



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Écologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

N° d'ordre :

N° de série :

**Intitulé :**

---

**Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne du genre**  
***Senecio***

---

Présenté par : AGAB Roa

Le : 10/06/2024

SLIMANI Mohamed Djawad Eddine

**Jury d'évaluation :**

**Président :** ABDELAZIZ Ouidad (M-C-B - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** KEBBI Sara (M-C-B - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examineur :** ACHOUB Hanane (M-C-B- U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire**  
**2023 - 2024**

## *Remerciements*

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir guidé tout au long de nos années d'études et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour achever ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements au professeur **SEGHIRI Ramdane** pour nous avoir accueilli au sein de l'Unité de Recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyse Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL) de la faculté des sciences exactes, université des Frères Mentouri Constantine 1.

Nous tenant à remercier très sincèrement **Mme KEBBI Sara** Maitre de Conférence classe B, pour nous avoir encadrées, en nous faisant bénéficier de ces connaissances, de son aide et ses conseils, nous tenons à lui exprimer nous reconnaissance et nous profond respect.

Nous désirons aussi adresser nos remerciements les plus sincères et notre gratitude aux membres de jury :

**Mme ABDLAZIZ Ouided** Maitre de Conférence classe B à l'université des Frères Mentouri Constantine 1 qui nous a fait honneur par sa présence en qualité de présidente de jury.

**Mlle ACHOUB Hanane** Maitre de Conférence classe B à l'Université des frères Mentouri Constantine 1 qui a accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation

Nos sincères remerciements à tous les membres de l'unité de recherche VARENBIOMOL particulièrement Mr HICHAM Hazmoune et Mme TEBBOUB Naouel et à l'ingénieur du laboratoire 8 du département de microbiologie Mme SEDRATI Soumia pour leur disponibilité, leur gentillesse et leur aide précieuse.

## **Dédicace**

*Je voudrais dédier ce modeste travail à tous ceux qui sont chers à mon cœur ;*

*À mes parents « **Lamine et Dalila** »*

*Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'amour que je vous porte, ni la profonde reconnaissance que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon Instruction et mon bien-être. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi.*

*En souvenir affectueux de ma chère tante **Zahia**,*

*Qui était pour moi une seconde mère. Aujourd'hui, alors que nous te disons adieu avec une profonde tristesse, nous voulons également exprimer notre gratitude pour tout ce que tu as fait. Tes efforts inlassables, ton soutien inconditionnel et tes encouragements constants ont été des phares dans ma vie. Tu as été bien plus qu'une tante, tu as été une source d'inspiration et de réconfort. Nous garderons à jamais dans nos cœurs les souvenirs chaleureux que tu as semés en nous. Repose en paix, et sache que ton héritage de bonté et de dévouement vivra à travers nous. Merci pour tout.*

*À mes chères sœurs **Alae ERRAHEMANE et Koufwa** et sachez que je vous aime et serai toujours là pour Vous épauler.*

*À mes meilleures amies En mémoire de notre chère amitié et des souvenirs inoubliables que nous avons passés ensemble je tiens à vous remercier du fond du cœur de m'avoir toujours soutenue Et d'être restées toujours à mes côtés.*

*À mon binôme **Slimani Mohamed Djawad Eddine**, Pour sa patience.*

*À tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.*

**Roua**

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à :*

*Ma mère qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde ;*

*Mon père qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, que dieu le garde et le protège ;*

*Mes beaux frères Haitem, Louai et Firas ;*

*Mes bien chères amis et ma famille ;*

*Et je n'oublierai pas non plus de mon binôme ;*

*Djawad*

# SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

## Chapitre I : Aperçu bibliographique

I.1. Présentation de la famille des Asteracées .....	3
I.1.1. Généralités sur la famille des Asteracées.....	3
I.1.2. Distribution géographique.....	3
I.1.3. Description botanique .....	3
I.1.4. Utilisation Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique .....	4
I.2. Le genre <i>Senecio</i> .....	5
I.2.1. Caractéristiques botaniques.....	5
I.2.2. Place à la systématique .....	6
I.2.3. Principaux métabolites secondaire isolés du genre <i>Senecio</i> .....	6
I.2.4. Utilisation en médecine traditionnelle.....	7
I.3. Les métabolites secondaires.....	7
I.3.1. Les composés phénoliques.....	7
I.3.2. Les alcaloïdes.....	10
I.3.3. Les terpènes .....	11
I.3.4. Les stéroïdes et stérols .....	11
I.3.5. Les saponines .....	12
I.4. Les activités biologiques.....	13
I.4.1. L'activité antioxydante .....	13
I.4.1.1. Les radicaux libres .....	13
I.4.1.2. Les antioxydants .....	13
I.4.1.3. Classification des antioxydants .....	13
I.4.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante par test DPPH.....	14
I.4.2. L'activité antibactérienne .....	15
I.4.2.1. Généralités sur les bactéries.....	15
I.4.2.2. Caractéristiques des souches bactériennes testées .....	15

I.4.3. Activité antifongique .....	23
I.4.3.1. Généralités sur Champignons .....	23
I.4.3.2. Caractéristiques des Champignons étudiés .....	23

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

II.1. Etude phytochimique de l'espèce du genre <i>Senecio</i> .....	29
II.1.1. Les critères de choix du matériel végétal .....	29
II.1.2. Récolte du matériel végétal .....	29
II.1.3. Préparation des extraits végétaux .....	29
II.1.4. Test chromatographique sur les différents extraits.....	32
II.1.5. Screening phytochimique .....	32
II.1.5.1. Test des flavonoïdes .....	32
II.1.5.2. Test des saponosides .....	33
II.1.5.3. Test des alcaloïdes .....	33
II.1.5.4. Test des tanins.....	33
II.1.5.5. Test des anthraquinones.....	33
II.1.5.6. Test des stérols.....	33
II.1.5.7. Test des terpènes .....	34
II.1.5.8. Test des sucres .....	34
II.2. Analyse quantitative des extraits .....	34
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux . .....	34
II.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	35
II.3. Evaluation des activités biologiques.....	37
II.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante. ....	37
II.3.1.1. Test de réduction du radical DPPH.....	37
II.3.2. Etude de l'activité antimicrobienne.....	38
II.3.2.1. Matériel biologique .....	38
II.3.2.2. Stérilisation du matériel.....	38
II.3.2.3. Préparation des solutions des extraits.....	38
II.3.2.4. Préparation des disques .....	38

II.3.2.5. Préparation des milieux de cultures .....	39
II.3.2.6. Préparation de l'inoculum .....	39
II.3.2.7. L'ensemencement.....	40
II.3.2.8. Dépôt des disques .....	40
II.3.2.9. Incubation .....	40
II.3.2.10. Lecture des résultats .....	41

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1. Etude phytochimique.....	42
III.1.1. Le rendement de macération.....	42
III.1.2. Résultats de la Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	43
III.1.3. Screening phytochimique .....	45
III.1.4. Résultats des dosages des polyphénols et des flavonoïdes .....	48
III.2. Activités biologiques in vitro .....	51
III.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante .....	51
III.2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne .....	53
Conclusion.....	59
Références bibliographiques .....	61

## *Liste des abréviations*

**ATCC** : American type culture collection

**AcOEt** : acétate d'éthyle

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

**BuOH** : butanol

**BHA** : ButylHydroxyAnisole

**BHT** : ButylHydroxyToluene

***B. spizizenii*** : *Bacillus Spizizenii*

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

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

**CuSO<sub>4</sub>** : Sulfate de cuivre

***C. albicans*** : *Candida albicans*

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DO** : Densité Optique

**EQ** : Equivalent de quercétine

***E. coli*** : *Escherichia coli*

**EP** : Ether de pétrole

**EAG** : Equivalent d'acide gallique

**FeCl<sub>3</sub>** : Trichlorure de fer (III)

**FCR** : Folin-ciocalteu

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

**HCl** : Acide chlorhydrique

**I%** : Pourcentage d'inhibiton

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50%

**g**: gramme

**MeOH** : méthanol

**Min** : minute

**mg** : Milligramme

**mL** : Millilitre

**mM** : milli Molaire

**NaOH** : Hydroxyle de sodium

***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*



**R%** : Rendement

*S.aureus* : *Staphylococcus aureus*

**µg /ml** : Microgramme par millilitre

**UV** : Ultra-violet

## *Liste des tableaux*

N°	Titre	Page
<b><i>Chapitre I : Aperçu bibliographique</i></b>		
<b>Tableau I.1</b>	Classification systématique de <i>Senecio</i>	06
<b>Tableau I.2</b>	Classification d' <i>Escherichia coli</i>	17
<b>Tableau I.3</b>	Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
<b>Tableau I.4</b>	Classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	21
<b>Tableau I.5</b>	Classification de <i>Bacillus subtilis</i>	23
<b>Tableau I.6</b>	Position systématique de <i>Candida albicans</i>	25
<b>Tableau I.7</b>	Position systématique de <i>Alternaria alternata</i>	27
<b><i>Chapitre III : Résultats et discussions</i></b>		
<b>Tableau III.1</b>	Rendements de l'extraction des différents extraits	42
<b>Tableau III.2</b>	Résultats du criblage phytochimique des extraits	46
<b>Tableau III.3</b>	Taux des polyphénols totaux dans les extraits de l'espèce du genre <i>Senecio</i>	49
<b>Tableau III.4</b>	Taux des flavonoïdes totaux dans les extraits de l'espèce du genre <i>Senecio</i>	51
<b>Tableau III.5</b>	Pouvoir d'inhibition IC <sub>50</sub> des extraits et du standard utilisant le test du DPPH	52
<b>Tableau III.6</b>	Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait éther de pétrole vis-à-vis des six souches.	54
<b>Tableau III.7</b>	Valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait chloroforme vis-à-vis des six souches.	55
<b>Tableau III.8</b>	Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait Acétate d'éthyle vis-à-vis des six souches	57
<b>Tableau III.9</b>	Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait n-butan0l vis-à-vis des six souches	58

## *Liste des figures*

N°	Titre	Page
<b>Chapitre I : Aperçu bibliographique</b>		
<b>Figure I.1</b>	Répartition de la famille des Asteraceae dans le monde	3
<b>Figure I.2</b>	Types des fleurs des Astéracées	4
<b>Figure I.3</b>	Type de fleurs du genre <i>Senecio</i>	6
<b>Figure I.4</b>	Structures des composés phénoliques simples (A) acide benzoïque (B) acide cinnamique	8
<b>Figure I.5</b>	Structure de base des flavonoïdes	9
<b>Figure I.6</b>	Structures chimiques typiques des tanins	9
<b>Figure I.7</b>	Squelette de base des coumarines	10
<b>Figure I.8</b>	Squelette de base des anthraquinones	10
<b>Figure I.9</b>	Quelque structure d'alcaloïdes	11
<b>Figure I.10</b>	La structure de base des terpènes (isoprène)	11
<b>Figure I.11</b>	Structure de stigmastérol (1) et le sitostérol (2)	12
<b>Figure I.12</b>	Structures des saponines. (a) Ginsenoside, (b) Diosgenin, (c) Gymnemagenin	12
<b>Figure I.13</b>	Équation du radical DPPH transformé en DPPH	15
<b>Figure I.14</b>	Coloration de Gram de bactéries à Gram négatif (A) et à Gram positif (B)	16
<b>Figure I.15</b>	<i>Escherichia Coli</i> Macroscopique(A) ; microscopique(B)	16
<b>Figure I.16</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> macroscopique(A), microscopique(B)	18
<b>Figure I.17</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> macroscopique(A) ; microscopique(B)	20
<b>Figure I.18</b>	<i>Bacillus</i> macroscopique(A) ; microscopique(B)	22
<b>Figure I.19</b>	<i>Candida albicans</i> macroscopique(A) ; microscopique(B)	24
<b>Figure I.20</b>	<i>Alternaria alternata</i> macroscopique et microscopique	26
<b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b>		
<b>Figure II.1</b>	Les étapes d'extraction	30
<b>Figure II.2</b>	Chromatographie sur couche mince.	32
<b>Figure II.3</b>	Réaction entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes	36
<b>Figure II.4</b>	Témoin positif fongique et bactérienne	39
<b>Figure II.5</b>	Fondre les milieux de cultures dans le bain marie	39
<b>Figure II.6</b>	L'ensemencement	40
<b>Figure II.7</b>	L'incubation des boîtes	41
<b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>		
<b>Figure III.1</b>	Plaques CCM de l'extrait éther de pétrole élué dans le système CHCl <sub>3</sub> (100%).	43

<b>Figure III.2</b>	Plaque CCM de l'extrait chloroforme éluée dans le système CHCl <sub>3</sub> /MeOH (9,5 : 0,5)	44
<b>Figure III.3</b>	Plaque CCM de l'extrait acétate d'éthyle éluée dans le système CHCl <sub>3</sub> /MeOH (9 : 1).	44
<b>Figure III.4</b>	Plaque CCM de l'extrait n-butanol éluée dans le système AcOEt/MeOH/eau (8 :1,5,1).	45
<b>Figure III.5</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	49
<b>Figure III.6</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine	50
<b>Figure III.7</b>	Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH par les différents extraits	52



# ***Introduction générale***

## ***Introduction générale***

Depuis des milliers d'années, l'Homme a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études [1].

De nos jours entre 20000 et 25000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée internationale, 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au-moins une molécule active d'origine végétale.

La richesse verte et vierge de notre pays l'Algérie qui est estimée à plus de 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques et appartiennent à plusieurs familles botaniques [2], a poussé les chercheurs algériens à les étudier et les analyser sur le plan phytochimique ainsi que sur le plan pharmacologique, pour explorer la grande Flore algérienne.

Actuellement, le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne et de l'oxydation des aliments. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant [3].

Le présent travail a pour objectif de criblage des métabolites secondaires, avec la détermination de la concentration de certains groupes, comme il vise à tester les activités biologiques des différents extraits organiques surtout l'activité antioxydante, antifongique et l'activité antibactérienne.

Dans ce contexte et notamment dans le cadre du programme de recherche sur les plantes médicinales, nous nous sommes intéressées à l'étude d'une espèce du genre *Senecio* qui appartient à la famille des Asteracées.

La présentation de ce mémoire se divise en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à des généralités bibliographiques sur la famille des Asteracées et sur le genre *Senecio* ainsi que des généralités sur l'activité biologique antioxydante et antimicrobienne.
- Le deuxième chapitre est consacré aux matériels et méthodes ou sont détaillés les protocoles expérimentaux relatifs à l'extraction, au dosage qualitatifs et quantitatifs des

## ***Introduction générale***

composés phytochimiques, à l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits de la plante .

- le troisième chapitre comprend l'interprétation et la discussion des résultats obtenus lors de l'étude phytochimique et biologique.
- Le manuscrit se termine par une conclusion générale.

# *Chapitre I*

## **Aperçu bibliographique**



## I.1. Présentation de la famille des Astéracées

### I.1.1. Généralités sur la famille des Asteracées

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur [4]. Les *Astéracées* (*Asteraceae*) sont une grande famille de plantes dicotylédones, appelées aussi Composées (*Compositae*) ou, plus rarement des Composacées. Cette famille comprend en effet entre 1600 et 1700 genres et 25000 à 30000 espèces dont 750 endémiques [5]. Le sol algérien compte environ 109 genres et plus de 408 espèces de cette famille [6].

Bien que tous les types biologiques se retrouve chez les composées : arbres, lianes, arbustes, plantes succulentes, épiphytes, plantes aquatiques etc. la plupart des espèces sont surtout des plantes herbacées vivaces ou annuelles [7].

### I.1.2. Distribution géographique :

Les Astéracées connaissent une distribution géographique mondiale. Elles poussent dans presque tous les types d'habitats, à l'exception de l'Antarctique [8] Elles s'acclimatent bien aux régions tropicales et subtropicales semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Elles sont en revanche, peu présentes dans la forêt tropicale [9].

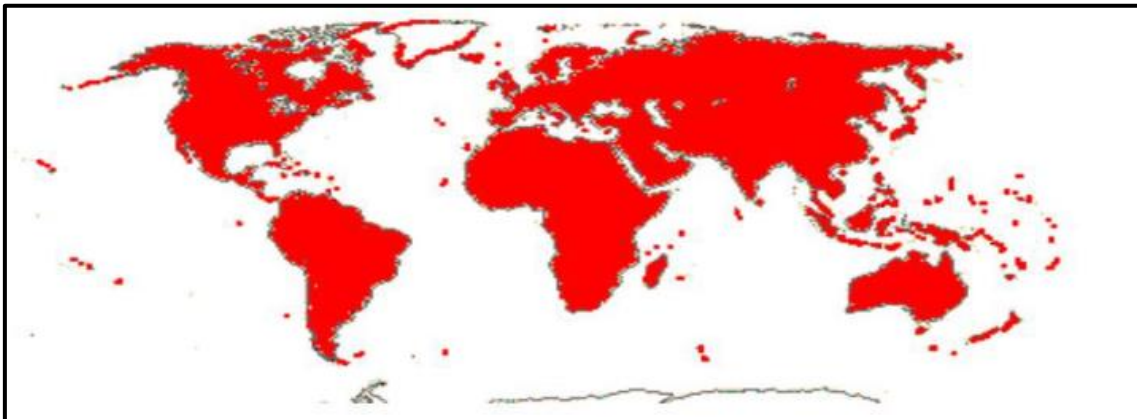


Figure I.1 : Répartition de la famille des Asteraceae dans le monde [9]

### I.1.3. Description botanique

Les Asteraceae ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collecte est appelé un involucre [10].

La fleur des astéracées est très particulière : les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situés des « brosses à pollen ». La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut penser qu'à ce moment-là, du nectar est secrété.

L'inflorescence est ordinairement un compact de fleurs sessiles tubulées et/ou ligulées sous-tendu par un involucre de bractées disposées sur un ou plusieurs rangs (Figure I.2) Les bractées peuvent être herbacées, scarieuses ou épineuses. Sur le réceptacle, les bractéoles, si elles sont présentes, peuvent prendre la forme d'écailles, de soies ou de paillettes. Le capitule est entouré à la base généralement par 1 à 6 séries de bractées dont l'ensemble forme l'involucre.

Les fruits sont des achaines et contenant chacun une seule graine. L'ornementation joue un rôle important dans la reconnaissance des genres et espèces. Les caractères du fruit sont généralement identiques pour les diverses espèces du même genre [11].



**Figure I.2:** Types des fleurs des Astéracées

#### **I.1.4. Utilisation Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique**

La famille des Composées contient plus de dix mille espèces, la grande majorité des espèces étant comestibles, elle fournit des plantes alimentaires : La laitue est la plante la plus cultivée de la famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol.

L'*arnica montana* est une plante vivace originaire des régions montagneuses de l'Europe et du sud de la Russie. Elle est décrite dans des pharmacopées européennes pour son usage dans le traitement de petits traumatismes comme les hématomes. Cette plante est utilisée traditionnellement en phytothérapie pour aider à soulager la douleur et/ou l'inflammation des muscles et des articulations (entorses, ecchymoses, douleur articulaire) [12, 13].

