
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Faculté des Sciences

Département de science de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Science biologique

Option : Biochimie

Présenté par :

M. Nadir ABDERRAHMANE et Mohamed Amine BELKADI

Contribution A l'étude phytochimique Et L'évaluation des activités Antibactériennes Et Antioxydante Des Extraits D'une Plante Médicinale (*Inula viscosa*) De La Région de Ain Temouchent

Encadrant :

M. Farid BENNABI

Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T

Soutenu en

Devant le jury composé de :

Président :	- Mme Ilyas Faiza	C.U.B.B.A.T
Examineurs :	- Mr Moueden Nasreddine Riad	C.U.B.B.A.T

Encadrant :	M. BENNABI Farid (M.C.A)	C.U.B.B.A.T
-------------	--------------------------	-------------

Année universitaire

2019-2020

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 encadreur Monsieur **Bennabi F.** pour l'honneur qu'il 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 présenter notre sincère et vif remerciement à **Mme Ilyes F.** Maître de conférence B à l'Université Belhadj Bouchaïbe - Ain Témouchent, qu'elle trouve ici l'expression de notre gratitude pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à **Mr MOUEDDEN N.** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions au personnel de laboratoire pédagogique **Mr. Mohamedi Walid.**

A tous les étudiants encadrés par Mr Bennabi pour leur aide Précieuse.
En fin nous tenons à remercier tous nos ami (e) s pour leurs Soutiens tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail au premier lieu à ma chère **maman et mes grands-parents** qui m'ont toujours soutenu dans ma vie et pour leur amour, sacrifice, soutien et patience durant toute ma vie. Trouvez dans ce travail accompli, tous le respect et l'amour que je vous porte.*

*A mes tantes, mes oncles et mes cousins surtout **Schahinez***

A celles avec qui j'ai partagé cinq merveilleuses années d'études, de joies, des hauts et des bas mes chères amis

***Amine, Hammadi, Yacine, Younes** merci de m'avoir supporté toutes ces années et d'avoir toujours été présents pour moi*

A tous ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans ce travail, je leur suis reconnaissante du fond du cœur, merci ! Que Dieu vous réserve de très belles surprises dans votre vie.

Nadir

*On remercie Allah de nous avoir la santé et la volonté
D'entamer et de terminer ce mémoire*

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts A
ceux que j'aime le plus au monde mes très chers **parents**, leurs
sacrifices et leurs encouragements toute ma vie spécialement
ma mère qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir à la Source
d'amour incessible, a la mère des sentiments fragiles qui m'a
bénie par ces prières, jamais je ne peux la remercier assez de
m'avoir donné le meilleur.*

*A mes très chers frères **Hamid** et **Fethi** et mes belles sœurs
Naima, Souad et Rachida qui m'avez toujours soutenu et
encourager durant c'est année d'étude.*

*A tous mes amis, tout particulièrement **Mohamed, Youcef,**
Tami, Redouane et Miloud merci de m'avoir supporté toutes
ces années et d'avoir toujours été présents pour moi.*

*A tous ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de
près ou de loin dans ce travail, je leur suis reconnaissante du
fond du cœur, merci ! Que Dieu vous réserve de très belles
surprises dans votre vie.*

Amine



Sommaire

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : métabolites secondaire chez la plante

1.1 Définition.....	04
2- Les classes des métabolites secondaires.....	04
3-Polyphénols.....	05
3.1.1 Classification.....	06
3.1.2.1.1-Acides Phénoliques.....	06
Acides phénols dérivés d'acide benzoïque.....	06
Acides phénols dérivés d'acide cinnamique.....	07
3.1.2.1.2-Flavonoïdes.....	07
3.1.2.2.1-Les tanins.....	07
3.1.2.2.2-Lignines.....	08
3.1.2.2.2-Les Coumarines Les stilbenes.....	09
3.1.3 -Biosynthèse des polyphénols.....	10
3.2- Les Alcaloïdes.....	11
3.2.1 Propriétés.....	11
3.2.2 Biosynthèse des Alcaloïdes.....	12
3.2.3 Classification.....	12
3.3 Les terpénoïdes.....	15
3.3.1 Définition.....	15
3.3.2 BIOSYNTHESE.....	15
3.3.2.2 Voie du méthylérythritol phosphate.....	16
3.3.3 Classification.....	16
3.3.3.1 Les monoterpènes.....	17
3.3.3.2 Les sesquiterpènes.....	17

3.3.3.3 Les diterpènes.....	18
3.3.3.4 Les triterpènes.....	18
3.3.3.5 Les tétraterpènes.....	19

Chapitre 02 La Présentation De La Plante

1. Famille des Astéracées	21
1.1. Définition.....	21
1.2 Description de la famille des Asteraceas.....	22
1.2.1 Description du genre Inula.....	22
1.3 Répartition de la famille des Asteraceas.....	23
1.4 Sous-familles des Asteraceas.....	23
2- La plante.....	23
2.1-Place dans la systématique.....	24
2.2Répartition géographique Inula viscosa.....	25
2.3 Description botanique.....	25

Partie II : Matériels et Méthodes

MATERIELS ET METHODES.....	28
Chapitre I : Préparation des extraits.....	28
1 -Matériel végétale.....	29
2 Séchage de la plante.....	29
3 Préparation des extraits.....	29
4 Extraction par les solvants organiques a polarité croissante.....	30
5 Extraction aqueuse.....	31
6 Détermination du rendement.....	32
Partie III : Résultats et Discussion.....	32
1-Etude des tests phytochimiques.....	32
1.1 Préparation de l'échantillon.....	32
1.1.1-Les tanins.....	33

1.1.2-Les flavonoïdes.....	33
1.1.3-les terpénoïdes.....	33
1.1.4-Stérol.....	33
1.1.5-Coumarine.....	33
1.1.6-Alcaloïdes.....	33
1.1.7-Quinone libre.....	34
1.1.8-Saponosides.....	34
1.1.9-Les composés réducteurs	34
2-Etude de l'activité antimicrobienne.....	34
2.1Matériel biologique.....	34
2.1.1-Souches microbiennes pathogènes.....	34
2.1.2-Les extraits.....	35
2.1.3-Milieu de culture.....	35
2.1.4-Réactifs chimiques et autres matériel.....	35
2.2-Méthodes.....	35
2.2.1-Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux.....	35
2.2.2-Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme).....	37
2.3-Lecture des résultats.....	38
2.4Test de sensibilité à l'antibiotique.....	39
2.5Essais de sensibilité à la dilution.....	39
2.6Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	39
2.7-Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	40
3-Évaluation d'activité antioxydante.....	41
3.1Activité du radical DPPH.....	41
3.2Mode opératoire.....	41

Partie III RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre 01 Tests phytochimiques et rendement.....	44
--	----

Chapitre 2 : Étude de l'activité antimicrobienne.....	47
1-Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).....	47
1.1-Extrait dichlorométhane.....	48
1.2-Extrait acétone.....	49
1.3-Extrait aqueux.....	50
1.4-Extrait de méthanol.....	51
1.5-Extrait éther de pétrole.....	52
2-Test de sensibilité aux antibiotiques.....	53
3Essais de sensibilité à la dilution.....	54
3.1-Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	54
3.2-Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	58
Chapitre 03 : Evaluation de l'activité antioxydante.....	59
1.1Activité anti radicalaire d'éther de pétrole.....	60
1.2-Activité anti radicalaire d'acétone.....	61
1.3-Activité anti radicalaire d'extrait aqueux.....	61
1.4-Activité anti radicalaire d'extrait dichlorométhane.....	62
2-Comparaison entre les extraits par rapport à leur IC50.....	62
Conclusion.....	66
Références Bibliographiques.....	68
Résumé.....	78
Annexe.....	79

Liste des figures	N°
Figure 01 : Voies du métabolisme secondaire des plantes	
Figure 02 : Polyphénol Composé	
Figure 03 : principaux acides hydroxybenzoïque	
Figure 04 : Structure de base des flavonoïdes	
Figure 05 : Structures chimiques de lignine	
Figure 06 : Structures chimiques des (E)- et (Z)-resvératrols	
Figure 07 : Structures des alcaloïdes : céphéline et émétine	
Figure 08 : Structure chimique de la nicotine	
Figure 09 : Exemple d'un proto-	
Figure 10 : Structure chimique de la caféine	
Figure 11 : Les principaux cycles azotés des alcaloïdes	
Figure 12 : Molécule d'isoprène	
Figure 13 : β-Cadinène	
Figure 14 : Structure chimique de squalène	
Figure 15 : Structure chimique de β-carotène	
Figure 16 : Photographie d'Inula	
Figure 17 : Carte géographique de l'Inule	
Figure 18 : Photo originale d'Inula	
Figure 19 : La plante d'Inula Viscosa	
Figure 20 : Région de la récolte	
Figure 21 : Parties aériennes sèche de « Inula Viscosa »	
Figure 22 : Broyage de la plante « Inula Viscosa » sèche	
Figure 23 : Extraction par les solvants organiques à polarité croissante	
Figure 24 : Les extraits obtenus	
Figure 25 : Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	
Figure 26: Méthode des micro-dilutions	
Figure 27 : piégeage du radical libre DPPH	
Figure 28: la lecture des concentrations par spectrophotomètre	
Figure 29 : Représentation graphique de rendement des extraits	
Figure 30 : résultats d'aromatogramme	

Figure 31 : Effet d'extrait de déchloro méthane sur les souches étudiées	
Figure 32 : Effet d'extrait Acétone sur les souches étudiées	
Figure 33 : Effet d'extrait aqueux (EAQ) sur les souches étudiées	
Figure 34 : Effet d'extrait de méthanol sur les souches étudiées	
Figure 35 : Effet d'extrait d'éther de pétrole sur les souches étudiées	
Figure 36 : Effet des antibiotiques sur les souches étudiées	
Figure 37 : Résultat de la concentration minimal inhibitrice	
Figure 38 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique	
Figure 39 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration d'éther de pétrole	
Figure 40 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration d'Acétone	
Figure 41 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration d'Aqueux	
Figure 42 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration de déchloro méthane	
Figure 43 : Représentation graphique montre la comparaison entre les extraits par rapport à l'IC50	

Liste des tableaux	N°
Tableau 01 : Classification des terpènes	
Tableau 02 : Souches bactériennes	
Tableau 03 : les métabolites secondaires présentés dans <i>Inula Viscosa</i>	
Tableau 04 : pourcentage de rendement de chaque extrait	
Tableau 05 : CMI des extraits d'inula viscosa pour S.aureus	
Tableau 06 : Concentration minimal inhibitrices des extraits pour E.coli	
Tableau 07 : CMI des extraits d'<i>Inula Viscosa</i> pour <i>P.aeruginosa</i>	
Tableau 08: CMI des extraits d'<i>Inula Viscosa</i> pour S.aureus	
Tableau 09 : CMI de l'extrait aqueux pour les différentes souches	
Tableau 10 : CMI des extraits avec les différentes souches	
Tableau 11 : CMB des extraits sur la croissance des souches bactériennes	



INTRODUCTION

Introduction générale

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal, voire l'unique recours de la médecine.

La phytothérapie est la science qui étudie le traitement par les plantes. Malgré l'industrie pharmaceutique, les plantes ne furent jamais abandonnées. Pour mieux expliquer d'où provient l'effet thérapeutique, il faut procéder à une étude phytochimique. C'est une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherchent et identifient les extraits actifs des plantes et qui sont moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. Cette pratique conduit au phytomédicament.

Les plantes possèdent des métabolites dites « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces à l'autre (**Krief, 2003**).

Les composés phénoliques, les huiles essentielles et autres métabolites secondaires représentent des molécules de fortes valeurs, utilisés dans les industries pharmaceutique cosmétiques et agroalimentaire. Les activités anti oxydantes de ces produits ont été rapportées dans des très nombreux travaux dans le monde (**Bouzouita et al., 2008**).

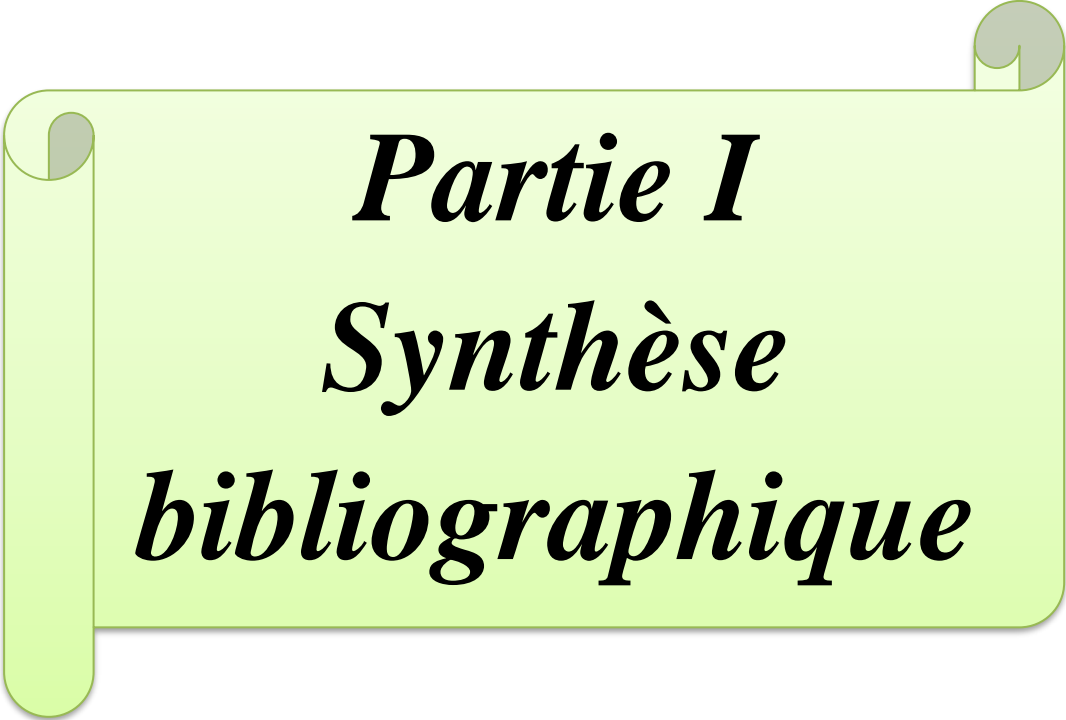
L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne (**Pereira et al, 2003**).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes,, nous sommes intéressés à l'extraction des extraits *d'inula viscosa* provenant de la région de Ain Temouchent. *L'inula viscosa*, herbe aromatique de la famille respectivement (Astéracées), appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydants, antimicrobiennes, antibactérienne, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle. Il nous semble donc, intéressant d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche (**Mouhammedi, 2009**)

Ce travail sera présenté comme suit

Une partie relative à l'étude bibliographique qui se compose en deux chapitres: L'état des connaissances des plantes médicinales et les métabolites secondaires sera présenté dans un premier chapitre. Dans un deuxième chapitre, nous aborderons un aperçu général et botanique sur l'espèce *Inula viscosa*.

Une autre partie réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux : l'un présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre consacré à la présentation des résultats obtenus et la discussion. Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus.



Partie I
Synthèse
bibliographique

1. Définition des métabolites secondaires

1.1 Définition

Les métabolites secondaires sont des composés non essentiels au métabolisme basique des champignons. Ces composés sont généralement produits au cours de l'idiophase et peuvent être très diversifiés au niveau de leur structure chimique. Quelques métabolites sont spécifiques à une ou deux espèces alors que d'autres peuvent être produits par différents genres. Les métabolites secondaires ont pour origine à partir de précurseurs originaires du métabolisme primaire (acétyl-CoA, acides aminés...). Les enzymes responsables de la synthèse des métabolites secondaires sont très diversifiées suite à l'évolution de gènes impliqués, à l'origine, dans les fonctions métaboliques fondamentales (**Steyn, 1980; Gaitatzis et al. 2002**).

2. Les classes des métabolites secondaires

À première vue, les structures des métabolites secondaires peuvent paraître diverses. Cependant, la majorité de ces composés appartient à une même famille, et ont des caractéristiques structurales particulières issues de leur voie de biosynthèse. Les classes des métabolites secondaires sont:

1. Les polykétides et les acides gras
2. Les terpenoïdes et les stéroïdes
3. Les propanoïdes phényles
4. Les alcaloïdes
5. Les acides aminés spécialisés et les peptides
6. Les hydrates de carbone spécialisés

— Goût et couleur

— Effets protecteurs (**Sarni-Manchado & Cheynier 2006**)

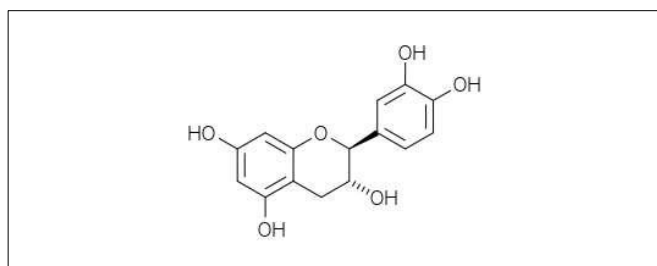


Figure 2 : Polyphénol Composé

3.1.1-Classification

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples vers les molécules les plus hautement polymérisés (tanins condensés) (**Harnly et al., 2007**).

3.1.2.1.1 Acides Phénoliques

Acides phénols dérivés d'acide benzoïque

Ils ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (**Macheix et al. 2005**).

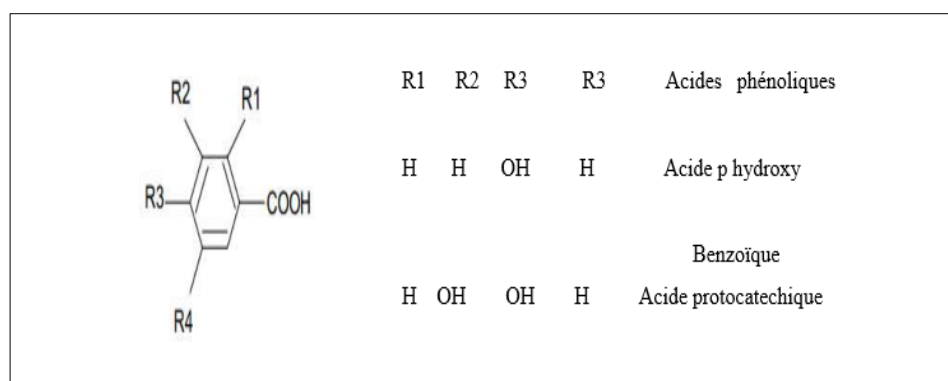


Figure 3 : principaux acides hydroxybenzoïque (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Acides phénols dérivés d'acide cinnamique

Il représente une classe très importante dont la structure de base est (C6-C3) grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique (**Psotova et al, 2003**). Ils entrent dans la composition de nombreux végétaux (surtout les fruits) et existent sous forme d'esters hydrosolubles (acide caféique) ou insolubles, associés aux fibres (acide férulique) (**Sarni-Manchado et Cheynier , 2006**).

3.1.2.1.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- pyrrones constitués d'anneaux phénoliques et pyraniques (figure1) et sont classés selon les substitutions et d'après leur structure chimique. les flavonoïdes sont classés en déférent classes : flavanols, flavones, flavonols, flavanons, isoflavones et anthocyanines.

