

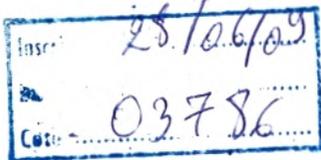
Magi 149/05



REPIPLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPUPAIRE

\*\*\*\*\*

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique

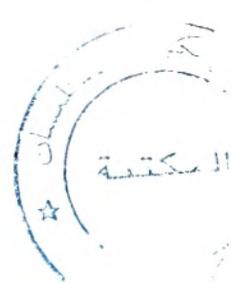


\*\*\*\*\*

Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen

Faculté des Sciences

Département de Biologie Moléculaire et cellulaire  
« Laboratoire des Produits Naturels (Laprona)»



### Mémoire

**Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biologie**

Option : Substances naturelles, Activités biologiques et synthèse

\*\*\*\*\*

**Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle  
et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp.  
*sahariensis*; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et  
*Warionia saharae* Benth. et Coll.**

\*\*\*\*\*

Présenté par : Mr. GHERIB MOHAMED

Soutenu le : 11/06/09

Devant le jury composé de :

Mr. SA. TALEB BENDIAB

Pr. À l'U de Tlemcen

Président

Mr. A. BENMANSOUR

Pr. À l'U de Tlemcen

Examinateur

Mme N. BENDIMERED

MC. À l'U de Tlemcen

Examinatrice

Mme C. BEKHECHI

Dr. À l'U de Tlemcen

Examinatrice

Mme F. ATIK BEKKARA

Pr. À l'U de Tlemcen

Encadreur

*A mes chers parents ;*

*A ma chère femme ;*

*A mes chers enfants ;*

*A mes frères ;*



*Pour leur présence de tous les instants,  
Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,  
Avec toute mon affection et ma reconnaissance*

# Remerciements

Ce travail a été réalisé au Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, laboratoire de Produits naturels « Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèse », sous la responsabilité de Madame ATIK BEKKARA F.

J'adresse mes remerciements à :

Mme le **Professeur ATIK BEKKARA F**, Professeur à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen. Vous m'avez accueilli dans votre laboratoire avec la plus grande bienveillance. Vos encouragements et votre confiance nous ont guidés tout au long de ce travail. En témoignage de notre profonde gratitude, veuillez trouver ici nos remerciements les plus sincères.

A notre Président de jury,

- Mr. le **Professeur TALEB BENDIAB S.A.** Professeur à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen et Directeur du laboratoire « Produits naturels ». Nous sommes particulièrement honorés de vous avoir vu assurer la présidence de ce jury.

A notre jury,

- Mr. le **Professeur BENMANSOUR A**, Professeur à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen. Nous vous remercions vivement d'avoir accepté de juger ce travail. Nous sommes très honorés d'avoir pu bénéficier de vos remarque éclairées et tenons à vous assurer de notre grande estime et de notre profonde gratitude.

- Mme **BENDIMERED N**, Maître de conférences à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen. Qu'il nous soit ainsi permet de vous remercier très sincèrement pour avoir spontanément accepté de juger ce travail. Nous sommes très honorés d'avoir pu bénéficier de vos conseils et tenons à vous assurer de notre considération la plus respectueuse.

- Mme. **BEKHECHI C.** Dr à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen. Nous tenons à vous présenter notre profonde reconnaissance et notre respect pour avoir gracieusement accepté d'être membre de Jury.

Je remercie également :

Mr le Professeur **CASANOVA J** et l'équipe de chimie et biomasse de l'université de Corse pour leur aide qu'ils nous ont fournie en effectuant les analyses des huiles essentielles.

Je voudrais également remercier :

Mr. **MAAROUF A**, Professeur à l'université d'Oran, Es-Senia, de son aide durant ce travail.

Mr. **SADOK J** Docteur en pharmacologie, de son hospitalité dans son laboratoire, de son amitié sincère et de son aide pour réaliser ce travail.

Mlle **BENHAMOU N**, nous sommes très honorés d'avoir pu bénéficier de vos remarques et de vos compétences tout au long de ces trois années d'étude.

Mr. **Djellouli O**, de son aide sur la réalisation des analyses des extraits flavoniques par CLHP.

Mr. **DAOUDI M** Directeur du lycée Ahmed Tawfik El Madani de Mecheria, de son soutien physique et moral, ainsi le personnel du laboratoire.

Mr. le **Conservatoire** de la Wilaya de Naama, Mr. le conservateur de la Wilaya de Tlemcen.

M. **MAFTEHE M** et ses enfants pour m'avoir accompagné durant toutes les sorties.

M. **El-Haci Imad** et **Rahmoun N**, ainsi à tous les membres de notre promotion.

Je ne voudrai pas oublier :

khalwati S, Mabkhout B, Boutkhil, Hamid, Tahar, Daifallah, Agha jaloul, Ziad otmane, sidahmed

J'adresse encore mes remerciements à tous les membres du laboratoire de produits naturels.

## Résumé

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie sur la diversité des métabolites secondaires des végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. C'est dans ce contexte la présente étude porte sur l'évaluation des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* L; *Artemisia campestris* L et *Warionia saharae* Benth. et Coll, et des flavonoïdes de *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* . Benth. et Coll

Les huiles essentielles de *Warionia saharae* et d'*Artemisia judaica* L sont analysées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et résonance magnétique nucléaire (RMN  $C^{13}$ ). Les constituants majeurs sont  $\beta$ -eudesmol (34.6 %), (E)-nerolidol (25.7 %) et Linanol (14.6 %) pour *Warionia saharae*. Le camphre (20.2 %), borneol (8.8%) et davanone (7.6 %) pour *Artemisia judaica* L.ssp. *sahariensis*.

Nous avons identifié les composés phénoliques suivants par chromatographie sur couche mince:

- Pyrocatechol, quercétine et catéchine dans les fleurs de *Warionia saharae* Benth. et Coll.
- Pyrocatechol, catéchine et l'acide gallique, dans les feuilles de *Warionia saharae* ..

En ce qui concerne *Herniaria mauritanica* Murb, quatre composés ont été mis en évidence : catéchine, acide p-coumarique, acide gallique et Pyrocathéchol.

Les huiles essentielles ont une activité antibactérienne et antifongique bien significatif sur la majorité des souches (la concentration minimale d'huile essentielle inhibant 50 % des souches bactériennes, varie de 0.25  $\mu$ l/ml à 3.5  $\mu$ l/ml) bien que pour les flavonoïdes sont plus ou moins faible. L'activité antioxydante des flavonoïdes des extraits de la phase acétate d'éthyle de *Warionia saharae* est comparable à celle de l'acide ascorbique (la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (EC50) varie de 0.04  $\mu$ g/ml à 7.48  $\mu$ g/ml). Dans cette étude nous avons pu constater que les extraits flavoniques ont une activité de piégeage du radical DPPH considérable, alors que les huiles essentielles sont plus antimicrobiennes et plus antifongiques.

**Mots clés :** d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* L; *Artemisia campestris* L et *Warionia saharae* Benth. et Coll, *Herniaria mauritanica*; huiles essentielles ; flavonoïdes ; activité antimicrobienne ; activité antioxydante, CPG, RMN  $^{13}C$ , CCM, CLHP

# Abstract

Plants have always been a key source of medicines. Even today a majority of the world's population, especially in developing countries, is treated only with traditional medicines made from plants. From aspirin to taxol, the modern pharmaceutical industry itself is based on the diversity of secondary metabolites of plants to find new molecules with novel biological properties. It is in this contest this study focuses on the evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* L; *Artemisia campestris* L and *Warionia saharae* Benth. and Coll, and flavonoids of *Herniaria mauritanica* Murb and *Warionia saharae*. Benth. and Coss. Essential oils *Warionia saharae* and *Artemisia judaica* L are analyzed by gas chromatography (GC) and nuclear magnetic resonance (NMR  $^{13}$  C). The major constituents were  $\beta$ -eudesmol (34.6%), (E)-nerolidol (25.7%) and Linanol (14.6%) for *Warionia saharae*. Camphor (20.2%), Borneol (8.8%) and davanone (7.6%) for *Artemisia judaica*. We have identified the following phenolic compounds by thin-layer chromatography: - Pyrocatechol, catechin and quercetin in the flowers of *Warionia saharae* Benth. and Coll. - Pyrocatechol, catechin and gallic acid in the leaves of *Warionia saharae* .. Regarding *Herniaria mauritanica* Murb four compounds were identified: catechin, p-coumaric acid, gallic acid and Pyrocathéchol. The essential oils have antibacterial and antifungal activity of the significant majority of strains (the minimum concentration of essential oil to inhibit 50% of bacterial strains ranged from 0.25  $\mu$ l / ml to 3.5  $\mu$ l / ml) while the flavonoids are or less low. The antioxidant activity of flavonoids of Acetate extracts of *Warionia saharae* is comparable to that of ascorbic acid (. The effective concentration of substrate that causes the loss of 50% of the activity of DPPH (EC50) varies from 0.04 g / ml to 7.48 g / ml). In this study we found that the extracts have activity flavones sequestration considerable DPPH radical, while essential oils are antimicrobial and antifungal.

Keywords: *Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* L; *Artemisia campestris* L and *Warionia saharae* Benth. and Coll, *Herniaria mauritanica*; essential oils, flavonoids, antimicrobial activity, antioxidant activity, CPG,  $^{13}$  C NMR, TLC, HPLC

## الملخص

تعتبر النباتات مصدرا رئيسيا للأدوية , حيث تتعطي الغالبية العظمى من سكان العالم و خاصة سكان البلدان النامية الأدوية التقليدية من النباتات. تركز صناعة الأدوية الحديثة علي تنوع الأيظاط الثانوية للنباتات و العثور علي جزيئات جديدة ذات خصائص بيولوجية مميزة. في هذا الإطار تم خلال هذه الدراسة الحالية التقييم لمضادات الجراثيم و الأنشطة المضادة للأكسدة من الزيوت الأساسية للنباتات التالية: *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica* et *Warionia saharae* و الفلافونيدات لل *Heniarria mauritanica* et *Warionia saharae* اعطي التحليل الكميائي للزيوت بالكروماتوغرافيا الغازية و مطياف الرنين المغناطيسي النووي *Warionia saharae* المركب الرئيسي أودسمول (34.6%) متبوع ب بيروليدول (25.7%)، لينانول (14.5%) اما *Herniria mauritanica* فنجد الكافور (20.2%) متبوع ب بورنيل (8.8%) و دافانوفال (7.6%). لقد تعرفنا علي بعض المركبات الفلافويدية عن طريق الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة منها بيروكاتكول، حمض الغاليك و. كاتيشين و براكوماريك. النشاطات البيولوجية ضد الفطريات و البكتريا للزيوت الطيارة عند النباتات المدروسة تكون أكثرعالية مقارنة مع مستخلصاتهما. أما النشاطات المضادة للتأكسد للزيوت الطيارة كانت معتبرة. المستخلصات الفلافونيدية تملك قدرة قوية للتثبيط الجدر الحرة

الكلمات المفتاحية : الزيوت الطيارة، المركبات الفلافونيدية، مضادات الجراثيم، الأنشطة المضادة للتأكسد، *Artemisia herba alba*, *Artemisia judaica*, *Artemisia campestris* *Warionia saharae* , *Herniarria mauritanica*.,

Figure 24 Pourcentage d'inhibition des souches bactériennes par les huiles essentielles des différentes espèces.....	70
Figure 25: La concentration minimale d'huile essentielle inhibant 50 % des souches bactériennes.....	70
Figure. 26 : Activité de la nystatine sur des souches mycéliennes.....	71
Figure 27: Activité antifongique des extraits de <i>Warionia saharae</i> et <i>Herniaria mauritanica</i> ...	76
Figure 28 : Pouvoir antioxydant des extraits falvoniques de <i>Warionia saharae</i> , <i>Herniaria mauritanica</i> et l'acide ascorbique.....	80
Figure 29 : Pourcentage d'inhibition des extraits de <i>Warionia saharae</i> (fleurs).....	81
Figure 30 : Figure 32 : Activité antioxydante des huiles essentielles et de l'acide ascorbique.....	83
Figure 31: Résultat du test bio autographique.....	85

## *La liste des tableaux*

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artémisia herba alba</i> Asso dans la région de Matmata (Tunisie),.....	6
Tableau 2 : Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artémisia campestris</i> dans la région de Matmata (Tunisie),.....	9
Tableau 3 : Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artémisia judaica</i> L. ssp. <i>sahariensis</i> dans le Nord de l'Egypte.....	12
Tableau 4 : Situation géographique et bioclimat des différentes stations .....	32
Tableau 5: Programme d'élution en mode gradient .....	41
Tableau 6: Les différentes souches bactériennes et fongiques et leurs provenances.....	42
Tableau 7 chimique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia judaica</i> L. ssp. <i>sahariensis</i> . ....	51
Tableau 8 Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Warionia saharae</i> .....	53
Tableau 9 : La séparation des composés phénoliques par CCM de <i>Warionia saharae</i> (feuilles et fleurs) et <i>Herniaria mauritanica</i> support : gel de Polyamide .....	58
Tableau 10: La séparation des composés phénoliques par CCM de <i>Warionia saharae</i> (feuilles et fleurs) et <i>Herniaria mauritanica</i> Support : gel de Cellulose.....	59
Tableau 11 : Les composés de la phase acétate d'éthyle de <i>Warionia saharae</i> (feuilles).....	63
Tableau 12 : Les composés de la phase n-Butanol de <i>Warionia saharae</i> (feuilles).....	63
Tableau 13: Les composés de la phase acétate d'éthyle de <i>Herniaria mauritanica</i> .....	64
Tableau 14: Les composés de la phase n-Butanol de <i>Herniaria mauritanica</i> .....	65
Tableau 15 : Activité des huiles essentielles et les extraits flavoniques vis-à-vis des souches bactériennes.....	68
Tableau 16: Activité antifongique des huiles essentielles en pourcentage d'inhibition.....	72
Tableau 17: Pouvoir réducteur en fonction des quantités d'extraits de <i>Warionia saharae</i> .....	77
Tableau 18: Pouvoir réducteur en fonction des quantités d'extraits de <i>Herniaria mauritanica</i> et de l'acide ascorbique .....	78

Tableau 19: Puissance anti radicalaire des extraits flavoniques et de l'acide ascorbique .....	81
Tableau 20: Puissance anti radicalaire des huiles essentielles et de l'acide ascorbique .....	83
Tableau 21: Résultats de l'activité anti-radicalaire par la méthode bio autographique.....	84

## *La liste des photos*

Photo 1: <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	3
Photo 2: <i>Artemisia campestris</i> L.....	7
Photo 3: <i>Artemisia judaica</i> L ssp. <i>Sahariensis</i> .....	10
Photo 4: <i>Warionia saharae</i> Benth. et Coss.....	13
Photo 5: <i>Herniaria mauritanica</i> Murb.....	14
Photo 6 : antibiogramme.....	67
Photo 7 : Effet des huiles essentielles des différentes espèces sur les souches de moisissures.....	74

# SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	1
--------------------	---

## Partie bibliographique

### *Chapitre I*

#### **Synthèse bibliographique des différentes plantes étudiées.**

I.1. <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	3
I.2. <i>Artemisia campestris</i> L.....	6
I.3. <i>Artemisia judaica</i> L ssp. <i>Sahariensis</i> .....	9
I.4. <i>Warionia saharae</i> Benth. et Coss.....	12
I.5. <i>Herniaria mauritanica</i> Murb.....	14

### *Chapitre II*

#### **Les huiles essentielles**

II.1. Définition.....	16
II.2. Localisation et répartition.....	16
II.3. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	16
II.4. Mécanismes d'action des huiles essentielles.....	17
II.5. Composition chimique des huiles essentielles.....	18
II.6. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles.....	19
II.7. Biosynthèse des huiles essentielles.....	19
II.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	22

### *Chapitre III*

#### **Les flavonoïdes**

IV.1. Définition.....	24
IV.2. Classification .....	24
IV.3. Biosynthèses des flavonoïdes.....	25
IV.4. Les chalcones et les dihydrochalcones.....	27
IV.5. Les flavanones.....	28

## Chapitre IV

### Les radicaux libres oxygénés

IV.1. Introduction.....	29
IV.2. Radicaux libres oxygénés.....	29
IV.3. Rôles pathogènes des radicaux libres.....	30
IV.3. Les moyens de défenses contre les radicaux libres.....	30

## Partie Expérimentale

### Chapitre I

#### Obtention et analyse des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso, *Artemisia judaica* L, *Artemisia campestris* L, *Warionia saharae* Benth. et Coss

I.1. Introduction : .....	31
I.2. Matériels végétaux.....	31
I.3. Analyse des huiles essentielles de <i>Warionia saharae</i> Benth. et Coss et <i>Artemisia judaica</i> L.....	34
I.3.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	34
I.3.2. Analyse des huiles essentielles par RMN <sup>13</sup> C.....	35

### Chapitre II

#### Analyse des composés phénoliques de *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. et Coss

II.1. Introduction .....	36
II.2. Matériels végétaux.....	36
II.3. Extraction des extraits flavoniques.....	36
II.4. Dosage des phénols totaux.....	38
II.5. Dosage des flavonoides.....	38
II.6 Analyse structurale des flavonoides.....	38
II.6.1 Chromatographie sur couche mince (CCM).....	39
II.6.2. Chromatographie haute performance liquide (CLHP).....	40

### Chapitre III

#### Etude du pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles et les composées flavoniques

III.1. Introduction.....	42
--------------------------	----

III.2 Les souches bactériennes et moisissures.....	42
III.3. Préparation de l'inoculum.....	43
III.4. Techniques d'étude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles et les extraits flavoniques des différentes espèces végétales.....	43
III.5. Étude du pouvoir antifongique.....	44

## *Chapitre IV*

### **Étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des extraits flavoniques des plantes médicinales.**

IV.1 Introduction.....	46
IV.2 Etude de l'activité antioxydante des composés phénoliques de <i>Warionia saharae</i> Benth et Coss et de <i>Herniaria mauritanica</i> Murb.....	46
IV.2.1. Mesure du pouvoir réducteur.....	46
IV.2.2. Mesure de piégeage du radical DPPH.....	47
IV.3. Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles des <i>Artemisia</i> et <i>Warionia saharae</i> .....	48
IV.4. Test antioxydant des extraits flavoniques et l'huile essentielle de <i>Warionia saharae</i> par la méthode d'autobiographie.....	48
IV.5. Etude statistique.....	49

## **Résultats et Discussion**

### *Chapitre I*

#### **Rendements et analyse des huiles essentielles par CPG et RMN <sup>13</sup>C.**

I.1. Rendements en huile essentielle des différentes plantes.....	50
I.2. Analyse chimique des huiles essentielles d' <i>Artemisia judaica</i> et <i>Warionia saharae</i> .....	51

### *Chapitre II*

#### **Dosage et analyse des flavonoïdes de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica* par CCM et HPLC.**

II.1. Rendement des composés phénoliques.....	54
II.2. Teneur en composés phénoliques des extraits secs.....	54
II.3. Teneur des flavonoïdes des extraits secs.....	56
II.4. Analyse des composés flavoniques par CCM.....	57
II.4.1. Mise en évidence du pool flavoniques de <i>Warionia saharae</i> et <i>Herniaria mauritanica</i> .....	61

II.4.2. Essai d'identification des composés phénoliques en utilisant quelques témoins.....	61
II.5. Analyse des composés flavoniques par CLHP.....	63

### *Chapitre III*

#### **Etude du pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles et des composés flavoniques des plantes médicinales.**

III.1. Etude du pouvoir antibactérien des différentes plantes.....	66
III.1.1. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	66
III.1.2. Etude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles et des extraits bruts.....	67
III.1.3. Détermination de CMI des huiles essentielles.....	69
III.2. Etude du pouvoir antifongique.....	71
III.2.1. Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielles.....	71
III.2.2. Etude du pouvoir antifongique des extraits flavoniques.....	75

### *Chapitre IV*

#### **Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des extraits flavoniques des plantes médicinales.**

IV.1. Activité antioxydante des extraits flavoniques de <i>Warionia saharae</i> et <i>Herniaria Mauritanica</i> .....	77
IV.1.1. Réduction du Fer.....	77
IV.1.2 Piégeage du radical DPPH.....	78
IV.2. Activité antioxydante des huiles essentielles par piégeage du radical DPPH.....	82
IV.3. Test antioxydant des extraits flavoniques et les huiles essentielles de <i>Warionia saharae</i> .....	84

<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>86</b>
---------------------------------	-----------

<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>88</b>
---	-----------

#### **ANNEXES**

Annexes. I.....	102
Annexes. II.....	102
Annexes. III.....	105
Annexes. IV.....	109.

# INTRODUCTION

Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, de nombreux traitements médicamenteux restent insuffisants face aux fléaux tels que: le malaria, première cause de mortalité dans le monde, cancer, Alzheimer, infections virales et bactériennes. A ceci, s'ajoute l'augmentation de l'incidence des infections fongiques avec l'émergence de nouvelles maladies qui affaiblissent le système immunitaire (SIDA), le recours aux traitements immunosuppresseurs (afin d'éviter les rejets de greffes), les traitements antinéoplasiques de plus en plus agressifs, ainsi que l'apparition de souches de microorganismes de plus en plus résistantes aux traitements connus.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces fléaux. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances, si l'on considère que chacune de ces plantes peut contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires (**Hostettmann et Marston, 2002**).

Notre travail a pour objectif d'étudier l'activité antimicrobienne et antioxydante de cinq plantes *Artemisia herba alba* Asso, *Artemisia campestris* L, *Artemisia judaica* L, *Warionia saharae* Benth et Coss et *Herniaria mauritanica* Murb, des zones arides au Sud Ouest de l'Algérie (Djebel Antar, Ain Ouarka et Ain Ben Khlil de la Wilawa de Naama). Ces plantes médicinales sont très utilisées par la population de Naama pour soigner certaines maladies, nous citons à titre d'exemple :

*Artemisia herba alba* Asso, *Artemisia campestris* L, *Artemisia judaica* L sont reconnues par leurs vertus purgatives et contre les maux intestinaux. *Warionia saharae* Benth et Coss est utilisée contre la brucellose par contre *Herniaria mauritanica* Murb est utilisée dans le traitement de la lithiase urinaire. Ces applications thérapeutiques de ces plantes par la population de Naama, nous ont amené à s'intéresser à l'étude des activités biologique et aussi valoriser ces plantes médicinales par l'étude de la composition chimique par la chromatographie en phase gazeuse et résonance magnétique nucléaire RMN <sup>13</sup> C.

A notre propre connaissance très peu ou pas de travaux ont été réalisés sur les activités antioxydante et antibactérienne des plantes *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth et Coss.

Par contre pour les huiles *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris* et *Artemisia judaica* beaucoup de travaux ont été faites. Ces huiles essentielles ont des activités antioxydante et

antibactérienne importante d'après **Charchari A, Dahoun F, Benslimani A, 1996 et Pitarokili D et al., 2003**.

Notre travail est divisé en trois grandes parties. La première partie concerne une synthèse bibliographique qui est répartie en 4 chapitres. Le premier chapitre, nous rappelons brièvement les connaissances actuelles sur la botanique, la systématique et l'usage thérapeutique des plantes.

Le 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> chapitre rappelle respectivement les généralités sur les huiles essentielles et les flavonoïdes. Dans le dernier chapitre de cette synthèse, nous aborderons les radicaux libres.

La 2<sup>ème</sup> partie est divisée en quatre chapitres, dont le premier est consacré à l'extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse et résonance magnétique nucléaire RMN <sup>13</sup>C des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso, *Artemisia judaica* L, *Artemisia campestris* L, *Warionia saharae* Benth. et Coss. Le 2<sup>ème</sup> chapitre, nous entamons les méthodes d'obtention et analyse des composés phénoliques par chromatographie sur couche mince (CCM) et chromatographie liquide à haute performance (CLHP) des extraits de *Heniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. et Coss. Le 3<sup>ème</sup> chapitre est consacré à l'étude du pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles et composés flavoniques des différentes plantes.

Nous entamons dans le 4<sup>ème</sup> chapitre l'étude de l'activité antioxydante des extraits flavoniques et des huiles essentielles par réduction de fer et piégeage du radical libre DPPH par différentes méthodes.

La 3<sup>ème</sup> partie est consacrée aux résultats et discussions obtenus dans ce travail.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

## Chapitre I

### Synthèse bibliographique des différentes plantes étudiées :

#### I.1. *Artemisia herba alba* Asso:

##### I.1.1 Présentation de la plante

Connue depuis des millénaires l'armoise blanche a été décrite par l'historien Grec Xénophon, dès le début du IV<sup>ème</sup> siècle avant J-C dans les steppes du Moyen-Orient.

(Francis , 2001)

Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste Espagnol Ignacio Jordan Claudio de Asso y del Rio. C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique et un goût amer.