Les Astéracées fournissent également des insecticides : *Chrysanthemum cinerariaefolium* (L.) est une plante herbacée originaire des balkans, cette espèce donne des fleurs qui contiennent des pyréthrine non toxiques pour les animaux à sang chaud, mais très toxique pour ceux à sang froid [14].

Le guayule (*Parthenium argentatum*), seconde source de caoutchouc naturel, exploité au début du siècle et en période de crise (1940-1945), pourrait reprendre une place économique importante. Grâce à la sélection variétale et à la stimulation de la production du caoutchouc dans la plante, les rendements à l'hectare vont approcher ceux de l'hévéa. Les procédés d'extraction du caoutchouc ont été améliorés récemment et donnent un caoutchouc identique à celui de l'hévéa [15].

Plusieurs espèces du genre *Artemisia* ont largement été utilisées en médecine, Traditionnelle et dans la préparation de liqueurs comme l'absinthe et le génépi [16].

## **I.2. Le genre *Senecio***

### **I.2.1. Caractéristiques botaniques**

Le genre *Senecio*, vient de *senex* = sénile signifiant littéralement en latin « vieillard », en référence aux aigrettes blanches surmontant les akènes lors de la fructification, est l'un des genres les plus importants en termes d'espèces de la famille des *Asteraceae*. Il compterait plus de 1500 espèces dont quelques-unes sont développées une succulence des tiges, feuilles, tronc ou racines [17].

Les espèces du genre *Senecio* sont des plantes annuelles ou vivaces, des arbustes, des petits arbres, des aquatiques ou des grimpeurs et rarement des arbres [18].

**Feuilles** : Elles sont alternes et spiralées, généralement simples, lobées ou dentées, sans stipules, caduques ou persistantes, parfois réduites à de simples écailles chez certaines espèces à tiges succulentes, à aisselle glabre.

**Fleurs** : Inflorescence simple ou ramifiée à capitules. Capitules en coupe assez large à involucre de bractées vertes libres disposées sur 1-2 rangs. Les Fleurs sont tubulées hermaphrodites, blanches, jaunes, rouges ou pourpres.

**Fruit** : Il s'agit à la base d'un fruit à une graine sec et indéhiscent, ou akène, côtelé, pourvu d'une aigrette de soies raides, ou pappus, multi-sérié et caduque, formée par le calice modifié, qui permet une dispersion par le vent [19].



Figure I. 3 : Type de fleurs du genre Senecio

### I.2.2. Place à la systématique [20]

Le genre *Senecio* appartient à la famille des Asteraceae, tribu des Senecioneae :

Tableau I.1 : Classification systématique de *Senecio*

<b>Royaume</b>	<b>Plante</b>
<b>Embranchement</b>	Spermatophytes (plantes à graines)
<b>Division</b>	Magnoliophita ou Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Astérales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Tribus</b>	Senecioneae
<b>Genre</b>	<i>Senecio</i>

### I.2.3. Principaux métabolites secondaire isolés du genre *Senecio*

Les données phytochimiques du genre *Senecio* ont été rapidement développées pendant les 20 dernières années. Des centaines d'espèces de ce genre ont déjà fait l'objet d'études. Une large variété de produits naturels caractérise les espèces du genre *Senecio* : Les Alcaloïdes pyrrolizidiniques (APs), les sesquiterpénoïdes, les flavonoïdes, les monoterpénoïdes, les triterpénoïdes, et des coumarines et d'autres métabolites secondaires tels que les acides chlorogéniques, des huiles essentielles etc. les eremophilanes sont particulièrement caractéristiques des espèces de ce genre [21].

#### I.2.4. Utilisation en médecine traditionnelle

Ce groupe de plantes est d'une grande importance aussi bien sur le plan économique que médicinale. Sur le plan économique, les feuilles de séchées au soleil acquièrent un parfum agréable [14] et la tisane des feuilles *S. faujasioidee* et racines soignent de la syphilis [24].

*Senecio minutis* et *S. boissieri* sont utilisés comme anti-inflammatoires et vasodilatateurs [25]. En Afrique du Sud, *S. adscendens* est utilisé pour soigner la gale et les plaies syphilitiques et l'infusion des feuilles fraîches de *S. gossypinus* traite les coliques et son jus est vulnéraire sur les plaies [25].

Les feuilles de *S. longiscapus* sont conseillées pour toute dermatose, eczéma et gale [22]. Des usages traditionnels de *S. vulgarisen* infusion pour calmer les menstruations douloureuses et de *S. cinerariapour* soulager des problèmes ophtalmiques ont été rapportés [26].

Certaines espèces du genre *Senecio* ont une activité antivirale pour l'hépatite B [27]. Ainsi des effets bénéfiques sur la toux, l'eczéma, la bronchite, la cicatrisation des plaies et la facilitation de l'accouchement [28]. Alors que d'autres sont très toxiques et cette toxicité des alcaloïdes pyrrolizidinique est utilisé comme préventif contre l'ulcère gastrique [29].

### I.3. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les [30]. Elles sont caractérisées généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux [31]. Ces molécules jouent un rôle dans l'adaptation des plantes à leur environnement et représentent également une source importante de produits pharmaceutiques [32]. Ils appartiennent à des groupes chimiques varié : alcaloïdes et terpènes et composés phénoliques [33].

#### I.3.1. Les composée phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires [34], et constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus [35]. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction, éther, ester, hétéroside [36]. Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques, les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines [37].

### I.3.1.1 Acides phénoliques

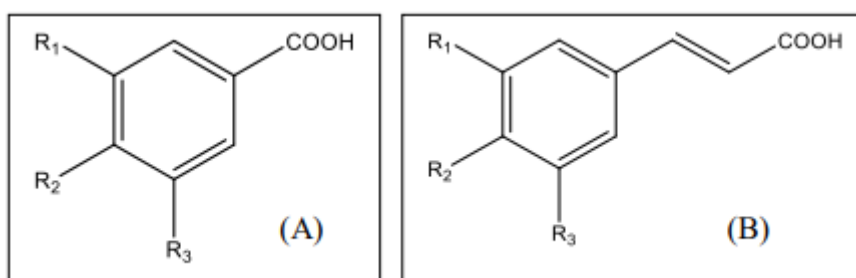
Acides phénoliques sont des composés organisés en C6-C3 provenant de l'acide cinnamique ou en C6-C1 Les provenant de l'acide benzoïque.

#### \*Acides phénoliques provenant de l'acide cinnamique :

Ces acides sont des dérivés qui se forment à partir de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau de son cycle aromatique [38].

#### \*Acides phénoliques provenant de l'acide benzoïque :

Ces acides sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'ester ou hétéroside [39].



**Figure I.4 :** Structures des composés phénoliques simples (A) acide benzoïque (B) acide cinnamique

### I.3.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents [40] Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 [41] (Figure I.5).

En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines, flavonol, isoflavonol, flavone, isoflavone, flavane, isoflavane, flavanol, isoflavanol, flavanone, isoflavanones et aurone.

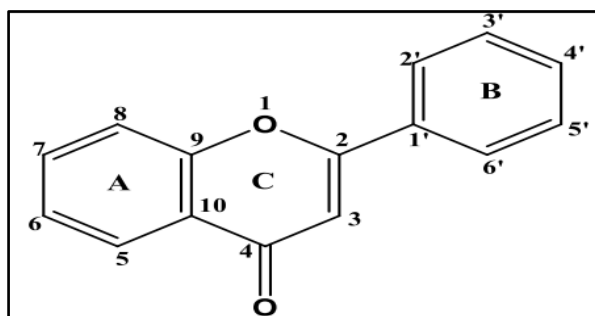


Figure I.5 : Structure de base des flavonoïdes

### I.3.1.3. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tel que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...), leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation [42]. Les tanins sont divisés en deux groupes :

#### a- Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine. Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre [43].

#### b- Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannase en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques, et les tanins ellagiques [44].

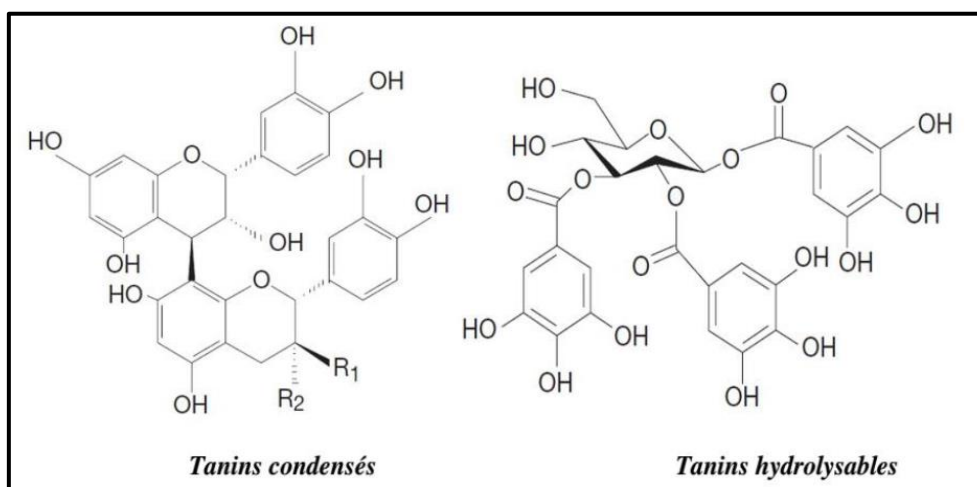


Figure I.6 : Structures chimiques typiques des tanins

#### I.3.1.4. Les coumarines

Les coumarines constituent un groupe de lactones largement répandues, issues de la formation d'un cycle fermé à partir de l'acide hydroxycinnamique. La coumarine donne au foin fraîchement coupé son odeur douceâtre caractéristique. La coumarine est également un composant de l'huile de bergamote, qui est utilisé pour parfumer le tabac de pipe, le thé et d'autres produits. Alors que la coumarine n'est pas toxique en soi, elle peut être convertie par les champignons, en une toxine le dicoumarol qui est typiquement présent dans le foin moisi [45].

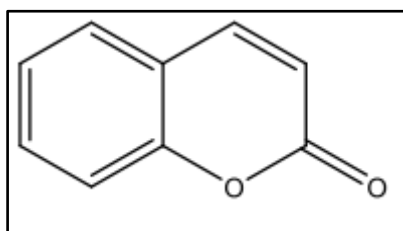


Figure I.7 : Squelette de base des coumarines

#### I.3.1.5. Les anthraquinones

Les anthraquinones sont des composés de la famille des quinones, ils sont constitués de deux cycles aromatiques reliés par deux groupes carbonyle pour former une structure aromatique plane. Ces métabolites existent sous forme glycosides et d'aglycones, ils sont présents dans les parties aériennes et les racines des plantes. Des études ont clairement montré que les anthraquinones possèdent une activité antidiabétique [46].

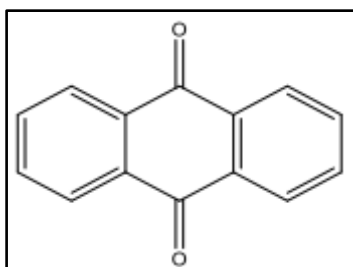
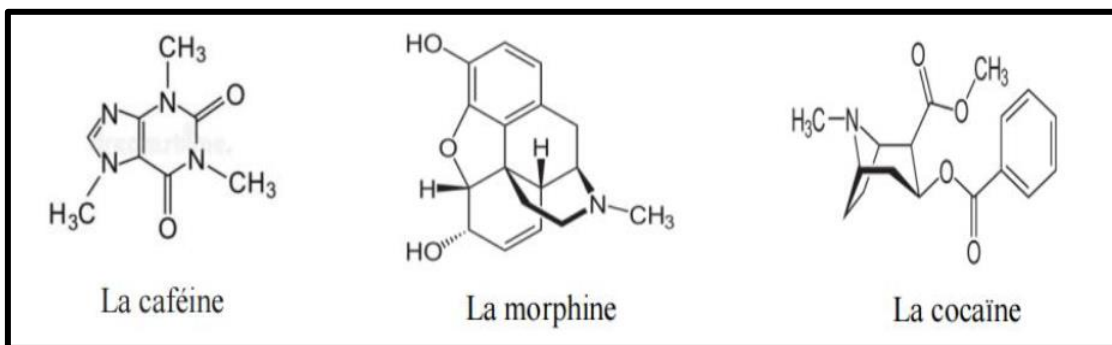


Figure I.8 : Squelette de base des anthraquinones

#### I.3.2. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose [47,48]. Représentant un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures.



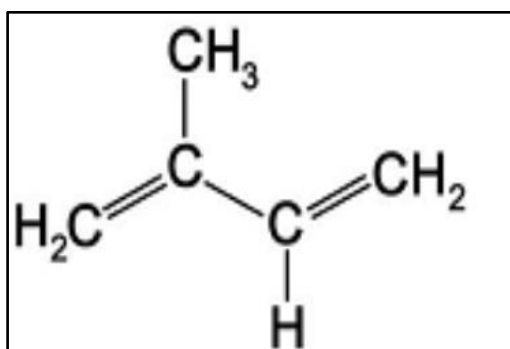


**Figure I.9 :** Quelques structures d'alcaloïdes

### I.3.3. Les terpènes

Les terpènes (Terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. Ils sont d'origine végétale et constituent la source odoriférante des plantes, cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15 et 20 atomes de carbone. Les extraits de ces molécules sont employés comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Nombre d'entre eux possèdent des propriétés antiseptiques [49].

Du point de vue structural, Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène  $C_5H_8$  et ont formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire  $(C_5H_8)_n$  [50]. Ces substances organiques font partie des métabolites secondaires, les plus répandus dans la nature [51]. En effet, plus de 36.000 structures différentes ont été identifiées [52].



**Figure I.10 :** La structure de base des terpènes (isoprène)

### I.3.4. Stéroïdes, stérol

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques. Ils sont synthétisés à partir d'un triterpène acyclique, la squalène. Bien qu'ils soient généralement modifiés et qu'ils possèdent moins de 30 atomes de carbone. Les stéroïdes qui possèdent un groupement alcool, ce qui est le cas chez pratiquement toutes plantes, sont appelés stérols. Les stérols les plus abondants chez les plantes

sont le stigmastérol et le sitostérol (figure I.11) [45].

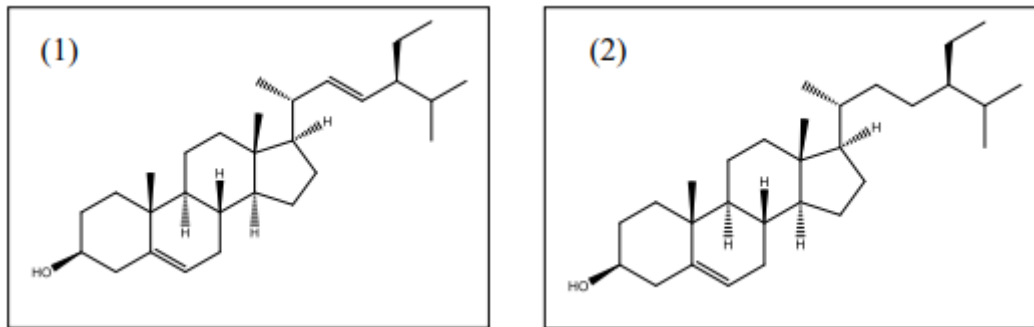


Figure I.11 : Structure de stigmastérol (1) et le sitostérol (2)

### I. 3.5. Les saponines

Les saponines ou saponosides sont un groupe de métabolites secondaires, abondamment trouvés dans certaines familles du règne végétal. Ils sont principalement produits par les plantes supérieures, mais aussi par des animaux marins inférieurs et quelques bactéries. Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau. Ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé qui se composent d'une partie lipophile, l'aglycone (ou génine) et d'une partie hydrophile osidique (figure I.12). Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse [53,54]. La partie aglycone (sapogénine) est constituée d'un noyau stéroïdique ou triterpénique [55].

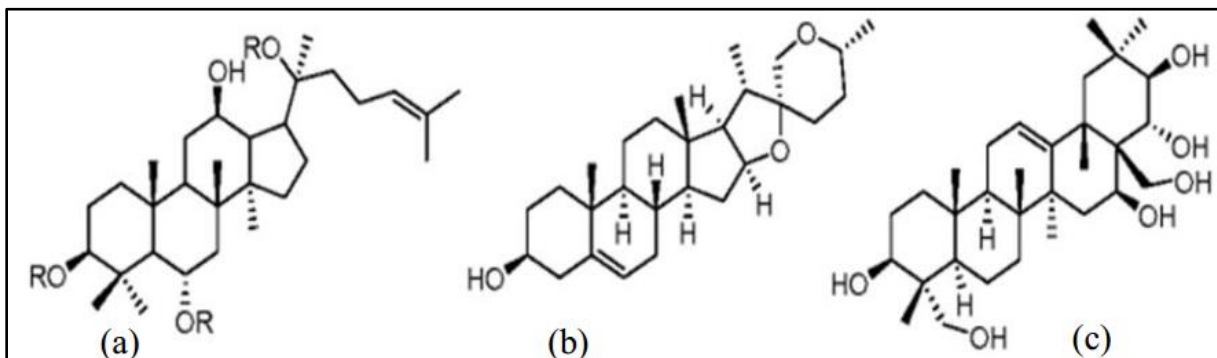


Figure I.12: Structures des saponines. (a) Ginsenoside, (b) Diosgenin, (c) Gymnemagenin

## **I.4. Les activités biologiques**

### **I.4.1. L'activité antioxydante**

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire [56].

#### **I.4.1.1. Les radicaux libres**

Un radical libre est une entité chimique (atome ou molécule), possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche périphérique. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano- à la milliseconde) [57].

#### **I.4.1.2. Les antioxydants**

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ERO (espèces réactives de l'oxygène). Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule [58].

#### **I.4.1.3. Classification des antioxydants**

##### **I.4.1.3.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques)**

Il s'agit d'enzymes ou de protéines antioxydantes telles que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, qui sont synthétisées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. [59,60].

##### **I.4.1.3.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)**

Les antioxydants exogènes sont largement intégrés aux aliments sous forme d'additifs pour prévenir la rancidité, en raison de leur efficacité, de leur coût abordable et de leur disponibilité. Diverses substances ont été proposées pour agir en tant qu'antioxydants in vivo, parmi

lesquelles on trouve la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes et les composés phénoliques. [61].

#### **I.4.1.3.3. Les antioxydants synthétiques**

Les antioxydants de synthèse les plus connus sont les composés phénoliques le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT), ainsi que le gallate de propyle et la tert-butylhydroquinone (TBHQ) [62].

#### **I.4.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante**

Actuellement, une variété de méthodes bio analytiques sont disponibles pour évaluer l'effet antioxydant des composés. Parmi celles-ci, le test d'élimination du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) est considéré comme la méthode la plus fiable, la plus populaire et la plus fréquemment utilisée pour déterminer la capacité antioxydante [63].