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, par conséquent, il possède tous un même squelette de base a quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle central C (**Erdman et al. 2007**)

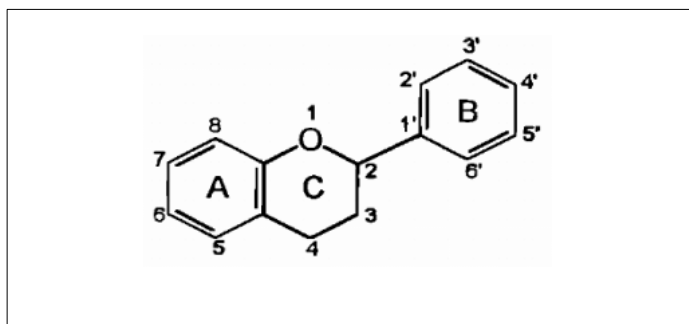


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (**Medi-Saricet al., 2004**).

3.1.2.2.1 Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques végétaux naturels, qui caractérisées par leur solubilité dans l'eau (**Reed, 1995**).

Ils sont solubles dans l'eau (**Akiyama et al. 2001**). Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuire (**Khanbabae et Ree, 2001**).

Les extraits végétaux contenant des tanins sont largement utilisés en médecine naturelle asiatique comme : astringents, antidiarrhéiques, anti-inflammatoire, antiseptique, hémostatique et contre les tumeurs gastriques et duodénales (**Khanbabaee et van Ree, 2001**).

a-Tanins hydrolysables

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés en particulier l'acide ellagique. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (**BRUNETON, 2009**).

b-Tanins condensés

Les tanins condensés également appelés proanthocyanidines sont des métabolites secondaires synthétisés par l'intermédiaire de la voie biosynthétique des flavonoïdes et sont largement répandus dans l'alimentation (fruits, vin, thé...etc.) et jouent un rôle important dans la défense contre les herbivores (**Bogs et al. 2005 ; Holderness et al. 2008**).

c-Les tanins complexes

Sont construits par une unité gallotanin ou ellagitanin comportant une liaison à une catéchine. (**Karamali et van Ree 2001**)

3.1.2.2 Lignines

Ce sont des molécules complexes, accumulées dans les parois végétales avec des polysaccharides comme la cellulose et les hémicelluloses. Les lignines constituent un polymère amorphe et hydrophobe qui, en se déposant dans les parois cellulaires cellulosiques, leur confère une grande rigidité et une importante résistance mécanique. Leur synthèse résulte de la polymérisation d'unités monomériques, appelés monolignols. Les lignines dérivent de l'acide para-coumarique, qui se convertit en monolignol (**MOROTGAUDRY et PRAT, 2012**).

La distribution botanique est large, ils ont été découverts dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruits et les graines (**Midoun., 2011**).

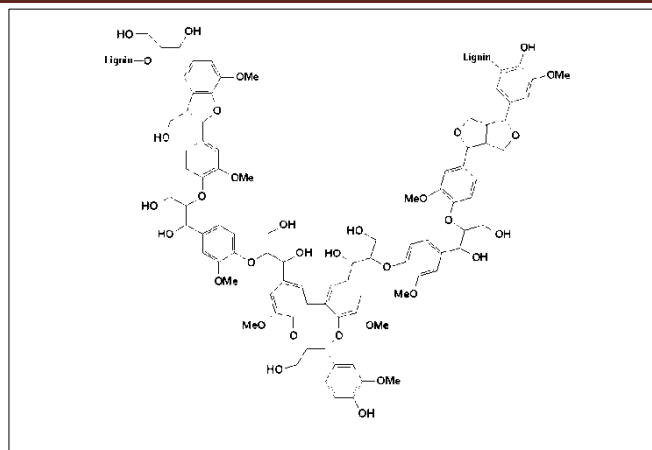


Figure5 : Structures chimiques de lignine (Scalbert et Williamson, 2000).

3.1.2.2.2 Les Coumarines et les stilbenes

Les Coumarines

sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7cinnamiques (Benayache, 2005)

Ces composés sont connus pour leurs propriétés anti-coagulantes (COLLIN et al., 2011).

L'intérêt pharmacologique des drogues à coumarines est limité. L'esculoside est présenté comme étant veinotrope et vasculoprotecteur, parfois qualifié de facteur vitaminique P (Bruneton, 1987).

Les stilbenes

Ont une structure en C6-C2-C6 : deux cycles benzéniques reliés par un pont éthylène. Il existe deux formes isomériques : (E)-1,2-diphényléthylène ((E)-stilbène) et (Z)-1,2-diphényléthylène ((Z)-stilbène) (Figure 6). La forme cis (Z) est obtenue par photoisomérisation ou par l'action de la chaleur. La forme trans (E) étant la forme la plus stable et bioactive (Mérillon et al., 1997), elle est en général plus abondante dans les différentes espèces végétales productrices de stilbènes (Hart, 1981).

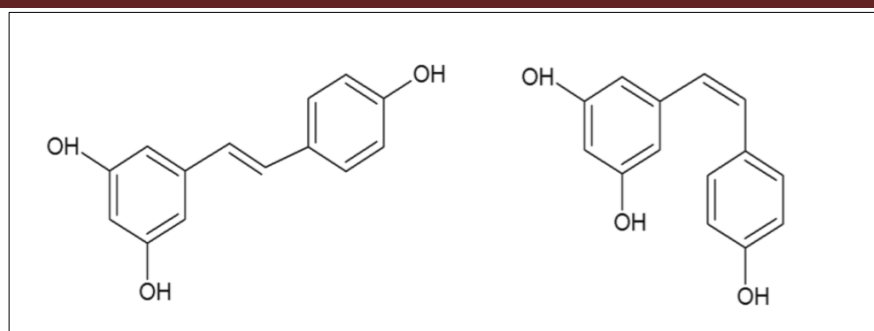


Figure 6 : Structures chimiques des (E)- et (Z)-resvératrols.

Le mot stilbène dérive du grec stilbos, signifiant « briller », un nom donné suite à l'observation d'une forte fluorescence bleue sous l'action de rayonnements ultraviolets (UV). Cette propriété physico-chimique fait des stilbènes des molécules facilement caractérisable en chromatographie en couche mince (CCM), en chromatographie en phase liquide (CLHP) par l'utilisation d'un détecteur UV ou d'un détecteur à barrettes de diodes, ou même directement par fluorescence en lumière UV (**Poutaraud et al. 2007**).

Les stilbènes présentent une forte absorbance à des longueurs d'onde comprises entre 220 et 307 nm. A l'exception des formes glycosylées, les stilbènes sont faiblement solubles dans l'eau, mais sont généralement solubles dans des solvants organiques comme l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'acétone ou l'acide acétique (**Hart, 1981**)

3.1.3 Biosynthèse des polyphénols

On distingue deux grandes voies d'aromagenèse des composés phénoliques :

- 1) La voie de l'acide acétique, conduit à des poly- β -cétoesters (polyacétates) de longueur variable, qui engendrent par cyclisation ou condensation, des composés souvent polycycliques : les flavonoïdes et les tanins condensés.
- 2) La voie de l'acide shikimique, conduit des oses aux amino-acides aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et à leurs dérivés. **BRUNETON (2009)**.

La voie de l'acide shikimique, précurseur des composés aromatiques. permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones. (**Lamarti et al., 1994**).

3.2- Les Alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga, 2011**).

D'après **RELOUZAT et THIOULET (2002)**, un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin, présentant une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Ils possèdent une activité pharmacologique significative.

On trouve des alcaloïdes, en tant que métabolites secondaires, principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux. Habituellement les alcaloïdes sont des dérivés des acides aminés (**Bruneton, 1999 ; Paris, 1976**).

Ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates...) ou combinés à des tanins (**Guignard et al., 1985**). On les classe sous trois groupes:

- 1- Les alcaloïdes vrais: l'azote inclus dans un hétérocycle, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes.
- 2- Les proto-alcaloïdes: ils ne possèdent pas un azote intra-cyclique, ils ont une structure proche des amines (**Guignard., 2000**).
- 3- Les pseudo-alcaloïdes: ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Bruneton., 1999**).

3.2.1 Propriétés

Les alcaloïdes sont des corps de masses moléculaires faibles et de fonction basique (**Facchini et Pierre., 2005**).

Ils peuvent être fixés sur certains agents adsorbants tels que les charbons actifs ou les argiles du type bentonite (**Fabre et Truhaut., 1961**).

Ils se combinent avec les acides et forment des sels, généralement solubles dans l'eau (**Badiaga., 2012**).

Les procédés d'extraction des alcaloïdes sont basés sur la solubilité différentielle dans divers solvants (**Awa., 2003**).

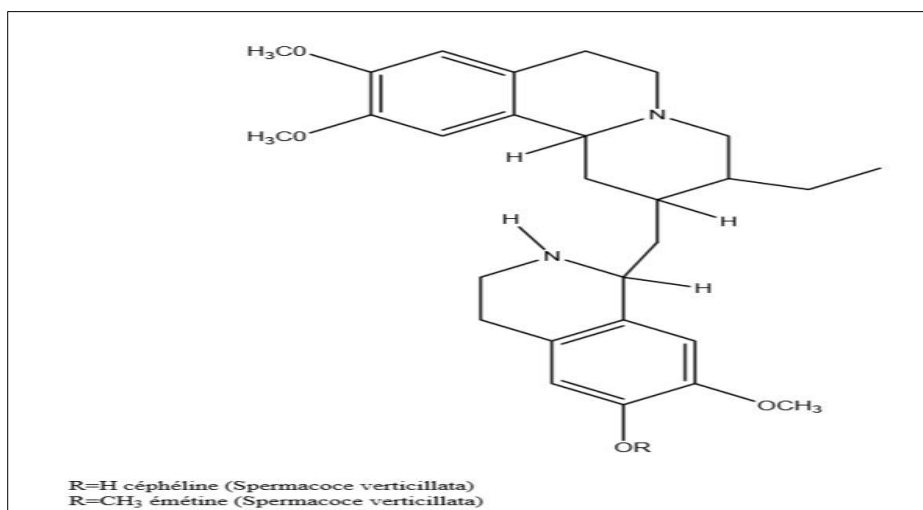


Figure 7 : Structures des alcaloïdes : céphéline et émétine (Bruneton, 1999)

3.2.2 Biosynthèse des Alcaloïdes

La biosynthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, la basicité de la plupart de ces alcaloïdes impose leur compartimentation dans les vacuoles cellulaires. Leur synthèse s'effectuent le plus souvent au niveau de sites précis, ils sont ensuite transportés dans leurs sites de stockage. (Breneton, 1999 ; Rios et al., 2005)

3.2.3 Classification

On estime actuellement que plus de 15 000 alcaloïdes différents ont été isolés. Trois types de classification des alcaloïdes ont été proposés suivant

1. leurs activités biologiques et écologiques,
2. leurs structures chimiques,
3. leurs voies de biosynthèse.

Une autre classification a été rapportée par (Bennett et Wallsgrave, 1994) où les alcaloïdes ont été divisés en trois grandes classes en fonction des précurseurs et la structure finale :

- 1- **Alcaloïdes vrais** : ils sont des dérivés des acide aminés, basique et contiennent l'azote dans l'hétérocycle, par exemple la nicotine et l'atropine.

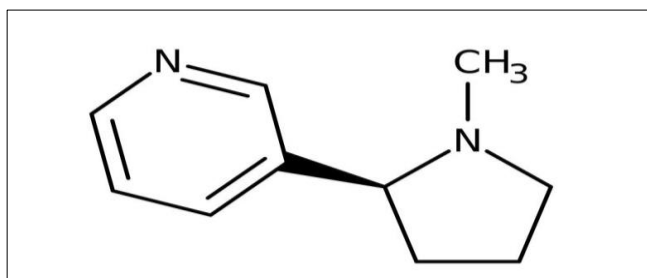


Figure 08 : Structure chimique de la nicotine (Rodney et al. 2000)

2- Les proto-alcaloïdes : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés.

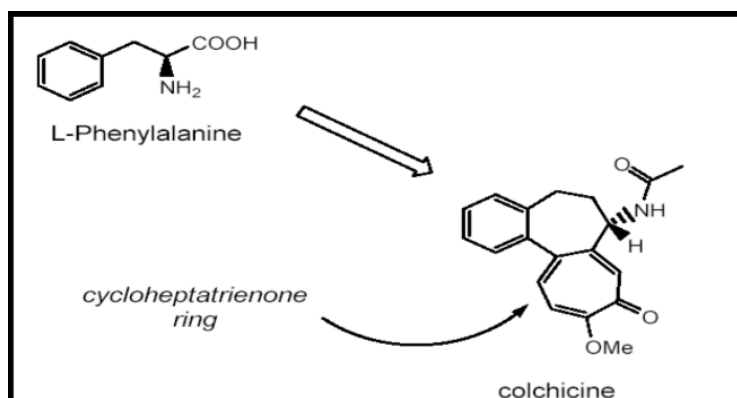


Figure 09 : Exemple d'un proto-alcaloïde : la colchicine dérivée du L-phenylalanine

3- Pseudo-alcaloïdes : ne sont pas dérivés d'acides aminés. Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs postcurseurs (dérivés). Ils peuvent aussi résulter d'amination, ou de réaction de transamination dans une voie connectée avec les précurseurs ou les postcurseurs d'acides

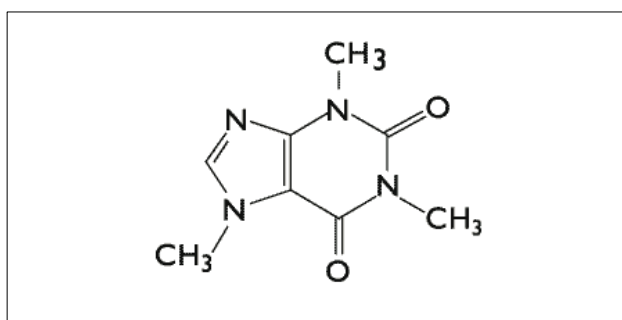


Figure 10 : Structure chimique de la caféine (Rodney et al. 2000)

4-Les alcaloïdes isoquinoleïques : Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

5-Les alcaloïdes isoquinoléïques : forment une classe importante des métabolites secondaires, ce sont de grands et divers groupes d'alcaloïdes avec 2500 structures définies (Shakil, 1998 ; Grycova et al. 2007 ; Sato et al. 2007).

6-Les alcaloïdes quinoleïques : (2 à 15%, parfois 20% de la drogue). Ces alcaloïdes sont des dérivés du noyau quinoléique relié, par une fonction alcool secondaire, à un noyau quinuclidique porteur d'une chaîne vinylique.

7-Des phénylalanines : capsaïcine du piment, colchicine du colchique.

8-Des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales.

9-Des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques: ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë.

10-Des alcaloïdes dérivés du tropane : scopolamine et atropine de la belladone.

11-Des alcaloïdes stéroïdes: racine de vérate, douce-amère ou aconite. (Mamadou B. 2011)

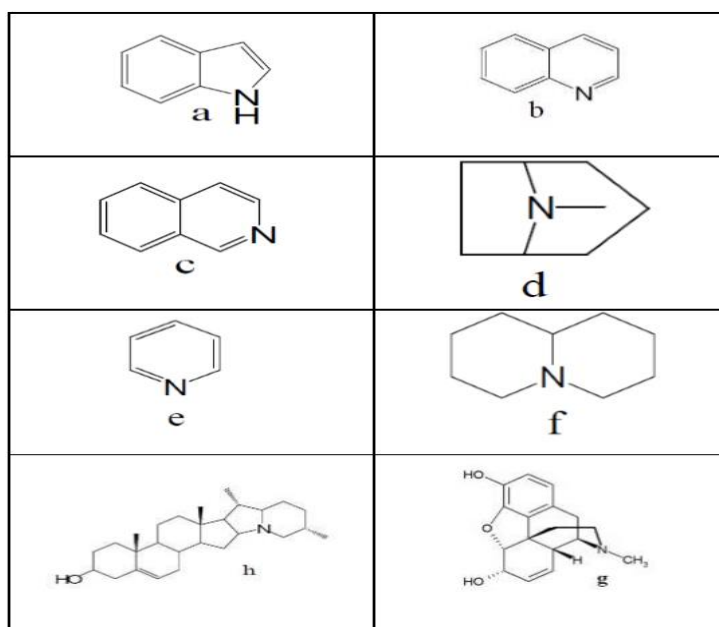


Figure 11 : Les principaux cycles azotés des alcaloïdes (GONZALEZ et al. 1984). Indole (a), Quinoline (b), Isoquinoline (c), Tropane (d), Pyridine (e), quinolizidine (f), la morphine (g) et solanidine (h) (stéroïde)

3.3 Les terpénoïdes

Les terpenoïdes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leurs squelettes d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbones (C₅H₈). Fig (X) reconnue par Wallach des 1887 in (Lamarti et al., 1994).

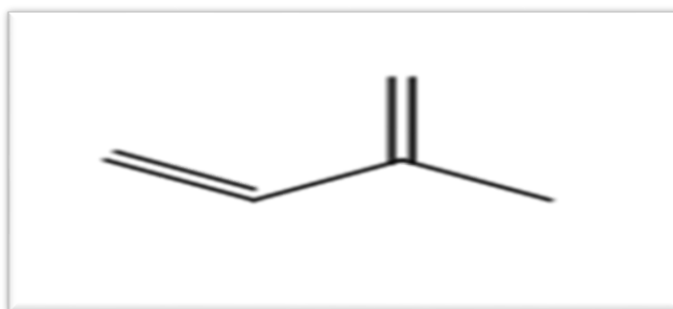


Figure 12 : Molécule d'isoprène (Nsemi muanda, 2010).

3.3.2 BIOSYNTHESE

L'existence des motifs isopréniques est suggérée pour la première fois par **Wallach en 1887**. Il fut le premier à proposer l'hypothèse que des condensations successives d'unités isoprènes de manière « tête-à-queue » donnent des composés chimiques à n fois cinq atomes de carbone (**Wallach, 1887; Jens et Pederson, 2000**).

En réalité, l'isopentényl diphosphate (IPD ou IPP) et le diméthylallyl diphosphate (DMAPP), équivalents biologiques de l'isoprène, constituent les deux précurseurs communs pour tous les isoprénoïdes. Ces molécules précurseurs peuvent s'isomériser grâce à une enzyme, l'IPP isomérase (**Ramos-Valdiva et al., 1997**).

D'une manière générale, il est indispensable d'insister sur le fait que l'existence de tous les terpènes est conditionnée par trois séquences réactionnelles fondamentales:

- Formation de l'isoprène actif.
- Couplage «tête-à-queue» des unités en C₅ justifiant l'existence des monoterpènes, des sesquiterpènes, des diterpènes, des sesterpènes et des polyterpènes.

-Couplage «queue -à -queue» des unités en C15 ou C20 justifiant l'existence des triterpènes. Hormis ces trois séquences capitales, le reste de la biosynthèse sera facilement interprété comme une suite de réactions très classiques (**Bruneton, 1987**).