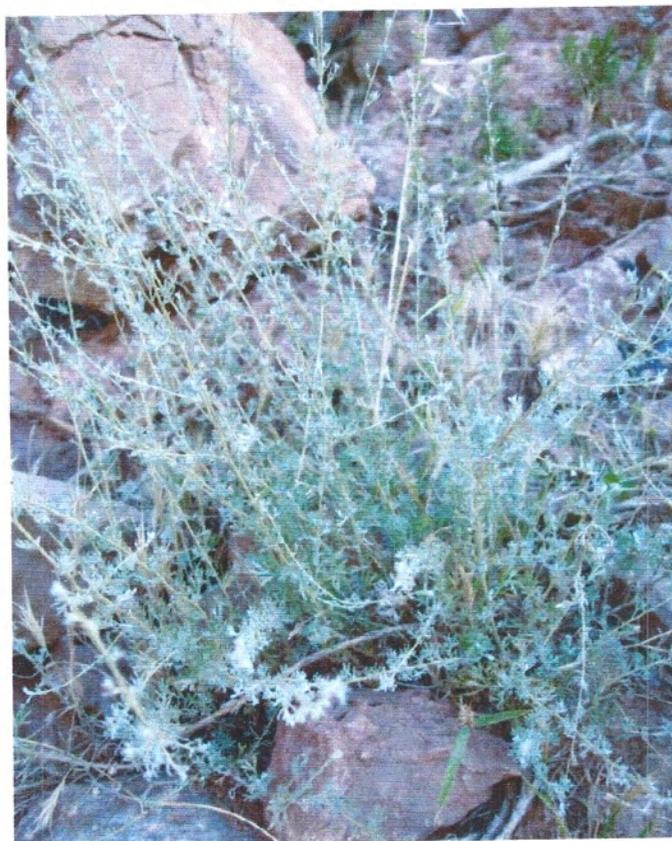


Photo 1 : *Artemisia herba alba* Asso

#### Noms vernaculaires :

**En Français :** Armoise blanche

**En Arabe :** Chih, Gaisoum, Chih korassani.

**Nom scientifique :** *Artemisia herba alba* Asso **Quezel et Santa, 1963**

### I.1.2. Description botanique :

Le genre d'*Artemisia* comporte un nombre variable des espèces de 200 à plus de 400 selon les auteurs **Marco et Barebera, 1990**. L'armoise herbe blanche est largement réponde depuis des Iles Canaries et le Sud-est de l'Espagne jusqu'aux steppes de l'Asie centrale et à travers l'Afrique du Nord et le Proche-Orient. En Afrique du Nord, cette espèce recouvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares. En Algérie, l'*Artemisia herba alba* Asso est l'une des onze espèces des *Artemisia* enregistrées, elle est présente dans les Hauts plateaux et en altitude dans le Sahara central. (**Quezel et Santa, 1963**).

#### I.1.2.1. Caractère botanique :

L'*Artemisia herba alba* Asso est une plante steppique du genre *Artemisia* de la famille des Astéracées Elle est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 cm à 50 cm avec une couche épaisse .Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes, à aspect argenté. Ces feuilles sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes. L'involucre est bractée et imbriquée. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres et toutes hermaphrodites (**Pottier, 1981**).

#### I.1.2.2. Systématique d'*Artemisia herba alba* Asso :

D'après **Quezel et Santa 1963 ; Dupont 2004**, la classification qu'occupe *Artemisia herba alba* Asso dans la systématique est la suivante :

<b>Embranchement :</b>	Phanérogames ou Spermaphytes.
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiospermes.
<b>Classe :</b>	Eudicots.
<b>Sous classe :</b>	Asteridées
<b>Ordre :</b>	Asterales.
<b>Famille :</b>	Astéracées.
<b>Genre :</b>	<i>Artemisia</i> .
<b>Espèce:</b>	<i>Artemisia herba alba</i> Asso.

### I.1.3. Propriétés thérapeutiques de cette plante :

Depuis longtemps, l'armoise blanche a été reconnue par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins

(Nabli, 1989). Elle est employée par la population de Naguef pour soulager les maux gastro-intestinaux (Friedman *et al.*, 1986). En Tunisie, elle est utilisée pour les maladies digestives et pour le traitement antidiabétique (Bouraoui, 2003).

*Artemisia herba alba* Asso est utilisée comme anti diarrhée, contre les crampes abdominales, et pour curatif des blessures externes (Feuerstein *et al.*, 1986). Elle est utilisée contre le diabète et l'ictère (Marrif *et al.*, 1995). Elle est recommandée pour des désordres neurologiques (Salah *et al.*, 2005).

#### I.1.4. Composition chimique :

L'analyse chimique des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso a fait l'objet de plusieurs travaux, permettant d'avancer l'existence de différents types chimiques de cette espèce selon les composés majoritaires identifiés lors de l'étude de la variabilité de cette huile essentielle.

Akrout *et al.*, 2001 ont étudié l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso de la région de Matmata Tunisie, la composition chimique de cette huile essentielle (Tableau 1) est constituée principalement de  $\alpha$  thujone (43,85%) suivie par trans-acétate de sabinyle (17,46 %), et  $\beta$  thujone (10,10 %), accompagné de faible quantité de 1,8-cineole (3,30 %), chrysanthénone (2,32 %) et acétate de chrysanthényle (3,93 %). En Jordanie Hudaib *et al.*, 2006 ont mis en évidence les principaux composés :  $\alpha$  thujone (16,20 %),  $\beta$  thujone (8,50 %), alcool santolina (13 %), cétone armoise (12,4 %), trans-Pinocarveole (3,9 %), acétate artemisyle (3,7 %), acétate de sabinyle (5,4 %), D-germacrene (2,6 %),  $\alpha$  eudesmol (2,2 %) et acétate caryophyllène (5,7 %).

L'analyse chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso récoltée dans la région de Msila (Algérie) effectuée par Dob *et al.*, 2006 révèlent la présence d'un composé majoritaire: Camphre (19,4 %) suivie par trans- pinocarveole (16,9 %), chrysanthénone (15,8 %) et  $\beta$  thujone (15 %).

L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* est très variable. Des études faites par Vernin, *et al.*, 1995; Feuerstein, *et al.*, 1986 ; Benjilali, *et al.*, 1982 ont trouvé que le camphre a été le composant majoritaire d'*Artemisia herba alba* dans les pays suivantes : Algérie, Maroc et l'Espagne avec un pourcentage variable de 15 % à 68,2 %. D'autres études ont montré que le composant majoritaire est le  $\alpha$  thujone (44%) (Fleisher, *et al.*, 2002).

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso dans la région de Matmata (Tunisie), (Akrouit *et al.*, 2001)

Composés	Teneur en %	Composés	Teneur en %
$\alpha$ Pinène	0,59	Trans-pinocarveole	1,71
Sabinene	0,25	Sabina cétone	0,61
$\beta$ thujone	10.10	Pinocarvone	0,50
P-cymene	0,88	Acétate de chrysanthényle	3,93
1,8-cineole	9.30	Trans-acétate de sabinyle	17,46
$\alpha$ thujone	43,85	$\beta$ -Farnesene	0,76
Chrysanthénone	2,32	Spathuléol	1,40
Trans-sabinol	0,45	$\beta$ -Eudesmol	0,32

## 1.2. *Artemisia campestris* L.:

### 1.2.1 Présentation de la plante :

*Artemisia campestris* L est une plante appartenant à la famille des Astéracées. Elle est assez commune sur les sols siliceux et les bords des rivières jusqu'à 1500 m. Les feuilles de cette plante sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle comme anti-venin, anti-inflammatoire. (Le Floc'h, 1983). *Artemisia campestris* L a des propriétés allélochimiques inhibant la croissance et la germination de certaines plantes qui l'entourent (Neffati, 1984).

#### Noms vernaculaires :

**En Français :** Armoise champêtre, Aurogne-des-champs.

**En Arabe :** Allala, Tgouft.

**Nom scientifique :** *Artemisia campestris* L (Quezel et Santa, 1963).



Photo 2 : *Artemisia campestris* L

### **I.2.2. Description botanique :**

*Artemisia campestris* L est une plante des Hauts plateaux. Elle est d'origine méditerranéenne. Elle est fréquente au Hoggar, plus rare au tassili (**Houmani, 2007**).

#### **I.2.2.1. Caractère botanique :**

*Artemisia campestris* L est une plante vivace, sa floraison est en Mai à Septembre. Elle est assez commune sur les sols siliceux et les bords des rivières. C'est une plante herbacée, hermaphrodite, buissonnante de 30 cm à 50 cm. Ces tiges sont ligneuses, à la base striée. Elle est généralement rougeâtre, très ramifiées. Ces rameaux constituant une panicule plus au moins ample. Les feuilles de cette plante sont altérées, non charnues, plus au moins soyeuses dans leur jeunesse. Les basales de ces feuilles sont pétiolées et auriculées, les autres sont sessiles ou subsessiles, dressées ou pendantes. Les fleurs périphériques sont femelles, les autres sont mâles.

#### **I.2.2.2. Systématique d'*Artemisia campestris* L:**

D'après **Quezel et Santa, 1963** ; **Dupont, 2004**, la classification qu'occupe *Artemisia campestris* L dans la systématique est la suivante :

<b>Embranchement :</b>	Phanérogames ou Spermaphytes.
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiospermes.
<b>Classe :</b>	Eudicots.
<b>Sous classe :</b>	Astérides
<b>Ordre :</b>	Asterales.
<b>Famille :</b>	Astéracées.
<b>Genre :</b>	Artemisia.
<b>Espèce :</b>	<i>Artemisia campestris</i> L.

### I.2.3. Propriétés thérapeutiques de cette plante :

Les populations du Sud Algérien l'utilisent pour calmer les troubles digestives, les douleurs abdominales. Ainsi les nausées. Elle est utilisée en décoction pour les règles irrégulières ou pour l'accouchement. En usage externe, elle cicatrise les plaies et les brûlures (Ferchichi, *et al.*, 2006.) Les huiles essentielles de cette plante ont une activité, antibactérienne et antifongique d'après Akrouit *et al.*, 2007

### I.2.4. Composition chimique :

Les huiles essentielles d'*Artemisia campestris* L ont l'objet de plusieurs travaux décrivant la composition très variée. Les premiers travaux effectués par Govin, 1963 en Turquie rapportent que le composé majoritaire de l'huile essentielle est le  $\alpha$  pinène (21 %) suivie par  $\beta$  pinène (12 %), 1,8-cineole (8 %), thujone (4%), Alcool thujyl (15 %), géraniol (13 %), et un composé non identifié (11 %). D'autres travaux sur la composition de l'huile essentielle de cette plante effectuée par Silvestre *et al.*, 1999 en Italie ont mis en évidence le composé majoritaire est le  $\alpha$  pinène (15,3 %) suivie par  $\beta$  pinène (9,80 %), oxyde caryophyllène (18,2 %), Spathuléol (9.3 %), limonène (4,9 %) et 1,8-cineole (5.2 %).

En Algérie, Dob *et al.*, (2005) ont montré que le composé majoritaire de cette l'huile est : (Z, E) farnesol (10.3 %) suivie par cedrol (5.4 %), verbenone (3.8 %).

Enfin Akrouit *et al* 2007 ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L (Tableau 2) provenant de quatre régions différentes de Tunisie. Le composé majoritaire est le  $\beta$  pinène (24% à 49,8 %) suivie par  $\alpha$  pinène (5,9 % à 12,5%), p-cymène (3,4% à 9,4 %) et le limonène (4,9 % à 9,3 %).

Tableau 2 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L dans la région de Matmata (Tunisie), (Akrouf *et al.*, 2007)

Composés	Teneur en %	Composés	Teneur en %
$\beta$ pinène	24 - 49,8	$\alpha$ terpinéol	0,6 – 5,5
$\alpha$ pinène	5,9 - 12,5	Terpinene - 4 ol	0,7 -1.9
p-cymene	3,4 - 9,4	$\gamma$ Murolene	0,3 – 5,4
limonène	4,9 – 9,3	$\delta$ cadinene	0,2 – 2,4
$\beta$ ocimene	0,2 – 5,5	Spathulénol	1,2 – 8,9
$\gamma$ Terpinene	2 – 6,5	$\beta$ -Eudesmoi	1 – 6,4

Nous remarquons que le composé majoritaire de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L est le  $\beta$  pinène, avec des variabilités dans la teneur, sauf le cas en Algérie nous remarquons que le (Z, E) farnesol (10.3 %) est le composé majoritaire. (Dob *et al.*, 2005).

### **I.3. *Artemisia judaica* L ssp. *sahariensis* :**

#### **I.3.1 Présentation de la plante :**

*Artemisia judaica* L ssp. *sahariensis* est une plante aromatique, elle appartient à la famille des Astéracées. Elle est utilisée par la population Egyptienne dans le traitement des troubles gastro-intestinaux.

#### **Noms vernaculaires :**

**En Français :** Armoise de Judée

**En Arabe :** Chouhiya, baatharam

**Nom scientifique :** *Artemisia judaica* L ssp. *sahariensis*. (Quezel et Santa, 1963).



Photo 3 : *Artemisia judaica* L ssp. *sahariensis*.

### **I.3.2. Description botanique :**

*Artemisia judaica* L ssp. *sahariensis* est un arbrisseau vivace, qui a une odeur agréable. Elle se développe largement dans la péninsule de Sinaï de l'Égypte (**Tackholm, 1974**), dans le Saharo-arabique et dans les oueds sablonneux (**Quezel et Santa, 1963**).

#### **I.3.2.1. Caractère botanique :**

L'*Artemisia judaica* L est un arbrisseau vivace, formant de grosses touffes vert bleuté. Les tiges sont plus ou moins ligneuses. Elle a des capitules jaunes bombés, jaune pâle, assez gros. Les petites feuilles très divisées sont couvertes d'un duvet argenté (**Quezel et Santa, 196**).

#### **I.3.2.2. Systématique d'*Artemisia judaica* L ssp *sahariensis* :**

D'après **Quezel et Santa 1963** et **Dupont 2004** la classification qu'occupe *Artemisia judaica* L ssp *sahariensis* est la suivante :

<b>Embranchement :</b>	Phanérogames ou Spermaphytes.
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiospermes.
<b>Classe :</b>	Eudicots.

<b>Sous classe :</b>	Asteridées
<b>Ordre :</b>	Asterales.
<b>Famille :</b>	Astéracées.
<b>Genre :</b>	Artemisia.
<b>Espèce :</b>	<i>Artemisia judaica</i> L
<b>Sous espèce :</b>	<i>Artemisia judaica</i> L ssp. <i>sahariensis</i> .

### I.3.3. Propriétés thérapeutiques de cette plante :

Les feuilles séchées d'*Artemisia judaica* L ssp. *sahariensis* sont avalées avec un verre d'eau pendant les fêtes afin d'éviter les désagréments intestinaux dans la tradition de la population du sud Algérien. Cette plante est utilisée contre les maux intestinaux et diminue le risque de l'athérosclérose. (Abuzarga *et al.*, 1987). Elle a une activité antibactérienne, anti-inflammatoire et antipyrétique (Al Gaby *et al.*, 2000).

### I.3.4. Composition chimique :

L'analyse chimique de l'huile d'*Artemisia judaica* L ssp. *saharensis* a fait l'objet de quelques travaux permettant d'avancer l'existence de différents types chimiques.

El Gaby *et al.*, (2000) ont étudié cette huile essentielle dans de Zagazig en Egypte et dont le composé majoritaire est le camphre (37,3 %) suivie par Piperitone (27,4 %).

D'autres travaux réalisés par Khaled *et al.*, 2002, dans le nord de l'Egypte ont permis de détecter 25 composés dont le composé majoritaire est le piperitone (45,0 %) suivie par trans-éthyle cinnamate (20,8 %) et éthyle-3-phényle propionate (11,0 %), les autres composés sont Spathulenol (6,27 %), cis éthyle cinnamate (5,64 %), 2,6-diméthyle phénol (1,39 %), méthyle cinnamate (1,06 %) et camphre (0,38 %) (Tableau 3).

En Algérie, Dob *et al.*, 2006 ont étudié l'huile essentielle de cette plante dans la région d'Ain Aminas. Ils ont trouvé 62 composés dont le composé majoritaire est le Piperitone (61,9 %) suivie par terpinen-4-ol (4,6 %) et le bornyl acétate (3 %).

Tableau 3 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* L ssp. *sahariensis* dans le Nord de l'Égypte (Khaled *et al.*, 2002 )

Composés	Teneur en %	Composés	Teneur en %
Piperitone	45	Cis éthyle cinnamate	5,64
Trans-éthyle cinnamate	20,8	2,6-diméthyle phénol	1,39
Ethyle-3-phényle propionate	11	Méthyle cinnamate	1,06
Spathulenol	6,27	Camphre	0,38

#### **I.4. *Warionia saharae* Benth. et Coss. :**

##### **I.4.1 Présentation de la plante :**

*Warionia saharae* Benth et Coss est un arbuste aromatique. Elle appartient à la famille des Astéracées. Selon les traditions du sud Algérien, les feuilles de cette plante sont utilisées contre la brucellose.

##### **Noms vernaculaires :**

**En Arabe :** Kabar miise ; affessas

**Nom scientifique:** *Warionia saharae* Benth. et Coss. (Quezel et Santa, 1963).

##### **I.4.2. Description botanique :**

*Warionia saharae* est une plante endémique, herbacée. Ce genre de plante pousse dans le Sud Oranais : Tyout, Bechar et dans le sud du Maroc (Quezel et Santa, 1963)

##### **I.4.2.1. Caractère botanique :**

*Warionia saharae* est un arbuste à gros troncs subéreux, à grosses tiges courtes, semblables à des tiges de laitue. Ces feuilles toutes couvertes de glandules sphériques et odorantes sont oblongues, subsessiles, à lobes irréguliers triangulaires, érodées-dentées. Cette plante a des grands capitules solitaires et terminaux. Elle est présente dans le Sud-Oranais : Tyout, Founassa et au Maroc : Mir- Djebel, Si-Slimane. (Quezel et Santa, 1963.)



Photo 4: *Warionia saharae* Benth. et Coss.

#### I.4.2.2. Systématique de *Warionia saharae* :

D'après **Quezel et Santa (1963)** et **Dupont (2004)** la classification qu'occupe *Warionia saharae* est la suivante :

<b>Embranchement :</b>	Phanérogames ou Spermaphytes.
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiospermes.
<b>Classe :</b>	Eudicots.
<b>Sous classe :</b>	Asteridées
<b>Ordre :</b>	Asterales.
<b>Famille :</b>	Astéracées.
<b>Genre :</b>	<i>Warionia</i>
<b>Espèce:</b>	<i>Warionia saharae</i> Benth et Coss.

#### I.4.3. Propriétés thérapeutiques de cette plante :

Dans la médecine traditionnelle au Maroc, *Warionia saharae* est utilisée comme un anti- inflammatoire et aussi dans le traitement d'ictère gastro-intestinal (**Essaqui et al., 2007**). Dans la région d'Ain Ouarka, cette plante est utilisée contre la brucellose.

#### I.4.4. Composition chimique :

L'analyse chimique des huiles essentielles de *Warionia saharae* a fait l'objet de très peu de travaux. Une étude a été réalisée par **Essaqui et al., 2007** montrant le composé majoritaire le  $\beta$ -eudesmol (52,7 %) suivie par trans-nerolidol (17,4 %), linalol (5,01 %), guaiol (2,4 %), terpinene-4-ol (1,4 %) et 1,8-cineole (1,2 %).

#### I.5. *Herniaria mauritanica* Murb :

##### I.5.1 Présentation de la plante :

*Herniaria mauritanica* Murb est une plante herbacée, appartenant à la famille des illecebracées. La population du sud Algérien, utilise cette plante comme diurétique et dans d'autres infections des voies urinaires.



Photo 5: *Herniaria mauritanica* Murb.

##### Noms vernaculaires :

**En Arabe :** Fatete lahjar,

**Nom scientifique :** *Herniaria mauritanica* Murb. (**Quezel et Santa, 1963**).

##### I.5.2. Description botanique :

Le genre *Herniaria* regroupe 45 espèces dont seulement 22 sont décrites. Ce genre de plante pousse en Afrique, en Asie centrale et en Europe. Le nom du genre du latin *Herniaria* fait référence à l'emploi de certaines de ces espèces dans le traitement des hernies (**Nysten, 1814**).



*Herniaria mauritanica* Murb est une plante endémique algérienne, signalée dans la flore de **Quezel et Santa 1963**.

#### **I.5.2.1. Caractère botanique :**

*Herniaria mauritanica* est une herbe annuelle, bisannuelle ou pluriannuelle. Ces tiges s'écartent pour se prosterner. Souvent, elles sont embranchées à la base. Leurs sépales sont ovales, sub égaux. Les feuilles peuvent atteindre 2 mm. Les glomérules sont de grande taille, et sont rapprochées et nombreux au sommet des rameaux **Quezel et Santa, 1963**

#### **I.5.2.2. Systématique de *Herniaria mauritanica* :**

D'après **Quezel et Santa (1963)** et **Dupont (2004)** la classification qu'occupe *Herniaria mauritanica* Murb dans la systématique est la suivante :

<b>Embranchement :</b>	Phanérogames ou Spermaphytes.
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiospermes.
<b>Classe :</b>	Eudicots.
<b>Sous classe :</b>	Eudicots archaïques
<b>Ordre :</b>	Caryophyllales
<b>Famille :</b>	Illecebracées.
<b>Genre :</b>	<i>Herniaria</i> .
<b>Espèce :</b>	<i>Herniaria mauritanica</i> Murb.

#### **I.5.3. Propriétés thérapeutiques de cette plante :**

*Herniaria mauritanica* est utilisée dans le traitement de la lithiase urinaire, qui est une maladie très fréquente, et se caractérise par la présence d'un ou plusieurs calculs dans les voies urinaires. (**Freileretal, 1996**).

#### **I.5.4. Composition chimique :**

L'analyse chimique des composés phénoliques de *Herniaria mauritanica* à fait l'objet de très peu de travaux. Une étude a été faite par **Cheriti et al., 1996** sur les parties aériennes de la plante. Ils ont pu isoler cinq dérivés de flavonoïdes qui sont : isorthamnetine, kaempferol, quercetine, astragalin, isoquercetine.

## Chapitre II

### Les huiles essentielles

#### II.1. Définition :

Les huiles essentielles sont des substances volatiles non grasses sécrétées par des plantes aromatiques comme la lavande, l'eucalyptus ou le thym. Elles sont constituées d'un mélange souvent complexe de molécules organiques. Elles entrent dans la composition de parfums, de cosmétiques, de produits d'entretien et elles sont utilisées en aromathérapie. Les essences sont produites dans les glandes spécialisées de différentes parties des plantes (Fleurs, feuilles, bois,...), toujours en très petite quantité. Certaines essences protégeraient la plante contre les agents pathogènes, d'autres attireraient les insectes pollinisateurs (**Bachelot *et al.*, 2006**).

#### II.2. Localisation et répartition :

Les huiles essentielles n'existent que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles :

Les apiacées, myrtacées, rustacées, astéracées, cupressacées et poacées (**Gerhard, 1993**).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans les organes végétaux : tel que les fleurs, l'écorce, bois, racines, des rhizomes de fruits et des grains. Les huiles essentielles se forment dans les vacuoles des cellules épidermiques ou dans des cellules du mésophylle de nombreux pétales (**Bruneton, 1999**).

#### II.3. Domaine d'utilisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs.

##### II.3.1. En désinfection de l'air :

Les huiles essentielles sont composées d'un grand nombre de molécules volatiles. En diffusion dans l'air ou diluées dans les produits de nettoyage, elles désinfectent, désodorisent et parfument agréablement et naturellement l'air. Cette pratique régulière prévient également des affections microbiennes en renforçant les défenses immunitaires. Nous pouvons utiliser pour l'assainissement de l'atmosphère des locaux tels que la conservation de patrimoine bibliographique de musées des archives (**De Billerbeck, 2000 ; 2002**), ou pour traiter la qualité de l'air dans les bâtiments (**Pibiri *et al.*, 2001**).

### **II.3.2. En agroalimentaire :**

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi les huiles essentielles et leurs composants, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antioxydantes et antimicrobiennes sur plusieurs bactéries responsable de la pollution des aliments et pourraient servir d'agents de conservation alimentaires (Kim *et al.*, 1995).

Les huiles essentielles ont également des propriétés fongicides. Elles sont utilisées en tant que pesticides car elles ne sont pas toxiques pour les plantes et sont facilement dégradables (Mahadevan, 1982) et son très efficace contre les moisissures responsables des denrées alimentaires lors de leurs stockages (Mejhohm, 2002).

### **II.3.3. En traitement des infections :**

Les huiles essentielles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques. Ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques pour guérir, atténuer ou prévenir les maladies et les infections. Le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité buccale (Buchbauer, 1994) est un exemple parmi d'autres, des domaines d'application de l'activité des huiles essentielles.

## **II.4. Mécanismes d'action des huiles essentielles :**

Due aux microorganismes résistants aux antibiotiques, la recherche d'un nouveau médicament prototype pour combattre ces infections est absolument nécessaire. Plusieurs huiles essentielles offrent un espoir illimité et grand potentiel à l'égard de ce problème. Connue de façon empirique depuis des siècles, leurs efficacités anti-infectieuses a été scientifiquement démontré *in vitro* (Oussalah *et al.*, 2007) et *in vivo* (Chami *et al.*, 2004).

### **II.4.1. Mode d'action contre les bactéries :**

Lorsque nous parlons d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le plus souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides.

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaire (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques. Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : thymol, carvacrol, et eugénol. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires. (Buert, 2004).

Le thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et parmi elles, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les alcools avec 10 atomes (ou monoterpénols) viennent immédiatement après les phénols, en terme d'activité, avec le géraniol, linalol.

#### **II.4.2. Mode d'action contre les champignons:**

L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des huiles essentielles vis-à-vis de champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux (Karaman *et al.*, 2001). L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (Cox *et al.*, 2000). Les groupes moléculaires avec les plus puissantes actions antibactériennes sont également des antifongiques efficaces. (Karaman *et al.*, 2001). Des études fondamentales ont également montré que les alcools et les lactones sesquiterpéniques ont une activité antifongique. (Knobloch *et al.*, 1989).

### **II.5. Composition chimique des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants qui appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquents d'autre part.

#### **II.5.1 Terpénoïdes :**

Dans les huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils. C'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : monoterpènes et sesquiterpènes (Bruneton, 1999).