##### **I.4.1.4.1. Inhibition du radical stable DPPH :**

Le composé 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été découverte en 1922[64] a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [65], est une molécule stable soluble dans le méthanol caractérisée par sa couleur violet foncé (figure I.13) avec un maximum d'absorption à 515 nm [66], Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote [65], lorsqu'il est réduit par un antioxydant ou une espèce radicale (par un mécanisme combinant le transfert d'un atome d'hydrogène et le transfert d'électrons), la coloration devient incolore ou jaune pâle qui pourrait être facilement surveillée avec un spectrophotomètre.

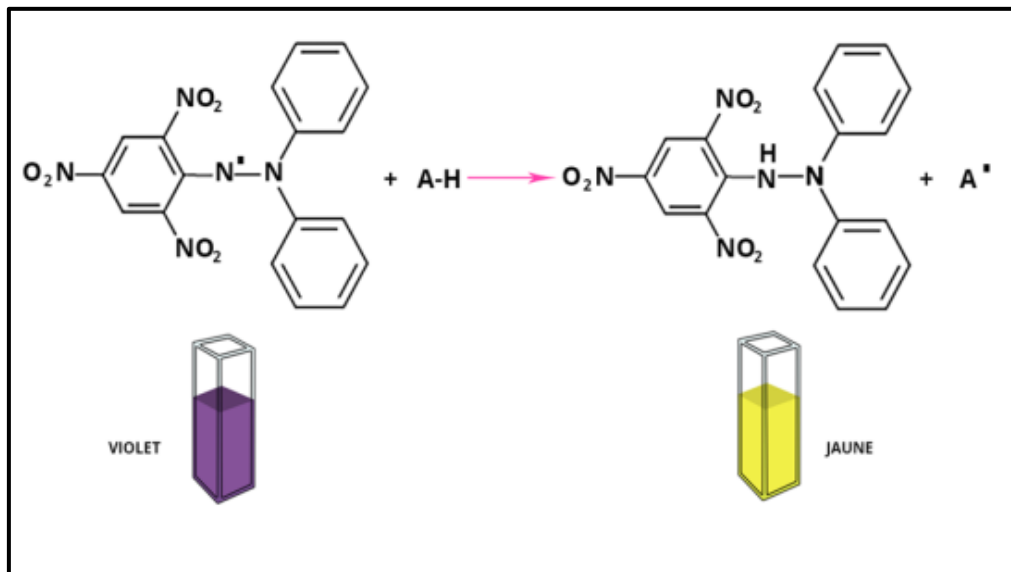


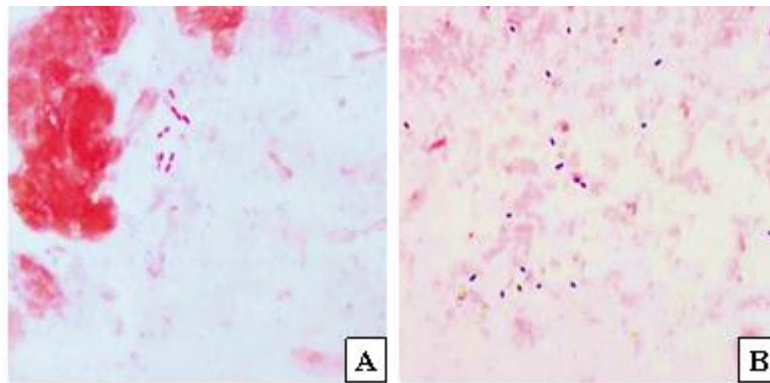
Figure I.13 : Équation du radical DPPH transformé en DPPH

## I.4.2. Activité antibactérienne

### I.4.2.1. Généralités sur les bactéries

Les bactéries sont des procaryotes unicellulaires présentes dans tous les environnements. La plupart d'entre eux ont des parois cellulaires glucidiques. Leur taille moyenne est de 0,5 à 2  $\mu\text{m}$  de large et 2 à 6  $\mu\text{m}$  de long, parfois même plus grande. Elles présentent sous plusieurs formes : coquilles (diplocoques, amas, streptocoques) bacilles (droits, incurvés spirales). Ces formes sont dues à la structure de la paroi du peptidoglycane et au mode de division propre à chaque espèce bactérienne [67].

Les bactéries sont classées comme Gram-positives ou Gram-négatives sur la base des caractéristiques de leur paroi cellulaire, telle qu'elle est observée au microscope après administration de colorants, une procédure appelée coloration de Gram, mise au point en 1882 par Hans Christian Gram (figure I.14). La plupart des bactéries, mais pas toutes, appartiennent à l'une de ces deux catégories. Sur le plan clinique, l'une des principales différences entre les organismes à Gram positif et à Gram négatif est que les bactéries à Gram négatif ont tendance à produire une endotoxine qui peut entraîner la destruction des tissus, un choc et la mort. Les deux classes de bactéries diffèrent également par leur sensibilité aux antibiotiques [68]



**Figure I.14** : Coloration de Gram de bactéries à Gram négatif (A) et à Gram positif (B) [68]

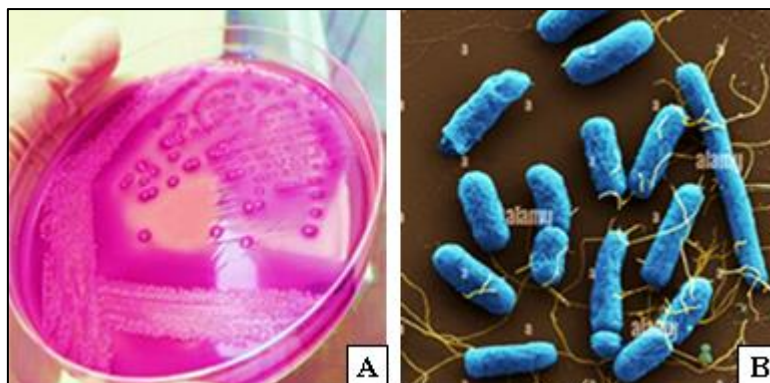
#### I.4.2.2. Caractéristiques des souches bactériennes testées

Les souches bactériennes qui feront l'objet de cette partie sont : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus spizizenii*

##### I.4.2.2.1. *Escherichia coli*

###### ✚ Caractère bactériologique

*Escherichia coli* est un bacille à gram négatif, radio résistant de la famille des *Enterobacteriaceae*, asporulé. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3  $\mu\text{m}$ ), pesant de 0,5 à 5 picogrammes. Il peut se déplacer au moyen de flagelles péritriches comme il peut être immobile (Figure I.15). Les bactéries se développent sur gélose Mac Conkey (les colonies, rouges ou incolores, atteignent un diamètre de 2 à 3 mm). Elles peuvent croître dans des conditions aérobies ou anaérobies [69].



**Figure I.15** : *Escherichia Coli* Macroscopique(A) ; microscopique(B) [70]

### ✚ Habitat

Les *Escherichia coli* ou colibacilles sont des hôtes normaux de l'intestin : ils représentent près de 80% de la flore intestinale aérobie de l'adulte (flore sous dominante, car la flore dominante est à 99% anaérobie). On peut les retrouver également au niveau de diverses muqueuses chez l'Homme et chez les animaux [71].

### ✚ Classification

Selon (Basavaraju, et Gunashree, 2022), *Escherichia coli* est classé comme suit [70] :

**Tableau I.2:** Classification d'*Escherichia coli*

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Embranchement</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	Gammaproteobacteria
<b>Ordre</b>	Enterobacterales
<b>Famille</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Escherichia coli (E. coli)</i>

### ✚ Pouvoir pathogène

*Escherichia coli* peut provoquer plusieurs types d'infections, il se manifeste par une gastroentérite, mais peut également provoquer des infections de plaies péritonites et des voies urinaires, des méningites et l'insuffisance rénale. *Escherichia coli* est aussi la cause fréquente de diarrhée du voyageur, qui peut se produire après avoir ingéré ou bu des aliments et de l'eau contaminés [72].

### ✚ Diagnostic

C'est un diagnostic bactériologique direct avec recherche du germe dans le sang, les urines et le liquide céphalo-rachidien. Après l'isolement initial du germe, une identification précise est effectuée, suivie d'une étude de sa sensibilité aux antibiotiques.

Dans le cas des selles, où la flore aérobie est principalement composée de colibacilles, la recherche de souches pathogènes spécifiques repose sur la détection d'antigènes particuliers chez les colibacilles entéro-pathogènes ou la recherche des colibacilles entéro-toxinogènes. Ces recherches sont basées sur des méthodes phénotypiques (caractérisation des adhésines et les

toxines), ou sur des méthodes génotypiques, telles que la détection des gènes d'intérêt par hybridation avec des sondes spécifiques ou par PCR.

Dans le contexte des infections urinaires, il a été proposé de mettre en évidence des anticorps sériques et de rechercher des anticorps fixés sur les bactéries urinaires afin de distinguer les infections localisées dans les voies urinaires supérieures ou inférieures. Cependant, ces techniques nécessitent une interprétation délicate [73,74].

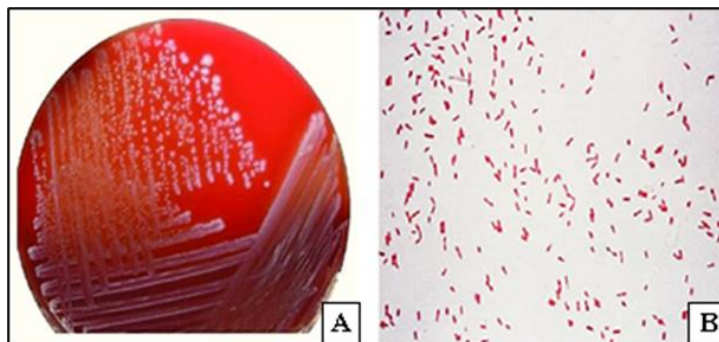
#### ✚ Traitement

Les maladies causées par les *E. coli* sont souvent liées à une hygiène insuffisante, mais des mesures préventives efficaces peuvent aider à les éviter. Le diagnostic bactériologique est rarement nécessaire car le typage des *E. coli* prend trop de temps par rapport à la durée courte des diarrhées aiguës. Pour les infections en dehors de l'intestin, les cultures peuvent être utiles. Le traitement antibiotique n'est recommandé que dans les cas graves, en particulier pour les infections extra-intestinales [75].

#### I.4.2.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

##### ✚ Caractère bactériologique

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie Gram-négative du genre *Pseudomonas*. Les souches de cette espèce sont constituées de bacilles de 0,5 à 0,8  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1,5 à 3,0  $\mu\text{m}$  de longueur, se présentant de manière isolée ou groupée par deux ou en courtes chaînes, très mobiles grâce à une flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvue de spores et de capsules (Figure I.16). Elles apparaissent la plupart du temps isolées ou en diplobacilles [76].



**Figure I.16 :** *Pseudomonas aeruginosa* macroscopique(A) [77] microscopique(B) [78]



### ✚ Habitat

*Pseudomonas aeruginosa* est un germe ubiquitaire très répandu dans l'environnement. C'est un saprophyte du sol et des milieux humides ; elle peut survivre dans l'eau distillée ou salée. Elle peut vivre sur les végétaux qui sont la source de contamination humaine et animale. En milieu hospitalier *P. aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du malade. Cette bactérie peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée ; il est montré que le portage augmente avec la durée d'hospitalisation [79].

### ✚ Classification

La classification de *Pseudomonas aeruginosa* est comme suivant [80] :

**Tableau I.3** : Classification de *Pseudomonas aeruginosa*

<b>Règne</b>	Bacteri
<b>Embranchement</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	Gammaproteobacteria
<b>Ordre</b>	Pseudomonadales
<b>Famille</b>	Pseudomonadaceae
<b>Genre</b>	<i>Pseudomonas</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

### ✚ Pouvoir pathogène

Les formes de pathologie qu'elle engendre sont diverses : infection de l'œil, des plaies telles que les brûlures et les plaies opératoires, des infections urinaires gastro-intestinales et des poumons [81].

### ✚ Diagnostic

Le diagnostic des infections à *Pseudomonas* repose sur l'isolement du microorganisme à partir du siège de l'infection : du sang, des lésions cutanées, des liquides de drainage, de l'urine, du liquide céphalorachidien ou de l'œil. Des antibiogrammes sont également pratiqués [82].

### ✚ Traitement

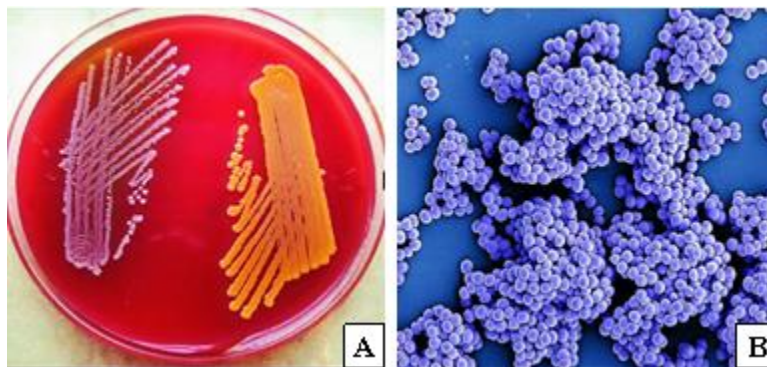
Les antibiotiques qui peuvent être utilisés pour traiter les infections à *P. aeruginosa* sont les suivants les aminosides, les acyluréidopénicillines, les carboxylpénicillines, les céphalospo-

rines du groupe 3b et les carbapénèmes. L'association d'un aminoglycoside et d'une bétalactamine est indiquée dans les infections graves. Des tests de sensibilité sont nécessaires en raison de la résistance fréquente [83].

#### I.4.2.2.3. *Staphylococcus aureus*

##### + Caractère bactériologique

*Staphylococcus aureus* est une cocci bactérie Gram positif, aéro-anaérobies facultatifs appartenant à la famille des Staphylococcaceae [84,85]. Elle a un diamètre d'environ 0,5 à 1,5  $\mu\text{m}$ , immobile, asporulé ; et habituellement disposé en grappes (Figure I.17).



**Figure I.17 :** *Staphylococcus aureus* macroscopique(A); microscopique(B)[86]

##### + Habitat

Chez l'humain, on peut retrouver *Staphylococcus aureus* au niveau du nez, des aisselles ou en encore dans le système gastro-intestinal. Le nez est la principale région anatomique colonisée chez l'humain [87].

##### + Classification

La position systématique de *Staphylococcus aureus* est comme suivant [88]

Tableau I.4 : Classification de *Staphylococcus aureus*

<b>Règne</b>	Bacteria ou Eubacteria.
<b>Embranchement</b>	Firmicutes.
<b>Classe</b>	Bacilli.
<b>Ordre</b>	Bacillales.
<b>Famille</b>	Staphylococcaceae
<b>Genre</b>	Staphylococcus.
<b>Espèce</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

#### ✚ Pouvoir pathogène

*Staphylococcus aureus* est un pathogène opportuniste qui peut causer diverses maladies chez les humains, allant des affections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles [85]. Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines [89]. L'intoxication alimentaire par les staphylocoques se caractérise par une apparition brutale de nausées, vomissements, douleurs abdominales, crampes et de diarrhée [85-89]. Les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures.

#### ✚ Diagnostic

Pour ce faire, il est nécessaire d'identifier les pathogènes au microscope et par culture. La détection de la coagulase plasmatique et/ou du facteur d'agglutination permet de différencier *S. aureus* des espèces à coagulase négative. Les entérotoxines et le TSST-1 (toxic shock syndrome toxin-1) peuvent être détectés au moyen de méthodes immunologiques et de biologie moléculaire (laboratoires spécialisés) [83].

#### ✚ Traitement

*Staphylococcus aureus* est une bactérie qui peut causer des infections graves chez l'homme. Le traitement de ces infections dépend de plusieurs facteurs, notamment la localisation de l'infection, la gravité de la maladie, et la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques. Pour les infections cutanées mineures telles que les boutons, les furoncles et des abcès peuvent souvent être traitées avec des antibiotiques topiques. Des antibiotiques oraux ou intraveineux peuvent être nécessaires pour les infections plus graves telles que la pneumonie ou les septicémies. Dû à la résistance de la majorité des souches de *S. aureus* à la pénicilline, sa recommandation est devenue restreint. Suivant sont présentés quelque antibiotique à usage efficace : la clindamycine

et la doxycycline pour des Infections de la peau et des tissus mous et la vancomycine et la daptomycine en cas d'infections profondes (Bactériémie, pneumonie) [90].

#### I.4.2.2.4. *Bacillus subtilis*

##### ✚ Caractère bactériologique

*Bacillus subtilis*, connu aussi comme le bacille du foin ou le bacille de l'herbe, est une bactérie Gram-positif, catalase-positif, c'est surtout une espèce ubiquitaire. Sa longueur varie de 2 à 4  $\mu\text{m}$  et sa largeur de 0,5 à 2  $\mu\text{m}$ . Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Elle est aérobic stricte, sa température optimale est de 40 °C trouvée dans le sol. Peut former une endospore dure protectrice, classé comme un aérobic obligatoir [91].

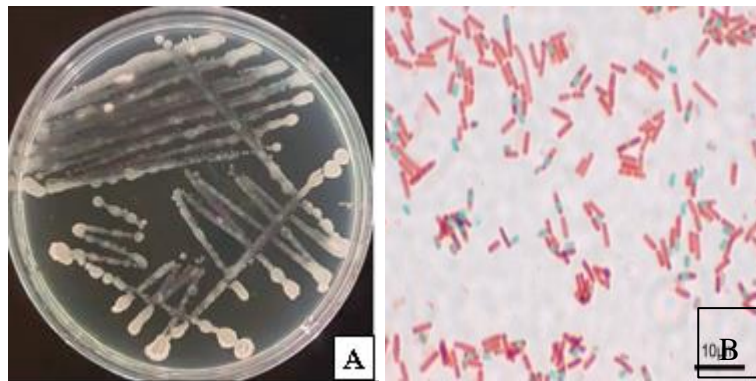


Figure I.18 : *Bacillus* macroscopique(A)[92]; microscopique(B) [91]

##### ✚ Habitat

Les *Bacillus subtilis* sont des germes ubiquitaires de l'environnement car leurs spores leur confèrent une grande résistance. On en trouve dans le sol qui constituent le principal réservoir, dans l'eau de mer et sur les plantes, insectes, animaux, et de l'air [93].

##### ✚ Classification

La position systématique *Bacillus subtilis* est comme suivant [94] :

Tableau I.5 : Classification de *Bacillus subtilis*

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Phylum</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Bacillaceae
<b>Genre</b>	<i>Bacillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Bacillus subtilis</i>

### ✚ Pouvoir pathogène

Le genre *Bacillus* regroupe des bactéries responsables de pathologies variées chez les animaux et les humains.

-*Bacillus anthracis* est l'espèce la plus pathogène, responsable du "charbon" qui atteint les animaux, mammifères (ovins, caprins), certains oiseaux (autruches, canards), des insectes et leurs larves et occasionnellement l'homme.

-*Bacillus cereus* occasionne des intoxications alimentaires chez l'homme, mais aussi chez l'animal, ce sont les avortements et les mammites qui dominent.

-*Bacillus subtilis*, *licheniformis*, *sphaericus* sont également impliqués au cours d'intoxications alimentaires [95].