3.3.2 Voie du méthylérythritol phosphate

La voie du méthylérythritol phosphate, également appelée voie du MEP/DOXP pour 2-C méthylérythritol-4-phosphate (MEP) / 1-désoxy-D-xylulose-5-phosphate (DOXP) ou encore « voie non mévalonique » par anglicisme (de l'anglais non-mevalonate pathway), est une voie métabolique de biosynthèse de l'isopentényl-pyrophosphate (IPP) et du diméthylallyl-pyrophosphate (DMAPP) alternative à la voie du mévalonate chez les plantes, certains protozoaires et la plupart des bactéries ; l'IPP et le DMAPP sont des métabolites qui conduisent notamment à la synthèse des terpénoïdes. (**Hartmut K. Lichtenthaler, 1999**)

3.3.3 Classification

Ils sont distingués dans des différentes classes selon le nombre d'unités isopréniques qu'ils contiennent. L'unité de numération est basée sur le premier terpénoïde isolé en 1850 qui était un C10. Selon le nombre d'unités isoprénique qui constitue les terpènes on distingue :

1-Monoterpènes : association de deux isoprènes (10C).

2-Sesquiterpènes : association de trois unités isoprénique (15C).

3-Diterpènes : association de deux monoterpènes ou quatre isoprènes (20C).

4-Triterpènes, tetraterpènes, pentaterpènes.....polyterpènes

Nombre d'atomes de carbone	de	Unité d'isoprènes	Nomenclature
10		2	Monoterpènes (C10)
15		3	Sesquiterpènes (C15)
20		4	Diterpène (C20)
25		5	Sesterpène (C25)
30		6	Triterpène (C30)

Tableau 01 : Classification des terpènes d'après **MARIOTTA et al (2001)**.

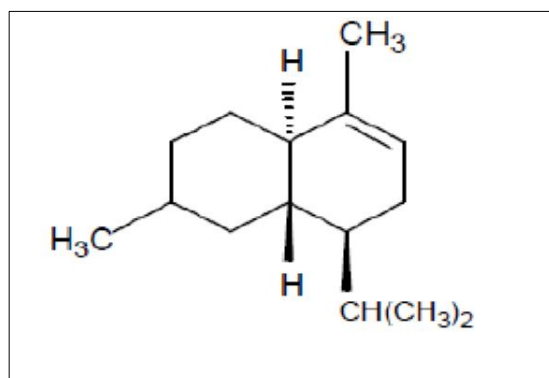
3.3.3.1 Les Monoterpènes

Ils sont les plus simples constituants des terpènes, ils sont odorants, très volatils et majoritaire dans la composition d'une HE. Ils peuvent être acycliques (ex : myrcènes, ocimènes), monocycliques (ex : α et γ terpènes, p-cymène) ou bicycliques (ex : pinènes) et sont porteurs de groupements fonctionnels variés (**BONNAFOUS, 2013**).

3.3.3.2 Les Sesquiterpènes

Ce sont des composés volatils et fortement odorants. Ils sont classiques dans les HEs. Leur squelette de base est constitué de 15 atomes de carbones. Selon **BRUNETON (2009)**, c'est la classe la plus diversifiée des terpènes, vu qu'elle renferme plus de 3000 molécules.

Les sesquiterpènes se divisent en plusieurs catégories structurales : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques et polycycliques. Ils peuvent se trouver sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones (**BRUNETON, 2009**).

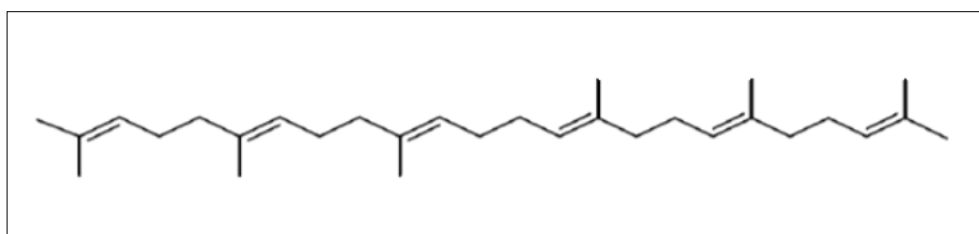
Figure 13 : β -Cadinène

3.3.3.3 Les Diterpènes

Les diterpènes représentent une large famille d'isoprénoïdes. Ils sont largement répandus et peuvent être trouvés dans les météorites, les huiles, les sédiments, ainsi que dans le milieu vivant terrestre et marin, végétal et animal. Leur structure est assez variable, ils peuvent être cycliques ou non. Ces molécules, qu'on retrouve aussi sous le nom de phytanes. Dans la nature, ils sont souvent sous forme d'alcools ou de leurs dérivés glycosylés, d'éthers, d'aldéhydes, de cétones, d'acides carboxyliques ou d'esters (**Emmanuelle, 2011**).

3.3.3.4 Les Triterpènes

Les triterpènes forment un groupe important de produits naturels contenant dans leur squelette une trentaine d'atomes de carbones. Il existe plus de 1700 triterpènes dans la nature, dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant rare. Parmi les triterpènes acycliques, il citera le squalène, qui est le précurseur des autres triterpènes, tout affirmant que la plupart des triterpènes sont des alcools, sous forme libre ou glycoside. (**MALECKY, 2008**)

Figure 14 : Structure chimique de squalène (**Ayad, 2008**)

3.3.3.5 Les Tétraterpènes

Ce sont des molécules tétraterpéniques, constituées de l'enchaînement de 8 unités isopréniques, possédant un chromophore caractéristique (au moins 10 doubles liaisons conjuguées) expliquant leur couleur jaune-orangée et leur sensibilité à l'oxydation.

Les caroténoïdes sont employés en industrie agro-alimentaire principalement pour leur pouvoir colorant (**Krief, 2003**).

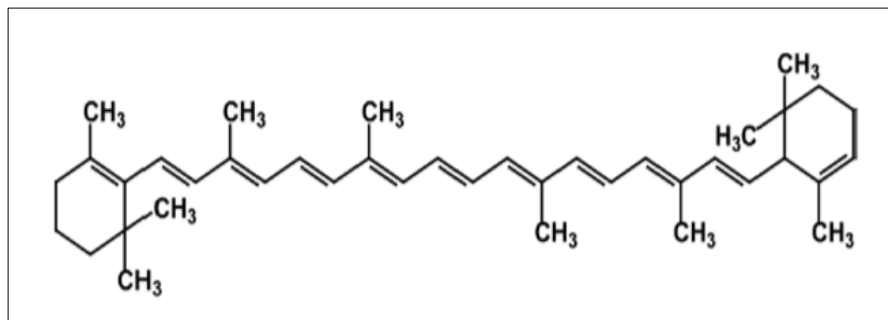


Figure 15 : Structure chimique de β -carotène

Chapitre 02

La Présentation De La Plante

1. Famille des Astéracées

C'est la famille la plus importante et perfectionnée des phanérogames c'est pourquoi son étude détermine le plus souvent celle du règne végétal, c'est une famille répandue dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérée.

Elle est considérée comme la famille la plus évoluée du règne végétal ou seulement comme une famille très perfectionnée, les Astéraceas sont, est l'une des plus belles réussites de l'évolution. Les Astéraceas sont caractérisées par :

- L'inflorescence en capitule.
- Les fleurs, très particulières, à anthères soudées (d'où le nom de Synanthérées également donné à la famille).
- Le fruit, un akène généralement surmonté d'un Pappus (**J.L. Guignard 1983**)

1.1 Définition

Le nom du genre Inule, est dû à **Carl Von Linné (1753)**, terme qui vient du nom de l'espèce *Helenium*. Le nom *Helenium* découlerait du grec "helen". La légende antique raconte que la fleur serait née des larmes de la belle Hélène de Troie.

Les Inules appartiennent à la famille des Astéracées. C'est une importante famille de plantes dicotylédones qui regroupent 20000 espèces.

Les Inules sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle. En Espagne, l'Inule est utilisé dans le traitement de désordre Gastroduodéal (**Besombes, 2008**). Au Japon, cette plante est utilisé comme un remède familial (tisane); En Europe, il est employé comme une diaphorèse, et en Taïwan et Chine comme un agent thérapeutique pour la tuberculose et l'entrogastrique chronique. Elle a aussi des propriétés antiseptiques, antibiotique, antispasmodique, anti inflammatoire et anti diabétique (**Lastra, Lopez, Motilva,1983**).

1.2 Description de la famille des Asteraceas

Elle est considérée comme la famille la plus évoluée du règne végétal ou seulement comme une famille très perfectionnée, les Astéraceas sont, est l'une des plus belles réussites de l'évolution. Les Astéraceas sont caractérisées par :

- L'inflorescence en capitule.
- Les fleurs, très particulières, à anthères soudées (d'où le nom de Synanthérées également donné à la famille).
- Le fruit, un akène généralement surmonté d'un Pappus (**.J.L. Guignard 1983**)

1.2.1 Description du genre *Inula*

C'est une plante annuelle à tige entièrement herbacée, de 20 à 70 cm de hauteur, qui contient des feuilles entières ou peu denticulées, les inférieures linéaires-oblongues, obtuses, longuement atténuées à la base, les caulinaires supérieures linéaires sessiles et aigues, non amplexicaules. Bractées externes de l'involucre herbacées, les intérieures scarieuses au bord. Capitules petits, pédonculés, terminaux et latéraux, groupés en panicule pyramidale lâche. (**P.Quezel, S.Santa, 1963.**)

L'Inula viscosa (L) est une plante annuelle, herbacée, visqueuse et glanduleuse, à odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées. Elle peut atteindre 50 cm à 1 m de hauteur et présente des capitules à fleurs jaunes très nombreuses au sommet de la tige. (**P.Quezel, S.Santa 1963**)

Chez l'inule, on trouve deux types de fleurs : des fleurs à pétales soudés en languettes jaunes (fleurs ligulées), à l'extérieur du capitule, et des fleurs en tubes (fleurs tubulées), jaune orangé, au centre du capitule. (**Djedioui.A 2010**)

Les fruits sont des akènes de un à 2 mm de long. Ils sont rassemblés sur le réceptacle du capitule. Après la fécondation, l'ovaire infère se développe pour donner une graine hirsute surmontée d'un Pappus (une aigrette de poils rigides et rugueux en une seule rangée). (**Catherine. Reeb ,2010**).

1.3 Répartition de la famille des Asteraceas

La distribution géographique des Astéracées montre une structuration cohérente avec sa phylogénie. Les premières lignées divergentes sont sud-américaines et, de manière concomitante à une modification d'organisation chromosomique, des lignées ont colonisé l'Amérique du Nord, l'Australie et la Nouvelle-Zélande, l'Asie, l'Afrique du Nord et la Méditerranée, ainsi que l'Afrique sub-saharienne. (Chauvet, 2019)

1.4 Sous-familles des Asteraceas

Les Asteroideae sont une sous-famille de plantes dicotylédones de la famille des Asteraceae, à répartition cosmopolite, qui comprend une vingtaine de tribus regroupant environ 1135 genres et 17200 espèces.

Les genres les plus importants sont *Helichrysum* (500 à 600 espèces) et *Artemisia* (550).

Les Asteroideae seraient apparues il y a approximativement 46 à 36,5 millions d'années. (C. Zhang 2016)

2- La plante

Inula viscosa

Inula viscosa est une plante annuelle, herbacée, visqueuse et glanduleuse, à odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées (Quezel et santa, 1963). Elle est appelée aussi *Dittrichia viscosa* et elle est connue sous le nom *d'inule visqueuse*. Ses feuilles alternes sont allongées et lancéolées et ces fleurs sont linguiformes jaunes (figure x), on la trouve souvent sur les jachères humides, bords des chemins en formant des populations (Kattouf et al, 2009)



Figure 16 : Photographie d'*Inula*

2.1 Place dans la systématique

La classification botanique de l'espèce *Inula viscosa* L. selon **Guignard. (2001)** est :

Règne	Végétal
Embranchement	<i>Spermaphyte</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Astérides</i>
Ordre	<i>Astérales</i>
Famille	<i>Astéracées, composées</i>
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Inula viscosa</i> L.

- Noms vernaculaires

Français : Inule visqueuse (**Baba Aissa, 2000**).

Anglais : Stichky fleabane (**Wang et al., 2004**)

l'âge, elles deviennent ligneuses et foncées à la base. Les fleurs sont regroupées en capitules, soit à pétales soudés en languettes jaunes, ou en tubes jaune orangé. Toute la plante est couverte de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante, à odeur de camphre. (Lecomte, 2015)



Figure 18 : Photo originale *d'Inula*



Partie II
Matériels et Méthodes

MATERIELS ET METHODES

Notre travail a été effectué au laboratoire pédagogique du Département de Science de la Nature et de la Vie - Centre Universitaire Belhadj Bouchaibe - Ain Témouchent pendant une durée de 4 mois (28 février - 12 mars 2020)(21 juin – juillet 2020)

Chapitre I : Préparation des extraits

1. Matériels

1.1. Matériel végétale

Notre travail consiste en une étude phytochimique, suivie d'une évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique brut d'*Inula viscosa* récoltée dans la région de Terga (Ain Temouchent)



Figure 19 : La plante d'*Inula Viscosa*



Figure 20 : Région de la récolte

2. Méthodes

2.1. Séchage de la plante

Le matériel végétal d'*Inula viscosa* (partie aérienne) a été séché dans une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant une période de 10 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules. Après séchage, les échantillons sont récupérés dans des sacs en plastique.



Figure 21 : Parties aériennes sèche de « *Inula Viscosa* »

2.2. Préparation des extraits

Les extraits utilisés au cours de notre étude sont préparés selon le mode d'extraction en macération. Les échantillons séchés d'*Inula Viscosa* sont broyés à l'aide d'un moulin à café électrique jusqu'à leur réduction en poudre. Après broyage, les extraits préparés sont : l'extrait organique (Ether de pétrole, Méthanol, Dichlorométhane et l'Acétone) ; extrait aqueux et extrait d'huile totale.



Figure 22 : Broyage de la plante « *Inula Viscosa* » sèche

4. Extraction par les solvants organiques a polarité croissante

Suivant le protocole d'extraction décrit par (Diallo, Sanogo et al. 2004) une prise d'essai de 40g de poudre de la matière végétale a été mélangée avec 200ml de chaque solvant (EP, MoTH, DCM, Acétone) sous agitation magnétique durant 24h à une température ambiante.

Une filtration sur papiers whatman n1 du macérât est ensuite réalisé, le filtrat est alors évaporé à sec à l'aide d'un rotavapore est séché a poids constant. (Khedidja, 2015)

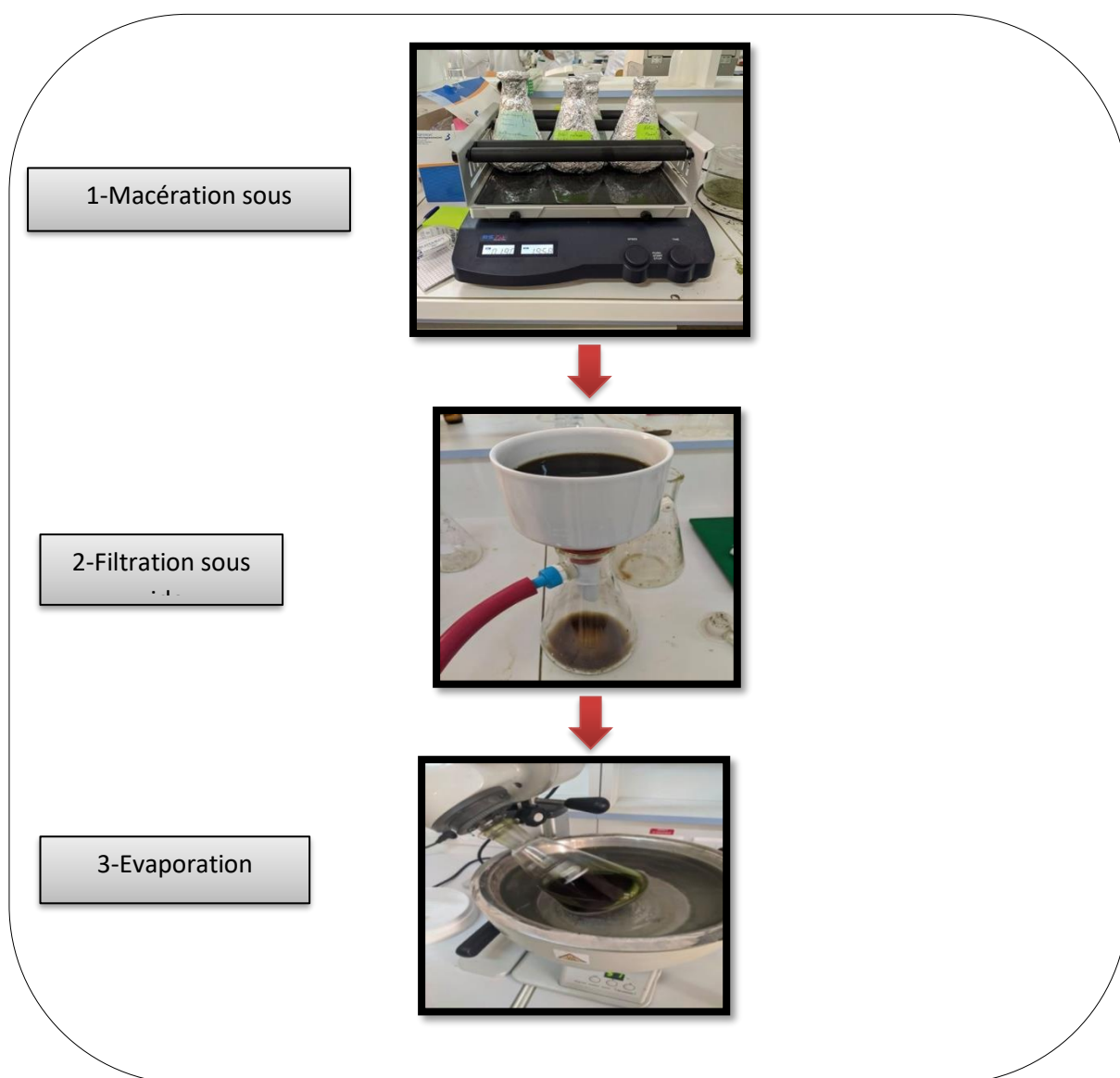


Figure 23 : Extraction par les solvants organiques à polarité croissante

5. Extraction aqueuse

50 g de poudre du matériel végétale a été portés à reflux dans 500 ml d'eau distillée et mis à macérer à température ambiante pendant 24h sous agitation, puis filtrés. Ce filtrat a ensuite été séché à 50 °C jusqu'à l'obtention du poids constant (Falleh et al, 2008 ; Moroh et al, 2008).



La série d'extraction permet d'obtenir cinq extraits: un extrait aqueux (AQ), quatre extraits organique : extrait éther de pétrole (EP), extrait dichlorométhane (DCM), extrait méthanolique (MtOH), et l'Acétone (Ac) Les extraits secs sont conservés à l'obscurité jusqu'à utilisation.