### **II.5.2. Composés aromatiques :**

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents, il s'agit d'allyle et de propénylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles. Nous pouvons également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C6-C1), plus rares, tel le safrole (Anton *et al.*, 1999).

### **II.5.3. Composés d'origines divers :**

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. (Brunetton, 1999).

## **II.6. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles :**

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant divers conditions : l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Svoboda, 1995 et Smallfield, 2001). C'est ainsi l'action des huiles essentielles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, ces composés inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique (Svoboda *et al.*, 1999).

Ajouter à la complexité d'huiles volatiles, les proportions des différents constituants d'une huile essentielle peuvent varier de façon importante tout au long du développement, aussi les chimiotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes aromatiques exemple, on compte pour *Thymus vulgaris* ; espèce morphologiquement homogène sept chimiotypes différents (Brunetton, 1993). Les conditions principales requises pour une production rentable en huile essentielle sont : le bon matériel végétal, variété de la plante, le sol, équipement de distillation et le climat (Smallfield, 2001).

## **II.7. Biosynthèse des huiles essentielles :**

La biosynthèse des terpènes est initiée par la formation des unités à cinq atomes de carbone ou isoprène actif, la formation de l'acétoacétate et la condensation aldolique avec une molécule d'acétyl Coenzyme A. (Figure 1)

La réaction se produit en présence du Coenzyme A synthétase et Coenzyme A réductase pour former l'acide 3R-mévalonique (MVA). la conversion de MVA en structure hemi-terpénique est réalisée en trois phosphorylation successives, permettant d'introduire le groupe pyrophosphate, dont l'élimination conduit à la formation du pyrophosphate d'isopentényle et du pyrophosphate de diméthyle allyle, deux isomères (**Bach et al., 1987**) (Figure. 1).

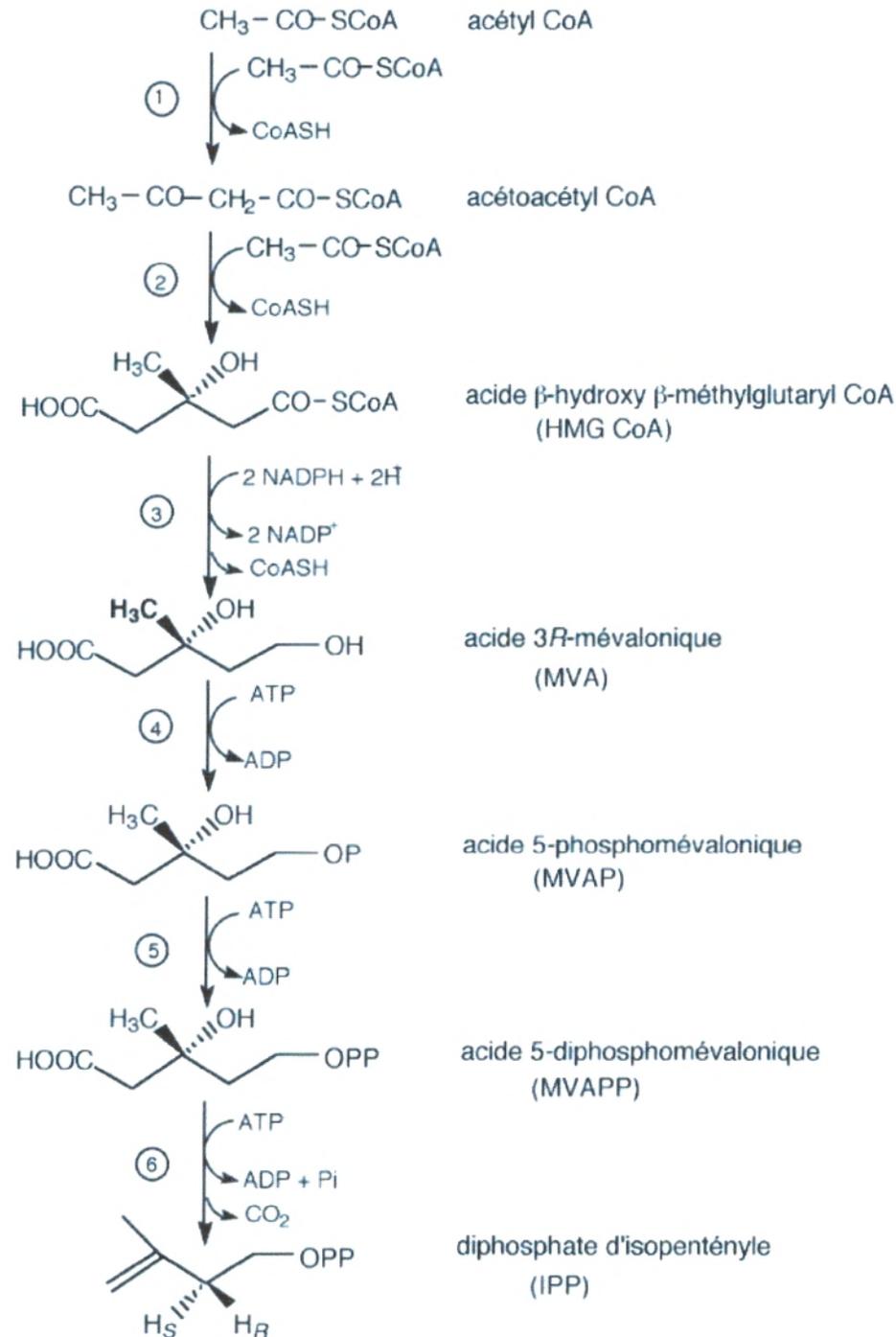


Figure. 1 : Principales étapes de la biosynthèse du diphosphate d'isopentényle à partir de l'acétyle CoA (**Bach et al., 1987**)

La condensation de ces deux unités aboutit à la formation du pyrophosphate de géranyle le précurseur le plus probable des monoterpènes cycliques. La condensation du pyrophosphate d'isopentényle permet d'obtenir le pyrophosphate de trans farnésyle, qui est le précurseur des sesquiterpènes (Singh, 1990) (Figure.2). Les réactions se terminent soit par formation d'hydrocarbures soit par addition d'un nucléophile tel que l'eau et donc formation d'un alcool. L'oxydation et l'estérification de ce dernier donnent naissance aux multiples cétones et acétates connus dans la gamme d'huiles essentielles (Dubey *et al.*, 2003).

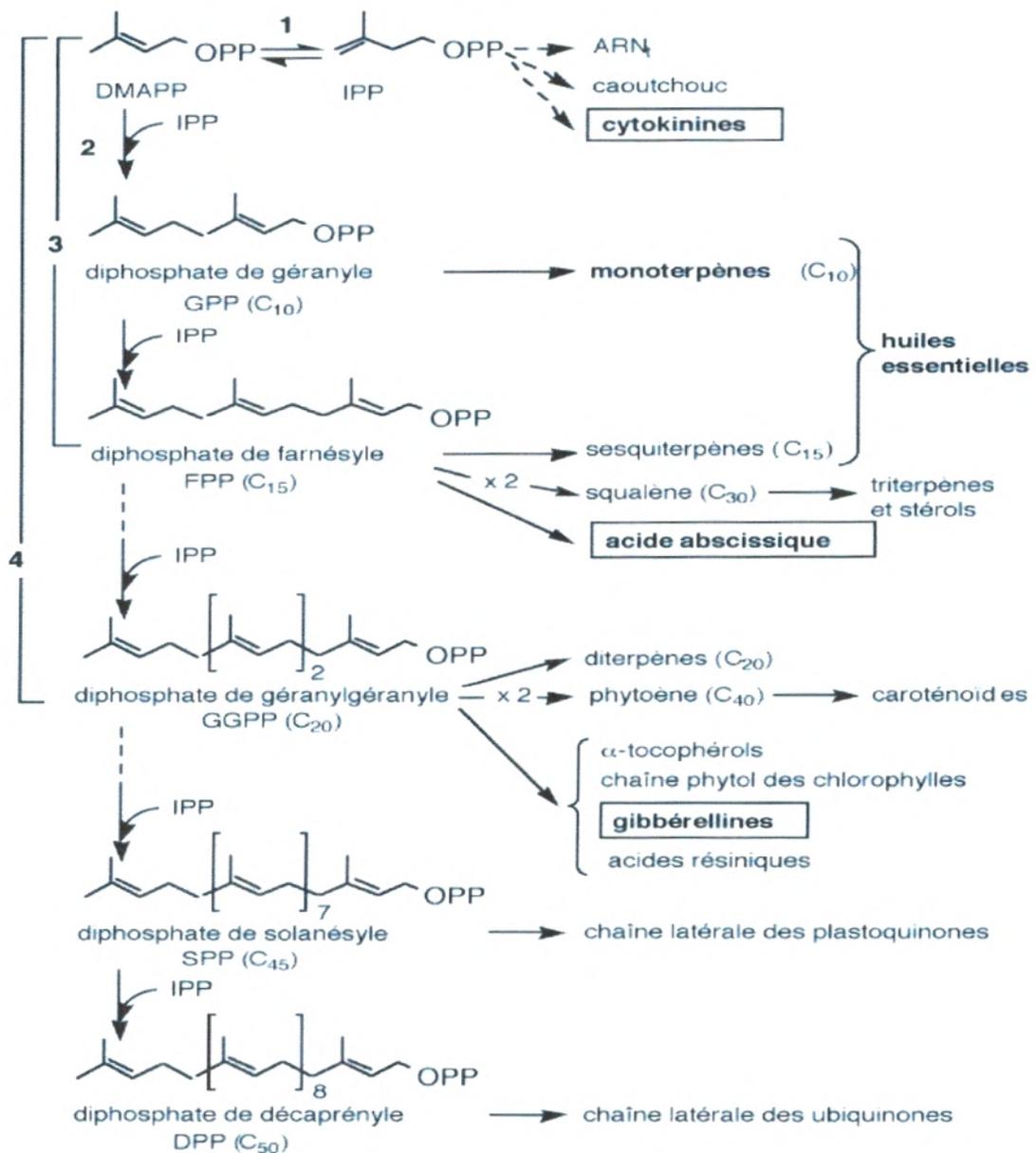


Figure. 2 : Mode d'élongation des processus terpéniques à partir du chaînon élémentaire, le diphosphate d'isopentényle (IPP) (Singh, 1990).

## **II.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :**

L'extraction des huiles essentielles se fait par des procédés divers :

### **II.8.1. Par entraînement à la vapeur :**

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement à la vapeur d'eau, trois variantes sont possibles selon la texture et la fragilité de la matière première à traiter.

#### **II.8.1.1 Hydrodistillation simple :**

La plante est mise en contact avec de l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité (**Bruneton, 1999**).

#### **II.8.1.2. Distillation à vapeur saturée :**

Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, il est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau vont être séparés par décantation du distillat refroidi (**Belaiche, 1979**).

#### **II.8.1.3. Hydrodiffusion :**

L'hydrodiffusion consiste à faire passer un courant de vapeurs d'eau à très faible pression à travers la masse végétale. La composition des produits obtenus est sensiblement différente au plan qualitatif de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes (**Buchbauer, 2000 in Lahlou, 2004**).

### **II.8.2. Autres procédés :**

#### **II.8.2.1. Distillation assistée par micro-ondes :**

Cette technique a le même principe que la distillation simple sauf que le chauffage du ballon contenant la matière végétale et le solvant se fait sous l'énergie micro-onde. L'avantage de cette technique est de réduire considérablement le temps de distillation. (**Lahlou, 2004**).

### **II.8.2.2. Distillation par des solvants volatils :**

L'extraction par des solvants volatils consiste à traiter la matière première dans un extracteur au moyen d'un solvant volatil tel l'hexane ou l'éthanol. Celui-ci, chargé du parfum des matières odorantes grâce à des lavages successifs, passe ensuite dans un concentrateur où il est distillé.

On obtient alors une concrète qui sera brassée avec de l'alcool dans des batteuses, puis filtrée et glacée afin d'extraire les cires végétales non miscibles dans l'alcool. On obtient ainsi l'essence pure ou absolue après une dernière concentration. Le rendement est souvent supérieur à celui de la distillation et le procédé évite l'action hydrolisante de la vapeur d'eau (**Brunetton, 1999**)

### **II.8.2.3. Distillation par enfleurage :**

L'industrie des parfums a utilisé l'enfleurage, pour les organes fragiles comme les fleurs, c'est-à-dire le contact avec un corps gras qui se sature d'essence. Le corps gras est épuisé par l'alcool absolu et ce solvant est évaporé sous vide à 0°C (**Belaiche, 1979**).

## Chapitre III

### Les flavonoïdes.

#### III.1. Définition :

Le terme «flavonoïdes» désigne une large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasiment universels des végétaux. Tous les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phenylchromane (Figure. 3) (**Brunetton, 1999**)

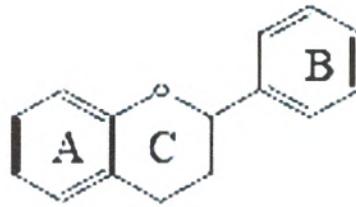


Figure. 3: 2-phenylchromane

C'est chez les Angiospermes que la diversité structurale des flavonoïdes est maximale. Ils sont de façon très générale localisés dans les feuilles (dans l'épiderme ou entre l'épiderme et le mésophylle), dans les fleurs (cellules épidermiques) ou encore dans les fruits (tégument externe) (**Brunetton, 1999**).

#### III.2. Classification :

Les flavonoïdes peuvent être regroupés en une dizaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, lequel peut être ouvert et recycler en un motif furanique (dihydrofuranone). La figure. 7 illustre les principales classes des flavonoïdes.

De façon générale, les flavonoïdes peuvent être hydroxylés en position 3, 5, 7, 3', 4', 5' et/ou 6' (suivant la numérotation présentée pour les flavones (Figure. 4) Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, sulfatés. Dans les plantes, les flavonoïdes peuvent être présents sous forme C-ou O-glycosylés. Les formes libres, sans sucres attachés sont appelées les génines ou aglycones (**Brunetton, 1999**). Les «flavonoïdes minoritaires » sont représentés par les Chalcones, les dihydrochalcones, les auronnes, les flavanones, les Dihydroflavonols et les Anthocyanidols (Figure. 4) (**Harborne, 2000**).

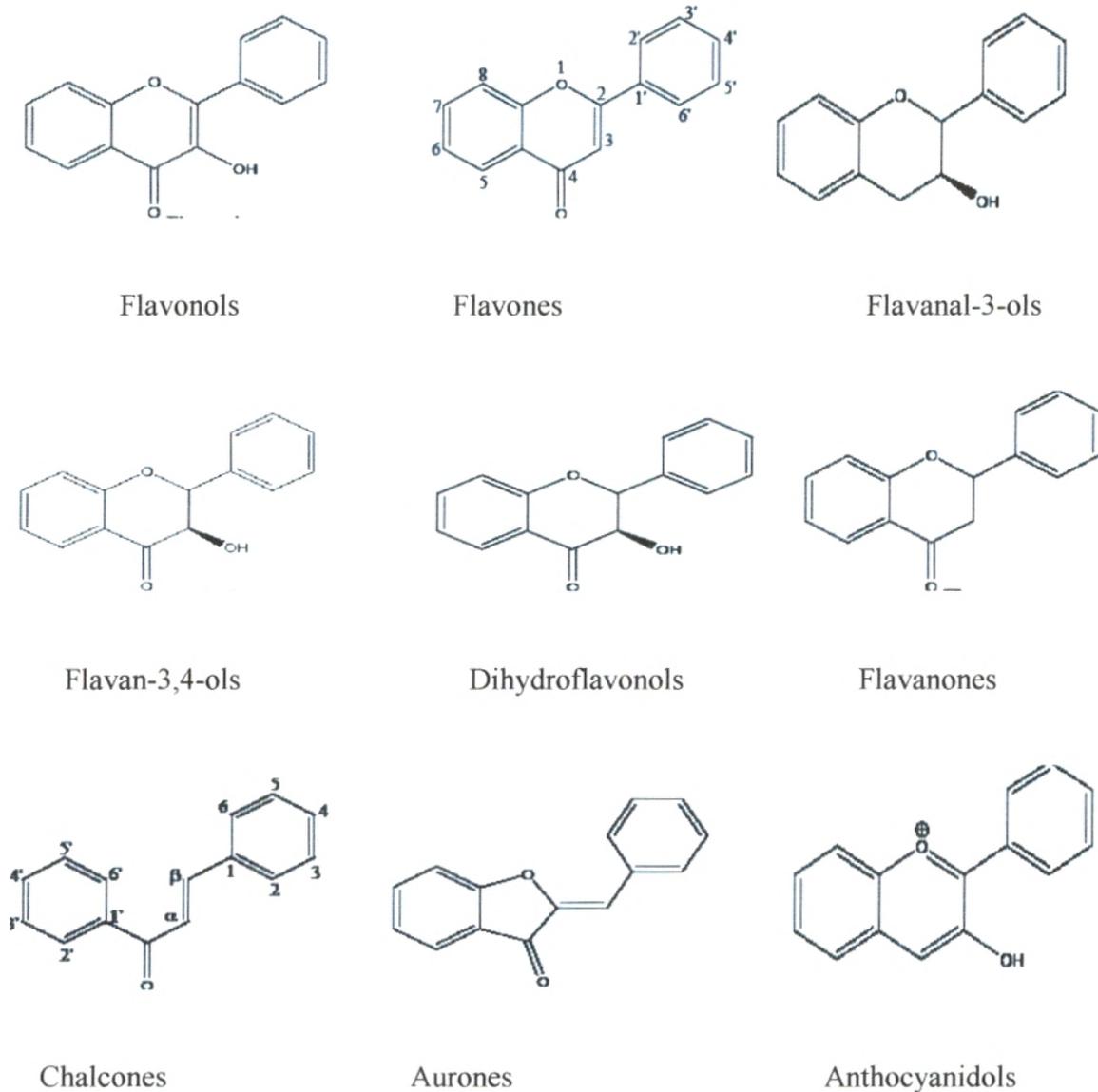


Figure. 4: Les principales classes de flavonoïdes (**Bruneton, 1999**)

### III.3. Biosynthèses des flavonoïdes

L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester du coenzyme A et d'un acide hydroxycinnamique (Figure. 5) (**Shirley, 1996**). Dans les conditions physiologiques normales, cette chalcone tend à s'isomériser en flavanone sous l'action de la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à la seule (2S)-flavanone. Cette chalcone peut également se cycliser en aurone. Il est le précurseur de toutes les classes de flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

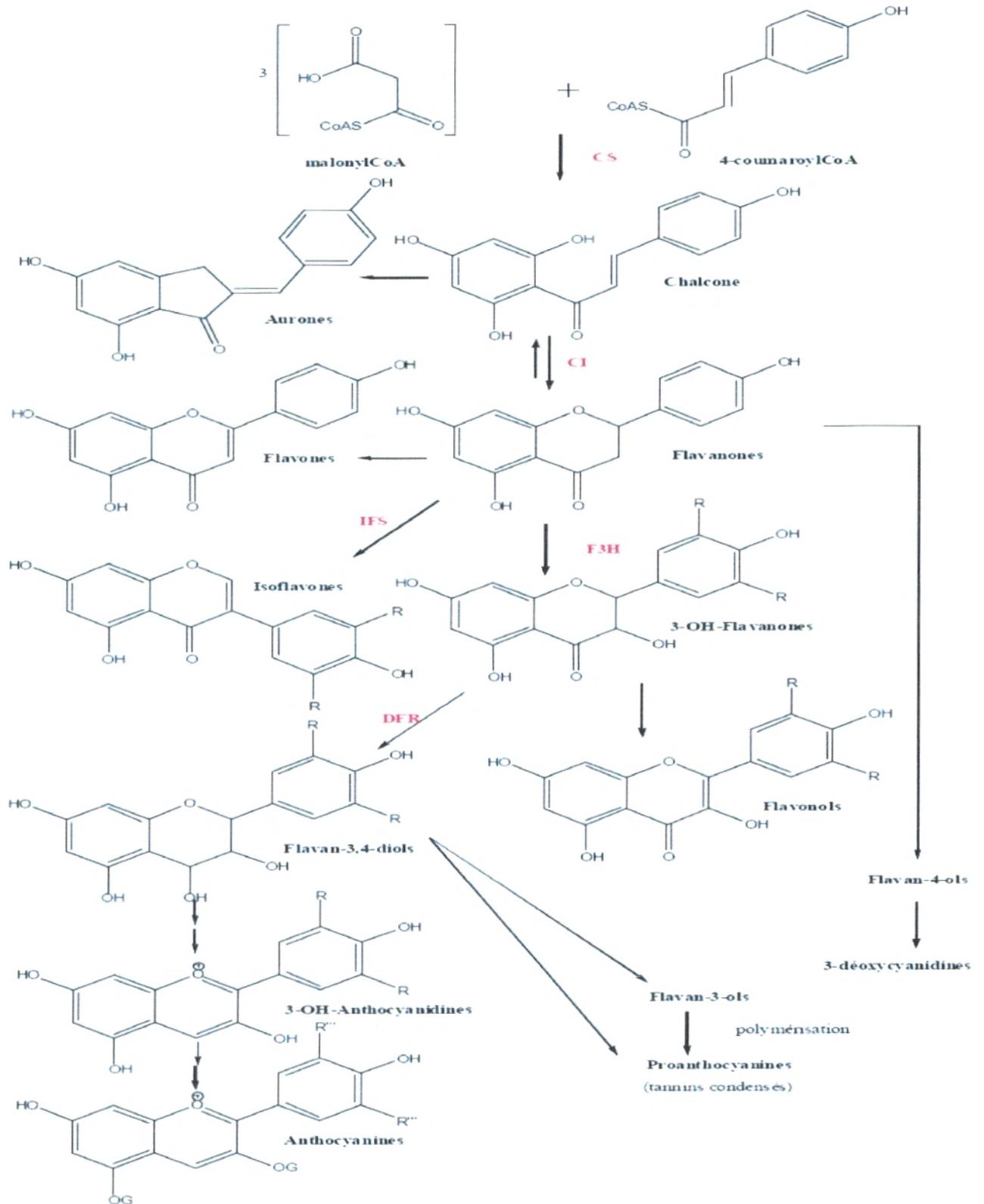


Figure. 5: Biosynthèse des flavonoïdes (Shirley, 1996).

CS : chalcone synthase ; CI : chalcone isomérase ; F3H : Flavanone 3-hydroxylase ; IFS : isoflavone synthase ; DFR : dihydroflavonol réductase ; FS : flavonol synthase ; AS : anthocyanine synthase. R = -H, -OH, ou -OCH<sub>3</sub> et OG = -O-sucre

### III.4. Les chalcones et les dihydrochalcones

#### III.4.1. Définition

Les chalcones et les dihydrochalcones sont uniques au sein de la famille des flavonoïdes. Dépourvus du cycle C central, les deux cycles A et B sont reliés par une chaîne tricarbonnée cétonique  $\alpha$  et  $\beta$  insaturée (saturé dans le cas des dihydrochalcones). Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées (Figure. 6)

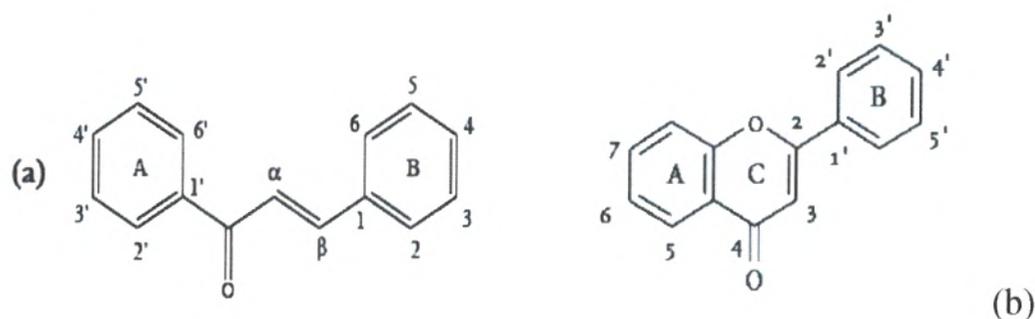


Figure. 6 : Numérotation du squelette chalcone (a) et flavone (b).

La présence d'une double liaison conjuguée confère aux chalcones une couleur jaune. En conséquence, les dihydrochalcones sont généralement incolores. La configuration de la double liaison est généralement E dans les chalcones naturelles (**Harborne, 1993**). Ces composés sont rarement substitués sur le cycle B.

De manière équivalente aux autres flavonoïdes, les positions 2', 4' et 6' du noyau A de la molécule peuvent être hydroxylées ou méthoxylées. Il existe de nombreux composés C-alkylés avec des substituants méthyles, prényles ou géranyles (**Harborne, 1993**). Les flavonoïdes C-alkylés sont présents au niveau de la cuticule foliaire et cela concerne surtout les plantes des régions arides et semi-arides, souvent pourvues de structure sécrétrices comme les Pipéracées. (**Bruneton, 1999**).

#### III.4.2. Activité biologique des chalcones et dihydrochalcones

Les chalcones et les dihydrochalcones ont été étudiées pour leurs propriétés anticancéreuses (**Anto et al., 1995 ; Go et al., 2005**), anti-inflammatoires (**Go et al., 2005**), antioxydantes (**Anto et al., 1995**), antimicrobiennes et antiparasitaire (**Nowakowska, 2006**).

