

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA

FACULTE : *Sciences*

DEPARTEMENT : *SNV*

N° :



DOMAINE : *SNV*

FILIERE: *Sciences Biologiques*

OPTION : *Biodiversité et Physiologie
Végétale*

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par:

KETFI Imane

CHERAA Ikram

Intitulé

**Etude phytochimique et activité antioxydant et antimicrobienne
des extraits de quelques espèces de la famille Astéracées .**

Soutenu devant le jury composé de :

SMAILI Tahar	MCA	Université de M'sila	Président
BELKASSAM Abdelouhab	MCB	Université de M'sila	Rapporteur
BISKRI Mohammed	MAA	Université de M'sila	Examineur

Année universitaire : 2019 / 2020

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	1
Partie 01: Etude bibliographique	
CHAPITRE 01 : Présentation des plantes étudiées	
I. Généraliste sur la plante	3
I.1 - Généraliste Les plantes médicinales.....	3
I.2. Aspect botanique.....	3
I.2.1. Généralités sur la famille des Astéracées	3
I.2.2. Description botanique des Asteraceae	3
I.2.3. Présentation du genre <i>Inula</i>	4
I.2.4. Usages traditionnels	5
II. Présentation d' <i>Inula viscosa</i>	6
II.1. Description botanique de la plante.....	6
II.2 Répartition Géographique	7
II.3 Nomes vernaculaires.....	7
II.4 Classification dans la systématique botanique	8
II.4 Utilisation des <i>Inula viscosa</i>	8
II.5 Présentation de l'espèce <i>Inula crithmoides</i>	9
II.6 Description botanique et aire géographique.....	9
III. Présentation du genre <i>Centaurea</i>	9
III.1 Caractéristique botanique	10
III.2. Composition chimique du genre <i>Centaurea</i>	10
III.4 Les métabolites secondaires les plus courants du genre <i>Centaurea</i>	11
III.5 Utilisation en médecine traditionnelle	11
III.6 Présentation et systématique de l'espèce : <i>Centaurea dimorpha</i>	12
III.7 Classification systématique de la plant.....	13
III.8 Présentation et systématique de l'espèce : <i>Centaurea sphaerocephala</i>	14
III.10 Principaux métabolites secondaires isolés de la plante <i>Centaurea sphaerocephala</i>	14

CHAPITERE 02: Les métabolismes secondaires

I-Généralites	15
I-1- Classification des métabolismes secondaires	15
I-1-1- Composées phénoliques (Polyphénols)	15
I-1-1-1 - Classification des polyphénols	15
I-1-1-1-1 - Phénols simples et les acides phénoliques.....	16
I-1-1-1-2- Coumarines	17
I-1-1-1-3 - Les Flavonoïdes.....	17
I-1-2- Rôles et activités biologiques des polyphénols.....	19
I-2- Les terpénoïdes	20
I-3- Les huiles essentielles.....	20
I-4- Les alcaloïdes	23

CHAPITERE 03: Activités biologiques des plantes

I. Activités antioxydants.....	24
I.1. Stress oxydatif	24
I.2.Radicaux libres.....	24
I.3. Espèces réactives de l'oxygène.....	25
I.4. Mécanismes de défense contre le stress oxydant.....	26
I.4.1 Les antioxydants.....	26
I.4.1.2. Classification des antioxydants.....	26
I.4.1.2.1. Antioxydants naturels	26
I.4.1.2.1.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques)	26
I.4.1.2.1.2. Antioxydants exogènes (non enzymatiques)	28
I.4.1.2.2. Antioxydants synthétiques	29
I.4.1.3. Mécanismes d'action des antioxydants.....	29
I.4.1.4. Activité anti oxydante des poly-phénols	29
II / Activités Antimicrobiennes	30
II.1/ Introduction.....	30
II.2/ Principales substances antimicrobiennes.....	30
II.2.1/ Les antibiotiques.....	30
II.2.2 / Les plantes comme antibiotiques	30
II.3/ / Mode d'action d'activités antimicrobiennes des huiles essentielles	31
II.4/ Activité antimicrobienne des Polyphénols	32
II.5/ Généralités sur les bactéries étudiées.....	33

II.5.1/ <i>Echerichia coli</i>	33
II.5.2/ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
II.5.3/ <i>Staphylococcus aureus</i>	35

Partie 02 : *Analyse comparative*

CHAPITERE 01: Analyse comparative de la composition d'huiles essentiels et polyphénols et leurs activités biologique d'*I. viscosa* et *I. crithmoides*, *C. dimorpha* et *C. sphaerocephala* .

I. Comparaison des résultats et discussion de l'analyse GC/MS entre <i>Inula viscosa</i> et <i>Inula crithmoides</i>	36
36I.1.1 . Composition des HE d' <i>Inula viscosa</i>	36
I.1.2. Composition des HE <i>Inula crithmoides</i>	38
I.2/ les polyphénols.....	40
I.2.1 Constituent polyphénolique d' <i>Inula viscosa</i>	40
I.2.1 Constituent polyphénolique d' <i>Inula crithmoides</i>	42
I.3 / L'activité antioxydant.....	42
I.3.1 <i>Inula viscosa</i>	42
I.3.2 <i>Inula crithmoides</i>	43
II. Comparaison des résultats et discussion de l'analyse GC/MS entre <i>Centaurea dimorpha</i> Viv. et <i>Centaurea sphaerocephala</i> L.....	44
II .1 /Les constituants de HE	45
II.1.1 Composition des HE du <i>Centaurea dimorpha</i> Viv.	45
II.1.2 Compostion des HE du <i>Centaurea sphaerocephala</i>	46
II.2/ Les polyphénols.....	46
II.2.1 Constituent polyphénolique <i>Centaurea dimorpha</i>	47
II.2.2 Constituent polyphénolique <i>Centaurea sphaerocephala</i>	47
II.3 / Les activités biologique.....	47
III.3.1 <i>Centaurea dimorpha</i>	48
III.3.2 <i>Centaurea sphaerocephala</i>	48
II.4 Activités antimicrobienne.....	49
II.4.1 <i>Centaurea dimorpha</i>	49
II.4.2. <i>Centaurea sphaerocephala</i>	50
Conclusion	52
Listes des références bibliographiques	53
Résumé et mots clés	

Remerciement

Tout d'abord, nous rendons grâce à dieu tout puissant, De nous avoir accordé l'opportunité, la bonne santé, l'énergie et la volonté pour mener à terme notre formation de master et pouvoir réaliser ce projet de fin d'étude.

Je remercie vivement le Professeur **Belkhassem A.bde Louhab** de l'Université **MOHAMED BOUDIAF -M'SILA** d'avoir accepté de diriger ce travail de Mémoire et de m'avoir soutenue, pour son aide, ses précieux conseils, sa compréhension et son soutien moral lors de la rédaction de ce manuscrit.

Je remercie vivement les membres de ce jury:

- *Monsieur le professeur **Dr. Smaili Tahar***

Je suis très honorée que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements et soyez assuré de ma profonde gratitude.

- *Monsieur le docteur **Dr. Biskri Momamed**, votre venue en tant qu'examineur m'honore, je vous suis très*

reconnaissante et je vous adresse mes vifs remerciements.

Enfin je tiens également à remercier tous mes enseignants de l'université de MOHAMED BOUDIAF -M'SILA, ainsi que le personnel des laboratoires et le personnel administratif



DÉDICACES

اللهم أنت ربي لا إله إلا أنت خلقتني و أنا عبدك و أنا على
عبدك ووعدك ما استطعت ، أعوذ بك من شر ما صنعت ، أبوء
لك بعجزتي على و أبوء لك بذنبي فاغفر لي فإنه لا يغفر
الذنوب إلا أنت

*Je tiens tout d'abords à remercier **ALLAH** le tout
puissant de m'avoir donné la santé , la force et le courage afin
d'achever ce travail.*

*À mes très chers parents **Nouari et Khaira** ; sans votre affection, vos conseils,
vos sacrifices, vos
encouragements, vos prières et vos efforts que vous avez déployés durant toute
ma vie, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé.*

*À mes sœurs **Amira , Nawal et Nasima** , À mes amis et mes collègues.*

*Et mes oncles **Dr. Azouz et Moussa** et tous mes familles.*

À toute ma famille Pour ses encouragements

*À tous mes enseignants de l'université **Mohamed Boudiaf - M'sila** en
particulier la faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie.*

pour leurs soutien moral et encouragements et atteint ce stade.

À tous ceux qui aiment la science.

Imane

DÉDICACES

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance ...

Aussi c'est tout simplement qui je dédie se projet de fin d'étude...

A mes chers parent : Salah et chahrazed

Autant de phrases d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Que Dieu, le tout puissant, vous préserve, vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal.

A la lumière de ma vie, mon mari okba pour leur Dévouement, qui a partagé mes souffrances, toujours à été présente dans les moments les plus difficiles.

A ma sœur Riham

A mon chers frères Akram et bahaelddine

A mon binôme Imane avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.

A Tous mes amis(e)s

A toute personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes étude.

Ikram

Avec beaucoup de tendresse



Liste d'abréviations

% : Pourcentage

ABTS : 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid).

AcOEt : acétate d'éthyle

ADN : acide désoxyribonucléique

AFNOR - NF : Association Française de Normalisation - Norme Française.

ARN : acide ribonucléique

C. sphaerocephala : *Centaurea sphaerocephala*

C. dimorpha : *Centaurea dimorpha*

CI50 : concentration inhibitrice de 50% de la population cellulaire

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl

E. coli : *Escherichia coli*

EAA/g MS : mg EAA/g Ms : milligramme Equivalent d'Acide Ascorbique par gramme de matière sèche.

EOA : Espèces Oxygénées Activées.

ERN : Espèces réactives de l'azot

ERO : espèces réactives oxygénées

et al : et autres auteurs.

EtOH : éthanol

Fig. : Figure

g : gramme

GC/MS : Analyse par Chromatographie gazeuse couplé à la Spectrométrie de Masse

HE : huiles essentielles

I. crithmoides : *Inula crithmoides*

I. viscosa : *Inula viscosa*

IR : Indice de Rétention

UV : ultraviolet

mg / mL : Milligramme sur millilitre

n-BuOH : n-butanol

pH : Potentiel d'Hydrogène

RL : Radicaux libres

ROS : Reactive oxygen Species (**espèces réactives de l'oxygène**).

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. officinalis : *Salvia officinalis*

Tab. : Tableau

TBHQ : tétrabutylhydroquinone

µg / mL : microgramme sur millilitre.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Les <i>Inules</i> (Benguerba, 2008).	05
Figure 02	Images représentant les différentes parties d' <i>Inula viscosa</i> (A) Appareil végétative d' <i>Inula viscosa</i> , (B) feuille dentée d' <i>Inula viscosa</i> (Original, 2020). (C) les fleurs d' <i>Inula viscosa</i> (Rekkal; Maachou, 2016).	07
Figure 03	Repartions géographique de <i>Inula viscosa</i> (L).	07
Figure 04	<i>Inula crithmoides</i> L. (Benguerba, 2008).	09
Figure 05	Quelques espèces de genre <i>Centaurea</i> (Asteraceae) (Azzouzi, 2017).	10
Figure 06	(a) <i>Centaurea dimorpha</i> Viv. (b) Herbarium de <i>Centaurea dimorpha</i> Viv. (Azzouzi, 2016).	13
Figure 07	<i>Centaurea sphaerocephala</i> . (https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Centaurea_sphaerocephala&oldid)	14
Figure 08	Structures de quelques coumarines (Bruneton, 1993; Wagner et Bladt., 1996).	17

Figure 09	Squelette de base des flavonoïdes (Collin et Creast, 2011).	18
Figure 10	Structure de base la molécule isoprène (Malecky, 2006).	20
Figure 11	Exemples de composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des huiles essentielles (Bruneton, 1999).	22
Figure 12	Exemples de composés aromatiques C6-C1 rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999).	22
Figure 13	Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles (Bakkali et al., 2008).	23
Figure 14	La balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants (Nkhili, 2009).	24
Figure 15	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).	25
Figure 16	Principales espèces réactives de l'oxygène et enzymes antioxydantes (Ichai et al., 2011).	25
Figure 17	Action de la superoxyde dismutase sur l'anion superoxyde (Afonso et al., 2007).	27
Figure 18	Schéma récapitulatif des modes d'actions des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).	28

Figure 19	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).	32
Figure 20	Aspects microscopique de d' <i>Escherichia coli</i> .	34
Figure 21	Aspects microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (354×300) (Philippon et Lalande, 2005).	34
Figure 22	Test de phosphomolybdate chez les deux extraits méthanolique des fleurs et/ou des feuilles d' <i>Inula viscosa</i> .	42
Figure 23	Scavenging activity of essential oils against the DPPH at different.	48
Figure 24	Scavenging activity of methanol extract against the DPPH at different concentration.	48
Figure 25	Capacité de piégeage des radicaux libres d'extraits d'EtOAc and <i>n</i> -BuOH de <i>C. sphaerocephala</i> à l'aide de DPPH (Lahneche, 2019).	49

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Usages traditionnels de quelques espèces du genre <i>Inula</i> (Benguerba, 2008).	05
Tableau 02	Composition chimique de quelques espèces du genre <i>Centaurea</i> .	11
Tableau 03	Classification des composés phénoliques (Bruneton, 1999).	16
Tableau 04	Quelques exemples des acides hydroxybenzoïques et des acides hydroxycinnamiques (Vermerris et Nicholson, 2006; Rong, 2010).	16
Tableau 05	Structures de quelques flavonoïdes.	18
Tableau 06	Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin-Ramonatxo, 2006).	28
Tableau 07	Composition des l'huiles essentielles des parties aérienne fraîche d' <i>I. viscosa</i> (L.) Ait.	36
Tableau 08	Pourcentage de la composition de l'huile d' <i>Inula crithmoides</i> .	39
Tableau 09	Résultats du screening phytochimique.	41
Tableau 10	Contenu total en phénolique et en flavonoïde d' <i>Inula</i> (<i>sp</i>).	44

Tableau 11	Pourcentages des compositions des HE d'espèce <i>Centaurea dimorpha</i> .	45
Tableau 12	Pourcentages des compositions des HE d'espèce <i>Centaurea sphaerocephala</i> .	56
Tableau 13	L'effet de l'activité antimicrobienne sur l'espèce <i>C. dimorpha</i> .	49
Tableau 14	L'effet de l'activité antimicrobienne sur l'espèce <i>C. sphaerocephala</i> .	50



Introduction

Introduction

L'homme est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes. La plupart de grands médecins du passé ont été de phytothérapeutes **(Goeb, 1999)**.

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S); la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit) **(Adjanohoun et al., 1979)**.

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à coté des métabolites primaires, ils accumulent des métabolites dits secondaires **(Merzougui, 2012)**.

De ce fait, la recherche sur les substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années et l'industrie pharmaceutique moderne qui est toujours à la recherche de nouveaux composés actifs en vue de les exploiter et les utiliser à des fins utiles, s'inspire encore largement de métabolites secondaires végétaux tels que les polyphénols, les alcaloïdes et les huiles essentielles **(Gurib-Fakim, 2006)**.

Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique **(Epifano et al., 2007)**.

Les plantes aromatiques sont prometteuses et constituent une grande source d'antioxydants et d'antibactériens naturels pour l'industrie agroalimentaire. La présence des antioxydants dans l'alimentation est devenue essentielle pour la qualité et la sécurité de l'aliment. Les effets négatifs des antioxydants synthétiques encouragent à leur substitution par des agents naturels **(El kalamouni, 2010)**.