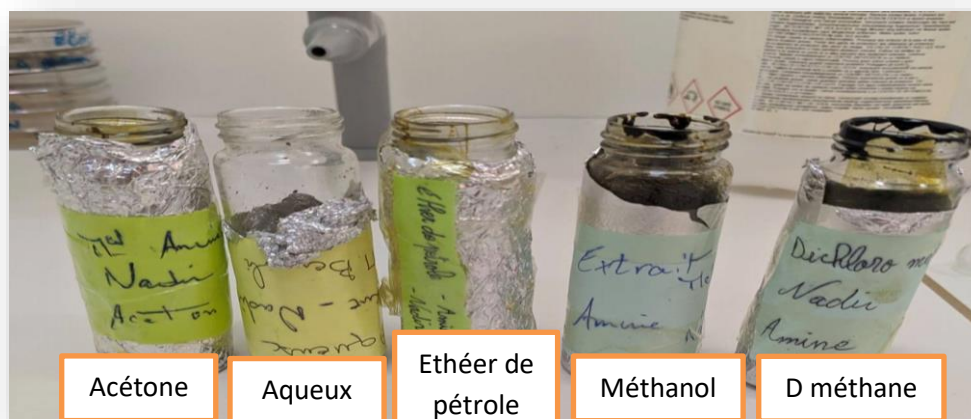


Figure 24 : Les extraits obtenus

6. Détermination du rendement

Le rendement est la quantité d'extraction obtenue à partir d'une matière végétale, la détermination de cette quantité est exprimé en % par rapport à la matière sèche initialement utilisée (**Bssaibis et al, 2009**).

$$R (\% \text{ MS}) = M1 \times 104 / [M0 (100 - H\%)]$$

R (% MS) : Rendement en extraits en g/100 de matière sèche

M1 : Quantité d'extrait récupérée en g

M0 : Quantité utilisée pour l'extraction exprimée en g

Ms : Matière sèche (MS=100-H%) H : humidité

Chapitre II

1. Etude des tests phytochimiques

L'extraction des différents composants des feuilles de la plante est réalisées dans les mélanges eau / acétones à chaud et sous agitation continue.

Pour cela, dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, en place 5g de notre matière végétale séchée et broyée avec 50 ml du solvant utilisé. L'ensemble est porté sous reflux pendant 30min (**Trease et Evans 1987**).

1.1 Préparation de l'échantillon

5 g de la matière végétale (*Inula viscosa*) sont mises en contact avec 100mL du mélange acétone / eau distillée (70/30 : V/V) L'ensemble est laissé macérer durant 24 h sous agitation continue. L'opération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Les trois fractions sont réunies et filtrées puis stockés sous forme liquide à 4°C pour les analyses ultérieures (tests phytochimiques)

1.1.1 Les tanins (**Karumi et al. 2004**)

3 gouttes de FeCl₃ à 1% est ajoutées à 1ml de chaque extrait après 2min d'incubation, un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue ou vert foncée

1.1.2 Les flavonoïdes (karumi et coll, 2004)

L'évaporation de 2ml de chaque extrait, le résidu est repris dans 5ml d'alcool chlorhydrique dilué 2,2. et on ajoute 2 à 3 copeaux de magnésium, la présence des flavones aglycones est confirmé par l'apparition d'une couleur rouge ou orange.

1.1.3 Les terpénoïdes

On ajoute à 2,5 ml de notre extrait 1ml de chloroforme et 1,5 ml de H₂SO₄ concentré. La présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur Marron en interphase

1.1.4 Stérol (réaction de Libermann-Burchard)

On traite 1 ml d'extrait avec 2,5 ml d'analyse acétique et 10 gouttes d'H₂SO₄ concentrée. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée virant au vert.

1.1.5 Coumarine

Mettre 1g d'extrait de la plante dans un tube à essai recouvert de papier imbibé de NaOH qu'on met dans un bain marie pendant quelques minutes à laquelle on ajoute 0.5ml de NH₄OH a 10%. Le test réalisé (Bruneton, 1999).

1.1.6 Alcaloïdes

Le réactif de Mayer et le réactif de Wagner sont utilisés et préparés comme suit :

Réactif de Mayer : 5g de KI et 1.358g de HgCl₂ solubilisés dans 100ml d'eau distillée.

Réactif de Wagner : 2g de KI et 1.27g d'I₂ solubilisé dans 100ml distillée.

Pour 2ml de chaque extrait, on ajoute 1ml de réactif de Wagner ou Mayer Cette expérience donne lieu à la présence de turbidité ou de précipitation confirme la présence des alcaloïdes (Bruneton, 1999).

1.1.7 Quinone libre

A un volume de 1 ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

1.1.8 Saponosides

A 2ml de chaque extrait on ajoute 1ml d'eau distillée, on agite la solution pendant 1 minute

L'apparition d'une mousse qui persiste durant 15 minutes, le test est positif si l'épaisseur de la mousse dépasse 1cm (Daira et al., 2016).

1.1.9 Les composés réducteurs

On ajoute 1ml de notre extrait 0,5 ml de liqueur de Fehling, après on chauffe les tubes au bain marie à 40°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique (Trease et Evans, 1987)

2 Etude de l'activité antimicrobienne

2.1 Matériel biologique

a. Souches microbiennes pathogènes

L'activité antimicrobienne des extraits d'*Inula Viscosa* sera testée sur des souches de collection internationale ATCC qui ont toutes été fournies par le laboratoire de microbiologie du Centre Universitaire d'Ain Témouchent.

Les germes qui ont été testés sont les suivants :

-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

-*Escherichia coli* ATCC 25922.

-*Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

-*Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

b. Les extraits

Les extraits testés sont les suivants : (EP) , (DCM), (MtOH), (Ac), (AQ)

2.1.3. Milieu de culture

- Milieu de culture liquide :
- Bouillon Muller-Hinton (BMH)
- Bouillon Saboureaux (BS)
- Milieu de culture solide :
- Gélose Mueller Hinton (MH) Gélose PDA

2.1.4. Réactifs chimiques et autres matériel

Antibiotiques : Gentamycine « GEN »

2.2 Méthodes

2.2.1 Conservation des souches étudiées

Les souches référentielles sont conservées à 4 °C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné gélose de M-H pour les bactéries.

2.2.3 Ensemencement des souches conservées

Dans un endroit stérile et à partir de la souche conservée, un ensemencement a été faite sur des boites pétri contenant de la gélose de M-H pour les bactéries, puis incubation de 24h à 37°C.

2.2.4 Préparation des suspensions microbiennes

Des colonies bien isolées des cultures pures ont été repiquées dans le BMH (Bouillon Muller-Hinton) puis incubées à 37 °C pendant 18h, pour conserver le maintien de la culture et favoriser leur croissance bactérienne.

2.2.1 Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux

L'évaluation de l'effet antibactérienne de différents extraits d'*Inula Viscosa* comprend deux méthodes différentes : - L'aromatogramme « méthode de diffusion

sur disque » (Essawi et Srour, 2000) a pour but de mettre en évidence l'activité antibactérienne des différents extraits ;

Essais de sensibilité à la dilution par les micro-dilutions (Billerbeck et al. 2002) afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) couplée à l'étalement sur milieu solide pour la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) des différents extraits de la plante étudiées

1.4.1. Souches microbiennes Pour tester l'activité antimicrobienne des extraits d'*Inula Viscosa*, quatre souches bactériennes.

Tableau 02 : Souches bactériennes

Famille	Genre et Espèce	Code de la souche	Caractéristiques
<i>Pseudomonadacées</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Bacille pyocyanique gram négatif. C'est un micro-organisme aérobic considéré comme un agent pathogène opportuniste, capable de se développer dans les milieux pauvres.(Henri, 2002 ; Ochoa et al, 2013) les infections dues à <i>P.aeruginosa</i> sont difficiles à éradiquer en raison de leur résistance intrinsèque élevée ainsi que de leur capacité à acquérir une résistance à différents antibiotiques. (Ochoa et al, 2013)

Matériels et méthodes

<i>Enterobacteriacées</i>	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<p>Bacille gram négatif assez typique, mesurant 1 µm de long par 0,35µm de largeur.</p> <p>C'est un aérobie facultatif le plus courant dans l'intestin inférieur des mammifères peuvent être pathogènes en provoquant de graves maladies : les entérohémorragies et les péritonites. (Zachary, 2015.)</p>
<i>Staphylococcacées</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	<p>S. aureus ou staphylocoque doré est une Cocci gram positive.</p> <p>Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéroanaérobie facultatif, possède un coagulase-positif. Est un agent pathogène majeur responsable de diverses infections apparus dans la communauté et à l'hôpital. Elle provoque des infections osseuses, des pneumonies, des bactériémies, des endocardites et des infections articulaires (Anses, 2011 ; Robert, 2013).</p>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	

2.2.2 Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui est initialement conçue pour les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par de l'extrait (aromatogramme).

Les disques sont confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 3), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes

Matériels et méthodes

au cours de l'expérimentation les disques sont stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave. Une colonie de chaque espèce du milieu gélosé spécifique après activation est ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; ce mélange constituera la solution mère.

L'ensemencement des boîtes de Pétri contenant le milieu (MH) selon l'espèce microbienne est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées. Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, préalablement stérilisés sont déposés à la surface de gélose ensemencée après imbibition pendant 5 minutes dans l'extrait obtenu, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, seront ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétri contenant le milieu gélosé spécifique (**Prescott et al. 2003**).

La lecture des diamètres d'inhibition se fera après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24 heures à l'aide d'un pied à colis (**Guignar, 1998**)



Figure25 : Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

2.3 Lecture des résultats

Après la culture, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour du disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance et donc la zone d'inhibition du principe actif (**Choi et al, 2006**). La mesure de la distance millimétrique de la zone est reportée sur l'échelle de concordance afin

que la souche soit interprétée comme étant : sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis au principe actif étudié

Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité (**Ponce et Al. 2003**)

Souche résistante ($D < 8$ mm)

Souche sensible ($9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$)

Souche très sensible ($15\text{mm} \leq D \leq 19$ mm)

Extrêmement sensible ($D > 20$ mm)

2.4 Test de sensibilité à l'antibiotique

L'étude de l'antibiogramme s'est limitée à tester l'un des plus utilisés en antibiothérapie la Gentamycine « GEN ».

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait.

2.5 Essais de sensibilité à la dilution

La technique de dilution mesure la concentration minimale inhibitrice (CMI). Ils peuvent également être utilisés pour mesurer la concentration minimale bactéricide (CMB) qui est la plus faible concentration antibactérienne nécessaire pour tuer les bactéries.

2.6 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) «Les microdilutions »

Matériels et méthodes

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique et /ou en principes actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme **(Denis et al. 2011)**.

Des microplaques à fond en U sont utilisables pour la détermination des CMI. Une plaque de 96 puits permet la détermination de la CMI des souches vis-à-vis d'un extrait. Dans les cupules d'une même ligne, 100 µl de Bouillon « BMH pour les bactéries » a été déposé, puis 100 µl de dilutions **(Eloff ,1998)**

Incuber les plaques inoculées à 37°C pendant 16 à 20h, la CMI est la concentration minimale d'extrait qui inhibe complètement la croissance des microorganismes dans les puits de micro-dilution telles que détectées par l'œil nu **(Clsi, 2012)**.

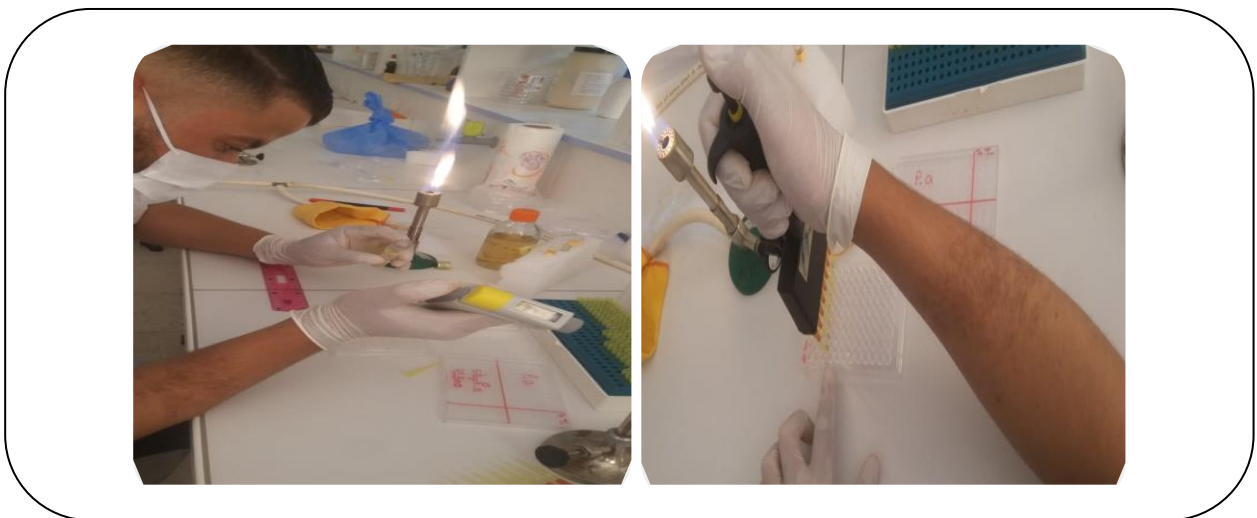


Figure 26: Méthode des micro-dilutions

2.7 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Pour la détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) un prélèvement à l'anse est réalisé autour de chacun des disques ne présentant aucune culture visible. Chaque prélèvement est déposé en strie sur gélose Mueller Hinton. La boîte ensemencée est incubée 24 heures à 37°C. La plus petite concentration qui ne laisse que 0,01% de bactéries survivantes après un temps d'exposition à l'antibiotique de 12 à 18 heures correspond à la CMB **(Michel Briand, 1986)**.

3 Évaluation d'activité antioxydante

3.1 Activité du radical DPPH

le DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical instable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote (Maisuthisakul P et al., 2008), c'est un teste colorimétrique qui repose sur la mesure par spectrophotomètre de la capacité d'une substance antioxydante à réduire le radical DPPH de couleur violette en solution de couleur jaunâtre, ceci lorsque son électron célibataire est apparié avec un hydrogène provenant d'un antioxydant, l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité anti radicalaire. (Bougatef et al., 2009)

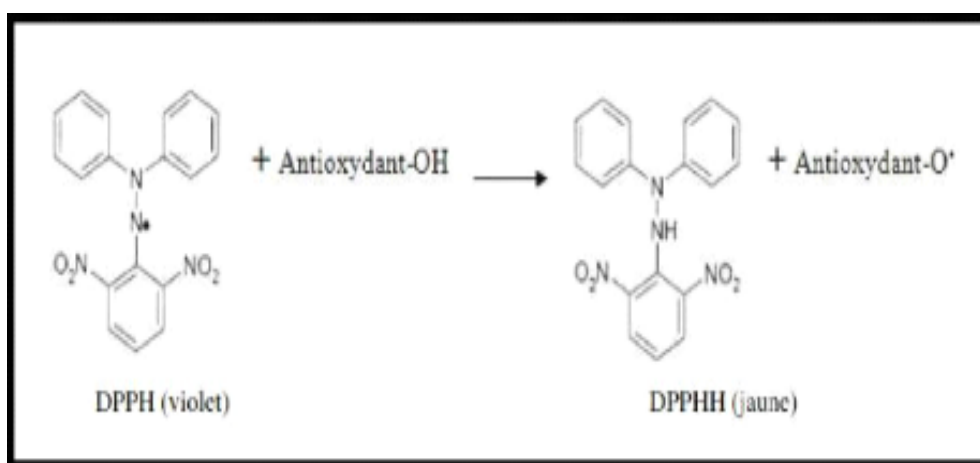


Figure 27 : piégeage du radical libre DPPH

3.2 Mode opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (Suja et al. 2005). Un volume de 2 ml de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 2 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,078 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 2ml du méthanol avec 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est

Matériels et méthodes

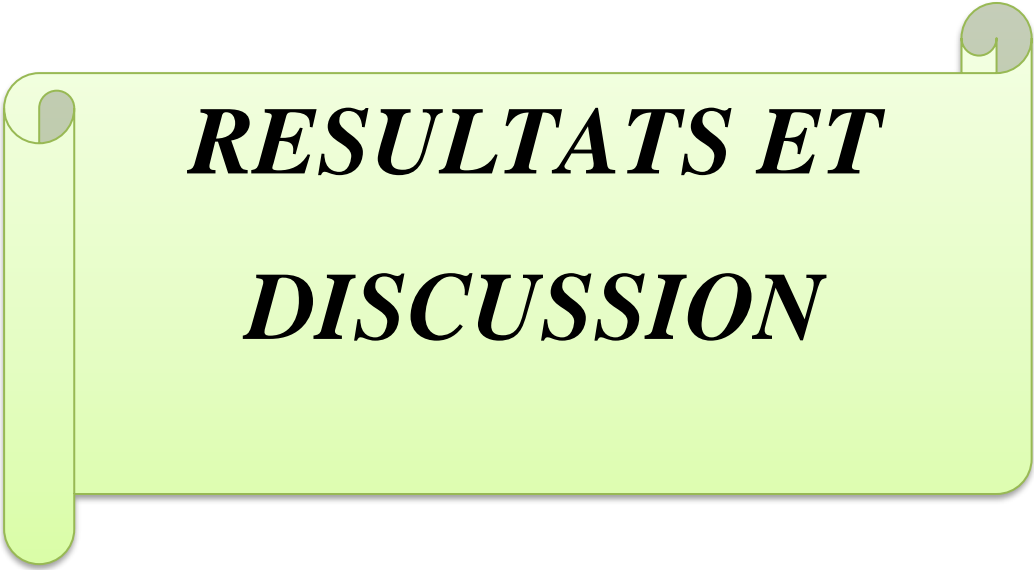
effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible. Des standards de référence (acide ascorbique) ont également été analysés en respectant la même.



Figure 28: la lecture des concentrations par spectrophotomètre

Pourcentage d'activité antioxydante est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'activité antioxydante} = \frac{|\text{Do contrôle}| - |\text{Do échantillon}|}{|\text{Do contrôle}|} \times 100$$



***RESULTATS ET
DISCUSSION***

Partie III : Résultats et Discussion

Résultat et discussion

1.1. Tests phytochimiques

Extrait Test	Résultat
	Extrait Eau/Acétone
Tanins	+++
Flavonoïdes	-
Terpenoïdes	+++
Stérols	+++
Coumarines	++
Alcaloïdes	+++
Quinones libres	++
Saponosides	-
Composés réducteurs	++

- : absence totale.

+ : Présence en quantité faible.

++: Présence en quantité moyenne.
abondante.

+++ : Présence en quantité

Tableau 03 : représente les métabolites secondaires présentés dans la plante *Inula Viscosa*

Les extraits (aqueux, acétone) ont montré les résultats des tests représentés dans le tableau

Ces derniers indiquent la présence des tanins et l'absence totale des saponosides. l'utilisation de l'extrait eau/Acétone a démontré une forte dominance des métabolites secondaires :, alcaloïdes, quinones libres, et composés réducteurs et l'absence des flavonoïdes

On explique la présence des tanins dans l'extrait eau/acétone par leurs natures chimiques, cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité

Partie III : Résultats et Discussion

physico-chimique influençant l'extraction des polyphénols (*Koffi et al., 2010, Mahmoudi et al., 2013*).

On a choisi l'extrait (eau/acétone) comme solvant d'extraction car l'acétone permet d'extraire les composés polaires des plantes, qui sont miscibles avec des solvants organiques, (Eloff, 1998).il extrait une plus grande quantité de composés de végétaux comparativement avec d'autres extraits (*Bizimenyera et al., 2005*),

L'inula Viscosa ne contient pas des saponosides ceci est en accord avec les travaux de (*Luis et al .,2014*). On peut expliquer cette variation des résultats entres les travaux par la composition chimique de ces plantes, cette dernière dépend essentiellement des conditions environnementales dans lesquelles poussent ces végétaux. C'est pourquoi les plantes des zones arides produisent plusieurs types de métabolites secondaires afin de se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et le milieu (*Rira, 2006*)

Rendement

Les extractions des différents composés dans notre plante *Inula Viscosa* nous ont permis de calculer le rendement de chaque extrait : méthanolique, , éther de pétrole, aqueux Acétone et déchloro méthane. Par rapport au matériel végétal sec est exprimé en pourcentage.