## III.5. Les flavanones

### III.5.1. Définition

Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2, 3 et la présence d'un centre d'asymétrie en 2. Chez les flavanones naturelles, le carbone 2 est normalement de configuration S. Elles existent sous forme libre ou sous formes glycosylées. Sous forme libre, les carbones en position 5 et 7 sur le cycle A peuvent être hydroxylées ou méthoxylées. Le cycle B peut aussi être substitué en position 3', 4', 5', et 6' C-alkylés sont relativement courant, surtout les dérivés C-prénylés ou C-géranylés. Les dérivés C- méthylés sont fréquemment rencontrés chez les Myrtacées (**Wollenweber *et al.*, 1987**).

### III.5.2. Activité biologique des flavanones

Les flavanones étant plus répandues dans le règne végétal que les chalcones et dihydro chalcones, leurs activités biologiques ont été étudiées. Ainsi on leur attribue des propriétés antioxydantes (**Stevens *et al.*, 2003**) antimicrobiennes, anticancéreuses (**Kofujita *et al.*, 2004**)

## Chapitre IV

### Les radicaux libres oxygénés.

#### IV.1. Introduction :

Un radical (souvent appelé radical libre) est une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. Il se note par un point. La présence d'un électron célibataire confère à ces molécules, la plupart du temps, une grande instabilité (elles ne respectent pas la règle de l'octet), ce qui signifie qu'elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés dans des processus le plus souvent non spécifiques. (Fulbert et Cals, 1992).

#### IV.2. Radicaux libres oxygénés:

Le terme radical libre est plus particulièrement utilisé dans le contexte de la communication des entreprises pharmaceutiques et cosmétiques. Le terme scientifique correcte est "espèce réactive oxygénée (ou azotée)", avec les abréviations anglaises : ROS. On parle également de "radicaux oxygénés libres" ou de "dérivés réactifs de l'oxygène". Par ailleurs, certaines ROS, comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ne sont pas des radicaux au sens chimique : en effet, cette molécule, bien que réactive et toxique, n'a pas de caractère radicalaire. Grossièrement, les radicaux libres sont des espèces chimiques à très forte réactivité capables d'oxyder les protéines, l'ADN et les membranes des cellules (attaque des lipides constitutifs) (Favier, 2003).

Exemple de radicaux libres :

- Le radical superoxyde  $O_2^{\bullet -}$ .
- Le radical hydroxyle  $HO^{\bullet}$ .
- Les radicaux peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ), radical alkoxy ( $RO^{\bullet}$ ) où R est une chaîne carbonée.
- Les radicaux dérivant d'acides gras insaturés.
- Le peroxydinitrite  $ONOO^{\bullet}$ .
- Le monoxyde d'azote  $NO^{\bullet}$ .

### IV.3. Rôles pathogènes des radicaux libres :

Ces espèces, dont la production est un phénomène physiologique naturel lié à la vie aérobie, peuvent alors s'attaquer aux composés vitaux des cellules (**Hadi, 2004**). Les ROS peuvent s'attaquer à l'ADN en perturbant sa réplication, entraînant des mutations et des cancers. Elles peuvent aussi s'attaquer aux membranes cellulaires et aux protéines (**Pincemail et al., 1999**). Les conséquences sont, au niveau cellulaire, la mort des cellules par nécrose ; au niveau tissulaire, les atteintes des ROS peuvent mener par exemple au durcissement des artères et à des problèmes cardio-vasculaires, à la détérioration du collagène et donc à la rigidité des tissus. Les radicaux libres sont l'une des causes du vieillissement (**Hadi, 2004**).

### IV.4. Les moyens de défenses contre les radicaux libres

L'organisme possède un certain nombre de moyens de défenses contre les atteintes des radicaux libres mettant en jeu des enzymes comme la superoxyde dismutase, les catalases, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase (**Avissar et al., 1989**). Lorsque ce système est submergé, l'organisme est dans une situation de stress oxydant. D'autres antioxydants (espèces chimiques empêchant les réactions d'oxydation dommageables causées par les ROS) sont des petites molécules telles que les vitamines E et C, les caroténoïdes (**Burton et al., 1984**), certains polyphénols, des huiles essentielles. La formation de radicaux libres dans l'organisme est constante et indissociable de la vie dans une atmosphère oxydante, mais les excès dépendent de facteurs extérieurs tels que le stress, la fatigue et l'exercice physique intensif, la consommation de tabac, d'alcool, les pollutions atmosphériques, ou encore par des rayons ionisants, tels que les rayons X. Certaines maladies génétiques causent une surproduction de ROS ou une efficacité réduite du système de défense. Une surproduction de ROS a été observée lors des maladies d'Alzheimer et de Parkinson. Les ROS peuvent être à l'origine du rejet des greffons lors des transplantations d'organes (**Heimeur et al., 2004**).

PARTIE

EXPERIMENTALE

## Chapitre I

### Obtention et analyse des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica* et *Warionia saharae*

#### I.1. Introduction :

Actuellement, malgré l'arsenal thérapeutique existant, peu de médicaments sont disponibles sur le marché et sont accessibles aux populations des pays sous développés. De plus, le développement de phénomènes de résistance des parasites aux traitements actuels renforce le besoin urgent de trouver de nouveaux médicaments. Dans le monde plus de 80 % de la population a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité (Newman *et al*, 2000).

Dans ce contexte, nous sommes proposés de valoriser cinq espèces végétales : *Artemisia herba alba* Asso, *Artemisia campestris* L, *Artemisia judaica* L.ssp.sahariensis, *Warionia saharae* Benth et Coss, *Herniaria mauritanica* Murb. Ces espèces sont récoltées dans différentes stations de la région de Naama.

#### I.2. Matériels végétaux:

##### I.2.1. Situation géographique :

Les facteurs influençant la végétation Algérienne, comme partout ailleurs, sont le climat (température, vents, radiation solaire), le sol et l'altitude. L'équilibre délicat de ces facteurs joue un rôle primordial à la fois dans le développement individuel des plantes et dans leurs distributions (Béniston, 1984). La récolte des différentes espèces a été effectuée dans la région de Naama (Sud Ouest de l'Algérie) (Fig. 7) dans des différentes stations :

*Artemisia herba alba* Asso: station d'Ain Benkhilil.

*Artemisia campestris* L et *Artemisia judaica* L: station Djebel Antar

*Warionia saharae* Benth et *Herniaria mauritanica* Murb: station Ain Ouarka. (Tableau 4, figure

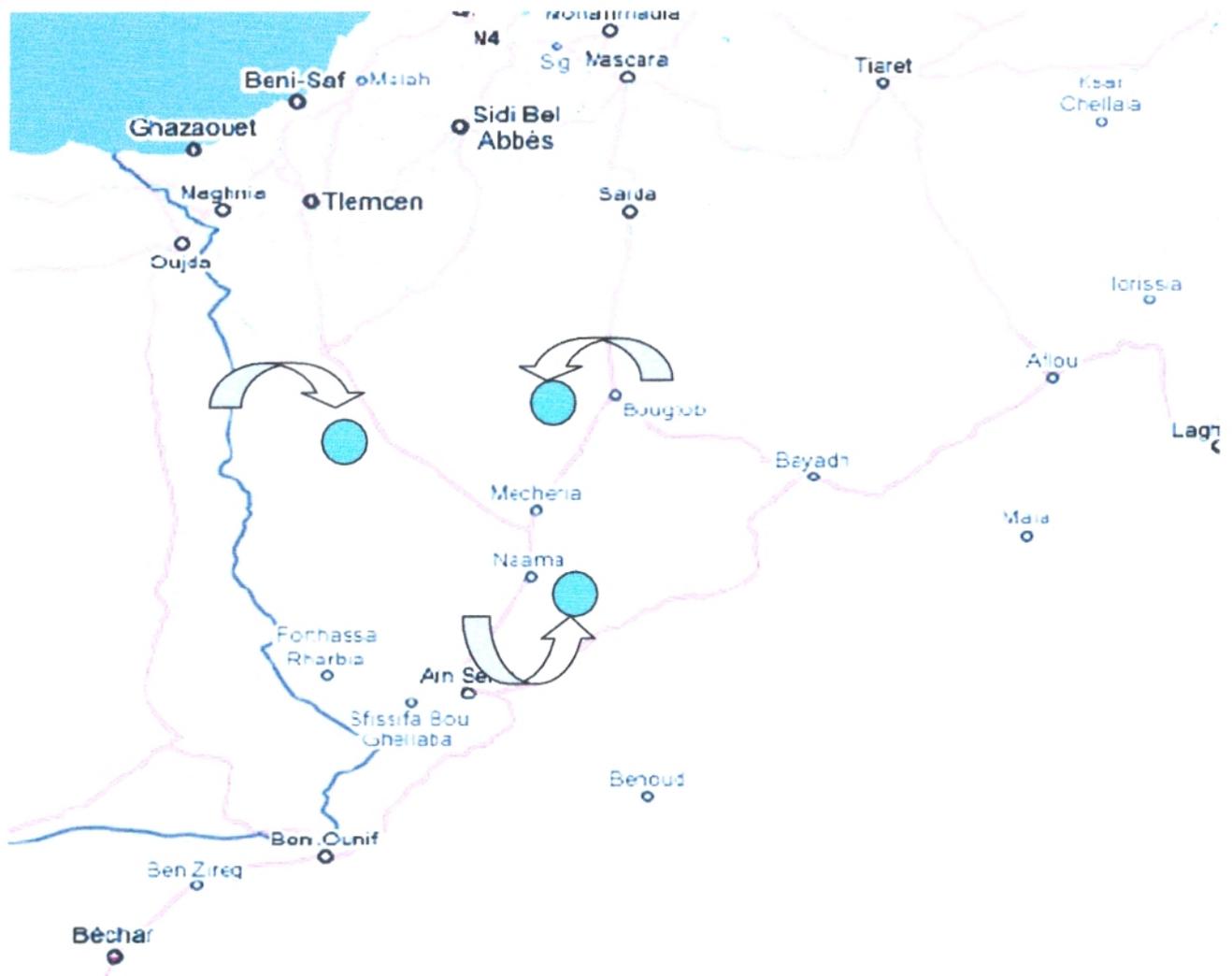
7).

Tableau 4 : Situation géographique et bioclimat des différentes stations (Encarta, 2007).

Plantes	Stations	Etages bioclimatiques	Altitude (m)	Latitude (Nord)	Longitude (Ouest)
<i>Artemisia herba alba</i>	Ain Benkhilil	Aride, chaud	1140	33°18'	0°48'
<i>Artemisia campestris</i>	Djebel Antar	Aride, chaud	1735	33°27'	0°25'
<i>Artemisia judaica</i>					
<i>Warionia saharae</i>	Ain Ouarka	Aride, chaud	1058	32°46'	3°24'
<i>Herniaria mauritanica</i>					

### I.2.2. la récolte du matériel végétal:

La cueillette a été faite le mois de novembre 2007 et le mois de juin 2008 pour toutes nos espèces. Ces plantes sont identifiées par le Professeur Bouazza M. (laboratoire d'Ecologie et de gestion des Ecosystèmes Naturels), et Monsieur Maarouf A. (laboratoire d'Ecologie, Université d'Oran, Es-Sénia). Après la récolte, on étale sur du papier et on laisse sécher à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante. Le séchage est de huit jours en moyenne pour les différentes plantes, puis nous les conservons dans les sacs en papier.



Légende :      Route principale  
 ----- Frontière d'Algérie  
 ..... Frontière des wilayas

Figure. 7 : Carte géographique des stations d'étude (Atlas Europa Technologie, 2008)

● les stations de récolte.

(Ain Ouarka, djebel Antar, Ain Benkhilil (Wilaya de Naama))

### I.2.3. Extraction des huiles essentielles par hydro distillation :

La distillation est la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arômes volatiles. Nous avons utilisé la méthode d'hydro distillation en utilisant un appareil de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles des différentes plantes. Le temps de d'extraction est de 3 heures. Seules les parties aériennes (feuilles, fleurs) des différentes plantes sont utilisées. Les échantillons d'huile essentielle obtenus sont conservés dans des tubes en verre couvert et bien fermés au réfrigérateur à 4°C.

Le rendement des huiles essentielles est déterminé par le rapport entre la masse d'huile essentielle et la masse végétale sèche à traiter (Carré, 1953).

### I.3. Analyse des huiles essentielles d'*Artemisia judaica* et *Warionia saharae*:

Les analyses des huiles essentielles de deux plantes *Warionia saharae* et *Artemisia judaica* par CPG et RMN <sup>13</sup>C ont été effectuées au laboratoire de « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse-CNRS.

#### I.3.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

La CPG est la technique la plus adaptée pour l'analyse des huiles essentielles compte tenu de la volatilité de leurs constituants (Bruneton, 1999).

##### I.3.1.1. Conditions opératoires :

Les analyses ont été faites à l'aide d'un chromatographe Perkin-Elmer Auto system (8500), équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'un injecteur diviseur, de deux colonnes capillaires de dimensions 50 m X 0.22 mm (épaisseur du film : 0.25µm) :

- Une colonne polaire Bp20, polyéthylène glycol
- Une colonne apolaire BP1, polydiméthylsiloxane.
- Le gaz vecteur est l'hélium (0,8 ml/min), une pression en tête de colonne de 20 psi
- La température de l'injecteur est de 250° C, celle du détecteur est de 250° C
- La température linéaire est programmée depuis 60°C jusqu'à 220°C, à raison de 2°C/min, suivie d'un palier de 20 min à 220°C.
- Injection automatique : 10 µl en mode Split (1/60).

##### I.3.1.2. Identification des constituants :

Les constituants ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (I<sub>r</sub>) calculés par rapport à une série d'alcane (C<sub>8</sub> – C<sub>28</sub>) avec interpolation linéaire sur les deux

colonnes, avec ceux des composés de références contenus dans la bibliothèque du laboratoire (Joulain et König, 1998).

### **I.3.2 Analyse par spectroscopie de la résonance magnétique du carbone 13 (RMN $^{13}\text{C}$ ) :**

La RMN du  $^{13}\text{C}$  selon la méthode mise au point et développée par l'équipe de « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse (Tomi *et al.*, 1995), est basée sur la comparaison des déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux des produits de références enregistrés dans des conditions expérimentales (solvant, dilution) rigoureusement identiques à celle des huiles essentielles et stockés dans des bibliothèques de spectres propres au laboratoire.

#### **I.3.2.1. Conditions opératoires :**

Les spectres RMN ont été enregistrés dans le chloroforme deutéré, sur spectromètre de marque « Bruker A VANCE 400 » opérant à 100,623 MHz pour le carbone 13 sous les conditions opératoires suivantes : Sonde de 5 mm, durée d'impulsion (PW) : 4  $\mu\text{s}$  ( $45^\circ$ ), temps d'acquisition :

2,73 s correspondant à une acquisition de 128 K avec une largeur spectral (SW) de 25000 Hz (250 ppm), résolution digitale : 0,183 Hz/pt, mode de découplage pulsé (Composite Phase Decoupling), le nombre d'accumulation est compris entre 2000 et 3000 pour chaque enregistrement. Les déplacements chimiques sont des données en ppm ( $\delta$ ) (Tétraméthyl silane) L'analyse d'un mélange est menée sur un échantillon de 40 mg dilué dans 0,5 ml de  $\text{CDCl}_3$ .

Les données du signal de précision libre (FID) sont multipliées avant la transformée de Fourier par une fonction exponentielle ( $\text{LB} = 1,0 \text{ Hz}$ ).

#### **I.3.2.2. Identification des constituants :**

L'identification est réalisée par la prise en compte du nombre de pics observés par rapport à ceux attendus pour chaque molécule, du nombre de superpositions des signaux et des variations des déplacements chimiques des carbones dans les spectres du mélange par rapport aux valeurs de références ( $\Delta\delta$ ). En plus de ces paramètres qui sont accessibles par un logiciel élaborés de « Chimie et Biomasse » à l'Université de Corse (Tomi *et al.*, 1995), l'intensité des raies de résonance permet de contrôler l'appartenance d'un déplacement chimique à un composé donné. Cette technique permet l'identification de différents composants à une teneur supérieure ou égale à 0,5 % sans purification précédente.

## Chapitre II

### Analyse des flavonoïdes de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*

#### II.1. Introduction :

Les composés phénoliques forment un grand ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle. Parmi les composés phénoliques, nous trouvons les flavonoïdes. (Brunetton, 1999).

#### II.2. Matériels végétaux :

Cette étude est réalisée sur deux plantes à savoir *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*. Ces deux espèces ont été récoltées de la région d'Ain Ouarka. Après séchage à l'air libre et à l'ombre, les parties aériennes ont été broyées et pesées.

#### II.3. Extraction des extraits flavoniques:

##### II.3.1. Préparation des extraits bruts :

2 g de la matière végétale sèche est mis à macérer dans un mélange hydro alcoolique (méthanol/eau ; 70/30 v/v), sous reflux pendant 2 heures. Après filtration, les solutions hydro-méthanoliques sont concentrées à sec sous pression réduite et à une température modérée (45°C) dans un évaporateur rotatif. Les résidus secs sont pesés et repris, soit dans le méthanol pour des dosages des phénols totaux, les flavonoides et l'évaluation de l'activité antioxydante, soit dans le DMSO pour déterminer l'activité antibactérienne et antifongique.

##### II.3.1. Préparation des extraits fractionnés par l'acétate d'éthyle et le n-butanol :

Le même protocole évoqué au paravent est appliqué pour la préparation des extraits fractionnés sauf que les résidus secs sont repris dans l'eau. La phase aqueuse obtenue est épuisée successivement par l'acétate d'éthyle et le n-butanol suivant la méthode d'extraction d'après Bekkara *et al* (1998) (Figure. 8).

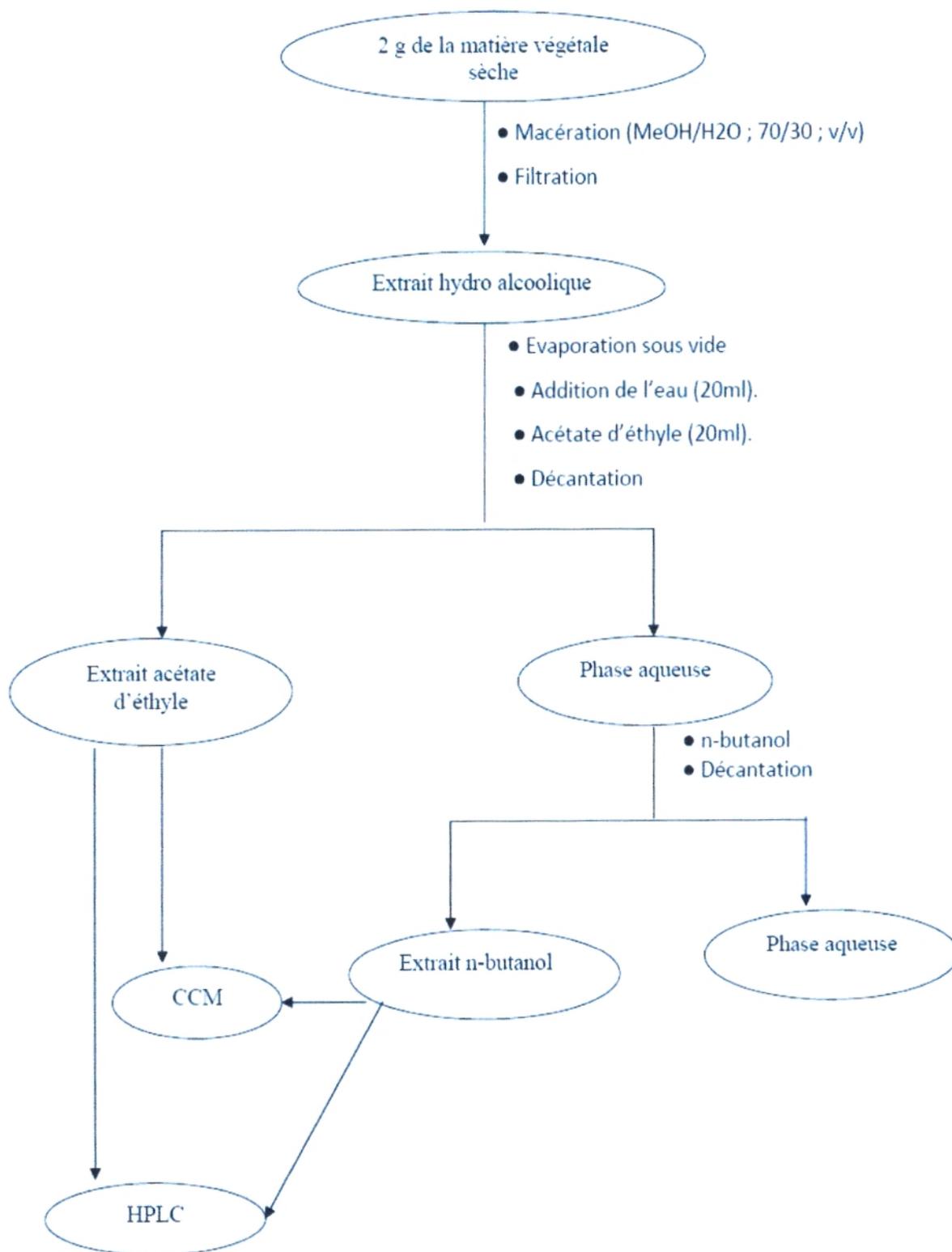


Figure. 8: Schéma d'extraction et analyse par CCM et CLHP des flavonoïdes (Bekkara *et al.*, 1998)

#### II.4. Dosage des phénols totaux :

L'analyse quantitative des polyphénols est réalisée par le dosage spectrophotométrie selon la procédure du Folin-Ciocalteu (**Singleton, 1965 in Kahkonen *et al.*, 1999**). La lecture de la densité optique à  $\lambda=750$  nm permet de déterminer la concentration des polyphénols, en se référant à une courbe d'étalonnage dressée à partir d'une série de solution étalons de l'acide gallique ayant des différentes concentrations.

Dans des tubes à essai, on mélange 2 ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2%) et 100  $\mu\text{l}$  d'extrait méthanolique, on agite puis on laisse 5 min, après on ajoute 100  $\mu\text{l}$  de la solution de Folin-Ciocalteu. On agite au vortex et on laisse 30 min à l'obscurité (Figure. 9).

Le blanc est préparé en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par l'eau, dans les mêmes conditions. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à  $\lambda=750$  nm.

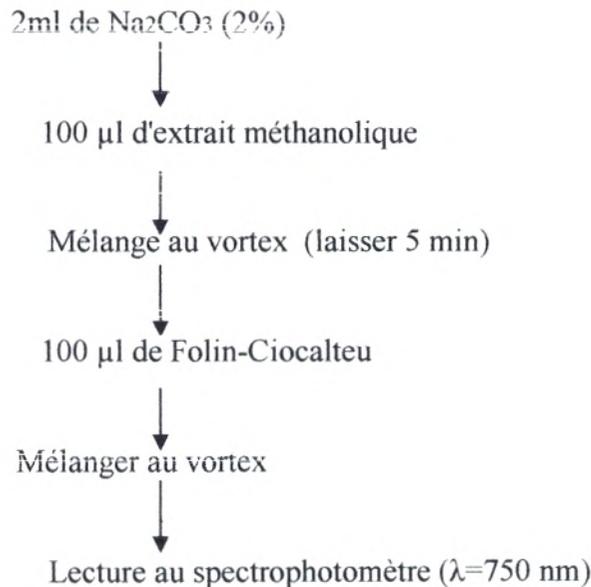


Figure. 9: Méthode de dosage des poly phénols (**Singleton, 1965**)

#### II.5. Dosage des flavonoides :

L'analyse quantitative des flavonoides est réalisée par le dosage spectrophotométrique selon la méthode décrite par **Kim *et al.*, (2004)** (Figure. 10). La lecture de la densité optique à  $\lambda= 510$  nm permet de déterminer la concentration des flavonoides, en se référant à une courbe d'étalonnage dressée à partir d'une série de solution étalons de catéchine ayant des différentes concentrations.

Dans des tubes à essai, on mélange 500  $\mu\text{l}$  d'extrait méthanolique et 1500  $\mu\text{l}$  d'eau distillée, puis on ajoute successivement les réactifs suivants:

Au temps zéro, 150  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  à 5%.

Après 5 min minutes, 150  $\mu\text{l}$  d' $\text{AlCl}_3$  à 10%.

Après 11 minutes, 500 $\mu\text{l}$  de  $\text{NaOH}$  1M.

Le blanc est préparé en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par l'eau, dans les mêmes conditions. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à  $\lambda = 510 \text{ nm}$ .

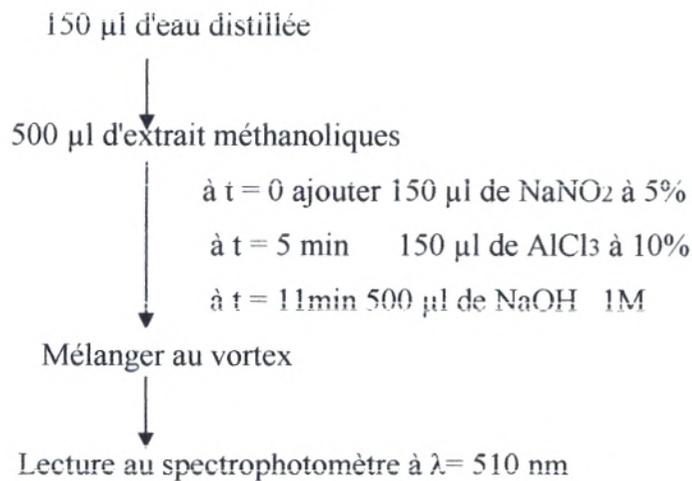


Figure.10: Méthode de dosage des flavonoides (Kim *et al.*, 2004).