Selon Hanifi (1991), l'Algérie, par sa surprenante richesse en biodiversité (faune et flore) renferme de nombreuses espèces. On y dénombre plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques . Ces plantes, avec plus de 15 % sont endémiques, ne sont que peu explorée.

L'Astéracées Parmi les familles qui appartiennent à cette catégorie des plantes aromatiques et médicinales, La famille des composées est l'une des plus distribuée dans le règne végétal. Cette famille comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces (**Besri, 1975; Kambouche, 2009**). En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces (**Leroux, 1992**), 111 genres et 638 espèces (**Besri, 1975**) .

Parmi les plantes étudiées dans cette recherche est : *Inula viscosa*, *Inula crithmoides*, *Centaurea dimorpha*, *Centaurea sphaerocephala* .

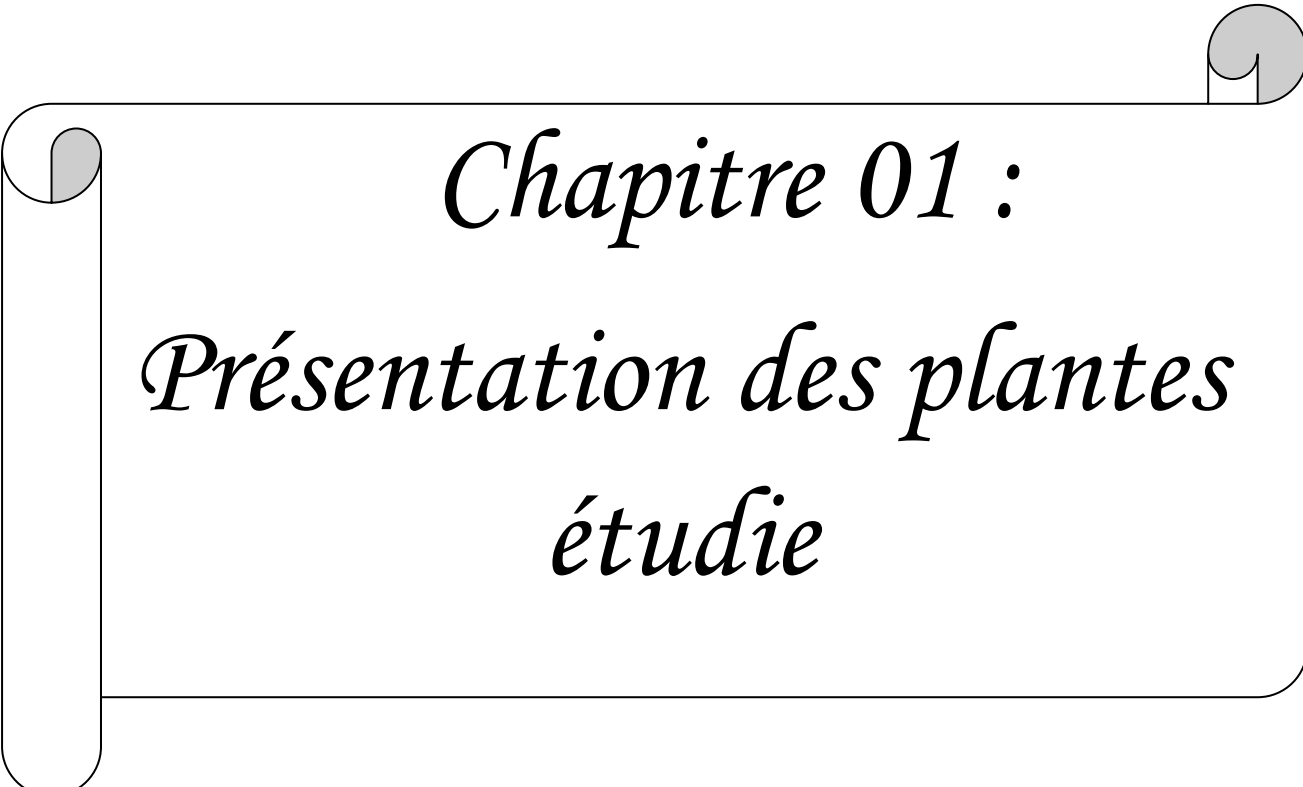
Le but de notre étude est d'apporter des connaissances chimiques et biologiques des ces plantes *Inula viscosa*, *Inula crithmoides*, *Centaurea dimorpha*, *Centaurea sphaerocephala* appartenant à la famille du Astéracées.

Notre étude est basée sur les objectifs suivants:

- Etude bibliographique des connaissances botaniques et phytochimiques de la famille Astéracées .
- Etude bibliographique des métabolites secondaires.
- Analyse comparative de la composition des HE et polyphénols et leurs activités biologiques : *Inula viscosa*, *Inula crithmoides*, *Centaurea dimorpha*, *Centaurea sphaerocephala* .
- L'effet de teneur des polyphénols et la richesse des compositions des HE sur l'activités antioxydants et antimicrobiennes .



Partie 01 :
Etude bibliographique



Chapitre 01 :
Présentation des plantes
étudiée

I. Généraliste sur la plante

I.1 - Généraliste Les plantes médicinales

Selon **Dibong et al. (2011)**, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Ces derniers à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes .

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Zeghad, 2009**).

I.2. Aspect botanique

I.2.1. Généralités sur la famille des Astéracées

D'après **Harkati (2011)**; **Mezache (2010)**, le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Les Astéracées (Asteraceae) sont une grande famille de plantes dicotylédones, appelées aussi Composées (Compositae) ou, plus rarement des Composacées. La famille des Astéracées est une importante famille qui comprend près de 23000 espèces (**Barreda et al., 2015**), réparties en 1500 genres décrites dont 750 endémiques (**Harkati, 2011**). Bien que tous les types biologiques se retrouvent chez les composées: arbres, lianes, arbustes, plantes succulentes, épiphytes, plantes aquatiques, etc. la plupart des espèces sont surtout des plantes herbacées vivaces ou annuelles (**Bremer et al., 1994**).

I.2.2. Description botanique des Asteraceae

Selon **Gaussen et al. (1982)**; **Funk et al. (2009)**, les Asteraceae présentent des caractères morphologiques divers, ils sont principalement des herbes vivaces ou annuelles, des arbustes ou sous-arbrisseaux, rarement des plantes aquatiques ou grimpantes ou encore des épiphytes. L'aspect de l'appareil végétatif est très variable pour caractériser les Asteraceae sur un seul critère. En revanche, La famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques: le capitule. Les feuilles sont le plus souvent alternes, opposées ou verticillées, simples, parfois profondément lobées ou découpées, à nervation généralement pennée ou palmé .

Les fleurs sont agglomérées en capitules, terminales ou axillaires. L'organisation florale des capitules est très importante à connaître en systématique. Cependant, en certains cas, le nombre de fleurs est assez restreint, on dit qu'ils sont pauciflores quand il y a 8-15

fleurs (ou moins) (genre *Achillea*). Dans le cas extrême on trouve même des capitules uniflores (*Xanthium*, *Echinops*) mais c'est l'exception (**Bonnier, 1934; Funk et al., 2009**).

Les fleurs qui composent le capitule sont cyclique, hétérochlamyde, gamopétale, hermaphrodites ou unisexuées, parfois stérile, actinomorphes ou zygomorphes. Le Calice est absent ou réduit, se développant après fécondation en Pappus. Et la Corolle peut être soit régulière et pentalobée, soit zygomorphe et bilabée, soit unilatéralement développée en une longue ligule tri ou pentadentée. Le grain de pollen des Asteraceae est généralement tricolporés (**Spichiger et al., 2004; Judd et al., 1999**).

Suivants le types de fleur composant le capitule, on a les inflorescences suivantes: Tubuliflores: composées uniquement de fleurs actinomorphes, tubuleuses (*Centaureae*); dont la corolle est en forme de tube droit ou courbe et terminé, en général, par 5 dents ou lobes plus ou moins prononcés, égaux ou inégaux. Les liguliflores: composées uniquement de fleurs zygomorphes, ligulées à cinq dents (*Lactuca*), dont la corolle est déjetée en majeure partie, sur le côté en une lame aplatie qui se termine par 3 ou 5 dents. Labiatiflores: composées uniquement de fleurs zygomorphes bilabées (*Mutisia*). Et radiées; composé par des fleurs zygomorphes ligulées à trois dents à la périphérie entouré des fleurs actinomorphes tubuleuses au centre (**Senecio**) (**Spichiger et al., 2004**).

D'après **Spichiger et al. (2004)**, le fruit est un akène, sa forme est variable : cylindrique, linéaire, obovale, tétraédrique, etc. La surface peut être : lisse, côtelée, rugueuse, tuberculée, aiguillonnée, glabre ou poilue, etc. Le sommet est parfois nu (l'akène est alors dit chauve) mais, très souvent, couronné généralement d'une aigrette de soie appelée Pappus provenant du développement du calice après fécondation, dont le rôle est de favoriser la dissémination, La graine possède un embryon droit sans albumen: exalbuminées.

I.2.3. Présentation du genre *Inula*

Le nom *Inula* est très ancien et vient du nom de l'espèce *Inula helenium* et généraliser pour tout le genre. Le nom *Helenium* découlerait du grec "helen". La légende antique raconte que la fleur serait née des larmes de la belle Hélène de troie.

Le genre *Inula* comprend une variété d'environ 90 espèces. Ce sont des plantes herbacées vivaces, à feuilles alternes. Capitules jaunes, contenant à la fois des fleurs tubuleuses et des fleurs ligulées. Bractées en plusieurs séries. Fleurs périphériques pistillées , à ligules tridentées. Anthères sagittées à la base. Achaines munis de côtes (**Benguerba, 2008**) (**Fig. 01**) .

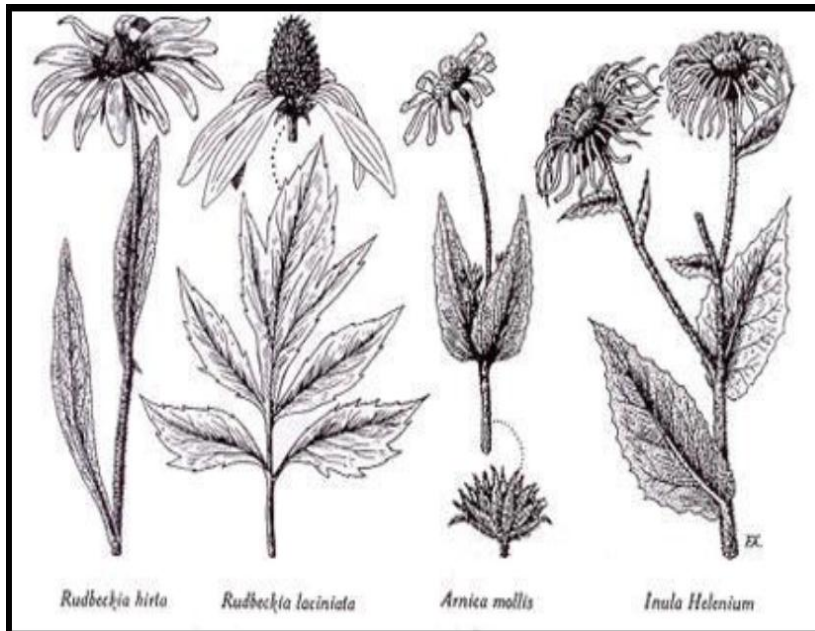


Fig. 01: Les *Inules* (Benguerba, 2008).

I.2.4. Usages traditionnels

Selon **Benguerba (2008)**, la médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques aux espèces du genre *Inula*. On va présenter les multiples usages traditionnels de quelques espèces du genre *Inula*. **Tab. 01** résume l'usages traditionnels de quelques espèces du genre *Inula*.

Tableau 01 : Usages traditionnels de quelques espèces du genre *Inula* (Benguerba, 2008)

Espèces	Usages traditionnels
<i>Inula helenium</i> L.	Comme un remède familial en japon; Comme une diaphorèse en Europe, et en Taiwan et chine; Comme un agent thérapeutique pour la tuberculose et l'entro gastrique chronique; (Okuda, 1986) . Elle a aussi des propriétés antiseptiques, antibiotiques; Antispasmodiques, toniques et aromatiques.
<i>Inula britannica</i> L.	Les fleurs de ces plantes ont été utilisées pour le traitement des troubles digestifs, la bronchite, et l'inflammation. <i>Inula britannica</i>

	a aussi une activité anti-inflammatoire, antibactérienne, antihepatique et antitumorale.
<i>Inula royleana</i> L.	Ces racines possèdent une activité anti inflammatoire, antibiotique et une activité vermifuge (Blaschek et al., 1998; Konishi, 2002) .
<i>Inula racemosa</i> L.	En médecine traditionnelle chinoise, les racines d’herbe d’ <i>Inula racemosa</i> ont été habituellement employées pour fortifier la rate, réguler la fonction de l’estomac, soulager la dépression du qi de foie, alléger la douleur rhumatismales particulièrement entre le cou et les épaules et pour empêcher l’avortement (Tsarong, 1994).
<i>Inula montana</i> L.	Possède une activité sur le système digestif (Tardio et al ., 2002).
<i>Inula salicina</i> L.	Digestif, antidiarrhéique (Tardio et al., 2002).
<i>Inula conyza</i> DC.	Laxative, vulnéraire (Villar et al., 1987).
<i>Inula viscosa</i>	Possède une activité curative de blessure avec l’extrait du l’ <i>Inula viscosa</i> (Khalil et al., 2007)

II. Présentation d’*Inula viscosa*

II.1. Description botanique de la plante

D’après **Quezel et Santa (1963)**, décrivent *Inula viscosa* comme étant une plant annuelle herbacée , pérenne ou vivace chez laquelle les branches ligneuse bourgeonnent à chaque printemps (**Fig. 02-A**). La plante est visqueuse et très odoriférante, à odeur de camphre. Toute la plante est couverte de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante. La racine est pivotante, ligneuse à sa base (pouvant atteindre 30 cm de long). Les tiges sont frutescentes à la base de 40-100 cm, à rameaux rougeâtres. Les feuilles sont

entières ou dentées, aiguës, sinuées, insérées directement sur la tige pour les caulinaires. Elles sont glanduleuses sur les deux faces (**Fig.02-B**).

Les fleurs sont rayonnantes, regroupées en inflorescences (capitules) formant de longues grappes de capitules, pyramidales (**Fig.02-C**). Les fruits sont des akènes de un à 2 mm de long. Ils sont rassemblés sur le réceptacle du capitule.