Les extraits des feuilles	Rendement en %
Méthanolique	15.02
Ether de pétrole	11.65
Aqueux	27.55
Acétone	6.42
Dichlorométhane	16.45

Tableau 04 : pourcentage de rendement de chaque extrait

Partie III : Résultats et Discussion

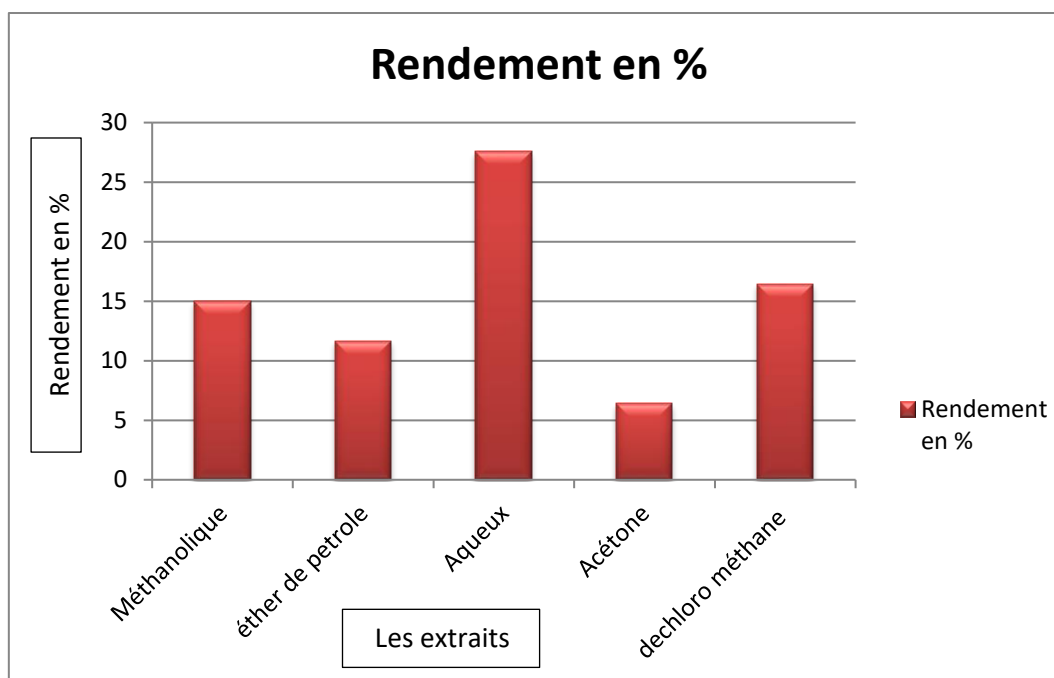


Figure 29 : Représentation graphique de rendement des extraits des feuilles de la plante *Inula Viscosa*

Nous avons observé que le rendement le plus élevé était chez l'extrait aqueux qui est de 27.55%, par contre acétone montre un faible rendement qui est de 6.42%.

Les autres extraits : dichlorométhane, méthanolique et l'éther de pétrole ont donné les rendements de 16.45%, 15.02%, 11.65% respectivement.

L'eau et le méthanol sont des solvants polaires qui donnent les meilleurs rendements. En effet, c'est le méthanol qui permet d'extraire le maximum de familles de composés ceci est en accord avec les résultats de (Allal ,2016).

Ceci est d'accord avec d'autres travaux sur d'autres plantes, en fait les études sur la plante d'*Orthosiphon stamineus* a montré que l'eau est plus efficace pour extraire le soluté car il a une polarité plus élevée et une chaîne plus courte (Pin et al. 2010). Ces caractéristiques de l'eau améliorent sa capacité à extraire les composés polaires. Ceci explique donc son importance. La différence de rendement pour d'autres solvants peut être due à d'autres facteurs, notamment les composés phytochimiques présents dans les plantes, la température d'extraction et le rapport solvant / solide (Mohd et al. 2012)

Chapitre 2

Étude de l'activité antimicrobienne

1-1-Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

L'effet antimicrobien des extraits se traduit par une zone d'inhibition autour du disque, l'extrait est considéré comme bactériostatique selon le diamètre de la zone d'inhibition les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessus

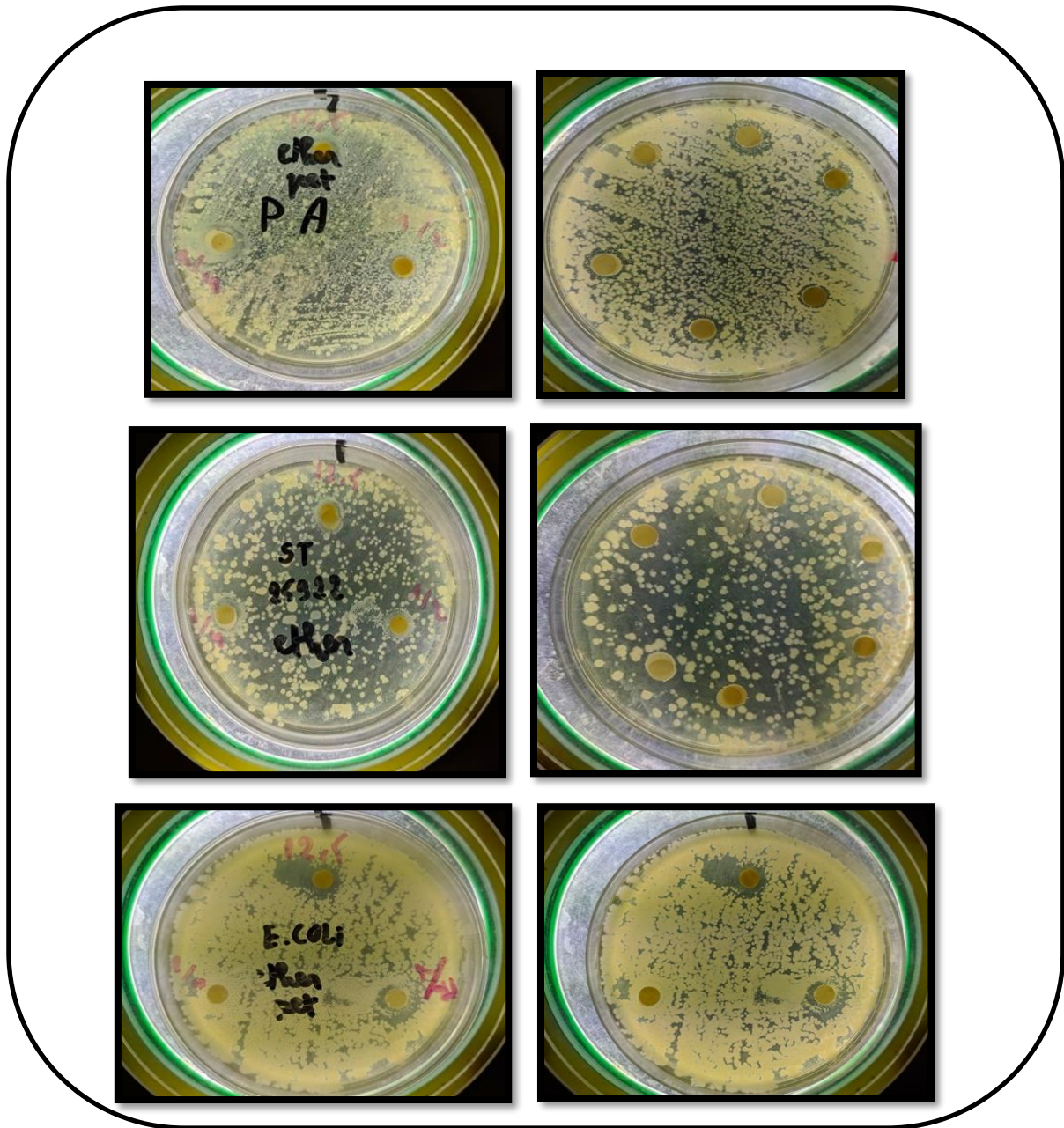


Figure 30 : résultats d'aromatogramme

Partie III : Résultats et Discussion

Les résultats obtenus indiquent que les souches microbiennes examinées ont des sensibilités différentes vis-à-vis les extraits étudiés selon le diamètre de la zone d'inhibition

1.1 Extrait dichlorométhane

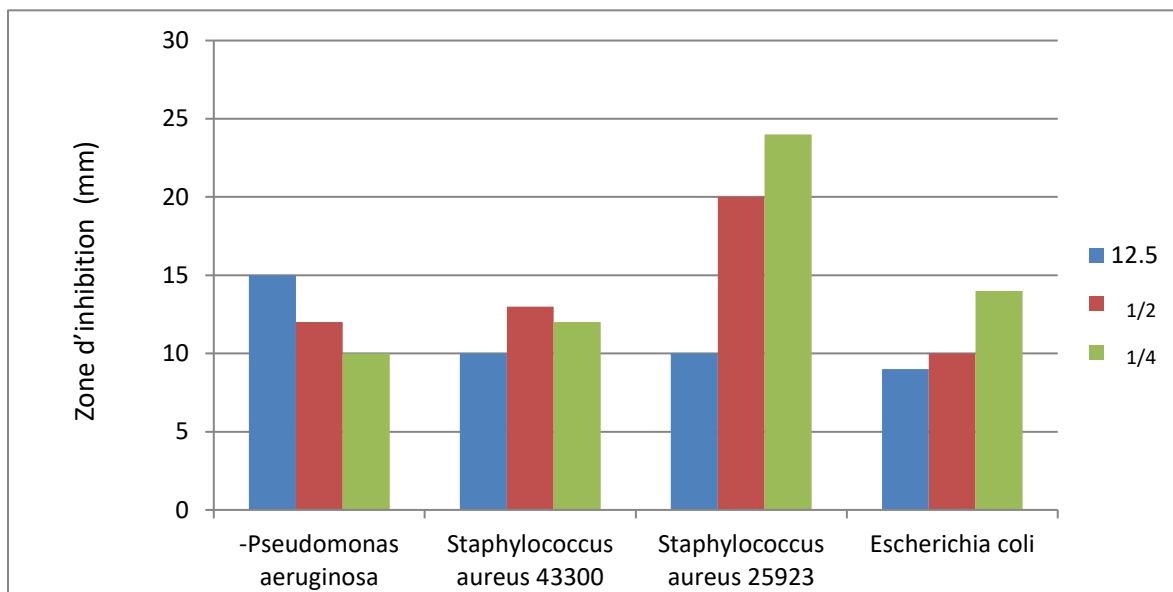


Figure 31 : Effet d'extrait de dichlorométhane(DCM) sur les souches étudiées

La figure montre qu'il y a une relation entre les souches et la concentration car qu'on diminue la concentration du DCM la zone d'inhibition augmente à part *Pseudomonas aeruginosa* qui montre le contraire.

La figure montre que la souche *Staphylococcus aureus* 25923 est la plus sensible au DCM et dans différentes concentrations, la grande zone d'inhibition est marquée par la souche *Staphylococcus aureus* 25923 (24mm) à 1/4 suivie par (20mm) à 1/2 cette souche est extrêmement sensible au DCM, puis *Pseudomonas aeruginosa* (15mm) ensuite *Staphylococcus aureus* 43300 avec un diamètre de (12mm)

On remarque que l'*Escherichia Coli* n'est pas sensible du tout à (12.5ml)

Partie III : Résultats et Discussion

Une étude a été faite sur d'autres espèces révèle que l'extrait de Dichlorométhane à un pouvoir antibactérien sur des souches gram positif (**Barchan et al, 2015**).

Nos résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par **Bakht et al, 2014** qui ont montré que l'extrait de dichlorométhane de *Mentha longifolia* a une activité antibactérienne sur *S. aureus* et *P.aeruginosa* , mais aucune activité enregistré pour *E.coli*..

1.2 Extrait acétone

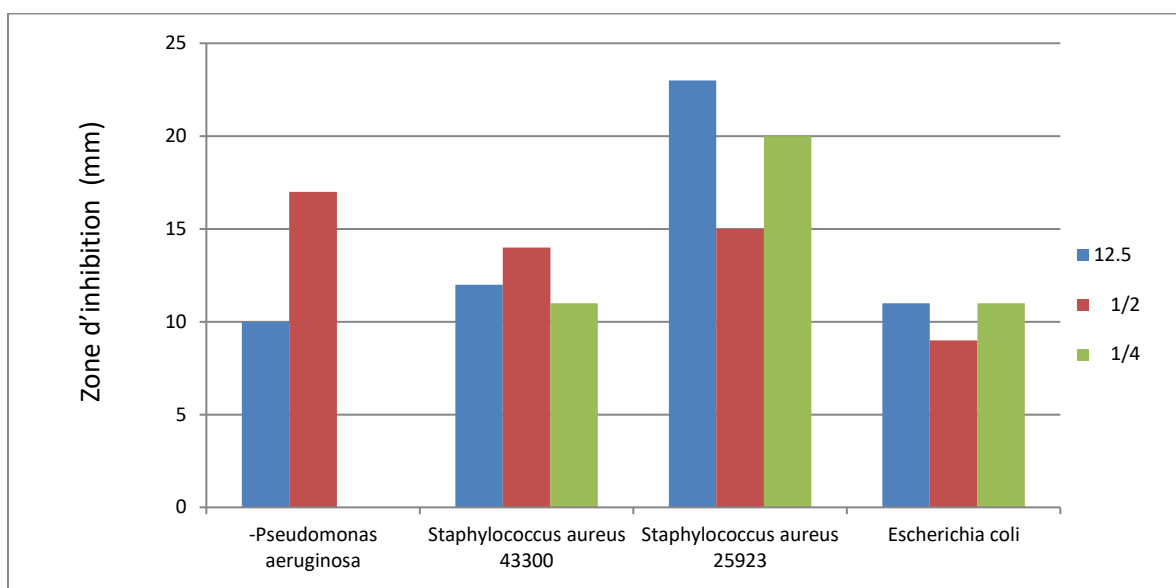


Figure 32 : Effet d'extrait Acétone sur les souches étudiées

Cette figure présente l'activité antibactérienne d'Acétone, on observe l'augmentation de la zone d'inhibition au niveau des concentrations 12.5 et ¼ pour les souches Escherichia coli et S.aureus25923

Ces résultats montrent que la meilleure activité bactérienne est obtenue avec Staphylococcus aureus 25923 avec (23mm), puis Pseudomonas aeruginosa (17mm) et S.aureus ATCC 43300 (14mm), ensuite E.coli (11mm). Nous pouvons tout de même noter que S. aureus 25923 est la plus sensible dont laquelle la plus grande zone d'inhibition est enregistré, par contre le plus faible halo d'inhibition est marqué pour E.coli ATCC25922 donc cette dernière est la plus résistante.

Partie III : Résultats et Discussion

BSSAIBIS et al(2009) rapportent que les extraits des feuilles et de fleurs *d'I.viscosa* ont des activités antibactériennes contre *E.coli* et deux autres bactéries à Gram positif. Les résultats obtenus montrent que les activités antibactériennes sont en relation avec l'origine de l'extrait (fleurs ou feuilles), la nature du solvant et la souche testée. En effet, les extraits au méthanol sont les plus actifs, suivis par ceux l'acétone. La souche *E.coli* a présenté la plus grande sensibilité aux différents extraits suivis par les deux souches à Gram positif.

1.3 Extrait aqueux

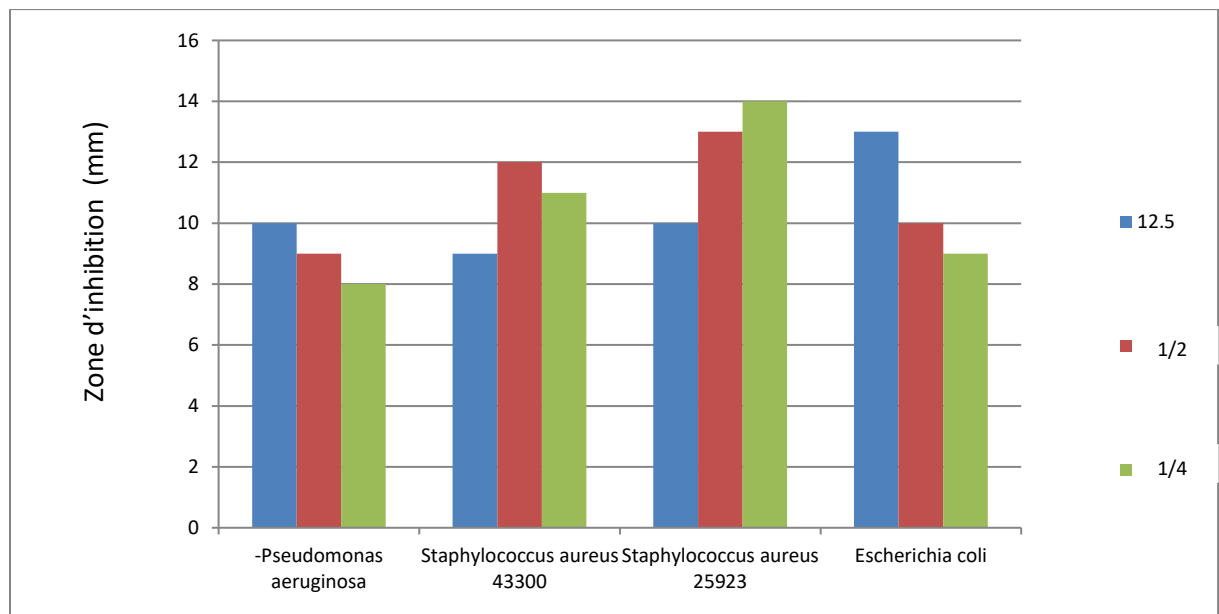


Figure 33 : Effet d'extrait aqueux (EAQ) sur les souches étudiées

Notez que toutes les souches ont une activité bactérienne avec n'importe quelle concentration.

La figure montre que les souches de *S. aureus* et *E. coli* montrent une meilleure activité bactérienne avec (14mm) de l'extrait aqueux que *P. aeruginosa* ATCC27853 et, qui présentaient une zone d'inhibition maximale égale à 10 mm.

Les souches *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 43300 et *E.coli* ATCC 25922 sont révélées les plus résistantes vis-à-vis l'EAQ d'*Inula Viscosa*.

Partie III : Résultats et Discussion

Cependant y'a aucune activité sur *P.aeruginosa* qui présente un diamètre entre (8-10mm).

Nos résultats sont concorde à ceux trouvé par (Hassine, 2013) qui ont remarqué que les E.coli et S.aureus sont résistant à l'EAQ d'eucalyptus gilli, en revanchent, ils ont marqué également une résistance de C.albicans et P.aeruginosa contrairement à nos résultats.

MAOZ et NEEMAN (1998), ont testé les extraits aqueux de dix plantes médicinales, dont *I.viscosa*, contre trois souches bactériennes à Gram positif. Ils ont remarqué que l'extrait aqueux d'*I.viscosa* a présenté un effet inhibiteur maximal contre les trois bactéries testées.