### ✚ Diagnostic

Le diagnostic de *Bacillus* peut être réalisé à l'aide de diverses méthodes microbiologiques et moléculaires, telles que l'observation microscopique, les tests biochimiques, la PCR (réaction de polymérisation en chaîne), et le séquençage de l'ADN [96].

### ✚ Traitement

Le traitement d'une infection à *Bacillus subtilis* dépend de la gravité de l'infection et du site infecté. Les infections bénignes peuvent ne nécessiter aucun traitement et guérir d'elles-mêmes. Les infections plus graves, en revanche, peuvent nécessiter un traitement antibiotique comme pénicilline, ampicilline, céphalosporines, vancomycine et tétracyclines.

Le choix de l'antibiotique et la durée du traitement seront déterminés par le médecin en fonction de la gravité de l'infection et de l'état de santé du patient [97].

### I.4.3. Activité antifongique

#### I.4.3.1. Généralités sur Champignons

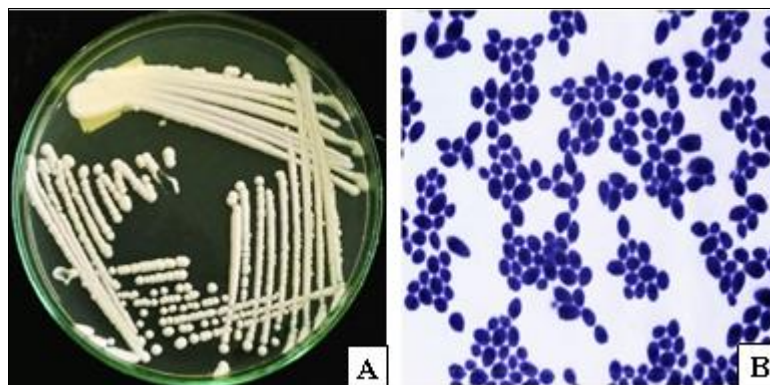
Les champignons, appelés aussi mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes), d'aspect filamenteux ou levuriforme. Cosmopolites, ils sont trouvés partout dans la nature. Ils jouent un rôle essentiel de recyclage des matières organiques en puisant leur énergie à partir des sources carbonées externes (hétérotrophie) [98]. Dans la classification du monde du vivant, les champignons constituent aussi un règne à part, distinct de celui de plantes ou des animaux. Leur particularité morphologique est d'être étroitement liée à leur substrat nutritif grâce à un réseau mycélien très développé [98].

#### I.4.3.2. Caractéristiques des Champignons étudiés

##### I.4.3.2.1. *Candida albican*

###### ✚ Caractère morphologique

*Candida albicans* est une levure naturellement présente chez l'homme, elle est responsable de nombreuses infections. Les levures du genre *Candida* se présentent sous forme de blastospores (blastoconidies). Ce sont de petites cellules de 2 à 5  $\mu\text{m}$  par 3 à 7  $\mu\text{m}$ , globulaires, ovoïdes ou cylindriques. Apparaissent macroscopiquement sous forme de colonies blanches à crémeuses de 1 à 3 mm. Leur texture peut être pâteuse, lisse, brillante, à bord régulière [99]. Le génome du *C. albicans* représente 16 Mb pour -6500 gènes répartis sur 8 paires de chromosomes homologues. Dans certaines conditions de culture chez *C. albicans* on peut voir apparaître sur les filaments mycéliens, de grosses spores, rondes ou ovales, à paroi épaisse, de 6 à 12  $\mu\text{m}$  de diamètre : ce sont des chlamydoconidies [100].



**Figure I.19:** *Candida albicans* macroscopique(A)[101] ; microscopique(B) [102]

### ✚ Habitat

*Candida albicans* est une levure ovoïde cosmopolite. Chez l'homme, elle est rencontrée en nombre limité comme commensal des muqueuses de la bouche, du pharynx, des intestins et du vagin. *C. albicans* n'est présent que sporadiquement dans l'environnement (sol, fruit, légumes, etc.) [103].

### ✚ Classification

La position systématique de *Candida albicans* est comme suivant [104].

**Tableau I.6 :** Position systématique de *Candida albicans*

<b>Règne</b>	Fungi
<b>Division</b>	Ascomycètes
<b>Classe</b>	Saccharomycètes
<b>Ordre</b>	Saccharomycétales
<b>Famille</b>	Cryptococoidae
<b>Genre</b>	<i>Candida</i>
<b>Espèce</b>	<i>Candida albicans</i>

### ✚ Pouvoir pathogène

Le principal agent pathogène est *Candida albicans* responsable d'infections superficielles aussi bien que systémiques. Ces dernières ne sont souvent que chez des individus immunodéprimés. Il fait partie de la flore normale de l'intestin, les infections superficielles comprennent le muguet (sur la muqueuse buccale), des vulvo-vaginites. La pathogénicité de *Candida albicans* est liée à la phase filamenteuse. Cette levure peut provoquer des infections du vagin, de la bouche ou des poumons [105].

### ✚ Diagnostic

Le diagnostic de *Candida albicans* est principalement basé sur :

- **Examen microscopique :** Un prélèvement de sang ou d'un autre tissu infecté est analysé au microscope pour identifier les champignons *Candida*.
- **Cultures en laboratoire :** L'échantillon de sang ou de tissu est mis en culture en laboratoire afin de faire proliférer les champignons *Candida*, permettant leur identification précise.

- **Test T2 Candida Panel** : Ce test sanguin permet de détecter rapidement et précisément la présence de Candida dans le sang.
- **PCR (amplification en chaîne par polymérase)** : Cette technique amplifie l'ADN des champignons Candida, facilitant leur identification [106].

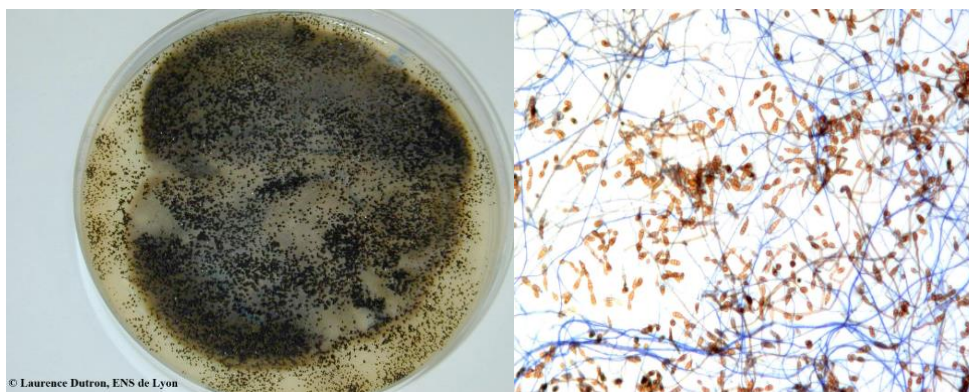
#### ✚ Traitement

Si la candidose est limitée à la peau, à la bouche ou au vagin, elle peut être traitée par des antifongiques appliqués directement sur la zone touchée (comme le clotrimazole et la nystatine). Le médecin peut aussi prescrire un antifongique, le fluconazole par voie orale. En cas d'infection de l'œsophage, les médecins prescrivent des médicaments antifongiques (tels que fluconazole ou itraconazole) par voie orale. Si ces médicaments sont inefficaces ou si l'infection est sévère, d'autres antifongiques sont utilisés [106].

#### I.4.3.2.2. *Alternaria alternata*

##### ✚ Caractère morphologique

*Alternaria alternata* se développe en colonies noires et duveteuses avec une texture épaisse sur milieu MEA à 30°C. Ses hyphes mycéliens longs peuvent être observés après coloration au bleu coton lactique. Les conidies, structures reproductrices, sont brunes, ovoïdes ou elliptiques et possèdent souvent un bec conique à cylindrique. Ces spores asexuées pluricellulaires, divisées par des cloisons, se forment en chaînes à l'extrémité de conidiophores marron, lisses et parfois ramifiés. Les conidies émergent en chaînes simples ou ramifiées, pouvant se séparer et se disperser [107].



**Figure I.20:** *Alternaria alternata* macroscopique et microscopique [107]



### ✚ Habitat

Cette espèce a été isolée de substrats et habitats divers, entre autres : audiovisuel ; bois ; caoutchouc ; matières synthétiques ; papier ; plantes ; produits alimentaires (fruits, légumes, céréales, noix...) ; sol ; textile (coton, jute, laine). *Alternaria alternata* est également très fréquent. Sa croissance a été mise en évidence sur de nombreux substrats. Plus de 50 % des prélèvements de poussières de matelas de logements humides en contiennent [108].

### ✚ Classification

La position systématique de *Alternaria alternata* est comme suivant : [109].

**Tableau I.7** : Position systématique de *Alternaria alternata*

<b>Règne</b>	Champignons
<b>Division</b>	Ascomycota
<b>Classe</b>	Euascomycetes
<b>Ordre</b>	Pleosporales
<b>Famille</b>	Pleosporaceae
<b>Genre</b>	<i>Alternaria</i>
<b>Espèce</b>	<i>Alternaria alternata</i>

### ✚ Pouvoir pathogène

*Alternaria alternata* est une espèce toxique et pathogène. Elle peut provoquer chez l'Homme des affections épidermiques, des allergies respiratoires, de l'asthme, des leucopénies (dus aux mycotoxines), des mycoses cutanées et des rhinites. Chez les végétaux, il se présente comme un champignon phytopathogène provoquant divers symptômes, tâches noires, pourriture, rouille, etc. sur les différents organes de la plante [108].

### ✚ Diagnostic

*Alternaria alternata* est un champignon ubiquiste qui peut provoquer des maladies chez les plantes et des allergies chez l'homme. Les symptômes d'une infection par *Alternaria alternata* sur les plantes varient en fonction de l'espèce végétale affectée, les plus courants incluent des taches foliaires brunes ou noires, des lésions sur les tiges et les fruits, et une flétrissure des feuilles. Le diagnostic peut être confirmé par un examen microscopique des lésions ou par des tests ADN. Alors que Les allergies à *Alternaria alternata* chez l'humain peuvent provoquer des symptômes respiratoires tels que la rhinite allergique, l'asthme et la pneumopathie allergique

extrinsèque. Le diagnostic repose sur les symptômes du patient et sur des tests cutanés ou des tests sanguins d'allergie [110].

 **Traitement**

**Chez les plantes :**

- Le traitement des infections par *Alternaria alternata* chez les plantes dépend de l'espèce végétale affectée et de la gravité de l'infection.
- Les options de traitement peuvent inclure l'utilisation de fongicides, l'élimination des plantes infectées et l'amélioration de la circulation de l'air et du drainage.

**Chez l'homme :**

- Le traitement des allergies à *Alternaria alternata* vise à soulager les symptômes et à prévenir de nouvelles expositions au champignon.
- Les options de traitement peuvent inclure des médicaments antihistaminiques, des corticostéroïdes et des modificateurs de leucotriènes.
- L'immunothérapie peut également être efficace pour certains patients [111].

# *Chapitre II*

## **Matériels et méthodes**

Ce chapitre est basé sur l'étude de la composition chimique des parties aériennes de l'espèce du genre *Senecio* à savoir les tests chromatographiques sur plaques CCM, le screening phytochimique, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits de cette plante

Tout cela a été réalisé au sein de l'unité de recherche VARENBIOMOL de la faculté des sciences exactes (Université Constantine 1), sauf que l'étude du pouvoir antimicrobien a été réalisée au laboratoire de microbiologie de la faculté de la science de la nature et de la vie SNV de l'université Constantine 1.

## **II.1. Étude phytochimique d'une espèce du genre *Senecio***

### **II.1.1 Les critères de choix du matériel végétal**

Les critères de choix reposent essentiellement sur :

- Les espèces de ce genre sont connues par la richesse et la diversité en métabolites secondaires de types alcaloïdes pyrrolizidiniques (APs), flavoniques et lactones sesquiterpéniques, elles sont réputées par plusieurs activités biologiques [112,113].
- L'endémisme de cette espèce pour l'Algérie.
- Que la plante n'ait fait objet d'aucune étude phytochimique ni biologique auparavant.

### **II.1.2. Récolte du matériel végétal**

Le matériel végétal a été récolté dans sa période de la floraison durant le mois d'avril 2017 dans la région de Béchar., La détermination botanique de cette espèce a été réalisée par le Mohamed Benabdelhakem, directeur de l'agence de préservation de la nature, Béchar. Un spécimen (SM/VAR/ 04-17). A été déposé dans l'herbier de l'unité de recherche VARENBIOMOL, Université des Frères Mentouri, Constantine dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires.

### **II.1.3. Préparation des extraits végétaux**

Il existe plusieurs techniques pour extraire les produits d'une plante. Nous avons adopté pour l'ensemble de nos extractions la méthode la plus couramment utilisée soit la macération dans une solution à polarité croissante, en l'occurrence le mélange méthanol -eau. Ainsi, 1300g des parties aériennes de la plante sèche sont coupées en petits morceaux, et mises à macérer dans un mélange méthanol /eau (7 :3) pendant trois jours, cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. Après concentration à une température n'excédant pas 38°C,

nous avons obtenu un résidu sirupeux, ce dernier est dilué avec l'eau distillée. La solution ainsi obtenue est laissée au repos à froid pendant une nuit pour décantation. Cette dernière permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable, etc. Après filtration on obtient une solution aqueuse. Cette phase aqueuse subit une extraction de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, puis le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. Les phases organiques récupérées sont séchées par le Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre pour éliminer toute trace d'eau, ensuite filtrées, et enfin concentrées sous pression réduite à sec et pesées afin de calculer le rendement d'extraction.

**Macération****Filtration****Evaporation****Figure II.1:** les étapes d'extraction

Les différentes étapes de cette extraction sont récapitulées dans le schéma II.1

### ➤ Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait obtenu et le poids initial de la plante utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{M}{M_0} \times 100$$

Avec :

R : le rendement exprimé en pourcentage (%).

M : la masse de l'extrait sec en gramme.

M<sub>0</sub> : la masse de matière végétale initial utilisé pour l'extraction en gramme.

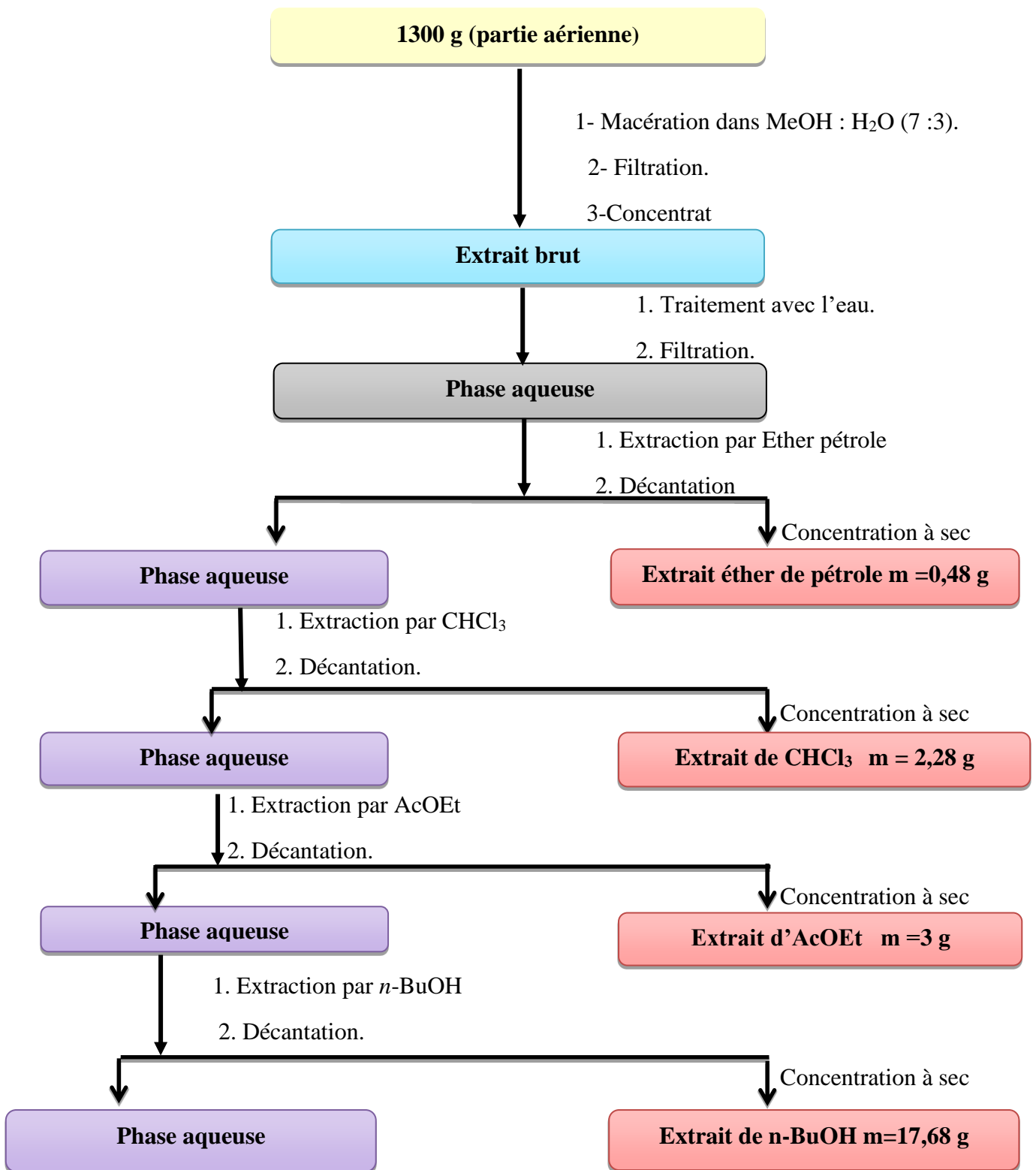
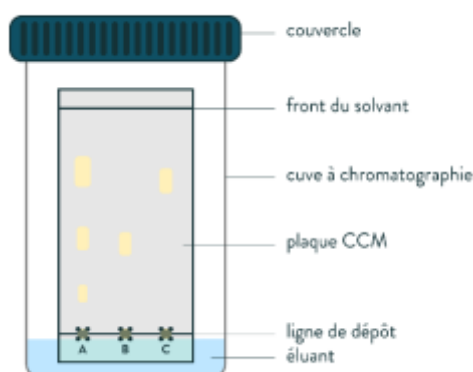


Schéma II.1: Protocole de l'extraction de l'espèce du genre *Senecio*

#### II.1.4. Test chromatographique sur les différents extraits sur couche mince

- **Principe**

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvants, adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu polyphénolique et/ou flavonique de l'extrait [114].



**Figure II.2:** Chromatographie sur couche mince.

Les différents extraits (EP,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt et *n*-BuOH) ont subi un test chromatographique sur couche mince de gel de silice déposée sur une feuille d'Aluminium, éluées par plusieurs systèmes afin d'avoir une idée sur la richesse en produits de ces extraits et de sélectionner le meilleur système de séparation.

#### II.1.5. Screening chimique

Le test phytochimique réalisé sur l'espèce du genre *Senecio* est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence les substances bioactives (les métabolites secondaires) de cette plante basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation.