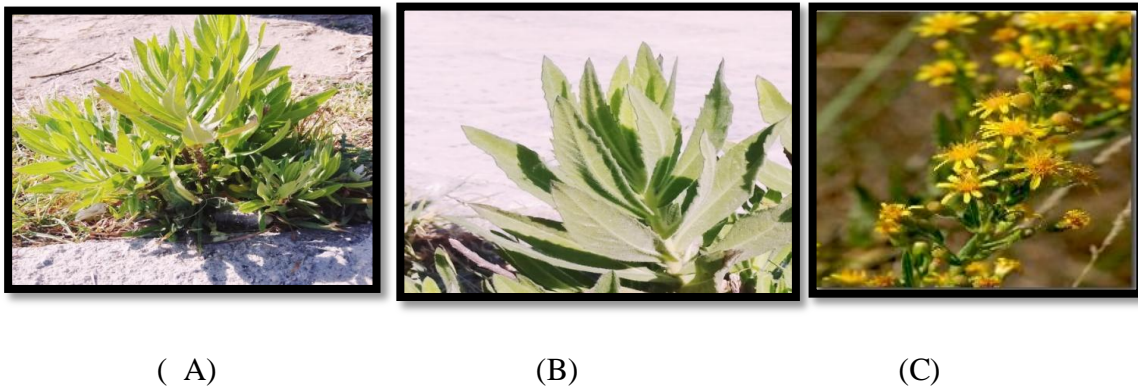


Fig. 02: Images représentant les différentes parties d'*Inula viscosa* (A) Appareil végétative d'*Inula viscosa*, (B) feuille dentée d'*Inula viscosa*, (Original, 2020). (C) les fleurs d'*Inula viscosa* (Rekkal et Maachou, 2016) .

II.2 Répartition Géographique

Inula viscosa (L) est largement répandue dans le bassin méditerranéen (Espagne, France, Algérie, Maroc) en Asie (Chine, Japon, Korea) (**Quezel et Santa, 1963**).

En Algérie on la trouve dans les rocailles et les terrains argileux (**Benayache et al., 1991**), sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau (**Quezel et Santa, 1963**) (**Fig. 03**).



Fig. 03: Repartions géographique de *Inula viscosa* (L).

II.3 Nomes vernaculaires

Nom français: Inule visqueuse.

Nom arabe: Rassendebk, Tioune Tebak Mersitt.

Alger: Hifna, Safsak Magramane.

Maghreb: Terahla, Magraman.

Kabylie: Telirine, Nirette, Amrillele, Serchil.

Nom anglais: Ele campagne, Rock flea-bane (**Quezel et Santa, 1963; Halimi, 2004**).

II.4 Classification dans la systématique botanique.

Règne: Plantae

Embranchement : Angiospermes

Sous- Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Inula*

Espèce : *Inula viscosa* (L.)

II.4 Utilisation des *Inula viscosa*

Inula viscosa (L.) Aiton (= *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter), Asteraceae, est une plante herbacée vivace topique utilisée dans la médecine traditionnelle comme anti-gale, anti-inflammatoire, elle est connue pour ses propriétés antiseptiques et son efficacité contre les inflammations de la peau, antilytique rénal, diurétique, Antihypertensive. *L'Inula viscosa* est un désinfectant, un cicatrisant, et un déodorant de premier ordre. Elle est également employée contre les affections pulmonaires et les maux de tête.

D'après **Benyache et al. (1991)**, les feuilles d'*Inula viscosa* secrètent un mélange de résines tout en long de la durée de vie des feuilles. Ces exsudats se composent de plusieurs flavonoïdes aglycones, ainsi que de nombreux Terpénoïdes. Ils montrent une forte activité allélopatie ainsi que contre l'effet inhibiteur des micro-organismes phytopathogènes.

Les parties aériennes de la plante sont employées comme décoction dans le traitement du diabète, de l'hypertension et des maladies rénales, dans le secteur méditerranéen. Elle a été employée dans la médecine traditionnelle pour ses activités antipyrétiques, antiseptiques anti-inflammatoires (**Benyache et al., 1991**).

II.5 Présentation de l'espèce *Inula crithmoides* :

Parmi les espèces appartenant au genre *Inula*, l'espèce *Inula crithmoides* qui fait l'objet de notre travail pour une investigation phytochimique profonde.

Dont nous allons déterminer les différents métabolites secondaires, en particulier les flavonoïdes.

II.6 Description botanique et aire géographique

D'après **Quezel et Santa (1963)**, *Inula crithmoides* est une plante vivace de 50 - 80 cm de hauteur; à tiges simples et raides formant des touffes.

Les Feuilles charnues, linéaires, sessiles, obtuses, étroites sans pétiole ayant 3 dents à l'extrémité.

Les Fleurs hermaphrodites sont groupées en corymbes de capitules; les fleurs sont jaunes en tube; les extérieures en forme de languette dépassant l'involucre (ensemble des bractées entourant le capitule).

Les Fruit velus à aigrette roussâtre sont des akènes transportés par le vent. Elle pousse sur le littoral arrosé par les embruns salés (espèce haophile) et sur les sols riches en eau (hygrophile) des prés salés, des lagunes ou des marais salants. (**Fig. 04** représente l'espèce d'*Inula crithmoides* L.).



Fig. 04 : *Inula crithmoides* L. (Benguerba, 2008).

III. Présentation du genre *Centaurea*

D'après **Dittrich (1977)**; **Bremer (1994)**; **Wagenitz et Hellwig (1996)**, le genre *Centaurea* comprend entre 400 et 700 espèces, la délimitation du genre est parmi les problèmes taxonomiques les plus compliqués de la famille des Astéracées.

Ce genre est très répandu aussi bien sur le territoire Algérien qu'en Europe méridionale, le bassin méditerranéen, l'ouest de l'Asie et le continent Américain (**Mabberley, 1987**). La **fig. 05** représente quelques espèces du genre *Centaurea*.

Elles se rencontrent sur différents types d'habitats (**Hellwing, 2004**) tel que, les déserts et les semi-déserts, les pentes raides, les hautes montagnes, les terres arables, les zones à inondations périodiques, les zones sèches et partiellement exposées au soleil.



Fig. 05: Quelques espèces de genre *Centaurea* (Asteraceae) (Azzouzi, 2017).

III.1 Caractéristique botanique

Se sont des herbacées annuelles, vivaces et arbrisseaux. Possédant des feuilles à épines faibles et peu piquantes. Les fleurs sont toutes tubulées, les externes souvent plus grandes stériles et étalées. Les aigrettes des fleurs centrales à soies lisses ou dents courtes. Les bractées involucrelles terminées par une formation différenciée qui porte une épine pectinée (*Asterales-J. et E., 2014*).

III.2. Composition chimique du genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* est connu pour produire des lactones sesquiterpéniques du groupe des germacranolides et des guainolides, du type de la solstitialine et de la répine (**Bellakhder, 1997**). Les flavonoïdes ont été signalés dans de nombreuses espèces *Centaurea* et près de 80

taxons ont été étudiés pour leur contenu en flavonoïdes, isolées à partir des feuilles, des parties aériennes et parfois des racines de nombreuses espèces de *Centaurea*, et identifiés comme des flavones, des flavonols, 6-deoxyflavones, et leurs O-et C-glycosides (Mishio et al., 2006). Le Tab. 02 résumer les composition chimique de cette genre.

Tableau 02: Composition chimique de quelques espèces du genre *Centaurea*.

Nom commun	Nom scientifique	Composition chimique	Références
Nagour	<i>Centaurea calcitrapa</i> L.	Lactones sesquiterpeniques comme la costunolide et la zaluzanine germacranolides, eudesmanolides et guaianolides.	Bentamène et al., 2005
	<i>Centaurea cyanus</i> L.	Substance amère, l'acide calcitrapique, un glucoside ; la cnicine.	Bellakhder, 1997
	<i>Centaurea montana</i> L.	Principe amère : la cnicine ou centaurine, les fleurs renferment un glucoside, la cyanidine.	Schauenberg et Paris, 2006
Centaurée des montagnes	<i>Centaurea acaulis</i> L.	Substance amère, centaurine, quelques traces d'hétérosides, de la cichoriine, des tanins, des cyanines sensibles à la lumière et du potassium 10,5% de protéines par rapport au poids sec, et deux lactones sesquiterpeniques.	Bellakhder, 1997

III.4 Les métabolites secondaires les plus courants du genre *Centaurea*

Comme nous l'avons mentionné précédemment, le genre *Centaurea* est une source importante dans le règne végétal qui produit de nombreux produits naturels: notamment les lactones sesquiterpéniques, les flavonoïdes, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes.

Les composés qui caractérisent ce genre sont connus pour leurs activités biologiques diverses notamment l'activité antioxydante et l'activité cytotoxique (Amr. M., 1997).

III.5 Utilisation en médecine traditionnelle

Dans la littérature, plusieurs espèces du genre *Centaurea* sont référencées pour leur large utilisation en médecine traditionnelle (Kamanzi et al., 1983; Yesilada, 2002).

Selon **Belkassam et al. (2019)**, les espèces *Centaurea* ont été utilisées pour leurs propriétés antipelluculaires, antidiarrhéique, antirhumatismales, anti-inflammatoires, cholérétique, diurétique, digestives, gastrique, astringentes, antipyrétique, cytotoxique et propriétés antibactériennes. On peut citer par exemples:

Centaurea uniflora utilisée contre la fièvre et pour la désintoxication (**Belkassam et al., 2019**);

L'extrait aqueux de *Centaurea chlensis* et *Centaurea orné* a été utilisé pour réduire la fièvre et douleur rhumatismal (**Belkassam et al., 2019**);

Les espèces de *Centaurea ornato*, *Centaurea aspera*, *Centaurea seridis* et *Centaurea melitensises* et *Centaurea pallascens* également comme *Centaurea sinaica* sont également utilisés comme diurétique (**Belkassam et al., 2019**).

D'après **Khammar et Djeddi (2012)**, l'extrait *C. uniflora* avec de l'acétate d'éthyle inhibe la peroxydation des lipides membranaires et présente des effets à propriétés anti-athérosclérotiques;

Dans la médecine populaire turque, plusieurs de *Centaurea* étaient particulièrement recommandées pour contrôler les conditions inflammatoires telles que les abcès (*C. iberica*), l'asthme (*C. iberica*) et pour réduire la fièvre (*C. calcitrapa* et *C. jacea*);

C. pullata est utilisée en Algérie dans la préparation avec d'autres plantes d'un plat traditionnel local appelé « EL Hammama ».

III.6 Présentation et systématique de l'espèce : *Centaurea dimorpha*

➤ Description :

Selon **Abdelmadjid (2006)**, plante annuelle basse de 10 à 15 cm de haut, à tige principale très courte portant deux à trois rameaux plus longs qu'elle. Tiges ailées. Feuilles épineuses, découpées et velues. Fleurs rosées (**Fig. 06**).



(a)



(b)

Fig. 06: (a) *Centaurea dimorpha* Viv. (b) Herbarium de *Centaurea dimorpha* Viv. (Azzouzi, 2016).

- **Habitat:** Dépressions rocailleuses, hamada et lits d'oueds à fond rocailleux.
- **Répartition:** Sahara septentrional.
- **Période de végétation:** Floraison en avril – mai.
- **Nom arabe:** (Belala)
- **Utilisation:** Elle est utilisée pour le tannage (plante entière écrasée et étalée sur la peau).

Pharmacopée : Les sommités fleuries et des feuilles par décoction sont utilisées comme désinfectant.

Intérêt pastoral : Peu broutée par les dromadaires (Abdelmadjid, 2006).

III.7 Classification systématique de la plant

Règne : Plantae

Embranchement : Angiospermes

Sous-Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Asterales

Famille : Composées

Tribu : Cynarées

Genre : *Centaurea*

Espèce : *Centaurea dimorpha* Viv.

III.8 Présentation et systématique de l'espèce: *Centaurea sphaerocephala*

➤ Description

Selon **Lahneche (2018)**, c'est une plante d'environ 25 à 50 de hauteur;

Plante vivace, ascendante jusqu'à la verticale. Les feuilles sont très polymorphes avec une certaine pilosité;

Fleurs se sont réunies en petits groupes dans des têtes solitaires aux extrémités des tiges;

Fruit atteignant 4,5mm de long, couronne de poils ciliés, absente des akènes les plus externes (**Fig. 07**).



Fig. 07: *Centaurea sphaerocephala*

(https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Centaurea_sphaerocephala&oldid)

III.9 Principaux métabolites secondaires isolés de la plante *Centaurea sphaerocephala*

Des études antérieures sur cette espèce ont conduit à l'isolement de flavonoïdes d'aglycones de type chrysoeriol et apigénine, de flavonoïdes glucosides de type chrysoeriol 7-O- β -glucoside. Ces études ont également permis l'isolement de lactones sesquiterpéniques de types germacranoloïde et elemadienoloïde, de lignanes de type matairesinol, arctigénine, arctiin, deux sesquilignans de type lappaol A et un isomère stéréo-ou structurel de lappaol A, et un nouveau dithiénylacétylène. La composition chimique de l'huile essentielle de cette espèce a également été rapportée notons que la fraction des acides gras et des hydrocarbures était dominante dont l'acide hexadécanoïque était le principal composant de l'huile de *C. sphaerocephala* (**Lahneche, 2018**).



Chapitre 02 :
Métabolisme secondaire

I- Généralités

Les métabolites secondaires sont des composés produits par des végétaux. Ils appartiennent à des groupes chimiques variés, et sont souvent produit une faible quantité (**Macheix et al., 2005**). Ils interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement. La défense contre les prédateurs et pathogènes, comme agents allélopathiques et pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (**Judd et al., 2002**).

I-1- Classification des métabolismes secondaires

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, Ils appartiennent à trois grandes familles:

- Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins) et les quinones.
- Les terpénoïdes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes (**Merghem, 2009**).

I-1-1- Composés phénoliques (Polyphénols)

Les poly phénols constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Les composés phénoliques constituent la base des principes actifs présents dans les plantes médicinales. Ils sont retrouvés en abondance dans les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits (**Bravo et al., 1994; Hennebelle et al., 2004**).

Ces composés ont en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonction hydroxyles (**Urquiaga et Leighton, 2000**). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acide phénolique) (**Macheix et al., 2005**).

I-1-1-1 - Classification des polyphénols

Selon **Bruneton (1999)**, le terme de composés phénoliques couvre un groupe très vaste et diversifié de produits, chimiques. Ils peuvent être classés dans un certain nombre de

façons dans les groupes en fonction du nombre d'atomes de carbone dans la molécule (**Tab. 03**).

Tableau 03: Classification des composés phénoliques (Bruneton, 1999).

Structure	Classe
C_6	phénols simples
$C_6 - C_1$	Acides phénoliques et composés dérivés
$C_6 - C_2$	Acétophénones et acides phénylacétiques
$C_6 - C_3$	Acides cinnamiques, coumarines, isocoumarines, chromones
C_{15}	Flavanols, flavanones, flavonols, flavonones, anthocyanines et anthocyanidines
C_{30}	Biflavonyles
$C_6 - C_1 - C_6$, $C_6 - C_1 - C_6$	Benzophénones, xanthonnes et stilbène
C_6 , C_{10} , C_{14}	Quinones
C_{18}	Bétacyanines
Lignanes, neolignanes	Dimères ou oligomères
Lignine	Polymères
Tanins	Condensé et hydrolysable

I-1-1-1-1 - Phénols simples et les acides phénoliques

Selon **Bruneton (1999)**, les phénols simples ce sont des composés à noyaux benzéniques liés à des groupements hydroxyles libres ou engagés dans les liaisons hétérosidiques, éther ou ester.

Les acides phénoliques sont des composés formés d'un ou de plusieurs noyaux benzéniques présentant une ou plusieurs fonctions carboxyliques. Ils dérivent des acides benzoïques et cinnamiques basés sur $C_6 - C_1$ et $C_6 - C_3$ (**Tab. 04**) (**Vermerris et Nicholson, 2006; Rong, 2010**). Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques (**Pandey et Rizvi, 2009**).