1.4 Extrait de méthanol

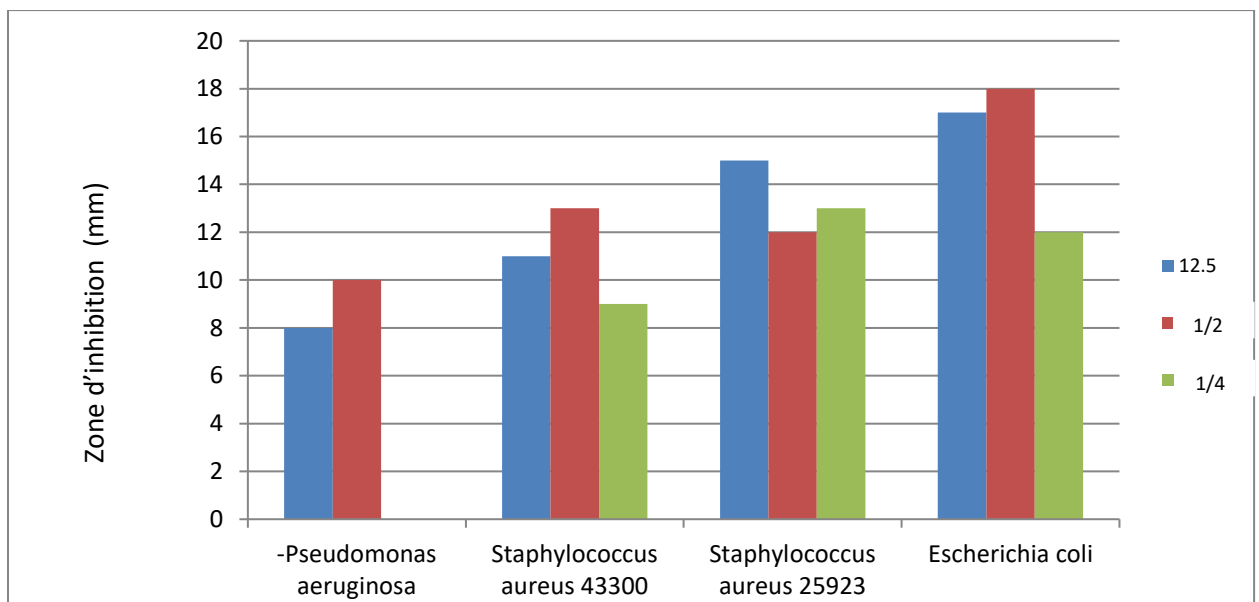


Figure 34 : Effet d'extrait de méthanol sur les souches étudiées

On observe une diminution au niveau de la concentration $\frac{1}{4}$ avec une zone d'inhibition entre 0 et 13mm.

La figure montre que la souche d'E coli est la plus sensible au MtOh dans différentes concentrations, la grande zone d'inhibition est (18mm) cette souche est

Partie III : Résultats et Discussion

extrêmement sensible à l'Mtoh, suivie par *S.aureus* 25923 (15mm), puis *S.aureus* ATCC43300 (13mm) et enfin *P. aeruginosa* avec un diamètre de (11mm)

Notez l'absence de la zone d'inhibition chez *Pseudomonas aeruginosa* (0mm) a 1/4 et (8mm) a 1/2 donc aucune sensibilité.

Les travaux de **Lamprini et al (2014)** réalisés sur les parties aériennes d'*I.viscosa* en utilisant deux solvants (acétate d'éthyle et le méthanol) ont trouvé des activités efficaces contre de nombreuses bactéries à Gram négatif tel qu'*E.coli*.

Selon une autre étude qui a été faite par **KHADIJA et al(2013)** au Maroc, les extraits méthanoliques d'*Inule visqueuse* ont des activités antibactériennes contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. L'activité concernant l'extrait méthanolique a été la plus efficace contre toutes les souches bactériennes dont les diamètres d'inhibitions varient de 14 à 60 mm.

1.5 Extrait éther de pétrole

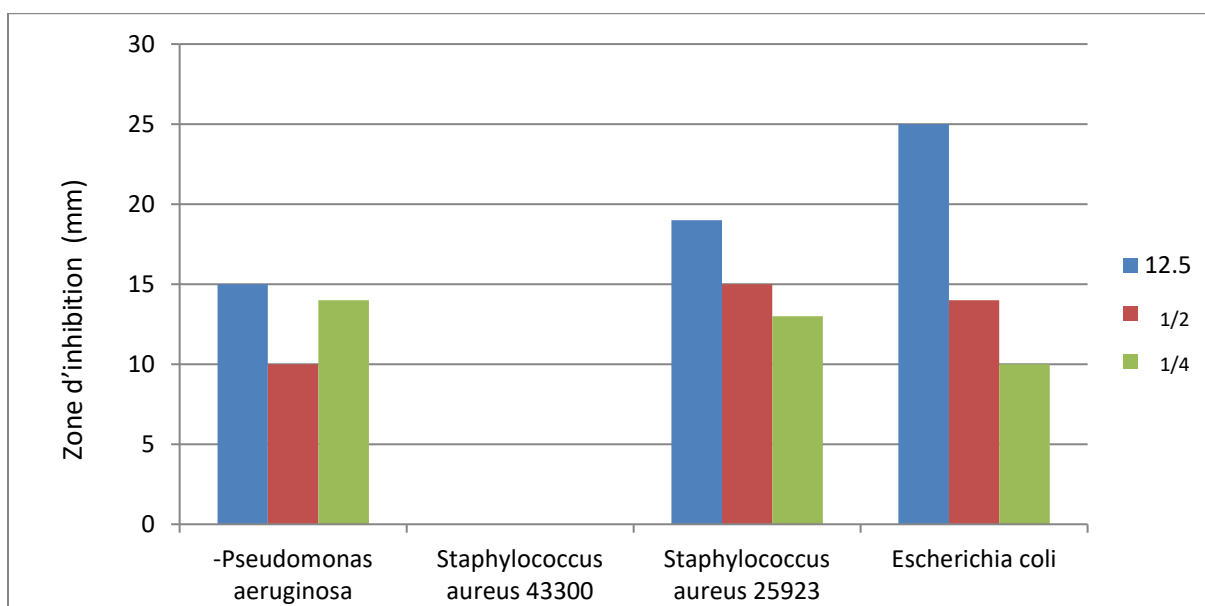


Figure 35 : Effet d'extrait d'éther de pétrole sur les souches étudiées

La figure montre que l'efficacité antibactérienne de l'EEP s'est avérée la plus cohérente avec *E. coli* ATCC25922 avec un diamètre de 25 mm et (19mm) pour *S.aureus* et (15mm) mm pour *P.aeruginosa*. Par contre la souche *S.aureus* 43300 est la plus résistante à différentes concentrations de l'extrait par rapport aux autres souches.

Partie III : Résultats et Discussion

Nos résultats sont similaires à ceux rapporté par (ABIRAMI, 2017) qui ont testé l'activité antimicrobienne d'EEP d'eucalyptus globulus sur une vaste gamme de bactéries gram+ et gram- et ils ont remarqué que la souche E.coli s'est révélée la plus sensible avec un diamètre de zone d'inhibition de 20mm et la zone minimale d'inhibition et marqué par S.aureus 13mm

D'après Bakht et al, 2014, l'extrait d'éther de pétrole de l'espèce *Mentha longifolia* à un pouvoir antibactérienne similaire à celle d'*Inula Viscosa* qui est entre 15 et 25 mm. Ainsi que pour *P. aeruginosa*.

2. Test de sensibilité aux antibiotiques

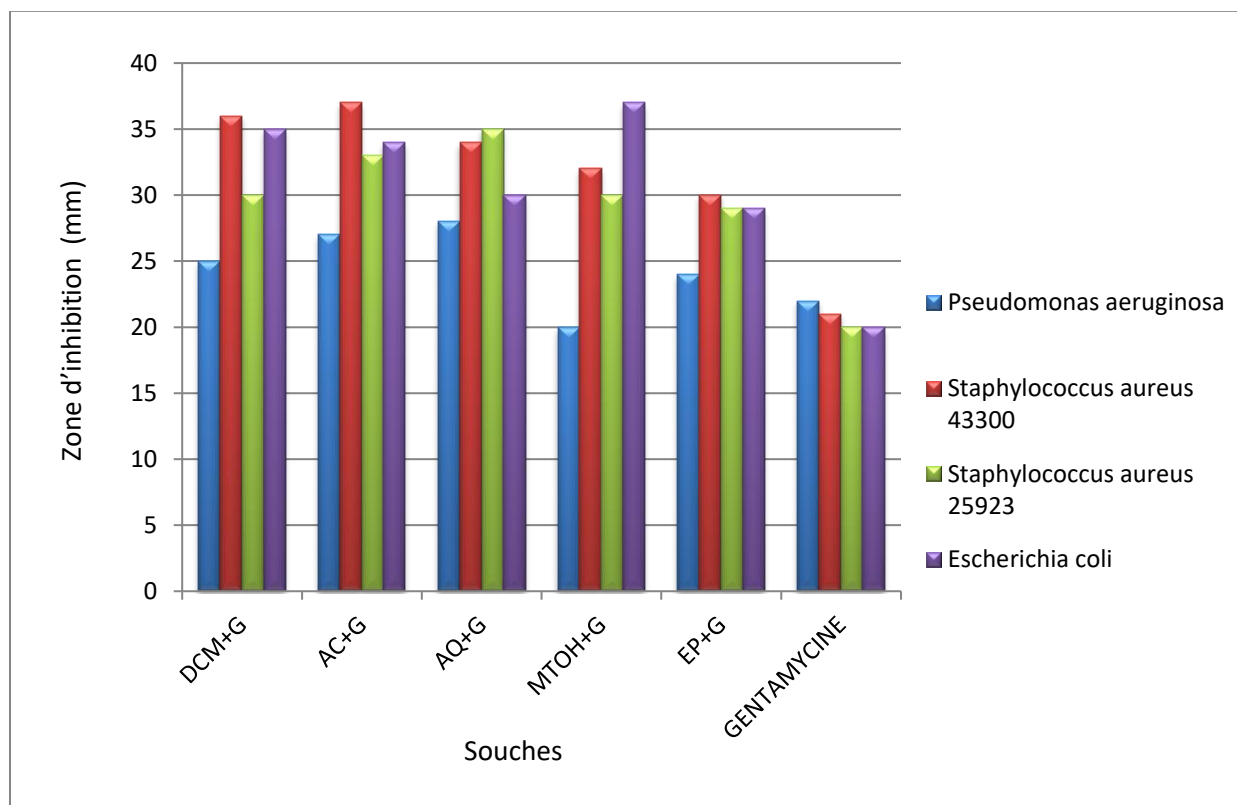


Figure 36 : Effet des antibiotiques sur les souches étudiées

Selon la figure, la souche *S.aureus* ATCC 43300 et *Escherichia coli* sont les sensibles à la gentamycine avec des diamètres allant de 29 à 37 mm, suivi par *S.aureus* 25923 qui un diamètre entre 29 à 35mm, contrairement au *P. aeruginosa*

Partie III : Résultats et Discussion

qui représente une faible sensibilité par rapport les autres espèces avec une zone d'inhibition de 20 à 28mm

Notez que tous les souches étudiées sont sensibles au Gentamycine. D'après la figure les résultats montrent que l'association des extraits avec l'antibiotique agit sur toutes les souches microbiennes avec des activités (synergie, antagonisme et indifférence), cette différence peut être expliquée par le mode d'action des extraits d'*Inula Viscosa*,

3. Essais de sensibilité à la dilution

3.1 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches bactériennes

Les résultats montrent que les extraits d'*inula viscosa* ont une activité antibactérienne acceptable.

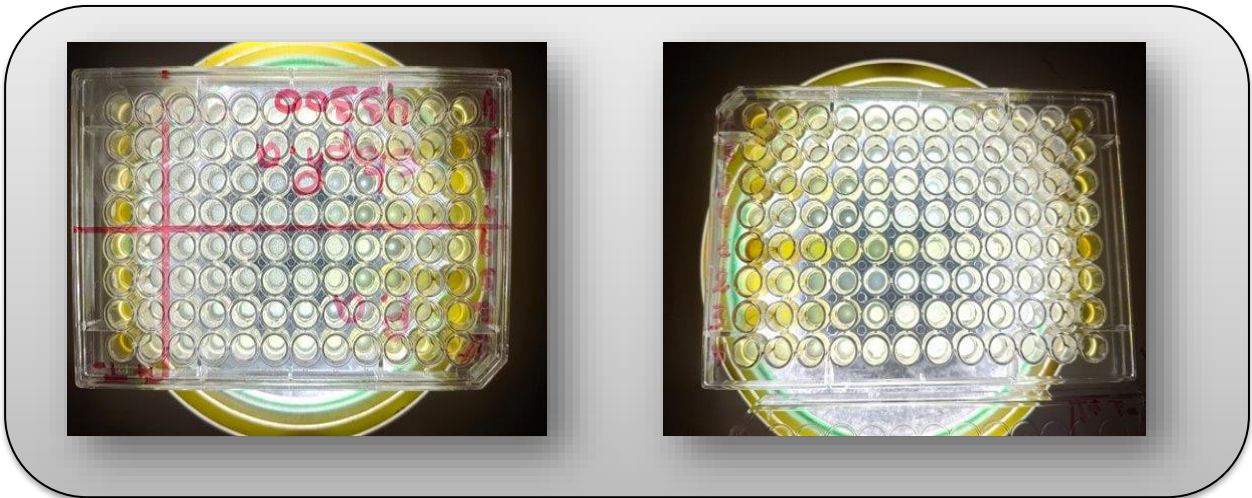


Figure 35 : Résultat de la concentration minimal inhibitrice

Ainsi, les bactéries n'ont montré aucune croissance en présence de solutions mères d'extraits. Cette concentration est donc inhibitrice pour toutes les souches.

Tableau 05 : **Concentration minimal inhibitrices des extraits d'*inula viscosa* pour S.aureus ATCC 25923**

Partie III : Résultats et Discussion

	6.2 5	3.12 5	1.56 2	0.78 1	0.39 0	0.19 5	0.09 7	0.04 8	0.02 4	0.01 2	T N	T P
MOh	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Petet	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ac	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Dcm	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
T : Témoin											-: inhibition	
N : Négatif											+ : croissance	
P : Positif												

D'après le tableau, on observe que l'extrait (1, 2,3) de la partie aérienne d'*Inula viscosa* a une très bonne activité sur *S.aureus* 25923 qui semblait être la plus sensible (MIC = 0.781 mg / ml), suivie de dichlorométhane avec une CMI de 1.562 mg / ml,

Tableau 06 : Concentration minimal inhibitrices des extraits pour E.coli :

	6.25	3.125	1.56 2	0.781	0.39 0	0.19 5	0.097	0.048	0.024	0.01 2	T +	T -
MOh	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Petet	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Ac	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Dcm	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Les résultats du tableau, montrent un niveau de sensibilité élevé à l'extrait (1-2) pour la souche E.coli étudiée (CMI= 0.390 mg/ml), suivi par l'acétone avec

Partie III : Résultats et Discussion

(CMI=0.781mg/ml) et l'activité d'un niveau intermédiaire pour DCM avec une CMI égal à 3.125 mg / ml.

Tableau 07 : Concentration minimal inhibitrices des extraits d'*Inula Viscosa* pour *P.aeruginosa* ATCC 27853

	6.25	3.125	1.562	0.781	0.39 0	0.19 5	0.097	0.048	0.024	0.01 2	T +	T -
MOh	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Petet	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ac	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Dcm	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

On observe que l'extrait (1, 2,3) de la partie aérienne d'*Inula viscosa* a une très bonne activité sur *P.aeruginosa* qui semblait être la plus sensible (MIC = 0.781 mg / ml), suivie de (DCM) avec une CMI de 1.562 mg/ml

Tableau 08: Concentration minimal inhibitrices des extraits d'*Inula Viscosa* pour *S.aureus* ATCC 43300

	6.25	3.125	1.562	0.781	0.39 0	0.19 5	0.097	0.048	0.024	0.01 2	T +	T -
MOh	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Petet	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ac	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Dcm	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Partie III : Résultats et Discussion

Le tableau montrent que l'extrait Petet présente une activité antibactérienne élevées sur la souche *S.aureus* 43300 qui semblait être la plus sensible (CMI=0.781mg/ml), suivi de les extraits (1-3-4) avec une CMI de 1.562 mg/ml.

Tableau 09 : Concentration minimal inhibitrices de l'extrait aqueux pour les différentes souches

	6.2	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.09	0.04	0.02	0.01	T	T
	5	5	2	1	0	5	7	8	4	2	+	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S.aureus</i> <i>ATCC</i> <i>43300</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S.aureus</i> <i>ATCC</i> <i>25923</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E.coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Les résultats du tableau montrent un niveau de sensibilité élevé au niveau de la souche *P.aeruginosa* étudiée (CMI= 0.390 mg/ml), suivi par les deux souches *S.aureus* ATCC 43300 et *S.aureus* ATCC 25923 avec (CMI=0.781mg/ml) et l'activité d'un niveau intermédiaire pour *E.coli* avec une CMI égal à 1.562 mg / ml.

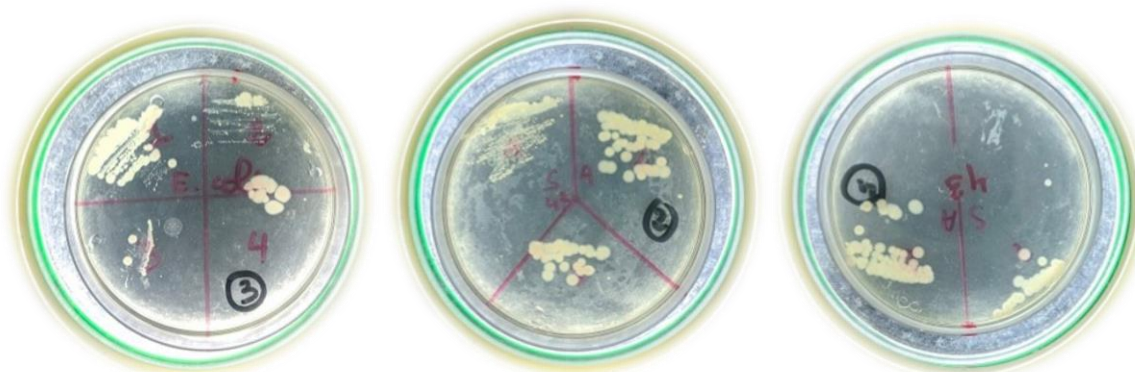
Tableau 10 : Concentration minimal inhibitrices des extraits avec les différentes souches

	Extrait méth.	Ether de pétrole	Acétone	Déch Méthane	Aqueux
<i>P.aeruginosa</i>	0.781	0.781	0.781	1.562	0.390
<i>S.aureus 43300</i>	1.562	0.781	1.562	1.562	1.562

Partie III : Résultats et Discussion

<i>S.aureus</i> <i>ATCC 25923</i>	0.781	0.781	0.781	1.562	0.781
<i>E.coli</i>	0.195	0.195	0.390	1.562	1.562

3.2 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)



Extrets Souches	Extrait méth.	Ether de pétrole	Acétone	DéchMéthane	Aqueux
<i>P.aeruginosa</i>	6.25	3.125	6.25	6.25	0.390
<i>S.aureus</i> <i>ATCC 43300</i>	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>S.aureus</i> <i>ATCC 25923</i>	6.25	6.25	6.25	6.25	1.562
<i>E.coli</i>	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25

Tableau 11 : Concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits d'*Inula Viscosa* sur la croissance des souches bactériennes

La concentration minimale bactéricide (CMB) signifie à la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les extraits d'*inula viscosa* contre les souches bactériennes

Partie III : Résultats et Discussion

Les extraits présentent une concentration minimale bactéricide (CMB) plus élevée que la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Selon les résultats obtenus, la plupart des souches présentent une sensibilité vis-à-vis les différents extraits avec des diamètres supérieurs à 12 mm dans la plupart des cas, cette sensibilité dépend de la nature et la composition des extraits et les souches testé.