## II.6. Analyse des flavonoïdes de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica* par CCM et CLHP

### II.6.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Les analyses sur couche mince sont réalisées sur des plaques en verre ayant comme adsorbant gel de polyamide DC6 ; 0.25 mm et gel de cellulose. Le développement des plaques s'effectue dans des cuves en verre saturé avec l'éluant approprié. Cette phase mobile est constituée d'un mélange binaire ou tertiaire de solvants selon le type de séparation souhaitée.

Dans notre cas, les systèmes de solvants pour les différentes classes sont les suivants :

- n-butanoï/ acide acétique/eau (BAW). (4/1/5), support : gel de poiyamide DC6.
- Le même système de solvant (BAW), support : gel de cellulose.

Après développement dans une cuve en verre et séchage, les plaques ont été observées sous lampe UV à 254 et 366 nm. Les couleurs des spots ont été enregistrées ainsi de même pour les Rf.

## **II.6.2. Chromatographie liquide haute performance (CLHP) :**

### **II.6.2.1 Principe :**

Pour séparer les composés d'un mélange, on dissout une prise de celui-ci dans un solvant qui a la capacité de solubiliser les produits du mélange et obtenir une solution homogène. Un volume de cette dernière est introduit dans le système chromatographique par l'intermédiaire d'une vanne à boucle. Aussitôt injectés, les composés seront transportés par une phase liquide, qui est poussée par une pompe sous haute pression et qui circule en permanence avec une vitesse constante. Arrivés au niveau de la colonne siège de la phase stationnaire, les composés seront soumis à deux effets antagonistes : un effet d'entraînement exercé par la phase mobile dans laquelle ils sont solubles et un effet de rétention exercé par la phase stationnaire avec laquelle ils interagissent. Sur cette base, les composés différents d'un mélange se répartissent tout en progressant le long de la colonne pour que le composé qui a plus d'affinité vis à vis de la phase stationnaire soit le plus retenu. Ainsi, ils sortiront de la colonne avec des vitesses différentes pour passer les uns après les autres dans la cellule du détecteur, ce qui permet de visualiser cette séparation. Théoriquement, le signal enregistré aura la forme d'un pic. Si la séparation est bonne chaque pic représente un composé séparé du mélange. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme. Cette répartition entre les deux phases est le fondement des séparations effectuées en chromatographie liquide (**Ronald, 2005**).

### **II.6.2.2 Matériels et méthodes:**

Le Laboratoire de Recherche Spectrochimie et pharmacologie Structurale de la faculté des sciences de l'Université Abubakr Belkaid de Tlemcen, est équipé d'un système HPLC de marque Shimadzu. Il est composé de cinq compartiments qui sont :

1 - Dégazeur

2 - Module de Gradient

3 - Pompe

4 - Détecteur UV Vis à longueur d'onde variable

5 - Contrôleur

En plus le système est connecté à un PC menu d'un logiciel "LC-Solution", qui permet de passer au contrôle software. Le système HPLC est combiné avec une colonne constituée par un tube en acier inoxydable qui est rempli par une phase stationnaire. Cette dernière se compose de griffons organiques apolaires (Zorbax, ODS octadécyle silane) et qui sont fixés sur des particules de silice. D'où la chromatographie liquide de partage sur phase apolaire, cette méthode est aussi appelée chromatographie de partage à polarité de phase inversée (reversed phase chromatography). La qualité de la séparation dépend de la géométrie de la colonne, de la granulométrie des particules qui constituent la phase stationnaire et de la qualité du remplissage. Cet élément (colonne) représente le noyau du système chromatographique. Les caractéristiques de la colonne utilisée sont les suivantes : sa longueur = 25 cm, son diamètre = 4.6 mm, le diamètre des particules = 5 $\mu$ m.

La phase mobile est composée de deux mélanges, qui sont des solutions d'acide acétique préparées dans l'eau et dans l'acétonitrile.

Mélange A: acide acétique 0,3% dans l'acétonitrile (v/v)

Mélange B: acide acétique 0,3% dans l'eau (v/v).

Débit : 1ml/min, Volume d'injection : 20  $\mu$ l, Température ambiante (24 – 26 °C)

L'élution est maintenue en mode gradient, Selon le programme détaillé dans le tableau (5), (**Deng, et al., 2008**). Pour visualiser les différents composés nous avons choisi deux longueurs d'ondes :  $\lambda_1 = 280$  nm et  $\lambda_2 = 370$  nm.

Tableau 5: programme d'élution en mode gradient (**Deng et al., 2008**)

Temps (min)	Phase mobile A (%)	Phase mobile B (%)
0	35	65
10	50	50
15	60	40
18	65	35
20	98	2
30	100	0
40	Stop	

### Chapitre III

## Etude du pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles et les extraits flavoniques

### III.1. Introduction :

Dans l'antiquité, les extraits volatils des plantes médicinales sont recherchés, non seulement pour l'assaisonnement des cuissons et pour rendre plus agréable des bains et l'eau de toilette, mais également et surtout en raison de leurs pouvoir antiseptique et antimicrobien.

La nouvelle démarche consiste à s'intéresser à la recherche d'un principe actif dans les produits naturels d'origine végétal, plus particulièrement les métabolites secondaires à savoir les huiles essentielles et les flavonoides, issues des plantes médicinales qui sont utilisées depuis longtemps pour traiter des pathologies et pour améliorer santé et bien être.

Pour cela, nous avons voulu étudier le pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles et des extraits flavoniques des plantes vis-à-vis de certaines bactéries et moisissures.

### III.2 Les souches bactériennes et moisissures :

Les souches pathogènes utilisées sont présentées dans le tableau (6). Elles sont parmi ceux qui causent les maladies les plus courantes.

Tableau 6: Les différentes souches bactériennes et fongiques et leurs provenances.

Souches utilisées	Origine
<b>Bactéries :</b>	
● Bactéries à gram négatif	
<i>Escherichia coli</i> (E) (ATCC27853)	Laboratoire de microbiologie de Sidi Bel-Abès.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P) (ATCC 25922)	Laboratoire de microbiologie de Tlemcen.
● Bactéries à gram positif	
<i>Staphylococcus aureus</i> (St) (ATCC 25923)	Laboratoire de mycologie de Tlemcen.
<i>Enterococcus faecalis</i> (Fn) (ATCC 29212)	Laboratoire de mycologie de Tlemcen.
<b>Les moisissures :</b>	
<i>Aspergillus flavus</i>	
<i>Aspergillus niger</i>	Laboratoire de mycologie de Tlemcen.
<i>Fusarium oxysporum</i>	
<i>Rhizopus stolonifer</i>	
<b>Les levures:</b>	
<i>Candida albicans</i> (ATTC 10321)	

### III.3. Préparation de l'inoculum :

Les souches bactériennes conservées dans la gélose nutritive à 4°C, sontensemencées dans le bouillon nutritif à 37°C ± 1°C pendant 24h, puis réensemencées en strie sur boîte de pétri contenant de la gélose nutritive pour les *Pseudomonas* et *Candida albicans*, de la gélose de Macconkey pour l'Entérobacter et *Escherichia coli* et de la gélose de Chapman pour les staphylocoques, afin de vérifier la pureté à 37°C ± 1°C pendant 24h. Ensuite les souches microbiennes sontensemencées dans le bouillon de Mueller Hinton à 37°C pendant 18h.

### III.4. Techniques d'étude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles et les extraits flavoniques des différentes espèces végétales :

Lors de cette étude, nous avons testé les huiles essentielles et les extraits flavoniques des différentes espèces végétales vis-à-vis des souches bactériennes. Dans un premier temps, nous avons testé l'action de nos échantillons par la méthode de diffusion sur disque et dans l'affirmation nous avons déterminé la concentration minimale d'inhibition (CMI) en milieu liquide.

#### III.4.1. Méthode de diffusion sur disque :

Nous avons utilisé la méthode de l'aromatogramme par diffusion sur des disques imprégnés d'huile essentielle et extrait flavonique (Jacob *et al.*, 1979.). Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégnés de 20 µl d'huile essentielle et DMSO (15 : 5)(v/v) (Muriei *et al.*, 2005) des espèces végétales suivantes : *Artemisia herba alba*, *Artemisia judaica*, *Artemisia campestris* et *Warionia saharae*, et de l'extrait flavonique des espèces végétales de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé en boîte de pétri (3 disques de papier filtre); préalablementensemencées en surface en nappe avec 1 ml de

suspension bactérienne  $10^8$  germes/ml pendant 5 à 10 min et l'excédent de l'inoculum est éliminé par aspiration (Shunying *et al.*, 2005). En parallèle, nous avons utilisé des témoins positifs, des antibiotiques connus par leurs activités inhibitrices. Après incubation à 37°C pendant 24 h, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm, disque inclus.

#### III.4.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

Afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice IC50 qui réduit le taux de population microbienne de 50%, on procède à la méthode de macro dilution qui consiste en un milieu liquide l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes contenant différentes concentrations de l'extrait naturel, le suivi de la croissance bactérienne est surveillé par la mesure de la densité optique (Atwal, 2003). Dans des tubes à essai contenant 10 ml de milieu de culture liquide stérilisé (Mueller Hinton pour les souches bactériennes et Sabouraud pour la levure). On ajoute différentes concentrations 10, 15, 20, 25  $\mu$ l de l'extrait naturel. Après 20 heures d'incubation, on détermine la croissance bactérienne par la lecture de la densité optique au spectrophotomètre à  $\lambda = 625$  nm. On répète l'essai trois fois et nous calculons le pourcentage d'inhibition selon l'équation

$$I\% = [(A_t - A_e) / A_t] \times 100$$

Où  $A_t$  : densité optique du témoin sans extrait,  $A_e$  : densité optique de l'échantillon

#### III.5. Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielles et les composés phénoliques des différentes espèces végétales :

La technique utilisée est la technique de diffusion en milieu gélosé (Wang *et al.*, 2005). On ajoute dans 20 ml du milieu PDA différentes quantités d'extraits bruts et des huiles essentielles.

Les quantités ajoutées : pour les extraits (50 µl, 100µl, 150µl), pour les huiles (100 µl, 200 µl). Ce mélange est coulé dans des boîtes à pétri. Après séchage à la température ambiante, on inocule au centre de ces boîtes des disques de mycélium de chaque moisissure de 5 mm de diamètre coupés d'une culture de 5 à 7 jours. Nous incubons ces boîtes à  $25^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$ . Après incubation 48 heures pour *Rhizopus stolonifer* et 7 jours pour les autres. La mesure des diamètres des zones de croissances de l'hyphe par rapport au contrôle se traduit par l'application de la formule de **Wang et al., 2005**

$$I\% = [(D_t - D_e) / D_t] \times 100$$

Où : I : pourcentage d'inhibition du mycélium.

D<sub>t</sub> : diamètre de la colonie mycélienne témoin (non traité par des extraits), en centimètre.

D<sub>e</sub> : diamètre de la colonie mycélienne (traité par des extraits), en centimètre.

La nystatine est employée comme contrôle positif.

## *Chapitre IV*

### **Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des composés phénoliques des différentes plantes médicinales.**

#### **IV.1 Introduction :**

Les composés phénoliques semblent être des bons candidats pour leur activité antioxydante du fait de la présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec ces radicaux. Les méthodes choisies pour mesurer l'activité antioxydante de nos extraits sont les suivantes :

- Réduction de fer.
- Piégeage du radical libre DPPH<sup>\*</sup> (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl).
- Test antioxydant par la méthode d'autobiographie.

#### **IV.2 Etude de l'activité antioxydante des composés phénoliques de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica* :**

##### **IV.2.1 Mesure du pouvoir réducteur:**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice des composés phénoliques est déterminée selon la méthode d'Oyaizu (1986) in Benhamou N, (2006) basée sur la réaction chimique de réduction du Fe<sup>3+</sup> présent dans le complexe Ferrocyanure de potassium en Fe<sup>2+</sup>. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminé à une longueur d'onde  $\lambda=700$  nm. Une augmentation à l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Le protocole utilisé dans cette méthode :

Dans des tubes à essai, les différentes concentrations des extraits (0.25, 0.5, 0.75, 1, 3 mg) dans un ml d'eau distillée sont mélangés avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, ph 6.6) et 2.5 ml de Ferrocyanure de potassium (1%). Nous incubons à 50° C pendant 30 min. Nous ajoutons 2.5 ml de trichloracétique (TCA) (10%). Nous centrifugeons à 3000 t/min. Nous prenons 2.5 ml de surnageant, en lui ajoutant 2.5 ml H<sub>2</sub>O distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>, 0.1%). Nous mesurons la densité optique à  $\lambda=700$  nm. La densité optique élevée indique une augmentation de la réduction du fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

#### IV.2.2. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH par les composés phénoliques :

La méthode DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est une méthode simple, rapide et facile à mettre en œuvre. Elle est utilisée par **Dong- Sun Lee *et al* (2001)**. Les composés antioxydants présents dans les extraits des nos espèces végétales peuvent réduire le radical libre (DPPH<sup>•</sup>) selon la réaction suivante :



La réduction du DPPH<sup>•</sup> s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution, mesurable à  $\lambda=515$  nm. La solution de DPPH à 0,025 g / l est préparée à l'avance (au moins 3 ou 4 heures) car la solubilisation est difficile, et elle ne se conserve pas plus de 48h à l'obscurité. On prend 50  $\mu$ l de l'extrait à différentes concentrations (g/l) on lui ajoute 1,950 ml de DPPH<sup>•</sup> dissous dans le méthanol. On incube à la température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. On mesure la densité optique à  $\lambda= 515$  nm. Les valeurs obtenues sont la moyenne de trois répétitions. L'acide ascorbique est un contrôle positif. L'absorbance lue est transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin.

$$I\% = [(A_t - A_e)/A_t] \times 100 \text{ (Wang *et al.*, 2002)}$$

Où  $A_t$ : La densité optique de DPPH<sup>•</sup> sans extrait,  $A_e$ : La densité optique de DPPH avec extrait I% : pourcentage d'inhibition.

La courbe traçant la relation entre le pourcentage d'inhibition et la teneur en composés phénoliques n'étant pas linéaire mais logarithmique (plateau atteint vers 80% d'inhibition), les extraits sont donc dilués ou concentrés pour obtenir un pourcentage d'inhibition aux alentours de 50%. Afin de comparer les extraits entre eux un indice est calculé : EC50 quantité en ( $\mu$ g) de composés phénoliques nécessaire pour obtenir 50% d'inhibition.

### **IV.3. Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles des *Artemisia* et *Warionia saharae* :**

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antioxydantes. Le principe de mesure de cette activité est le même à celui des composés phénoliques. Elle est déterminée en utilisant la méthode de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> selon le protocole de **Tepe *et al.*, (2005)**. La solution du DPPH est obtenue en dissolvant 2 mg dans 50 ml d'éthanol pour obtenir 0,1 mM. Nous ajoutons 2ml de cette solution à 100 µl de la solution méthanolique contenant l'antioxydant de référence l'Acide ascorbique à différentes concentrations. L'huile essentielle testée a été préparée par la même méthode. Le contrôle sans antioxydant est représenté par la solution éthanolique du DPPH contenant 100 µl du méthanol. La diminution de l'absorbance est mesurée par le spectromètre jenway.6405 UV/Vis à  $\lambda=517$  nm après 30 min à l'obscurité et à la température ambiante.

### **IV.4. Test antioxydant des huiles essentielles et les extraits phénoliques de *Warionia saharae* par la méthode d'autobiographie :**

Le DPPH<sup>•</sup> est un radical stable qui présente en solution une absorption caractéristique à  $\lambda=517$  nm qui lui confère une coloration violette. Cette couleur disparaît lorsque le DPPH est réduit en diphenylpicrylhydrazine par un capteur de radicaux libres. Ainsi, en chromatographie sur couche mince (CCM), les composés actifs sont visualisables sous la forme de taches jaunes sur fond violet. L'activité antioxydante des extraits et des composés purs (témoins) a été évaluée sur couche mince par le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) en suivant un protocole adapté de **Takao *et al.*, (1994)**. Les échantillons ont été déposés sur 2 plaques Silicagel 60 F<sub>254</sub> sur feuille d'aluminium (Merck), et celles-ci développées dans le système d'élution approprié : chloroforme/acide acétique/acide formique/eau (100 :11 :11 :26). Une plaque est examinée sous

UV et gardée sans révélation, tandis que l'autre est révélée par une solution méthanolique de DPPH à 0,2 % dans le méthanol. Ce réactif est un radical stable qui, réduit par des capteurs de radicaux, passe du pourpre au jaune, révélant ainsi les composés avec une activité antioxydante. Les plaques sont examinées après 30 min à l'œil nu. (Roberto, 2008).

#### IV.5. Etude statistique :

Le logiciel utilisé pour ajuster les données de piégeage du radical DPPH, la détermination des poly phénols totaux, des flavonoides, et l'activité antioxydante des huiles essentielles est le logiciel Origin6. Il est évalué par le calcul du  $\chi^2$  (Khi carré) et le coefficient de corrélation  $R^2$ .

Les modèles choisis sont :

➤  $Y = A + B X$  fonction linéaire où : A et B sont des constantes.

Ce modèle est utilisé pour la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, la courbe d'étalonnage de la catéchine, et la courbe du pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique.

➤  $Y = Y_0 + A_1 \exp(-x/t_1)$  fonction exponentiel ou  $Y_0$ ,  $A_1$ , et  $t_1$  sont des constantes

Ce modèle est utilisé dans les courbes du pouvoir antioxydant des extraits et des huiles essentielles.

➤  $Y = A + B X + C X^2$  fonction polynomial où : A, B, et C sont des constantes.

Ce modèle est utilisé dans la courbe de détermination du pouvoir antioxydant de certains extraits flavoniques (extrait acétate de *Warionia saharae* (feuilles)).

RESULTATS  
ET  
DISCUSSIONS

## Chapitre I

### Rendements et analyse des huiles essentielles par CPG et RMN <sup>13</sup>C

#### I.1. Rendements en huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica* et *Warionia saharae*:

Les rendements moyens en huile essentielle, qui sont calculés en fonction de la masse du matériel végétal sèche, pour les espèces : *Artemisia herba alba*, *Artemisia judaica*, *Artemisia campestris* et *Warionia saharae* sont représentés dans la figure 11 et annexe I.1.

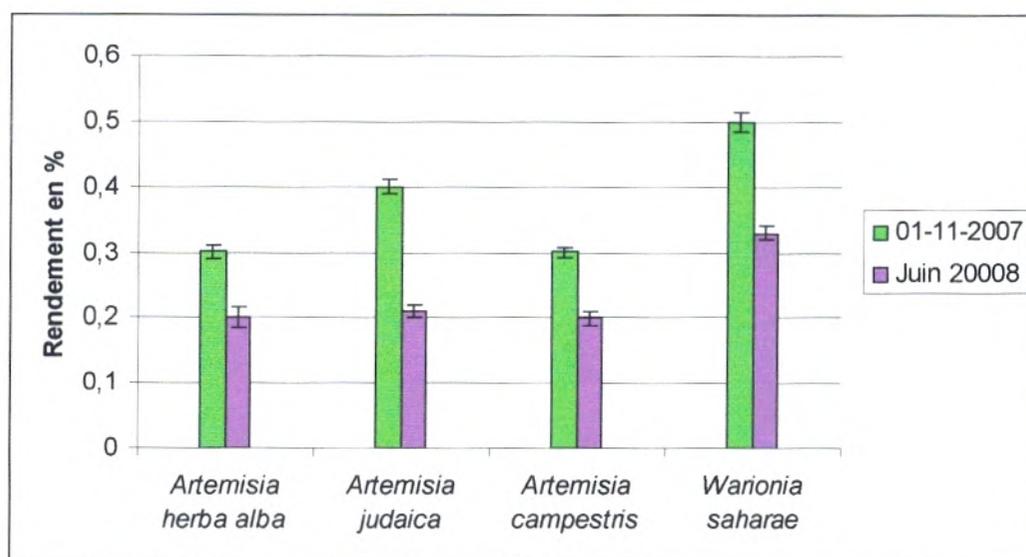


Figure 11: Rendement en huile essentielle obtenu par hydro distillation.

Nous avons noté que toutes ces espèces végétales révèlent un rendement faible en huile essentielle obtenue par hydro distillation sauf *Warionia saharae* qui a un rendement moyen de l'ordre de 0.42%. La teneur en huile essentielle d'*Artemisia herba alba* de la région de Msila (Algérie) est nettement supérieure à nos valeurs : 1,02% (**Dob, 2006**). Le rendement de cette même espèce dans la région de Matmata (Tunisie) est de 0.41% (**Akrout, 2004**), par contre dans le sud de l'Espagne, le rendement varie de 0,41% à 2,3% (**Sofia, 2003**).

Les rendements en huile essentielle d'*Artemisia judaica* récoltée dans différentes stations en Egypte, varient de 0.4% à 1.4% (**El-Massry et al., 2002 ; Abdelgaleil et al., 2007**). Par ailleurs, **Dob et al., 2006** révèlent que cette espèce végétale de la région d'Ain Aminas (Algérie) a un rendement de 0,7%.

Nous avons obtenu des teneurs d'huile essentielle inférieures que ceux obtenus par certains auteurs de (Tunis, Algérie et Maroc) de l'ordre de 0.7% concernant *Artemisia campestris* et *Warionia saharae* (**Akrout et al., 2001 ; Dob et al., 2005 ; Ram et al., 1985**).

Les différences des teneurs en huile essentielle des différentes plantes sont étroitement liées à la période de la récolte et la technique de distillation (**Panizzi et al., 1939** in **Lahlou, 2004**).

## **I.2. Analyse des huiles essentielles d'*Artemisia judaica* et *Warionia saharae* :**

Les analyses des huiles essentielles des différentes espèces végétales ont été réalisées dans le laboratoire de «Chimie et Biomasse» (UMR CNRS 6134, Science Pour l'Environnement) à l'université de Corse.

### **I.2.1. Analyse de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* :**

Deux colonnes ont été utilisées : polaire et apolaire pour la chromatographie en phase gazeuse, le carbone  $^{13}\text{C}$  pour la spectroscopie à résonance magnétique nucléaire.

Dix sept composés ont été identifiés dans les huiles essentielles d'*Artemisia judaica* de la région de Djebel Antar (tableau 7) (Figure 12).

Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* L.ssp. *sahariensis*.

Ordre d'élution et pourcentage sur colonne apolaire sauf \* (% colonne polaire).

Composés	Ir apolaire	Ir polaire	Pourcentage (%)
$\alpha$ pinène	932	1024	1,8
Camphene	944	1067	1,4
Sabinene	966	1119	0,6
p-cymene	1012	1262	0,4
Cineole	1022	1208	7,9
$\delta$ -terpinene	1049	1239	0,5
linalol	1085	1534	1,8
camphre	1124	15,4	20,2
borneol	1151	1685	8,8
terpinen-4-ol	1162	1587	1,9
myrtenol	1173	1773	2,7
$\alpha$ -terpineol	1180	1696	3,9
Bornyl ac	1269	1568	2,3
$\alpha$ -terpinyl ac	1333	1681	5,4
(E)-Nerolidol	1548	2023	1,8
Davanone	1564	2015	7,6*
$\beta$ -eudesmol	1634	2201	2,6

Nous constatons que l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* est très riche en monoterpènes (88%) dont 66.67 % sont des monoterpènes oxygénés (cineole, camphre, linalol...) et 33.33 % sont des monoterpènes hydrocarbonés ( $\alpha$  pinène, Camphene, Sabinene, p-cymene...).

Le composant majoritaire est le Camphre (20,2 %) suivie par Borneol (8,8 %), Cineole (7,9 %), Davanone (7,6 %) et  $\alpha$ -terpinyl ac (5,4 %). Nous remarquons que le composé majoritaire de nos huiles essentielles est différent à celui des huiles essentielles d'Ain Aminos (Algérie)(Dob *et al.*, 2006) dont le composé majoritaire est le piperitone (61,9 %) suivie par terpinene-4-ol et le bornyl acétate (3%). Il est aussi différent à celui trouvé dans le Nord de l'Egypte (Khaled *et al.*, 2002), dont le composé majoritaire est le piperitone (45 %) suivie par trans-éthyle cinnamate (20.8%), éthyle-3- propionate (11%) et le spathulenol (6.27 %).

Les huiles essentielles citées par ces auteurs sont de type chimique différent de nos échantillons. Cette différence peut être due à l'origine botanique de l'espèce productrice, aux conditions environnementaux et au stade de maturité (Costa *et al.*, 2003).