Tableau 04: Quelques exemples des acides hydroxybenzoïques et des acides hydroxycinnamiques (Vermerris et Nicholson, 2006; Rong, 2010).

	Acides hydroxybenzoïques	Acides hydroxycinnamiques
Structure		
Exemples	R ₁ =R ₂ =R ₄ =H, R ₃ =OH Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque R ₁ =R ₄ =H, R ₂ =R ₃ =OH Acide protocatéchique R ₁ =R ₄ =H, R ₂ =OCH ₃ , R ₃ =OH Acide vanillique R ₁ =H, R ₂ =R ₃ =R ₄ =OH Acide gallique R ₁ =OH, R ₂ =R ₃ =R ₄ =H Acide salicylique	R ₁ =R ₂ =H Acide cinnamique R ₁ =H, R ₂ =OH Acide <i>p</i> -coumarique R ₁ =R ₂ =OH Acide caféique R ₁ =OCH ₃ , R ₂ =OH Acide férulique

I-1-1-1-2- Coumarines

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus (**Ouahchia, 2018**), ce sont des dérivés du phénol propane, qui tirent leur nom de "Coumarou", nom de la fève Tonka (*Dipteryx odorata* Willd), d'où fut isolée la première coumarine (**Bruneton, 1993**). Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et peuvent capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**). La **fig. 08** illustre quelques structures des coumarines.

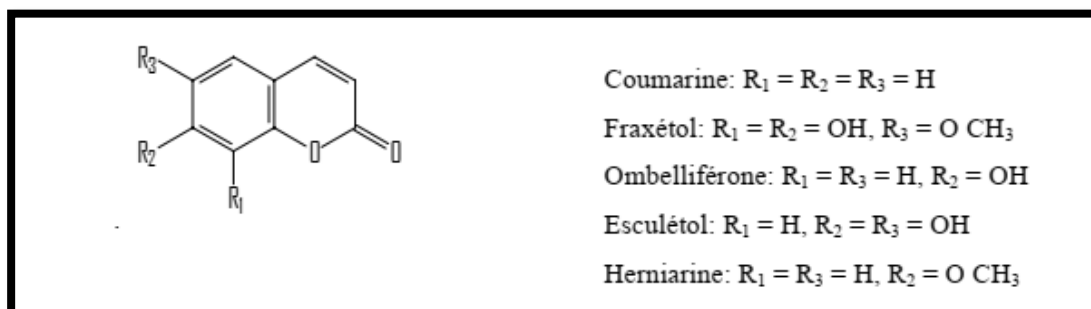


Fig. 08: Structures de quelques coumarines (**Bruneton, 1993; Wagner et Blatt., 1996**)

I-1-1-1-3 - Les Flavonoïdes

➤ Définition

Ce sont des pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Milane, 2004; Lhuillier, 2007**). Tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets. Composés phénoliques généralement interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transport des auxines et utilisés en systématique des plantes (**Judd et al., 2002**).

Selon **Dacosta (2003)**, leur structure de base est celle d'un diphényl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliées par un hétérocycle oxygéné, qui désignent la lettre C (**Fig. 09**).

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C, c'est-à-dire, la présence de double liaison C₂-C₃, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (**Yao et al., 2004; Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006**).

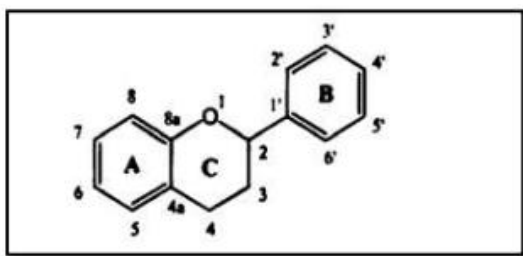


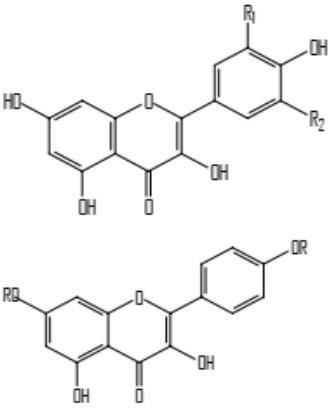
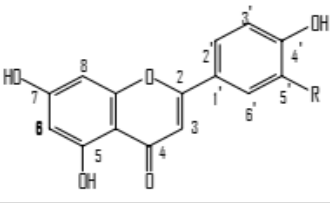
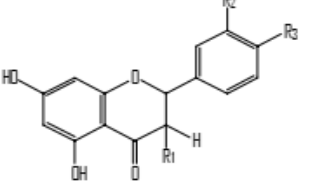
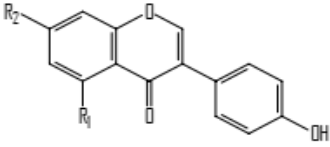
Fig. 09: Squelette de base des flavonoïdes (Collin et Creast, 2011).

➤ Classification

Selon la nature chimiques des flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones, isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanols, isoflavanols, flavanones, isoflavanones et auronones (**Havsteen, 2002; Edenharder et Grünhage, 2003**).

Ils sont résumer cette classification dans le **tab. 05** (d'après **Sahabi, 2009**).

Tableau 05: Structures de quelques flavonoïdes

Structures	Substitutions	Références
	Flavonols Quercétine: $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$, Kaempferol: $R_1 = R_2 = \text{H}$, Myricétine: $R_1 = R_2 = \text{OH}$ Structure d'un flavonol glycoside isolé d' <i>Indigofera tinctoria</i> L. R = rhamnose	Bruneton, 1993 Raj Narayana <i>et al.</i> , 2001
	Flavones Génines Apigénine: R = H Lutéoline: R = OH Hétérosides Apigénine-8-C-glucoside (Vitexine) Lutéoline-5-O-glucoside (Galutéoline)	Bruneton, 1993; Raj Narayana <i>et al.</i> , 2001 Wagner et Bladt, 1996.
	Flavanones et flavanols Naringénine: $R_1 = R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$ Eriodyctiol: $R_1 = \text{H}$, $R_2 = R_3 = \text{OH}$ Taxifoline: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$	Bruneton, 1993; Raj Narayana <i>et al.</i> , 2001 Wagner et Bladt, 1996
	Isoflavones Génisteine: $R_1 = R_2 = \text{OH}$ Daidzine: $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{O-glu}$	Bruneton, 1987; Bruneton, 1993; Raj Narayana <i>et al.</i> , 2001 Wagner et Bladt, 1996

I-1-2- Rôles et activités biologiques des polyphénols

Selon Macheix *et al.* (2005), les composés phénoliques peuvent intervenir :

- ❖ dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la Croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...);
- ❖ dans l'interaction des plantes avec leur environnement biologique et physique (relation avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV);
- ❖ dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...);
- ❖ dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possibles avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydants.

I-2- Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, appelés aussi terpènes existent chez toutes les plantes et représentent de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires avec plus de 22.000 composés décrits (Raven *et al.*, 2000). Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C5), communément appelée isoprène (Figure 10) (Ouahchia, 2018). On parle également de composés terpéniques ou terpénoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes (Bruneton, 1999; Harbone, 1969).

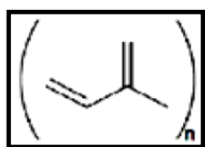


Fig. 10: Structure de base la molécule isoprène (Malecky, 2006)

Leurs classification est basée sur le nombre d'unités condensées « tête-à-queue » de cette molécule: hémmiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes. Plus de 40.000 composés terpéniques ont été trouvés, existant largement dans les fruits et légumes (Thoppil et Bishayee, 2011).

I-3- Les huiles essentielles

➤ Définition

La norme française **AFNOR NF T75-006** définit l'huile essentielle comme: « un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des Citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (Garnero, 1996).

➤ Localisation

Les huiles essentielles sont produit dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules dits à huiles essentielles tels que les poils sécréteurs, les poches sécrétrices ou dans des canaux excréteurs (Bruneton, 1999; Hazzit, 2002).

➤ propriétés physique

- ✓ Liquides à température ambiante;
- ✓ Les huiles essentielles sont volatiles;
- ✓ Elles ne sont que très rarement colorées;

- ✓ Solubles dans les solvants organiques usuels;
- ✓ Entraînés à la vapeur d'eau;
- ✓ Elles sont très peu solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**).

➤ **Composition chimique des huiles essentielles**

Selon **Buchanan et al. (2000)**, du point de vue chimique, les huiles essentielles sont constituées de mélanges extrêmement complexes. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) (**Fig. 13**) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane (**Fig. 13**), beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

a) Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en **monoterpènes** formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), **les sesquiterpènes**, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$), **les diterpènes**, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$). **Les tetraterpènes** sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. **Les polyterpènes** ont pour formule générale: $(C_5H_8)_n$ ou n peut être de 9 à 30. **Les térpénoïdes** sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide) (**Bakkali et al., 2008**).

a-a) Monoterpènes

Selon **Singh et al. (1989)**; **Kaufman et al. (1999)**, ce sont des molécules à 10 atomes de carbone, ils existent sous la forme d'hydrocarbures simples qui peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (ρ -cymène, α -terpinène), ou bicycliques (camphène, pinène). A côté des hydrocarbures, on rencontre des dérivés oxygénés divers: des aldéhydes (linalal, géranial..), alcools (citronellol, géranol..) et acides (acide linalique..) voire des esters (acétate de linalyle...).

a-b) Sesquiterpènes

il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple: β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α -bisabol, farnesol (Bruneton, 1999).

b) Les composés aromatiques

Selon Bruneton (1999), les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C₆-C₃ (fig. 11), parmi lesquels se trouvent des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des phénols (chavicol, eugénol), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrol).

Il est cependant possible de rencontrer des composés C₆-C₁, comme la vanilline (assez fréquente) et l'antranilate de méthyle (fig. 12), ainsi que des lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines, par exemple) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaibles par la vapeur d'eau (Bruneton, 1999).

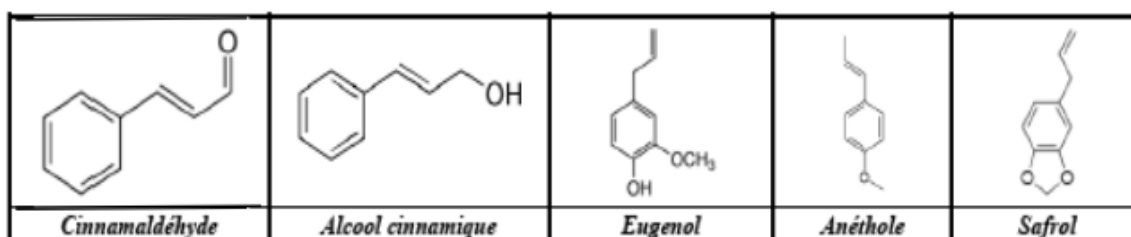


Fig. 11 : Exemples de composés aromatiques C₆-C₃ caractéristiques des huiles essentielles (Bruneton, 1999).

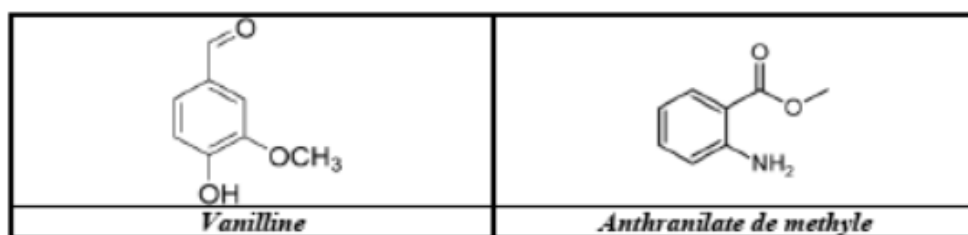


Fig. 12: Exemples de composés aromatiques C₆-C₁ rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999).

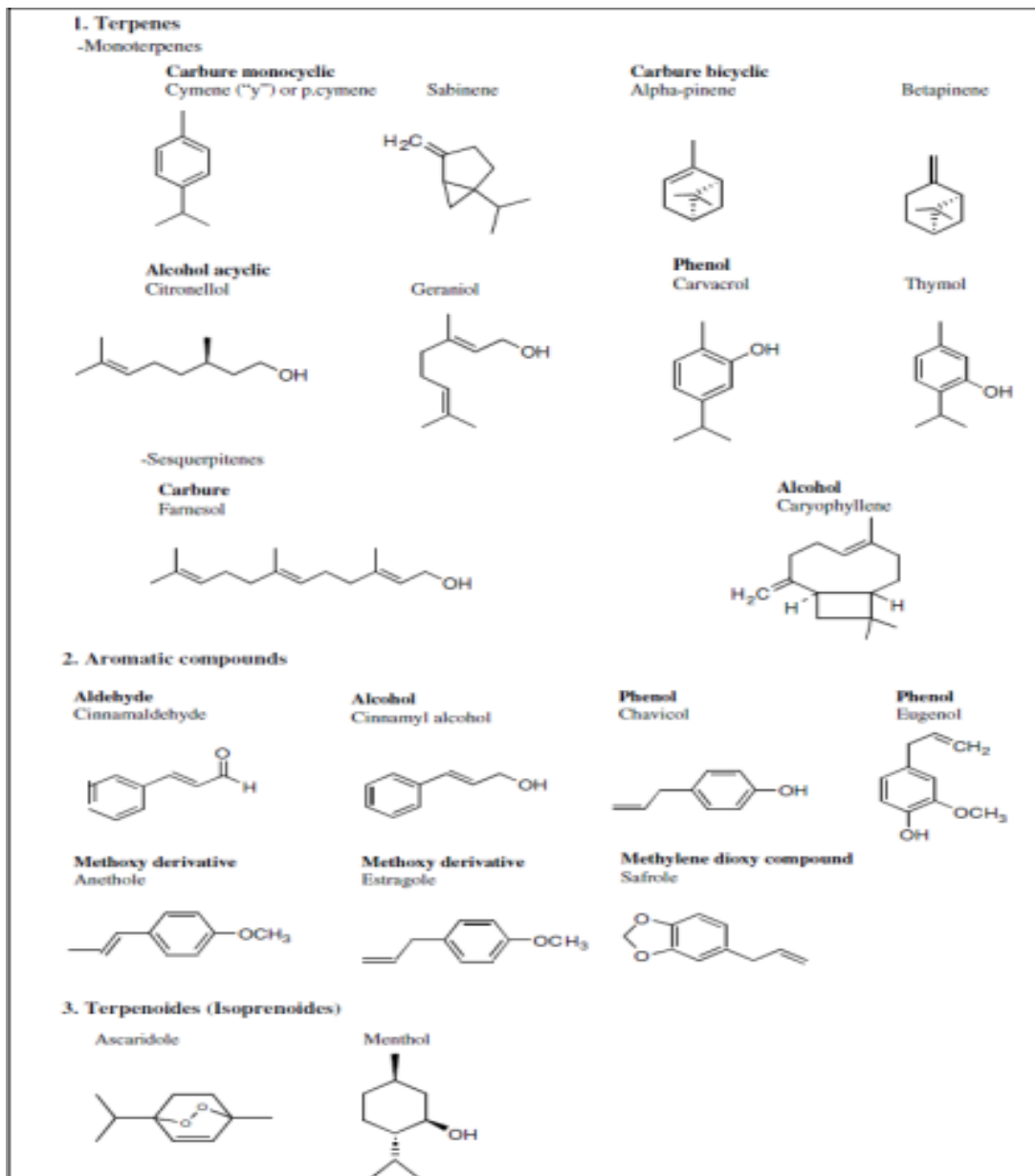
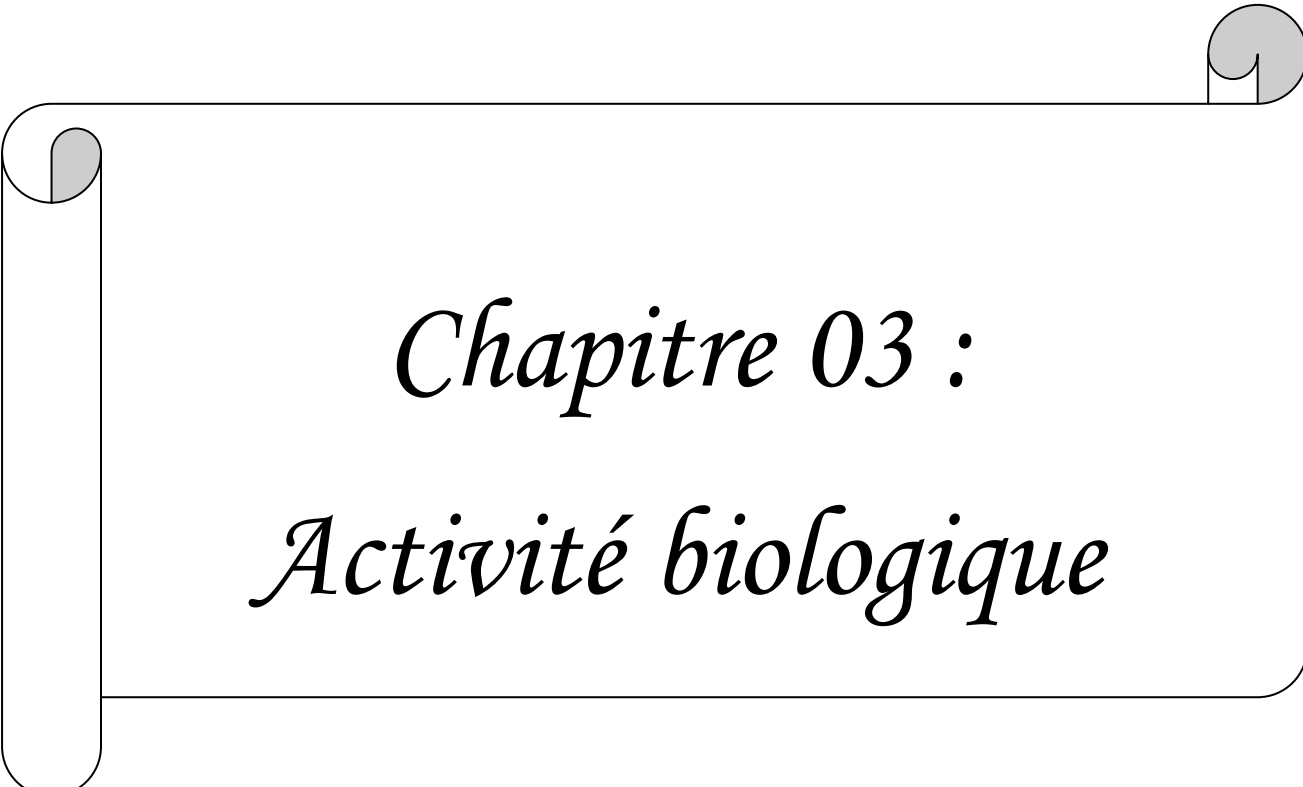