##### II.1.5.1. Test des flavonoïdes

➤ **Test de Shinoda**

Une petite quantité de l'extrait a été dissoute dans 5 ml d'éthanol à 95%(v/v) puis traitée avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique HCl concentré et 0.5g de coupeau de magnésium.

L'apparition d'une couleur rose ou magenta en 1 ou 2 min indique la présence des flavonoïdes [115].

#### II.1.5.2. Test des saponosides

##### ➤ Test à la mousse

Pour rechercher les saponosides, nous avons versé, dans un tube à essai, 10 ml de l'extrait total aqueux. Le tube a été agité pendant 15 s puis laissé au repos durant 15 min. La présence d'une mousse persistante indique la présence de saponosides [116].

#### II.1.5.3. Test des alcaloïdes

##### ➤ Test de Wagner

Quelques mg d'extrait sont dissouts dans 5ml de HCl (1.5%) puis filtré. Le filtrat est ensuite traité avec le réactif de Wagner (1,7 g d'iode avec 2 g d'iodure de potassium sont dissous dans 5ml d'eau et complétés avec l'eau jusqu'à l'obtention de 100 ml de solution). La formation d'un précipité brun indique la présence d'alcaloïdes [117].

#### II.1.5.4. Test des tannins

Les tannins sont des polymères de polyphénols. Ils sont subdivisés en tannoïdes (tannins hydrolysables) et tannins vrais (tannins non hydrolysables ou condensés). Quelques gouttes d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 2% ont été ajoutées à 2 ml de chaque extrait. La formation d'une coloration bleu-noir ou vert-noir indique la présence respective des tannoïdes ou des tannins vrais [118].

#### II.1.5.5. Test des anthraquinones

On a dissout quelques milligrammes de chaque extrait dans 1 ml du mélange éther de pétrole/chloroforme (1:1, v/v). On a traité la solution obtenue avec 1 ml de soude NaOH (10%). L'apparition de la couleur rouge indique la présence des anthraquinones [119].

#### II.1.5.6. Test des stérols

##### ➤ Test de Salkowski

La détection des stérols est fondée selon la réaction de Salkowski, Quelque mg de l'extrait est mis dans 2 ml de chloroforme, ensuite on ajoute 2 ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré dans le tube à essai. On le secoue et on le laisse quelques minutes L'apparition de la couleur rouge dans la couche chloroforme indique la présence des stérols [120].



### II.1.5.7. Test des terpènes

La mise en évidence des terpènes est fondée selon la réaction de Lieberman-Burchard. On a additionné à chaque extrait 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme, après dissolution, on a transféré les solutions dans des tubes à essai auxquels on a ajouté 1 ml d'acide sulfurique concentré. La réaction est effectuée à froid. La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, avec coloration de la couche du surnageant de vert ou de violet, traduit la présence des terpènes [121].

### II.1.5.8. Test des sucres

D'une manière générale, le terme sucre est souvent utilisé pour désigner les glucides ; par exemple, le glucose est qualifié de « sucre simple » et l'amidon de « sucre complexe » [122]. Dans un tube à essai, on a ajouté 1 ml du réactif de Fehling à 1 ml de l'extrait dissout dans 1 ml de Méthanol. On a incubé le mélange pendant 8 minutes dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres.

## II.2. Analyse quantitative des extraits

La détermination des composés phénoliques : polyphénols totaux et flavonoïdes totaux présents dans les différents extraits de la plante étudiée a été réalisée à l'aide d'un, spectrophotomètre UV-visible.

### II.2.1. Dosage des polyphénols totaux :

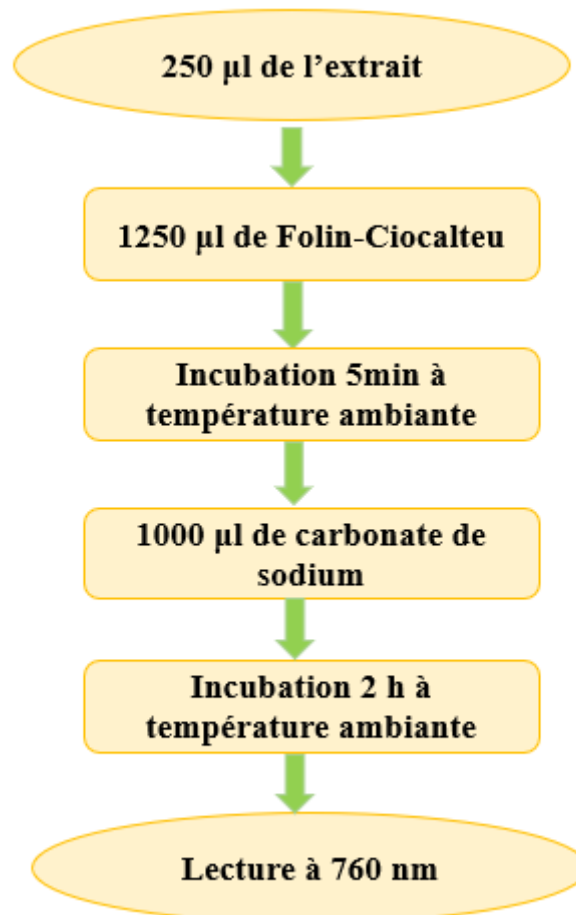
#### ➤ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode colorimétrique de Singleton *et al* [123]. Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés [124].

#### ➤ Protocole

Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 250 µl de chaque extrait (1mg/ml) a été mélangé avec 1250 µl de réactif Folin-Ciocalteu. Après 5 min, 1000 µl de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) sont additionnés. Les tubes sont agités et conservés pendant 2h à l'obscurité.

L'absorbance est lue à 765 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (5 - 500 µg/ml). Tous les tests ont été effectués en triplicatas et la concentration en contenu phénolique a été calculée et exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (GAE µg / mg d'extrait).



**Schéma II.2 :** Schéma récapitulatif du dosage des polyphénols totaux

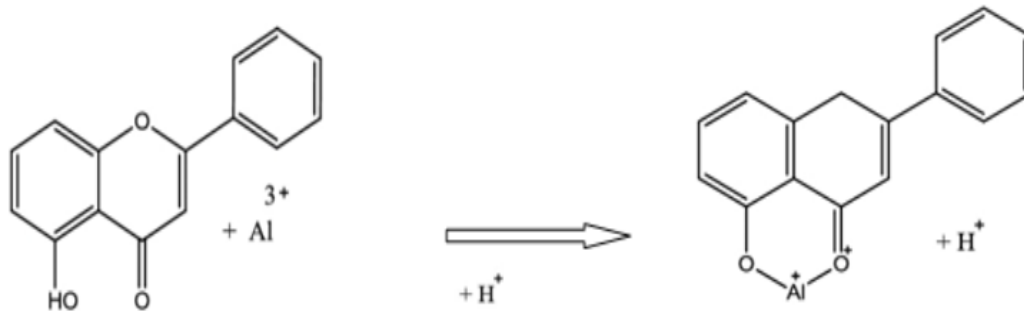
### II.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

#### ➤ Principe

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) citée par Djeridane *et al.* est utilisée pour quantifier le contenu en flavonoïdes dans nos extraits [125].

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (-OH) libre, en position 5 qui est susceptible de former avec son groupement -CO et le chlorure d'aluminium un complexe coloré. L'apparition de la couleur jaune indique la formation de ce complexe.

Ceci se traduit par le fait que le métal (Al) a perdu deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons [126]. La formule du complexe entre le chlorure d'aluminium et le composé phénolique est présentée par la figure II.3.



**Figure II. 3 :** Réaction entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes

Ce dernier présente une absorption maximale à 415nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présente dans l'échantillon.

#### ➤ Protocole

Pour un volume de 1 ml d'échantillon on ajoute 1 ml de la solution méthanolique d' $\text{AlCl}_3$  (2%). Après 1 heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 415nm. Le contenu flavonoïdes totaux a été calculé en  $\mu\text{g}$  d'équivalent de quercétine (QE) par mg d'extrait.

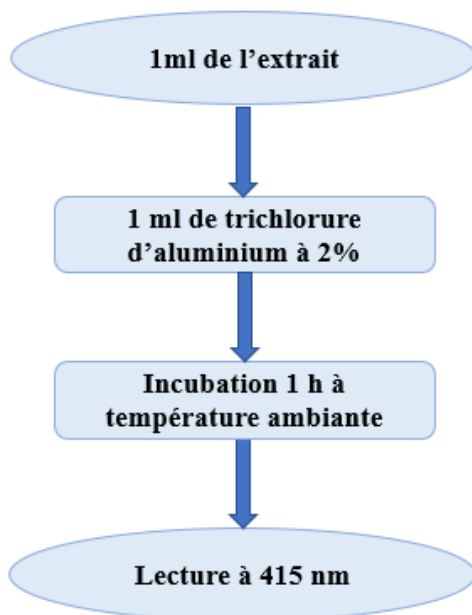


Schéma II.3 : Schéma récapitulatif du dosage des flavonoïdes totaux

## II.3. Evaluation des activités biologiques

### II.3.1 Evaluation de l'activité antioxydante

#### II.3.1.1. Test de réduction du radical DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été évalué in vitro par la méthode de DPPH (2,2 diphényl-2-picryl-hydrazyle) décrite par Blois [127].

##### ➤ Protocole

Un volume de 40  $\mu\text{L}$  de différentes concentrations de chaque échantillon testé est déposé sur une microplaque à 96 puits, de même pour les antioxydants standards BHA et BHT, puis on ajoute à chaque puits 160  $\mu\text{L}$  d'une solution méthanolique de DPPH (0,4 mM). Le contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 40  $\mu\text{L}$  du méthanol avec 160  $\mu\text{L}$  d'une solution méthanolique de DPPH. Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance a été mesurée à 517 nm en insérant la microplaque dans le spectrophotomètre. Le pourcentage de piégeage (l'inhibition) du radical DPPH est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Capacité de piégeage de DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

## II.3.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

### II.3.2.1. Matériels biologiques

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée sur quatre bactéries et deux champignons. Les souches bactériennes et fongiques proviennent du laboratoire de microbiologie de la faculté SNV de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1

- Les bactéries à gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus Spizizenii* ATCC 66 33).
- Les bactéries à gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 86 26, *Escherichia coli* NCTC 10.538).
- Les champignons : *Candida albicans* ATCC 10231, *Alternaria alternata*

### II.3.2.2. Stérilisation du matériel

Dans la partie microbiologique, il est essentiel de maintenir des conditions d'hygiène strictes et de respecter les protocoles d'asepsie et de stérilisation. Pour cette raison, nous avons enveloppé le matériel utilisé suivant, dans un papier aluminium, et le stérilisé dans un autoclave à 121°C : l'eau distillé, les pince, les embouts pour micro pipette, pipette pasteur, les tubes à essai utilisés pour la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman N°1 (6 mm de diamètre).

### II.3.2.3. Préparation des solutions des extraits

Les extraits ont été dissous dans le diméthyl-sulfoxyde (DMSO). 0,4g de chaque extrait a été dissout dans 1ml de DMSO. Ensuite une série de dilution par moitié a été réalisé pour avoir respectivement les concentrations : 400mg/ml, 200mg/ml, 100mg/ml et 50mg/ml.

### II.3.2.4. Préparation des disques

Les disques blancs stérile de 6mm de diamètre préalablement préparé ont été imprégnés à l'aide d'une micropipette avec 15 µl des différents extraits préparés précédemment à différentes concentrations (400 mg/ml, 200mg/ml, 100mg/ml, 50mg/ml).

Le DMSO a été utilisé comme témoin négatif. Tandis qu'une crème antifongique a été utilisée comme témoin positif pour les champignons et gentamicine pour les bactéries.



**Figure II.4 :** Témoin positif fongique et bactérienne

Les disques sont ensuite mis à sécher durant une nuit complète pour éliminer tout résidu de solvant susceptible d'altérer les résultats.

### II.3.2.5. Préparation des milieux de cultures

Les tests antibactériens ont été réalisés sur le milieu Mueller Hinton gélose et la gélose Sabouraud pour les tests antifongiques. Ces milieux gélosés sont fondus à l'autoclave à 121°C pendant 15 min et maintenu en surfusion. Ensuite ils sont repartis dans des boîtes de pétri stérile convenablement marqué et laisser refroidir à température ambiante avant d'être inoculer par les souches.



**Figure II.5 :** fondre les milieux de cultures dans le bain marie

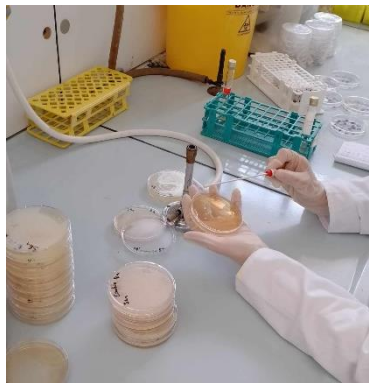
### II.3.2.6. Préparation de l'inoculum

Une culture préalable de 18 à 24h a été préparé à partir de chacune des suspensions des souches testées fourni afin d'obtenir des suspensions de culture jeune de chaque souche pour servir d'inoculum. Ces cultures jeunes ont été préparées dans le bouillon nutritif pour les bactéries et le bouillon Sabouraud pour *Candida albicans* ATCC 10231. Pour *Alternaria*

*alternata* une suspension sporale a été préparée pour servir d'inoculum. Cette dernière a été obtenue en ajoutant de l'eau physiologique à une culture mycélienne d'*Alternaria alternata* sur gélose Sabouraud.

### II.3.2.7. L'ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension microbienne, puis essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée (gélose Mueller Hinton pour les bactéries ; Sabouraud pour les champignons), de haut en bas en stries serrées.



**Figure II.6 :** l'ensemencement

### II.3.2.8. Dépôt des disques

Les disques préparés ont été placés délicatement à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. Une légère pression a été appliquée pour assurer un bon contact entre les disques et la gélose. Quatorze boîtes de Petri ont été ensemencées, deux pour chaque souche bactérienne, et chacune contenait quatre disques imprégnés de concentrations différentes d'extraits. Les deux boîtes restantes étaient utilisées, l'une comme témoin négatif et l'autre comme témoin positif.

### II.3.2.9. Incubation

Les souches bactériennes ont été incubées à 37°C pendant 18-24h. Les souches fongiques : *Candida albicans* ATCC 10231a été incubée à 30°C pendant 18-24h et *Alternaria alternata* à 30°C pendant 48h.



**Figure II.7 :** L'incubation des boites

#### **II.3.2.10. Lecture des résultats**

Les résultats sont lus par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques avec une règle graduée en cas de sensibilité.



# *Chapitre III*

## **Résultats et discussions**

Ce chapitre se divise en deux parties distinctes. La première partie concerne l'analyse phytochimique et la quantification des polyphénols et flavonoïdes totaux présents dans les extraits des parties aériennes de la plante du genre *Senecio*. La deuxième partie porte sur l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne de ces extraits.

### III.1. Étude phytochimique

#### III.1.1. Le rendement de macération

Le rendement est le rapport entre l'extrait sec obtenu après évaporation et la matière végétale, le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein et vide. Les résultats obtenus sont présents dans le tableau suivant :

**Tableau III.1** : Rendements de l'extraction des différents extraits

Extraits	Éther de pétrole	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-Butanol
Masse de la plante (g)	1300 g			
Masse de l'extrait (g)	0,48	2,28	3	17,68
Rendement %	0,037	0,175	0,231	1,36

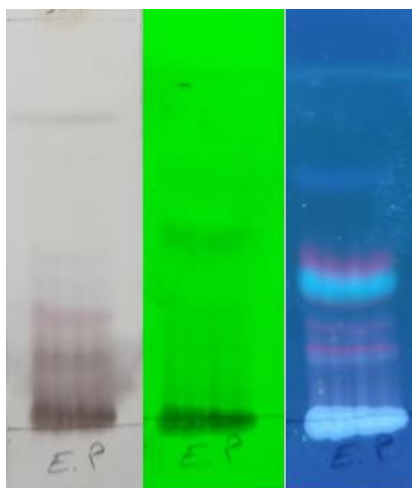
Les résultats obtenus montrent que l'extrait *n*-butanol présente le rendement le plus important qui est 1,36%. Alors que le plus minimum a été obtenu dans le cas de l'extrait éther de pétrole qui est de 0,037%.

Le rendement d'extraction des extraits végétaux peut varier en fonction de différents facteurs tels que l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, la richesse de chaque espèce en métabolites et la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou le fractionnement et de sa polarité [128]. Le changement des résultats d'un extrait à l'autre est principalement dû au solvant d'extraction utilisé, notamment les solvants polaires présentent de meilleur rendement d'extraction par rapport aux solvants moins polaire. La différence de polarité des solvants utilisés permet l'extraction d'une large gamme de métabolites secondaires [129].

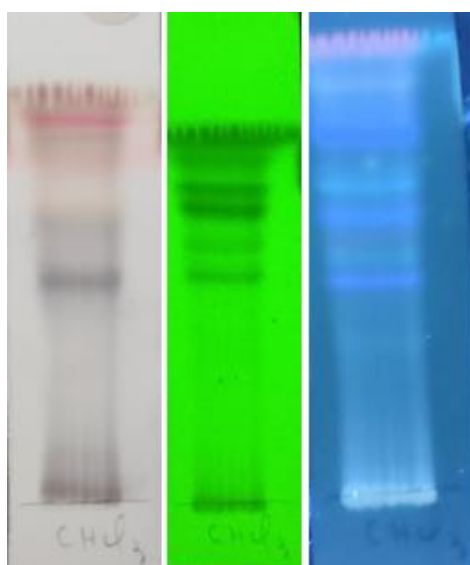
### III.1.2. Résultats de la Chromatographie sur couche mince (CCM)

Afin d'évaluer la richesse en composés de nos différents extraits, une chromatographie analytique sur couche mince (CCM) a été réalisée en utilisant plusieurs systèmes de solvants afin de sélectionner le meilleur système de séparation qui s'est avéré être le mélange ( $\text{CHCl}_3$  /Acétone, 10 : 0,1) pour l'extrait éther de pétrole, ( $\text{CHCl}_3$  /MeOH 9,5 :0,5) pour l'extrait chloroforme, ( $\text{CHCl}_3$ /MeOH 9 : 1) pour l'extrait acétate d'éthyle et (AcOEt / MeOH /eau 8 :1,5 :1) pour l'extrait *n*-BuOH

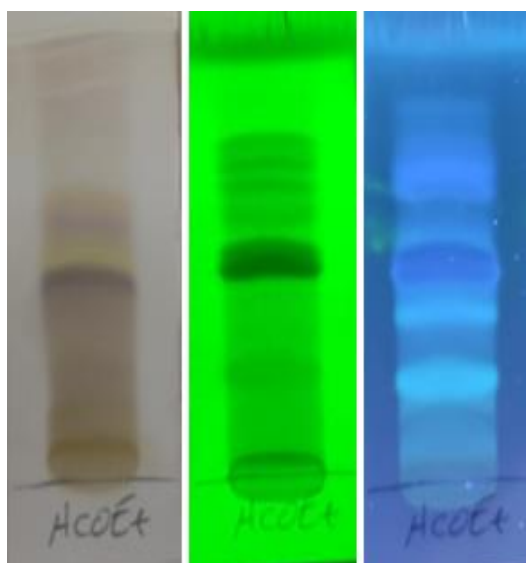
Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 nm) et (365nm) puis révélées avec de l'anisaldéhyde et chauffées à 100°C. Les figures suivantes (figure III.1, III.2, III.3 et III.4) montrent les résultats de cette analyse chromatographique.