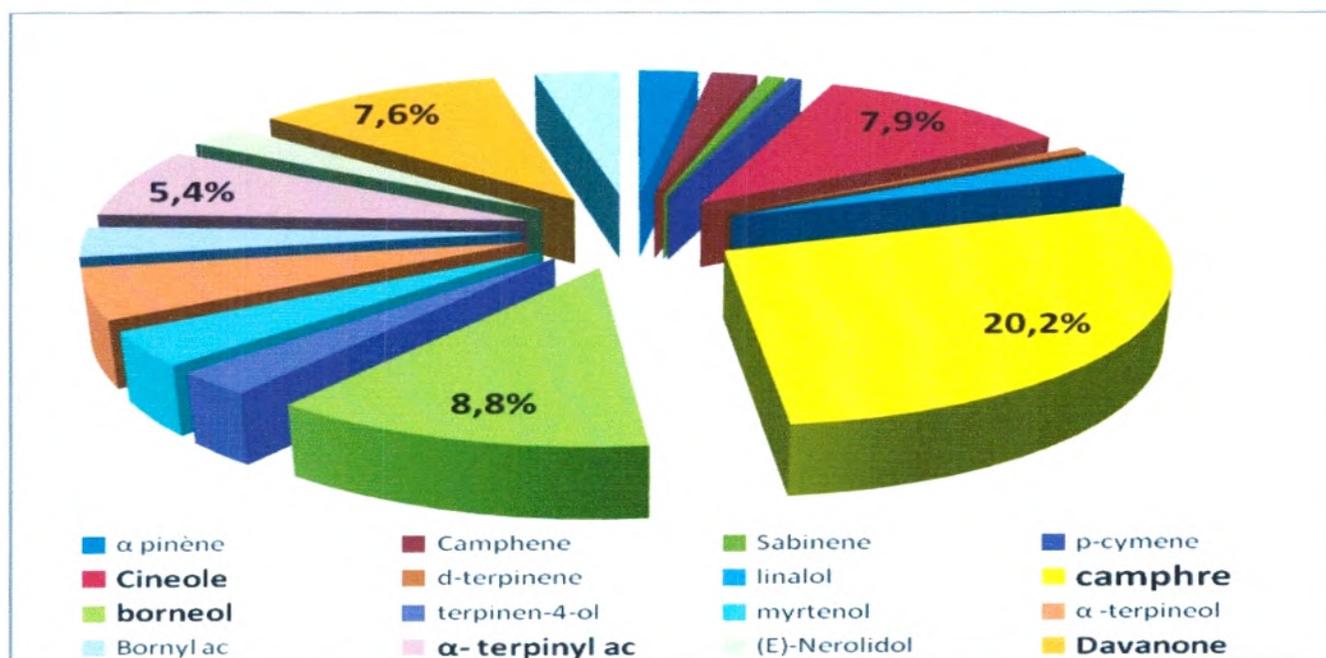


Figure 12 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica*.

### I.2.2. Analyse de l'huile essentielle de *Warionia saharae* :

Dans les mêmes conditions de travail pour l'analyse des huiles essentielles d'*Artemisia judaica*, nous avons identifié sept composés dans *Warionia saharae* (tableau 8) (Figure 13).

Les monoterpènes présentent 85.7 % de l'ensemble des composants de l'huile essentielle de *Warionia saharae*.

Le composant majoritaire est le  $\beta$ -eudesmol (34.6%) suivie par (E)- nérolidol (25,7%), Linalol (14,6%), Geraniol (2.9 %),  $\alpha$ -eudesmol (1,4 %). La même composition chimique a été révélée dans les huiles essentielles du Sud du Maroc mais avec des teneurs différentes :  $\beta$ -eudesmol (52,7 %), trans-nerolidol (17,4 %), linalol (5,01 %), guaiol (2,4 %), terpinene-4-ol (1,4 %) et 1,8-cineole (1,2 %). (Essaqui *et al.*, 2007),

Tableau 8: Composition chimique de l'huile essentielle de *Warionia saharae*  
Ordre d'élution et pourcentage sauf \* sur colonne apolaire. (E : échantillon)

composés	Ir Apolaire	Ir polaire	E %
Linalol	1087	1536	11,3
Terpinen-4-ol	1161	1586	0,4
$\alpha$ terpineol	1173	1678	1,6
Geraniol	1236	1828	2,9
(E)- nérolidol	1552	2026	23,0
$\beta$ -eudesmol	1641	2205	34,6*
$\alpha$ -eudesmol	1643	2192	1,2

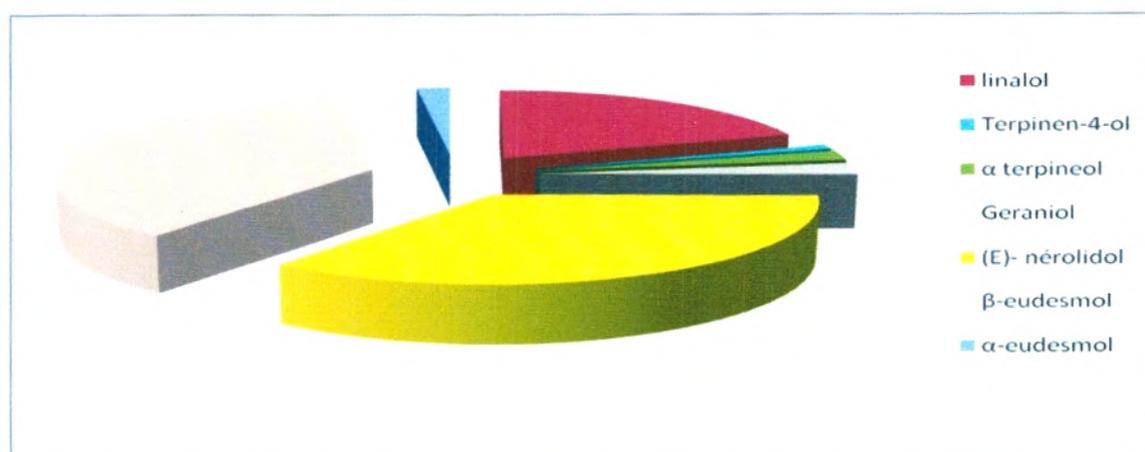


Figure 13 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Warionia saharae* Benth et

## Chapitre II

### Dosage et analyse des flavonoïdes de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica* par CCM et HPLC

#### II.1. Rendement des extraits secs des deux espèces *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica* :

L'extrait méthanolique renferme les composés phénoliques. Le rendement a été déterminé par rapport à 100 g de matériel végétal sec. Les résultats sont exprimés en pourcentage (Figure. 14). (annexe II.1).

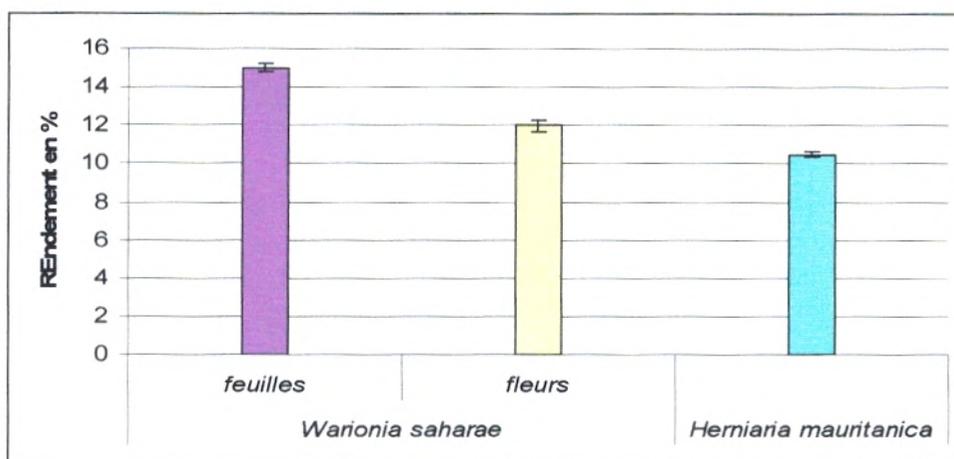


Figure 14: Le rendement des extraits secs de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*. Nous remarquons que le rendement des extraits secs de *Warionia saharae* est de 15% pour les feuilles, 13% pour les fleurs, par contre le pourcentage des extraits de *Herniaria mauritanica* est de 10.5 %

#### II.2. Teneur en phénols totaux des extraits secs :

Les composés phénoliques sont connus comme de puissants antioxydants (**Shahidi et Wanasundara, 1992**). Ils sont des constituants très importants dans les extraits et leur capacité de balayage des radicaux libres est due à leurs groupes d'hydroxyles (**Hanato et al., 1989**). La concentration des composés phénoliques dans les extraits secs est exprimée en équivalent gramme d'acide gallique (Figure15). Elle est calculée selon l'équation :  $Y = A X + B$  obtenue à partir du graphique standard de ce dernier. (Figure16)

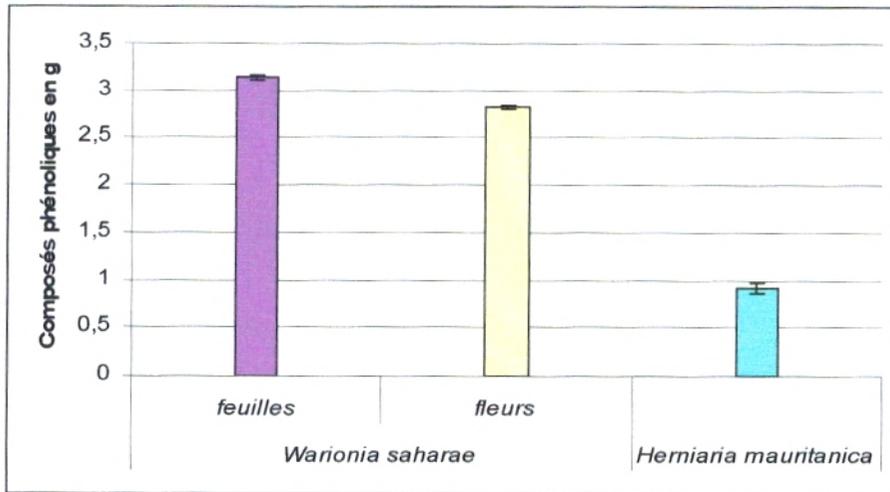


Figure. 15 : Les composés phénoliques totaux (g / 100g d'extraits secs).

Légende : g : gramme.

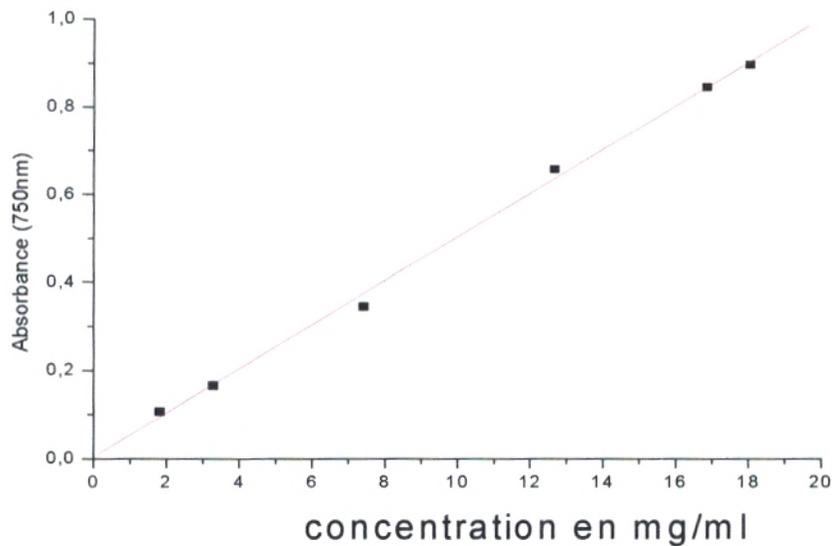


Figure. 16: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (mg/ml)

( $A = 0,046$ ,  $B = 0,050$ ,  $R^2 = 0,99$ ).

La quantité de composés phénoliques dans les feuilles de *Warionia saharae* est de 3,14 g, et dans les fleurs 2,89 g pour 100g d'extrait brut. Par contre, dans *Herniaria mauritanica*, la quantité de ces composés est très faible (0,92 g pour 100 g d'extrait brut) par rapport à celle de *Warionia saharae*. Il existe très peu de travaux sur les composés phénoliques de *Warionia saharae*. Nous avons estimé de comparer nos résultats à certaines plantes de la même famille (Astéracées). Nous

citons comme exemple, les composés phénoliques totaux d'*Artemisia arvensis*, *Artemisia campestris* et *Artemisia herba alba* (Djeridane *et al.*, 2005). Ces auteurs montrent que le taux en phénols totaux des ces plantes est respectivement 3,23 g, 2,038 g et 1,306 g équivalent à l'acide gallique/100g d'extrait brut. La quantité des phénols totaux d'*Artemisia arvensis* est semblable à nos résultats. Pour *Herniaria mauritanica*, des travaux réalisés sur une plante du même genre *Herniaria hirsuta* par Atmani *et al.*, (2004), ont montré que le taux en phénols totaux est de 2% (2g pour 100g d'extrait brut), cette quantité est supérieure à celle de nos résultats.

### II.3. Teneur en flavonoïdes des extraits secs :

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques à activité antioxydante bien connue. Dans diverses études, l'activité antioxydante a été jugée assez élevée, lorsque les extraits de la plante sont riches en flavonoïdes (Cakir *et al.*, 2003). La concentration des flavonoïdes est exprimée en équivalent gramme de catéchine (Figure 17, annexe II.2). Elle est calculée selon l'équation :

$Y = A X + B$  obtenue à partir du graphique standard de cette dernière (Figure.18).

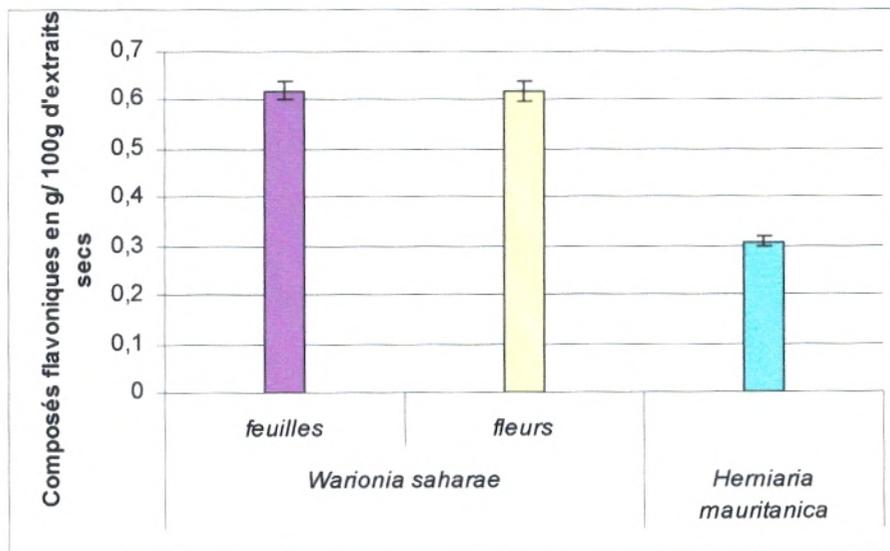


Figure 17: Les flavonoïdes totaux (g / 100g d'extraits secs).

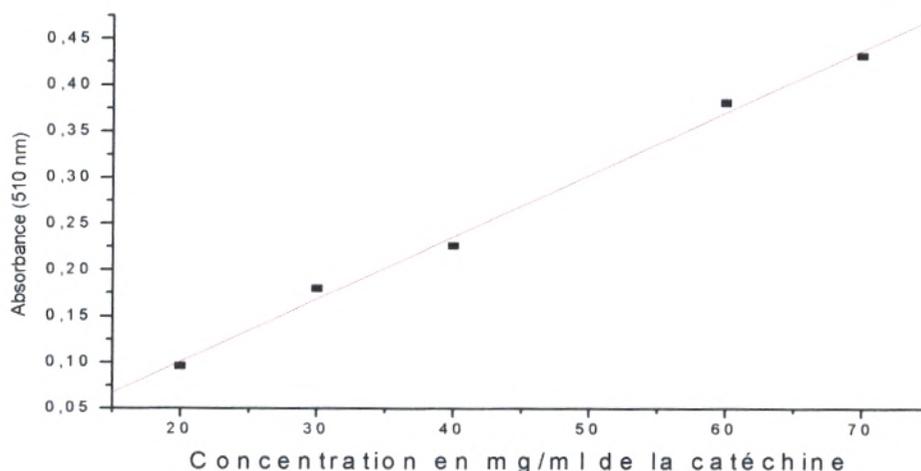


Figure 18: Courbe d'étalonnage de catéchine (mg/ml).

$$(A = -0,033, B = 0,0067 R^2 = 0,99)$$

La quantité de flavonoïdes de *Warionia saharae* est de 0,62 g équivalent à la catéchine par rapport à 100g d'extrait brut, elle représente 21 % des composés phénoliques totaux. Très peu de travaux sont réalisés, nous comparons nos résultats à quelques plantes de même famille (astéracées). La quantité de flavonoïdes d'*Artemisia arvensis*, *Artemisia campestris* et *Artemisia herba alba* est respectivement : 1,31g, 0,74g et 1,13g équivalent à la catéchine/100g d'extrait brut (Djeridane *et al.*, 2005). Nous remarquons que nos résultats sont inférieurs à celles de ces plantes.

La quantité de flavonoïdes de *Herniaria mauritanica* est de 0.30 g équivalent à la catéchine /100g d'extrait brut, représentant ainsi 33.5 % des extraits. La quantité des flavonoïdes de *Herniaria mauritanica* est inférieure à celle de *Warionia saharae*.

#### II.4. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Nous avons utilisé la technique réalisée par Markham (1982). Les résultats de la séparation des composés phénoliques par CCM des extraits de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica* sont résumés dans les tableaux (9,10) et les figures (19, 20).

Tableau 9 : La séparation des composés phénoliques par CCM de *Warionia saharae* (feuilles et fleurs) et *Herniaria mauritanica* (Système solvant BAW, support : gel de Polyamide)

	La phase acétate d'éthyle			La phase n-butanol		
	Couleur (365nm)	Rf	Type flavonoïdes possible <b>Markham (1982)</b>	Couleur (365nm)	Rf	Type flavonoïdes possible <b>Markham (1982)</b>
<i>Warionia saharae</i> (feuille)	Violet	0.19	Flavone	Marron	0.34	Phénol
	Jaune	0.27	Flavonol	Marron	0.52	Phénol
	Jaune	0.31	Flavonol	Violet	0.59	Flavones
	Violet	0.41	Flavone	Bleu	0.61	Acide phénol
	Violet	0.46	Flavone	Bleu blanc fluorescent	0.70	Flavonol, flavone, flavanone, Isoflavone
	Violet	0.54	Flavone			
	Bleu	0.59	Acide phénol			
	Violet	0.61	Flavone			
	Violet	0.70	Flavone			
	<i>Warionia saharae</i> (fleur)	Bleu clair	0.77	Acide phénol	Bleu	0.34
Bleu clair		0.14	Acide phénol	Bleu	0.52	Acide phénol
Violet foncé		0.19	Acide phénol	Violet	0.59	Flavone
Bleu		0.27	Acide phénol	Violet	0.61	Flavone
Violet		0.36	Flavone	Bleu blanc fluorescent	0.70	Flavonol, flavone, flavanone, isoflavone
Violet		0.41	Flavone			
Bleu		0.50	Acide phénol			
Violet		0.58	Flavone			
Violet		0.61	Flavone			
Violet		0.71	Flavone			
<i>Herniaria mauritanica</i>	Violet	0.108	Flavone	Violet	0.25	Flavone
	Bleu	0.241	Acide phénol	Bleu	0.37	Acide phénol
	Jaune	0.383	Flavonol	Jaune	0.49	Flavonol
	Bleu foncé	0.538	Acide phénol	Jaune	0.56	Flavonol
	Jaune	0.733	Flavonol	Violet	0.66	Flavone
	Violet	0.783	Flavone	Bleu	0.73	Acide phénol

Tableau 10: La séparation des composés phénoliques par CCM de *Warionia saharae* (feuilles et fleurs) et *Herniaria mauritanica*

Système solvant : BAW (Butanol/acide acétique/eau) (4/1/5), Support : gel de Cellulose.

	Dans la phase d'acétate d'éthyle			Dans la phase n-butanol		
	Couleur (365nm)	Rf	Type flavonoïdes possible <b>Markham (1982)</b>	Couleur (365nm)	Rf	Type flavonoïdes possible <b>Markham (1982)</b>
<i>Warionia saharae</i> (feuilles)	Violet	0.56	Flavone	Jaune	0.36	Flavonol
	Violet	0.67	Flavonol	Violet	0.4	Flavone
	Jaune	0.72	Flavonol	Jaune	0.48	Flavonol
	Bleu	0.82	Acide phénol	Jaune	0.53	Flavonol
	Violet	0.88	Flavone	Bleu	0.57	Acide phénol
	Violet	0.54	Flavone	Violet	0.68	Flavone
				Violet	0.75	Flavone
				Violet	0.81	Flavone
				Violet	0.88	Flavone
<i>Warionia saharae</i> (fleurs)	Jaune	0.38	Flavonol	Jaune	0.39	Flavonol
	Jaune	0.44	Flavonol	Jaune	0.44	Flavonol
	Jaune	0.48	Flavonol	Jaune	0.51	Flavonol
	Bleu	0.56	Acide phénol	Bleu	0.58	Acide phénol
	Jaune	0.62	Flavonol	Violet	0.69	Flavone
	jaune	0.67	Flavonol	Bleu	0.76	Acide phénol
	jaune	0.7	Flavonol	Violet	0.81	Acide phénol
	Bleu	0.82	Acide phénol	Violet	0.89	Flavone
	Violet	0.86	Flavone			
	Violet	0.89	Flavone			
<i>Herniaria mauritanica</i>	Violet	0.46	Flavone	Violet	0.39	Flavone
				Violet	0.44	Flavone
				Jaune	0.51	Flavonol
				Violet	0.56	Flavone
				Violet	0.63	Flavone

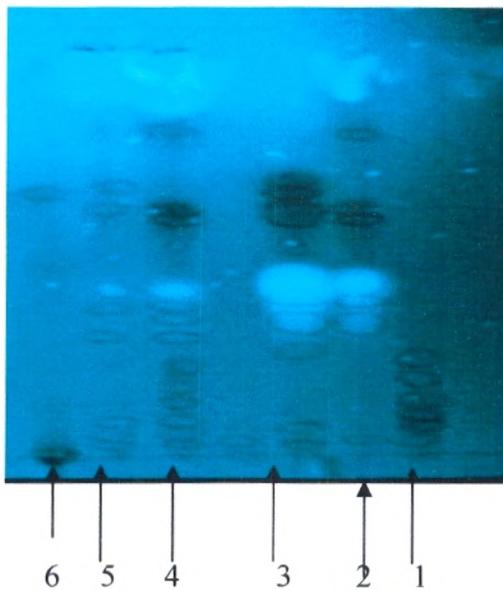


Figure 19

Fig. 19 : Chromatogramme du pool flavonique des deux fractions (Acétate d'éthyle et n-butanol) de *Warionia saharae* (feuilles et fleurs) et de *Herniaria mauritanica* sur couche mince (Support : Cellulose. Solvant : BAW (Butanol/acide acétique/eau) ( 4 :1 :5))

- Légende: 1 : Extrait de la phase acétate de *Warionia saharae* (feuilles)  
 2 : Extrait de la phase n-butanol de *Warionia saharae* (feuilles)  
 3 : Extrait de la phase acétate de *Warionia saharae* (fleurs)  
 4 : Extrait de la phase n-butanol de *Warionia saharae* (fleurs)  
 5 : Extrait de la phase acétate de *Herniaria mauritanica*  
 6 : Extrait de la phase n-butanol de *Herniaria mauritanica*.

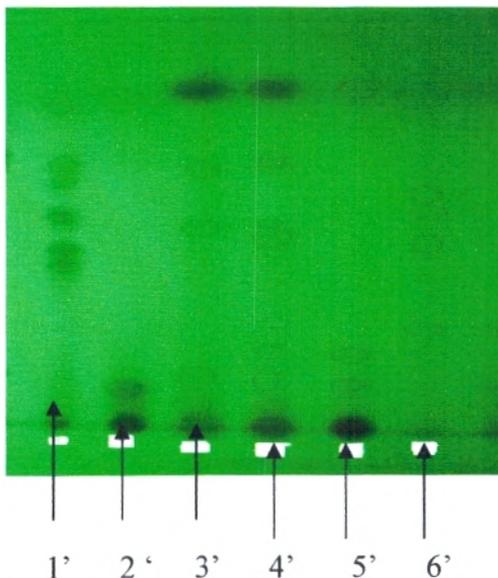


Figure. 20 : Chromatogramme du pool flavonique des deux fractions (Acétate d'éthyle et n-butanol) de *Warionia saharae* (feuilles et fleurs) et de *Herniaria mauritanica* sur couche mince (Support : polyamide. Solvant : BAW (Butanol/acide acétique/eau) ( 4 :1 :5))

- Légende : 1' : Extrait de la phase acétate de *Warionia saharae* (feuilles)  
 2' : Extrait de la phase n-butanol de *Warionia saharae* (feuilles)  
 3' : Extrait de la phase acétate de *Warionia saharae* (fleurs)  
 4' : Extrait de la phase n-butanol de *Warionia saharae* (fleurs)  
 5' : Extrait de la phase acétate de *Herniaria mauritanica*  
 6' : Extrait de la phase n-butanol de *Herniaria mauritanica*.

#### II.4.1. Mise en évidence du pool flavonique chez *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*:

##### *\*Warionia saharae*

Dans le système solvant BAW (Butanol/acide acétique/eau) ayant comme adsorbant le polyamide, nous avons identifié 9 composés dans la phase acétate d'éthyle et 5 composés dans la phase n-butanol dans les feuilles de *Warionia saharae*. La majorité de ces composés sont les flavones et flavonols. Les composés identifiés dans les fleurs de *Warionia saharae* sont 10 composés dans la phase acétate d'éthyle et 5 composés dans la phase de n-butanol, sous forme de flavones et peu d'acide phénol. Dans le système solvant BAW (Butanol/acide acétique/eau) ayant comme adsorbant la cellulose nous avons identifié 6 composés dans la phase acétate d'éthyle et 9 composés dans la phase de n-butanol dans les feuilles. La majorité de ces composés sont des flavones et flavonols. Nous trouvons aussi des flavones, des flavonols, flavanones et auronnes dans les fleurs de *Warionia saharae*.

##### *\*Herniaria mauritanica*

Les composés identifiés de *Herniaria mauritanica* dans les deux cas sont inférieurs à celui de *Warionia saharae*. Ces composés sont des flavones, flavonols et peu d'acide phénol.

Le pool flavonique chez les deux espèces est dominé par : les flavones, et les flavonols.