Fig. 13: Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles (Bakkali et *al.*, 2008).

I-4 - Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes, à caractère basique, présentant généralement une intense activité pharmacologique (Lamnaouer, 2002). Selon Merghem (2009), à état naturel on les retrouve sous forme de sels (tartrates et malates) ou combinés avec les tanins. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de plusieurs Réactifs (Kansole, 2009).



Chapitre 03 :
Activité biologique

I. Activités antioxydants

I.1. Stress oxydatif

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres (comme les ROS) (Sies, 1991), suite à une déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses antioxydants (Kirschvink *et al.*, 2008), ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (Pincemail *et al.*, 1999; Angelos *et al.*, 2005). Fig. 14 exprimer la d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants.

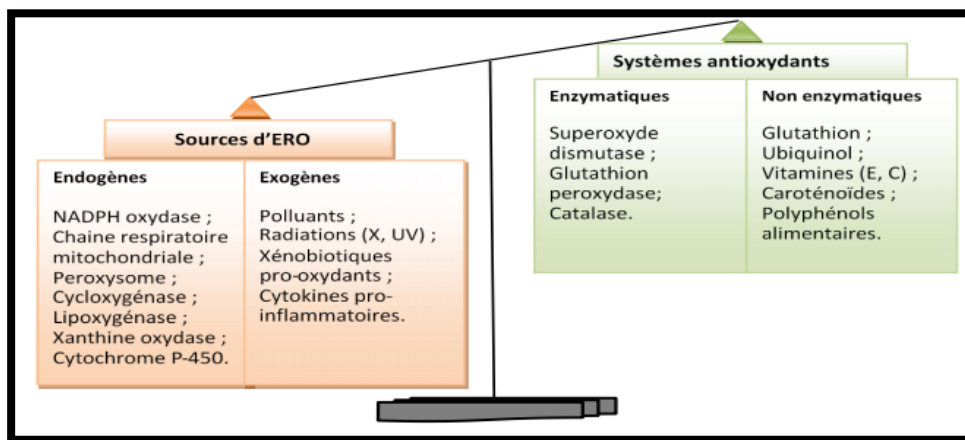


Fig. 14: La balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants (Nkhili, 2009).

I.2. Radicaux libres

➤ Définition des RL

Un radical libre est définies comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

Selon Favier (2003), les radicaux libres se divisent en deux types; Primaires qui dérivent directement de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde O_2^- , radical hydroxyle OH^\bullet , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^\bullet . D'autres espèces

dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé **espèces réactives de l'oxygène ROS** (Fig. 15). Et secondaires comme : radical peroxy ROO , radical alkoxy RO .

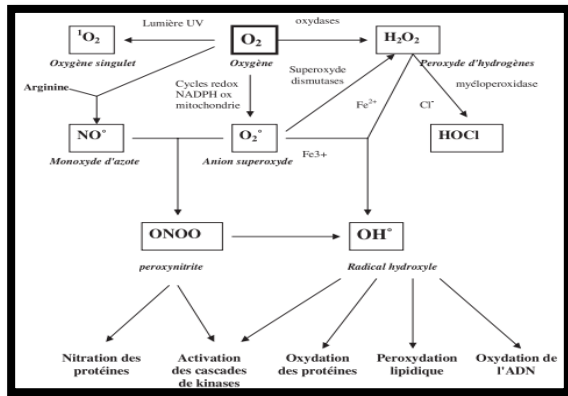


Fig. 15: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

I.3. Espèces réactives de l'oxygène

➤ Définition

Selon **Ichai et al. (2011)**, l'oxygène est un radical libre peu réactif, présent le plus souvent sous forme de dioxygène. Physiologiquement et dans certaines circonstances, il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives oxygénées (ERO). Ces molécules sont très nombreuses, de forme radicalaire (contenant un électron non apparié) ou non. Il existe de très nombreuses ERO mais les plus importantes sont l'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'hypochlorite et le peroxyde de nitrite (Fig. 16).

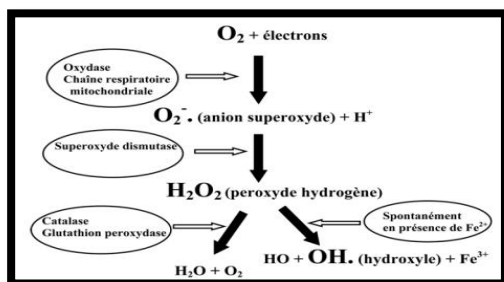


Fig. 16: Principales espèces réactives de l'oxygène et enzymes antioxydants (Ichai et al., 2011).

I.4. Mécanismes de défense contre le stress oxydant

I.4.1 Les antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses anti oxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

➤ Définition

Le terme «antioxydant» a été formulé comme «une substance qui en faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou stopper significativement l'oxydation des substrats matériels» (Vansant, 2004), définit les antioxydants comme 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 ROS et d'empêcher d'atteindre leurs cibles biologiques, d'où leur fonction de protecteur chimique (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

I.4.1.2. Classification des antioxydants

I.4.1.2.1. Antioxydants naturels

I.4.1.2.1.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques)

Ils sont produits par l'organisme et constituent la première ligne de défense contre le stress oxydant. Ce sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\bullet-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel *et al.*, 2001; Garait, 2006). Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (Mika *et al.*, 2004). Parmi les antioxydants enzymatiques:

❖ Les superoxydes dismutases (SOD)

La SOD est l'une des plus importantes enzymes cellulaires possédant une fonction antioxydante. C'est l'enzyme antioxydante « anti- $O_2^{\bullet-}$ » la plus importante dans toutes les cellules vasculaires car elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée

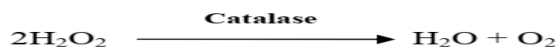
(**Fig. 18**). L'absence de cette enzyme peut être létale. La SOD catalyse la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$ en dioxygène et H_2O_2 selon la formule (**Fig. 17**) (**Afonso et al., 2007**).



Fig. 17: Action de la superoxyde dismutase sur l'anion superoxyde (Afonso et al., 2007).

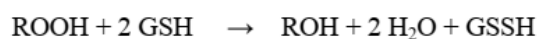
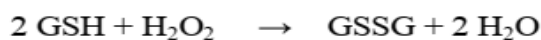
❖ La catalase

Selon **Piquet et Hebuterne (2007)**, présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Il ne faut pas donc qu'il s'accumule, c'est le rôle de la catalase, elle transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables (**Jacques et André., 2004**).



❖ La glutathion peroxydase (GPx)

Est une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale (**Valko et al., 2006**). Leur rôle est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (**Marfak, 2003**), selon cette réaction (**Valko et al., 2006**):



La **Fig. 18** exprimer généralement les modes d'actions des systèmes enzymatiques antioxydants

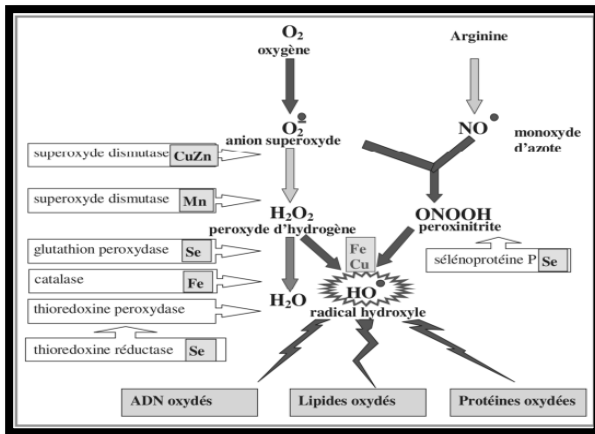


Fig. 18: Schéma récapitulatif des modes d'actions des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

I.4.1.2.1.2. Antioxydants exogènes (non enzymatiques)

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols (Kanoun, 2011). Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Les sources alimentaires de ces antioxydants naturelles sont présentées dans le **tab. 06**.

Tableau 06: Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Principaux nutriments Antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrumes, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile : de tournesol, de soja, de maïs Beurre, œufs, noix.
β-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poissons, œufs, viande, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou œufs, poissons, viande

I.4.1.2.2. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques tel que le butylhydroanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra-hépatiques (**Bouhaddouda, 2016**).

I.4.1.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant la captation de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**).

D'après **Yaacoub (2009); Hellal (2011)**, les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras.

I.4.1.4. Activité anti oxydante des poly-phénols

Les composés phénoliques sont utilisés pour la prévention de diverses maladies qui sont principalement associées aux radicaux libres (**El Kalamouni, 2010**).

La grande capacité des composés phénoliques à contrecarrer les radicaux libres et à chélater les ions des métaux de transition est directement reliée à leurs caractéristiques structurales. Il est prouvé que cette activité est due aux nombres et aux positions des groupements hydroxyles présents sur les cycles benzoïques (**Rice-Evans et al., 1996**).

Selon **Bouhaddouda (2016)**, le pouvoir antioxydant des flavonoïdes vis-à-vis des radicaux libres, il est dû à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques. Leur capacité de donation

d'hydrogène augmente avec l'augmentation de l'hydroxylation de leurs cycles phénoliques (Le et al., 2007).

II / Activités Antimicrobiennes

II.1/ Introduction

A la fin des années 1940 la lutte contre les microorganismes pathogènes se fait par les utilisation des antibiotiques, les médecins ont commencés à vaincre les maladies infectieuses qui ravageaient l'humanité depuis si longtemps (Baudoux, 2000). La résistance bactérienne aux agent microbiens c'est un problème importance croissant en pratique médicale . Si l'apparition des premiers antibiotiques (Sulfamides 1935 puis péniciline au lendemain de la Seconde Guerre mondiale) avait suscité un espoir de voir les maladies infectieuses à jamais jugulées ce dernier fut déçu très rapidement par l'apparition de bactéries devenues résistantes.

L'utilisation ultérieure d'autres antibiotiques (streptomycine, chloramphénicol, tétracycline et érythromycine, par ordre chronologique d'utilisation) connut une évolution comparable (Vaubourdolle, 2007).

II.2/ Principales substances antimicrobiennes

II.2.1/ Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Labioud, 2016).

II.2.1.1 / Les cibles bactériennes des antibiotiques

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie. Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens (Labioud , 2016).

II.2.2 / Les plantes comme antibiotiques

La rareté des maladies chez les plantes sauvages s'explique par l'élaboration d'un système de défense naturelle, qui leur permet de lutter efficacement contre les pathogènes (bactéries, champignons et virus) (**Jones et Dangl, 2006; Gibbons, 2008**). L'originalité de ce système de défense réside dans l'exceptionnelle variabilité chimique des molécules produites (**Gibbons, 2008**). Ces dernières constituent, de par la diversité des groupements structuraux et fonctionnels qu'elles arborent, un vaste réservoir de substances actives. Le spectre d'action des antimicrobiens produits par les plantes est plus restreint que celui généré par les antibiotiques conventionnels. En effet, ils possèdent une haute activité contre les bactéries à Gram positif, mais demeurent peu actifs contre les bactéries à Gram négatif et les levures (**Lewis, 2001**).

II.3/ Mode d'action d'activités antimicrobiennes des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures (**Bouhaddouda, 2016**). Bien que les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et de leurs composants aient été largement étudiées par le passé, le mécanisme d'action n'a pas été élucidé entièrement (**Goetz et al., 2012**).

Durant les dernières années, un intérêt accru s'est focalisé sur les substances biologiquement actives isolées des plantes, notamment en vue de l'élimination des micro-organismes pathogènes en raison de la résistance de ces derniers vis à-vis des antibiotiques ou bien parce qu'il s'agit de composés écologiquement sains .

Une très grande variété d'huiles essentielles est connue pour exercer des propriétés antimicrobiennes et, dans la plupart des cas, cette activité est due à la présence de constituants actifs représentés principalement par des monoterpènes, des sesquiterpènes, des alcools et autres hydrocarbures et phénols (**Goetz et al., 2012**).