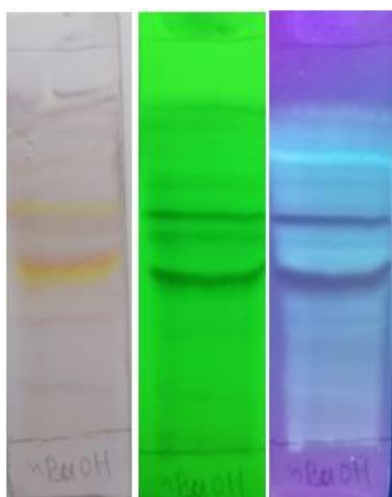
**Figure III.1 :** Plaque CCM de l'extrait éther de pétrole éluée dans le système  $\text{CHCl}_3$  (100%).



**Figure III.2 :** Plaque CCM de l'extrait chloroforme éluee dans le système  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH}$  (9,5 : 0,5)



**Figure III.3 :** Plaque CCM de l'extrait acétate d'éthyle éluee dans le système  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH}$  (9 : 1)



**Figure III.4 :** Plaque CCM de l'extrait *n*-butanol éluée dans le système AcOEt/MeOH/eau (8 :1,5,1)

L'analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) révèle une séparation claire des quatre extraits étudiés avec les systèmes choisis. Les profils chimiques des extraits d'éther de pétrole et de *n*-butanol se caractérisent par une faible teneur en composés naturels. En revanche, l'observation des plaques CCM de l'extrait *n*-butanol met en évidence la présence de composés de type flavonoïde. De plus, l'extrait acétate d'éthyle présente une intensité de spots plus élevée que l'extrait chloroforme.

### III.1.3. Screening phytochimique

Le screening phytochimique constitue une étape importante dans l'identification préliminaire des composés chimiques présents dans une plante. Cependant, il convient de noter que cette méthode ne permet pas de quantifier précisément les composés, mais plutôt de fournir une indication qualitative de leur présence.

Les résultats globaux du criblage chimique réalisés sur les extraits sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

Les résultats obtenus sont évalués comme suit :

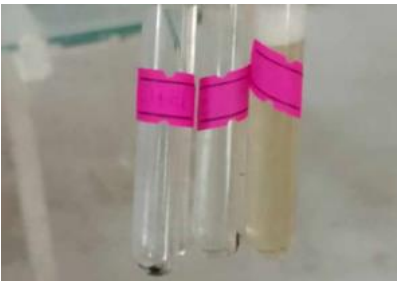

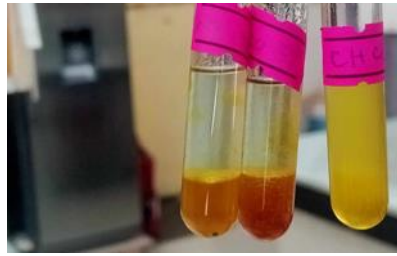


+++ : présence forte.

++ : présence Moyenne.

+ : présence faible.

- : présence nulle.

Tableau III. 2 : Résultats du criblage phytochimique des extraits

Test	CHCl <sub>3</sub>	AcOEt	<i>n</i> -BuOH	Résultats
Saponosides	-	++	+++	
Flavonoïdes	-	++	+++	
Anthraquinones	-	-	-	
Alcaloïdes	-	-	-	
Tanins	-	++	+++	

Stérols	-	-	-	
Sucres	-	-	-	
Terpènes	+++	+++	++	

L'analyse de ces résultats expérimentaux nous conduit aux conclusions suivantes :

- ❖ La présence importante des flavonoïdes, saponosides et les tanins dans les deux extraits acétate d'éthyle et n-butanol et l'absence totale dans l'extrait chloroformique.
- ❖ Une forte présence des terpènes dans les trois extraits.
- ❖ L'absence totale des alcaloïdes, anthraquinones, Stérols et les sucres dans tous les extraits.

L'étude complète des résultats du screening de l'espèce étudiée met en évidence la présence des composés chimiques qui possèdent des activités biologiques intéressantes. Il s'agit des composés polyphénoliques tels que les tanins, qui sont considérés comme des bons remèdes dans le traitement des maladies respiratoires et de la toux et qui possèdent des propriétés astringentes et antioxydantes [130], les flavonoïdes et les saponosides qui sont connus par leurs activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes [131,132].

Les terpènes qui constituent une classe variée de composés bioactifs connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, antiseptiques, antivirales, antifongiques et antiparasitaires [133].

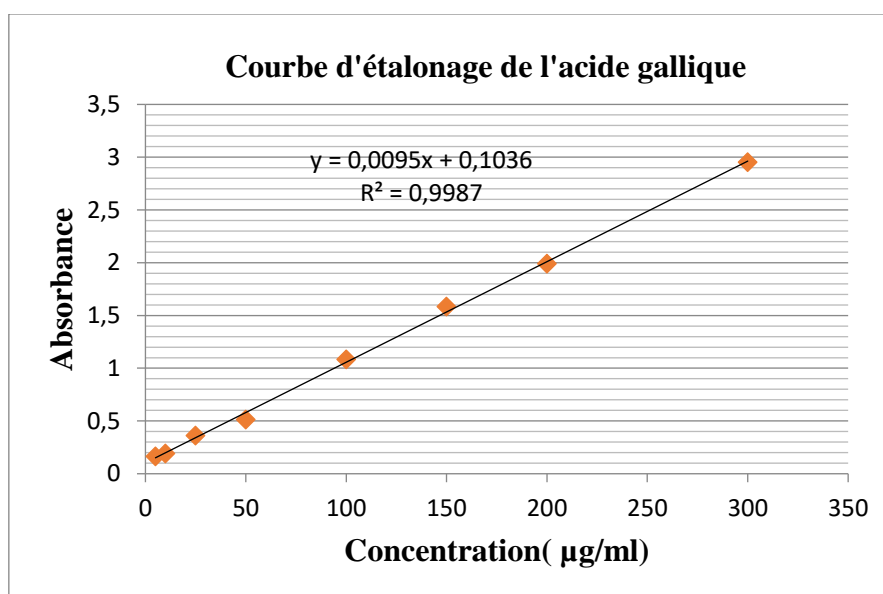
En comparant ces résultats avec la littérature, un profil assez similaire a été trouvé dans les extraits criblés de *Senecio cineraria* [134], *Senecio angulatus* [135]; et une légère différence a été observée dans les études précédentes sur le *Senecio biafrae* [136,137]. Il est intéressant de noter que les alcaloïdes de pyrrolizidine sont très spécifiques au genre *Senecio*, et qu'ils peuvent donc être des marqueurs chimiotaxonomiques. Malgré cela, nous avons remarqué l'absence d'alcaloïdes dans notre *Senecio*, ce qui est en contradiction avec les résultats rapportés par de nombreuses recherches [138,139] et cela peut être attribué à la partie et à la méthode utilisées pour l'extraction de ces substances ou à d'autres paramètres tels que les facteurs génétiques, le sol, les conditions météorologiques, l'origine et le stade de l'échantillon le jour de sa récolte.

### III.1.3. Résultats des dosages des polyphénols et des flavonoïdes

#### III.1.3.1. Résultats de dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits de la plante étudiée a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par mg d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique ( $y = 0,0095x + 0,1036$ ) avec  $R^2 = 0,9987$  (figure III.1).





**Figure III.5:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats concernant les quantités des polyphénols présents dans les extraits sont reportés dans les tableaux suivants :

**Tableau III.3 :** Taux des polyphénols totaux dans les extraits de l'espèce du genre *Senecio*

Extrait	Polyphénols totaux (µg EAG/mg d'extrait)
Chloroforme	104,12 ± 0,054
Acétate d'éthyle	421,86 ± 0,27
<i>n</i> -butanol	305,72 ± 0,58

D'après les résultats, nous pouvons constater que l'espèce étudiée présente une teneur importante en composés phénoliques pour l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait butanolique avec un taux plus élevé pour l'extrait acétate d'éthyle (421,86 ± 0,27 µg EAG/mg d'extrait), tandis que l'extrait chloroformique présente une faible teneur avec un taux de (104,12 ± 0,054 µg EAG/mg d'extrait).

Ces résultats sont largement supérieurs à ceux trouvés par Arab et al (2014) pour l'espèce *Senecio delphinifolius* ou la valeur des polyphénols calculé pour l'extrait acétate d'éthyle et de l'ordre de (22,29±1,41 µg EAG/mg d'extrait) et pour le *n*-butanol est (10,25± 8,94 µg EAG/mg d'extrait) [140].

Par ailleurs, la teneur en polyphénols des parties aérienne de *Senecio clivicolus* trouvée par Faraone *et al* (2018) pour les extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol sont faible par rapport a notre résultat, avec des teneurs de  $25,01 \pm 0,43$ ,  $170,11 \pm 1,49$  et  $82,50 \pm 1,49$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait respectivement [141].

Bousetla *et al.* (2021) a été trouvé que la teneur des polyphénols dans l'extrait acétate d'éthyle de la plante *Senecio angulatus* est plus élevé ( $587,77 \pm 25,48$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait) en comparaison à notre valeur, alors que l'extrait *n*-butanol est présente une faible quantité en teneur de polyphénols ( $159,37 \pm 0,44$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait) par rapport à notre extrait [134].

### II.1.3.2. Résultats de dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) en mesurant l'absorbance des extraits et de référence utilisée à 415 nm. Cette teneur est calculée par l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard ( $y = 0,0206x + 0,0458$  avec  $R^2 = 0,9965$ ) (figure III.2). Les valeurs obtenues sont exprimées en  $\mu\text{g}$  équivalent de quercétine par mg d'extrait ( $\mu\text{g}$  EQ/mg d'extrait) tableau III.4.

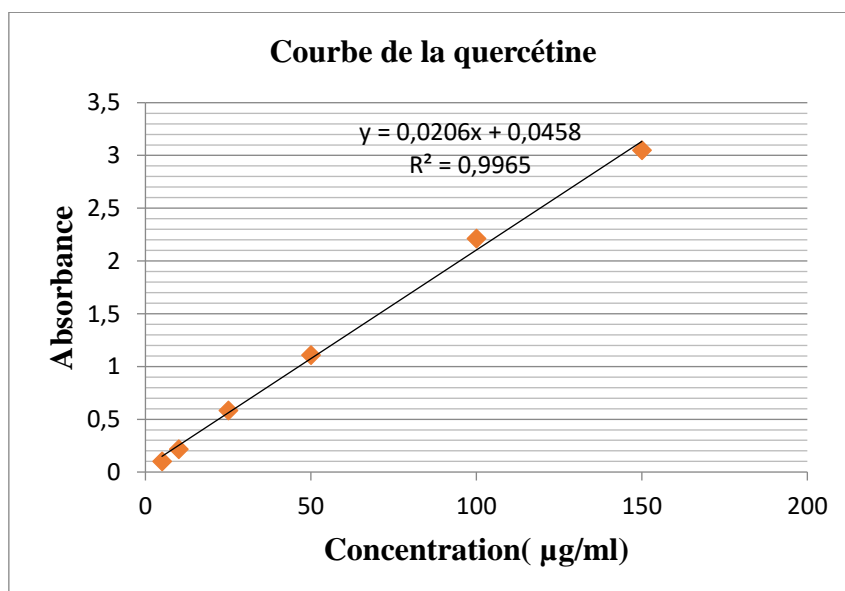


Figure III.6. Courbe d'étalonnage de la quercétine

**Tableau III.4** : taux des flavonoïdes totaux dans les extraits de l'espèce du genre *Senecio*

Extrait	Flavonoïdes totaux ( $\mu\text{g EQ/mg d'extract}$ )
Chloroforme	$41,21 \pm 0,28$
Acétate d'éthyle	$202,12 \pm 1,09$
<i>n</i> -butanol	$250,29 \pm 0,24$

D'après le tableau III.4, l'extrait *n*-butanol est l'extrait le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de  $250,29 \pm 0,24 \mu\text{g EQ/mg d'extract}$ , suivi par l'extrait acétate d'éthyle ( $202,12 \pm 1,09 \mu\text{g EQ/mg d'extract}$ ). Cependant, la teneur la plus minimale est obtenue dans l'extrait chloroforme avec une teneur de  $41,21 \pm 0,28 \mu\text{g EQ/mg d'extract}$ .

La teneur en flavonoïdes de nos différents extraits est supérieure à celle rapportée par Arab *et al* (2014) [140] pour *Senecio delphinifolius* et à celle trouvée par Boussetla *et al.* (2021) [134] dans *Senecio angulatus*.

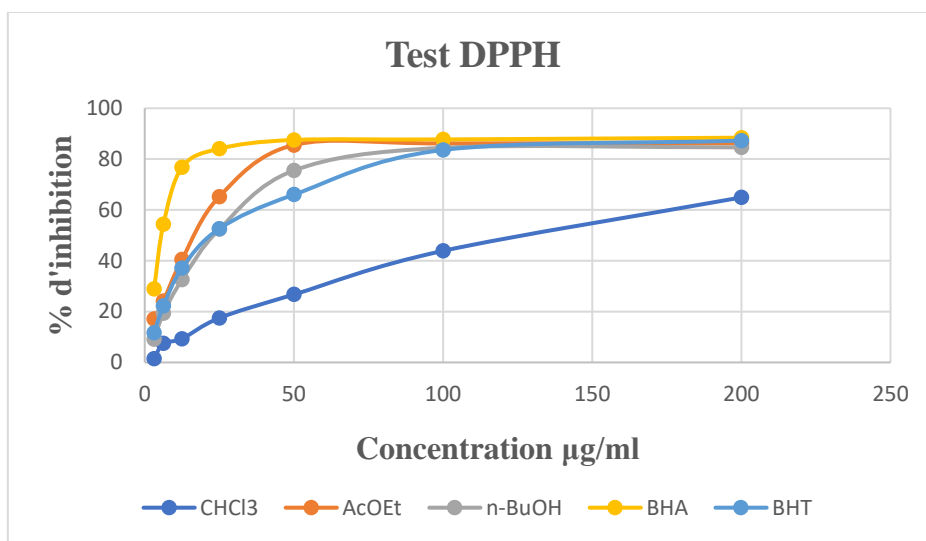
Cette variation quantitative du contenu polyphénolique et flavonoïque entre les extraits de différentes espèces du genre *Senecio* peut être liée aux facteurs climatiques et environnementaux comme la zone géographique, la sécheresse et le sol [142]. Le stade de développement de la plante, la méthode d'extraction et de quantification peuvent également influencer la teneur en phénols totaux et flavonoïdes [143]. D'autres études récentes montrent que les facteurs génétiques et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols et flavonoïdes [144].

## III.2. Activités biologiques in vitro

### III.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante

#### III.2.1.1. Activité anti-radicalaire DPPH

Dans ce test, l'activité anti-radicalaire des trois extraits  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt et *n*-BuOH a été évalué par la mesure des concentrations inhibitrices à 50 % ( $\text{IC}_{50}$ ) selon la formule indiquée dans la partie précédente (plus la valeur de  $\text{IC}_{50}$  est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant). Le standard utilisé est le BHA et BHT. Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits et des standards (Figure IV.4).



**Figure III.7 :** Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH par les différents extraits

Les valeurs de l' $IC_{50}$  de chaque extrait ainsi que celle des standards sont présentées dans le Tableau IV.2 :

**Tableau III.5 :** Pouvoir d'inhibition  $IC_{50}$  des extraits et du standard utilisant le test du DPPH

Test DPPH		$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>Extraits</b>	Extrait chloroforme	$136,09 \pm 2,49$
	Extrait acétate d'éthyle	$18,00 \pm 0,85$
	Extrait <i>n</i> -butanol	$26,03 \pm 0,23$
<b>Standards</b>	BHA	$5,73 \pm 0,41$
	BHT	$22,32 \pm 1,19$

Comme figurant dans le tableau ci-dessous l'extrait acétate d'éthyle représente l'extrait le plus actif avec une  $IC_{50}$  de l'ordre  $18,00 \pm 0,85 \mu\text{g/ml}$  suivi par l'extrait *n*-butanol ( $26,03 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$ ) et l'extrait chloroformique ( $IC_{50} = 136,09 \pm 2,49 \mu\text{g /ml}$ ).

En comparant l'activité à inhiber le radical libre DPPH des extraits avec les standards, on remarque que les deux extraits *n*-butanol et chloroforme possèdent une activité inférieure à celle des antioxydants standard BHA et BHT qui présentent une  $IC_{50}$  de l'ordre de  $5,73 \mu\text{g/ml}$  et  $22,32 \mu\text{g/ml}$  respectivement, par contre l'activité de l'extrait acétate d'éthyle est supérieure à celle de l'antioxydant BHT, mais elle est inférieure à celle de BHA.

Nos résultats relatifs à cette activité sont similaires à ceux trouvée par Arab et *al* (2014) [140] pour *Senecio delphinifolius* et Boussetla et *al.* (2021) [134] pour *Senecio angulatus*, ainsi que pour les extraits d'acétate d'éthyle de *S. inaequidens* et *S. vulgaris* qui se sont avérés posséder la plus forte activité de piégeage des radicaux du DPPH avec 61,60 % et 44,57 % d'inhibition, respectivement (Conforti et *al.* 2006) [145]. Des recherches menées par Faraone et *al* (2018) [141] sur les propriétés antioxydantes des extraits des parties aériennes de *Senecio clivicolus* ont révélé également une activité antioxydante remarquablement élevée pour l'extrait acétate d'éthyle suivi par l'extrait *n*-butanol et l'extrait chloroformique.

### III.2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Lors de cette étude, nous avons testé l'action des différents extraits (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) vis-à-vis six souches microbiennes.

Les résultats obtenus dans le tableau III.6 montrent que l'extrait éther de pétrole a un effet antibactérien sur la souche *Bacillus Spizizenii* ATCC 6633. Cet effet est observé pour toutes les concentrations testées, avec des diamètres d'inhibition compris entre 7 et 9 mm. Il est à noter que le plus grand diamètre d'inhibition (9 mm) a été obtenu avec cette même souche et également avec la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 pour la concentration de 200 mg/ml.

L'extrait présente une activité antibactérienne modérée sur *Candida albicans* ATCC 10231, avec un diamètre d'inhibition de 7 mm pour les concentrations de 400 mg/ml et 200 mg/ml.

Aucun effet antibactérien n'a été observé sur les souches *Escherichia coli* NCTC 10538, *Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 8626 et *Alternaria alternata*.