#### II.4.2. Essai d'identification des composés phénoliques:

Après comparaison des résultats des composés phénoliques de nos échantillons et celles des témoins (figures 21, 22) (annexe II.3, annexe II.4) nous avons pu identifier les composés suivants :

\* les feuilles de *Warionia saharae* : Pyrocatechol, catéchine et l'acide gallique.

\* les fleurs de *Warionia saharae* : Pyrocatechol, quercétine et catéchine. A notre propre connaissance aucun travail n'a été réalisé sur l'identification des flavonoïdes de cette espèce.

En ce qui concerne *Herniaria mauritanica*, quatre composés ont été identifiés: catéchine, acide p-coumarique, acide gallique et Pyrocathéchol. Un travail a été réalisé par **Cheriti et al., (1996)** qui ont identifié cinq flavonoïdes : isorthamnetine, kaempférol, quercetine, astragaline et isoquercetine

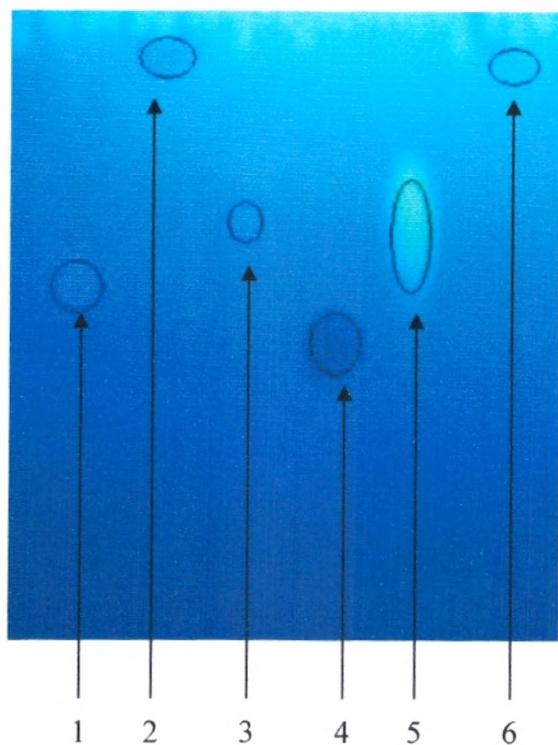


Figure. 21 : Chromatogramme des flavonoïdes témoins (Support : Cellulose. Solvant : BAW (Butanol/acide acétique/eau) (4 :1 :5)).

Légende : 1 : Acide gallique; 2 : Acide p-coumarique ; 3 : Catéchine ; 4 : Rutine ; 5 : Quercétine ; 6 : Pyrocathéchol

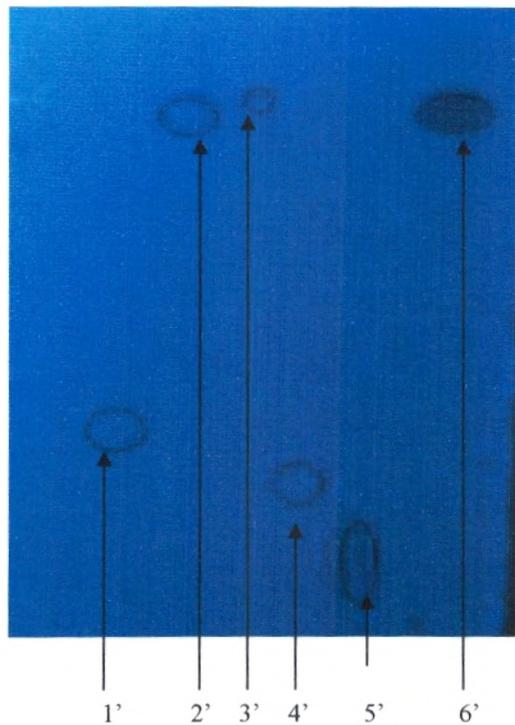


Figure. 22 : Chromatogramme des flavonoïdes témoins (Support : polyamide. Solvant : BAW (Butanol/acide acétique/eau) (4 :1 :5)).

Légende : 1' : Acide gallique ; 2' : Catéchine ; 3' : Quercétine; 4' : Pyrocathéchol ; 5' : Acide p-coumarique ; 6' : Rutine.

### II.5. Analyse des composés flavoniques par CLHP:

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est une méthode de séparation qui permet d'obtenir autant de pics qu'il y a de composants dans le mélange à analyser. Les résultats de l'analyse des extraits de *Warionia saharae* (feuilles) et de *Herniaria mauritanica* sont exprimés dans les tableaux (11, 12, 13, 14) (annexe II.5, annexe II.6). et illustrés par les chromatogrammes.

Tableau 11 : Les composés flavoniques de la phase acétate d'éthyle de *Warionia saharae* (feuilles).

Légende: tr : temps de rétention.

N° de Pic	$\lambda = 280 \text{ nm}$					$\lambda = 370 \text{ nm}$				
	Tr (min)	Aire	Hauteur	Aire (%)	Hauteur (%)	Tr (min)	Aire	hauteur	Aire (%)	Hauteur (%)
1	26.61	180514	17161	9.566	10.77	25.72	60990	2099	46.22	30.07
2	27.8	53155	6460	2.817	4.056	28.51	9913	837	7.513	11.98
3	28.59	23122	2995	1.225	1.88	28.89	12857	1213	9.744	17.37
4	29.46	1315911	105369	69.73	66.16	29.5	17372	1366	13.16	19.568
5	29.84	247745	24125	13.12	15.14	33.25	30820	1466	23.35	21.002
6	33.31	66582	3142	3.528	1.973					

Tableau 12: Les composés flavoniques de la phase acétate d'éthyle de *Herniaria mauritanica*.

N° de Pic	$\lambda = 280 \text{ nm}$					$\lambda = 370 \text{ nm}$				
	Tr (min)	Aire	Hauteur	Aire (%)	Hauteur (%)	Tr (min)	Aire	Hauteur	Aire (%)	Hauteur (%)
1	26.57	276224	20819	36,29	23,203	26,18	63154	1495	88,84	57,97
2	28,51	23760	3419	3,122	5,289	28,79	4280	530	6,002	20,57
3	29,09	146080	11791	19,19	18,23	29,43	2201	283	3,097	10,97
4	29,71	314920	28618	41,38	44,26	29,71	1445	270	2,033	10,48

Tableau 13 : Les composés de la phase n-Butanol de *Warionia saharae* (feuilles).

N° de Pic	La longueur d'onde $\lambda = 280$ nm					La longueur d'onde $\lambda = 370$ nm				
	Tr (min)	Aire	Hauteur	Aire (%)	Hauteur (%)	Tr (min)	Aire (%)	Hauteur	Aire (%)	Hauteur (%)
1	1.04	8025819	620949	31.21	39.027	1.033	2192584	119721	17.7 7	18.71
2	2.128	7388274	357690	28.73	22.481	2.131	4486800	216734	36,3 7	33.88
3	2.977	8183474	428097	31.82	26.906	2,976	5488853	296767	44,4 9	46,39
4	5.967	167266	13980	0.651	0.879	5,966	89301	3710	0,72 4	0,58
5	14.415	131876	5522	0.513	0.347	26,09	68483	1502	0,55 5	0,235
6	20.431	31884	1756	0.124	0.11	28,53	1567	261	0,01 3	0,041
7	24.549	34555	2061	0.134	0.13	28,78	3776	491	0,03 1	0,077
8	26.146	125015	10625	0.486	0.668	29,90	3488	454	0,02 8	0,071
9	26.57	201250	20160	0.783	1.267					
10	27.282	9210	1905	0.036	0.12					
11	27.507	11813	2132	0.046	0.134					
12	28.504	25662	3385	0.1	0.123					
13	29.143	29143	465709	1.811	2.244					
14	29.706	368256	34393	1.432	2.162					
15	32.997	543191	52705	2.112	3.313					

Tableau 14: Les composés flavoniques de la phase n-Butanol de *Herniaria mauritanica*.

N° de Pic	La longueur d'onde $\lambda = 280$ nm					La longueur d'onde $\lambda = 370$ nm				
	Tr (min)	Aire	Hauteur	Aire (%)	Hauteur (%)	Tr (min)	Aire (%)	Hauteur	Aire (%)	Hauteur (%)
1	26,56	188351	19163	8,08	9,82	26,17	5167	1334	84,77	51,73
2	29,05	1823719	142970	78,29	73,26	28,77	3702	455	6,145	17,65
3	29,70	293478	31380	12,59	16,081	29,03	1631	202	2,707	7,83
4	30,70	30707	3367	0,145	0,201	29,43	1712	283	2,84	10,96
5	33,05	20434	1229	0,877	0,63	29,72	2130	305	3,535	11,81

Chez *Warionia saharae* (feuilles), nous avons mis en évidence 7 composés dans la phase acétate d'éthyle dont le composé 4 est majoritaire avec un pourcentage d'air 69.73 % suivie du composé 1 avec 46.22 % et composé 5 avec 21.002 % .Dans la phase n-butanol nous avons mis en évidence 15 composés dont le composé 3 est majoritaire avec 46.39 % suivie du composé 2 avec 33.88 % et le composé 1 avec 31.21 % .

Chez *Herniaria mauritanica* nous avons mis en évidence 8 composés dans la phase acétate d'éthyle dont le composé 1 est majoritaire avec 88.84 % d'air suivie du composé 4 avec 41.38%. Cinq composés ont été mis en évidence dans la phase n-butanol dont le composé 1 est majoritaire avec 84.77% suivie par le composé 2 avec 78.29 %.

L'analyse des composés phénoliques par CLHP nous a séparé un maximum de composés par rapport à la CCM, nous n'avons pas pu identifier ces composés parce que les témoins n'étaient pas très purs. Nous n'avons pas trouvé de travaux réalisés pour *Warionia saharae* concernant ces composés flavonique. En outre, un seul travail a été fait pour *Herniaria mauritanica* par **Cheriti et al., 1996** par CLHP. Ils ont trouvé cinq composés flavonique : isorthamnetine, kœmpférol, quercetine, astragaline et isoquercetine.

## Chapitre III

### Etude du pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles et des extraits flavoniques des différentes plantes médicinales

#### III.1. Etude du pouvoir antibactérien des différentes plantes :

Nous avons testé les huiles essentielles et les extraits flavoniques de nos espèces vis-à-vis de souches bactériennes et moisissures citées précédemment en appliquant deux méthodes :

- La méthode de diffusion sur disque et dans l'affirmation nous avons déterminé
- La concentration minimale inhibitrice (CMI) en appliquant la méthode de contact direct en milieu liquide.

##### III.1.1 Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques:

La méthode utilisée pour la détermination de la sensibilité des bactéries vis-à-vis des antibiotiques est la méthode standard des disques. Cet antibiogramme nous permis de classer les souches suivant l'antibiotique. La figure (23) (annexe III.1) montre les valeurs en mm des zones d'inhibitions les plus élevés avec chaque souche (Photo 6)

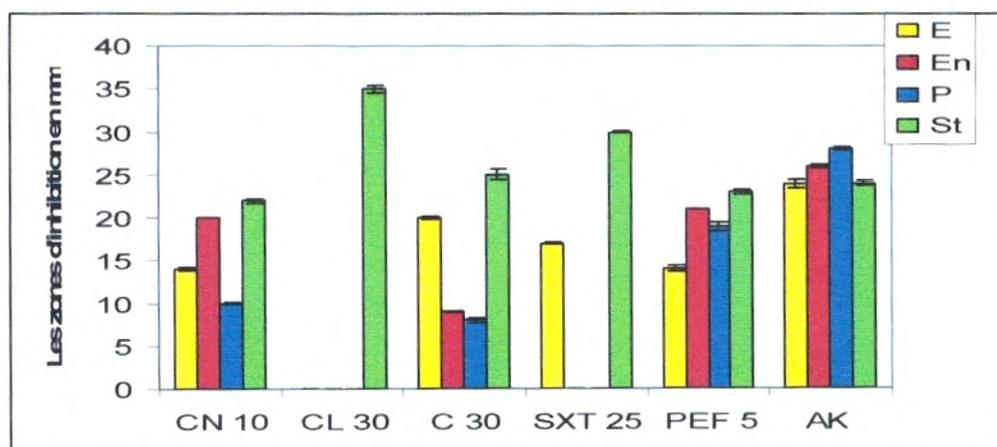
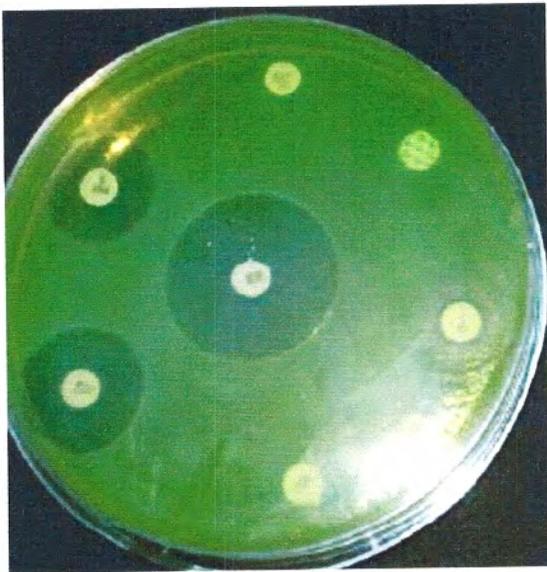


Figure. 23 : Activité des antibiotiques

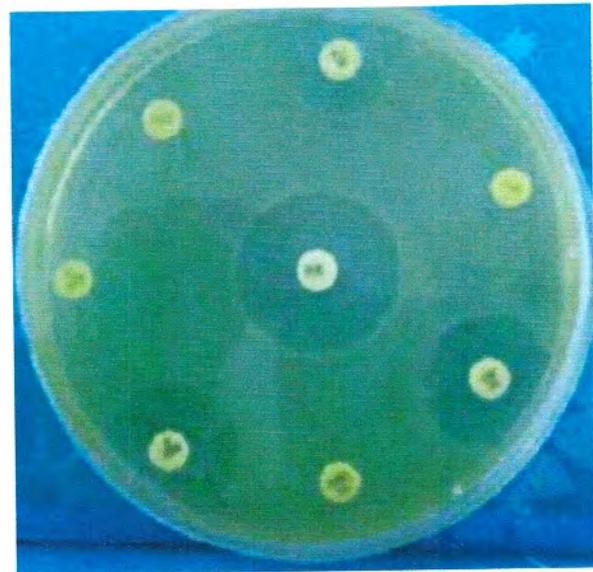
(Le diamètre de la zone d'inhibition des cultures microbiennes est exprimé en mm).

Légende : CN : Clindamycine, CL30 : Cephalexine, C30 : Chloramphénicol, SXT : Triméthoprime-sulfaméthoxazole, PEF : Péfloxaciné ; AK : Amikacine

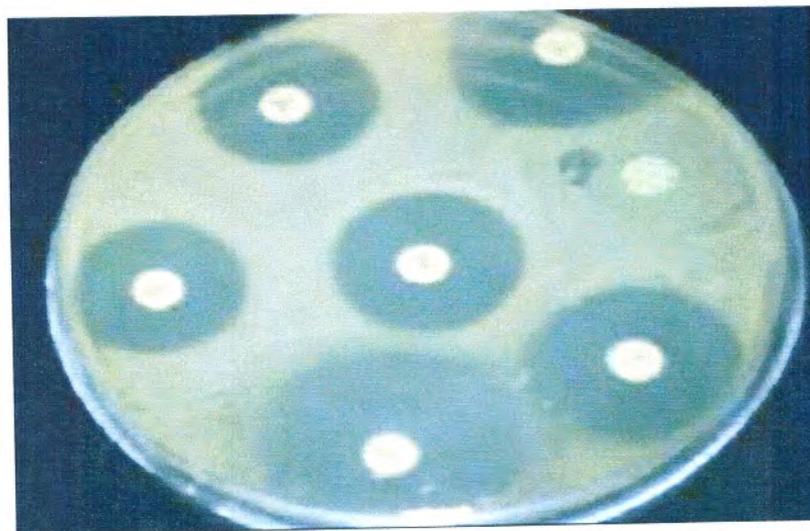
St : *Staphylococcus aureus*, En: *Enterococcus faecalis*, E: *Escherichia coli*, P : *Pseudomonas aeruginosa*,



A



B



C

Photo 6 : A: Antibiogramme : activité des antibiotiques sur *Pseudomonas aeruginosa*.

B: Antibiogramme: activité des antibiotiques sur *Enterococcus faecalis*

C : Antibiogramme : activité des antibiotiques sur *Staphylococcus aureus*.

### II.1.2. Détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits bruts:

La détermination de l'activité antibactérienne se fait par la méthode de diffusion par disques (aromatogramme). Nous rapportons dans le tableau (15) les diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica* et *Warionia saharae*, ainsi les extraits flavoniques de cette dernière espèce et de *Herniaria mauritanica*.

Tableau 15: Activité des huiles essentielles et les extraits flavoniques vis-à-vis des souches bactériennes. (Le diamètre de la zone d'inhibition des cultures microbiennes est exprimé en mm).

Légende: HE: huile essentielle; DMSO: Diméthyl sulfoxyde, feu : feuilles ; fle : fleurs

	<i>Artemisia herba alba</i>	<i>Artemisia campestris</i>	<i>Artemisia judaica</i>	<i>Warionia saharae</i>			<i>Herniaria mauritanica</i>	DMSO
	HE	HE	HE	HE	Extrait Brut feu	Extrait Brut fle	Extrait brut	
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.5 ± 0,4	11,5 ± 1,5	14 ± 1,02	13 ± 1,8	10,7± 0,7	13 ± 0,5	10 ± 1,9	6,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ± 1,03	10,66 ± 1,5	13 ± 1,8	18,7 ± 1,9	9,08 ± 0,1	8,00 ± 0,1	6,00	6,00
<i>Escherichia coli</i>	13,5 ± 1,0	12,25 ± 2,1	10,6 ± 0,5	14,6 6 ± 1,5	10,5 ± 0,5	11 ± 1,1	9,66 ± 1,1	6,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13 ± 1,41	13,66 ± 0,9	13,3 ± 1,1	13 ± 2,4	6,00	6,00	6,00	0,00
<i>Candida albicans</i>	17 ± 1,05	20,66 ± 1,01	11 ± 0,95	12,5 ± 0,5	6,00	6,00	6,00	6,00

Une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre est supérieur à 15 mm (avec DMSO)(**Rossi, 2003**). Ainsi l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* agit de façon faible sur la majorité des bactéries testées à l'exception *Candida albicans*. Cette activité peut être attribué probablement à la présence de certains composés majoritaires :  $\alpha$  thujone, eudesmol et D-germacrene. (**Ngassapa et al., 2003**).

L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* est moins active pour l'ensemble des bactéries, nos résultats se concordent à celle trouvés par **Akrout et al., (2007)**.

L'activité de ces huiles essentielles est faible par rapport à celles des composés de références (antibiotiques). Nous remarquons que l'huile d'*Artemisia judaica* agit sur les bactéries Gram (+) que Gram (-).

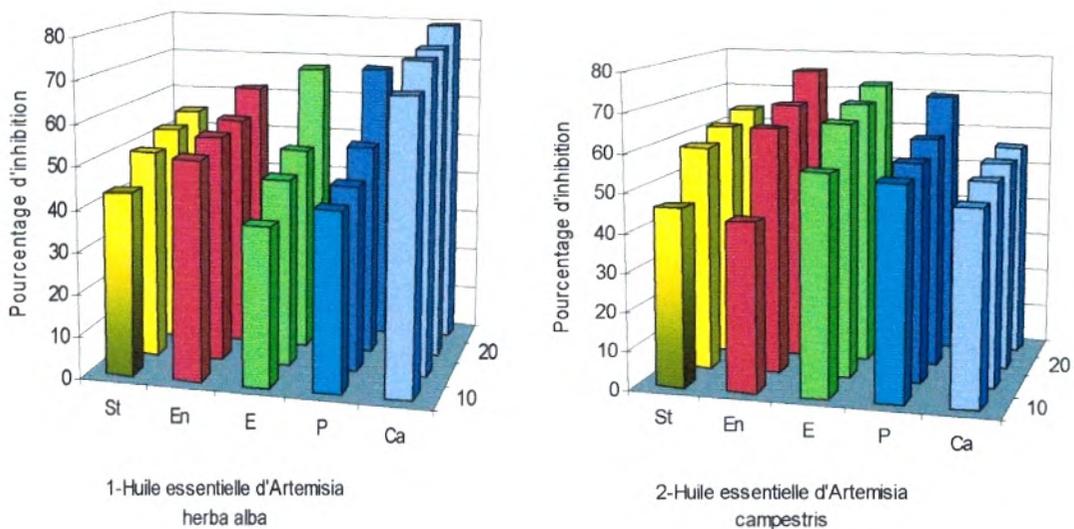
En outre, l'activité de l'huile essentielle de *Warionia saharae* est du probablement à la présence des composés majoritaire :  $\beta$ -eudesmol, linalol, 1,8-cinéole. Le pouvoir antimicrobien de 1,8-cinéole a été démontré par **Isca et al., 2002** ; **Cimango et al., 2002**.

Nous remarquons que *Candida albicans* est sensible seulement à l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Artemisia campestris*.

Enfin, bien que l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est attribuée principalement à son composé majoritaire, l'effet synergique ou antagoniste de chacun de ces constituants présents en faible teneur est également considéré (**Paster et al., 1995** ; **Chang et al., 2001** ; **Daferera et al., 2003**). Les extraits flavoniques de *Warionia saharae* et de *Herniaria mauritanica* présentent une activité antibactérienne très faible vis-à-vis des souches bactériennes.

**III.1.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

La méthode de diffusion par disques pour l'étude de l'activité antibactérienne est insuffisante pour la détermination de la quantité minimale inhibitrice. Cette étude est complétée par un test microbiologique afin de mesurer la sensibilité des bactéries à l'augmentation de la concentration de l'extrait naturel et pour déterminer les valeurs des concentrations inhibitrices minimales de 50 % de la population bactérienne (IC50). Nous calculons le pourcentage d'inhibition de la population bactérienne après mesure des densités microbiennes à  $\lambda = 625 \text{ nm}$  contre un blanc sans inoculum (Figure 24). (Annexe III.2, Annexe III.3).



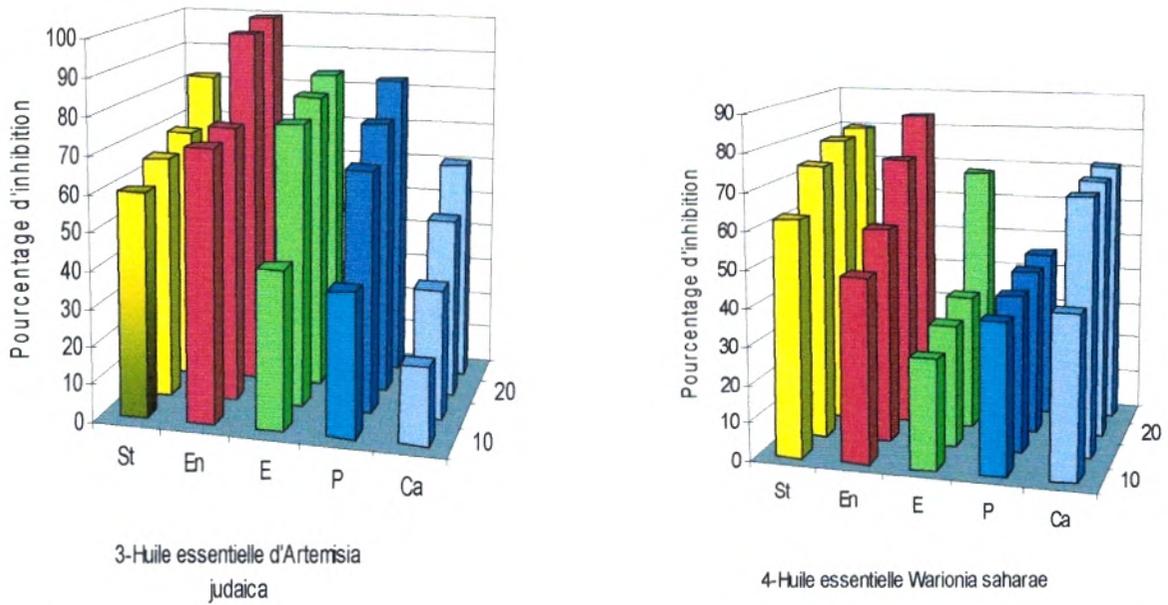


Fig. 24: Pourcentage d'inhibition des souches bactériennes par les huiles essentielles des différentes espèces.