❖ Sites d'action des huiles essentielles

La structure chimique des constituants des HE conditionne leur mode précis d'action antibactérienne. Les principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles sont indiquées dans la **Fig. 19**.

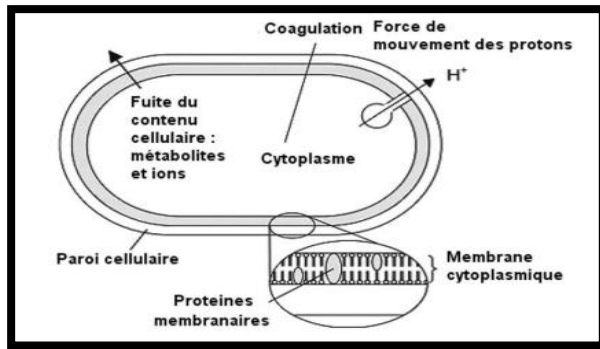


Fig. 19: Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).

D'après (Goetz et al., 2012), les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des huiles essentielles sont :

- l'altération de la paroi cellulaire;
- la dégradation de la membrane cytoplasmique;
- l'altération des protéines membranaires;
- la fuite du contenu cellulaire;
- la coagulation du cytoplasme;
- l'épuisement de la force de mouvement des protons .

II.4/ Activité antimicrobienne des Polyphénols

Selon **Billing et Sherman (1998)**, la thérapeutique des infestions bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. De nombreuses études *in vitro* menées sur les composés phénoliques les ont confirmés comme agents antimicrobiens contre un grand nombre de microorganismes pathogènes, avec des spectres d'activités variables (**Scalbert, 1999**). D'après **Ulanowska et al. (2007)**, les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempférol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*).

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on va citer (**Bouhaddouda , 2016**):

- Inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique due à l'intercalation des polyphénols dans les phospholipides membranaires.

- Inhibition de la synthèse d'acide nucléique.
- Inhibition du métabolisme énergétique microbien.
- Séquestration des substrats requis pour la croissance microbienne.

II.5/ Généralités sur les bactéries étudiées

II.5.1/ *Escherichia coli*

➤ Définition

Escherichia coli est un bacille à gram négatif (**Patrick et al., 1988**), elle est colibacille, mobile (flagellés péritriches), isolées ou par paires et provus de fimbriae. Pratiquent la fermentation ou la respiration nitrique en anaérobiose. Fermentent le glucose via la fermentation acide mixte (**Singleton, 2005**). Elle est aussi capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole (**Curie, 2003**).

➤ Habitat

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *E. coli* ou colibacille est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (**Denis et al., 2013**).

➤ Caractéristiques morphologiques et culturelles

Escherichia coli ou colibacille fait partie des Entérobactéries, c'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, bacille à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif, asporulée, mesurant 2 à 4µ de long sur 0,4 à 0,6 µ de large, mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe non exigeant se développe facilement sur milieux ordinaires (GN) (**Fig.20**) (**Oulymata, 2007**).

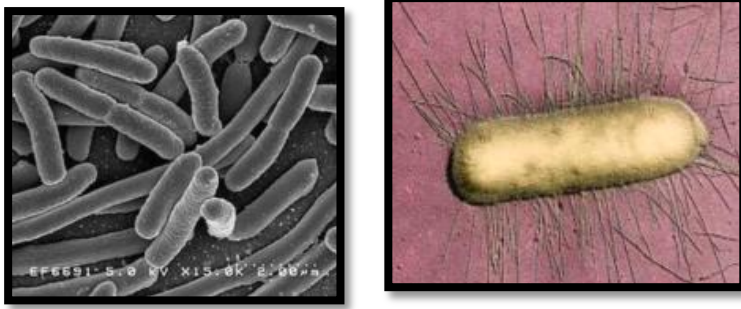


Fig. 20: Aspects microscopique de d'*Escherichia coli*

➤ Résistance aux antibiotiques

Les souches d'*Escherichia coli* sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles Gram négatif: amino-pénicillines, céphalosporines, quinolones, aminosides, triméthoprime-sulfaméthoxazole. Néanmoins cette sensibilité doit toujours être vérifiée par un antibiogramme (Avril et al., 1992).

II.5.2/ *Pseudomonas aeruginosa*

➤ Définition

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 μm de long et 0.5 à 0.8 μm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de «vol moucheron». *P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéroplastés. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3^{ème} rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1^{er} rang pour les infections pulmonaires basses et le 3^{ème} rang pour les infections urinaires (Richard et Kiredjian., 1995) (Fig. 21).

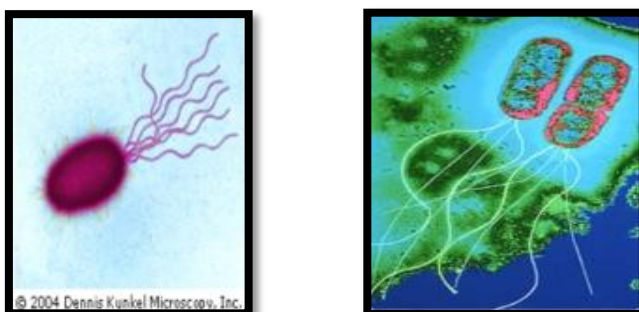


Fig. 21: Aspects microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* (354×300) (Philippon et Lalande, 2005).

➤ **Pouvoirs pathogènes**

La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (en particulier chez atteints de mucoviscidose), pulmonaire, oculaires (kératite ou enophtalmie), ostéo-articulaires. Elle peut aussi infecter des lésions cutanées (brulures), des traumatiques ou postopératoires, provoquer des otites externes (pouvant évoluer d'une manière invasive chez les sujets âgés et diabétiques), des septicémies, des endocardites (**Nauciel et Vildé, 2005**).

II.5.3/ *Staphylococcus aureus*

➤ **Définition**

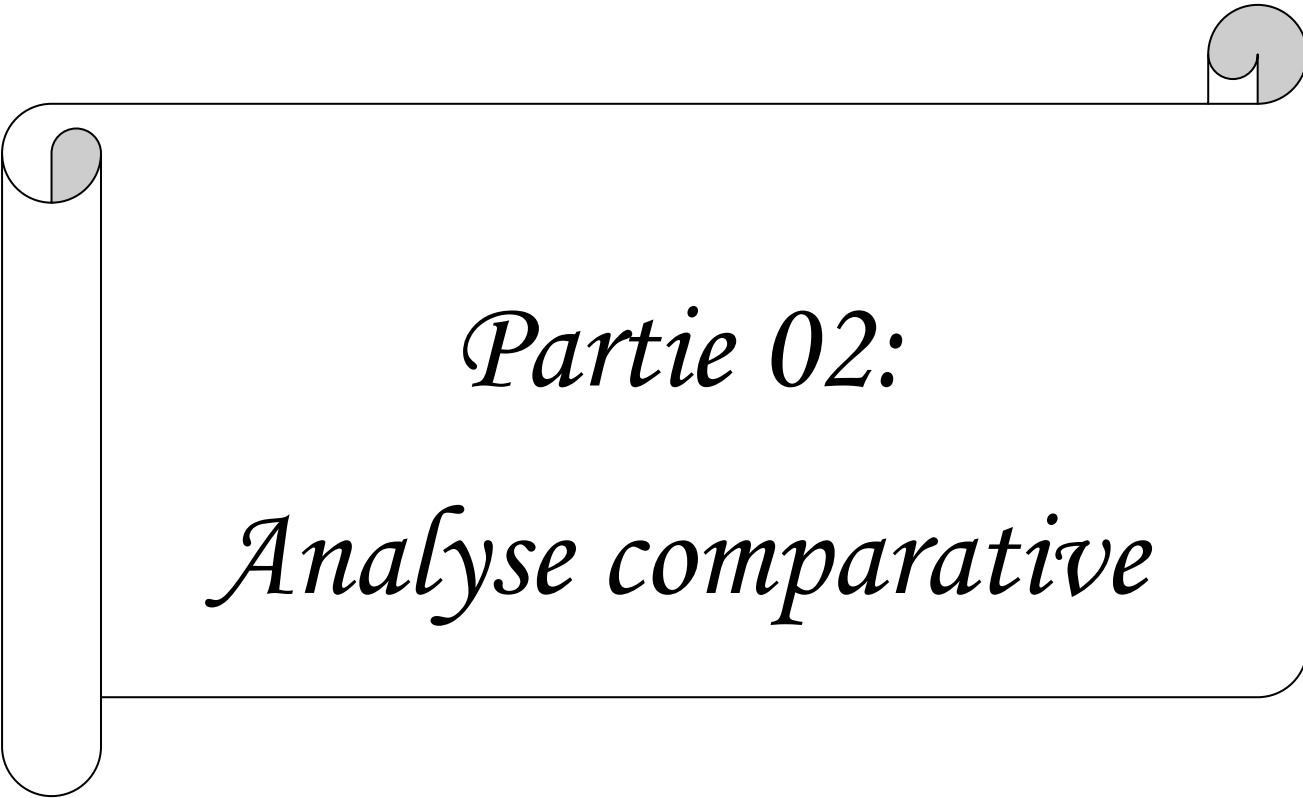
Sont des coques (cocci) à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas plan de plusieurs éléments (de grec staphylo, grappe de raisin), de 0,8 à 1 µm de diamètre, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Après culture, les colonies sont lisses, rondes, opaques et bombées. Elles peuvent être pigmentées en jaune doré ou jaune. La grande majorité des *Staphylococcus aureus* sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule après culture (**Curie, 2003**).

➤ **Habitat**

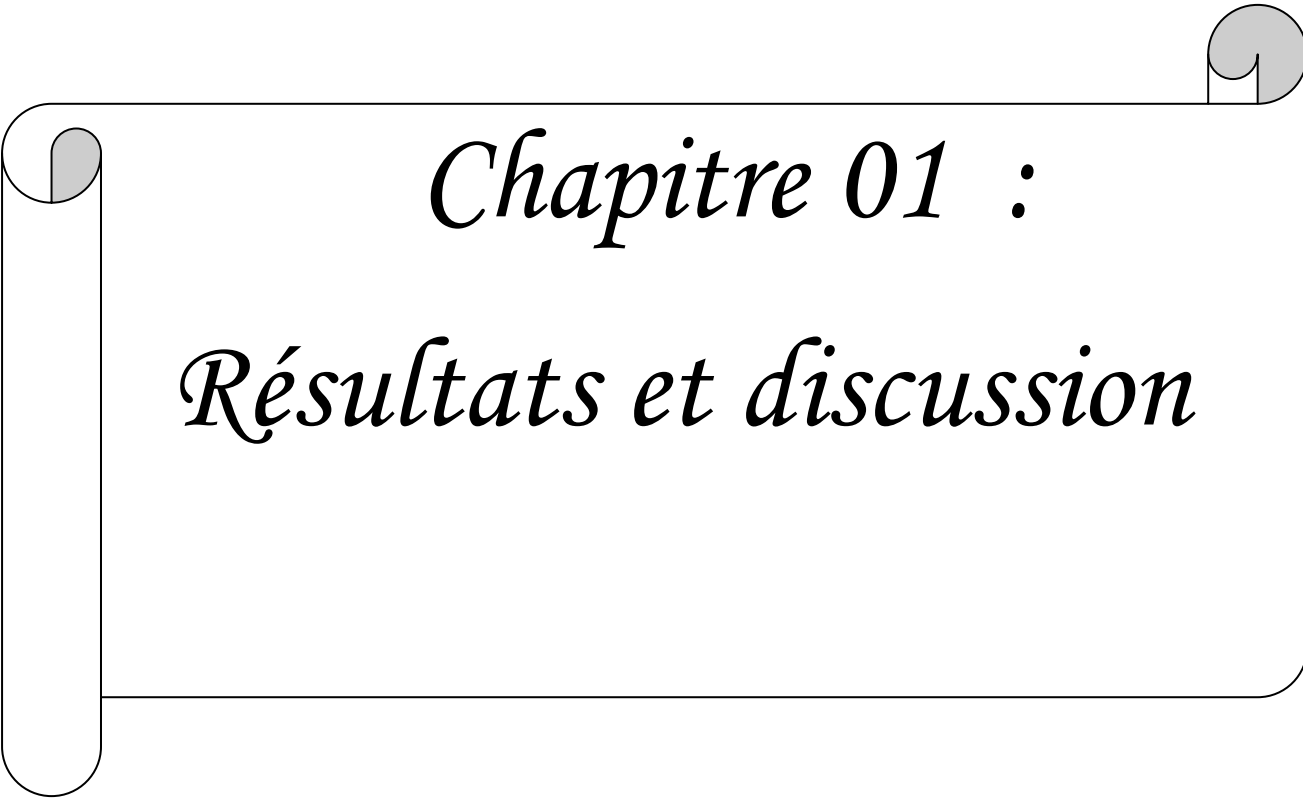
Ce sont des bactéries ubiquitaires et saprophytes qui peuvent occasionnellement coloniser la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin) (**Berch et al., 2003**). On le trouve sur la muqueuse (principalement, les fosses nasales) et des zones cutanées humides (épisiotomie, aisselles) (**Nauciel et al., 2005**).

➤ **Pouvoir pathogène**

S. aureus est un germe pyogène par excellence (le microbe de la suppuration) (**Curie, 2003**). Elle est l'une des causes majeures d'infections humaines, responsable en milieu communautaire de 1 à 5% des infections observées. En milieu hospitalier, 10 à 20% des septicémies sont dues à *Staphylococcus aureus* (**Berch et al., 2003**).



Partie 02:
Analyse comparative



Chapitre 01 :
Résultats et discussion

1/ *Inula viscosa*

Selon l'études de **Berhail (2014)**, l'hydrodistillation de 200 g des parties aériennes fraîches d'*I. viscosa* (L.) Ait., récoltée à Hamma Bouziane (Nord de Constantine) et à Ain El-Bey (Sud de Constantine) en première semaine de Novembre 2011 a abouti à 0.8 et à 0.1% (p / p) respectivement, d'huiles essentielles de couleur jaune.

2/ *Inula crithmoides*

Selon l'étude de **Giamperi et al. (2010); Bucchinia et al. (2013)**, l'hydrodistillation des parties aériennes d' *Inula crithmoides* récoltés à Italie centrale.

I. Comparaison des résultats et discussion de l'analyse GC/MS entre *Inula viscosa* et *Inula crithmoides*

I.1 / Les constituants de HE

I.1.1 . Composition des HE d'*Inula viscosa*

Selon l'études de **Berhail (2014)**, l'huile essentielle des parties aériennes fraîches d'*I. viscosa* (L.) Ait. récoltée à Ain El-Bey (Sud de Constantine), a été obtenue avec un rendement de 10% elle se caractérise par 34 composés, ce qui représente 85,2% de l'huile essentielle (**tab. 07**), avec le nérolidol (25,3%), l'acide isocostique (10,1%), l'acide costique (8,0%), le néo-intermedeol (6,4%) et l'oxyde de caryophyllène (5,5%) comme principaux composants.

L'hydrodistillation des parties aériennes fraîches d'*I. viscosa* (L.) Ait. récoltée à Hamma Bouziane (Nord de Constantine) a donné 8% d'une huile essentielle jaunâtre. 23 composants représentant 84,5% de l'huile essentielle ont été identifiés et listés dans le **tab. 10** qui isocostique (25,1%), l'acide costique (15,2%), le nérolidol (9,6%), l'acide linoléique (9,1%), le néointermedeol (7,5%) et le fokienol (7.2 %).