**Tableau III.6 :** Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait éther de pétrole vis-à-vis des six souches.

	Témoin négatif (DMSO)	Témoin positif	Éther de pétrole (SM)	Éther de pétrole (1/2)	Éther de pétrole (1/4)	Éther de pétrole (1/8)
<i>Escherichia coli</i> NCTC 10538	-	21	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	25	8,5	9	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCIMB 8626	-	30	-	-	-	-
<i>Bacillus Spizizenii</i> ATTC 6633	-	29	9	7	7	7
<i>Candida albicans</i> ATTC 10231	-	31	7	7	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	-		-	-	-	-

**EP (SM) :** Solution Mère 400mg/ml, **EP (1/2) :** 200mg/ml, **EP(1/4) :** 100mg/ml, **EP (1/8) :** 50 mg/ml, - pas de zone d'inhibition.

L'extrait chloroformique a exhibé une activité antibactérienne remarquable vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, avec des zones d'inhibition compris entre 15 mm et 7mm. Il a également démontré une activité antifongique contre *Candida albicans* ATCC 10231, présentant une zone d'inhibition de 7,5 mm.

Cependant, il n'a présenté aucune activité antimicrobienne contre les souches *Escherichia coli* NCTC 10538, *Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 8626, *Bacillus Spizizenii* ATCC 6633 et *Alternaria alternata*.

**Tableau III.7:** Valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait chloroforme vis-à-vis des six souches.

	Témoin négatif (DMSO)	Témoin positif	CHCl <sub>3</sub> (SM)	CHCl <sub>3</sub> (1/2)	CHCl <sub>3</sub> (1/4)	CHCl <sub>3</sub> (1/6)
<i>Escherichia coli</i> NCTC 10538	-	21	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	25	15	11	7	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCIMB 8626	-	30	-	-	-	-
<i>Bacillus Spizizenii</i> ATTC 6633	-	29	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATTC 10231	-	31	7,5	-	-	-
<i>Alernaria aleternata</i>	-		-	-	-	-

**CHCl<sub>3</sub>(SM)** : Solution Mère 400mg/ml, **CHCl<sub>3</sub> (1/2)** : 200mg/ml, **CHCl<sub>3</sub> (1/4)** : 100mg/ml, **CHCl<sub>3</sub> (1/8)** : 50 mg/ml, - pas de zone d'inhibition

L'analyse des données des tableaux III.8 et III.9 permet de conclure que les deux extraits organiques testés, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol, n'ont aucun effet inhibiteur sur les souches bactériennes étudiées.

Cette absence d'effet antimicrobien dans ces extraits pourrait être expliqué par plusieurs facteurs qui sont liés soit à la nature de la plante, soit aux mauvais choix des techniques, des conditions et des outils utilisés au cours des manipulations, soit à d'autres facteurs variés. En effet, l'absence de l'activité est interprétée comme suit :

L'absence de molécules possédant une activité antimicrobienne dans les extraits de plante. Également leur présence en quantité très faible dans les extraits, ne favorise pas ainsi, la mise en évidence de l'activité

La mauvaise méthode adoptée ou/et des solvants organiques utilisés dans l'extraction des molécules actives. En effet, l'étude de Hayouni *et.al* (2007) a montré que la méthode d'extraction et la nature des solvants utilisés peuvent influencer sur l'activité antimicrobienne

des composés phénoliques. Toutefois, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité antimicrobienne [146].

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne serait un autre facteur qui influe aussi sur les résultats obtenus. Natarajan et al. (2005) [147] et Fazeli et al (2007) [148] ont constaté que la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose est plus adaptée pour étudier l'activité des extraits aqueux et organiques des plantes que la méthode de diffusion en milieu gélosé.

En comparant nos résultats avec les résultats d'une autre recherche réalisée par Loizzo et al. (2006) ont indiqué que l'extrait *n*-hexane de *Senecio samnitum* présentait la meilleure activité antibactérienne contre les bactéries Gram +, en particulier *S. aureus*, et que les différents extraits de solvants de cette espèce avaient des activités antifongiques, en particulier contre les dermatophytes *Trichophyton tonsurans* et *Microsporum gypseum* [149]. Les mêmes chercheurs ont montré que *Senecio. inaequidens* n'avait aucune activité antimicrobienne contre les micro-organismes testés et avait une faible activité contre les champignons (Loizzo et al.(2004) [150]. Il a également été signalé que l'extrait acétate d'éthyle de *Senecio hoggariensis* présentait une activité antimicrobienne remarquable [151], les mêmes chercheurs ont rapporté également que l'extrait acétate d'éthyle de *Senecio gallicus* L avait une meilleure activité antimicrobienne contre *Salmonella sp* et *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 19 mm [152]. Deuschle et al. (2006) ont travaillé sur la partie arienne de *senecio desiderabilis vellozo*, ils a trouvé que l'extrait de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> avait une activité importante sur *C.albicans* ATCC44313, sur *S.aureus* ATCC25923 et *P.aeruginosa* ATCC27850 par contre aucune inhibition a été enregistré contre *E.coli* ATCC25922 [153].



**Tableau III.8 :** Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait Acétate d'éthyle vis-à-vis des six souches

	Témoin négatif (DMSO)	Témoin positif	Acétate d'éthyle (SM)	Acétate d'éthyle (1/2)	Acétate d'éthyle (1/4)	Acétate d'éthyle (1/8)
<i>Escherichia coli</i> NCTC 10538	-	21	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	25	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCIMB 8626	-	30	-	-	-	-
<i>Bacillus Spizizenii</i> ATTC 6633	-	29	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATTC 10231	-	31	-	-	-	-
<i>Alernaria aleternata</i>	-	-	-	-	-	-

**AcOEt (SM) :** Solution Mère 400mg/ml, **AcOEt (1/2) :** 200mg/ml, **AcOEt (1/4) :** 100mg/ml, **AcOEt (1/8) :** 50 mg/ml, - pas de zone d'inhibition.

**Tableau III.9 :** Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait n-butanol vis-à-vis des six souches

	Témoin négatif (DMSO)	Témoin positif	n-butanol (SM)	n-butanol (1/2)	n-butanol (1/4)	n-butanol (1/8)
<i>Escherichia coli</i> NCTC 10538	-	21	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	25	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCIMB 8626	-	30	-	-	-	-
<i>Bacillus Spizizenii</i> ATTC 6633	-	29	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATTC 10231	-	31	-	-	-	-
<i>Alernaria aleternata</i>	-		-	-	-	-

**n-butanol(SM)** : Solution Mère 400mg/ml, **n-butanol (1/2)** : 200mg/ml, **n-butanol(1/4)** : 100mg/ml, **n-butanol (1/8)** : 50 mg/ml, - pas de zone d'inhibition, **R**: résistante

# *Conclusion générale*

## ***Conclusion générale***

Les plantes médicinales restent toujours une source inépuisable des molécules bioactives ayant montré leur efficacité dans le traitement de diverses maladies et restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale.

Le présent travail a été consacré à l'étude phytochimique et biologique d'une espèce végétale du genre *Senecio* appartenant à la famille des Asteraceae connue pour sa richesse en divers métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique,

L'investigation phytochimique a débuté par la macération hydroalcolique des parties aériennes, suivie de l'extraction liquide-liquide par divers solvants à polarité croissante ont conduit à préparer plusieurs extraits organiques à savoir éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol.

Le screening phytochimique effectué sur les extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol a montré la richesse de cette plante en métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les terpènes.

La quantification des composés phénoliques et flavonoïdes totaux a été déterminés par les méthodes colorimétriques de Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement, les résultats ont révélé la présence des quantités importantes en polyphénols dans les extraits avec une teneur élevée dans l'extrait acétate d'éthyle. Pour ce qui est des flavonoïdes totaux, les résultats montrent que l'extrait *n*-butanol a représenté la teneur la plus élevée .

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits CHCl<sub>3</sub>, AcOEt et *n*-BuOH de l'espèce végétale a été réalisée en utilisant la méthode du DPPH. Les résultats obtenus indiquent que les extraits AcOEt et *n*-BuOH présentent une activité antioxydante remarquable. Cette propriété peut être attribuée à leur richesse en flavonoïdes et polyphénols, comme le confirment les dosages de ces composés phénoliques totaux.

L'activité antibactérienne et antifongique des différents extraits a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé contre six souches microbiennes. Les résultats ont indiqué que l'extrait d'éther de pétrole possède une activité remarquable par rapport à l'extrait chloroformique , tandis que les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol n'ont aucun effet inhibiteur sur les souches bactériennes étudiées.

## ***Conclusion générale***

*L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives. Des études complémentaires, précises et approfondies restent nécessaires pour pouvoir confirmer les résultats mis en évidence.*

*De nombreuses perspectives peuvent être envisagées, on cite juste quelques-unes :*

- Poursuivre l'étude phytochimique de l'espèce étudié afin d'isoler les métabolites secondaires contenus dans les différents extraits et de déterminer leurs structures.
- Évaluer l'activité des produits isolés afin de confirmer ou d'infirmer l'activité biologique attribuée à cette plante.
- Évaluer ces extraits pour d'autres activités biologiques.

*Les références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

- [1] Alessandra M.B. (2008.). Grande Guide Des Huiles Essentielles Santé Beauté Bien-Etre. Hachette pratique. France. 205.-10-23p
- [2] Lakehal S., Meliani.A., Benmimoune.S., Bensouna.S.N., Benrebiha.F.Z et Chaouia.C. (2016). Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Artemisia herba alba* Asso Grown in Algeria. *Medicinal chemistry*, 6, p : 435-439
- [3] Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques : Épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris.
- [4] Harkati B. (2011). Valorisation Et Identification Structurale Des Principes Actifs De La Plante De La Famille Asteraceae : *Scorzonera Undulata*. Thèse de doctorat : Université Mentouri. Constantine.
- [5] Rahman A., Islam, A.et Rahman., M (2011). The Family Qsteracea of Rajshali Division, Bangladesh, VDM Verlag Dr. Muller Publishing House Ltd. Germany,1-176.
- [6] Quezel P et Santa S. (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris France : CNRS.
- [7] Bremer K., Gordon P et Dewolf, J. (1994). Asteraceae cladistics and classification. *Portland*, 97 (890), p:176-178
- [ 8] Funk V., Susanna A., Stuessy, T et Robinson H. (2009). Classification of Compositae. In V. A. Funk, A. Susanna, T. F. Stuessy, et R. J. Bayer, *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy. Vienna, p: 171–189
- [9] Guignard J. (1994). Abrégé botanique, 9<sup>ème</sup> édition :203-204
- [10] Barkley, T., Brouillet, L et Strother J. (2006). Flora of North America Asteraceae. Vol. (19), p :3-69
- [11] Ozenda P. (1991). Flore et végétation du Sahara. 3<sup>ème</sup> édition, CNRS, Paris, p : 626
- [12] ESCOP. (2003). ESCOP Monographs: the scientific foundation for herbal medicinal products. 2<sup>ème</sup> édition, Thieme, Exeter and London UK.
- [13] Grieve M. (1979). A Modern Herbal. Dover Publications, Inc, a New York.
- [14] Polosky Z. (2015). 21<sup>st</sup> Century Homestead: Biological Pest Control. 1st Edition, Lulu. P :176.
- [15] Serier J. (1979). Le guayule *Parthenium argentatum* : son intérêt économique, sa culture, l'extraction et les propriétés de son caoutchouc. *Revue Générale du Caoutchouc et des Plastiques*, 56 (591) p :75-85
- [16] Gaussen H et Leroy F. (1982). Précis de botanique (Végétaux supérieurs). 2<sup>ème</sup> édition. 424-426 p.
- [17] Bruneton J. (2005). Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux, 3<sup>ème</sup> éd. : 183- 185p

## Références bibliographiques

---

- [18] Pelser P., Vos H., Theuring C., Beuerle T., Vrieling K et Hartmann T. (2005). Frequent gain and loss of pyrrolizidinealkaloids in the evolution of *Senecio* section *Jacobaea* (Asteraceae). *Phytochemistry* (66). P :1285–1295
- [19] Ghedira K., Goets P., Lejeune R et Wuyts D. (2008), *Echinacea spp.* (Asteraceae), *Phytothérapie*, 6, p : 306- 311
- [20] Bremer K. (1994), Asteraceae, Cladistics and Classification. Timber Press. 752p. - Portland Oregon.
- [21] Yang Y., Zhao L., Wang Y., Chang M., Huo C., Gu Y., Shi Q et Kiyota,H. (2011). Chemical and pharmacological research on plants from the genus *Senecio*, *Chemistry & Biodiversity* 8. P: 13-72
- [22] Samyn N et Kintz P. (1999). Determination of "Ecstasy" components in alternative biologicalspecimens. *Journal of Chromatography Biomedical Science Applied*, 1 (2), p : :137-143
- [23] Heckel E. (1910). Catalogue alphabétique des plantes utiles et en particulier des plantes médicinales et toxiques de Mad. Avec leurs noms malgaches et leurs emplois, in *Annual. Museum., Ed., Colonies Marseille*. P : 372-373.
- [24] Bautista P., Stubing G. et Figuerola R. (1991). Guia de las plantas Medicinales de la comunidad valenciana. *Las provincias, Valencia*, 305 p.
- [25] Humbert H. (1962). Flore de Madagascar et des Comores (plantes vasculaires), 189 familles, *Firmin-Didot et cie, Paris, France*, 735 p
- [26] Paume M. (2009). Sauvages et Toxiques : Plantes des bois, des prés et des jardins. *Edisud Aix en Provence*, 255p
- [27] Lih C et Zhou L. (2005). In vitro antiviral activity of three enantiomeric sesquiterpene lactone from *Senecio* species against hepatitis B virus. *Journal Antiviral Chemistry*,16. p: 277-282
- [28] Hammond G., Fernandez I., Villegas L. et Vaisberg A. (1998). A survey of traditional medicinal plants from the Callejo'n de Huaylas, Department of Ancash, Peru. *Journal of Ethnopharmacology*. 61 (1) p: 17-30
- [29] Toma W., Trigo J., Bensuaski de Paula A., SouzaB et Monteiro R. (2004). Preventive activity of pyrrolizidine alkaloids from *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) on gastric and duodenalinducedulcer on mice and rats. *Journal of ethnopharmacology*. 95 p : 345-351
- [30] Lutge U., Kluge M et Bauer G. (2002). Botanique 3eme Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris. p:211
- [31] Newman D et Cragg, G. (2012). Natural Products a Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75, p : 311-335



## Références bibliographiques

---

- [32] Macheix J., Fleuriet A et Jay C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. P :1-11.- (Collection Biologie)
- [33] Bourgaud F., Gravot A., Milesi S et Gontier E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Review Plant Science*, 161, p : 839–851
- [34] Boizot N et Charpentier J. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Institut National de la Recherche Agronomique. Centre de Versailles-Grignon. 79-82p.
- [35] Lugasi A., Hovari J., Sagi K et Biro L. (2003): The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta.biologica. szegediensis*. 47 (14), p :119-125
- [36] Bruneton J. (1987). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. Editions Lavoisier. Technique et Documentation, Paris.
- [37] King A et Young G. (1999): Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J of the American dietetic association*, 99, p: 213-218. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- [38] Richter G. (1993) Les composés phénoliques métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie) Editions Dunod. P, 255
- [39] Negrao R et Faria A. Natural Polyphenols as Anti-Oxidant, Anti Inflammatory and Anti-Angiogenic Agents in the Metabolic Syndrome. *Springer Science Business Media B V*. P :147-180
- [40] Bruneton J. (2009). Pharmacognosie-Photochimie, plante médicinale .4ème édition. Paris : Edition Tec et Doc, Edition médicales inter nationales. 1292p
- [41] Heller W et Forkmann G. (1999). The flavonoids. Advances in research since In Harborne JB. *Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology*. London: Chapman et Hall. 399-425p.
- [42] Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, p : 3875-3883
- [43] Stevanovic T et Perrin D. (2009). Chimie du bois. Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes, 179-180 p.
- [44] Quideau, S. (2009). *Chemistry and Biology of anderestimated class of bioactive plant polyphenols Ellagitannins*. World Scientific Publishing, 1-367 p.
- [45] Hopkins W. (2003). Physiologie végétale. De Boeck Supérieur.
- [46] Dikkala P., Kakarlapudi J., Rokalla, P., Vedantam S., Kaur A., Kaur K et Sridhar K. (2023). Computational screening of phytochemicals for anti-diabetic drug discovery. In *Phytochemistry, Computational Tools and Databases in Drug Discovery*. Elsevier; p: 285-311
- [47] Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. (3ème édition). Editions TEC et DOC, 783- 785 p.

## Références bibliographiques

---

- [48] Zenk M et Juenger M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compound. *Phytochemistry Review*, 68, p: 2757 – 2772
- [49] Klaas C., Wagner G., Laufer S., Sosa S., Loggia R., Bomme U., Pahl H., Kohen R et Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicolo Pathol.* 30, p: 620 650
- [50] Donald J et Gearge S. (1968). *Chimie organique*, 2 Edition, Gautier Villars.
- [51] Bouvier F., Rahier A et Camara B. (2005). Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. *Progress in lipid research*, 44, p: 357-429
- [52] Hill R. (2002). dictionary of natural products on CD-ROM, Ed. Version 1.0 (2em ed). Chapman et Hall, CRC, New ond.
- [53] Bencharif S. (2014). Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales : *Cyclaen africanum*, *Zygophyllum cornutum*, et évaluation de leur activité anti-inflammatoire. Thèse de Doctorat en cotutelle Université de Constantine1/Université de Bourgogne.
- [54] Das T., Banerjee D., Chakraborty D., Pakhira M., Shrivastava B et Kuhad R. (2012). Saponin: Role in Animal system. *Vet. World.* 5(4), p: 248-254
- [55] Thakur M., Melzig M., Fuchs H et Weng A. (2011). Chemistry and pharmacology of saponins: special focus on cytotoxic properties, 1, p: 19–29
- [56] Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R et Bernigault R. (2005). Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, p :554-558
- [57] Koechlin-Ramonatxo, C (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20, 165-177
- [58] Favier, A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité Chimique*, p :108-117
- [59] Mates J., Pérez-Gomez C et De Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem*, 32(8), p : 595-603
- [60] Théron P., Bonnefont-Rousselot D., Davit-Spraul A., Conti M et Legrand A. (2000). Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*,3(5), p:373-84
- [61] Evans J., Goldfine I., Maddux B et Grodsky G. (2002). Oxidative stress and stress- activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabets, *Endocrine Reviews*, 23, p :599-622
- [62] Shebis Y., Iluz D., Kinel-Tahan Y., Dubinsky Z et Yehoshua Y. (2013). Natural Antioxydants: Fonction and Sources.
- [63] Gülçin I et Alwasel S. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11, p:2248

## Références bibliographiques

---

- [64] Ionita, P. (2021). The Chemistry of DPPH Free Radical and Congeners. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, p : 1545
- [65] Popovici C., Saykova I et Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel*,4, p :25-39.
- [66] Njoya E. (2021). Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. 349-357p.
- [67] Hahn M., Lünsdorf H., Wu Q., Schauer M., Höfle M., Boenigk J et Stadler P. (2003). Isolation of novel ultramicrobacteria classified as Actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, p:1442-1451
- [68] Doron S et Gorbach S. (2008). Bacterial Infections: Overview. In *International Encyclopedia of Public Health*. Elsevier p :273-282
- [69] Allocati N., Masulli M., Alexeyev M. et Di Ilio, C. (2013). Escherichia coli in Europe : An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(12),
- [70] Farmer J., Boatwright K et Janda J. (2007). Enterobacteriaceae: Introduction and Identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, et M. A. Pfaller. *Manual of Clinical Microbiology* 9th éd., p : 649-669
- [71] Basavaraju M et Gunashree B. (2022). *Escherichia coli*: An Overview of Main Characteristics. *Escherichia coli*.
- [72] Flandrois.J. (1997). Bactériologie médicale. Presses universitaires de Lyon. 174p.
- [73] Sonnenberg M et Kaper J. (1992). Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 60, p :3953-3961
- [74] Nauciel C et Vildé J. (2005). Bactériologie médicale 2ème éd. Masson. Paris. 5,10p.
- [75] FERRON A. (1984). Bactériologie médicale à l'usage des étudiants e médecine. La Madeleine : Crouan et Roques. 375p
- [76] Carip.C (2008). Microbiologie hygiène : bases microbiologiques de la diététique. Paris : Lavoisier.
- [77] Schachter M., Medoff G et Eisenstein B. (1999). Microbiologie et pathologie infectieuse. *Boeck et Larcier*, 8, 181p.
- [78] Jyoti, H., kumar, S., Vandana, R. (2011). Production of L-glutaminase by Pseudomonas VJ-6. *Research Journal of Biotechnology*, 6(3), p: 42-49
- [79] Ali N., Chatta S., Liaqat I., Mazhar S., Mazhar B et Zahid S. (2021) Pseudomonas aeruginosa associated pulmonary infections and in vitro amplification virulent rhamnolipid (rhlR) gene. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e228009.
- [80] Patrick B., Jean-Louis G et Michel S. (1989). Bactériologie : les bactéries des infections humaines, de la biologie à la clinique. 2 ème édition. Paris : Flammarion édition. 233-5p.

