screening, antimicrobial activity.