Tableau 07 : Composition des l'huiles essentielles des parties aérienne fraiche d'*I. viscosa* (L.) Ait.

No	composé a	IR b	Pourcentage (%) c	Pourcentage (%) d
1	2-Methylpentanene-2-thiol	862	1.5	-
2	Borneol	1180	1.6	-
3	Acétate de bornyle	1289	0.9	-

4	Theaspirane B	1302	0.1	-
5	Isocaryophyllene	1421	-	0.1
6	Aromadendrene	1441	0.4	-
7	β – Selinene	1489	-	0.1
8	α – Selinene	1498	0.4	-
9	γ -Cadinene	1523	-	0.1
10	Nerolidol	1531	25.3	9.6
11	Oxyde de caryophyllene	1583	5.5	0.1
12	Fokienol	1596	4.4	7.2
13	<i>neo</i> -Intermedeol	1658	6.4	7.5
14	Acide isocostique	1925	10.1	25.1
15	Acide costique	1930	8.0	15.2
16	Acide linoléique	2105	3.1	9.1
17	Tetracosane	2400	2.2	1.9
18	Pentacosane	2500	2.1	0.4
19	Humulene epoxide II	1604	0.3	0.4
20	Hexacosane	2600	2.3	1.9

Note :

a : Composés listés par ordre de leur IR.

b : IR (indice de rétention) calculée par rapport à n-alcanes (C6-C24) en utilisant une colonne VF-5MS.

c : Huile essentielle de parties aériennes fraîches d'*I. viscosa* récoltée à Ain El-Bey (Sud de Constantine).

d : Huile essentielle de parties aériennes fraîches d'*I. viscosa* récoltée à Hamma Bouziane (Nord de Constantine).

A partir de ces analyses, il est apparu que le nérolidol était plus abondant dans l'huile essentielle de la plante récoltée à Ain El-Bey (Sud de Constantine), tandis que l'acide costique, l'acide isocostique, l'acide linoléique, le néo-intermedeol et le fokienol ont été trouvés avec des pourcentages plus élevés dans l'huile essentielle de la plante récoltée à Hamma Bouziane (Nord de Constantine). L'oxyde de caryophyllène a été trouvé comme un composant principal dans l'huile essentielle de la plante de Ain El-Bey.

C'est la première fois que les acides isocostique et costique se trouvent être de principaux composants d'huile essentielle du genre *Inula*.

Ces acides sesquiterpéniques ont été isolés à partir de l'extrait hydroalcoolique des parties aériennes séchées d'*I. viscosa* (L.) Ait. récoltée en Turquie (**Ulubelen et al., 1986**).

Le fokienol (38,3 ; 21.1%) et le nérolidol (7,7 ; 8.6%) ont également été détectés dans les huiles essentielles d'*I. viscosa* (L.) Ait. poussant en Espagne (**Camacho et al., 2000**) et en France (**Blanc et al., 2006**) respectivement.

Les présentes compositions sont différentes de celles signalées dans les huiles essentielles des feuilles de l'espèce algérienne *I. viscosa*, récoltée au village de Sidi Rezine (sud d'Alger), extraite par deux méthodes (hydrodistillation et distillation à la vapeur) qui étaient principalement représentées par le 12-carboxyeudesma-3,11(13)-diène (28,9 et 56,8%, respectivement) (**Haoui et al., 2012**). L'huile hydrodistillée qui provienne de Sidi Rezine a également été caractérisée par la présence principale de l'acide linoléique (7,8%), composant principal de notre huile essentielle d'*I. viscosa* récoltée à Hamma Bouziane (9,1%).

L'huile essentielle des parties aériennes fraîches d'*I. viscosa* (L.) Ait., récoltée à Ain El-Bey (Sud de Constantine), est caractérisée par la présence du nérolidol (25,3%), de l'acide isocostique (10,1%), de l'acide costique (8,0%), du néo-intermedeol (6,4%) et de l'oxyde de caryophyllène (5,5%), en tant que composants principaux, alors que l'huile essentielle des parties aériennes fraîches d'*I. viscosa* (L.) Ait., récoltée à Hamma Bouziane (Nord de Constantine), est principalement représentée par l'acide isocostique (25,1%), l'acide costique (15,2%), le nérolidol (9,6 %), l'acide linoléique (9,1%), le néo-intermedeol (7,5%) et le fokienol (7,2%).

D'après cette étude, les acides isocostique et costique et le néo-intermedeol semblent être exclusifs aux présentes huiles essentielles de la plante qui pousse dans le nord et le sud de Constantine. L'oxyde de caryophyllène a été trouvé exclusivement comme un composant principal de la plante récoltée à Ain El-Bey (Sud de Constantine). Ces différences peuvent être expliquées par la différence du sol, du climat et de la période de récolte par rapport aux conditions de collecte de plante rapportées.

I.1.2. Composition des HE *Inula crithmoides*

Selon les études **Giamperi et al. (2010)**, la composition chimique de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes d'*Inula crithmoides* L. 22 composants ont été identifiés, les principaux étant le p-cymène (30,1%), le 1-méthyléthyl-triméthylbenzène (18,7%), scopolétine (15,3%) et α -pinène (13,1%). Cette composées indiquer dans le (**tab. 08**).

Tableau 08 : Pourcentage de la composition de l'huile d'*Inula crithmoides*.

Composé	RI(1)	RI(2)	%
α -Pinene	942	1036	13.1
Camphene	953	1066	1.7
Sabinene	976	1130	0.4
β -Pinene	980	1120	0.4
α -Phellandrene	1005	1173	2.2
p-Cymene	1026	1250	30.1
γ -Terpinene	1061	1247	0.5
Terpinolene	1064	1279	0.5
Methyl thymol	1235	2211	4.0
Methyl carvacrol	1244	2202	0.5
*1-Methylethyl-trimethylbenzene	1250	1011	18.7
Bornyl acetate	1273	1599	0.4
Thymol	1290	2152	0.3
Carvacrol	1297	2159	0.3
2,5-Dimethoxy-p-cymene	1422	2261	3.6
Scopoletin	1431	2233	15.3
γ -Muurolene	1477	1695	0.4
Bicyclogermacrene	1494	1744	0.1
δ -Cadinene	1601	1785	0.1
epi- α -Cadinol	1640	2224	3.5
α -Cadinol	1667	2217	1.7
(12Z)-Abienol	1241	1713	2.2

Note :

RI (1) : Indice de rétention sur colonne HP-1 diméthylsilicone.

RI (2) : Indice de rétention sur colonne polaire CP-Sil 88 (Chromopack).

En ce qui concerne les compositions chimiques précédemment rapportées de l'huile essentielle de *I. crithmoides*, toutes les huiles obtenues à partir de fleurs et de feuilles de

plantes récoltées en Espagne, à Malte et en Grèce étaient dominées par les hydrocarbures monoterpéniques, avec l' α -phellandrène (11,0-26,2%), le β -phellandrène (0,0-30,7%) et le p-cymène (trace-53,8%) étant les principaux composants (Tsoukatou et Roussis, 1999). En comparaison, notre huile est assez similaire d'un point de vue qualitatif. Cependant, seuls quelques composés étaient présents à l'état de traces dans d'autres huiles, mais caractérisent notre huile (par exemple, carvacrol 0,3%, bicyclogermacrène 0,1%). De nombreux composés ont été trouvés dans notre huile ainsi que dans toutes les autres huiles, mais des différences quantitatives ont été constatées, en particulier l' α -pinène (13,1% dans notre huile, 2,2% , 6,8% et 4,2% dans les huiles espagnoles, maltaises et grecques, respectivement) et l' α -phellandrène (2,2% dans notre huile et 26,2%, 18,9% et 11,0%, respectivement). La présence de certains composés dans notre pétrole et dans celui de la Grèce doivent être soulignés: β -pinène (0,4% dans notre huile, 0,3% dans l'huile grecque), méthylthymol (4,0% et 3,3%), 1-méthyléthyltriméthylbenzène (18,7% et 14,8%), acétate de bornyle (0,4% et 4,4%), 2,5 diméthoxy-p-cymène (3,5% et 2,8%) et scopolétine (15,3% et 13,0%). Les composés mentionnés ci-dessus sont assez similaires en abondance dans les deux huiles, certains étant présents en bonne quantité (1-méthyléthyl-triméthylbenzène et scopolétine), ce qui rend notre huile très similaire à la grecque.

I.2/ les polyphénols

I.2.1 Constituent polyphénolique d'*Inula viscosa*

Selon l'étude de Derradji et Marzen (2016), les résultats de différentes réactions montrent que les feuilles et les fleurs d' *Inula viscosa* possèdent les composés suivants:

❖ Les flavonoïdes :

avec un résultat +++, sont présents dans une classe des métabolites secondaires chez les plantes. Ils se présentent sous forme des pigments poly phénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les feuilles et les fruits (Bruneton, 1999). Les résultats obtenus montrent qu'*Inula viscosa* est riche en flavonoïdes aussi bien dans les fleurs que dans les feuilles.

❖ Les tanins gallique :

avec un résultat +++, sont présents en quantité appréciable aussi bien dans les feuilles que dans les fleurs chez *Inula viscosa*.

❖ **Les saponosides :**

avec un résultat ++, sont présents en quantité moyenne dans les fleurs et les feuilles d'*Inula viscosa*.

❖ **Les coumarines :**

avec un résultat ++, sont présents en quantité moyenne aussi bien dans les fleurs que les feuilles.

Les résultats du **tab. 09** montrent une absence en alcaloïde, leucoanthocyane, tanins condensés et quinone libre.

Tableau 09: Résultats du screening phytochimique

Composés phénoliques	Fleurs	Feuilles
Flavonoïde	+++	+++
Tanins gallique	+++	+++
Tanin condensé	-	-
Anthocyane	+	+
Leucoanthocyane	-	-
Coumarine	++	++
Glucoside	+	+
Quinone libre	-	-
Saponoside	++	++

Note : (-) absence; (+) présence en faible quantité; (++) présence en quantité moyenne;

(+++) Présence en quantité importante.

I.2.1 Constituent polyphénolique d'*Inula crithmoides*

D'après les travaux (**Benguerba, 2008**), d'espèce *Inula crithmoides* à partir l'étude structurale on a trouvée 5 composés de type flavone (type flavonol 3-OH libre) parmi lesquels:

- 3, 5, 7, 3', 4'-pentahydroxyflavone (Quercetine).
- Quercetine-3-O-Gal-O-Rham.
- 5, 7, 3', 4'-tetrahydroxy-3-methoxyflavone.
- 5, 7, 3', 4'-tetrahydroxy-3-6-dimethoxyflavone.
- 5, 7, 3', 4'-tetrahydroxy-6-8-dimethoxyflavone.

I.3 / L'activité antioxydant

I.3.1 *Inula viscosa*

Selon l'études de **Derradji et Marzen (2016)**, le test du pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques des fleurs et/ou des feuilles d'*Inula viscosa* possède une activité antioxydante importante. Elle est de 2.11 ± 0.08 mg EAA/g MS pour les fleurs et $2,48 \pm 0.27$ mg EAA/g MS pour les feuilles (**Fig. 22**).

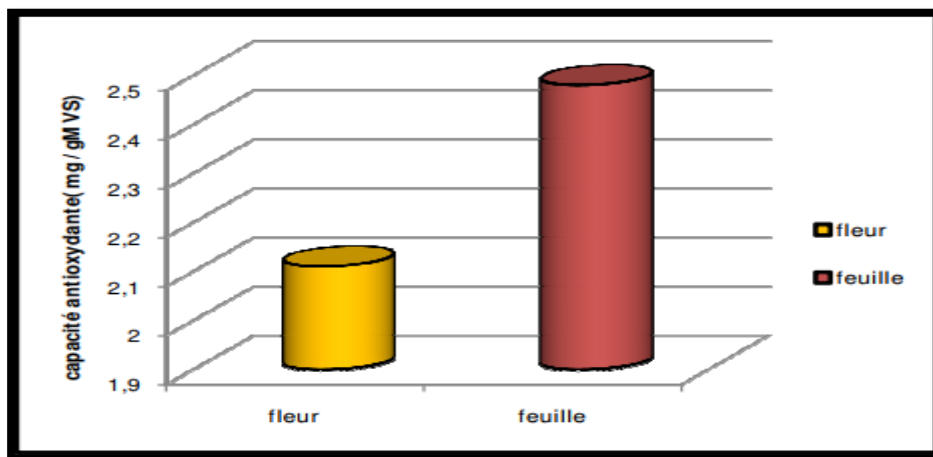


Fig. 22 : Test de phosphomolybdate chez les deux extraits méthanolique des fleurs et / ou des feuilles d'*Inula viscosa*.

L'activité antioxydante de l'huile a été évaluée par le test DPPH et Dosage de la 5-lipoxygénase. L'huile essentielle a exercé une bonne activité antioxydante dans la protection de la peroxydation lipidique par rapport aux antioxydants connus (**Giamperi et al., 2010**).

D'après **Derradji et Marzen (2016)**, il est extrêmement important de souligner que, il y avait une corrélation entre le potentiel de l'activité antioxydante et la quantité de composés phénoliques dans les extraits méthanoliques des feuilles, en accord avec l'étude de (**Kubala et Siriamornpum., 2008**). Selon l'étude **Chahmi et al. (2015)**, montre que la teneur en composés phénoliques est probablement responsable de l'activité antioxydant d'*Inula viscosa*.

I.3.2 *Inula crithmoides*

L'activité antioxydante de l'huile de *I. crithmoides* a été déterminée à l'aide de deux tests in vitro: l'effet de piégeage sur la DPPH et l'inhibition de la formation de radicaux de peroxyde lipidique. Les données, exprimées en CI50 ($\mu\text{g} / \text{mL}$ et mg / mL), ont été comparées à l'activité des antioxydants connus (BHT, Trolox, acide ascorbique). Dans la réduction du radical DPPH stable, l'huile était inefficace par rapport aux antioxydants de test $\text{IC}_{50} = 719,2 \text{ mg} / \text{mL}$ pour l'huile *I. crithmoides*, $0,09 \text{ mg} / \text{mL}$, $0,007 \text{ mg} / \text{mL}$ et $0,11 \text{ mg} / \text{mL}$ pour BHT, Trolox et l'acide ascorbique, respectivement. Dans l'inhibition de la peroxydation lipidique, notre huile était deux fois plus efficace que le BHT ($\text{IC}_{50} = 2,0 \mu\text{g} / \text{mL}$ et $3,9 \mu\text{g} / \text{mL}$, respectivement) et beaucoup plus efficace que Trolox ($\text{IC}_{50} = 11,9 \mu\text{g} / \text{mL}$) et l'acide ascorbique ($\text{IC}_{50} = 18,6 \mu\text{g} / \text{mL}$).

Des différences de comportement antioxydant ont été observées dans les deux types de tests et peuvent être attribuées aux différentes méthodes utilisées pour la détermination. Le test DPPH donne des informations sur l'action de piégeage des radicaux. Cette méthode n'est pas discriminante vis-à-vis de l'espèce radicale, mais donne une idée générale de la capacité radicale (**Koleva et al., 2002**). La protection de la peroxydation lipidique, dosée avec l'inhibition de la lipoxygénase, est complexe. Les antioxydants peuvent exercer leurs propriétés protectrices à différentes étapes du processus d'oxydation et par différents mécanismes qui peuvent inclure une activité de piégeage des radicaux libres, mais aussi la désactivation des métaux, l'inhibition de la dégradation des hydroperoxydes lipidiques en produits volatils indésirables, la régénération de l'antioxydant «primaire» et trempe à l'oxygène singulet (**Heim et al., 2002**), l'huile essentielle de *I. crithmoides* a montré une bonne activité antioxydante dans la protection de la peroxydation lipidique.