L'activité antimicrobienne maximale enregistrée par l'essai de l'EEP et l'EDCM contre toutes les souches suggère que la substance active réside dans ces extraits avec un effet à large spectre. Tandis que l'EDCM renferme différents constituants, notamment les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les terpènes et les pectines. (Bouziid, 2011).

Selon Marmonier (1990), si le rapport d'activité CMB/CMI ou d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique. On se référant aux résultats obtenus dans les tableaux, nous constatons que les extraits d'*inula viscosa* sont bactériostatiques.

Nos résultats ne concordent pas à ceux trouvé par (Pankey et Sabath, 2004) qui ont testé l'activité antimicrobienne d'*E.camaldulensis* sur une vaste gamme de bactéries a gram+ et gram-, et ils ont remarqué que le rapport CMB, CMF/CMI de cette huile est inferieur a 4 et cela indique que l'HE d'*E.camaldulensis* peut être utilisée comme agent bactéricide.

Evaluation de l'activité antioxydante

1. Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration de chaque extrait

1.1 Activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique

Partie III : Résultats et Discussion

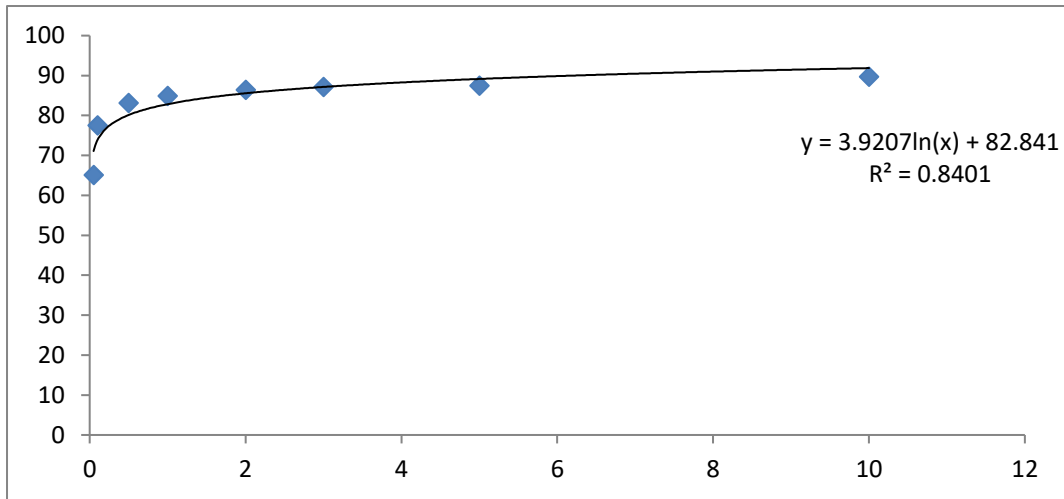


Figure 38 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique

D'après la figure on peut calculer le $IC_{50} = 0.203 \text{ mg/ml}$

1.2 Activité anti radicalaire d'éther de pétrole

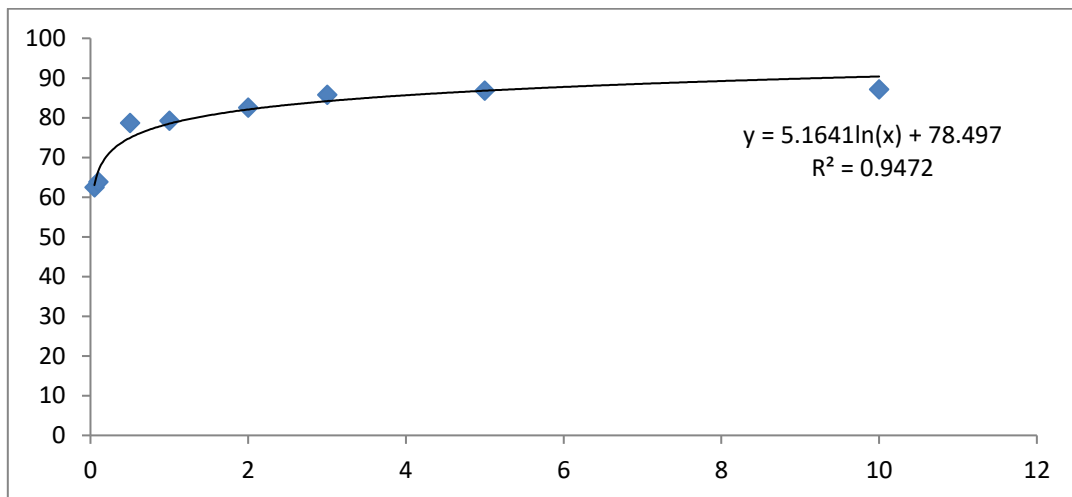


Figure 39 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration d'éther de pétrole

Calcul de $IC_{50} = 0.4403 \text{ mg/ml}$

Partie III : Résultats et Discussion

1.3 Activité anti radicalaire d'acétone

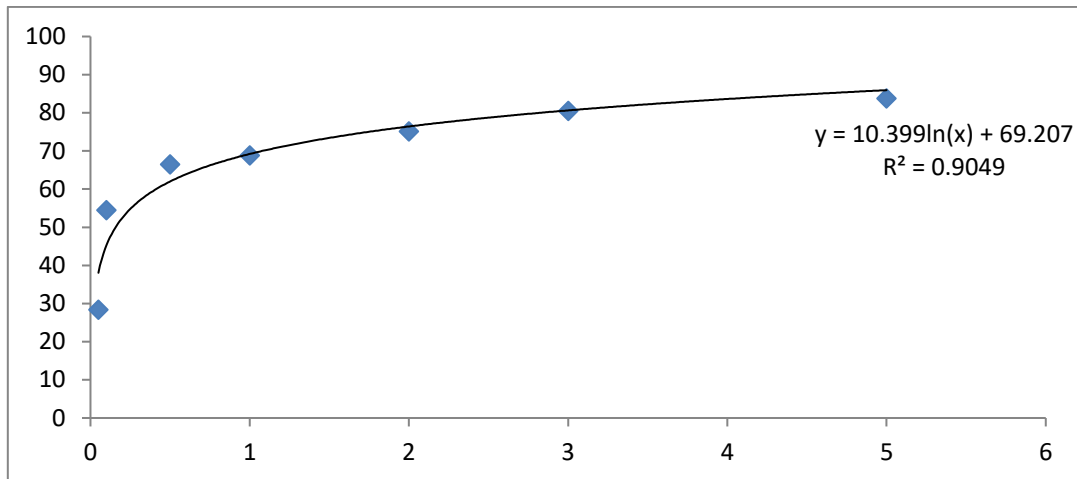


Figure 40 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration d'Acétone

Calcul de $IC_{50} = 0.2367$ mg/ml

1.4 Activité anti radicalaire d'extrait aqueux

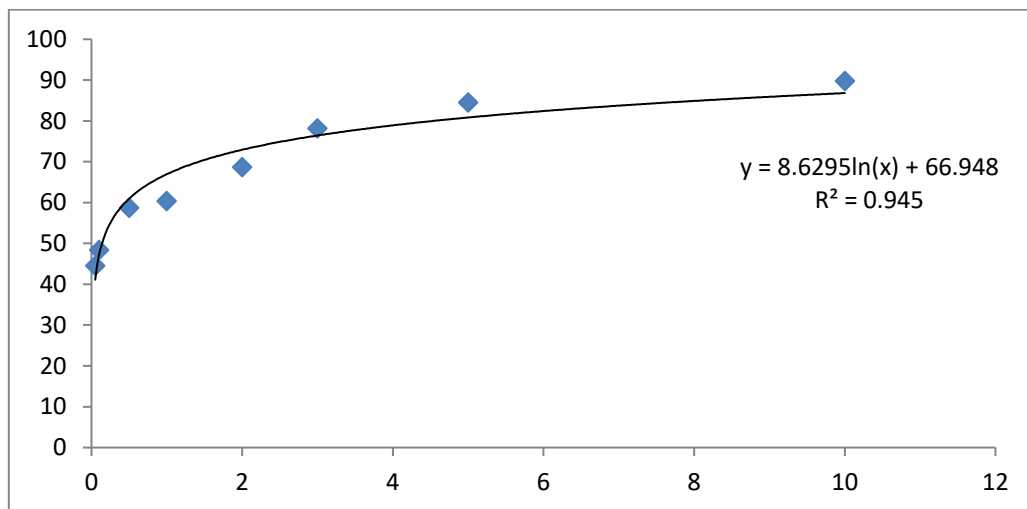


Figure 41 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration d'Aqueux

Calcul de $IC_{50} = 1.3608$ mg/ml

1.5 Activité anti radicalaire d'extrait dichlorométhane

Partie III : Résultats et Discussion

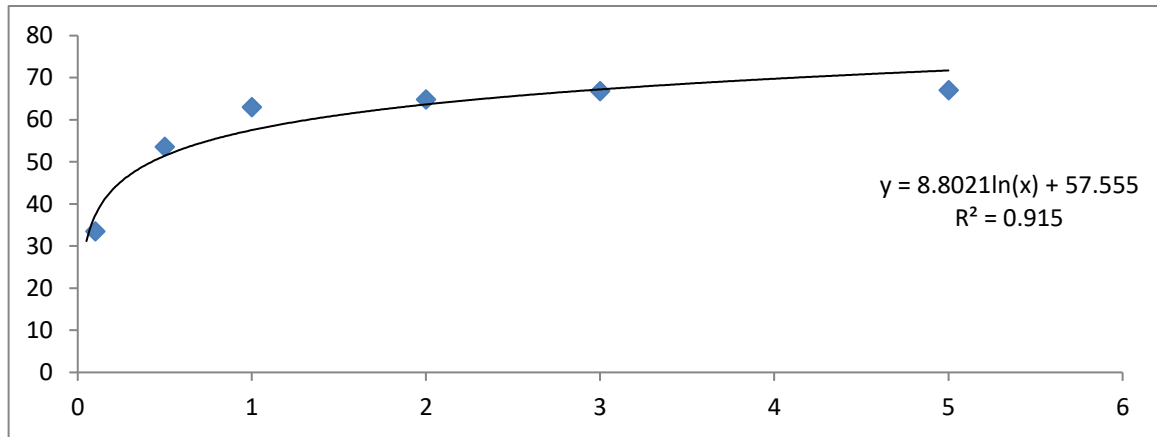


Figure 42 : Variation du pourcentage de réduction en fonction de la concentration de dichlorométhane

Calcul de l'IC50 = 0.4289 mg/ml

3.2. Comparaison entre les extraits par rapport à leur IC50

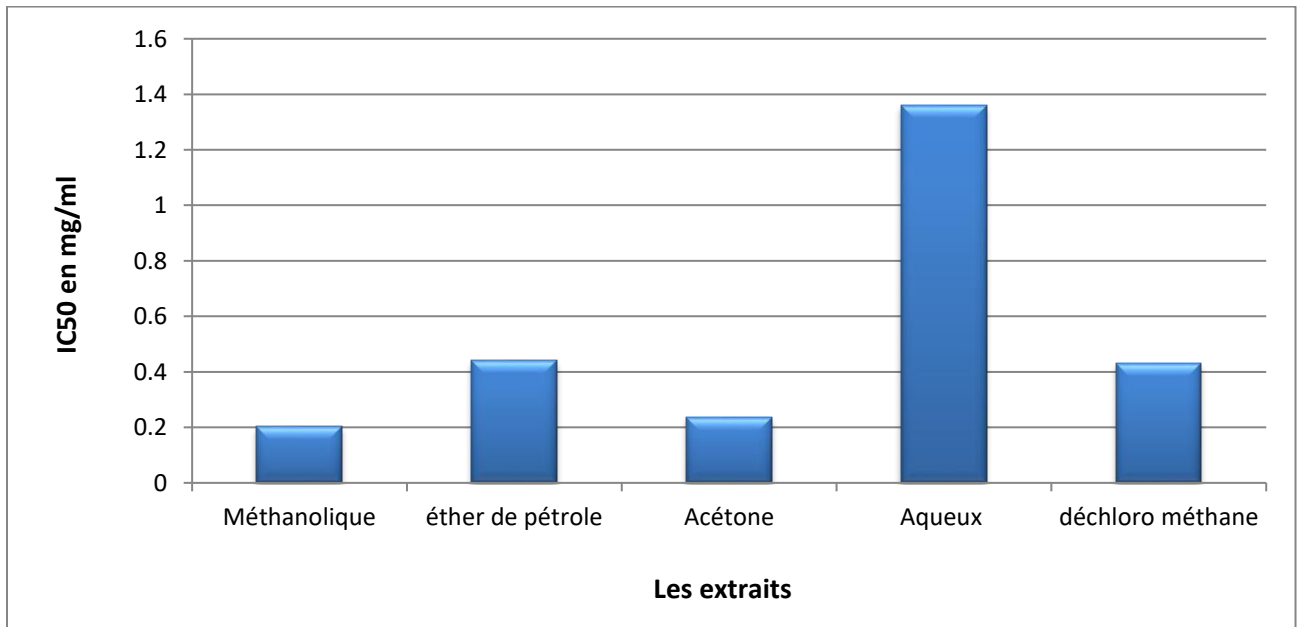


Figure 43 : Représentation graphique montrant la comparaison entre les extraits par rapport à l'IC50

Partie III : Résultats et Discussion

La représentation graphique a montré les valeurs des IC50 des extraits. Les tests au DPPH révèlent que l'extrait méthanolique confirme un IC50 qui est de 0,203 mg/ml.

L'extrait éther de pétrole confirme un IC50 presque similaire que l'extrait dichlorométhane qui est de 0,4403 mg/ml et 0,4289 mg/ml.

On remarque que IC50 d'Acétone = 0,2367 mg/ml et l'extrait aqueux est de 1,3608 mg/ml

En conclusion nous constatons que l'extrait aqueux et éther de pétrole donne un IC50 plus élevé qui sont de 1,3608 mg/ml et 0,4403 mg/ml

Donc le classement des extraits selon leur pouvoir antioxydant est le suivant : Extrait méthanolique, l'extrait acétone, dichlorométhane, puis l'éther de pétrole, à la fin l'extrait aqueux.

On explique l'utilisation de la technique DPPH par sa rapidité à donner les résultats, comme elle est employée pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits de végétaux (**Yi et al. 2008 ; Nabavi et al. 2010**)

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH passe d'une coloration violette à une coloration jaune (**Prior et al. 2005**).

On constate que les cinq extraits présentent une bonne activité antioxydant

Selon les résultats enregistrés, les extraits méthanoliques et aqueux sont dotés d'un meilleur pouvoir antioxydant, le méthanol enregistre le meilleur IC50 ceci est en accord avec les résultats d'activité antioxydant obtenue de (**abdel nacer et al 2011**) et les résultats de (**Lopez Vet al., 2007**).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. Le présent travail porte sur l'étude photochimique ainsi que l'évaluation des activités antimicrobienne et antioxydants des composés bioactifs présents dans les feuilles de l'inule visqueuse *Inula viscosa* L.

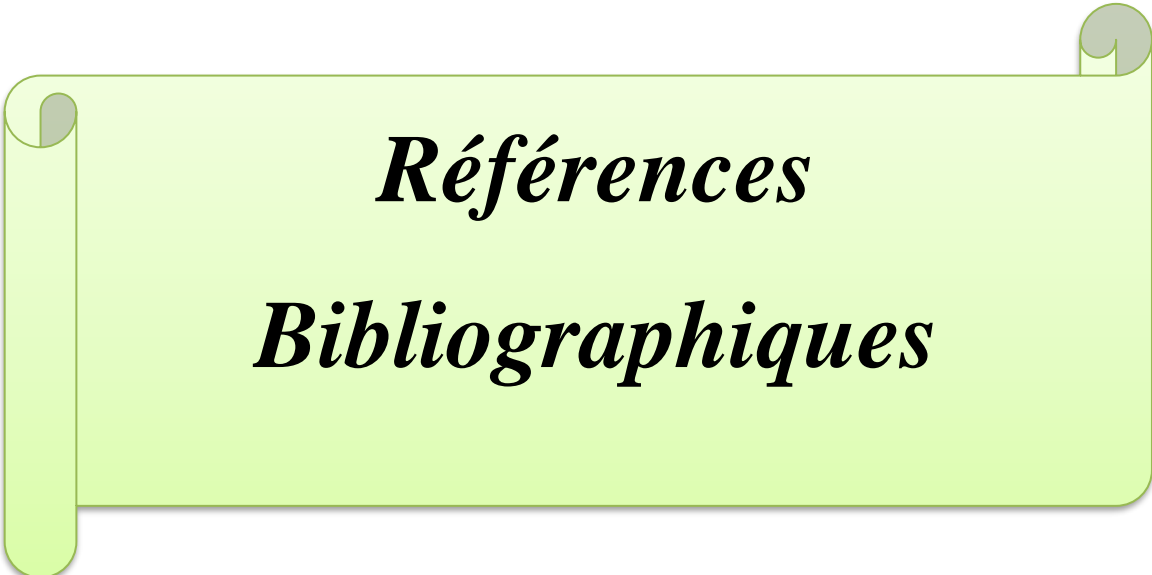
Les tests photochimiques indiquent la richesse de cette plante en tannins, tripléides, stéroïdes, coumarines, alcaloïdes, quinones libres et enfin des composés réducteurs

Cette richesse en composés secondaires peut expliquer l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle

Les extraits *d'inula viscosa* possèdent une activité antioxydante due à la présence de composés de haut poids moléculaire tels que les tannins condensés.

L'étude a montré que les extraits préparés (Ac, Aq, MToh, EP, EDCM) *d'inula viscosa* présentent une activité antimicrobienne contre les souches étudiées avec des diamètres des zones d'inhibition variant de (8-25mm).

Au bout de cette étude, les extraits biologiques de notre plante ont un fort impact bactéricide sur les souches testées, de sorte que ces ressources peuvent être valorisées et utilisées dans le domaine du traitement ainsi que contre les maladies infectieuses.