## Références bibliographiques

---

- [81] Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier.
- [82] Tortora G., Funke B et Case C. (2012). *Introduction à la microbiologie* .2ème édition. ERPI Science.141-145 p.
- [83] Reynolds D et Kollef M. (2021). The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of Pseudomonas aeruginosa Infections. *An Update Drugs*, 81(18), p: 2117-2131
- [84] Kayser F., Bienz K., Eckert J et Zinkernagel R. (2005). Medical microbiology. Thieme.
- [85] Becker K., Harmsen D., Mellmann A., Meier C., Schumann P., Peters G et von Eiff C. (2004). Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of Staphylococcus species. *Journal of Clinical Microbiology*. 42, p: 4988-4995
- [86] Murray P., Baron E., Jorgensen J., Landry M., Pfaller M et Tenover F. (2003). Manual of Clinical Microbiology 8th ed. Herdon VA, United States of America: American Society for Microbiology.
- [87] Rit K. (2014) A case report of Small Colony variant of Staphylococcus aureus isolated from a patient with chronic osteomyelitis in a tertiary care hospital of eastern India. *Advanced Biomedical Research*, 3(32).
- [88] Wertheim H. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *lancet infectious diseases*, 5(12), p: 751-762
- [89] Prescott l., Harley J et Klein D. (2010). Microbiologie. 2ème Edition française. De Boeck université.
- [90] Le Loir Y., Baron F et Gautier M. (2003). Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 2, p: 63-76
- [91] Ryan K., Ahmad N., Alspaugh J., Drew W., Lagunoff M., Pottinger P., Reller L., Reller M., Sterling C et Weissman S. (2018). Sherris Medical Microbiology. Seventh Edition. McGraw Hill Professional.
- [92] Bridier A., Le Coq D., Dubois-Brissonnet F., Thomas V., Aymerich S et Briandet R. (2010). The spatial architecture of Bacillus subtilis biofilms deciphered using a surface-associated model and in situ imaging. *PLoS One*, 6(1).
- [93] Ren J., Yu D., Li N., Liu S., Xu H., Li J., He F., Zou L., Cao Z et Wen J. (2023). Biological Characterization and Whole-Genome Analysis of *Bacillus subtilis* MG-1 Isolated from Mink Fecal Samples. *Microorganisms*, 11 (2821).
- [94] Yilmaz M., Soran, H et Beyatli Y. (2006). Antimicrobial activities of some Bacillus spp. strains isolated from the soil. *Microbiological Research*, 161, p :127–131

## Références bibliographiques

---

- [95] Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier.
- [96] Bousena. (2021). Cours en ligne : chapitre 3 : bacilles Gram positif sporulés. Microbiologie université de Constantine.
- [97] Turnbull P., Kramer J et Melling, J. (1996). Bacille. *Microbiologie médicale*, 4, p :233
- [98] Pinchuk I. (2001). Caractérisation et étude des mécanismes d'action de la souche probiotique *Bacillus subtilis* 3 et son utilisation pour le développement d'un vaccin recombinant contre l'infection à *Helicobacter pylori*. Thèse de doctorat, université de Bordeaux-I
- [99] Dominique C., Jean-philippe B., Ludovic G., Sophie B., Bernard C et Bascale P. (2002). *Cahier de formation biologie médical- les moisissures d'intérêt médical* (N25). Rue Larry, Angers Cedex.
- [100] Odds F. (1979). *Candida and Candidosis*, Leicester University Press ed, London.
- [101] Yunita M., Lumbantobing R. et Tahitu R (2023). Antifungal Activity of Endophytic Bacteria Isolated from Miana Plants (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) against *Candida albicans*. *Folia Medica Indonesiana* ,59 (3), p:274-281
- [102] Anaam F. (2018). Isolation and identification of pathogenic fungi from diabetic patients in Diyala. *Biochemical and Cellular Archives*, 18(Supplement 1), p ;959-966
- [103] Goubau P et Pellegrims E. (2000). Repère en microbiologie. 3ème ED. Garant. 384p.
- [104] Buffo J et Herman D. (1984). *candida albicans* VAC8 is required for vacuolar inhevitance and normal hyphal branching. *Eukaryotic cell* ,5, p :359- 367
- [105] Chakou M. et Bassou K. (2005). Efficacité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte (*Mentha spicata* Lisdue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes : *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*. Mémoire de Diplôme d'Études Supérieures, Université Kasdi Merbah Ouargla, p : 14-27
- [106] Sanjay G. (2021). Présentations des infections fongiques, MD Wayne State University School of Medicine.
- [107] Laurenc B. (2012). Morphologie de la levure *Alternaria alternata* département de biologie université de Lyon.
- [108] Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J., Reymond P. Sanglier J-J., Vayssier Y et Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. Masson, Paris.
- [109] Hawksworth D., Kir P., Sutton B et Pegler D. (1995). *Dictionary of the Fungi* 8ème éd. CAB International. Wallingford. United Kingdom.

## Références bibliographiques

---

- [110] Zitter T., Hopkins D et Thomas C. (1996). Alternaria Leaf Blight. Dans *Compendium of Cucurbit Diseases*. St-Paul, Minnesota: APS Press, The American Phytopathological Society. 23-24p.
- [111] Achetbi H., Amiri S et Lahlali R. (2021). Les Alternarioses (*Alternaria spp.*) des agrumes : Diagnostic et méthodes de lutte. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 9(2).
- [112] Conforti F., Loizzo M., Statti G., Houghton, P et Menichini, F. (2006). Biological properties of different extracts of two Senecio species. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, p: 1-8
- [113] Sharma P et Shah G. (2014). Composition and antioxidant activity of Senecio nudicaulis Wall. ex-DC. (Asteraceae): a medicinal plant growing wild in Himachal Pradesh, India. *Natural Product Research*. 29, p :883-886
- [114] Madi A. (2009). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques", Mémoire magister, Université Mentouri Constantine.
- [115] Harborne J.B., Baxter H et Chichester W. (1999). The handbook of natural flavonoids phytochemical analysis.
- [116] N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D et Aké-Assi L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1).
- [117] Jean B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Lavoisier.
- [118] Bekro Y., Mamyrbekova J., Boua, B. B, Bi, F. T. et Ehile, E. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & nature*, 4(2), p : 217-225
- [119] Rizk A M. (1982). Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterpia*, p :35-42
- [120] Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 2ème Éd. Londres- New York. 625-642p.
- [121] Créte P. (1965). Précis de botanique. Masson. 4ème Édition. 429p.
- [122] Signe M. (1998). Frederiksen. Synthesis of Antirrhinolide, a New Lactone from *Antirrhinum Majus* Henrick Franzky. Denmark: The Technical University of Denmark.
- [123] Singleton V L., Orthofer R et Lamuela-Raventos R M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299, p : 152
- [124] Boizot N. et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. P p : 79-82

## Références bibliographiques

---

- [125] Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P et Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97, p : 654-660
- [126] Ribéreau-Gayon P. (1968). Les Composés phénoliques des végétaux : par Pascal Ribéreau Gayon. Dunod.
- [127] Blois M. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617), p : 1199-1200.
- [128] Daoudi A., Sabiri M., Bammou M., Zair T., Ibjibijen J et Nassiri L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*, 87(1), p : 8094.
- [129] Green R. (2004). Antioxidant Activity of Peanut Plant Tissues [Thèse de doctorat]. North carolina.
- [130] Chang Z., Zhang Q., Liang W., Zhou K., Jian P., She G., et Zhang L. (2019). A Comprehensive Review of the Structure Elucidation of Tannins from *Terminalia* Linn. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- [131] Babu P. V. A., Liu D. (2009). Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population dans: Watson R.R. *Flavonoids and Cardiovascular Health*, p :371-392. Academic Press.
- [132] Juang Y.P et Liang P.H. (2020). Biological and Pharmacological Effects of Synthetic Saponins. *Molecules*, 25(21), p: 4974.
- [133] Del Prado-Audelo M. L., Cortés H., Caballero-Florán I. H., González-Torres M., Escutia-Guadarrama L., Bernal-Chávez S. A., Giraldo-Gomez D. M., Magaña J. J et Leyva-Gómez G. (2021). Therapeutic Applications of Terpenes on Inflammatory Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 704197.
- [134] Ababsa Z.E., Ali W.K., Abidli N., Akkal S et Medjroubi K. (2018). Chemical characterization and biological study of the species *Senecio Cineraria*. *World*. 7(3) p:112–121.
- [135] Bousetla A., Kesinkaya H.B., Bensouici C., Lefahal M., Atalar, M.N et Akkal S. (2021). LC-ESI/MS-phytochemical profiling with antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of Algerian *Senecio angulatus* L.f. extracts. *Natural Product Research*, p : 1-7.
- [136] Lienou L.L., Telefo B.P., Nangue C., Bayala B., Goka S.C., Yemele D.M., Tagne R.S., Donfack N.J., Mbemya G.T et Rodrigues A.P. (2015). Comparative effects of the crude methanol/methylene chloride extract and fractions of *Senecio biafrae* (Oliv. &Hiern) J. Moore on some fertility parameters in immature female Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(5) p:404–411.
- [137] Johnson O.O., Adeyemi D.K., Adeusi O., Ayoola G.A. (2017). Evaluation of the phytochemical constituents and antioxidant activity of the stem of *Senecio biafrae* (Asteraceae). *Niger J Pharm Appl Sci Res*, 6(2), p:19–23

## Références bibliographiques

---

- [138] Joshi S., Shrestha K et Bajracharya D.M. (2013). Secondary metabolite variation in some species of *Senecio* L. from Nepal Himalaya. *Pharma Innovation*, 2(1), p:70–76
- [139] Kopp T., Abdel-Tawab M et Mizaikoff B. (2020). Extracting and analyzing pyrrolizidine alkaloids in medicinal plants, *a review*. *Toxins*, 12(5), p:320
- [140] Arab Y., Zellagui A., Boutellaa S., Mesbah K., Gherraf N. (2014). Total phenolic and flavonoids content, and in vitro antioxidant and antimicrobial activity of ethyl acetate and butanol extract from *Senecio delphinifolius* Vahl. *Der Pharmacia Lettre*, 6(4), p:522–525
- [141] Faraone I., Rai D.K., Chiummiento L., Fernandez E., Choudhary A., Prinzo F et Milella L. (2018). Antioxidant Activity and Phytochemical Characterization of *Senecio clivicolus* Wedd. *Molecules*, 23, p :2497
- [142] Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A et Yousefzadi M. (2008). *Essential oil composition and antimicrobial activity of Thymus caramanicus at different phonological stages*. *Food chemistry*, 110, p : 927-931
- [143] Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. et Lee C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51, p; 7292-7295
- [144] Podsedek A. (2007). *Natural antioxidants capacity of Brassica vegetables*. *LWT*. p: 40-1-11
- [145] Conforti F., Marrelli M., Statti G., Menichini F. (2006). Antioxidant and cytotoxic activities of methanolic extract and fractions from *Senecio gibbosus* subsp. *gibbosus* (GUSS) DC. *Nat Prod Res*, 20(9), p :805–812
- [146] Hayouni E. A., Abedrabba M., Bouix M et Hamdi M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3), p:1126–1134
- [147] Natarajan D., Britto S.J., Srinivasan K., Nagamurugan N., Mohanasundari C et Perumal G. (2005). Antibacterial activity of *Euphorbia fusiformis* –A rare medicinal herb, *J. Ethnopharmacol.*, 102, p:123–126
- [148] Fazeli M.R., Amin G., Attari M.M.A., Ashtiani H., Jamalifar H., Samadi N. (2007). Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food control*, 18(6), p:646-49
- [149] Loizzo M.R., R. Tundis G.A. Statti A. Miljkovic-Brake F. Menichini et P.J. Houghton. (2006). Bioactive extracts from *Senecio samnitum* Huet. *Nat. Prod. Res.*, 20 (3), p :265-269
- [150] Loizzo M.R., G.A. Statti R. Tundis F., Conforti M., Bonesy G., Autelitano P.J., Houghton A. Miljkovic-Brake et Menichini F. (2004). Antibacterial and antifungal activity of *Senecio inaequans* DC and *Senecio vulgaris* L. *Phytotherapy Res.*, 18, p:777-779
- [151] Arab Y., Sahin B., Ceylan O., Zellagui A., Olmez O.T., Kucukaydin S., Tamfu A.N., Ozturk M. et Gherraf N. (2022). Assessment of in vitro activities and chemical profiling of



## Références bibliographiques

---

senecio hoggariensis growing in Algerian Sahara. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(7), p :3498–3506

[152] Arab, Y. (2014). Étude comparative des substances bioactives chez *Senecio sp* : point de vue phytochimique et pharmacologique. Thèse de magister, université Larbi ben mhidi Oum el bouaghi.

[153] Deuschle R.A.N., Camargo T., Francescato L.N., Alves S.H. et Heinzmann B.M. (2006). Antimicrobial Activity of *Senecio desiderabilis* Vellozo (Asteraceae). *Acta Farmacéutica Bonaerense*. 25(3) p : 356-359

## ملخص

ركز هذا العمل على الدراسة الفيتو كيميائية والبيولوجية لنوع من أنواع *Senecio* الذي ينتمي إلى عائلة Asteraceae حيث تعرف هاته الأخيرة بثرائها بمختلف انواع الايض الثانوي التي تعد مصدر للعلاج. وقد كشف الفحص الكيميائي لمستخلصات  $\text{CHCl}_3$  ،  $\text{AcOEt}$  و  $n\text{-BuOH}$  عن وجود عدة مجموعات كيميائية مثل الفلافونويدات ، الثانينات، الأنثراكينون والتربينات .

تم تحديد كمية البوليفينول والفلافونويد الكلي في مستخلصات النبتة بواسطة الطرق اللونية Folin-Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها غنى هذا النبات بالبوليفينول والفلافونويد .

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المستخلصات باستخدام طريقة مسح الجذور الحرة DPPH باستخدام BHA و BHT كمعايير. أظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل كان له التأثير الأقوى مقارنةً بالمستخلصات الأخرى، حيث كان التأثير الفعال  $\text{IC}_{50} = 18.00 \pm 0.85$  ميكروغرام/مل.

وأظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات للمستخلصات المختلفة أن مستخلص الأثير البترولي يمتلك نشاطاً ملحوظاً مقارنةً بمستخلص الكلوروفورم، بينما لم يكن لمستخلصات أسيتات الإيثيل والبيوتانول أي تأثير مثبت على السلالات البكتيرية التي خضعت للدراسة.

**الكلمات المفتاحية:** Asteraceae ، *Sénecio*، المستقلبات الثانوية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات

## Abstract

The present work focused on the phytochemical and biological investigation of a *Senecio* species belonging to the Asteraceae family. This last one is known for its richness in various secondary metabolites of great therapeutic interest. Chemical screening of CHCl<sub>3</sub>, AcOEt and *n*-BuOH extracts revealed the presence of several chemical groups such as flavonoids, tannins, saponosides and terpenes.

The quantification of polyphenols and total flavonoids in extracts was determined by colorimetric, Folin-Ciocalteu and aluminium trichloride methods respectively. The results showed that this plant is rich in polyphenols and flavonoids.

The antioxidant activity of the extracts was assessed by the DPPH free radical scavenging method, using BHA and BHT as standards. The results showed that ethyl acetate extract had the most potent effect compared with the other extracts, with an IC<sub>50</sub>=18.00 ± 0.85 μg/ml.

Evaluation of the antibacterial and antifungal activity of the various extracts showed that the petroleum ether extract possessed remarkable activity compared to the chloroform extract, while the ethyl acetate and *n*-butanol extracts had no inhibitory effect on the bacterial strains studied.

**Key words:** Asteraceae, *Senecio*, Secondary metabolites, antioxidant activity, antimicrobial activity

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : AGAB Roa

SLIMANI Mohamed Djawad

Eddine

**Étude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne du genre  
*Senecio***

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie**

Le présent travail a porté sur l'investigation phytochimique et biologique d'une espèce du genre *Senecio* appartenant à la famille des Asteraceae. Cette dernière est connue pour sa richesse en divers métabolites secondaires possédant un grand intérêt thérapeutique. Un screening chimique effectué sur les extraits  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt et *n*-BuOH a révélé la présence de plusieurs groupements chimiques tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les terpènes.

La quantification des polyphénols et des flavonoïdes totaux des extraits a été déterminées par des méthodes colorimétriques, Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement. Les résultats obtenus ont montré la richesse de cette plante en polyphénols et en flavonoïdes.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH en utilisant BHA et le BHT comme standards. Les résultats ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle présente l'effet le plus puissant par rapport aux autres extraits avec une  $\text{IC}_{50} = 18.00 \pm 0.85 \mu\text{g/ml}$ .

L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des différents extraits a montré que l'extrait d'éther de pétrole possède une activité remarquable par rapport à l'extrait chloroformique, tandis que les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol n'ont aucun effet inhibiteur sur les souches bactériennes étudiées.

**Mots-clefs :** Asteraceae, *Senecio*, Métabolites secondaires, activité antioxydante, activité antimicrobienne

**Laboratoires de recherche :** Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL) Université Frères Mentouri, Constantine 1

**Président du jury :** Dr. ABDELAZIZ Ouidad (MC(B) - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** Dr. KEBBI Sara (MC(B) - UFM Constantine 1).

**Examineur :** Dr. ACHOUB Hanane (MC(B) - UFM Constantine 1),