➤ **Activité antioxydante : *I. viscosa*, *I. crithmoides***

Selon les études **Mahmoudi (2016)**, l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de feuilles de *I. viscosa* a été déterminée à partir de la réduction de l'absorbance des radicaux DPPH et ABTS à 517 et 734 nm, respectivement. Les concentrations efficaces ayant une activité d'inhibition radicalaire de 50% (EC50) se sont avérées être de 23,33 et 16,75 µg / mL pour les dosages DPPH et ABTS, respectivement. Ces résultats reflètent la grande capacité de la feuille d' *I. Viscosa* extraits pour donner des électrons pour inactiver les espèces radicalaires (**Yuan et al., 2005**). En ce qui concerne le dosage DPPH, la valeur obtenue était environ 10 fois inférieure à celles (0,26 mg / mL) rapportées par (**Trimech et al., 2014**). En utilisant le même test, les valeurs de CE50 se sont avérées être dans la gamme de concentration de 12,8 à 36 µg / mL dans *I. crithmoides* (**Jallali et al., 2014**) (**Tab. 10**).

Tableau 10 : Contenu total en phénolique et en flavonoïde d'*Inula* (sp).

	<i>Inula viscosa</i>	<i>I. viscosa</i>	<i>I. crithmoides</i>
	cette étude	Trimech et al. (2014)	Jallali et al.(2014)
teneur totale en phénol (mg EGA /dw)	103 ±1.1	2.57-8.48	6.7-14.1
flavonoïde total (mg CE / dw)	84.92 ±1.41	29.438-55.75	5.6-6.7
DPPH(EC50 µm/ml)	23.33 ±1.56	20-260	12.8-36

Note : CE: équivalent catéchine.

EGA: équivalent d'acide gallique.

II. Comparaison des résultats et discussion de l'analyse GC/MS entre *Centaurea dimorpha* Viv. et *Centaurea sphaerocephala* L.

1/ *Centaurea dimorpha* Viv.

Selon les travaux **Belkassam et al. (2019)**; **Azzouzi (2012)**; **Ababsa (2009)**, l'hydrodistillation de 146 g et 482 g, 1000 g des parties aériennes fraîches d'*Centaurea dimorpha* Viv., récoltée à Bousaada M'sila (zone pré-saharienne) sur un sol sableux à environ 250 Km au sud-est de Alger, Algérie et à des environs de la ville de M'sila, dont dans les deux stations ont été collectés en février 2011 et mai 2008, 2012.

2/ *Centaurea sphaerocephala* L.

Selon les travaux **Bentamene et al. (2010)**; **Lahneche (2017, 2018)**; **Felice et al. (2006)**, l'hydrodistillation de 2000 g et 2170 g des Feuilles et fleurs de *Centaurea sphaerocephala* L., ont été collectées de la région d'el Kala, Algérie, en mai 2003 et mai 2012, août 2003 respectivement.

II .1/ Les constituants de HE

II.1.1 Composition des HE du *Centaurea dimorpha* Viv.

D'après les travaux **Belkassam et al. (2019)**, l'huile essentielle des parties aériennes fraîches d' *Centaurea dimorpha* Viv., récoltée à Bousaada M'sila (zone pré-saharienne), elle se caractérise par 99 composée ce qui représente 79,21% de l'huile essentielle (**tableau 14**). L'huile essentielle (rendement 0,02 p /p) était principalement composé de sesquiterpènes oxygénés (27,49%), avec l'oxyde de caryophyllène (09,88%) comme constituant majeur.

Les autre classes importantes de produits chimiques étaient les dérivés monoterpéniques (17,29%), le monotrène hydrocarbures (10,65%), monoterpène oxygénés (08,42%), apocaroténoïdes (6,98%), sesquiterpène hydrocarbures (6,08%) et composés phénylpropanoïdes (2,30%) ces pourcentages se indiquer dans le **tab. 11**.

Les principales constituant de l'huile essentielle étudiées était l'oxyde de caryophyllène (09,88%), suivi par le limonène (05,73%), l'acide tétradécanoïque (5,68%), le spathuléol (5 ,44%), l'hexdécanoate de méthyle (4,45%), et α -pinene (3.08%).

Tableau 11 : Pourcentages des compositions des HE d'espèce *Centaurea dimorpha* .

	Composition des HE du C . dimorpha (en %)
Rendement	0,02
Sesquiterpènes oxygénés	27,49
Oxyde de caryophyllène	09 ,88
Monoterpéniques	17,29
Monotrène hydrocarbures	10 ,65
Monoterpène oxygénés	08 ,42

Apocaroténoïdes	06,98
Sesquiterpène hydrocarbures	06,08
Composés phénylpropanoïdes	02,30
Limonène	05,73
Acide tétradécanoïque	05,68
Spathuléol	05,44
Hexadécanoate de méthyle	04,45
α -pinène	03,08

II.1.2 Composition des HE du *Centaurea sphaerocephala*

Selon Felice *et al.* (2006), l'hydrodistillation des capitules de *C. sphaerocephala* donne des huiles de couleur jaune sans odeur particulière et dans un rendement de 0,12% (poids frais). Les composants identifiés et leurs pourcentages sont donnés dans le (tab. 12). Les acides gras à 44,2% et fraction d'hydrocarbures 34,3% dominent dans l'huile analysée.

Les principaux composants de l'huile *C. sphaerocephala* l'acide hexadécanoïque (30,7%). Parmi les hydrocarbures majeur était l'heptacosane (4,9%). Les aldéhydes représentaient 4,2% du total huiles et dans le phénylacétaldéhyde était le composant. Parmi les cétones hexahydrofamesyl acétone (1,9%). La fraction sesquiterpénique a été constituée par plusieurs composants: l'oxygène contenant sesquiterpènes à prédominance β -eudesmol (5,4%), époxyde d'humulène II (1,8%) et oxyde d'aromadendrene II (1,7%) les principaux composants de cette fraction (tab. 12).

Tableau 12: Pourcentages des compositions des HE d'espèce *Centaurea sphaerocephala*.

	Composition des HE du <i>C. sphaerocephala</i> (en %)
Rendement	0,12
Acide hexadécanoïque	30,7
Heptacosane	4,9
Aldéhydes	4,2
Hexahydrofamesyl acétone	1,9

β -eudesmol	5,4
Epoxyde d'humulène II	1,8
Oxyde d'aromadendrène II	1,7
Acides gras	42,2
Fraction d'hydrocarbures	34,3

La différences des compositions chimiques des HE des deux espèces peuvent être expliquées par la différence du localisation, climat et de la période de récolte par rapport aux conditions de collecte des plantes rapportées.

II.2/ Les polyphénols

II.2.1 Constituent polyphénolique *Centaurea dimorpha*

D'après les travaux **Azzouzi (2016)**; **Ababsa (2009)**, d'espèce *C. dimorpha* à partir l'étude structurelle on a trouvée 4 composés de type flavone parmi lesquels:

- 5,7,4'-trihydroxyflavone (Apigénine);
- 5,7,4'-trihydroxy-6-méthoxyflavone (Hispiduline);
- 5,4'-dihydroxy-7-méthoxyflavone (Genkwanine);
- 5,7,4'-trihydroxy-3'-méthoxyflavone (Chrysoériol).

II.2.2 Constituent polyphénolique *Centaurea sphaerocephala*

D'après les travaux **Bentamene et al. (2010)**; **Lahneche (2017, 2018)**, l'espèce *C. sphaerocephala* est riche en flavonoïdes de type flavone parmi lesquels:

- 4, 5,7-trihydroxy-3 -méthoxyflavone 7-O- glucoside (chrysoeriol 7-O- glucoside).
- 4,5,7-trihydroxyflavone 7-O-glucoside (apigenin 7-O-glucoside).

A partir de ces résultats on conclure l'espèce *Centaurea dimorpha* et *Centaurea sphaerocephala* riche en flavonoïdes.

II.3 / Les activités biologique

III.3.1 *Centaurea dimorpha*

Selon les études **Belkassam et al. (2019)**, sur l'espèce *C. dimorpha* montre que : L'activité de piégeage des radicaux DPPH la plus élevée (%) a été montrée par l'extrait de méthanol qui a démontré une forte capacité à agir en tant que donneur d'atomes d'hydrogène ou d'électrons. La réduction d'une écurie Le radical DPPH à jaune a été obtenu à 77,01% à 1M. De plus l'huile essentielle exercée faible activité antioxydante (10,67%) à 1 M par rapport à la vitamine C standard (71%), (**fig. 23, 24**). Cela est dû à la présence d'un pourcentage des polyphénols .

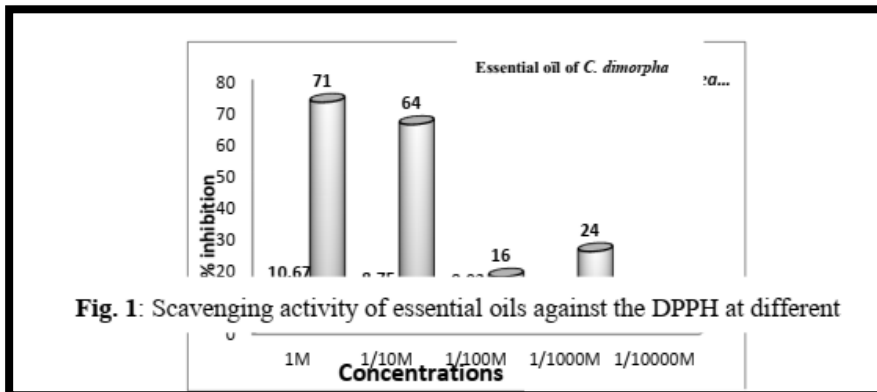


Fig. 1: Scavenging activity of essential oils against the DPPH at different

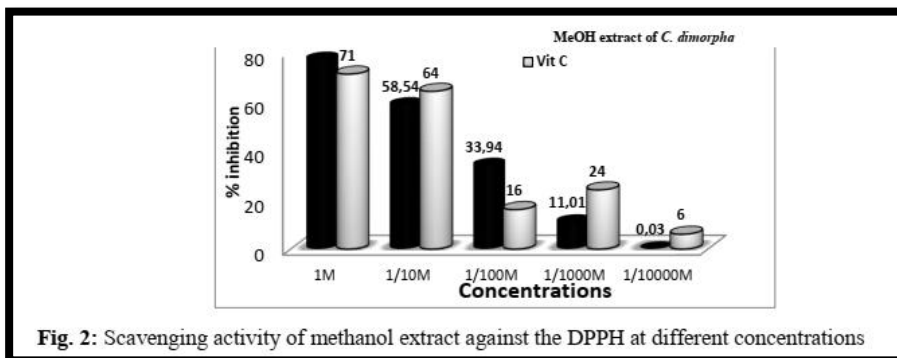


Fig. 2: Scavenging activity of methanol extract against the DPPH at different concentrations

III.3.2 *Centaurea sphaerocephala*

Selon les études **Lahneche (2018)**, sur *C. sphaerocephala* le test de DPPH a été utilisé pour déterminer les radicaux libres capacité de piégeage des extraits de plantes. Comme le montre la **fig. 25**. Le IC 50 valeurs ont été calculées comme concentration de l'échantillon qui provoqué l'inhibition de 50% de radical libre (DPPH). Une valeur IC 50 inférieure indiquée une activité de balayage plus élevée. Dans cette étude, l'extrait est avéré être des piègeurs efficaces de DPPH. Le IC 50 valeurs d'acide ascorbique, EtOAc et les extraits de n-BuOH attient de $5.18 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$, $11.59 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$ et $16.67 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ respectivement .

Le montant élevé de la teneur totale en phénol des deux extraits justifie leurs activités antioxydantes élevées.

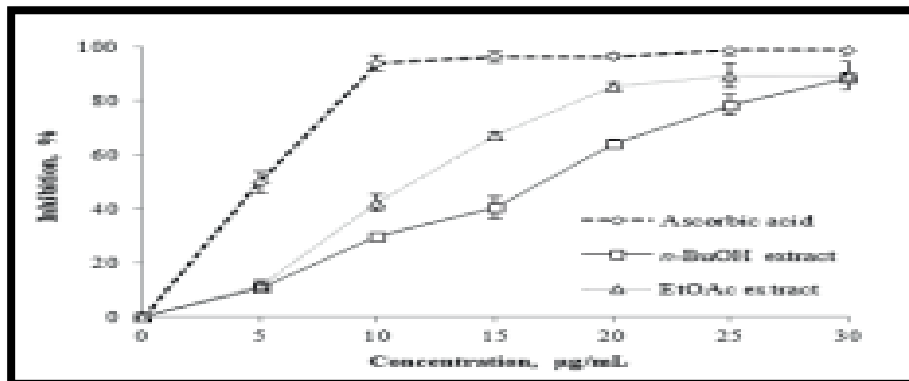


Fig. 25 : Capacité de piégeage des radicaux libres d'extraits d'EtOAc and *n*-BuOH de *C. sphaerocephala* à l'aide de DPPH (Lahneche, 2018).

II.4 Activités antimicrobienne

II.4.1 *Centaurea dimorpha*

Selon Azzouzi (2016), les résultats montrent que :

- Aucune activité sur les souches bactériennes Gram + (*S. aureus* ATCC, *S. aureus* et *α* hemolytic *Streptococcus*).
- Une bonne activité sur les souches bactériennes Gram – testées : *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* ATCC, *Enterobacter* sp et *K. pneumonia* et *E. coli* ATCC (Voir tab. 13).

Tableau 13 : L'effet de l'activité antimicrobienne sur l'espèce *C. dimorpha*

Microorganismes	Activité antimicrobienne du <i>C. dimorpha</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	--
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	--

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+++
<i>Proteus mirabilis</i>	+++
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+++
<i>Enterobacter sp</i>	+++
α emolitic <i>Streptocoque</i>	--

Note : (+) exprimer une bonne activité des souche bactérienne sur *C. dimorpha* .

(-) exprimer aucune activité des souche bactérienne sur *C. dimorpha*.

II.4.2. *Centaurea sphaerocephala*

Selon Felice et al. (2006), aucune activité antimicrobienne notable na été détecté contre l'une des bactéries testées. Seulement faible activité à une concentration de 0,1 mg /ml sur *Bacillus cereus* et *B. subtilis* a été détecté pour l'huile de *C. sphaerocephala* , probablement en raison de la présence de carvacrol (2,0%) et eugénol (1,1%) et certains composants terpénoidiques (Voir tab. 14).

Tableau 14 : L'effet de l'activité antimicrobienne sur l'espèce *C. sphaerocephala* .

Microorganismes	Activité antimicrobienne du <i>C. sphaerpcephala</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	-
<i>Bacillus cereus</i> PCI 213,	+
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	+
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	-

<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 25923	–
<i>Streptococcus epidermidis</i> ATCC 12228	–
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	–
<i>Salmonella paratyphi A</i> ATCC 12176)	–

Note : (+) exprimer une faible activité des souche bactérienne sur *C. sphaerocephala*.

(_) exprimer aucune activité des souche bactérienne sur *C. sphaerocephala* .