***Références
Bibliographiques***

1. **Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, O. and Iwatsuki, K. (2001).** Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*,
2. **Awa N.2003.** étude de l'activité antidiabétique des extraits acétoniques, méthanoliques et héliques de *vernonia colorata* (willd/ drake) composées chez des rats wistar. Thèse de docteur en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
3. **Ayad, R. (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique. p 35-39,40, 47.
4. **Aneses** Agence national de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail (anses), 2011. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments/ *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococcique
5. **ABIRAMI, S. (2017).** ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND PHYTOCHEMICAL SCREENING OF THE LEAF EXTRACTS OF *EUCALYPTUS GLOBULUS*
6. **Abdel-Nasser Singab¹, Nahla Ayoub¹, Eman Al-Sayed^{1,2*}, Olli Martiskainen², Jari Sinkkonen² and Kalevi Pihlaja** Phenolic Constituents of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, with Potential Antioxidant and Cytotoxic Activities pp 275)
7. **BRUNETON J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie. Lavoisier, 4eme édition. Paris. 901-904.
8. **Bogs, J., Downey, M.O., Harvey, J.S., Ashton, A.R., Tanner, G.J. and Robinson, S. P. (2005).** Leucoanthocyanidin Synthase and expression of genes encoding Leucoanthocyanidin reductase and Anthocyanidin reductase in Developing rape berries and rapevine Leaves. *American Society of Plant Biologists*, .
8. **Benayache S, Benayache F,** A new Isoflavone from *Genista saharae* (Fabaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2005
9. **BRUNETON J., 1987 -** Déments de phytochimie et de pharmacognosie. Paris, Lavoisier, 585p.

- 10. Benayache S, Benayache F,** A new Isoflavone from *Genista saharae* (Fabaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2005
- 11. Badiaga M.** 2012. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de docteur d'université, Mali.
- 12. Bennett, R.N.** and Wallsgrave, R.M. (1994) Secondary Metabolites in Plant Defense Mechanisms. *New Phytology*, 127, 617-633.
- 13. BONNAFOUS** et Alice KRIEG-PLANQUE (2013), "L'analyse du discours", Presses Universitaires de Grenoble, coll. La communication en plus, 302 p. ; pp. 223-238
- 14. Baba Aissa F.**, "Les plantes médicinales en Algérie ",. Coédition Bouchène et Ad. ... *Food Agric*, N°79", (1999), pp 1993-2000
- 15. Benayache S. , Benayaches F. , Jay M.** (1991) Les flavénoides d'*Inula viscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie* 25(4) 170-176
- 16. Billerbeck G,** (2002). Les contaminations biologiques des biens culturels : Essai d'utilisation d'huile essentielle en traitement de l'aire. Ed : Elsevier. 357-365
- 17. Bougateg A,** Nedjar-Arroume N, Ravallec-Plé R, Leroy Y, Guillochon D, Barkia A, Nasri M. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activities of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products protein hydrolysates obtained by treatment with microbial and visceral fish serine proteases. *Food Chem.* 2008;111:350–356. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.03.074.
- 17. Bizimenyera, S. E ,Chikoto, H., Eloff, J. N., Swan, G. E.** (2005). Rationale for using *Peltophorumafricanum* (Fabaceae) extracts in veterinary medicine. *Journal of the South African Veterinary Association*, 76(2), 54-58.
- 18. Barchan, A; Bakkali, M; Arakrak, A; Laglaoui, A.** (2015). Effet antibactérien et antibiofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. *Lavoisier. Phytothérapie* 14: 88. doi.org/10.1007/s10298-015-0970-y.

- 19. Bouzid, W. ; Yahia1, 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. 12 (1), 59-69
- 20. COLLIN S., COUNET C., CALLEMIEN D. et JERKOVIC V.** (2011). Nomenclature et voies de synthèse des principaux polyphénols ; in : « Polyphénols et Procédés : Transformation des polyphénols aux travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire ». Lavoisier., Paris. 5-25.
- 21. C La Casa, I Villegas,** CA De La Lastra, V Motilva, MJM Calero Journal of ethnopharmacology 71 (1-2), 45-53
- 22. Catherine Reeb** 2010 Systématique et ecologie des taxons thalloïdes malgaches : vers une révision du genre RICCARDIA pour l'Afrique
- 23. Chauvet S,** Roumenina LT, Aucouturier P, Marinozzi MC, Dragon-Durey MA, Karras A, Delmas Y, Le Quintrec M, Guerrot D, Jourde-Chiche N, Ribes D, Ronco P, Bridoux F, Fremaux-Bacchi V. Both Monoclonal and Polyclonal Immunoglobulin Contingents Mediate Complement Activation in Monoclonal Gammopathy Associated-C3 Glomerulopathy. Front Immunol. 2018 Oct 2;9:2260
- 24. CLSI** document M11-A8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012. Proposed Standard. Approved Standard—Fourth Edition.
- 25. Djedioui,** Abdallah Messareh, M. (Directeur de thèse) Université Badji Mokhtar (Editeur (scientifique))
- 26. Diallo, D.;** Sanogo, R.; Yasambou, H.; Traoré, A.; Coulibaly, K.; Maïga, A., 2004. Etude des constituants des feuilles de Ziziphus mauritania Lam. CR Chimie, 7
- 27. Daira, N. E.-H., et al.** (2016). "Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale Ammoides verticillata (Desf.) Briq. de l'Est Algérien." Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège 85: 276-290.
- 28. Erdman Jr,** J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Harnly, J, Hollman, P., Keen, C. L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G. and Burrowes, J. (2007). lavonoids and eart ealth roceedings of the LS North America lavonoids orshop. The Journal of Nutritionjn.nutrition.org.

- 29. Essawi T, Srour M** (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharm* 70:343–9
- 30. Facchini P.J., St-Pierre B.** 2005. Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. *Current Opinion in Plant Biology*, 8:657–666.
- 31. Fabre R., Truhaut R.** 1961. Précis de toxicologie. Tome 2. Société d'édition d'enseignement supérieur, Paris, pp 379-454.
- 32. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C.** (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331: 372-379. doi:10.1016 / j.crv.2008.02.008.
- 33. Gaitatzis, N.; Silakowski, B.; Kunze, B.; Nordsiek, G.; Blocker, H.; Hofle, G. and Muller, R.** (2002). The biosynthesis of the aromatic myxobacterial electron transport inhibitor stigmatellin is directed by a novel Type of Modular polyketide synthase. *J Biol Chem* 277, 13082-13090.
- 34. Guignard J. L., Cosson L., Henry M.** 1985. Abrégé de phyto-chimie. Masson, Paris, pp 175-191.
- 35. Guignard J. L.** 2000. Biochimie végétale. 2ème édition. Edition Dunod, Paris, pp 198-207.
- 36. Gonzalez MA, et al.** (1984) Evidence that catalysis by yeast inorganic pyrophosphatase proceeds by direct phosphoryl transfer to water and not via a phosphoryl enzyme intermediate. *Biochemistry* 23(5):797-801
- 37. Grycová Lenka** Volume 68, Issue 2, January 2007, Pages 150-175. *Phytochemistry*
- 38. Guignard J.L.,** 1998. - Abrégé de Botanique, 11ème édition révisée, Masson, Paris. • 115
- 39. Hartmut K. Lichtenthaler,** 1999(*Biochemistry of Plants*), University of Karlsruhe, Kaiserstr. 12, 76133 Karlsruhe, Germany.

- 40. Holderness, J.,** Hedges, J.F., Daughenbaugh, K., Kimmel, E., Graff, J., Freedman, B. and Jutila, M.A. (2008). Response of cells to plant-derived tannins. *Critical Review of Immunology*, .
- 41. Hart J.H.** (1981). Role of phytoestrogens in decay and disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 19: 437-458.
- 42. Henri, L.** (2002). Bacteriologie De *Pseudomonas Aeruginosa*. Service De Bacteriologie. Centre Hospitalier De Lille. *Presse Therm Climat*. 139: 9-13.
- 43. Hassine, D. B.** (2013). Chemical Composition and in Vitro Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Eucalyptus gillii* Essential Oil and Extracts.
- 44. Jens A. Pedersen.,** (2000), Distribution and taxonomic implications of thymols in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy *Biochemical Systematics and Ecology*. 28, 229-253.
- 45. J. N. Eloff.** Department of Pharmacology, University of Pretoria, Pretoria, South Africa. Received: January 31, 1998
- 46. Krief, S.** (2003)-*Métabolites secondaires des plantes et comportement animal*, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle.
- 47. Khanbabae, K. and Ree, T.R.** (2001). Tannins Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry* .
- 48. Kattouf, J., Belmoukhtar, M., Harnafi, H. et al.** ... *Phytothérapie* 7, 309–312 (2009).
- 49. Koffi, E.** ,Sea, T ., Dodehe, Y., Solo, S Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal of animal et plants sciences*, 2010, vol.5, n°3, pp550-558
- 50. Lamarti A.,** Badoc A., Deffieux G. et Carde J. P ., 1994. Biogénèse des Monoterpènes. *Bulletin de la Société de Pharmacologie de Bordeaux*. 133, 69-118.

- 60. Lecomte J.**(2015). Lutter naturellement contre la Mouche de l'Olive, Saint-Rémy de Provence, édition sud, « Le choix durable », France : 216 p. [en ligne], disponible sur : <http://www.edisud.com> , (consulté en Mai 2017).
- 70. Louis Pachauri, R. K.,** Allen, M. R., Barros, V. R., Broome, J., Cramer, W., Christ, R., ...&Dubash, N. K. (2014). Climate change 2014 synthesis report. contribution of working groups I, II, and III to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.
- 70.Lopez,V.,Akerreta,S.,Casanova,E.,Garcia,Mina,J.M.,Cavero,R.Y.,&Calvo,M.I.**(2007).In Vitro Antioxydant and Anti-rhizopus Activities Of Lamiaceae Herbal Extract.Plant Foods for Human Nutrition,62(4),151-155.)
- 71. Macheix, J.J.,** A. Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Nature et diversité des composés phénoliques des végétaux. n Les composés phénoliques des végétaux. Des Technique et documentation. Lavoisier. .
- 72. Medi –Saric, M.,** Jasprica, I., Smolcic-Bubalo, A., Mornar, A. (2004).Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic a acids.Original Scientific Paper, 77, (1–2) ,PP.361-366.
- 73. Mérillon J.M.,** Fauconneau B., Waffo Teguo P., Barrier L., Vercauteren J. et Huguet F. (1997). Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted from Vitis vinifera Cell Cultures. Clinical Chemistry, 43(6): 1092-1093.
- 74. MOROT-GAUDRY J.F. & PRAT R.** (2012). Biologie végétale. Croissance et développement, 2ème édition. DUNOD, Paris : 224-225.
- 75. Mamadou B.** Etude ethnobotanique 2011 ,26 ,27)
- 76. Muanda, N.F. AU** - Dicko, A. AU - Soulimani, Rachid PY - 2010 - 147 EP - 160 T1 - Chemical composition and biological activities of Ficus capensis leaves extracts VL - 3 JO - J. Nat. Prod. (Gorakhpur, India) ER
- 77. Malecky, M.,** V. Fedele, and L.P. Broudiscou. 2006. Rumen degradability of terpenes present in the spring diet of lactating goats from Basilicata (Italy).

Rencontres Recherches Ruminants, Paris; Institut de l'Elevage - INRA; Vol. 13, pp. 134.

78. Moroh, J.L.A., Bahi,C., Dje, K., Loukou, Y. G. et Guede-Guina, F. (2008).«Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) *milne-redheat* (rubiacae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*», Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège [En ligne], (77): 44 - 61.

79. Michel-Briand. Masson, Chichester (1986) Mécanismes Moléculaires de l'Action des Antibiotiques, Y. , 392 p., FF 250

80. Maisuthisakul P Suttajit M., Pongsawatmanit R. Vol.331. (2008). pp. 372-379 (2007)

81. Mahmoudi, S., M. Khali, et al. (2013). "Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.)." *Nature & Technology*(9): 35.

82. MAOZ M. & NEEMAN I. (1998). Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. *Letters in Applied Microbiology*, 26:61-63.

83. MohdNazri, „Nik Rosmawati, N. H., S., &Mohd Ismail, I. (2012). The rate and risk factors for anemia among pregnant mothers in Jerneh Terengganu, Malaysia. *J Community Med Health Educ*, 2(150), 2161-0711.

84. Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Fazelian M, Eslami B. 2009b. In vitro Antioxidant and free radical scavenging activity of *Diospyros lotus* and *Pyrus boissieriana* growing in Iran. *Pharmacognosy magazine* 4, 123-127.

85. Ochoa, S.A; López-Montiel,F; Escalona,G; Cruz-Córdova,A; Dávila,L.B; LópezMartínez, B. (2013). Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to carbapenems associated with biofilm formation.*Bol Med Hosp Infant Mex* .70(2):133-144.

- 86. Oloyede O.I.** (2005). Chemical Profile of Unripe Pulp of Carica Papaya. Pakistan Journal of Nutrition, 4: 379-381.
- 87. Psotová, J., Lasovsky, J and Vicar, J.** (2003). Metal-chelating properties, electrochemical behaviour, Scavenging and cytoprotective Activities of six Natural phenolic. Biomedical Papers, .
- 88. Poutaraud A., Latouche G., Martins S., Meyer S., Merdinoglu D. et Cerovic Z.G.** (2007). Fast and local assessment of stilbene content in grapevine leaf by in vivo fluorometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 4913-4920.
- 89. Parolin, P.; Bresch, C.; Ruiz, G.; Poncet, C.** 2013b. Presence of arthropod pests on eight species of banker plants in a greenhouse. Revista de Ecologia Aplicada 12: 1-8.
- 90. Ponce A.G; Fritz.R; Del Valle.C; et Roura.S.I .** (2003). Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic swiss chard. Society of food Science and Technology (Elsevier).36:679-684.
- 91. Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein,** 2003. Microbiologie. De BoeckSupérieur., pp: 1137.
- 92. Pankey, GA, Sabath, LD,** 2004. La pertinence clinique de bactériostatique par rapport bactéricide mécanismes d'action dans le traitement des infections bactériennes Gram-positives. Clin. Infecter. Dis. 38 (6), 864-870. <https://doi.org/10.1086/381972> .
- 93. Prior et al,** 2005 R.L. Prior, Wu X., K. Schaich Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (2005), pp. 4290-4302
- 94. Quézel, P. & Santa S.** (1962). Nouvelle flore del'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS., Paris, 2 tomes, 1170 pages
- 95. Ramadan MF.** (2010) Rapid antiradical method for screening deep fried oils. Journal of consumer protection and food safety, 5:47-50
- 96. Ramos-Valdivia, R van der Heijden, R Verpoorte.** Natural product reports 14 (6), 591-603, 1997

- 97. Rios et al.** 2005 Volume 100, Issues 1–2, 22 August 2005, Pages 80-84
- 98. RELOUZAT R. & THIOLLET J.P.** (2002). *Combattre la douleur*, 1ère édition. , Anagramma.
- 99. Reed Jess, D.** (1995). Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes'. *J. h i m. Sci.*, 73, PP.1516-1528.
- 100. Rodney C, Kutchan TM** et Lewis NG. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). In *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, (Eds.), American Society of Plant Physiologists, pp.1268-1277.
- 101. Robert, D. W; Arkadiusz, D; Danuta, I; Małgorzata, K; Robert, K; Agata, K.D.**(2013). Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates to Propolis Extract Alone or in Combination with Antimicrobial Drugs. *Molecules* (18): 9623-9640. doi:10.3390/molecules18089623
- 102. Rira M.** 2006. Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique
- 103. Steyn, P. S.** (1980). *The biosynthesis of mycotoxins*. Academic Press, New York, pp. 1-4.
- 104. SARNI-MANCHADO Pascale, CHEYNIER Véronique.** Couverture de l'ouvrage Les ... Date de parution : 01-2006. Ouvrage de 398 p.
- 105. Sarni-Manchado, P and Cheynier, V.** (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. d. ec Doc, aris, p
- 106. Sato et al.** the *Journal of neuroscience* 2007 : the official journal of the Society for Neuroscience 27(20): 5271-5279 (Journal)
- 107. Shakil, A.** (1998). Isolation and structural elucidation of chemical constituents from *Fumaria indica*, *Ferula oopoda* and *Withania somnifera*. Thèse de doctorat université de karachi. P : 10-40.
- 108. Suja KP, Jayalekshmy A, Arumughan C.** 2005. In vitro studies on antioxidant activity of lignans isolated from sesame cake extract. *J. Sci. Food. Agric.* 85, 1779–83.

- 109. Scalbert A,** Williamson GDietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 130: 2073S-2085S *Plant Physiology*, Fourth Edition, Sinauer Associates, 2006, chap. 13.
- 110. Trease, G.E., Evans, W.C.** 1987. *Pharmacognosy*.13th edn. Brailliar Tiridel Can. Macmillian Publishers.
- 111. Wang L, et al.** (2004) Stress induces depletion of Cdc25p and decreases the cAMP producing capability in *Saccharomyces cerevisiae*.
- 112. Yi T, Cho SG, Yi Z, Pang X, Rodriguez M, Wang Y, Sethi G, Aggarwal BB, Liu M.** Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Mol Cancer Ther.* 2008;7:1789–1796.
- 113. Zachary,D.B.** (2015).The Unexhausted Potential Of E. Coli.The Natural History Of Model Organisms.Michigan State University, États-Unis. Doi: 10.7554/Elife.05826.001.

Résumé

Les recherches actuelles sont focalisées sur les molécules douées d'activités biologiques d'origine naturelle. Cinq extraits obtenus à partir de des parties aériennes de la plante *Inula viscosa* avec l'extraction par macération dans des solvants différents, éther de pétrole, méthanol, dichlorométhane, eau distillée et acétone, Le screening phytochimiques a permis de mettre en évidence la présence des tanins, Terpenoïdes, Stéroïdes, Coumarines, Alcaloïdes, Quinones libres, Composés réducteurs

Le rendement des extraits des feuilles de la plante *Inula viscosa* montre que l'eau et le dichloro méthane sont des solvants polaires qui donnent les meilleurs rendements avec 27.5% et 16.45%

Les parties aériennes d'*Inula viscosa* (Nord-Ouest algérienne) ont été criblés pour leurs activités antimicrobiennes possibles. Par la suite, l'activité antimicrobienne des extraits a été testée par un essai biologique, d'aromatogramme, suivie par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide

Les CMI obtenus des souches bactériennes sont comprises entre 0.195 et 0.781 mg/ml et la valeur de la concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits est estimée à 6.25 mg/ml

L'association des extraits avec l'antibiotique agit sur toutes les souches microbiennes avec des activités variables (synergie, antagonisme et indifférente).

Les extraits d'*Inula viscosa* possèdent une activité antioxydante due à la présence de composés de haut poids moléculaire tels que les tannins condensés et la richesse de la plante en métabolites secondaires.





Mots clés : Plantes médicinales, métabolites secondaires, *Inula viscosa*, extraits, activité antimicrobienne.

Annexe

Tableau 01 : Liste des produits chimiques utilisés

Ether de pétrole	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$
Dichlorométhane	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Méthanol	CH_3OH
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	$\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$
Acétone	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$

Tableau 02 : Appareillages et leurs références

Autoclave	AR3055	
Spectrophotométrie		
Décompteur de colonies		
Etuve	ES13304	



Rotary évaporateur	RE300	
Agitateur magnétique chauffant	AG500	

Tableau 03 : température d'ébullition des solvants (INRS)

Ether de pétrole	30-50°C
Dichlorométhane	39,8°C
Méthanol	64,5°C
Acétone	56 °C

Tableau 05 : Composition de gélose Muller-Hinton (MH)

ingrédients	Les mesures
Milieu déshydraté	38,0 g
Eau distillée	1L