Légende : St : *Staphylococcus aureus*, En: *Enterococcus faecalis*, E: *Escherichia coli*, P : *Pseudomonas aeruginosa*,

A partir des résultats précédents nous ne concluons que les concentrations inhibant 50 % de la population microbienne, et qui sont présentées dans la figure (25) (Annexe III.4)

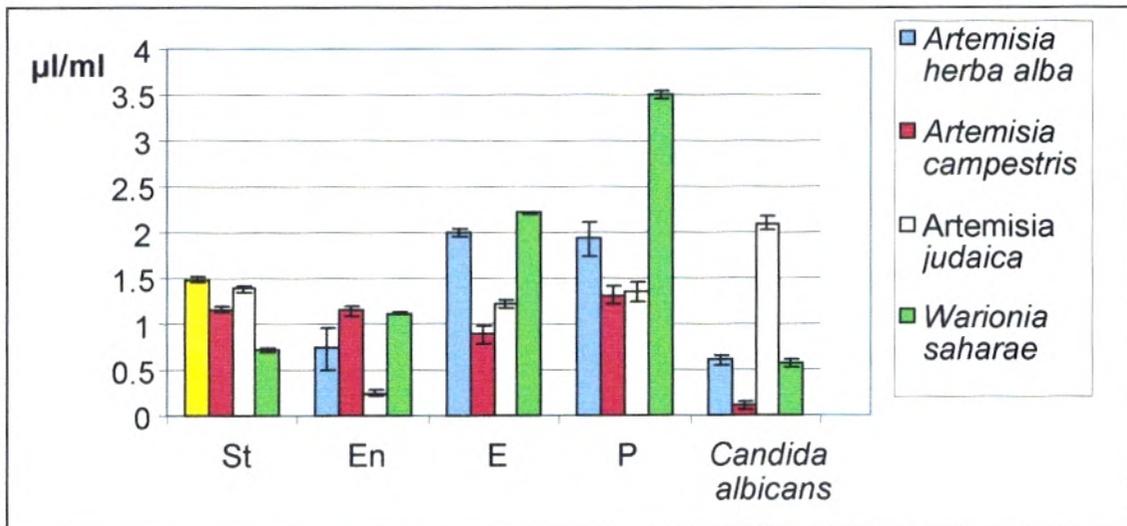


Figure. 25: La concentration minimale d'huile essentielle inhibant 50 % des souches bactériennes.

Légende : St : *Staphylococcus aureus*, En: *Enterococcus faecalis*, E: *Escherichia coli*, P : *Pseudomonas aeruginosa*,

La croissance de différentes souches de bactéries a été largement influencée et une réduction très significative proportionnelle à la dose de l'extrait naturel a été observée. Ces activités antibactériennes ne sont pas dues à la présence d'une substance particulière seulement mais, à l'effet synergique ou antagoniste de chacun des constituants de l'extrait. **Chang et al., 2001**. Nous remarquons que la concentration minimale de la majorité des huiles essentielles des différentes espèces est inférieure à 2 µl/ml à l'exception de *Warionia saharae* dont la concentration minimale dépasse 3,5 µl/ml pour inhiber 50 % de *Pseudomonas aeruginosa*.

### III.2. Etude du pouvoir antifongique:

La méthode utilisée pour l'activité antifongique est la technique de diffusion en milieu gélosé (**Chang et al., 2000** in **Wang et al., 2005**). Les extraits naturels sont additionnés au milieu PDA.

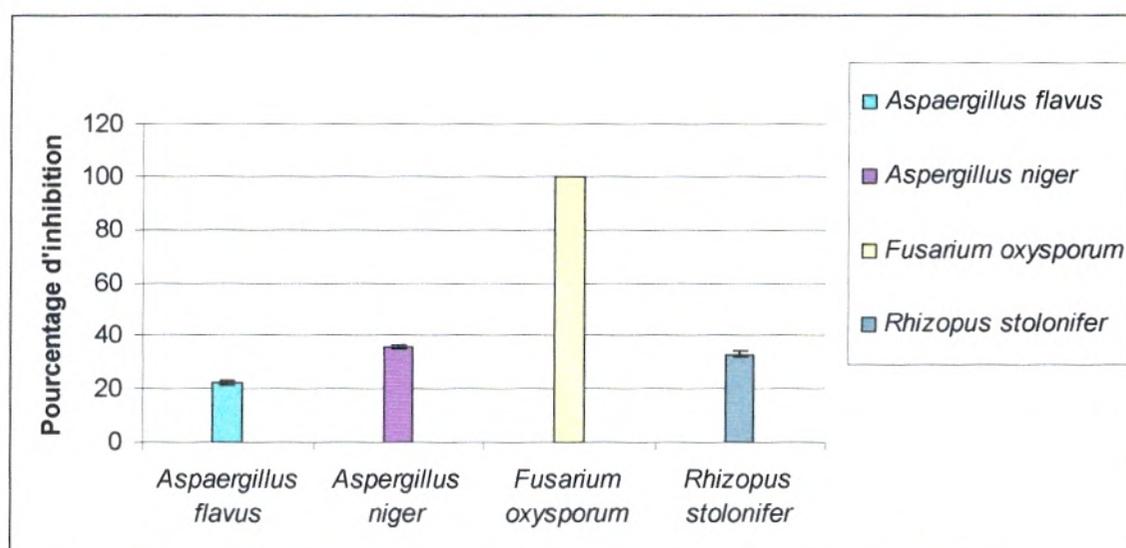


Figure. 26 : Activité de la nystatine sur des souches mycéliennes.

Nous remarquons que seul *Fusarium oxysporum* est sensible 100 %, l'inhibition des autres souches varie de 22 à 33 %. Le pourcentage d'inhibition de la levure *Candida albicans* est de 19%. (Figure 26). (Annexe III.5)

#### III.2.2 Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielle

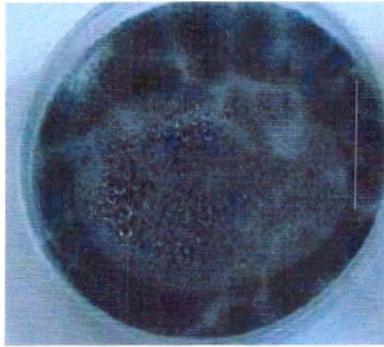
Les résultats de l'essai de l'activité antifongique des huiles essentielles des espèces : *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica* et *Warionia saharae* sont exprimés dans le tableau (16) et dans la photo (6).

Tableau 16: Activité antifongique des huiles essentielles en pourcentage d'inhibition.

Huile essentielle des espèces	Concentration en $\mu\text{l}$ / 20 ml de PDA	<i>Aspergillus flavus</i> (% d'inhibition)	<i>Aspergillus niger</i> (% d'inhibition)	<i>Fusarium oxysporum</i> (% d'inhibition)	<i>Rhizopus stolonifer</i> (% d'inhibition)
<i>Artemisia herba alba</i>	100	4,62	11,32	64,7	72,12
	200	52,85	69,85	84,47	80,76
<i>Artemisia campestris</i>	100	68,84	10,29	64,35	64,12
	200	84,46	55,4	87,65	87,85
<i>Artemisia judaica</i>	100	0,92	70,22	83,53	75,76
	200	38,15	84,85	89,71	87,41
<i>Warionia saharae</i>	100	60,76	60	82,94	82,71
	200	69,23	79,71	90	87,65
Contrôle	Diamètre de la colonie (mm)	$65 \pm 0,22$	$68 \pm 0,1$	$85 \pm 0,11$	$85 \pm 0,09$

L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* agit de façon active sur *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifer*, le pourcentage d'inhibition dépasse 75 % ceci est dû à la présence de composés majoritaires tel  $\alpha$  et  $\beta$ -thujone dont l'activité antifongique confirmé par une étude réalisée par **Pitarokili et al., (2003)**. L'importante activité de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* sur toutes les souches de moisissures et qui atteint parfois 87 % d'inhibition est du probablement à la présence de certains composés majoritaires comme  $\alpha$  pinène connu pour son activité antifongique. (**Martin et al., 2000**).

L'activité des huiles essentielles d'*Artemisia judaica* sur l'ensemble des souches testées est considérable sauf sur *Aspergillus flavus* qui se révèlent très résistantes même à une concentration élevée. L'huile essentielle de *Warionia saharae* est la plus efficace, les pourcentages d'inhibition des souches fongiques varient de 60 à 90 %. Cette efficacité est probablement du au composé majoritaire  $\beta$ -eudesmol dont l'activité antifongique est très élevée d'après **Maatooq et al., (1996)**



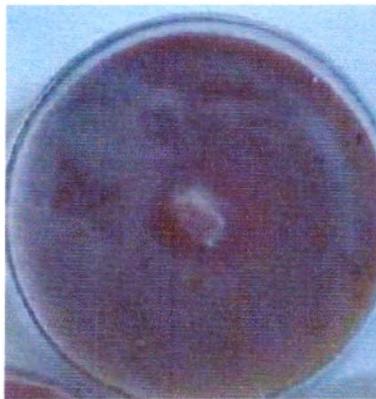
*Aspergillus niger*: Sans extrait



*Aspergillus niger*: Huile essentielle d'*Artemisia campestris* 100 µl



*Aspergillus niger*: Huile essentielle d'*Artemisia campestris* 200 µl.



*Aspergillus flavus*: Sans extraits



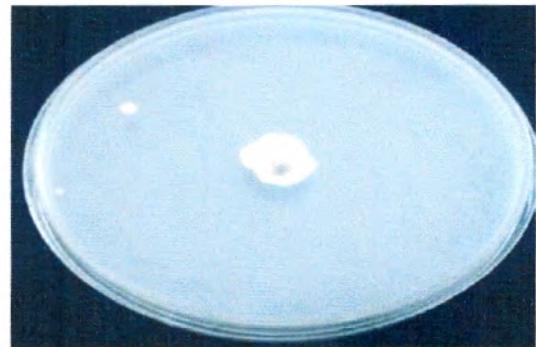
*Aspergillus niger*: HE d'*Artemisia campestris* 100 µl.



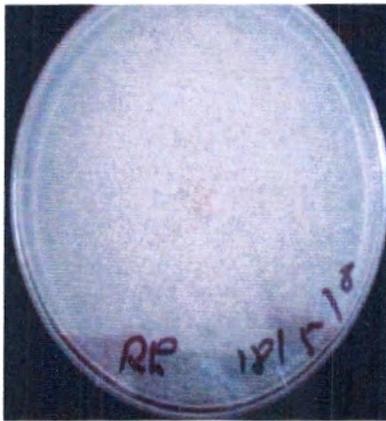
*Aspergillus flavus*: HE d'*Artemisia campestris* 200 µl.



Antifongigramme : *Fusarium oxysporum*: HE d'*Artemisia campestris* 100 µl.



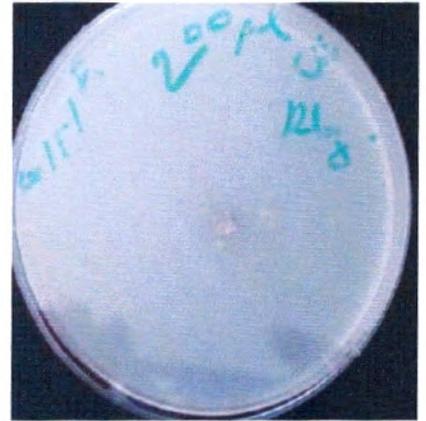
*Fusarium oxysporum*: HE d'*Artemisia campestris* 200 µl



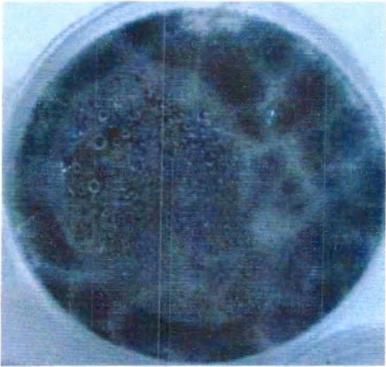
*Rhizopus stolonifer*:  
Sans extrait.



*Rhizopus stolonifer* HE  
d' *Artemisia judaica* 100 µl



*Rhizopus stolonifer* HE  
d' *Artemisia judaica* 200 µl



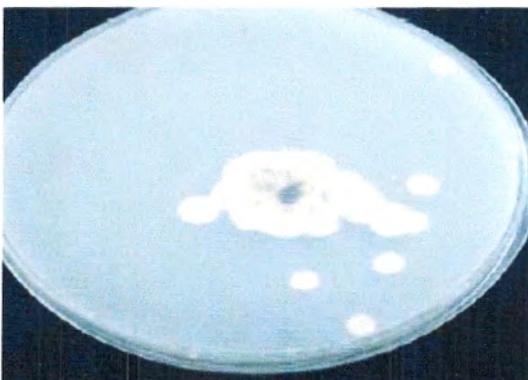
*Aspergillus niger*:  
Sans extrait



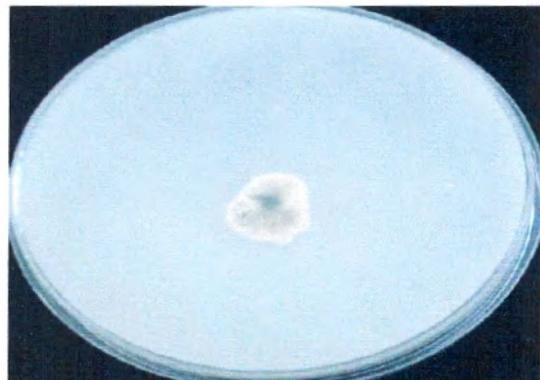
*Aspergillus niger* HE  
d' *Artemisia judaica* 100 µl



*Aspergillus nige* HE  
d' *Artemisia judaica* 200 µl



*Aspergillus niger* HE  
*Warionia saharae* 100 µl.

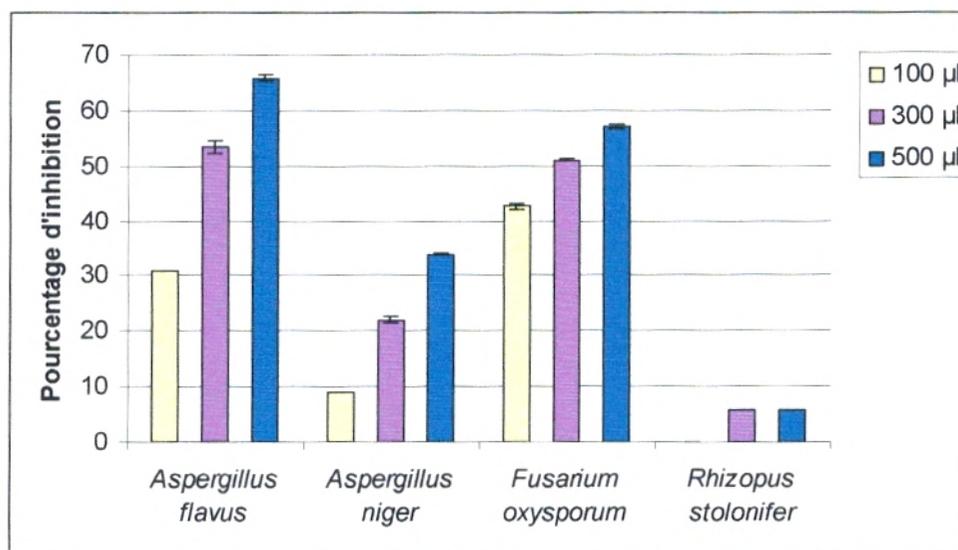


*Aspergillus niger* HE  
de *Warionia saharae* 200 µl.

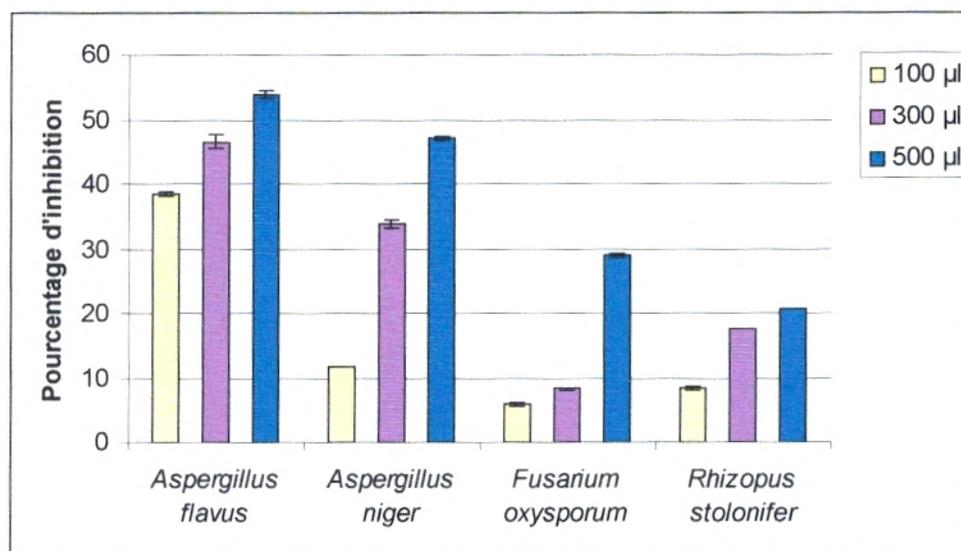
Photo 7 : Effet des huiles essentielles des différentes espèces sur les souches de moisissures  
Légende HE : huile essentielle.

### III.2.3 Etude du pouvoir antifongique des extraits flavoniques:

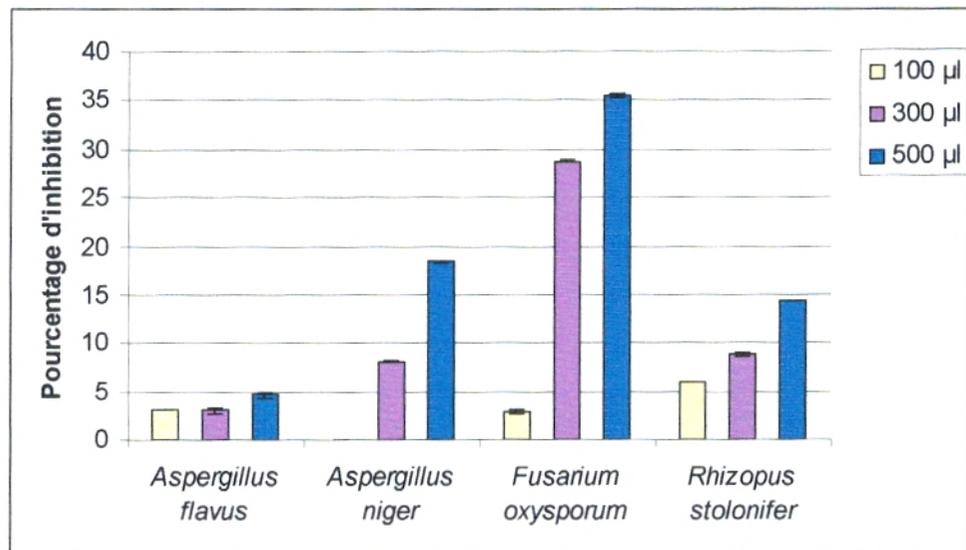
Les résultats de l'activité antifongique des extraits flavoniques des espèces *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica* sont exprimés dans la figure (27) (Annexe III.6)



Pourcentage d'inhibition des extraits de *Warionia saharae* (feuilles)



Pourcentage d'inhibition des extraits de *Warionia saharae* (fleurs).



Pourcentage d'inhibition des extraits de *Herniaria mauritanica*.

Figure 27 : Activité antifongique des extraits de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*.

Les résultats montrent que l'activité antifongique des extraits flavoniques de *Warionia saharae* et de *Herniaria mauritanica* est très faible, voir moyenne à des concentrations élevées. L'activité antifongique est adoptée surtout aux huiles essentielles qu'aux composés phénoliques. Il n'existe pas de travaux, portant sur l'activité antifongique sur ces deux plantes.

## Chapitre IV

### Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des extraits flavoniques des différentes plantes.

#### IV.1. Activité antioxydante des extraits flavoniques de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*

Les flavonoïdes sont des molécules connues pour leurs propriétés antioxydantes (**Robak, 1988**). Afin d'évaluer cette activité antioxydante des extraits naturels de nos plantes, deux méthodes ont été adoptées qui sont : la réduction du Fer, le piégeage du radical libre DPPH'.

##### IV.1.1. Réduction du Fer :

La capacité de la réduction basée sur la transformation du  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  en présence des extraits de végétaux de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica* est déterminée dans cette étude par la méthode d'**Oyaizu 1986 in Benhamou, 2006**. Les résultats sont exprimés dans le tableau (17, 18).

Tableau 17: Pouvoir réducteur en fonction des quantités d'extraits de *Warionia saharae*.

Légende : EB : extrait brut, EA : extrait de la phase acétate d'éthyle, EBU : extrait n-Butanol.

Concentration (mg/ml)	La densité optique $\lambda = 700$ nm					
	<i>Warionia saharae</i> (feuilles)			<i>Warionia saharae</i> (fleurs)		
	EB	EA	EBu	EB	EA	EBu
0.25	0,01±0.01	0,07±0,01	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,0	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,0
0.5	0,10±0,01	0,082±0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,11 ± 0,0	0,16 ± 0,0
0.75	0,15±0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,03	0,08 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,17 ± 0,01
1	0,26 ± 0,01	0,1 ± 0,06	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,31 ± 0,00
2	0,43 ± 0,02	0,20 ± 0,07	0,14 ± 0,01	0,11± 0,01	0,20 ± 0,07	0,44 ± 0,0
3	0,62 ± 0,08	0,20 ± 0,07	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,28 ± 0,06	0,95 ± 0,01
Pourcentage de réduction de fer (50%) à .0,5 mg	9,95	8,16	7,46	7,56	11,34	16,81

Tableau 18: Pouvoir réducteur en fonction des quantités d'extraits de *Herniaria mauritanica* et de l'acide ascorbique (contrôle positif).

Légende : EB : extrait brut, EA : extrait de la phase acétate d'éthyle, EBU : extrait n-Butanol.

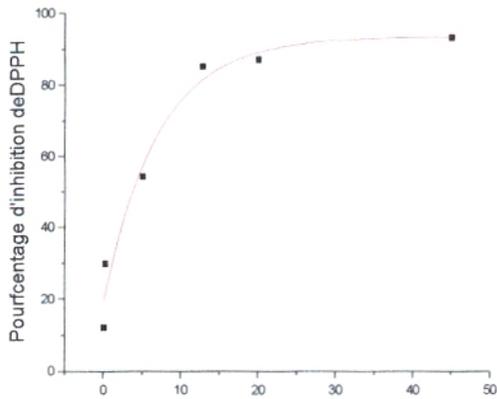
Concentration (mg/ml)	La densité optique $\lambda = 700 \text{ nm}$			Acide ascorbique
	<i>Herniaria mauritanica</i>			
	EB	EA	EBU	
0.25	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,13 ± 0,0	1 ± 0,00
0.5	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,16 ± 0,01	1,00 ± 0,02
0.75	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,32 ± 0,01	1,0 ± 0,025
1	0,08 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,52 ± 0,04	1,08 ± 0,02
2	0,10 ± 0,0	0,11 ± 0,00	0,69 ± 0,03	1,12 ± 0,04
Pourcentage de réduction de Fer (50%) à 0,5 mg	7,26	5,57	16,31	100

Afin de comparer le pouvoir réducteur de nos extraits à celle du contrôle, nous avons calculé le pourcentage de réduction de 50 % du Fer à une concentration de 0,5 mg/ml.

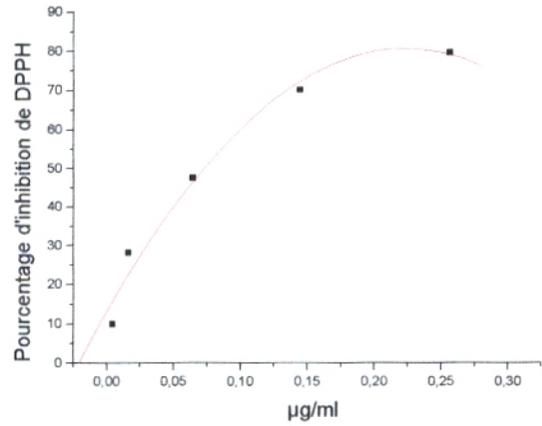
Nous constatons que le pouvoir réducteur des extraits montre une évolution en fonction de la concentration. Il ressort de ces données que les extraits des nos espèces présentent une capacité très faible par rapport à l'acide ascorbique.

#### IV.1.2. Piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) :

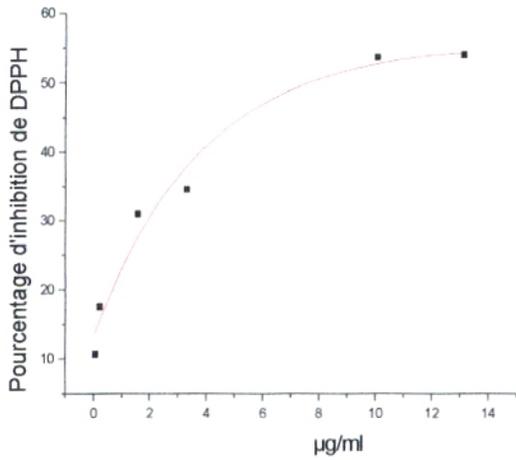
La technique utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits flavoniques, c'est la réduction du radical libre DPPH<sup>•</sup> utilisée par **Dong Sung Lee et al., (2001)**. Cette réduction s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution, mesurable à  $\lambda = 515 \text{ nm}$ . Les résultats sont donnés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH<sup>•</sup> dans la figure (28).et dans l'annexe IV.1 et l'annexe IV.2.



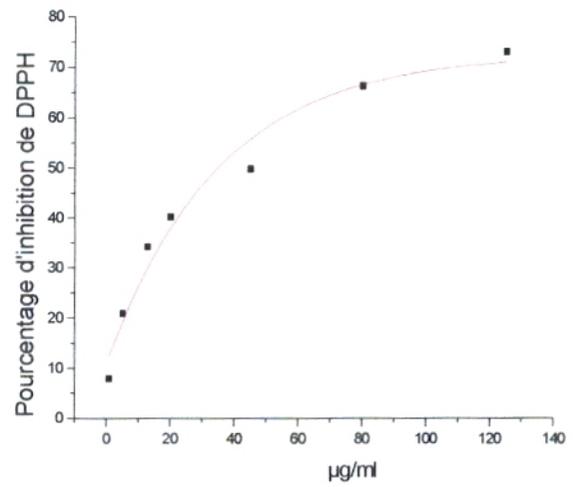
*Warionia saharae* (feuilles)  
(Extrait brut)



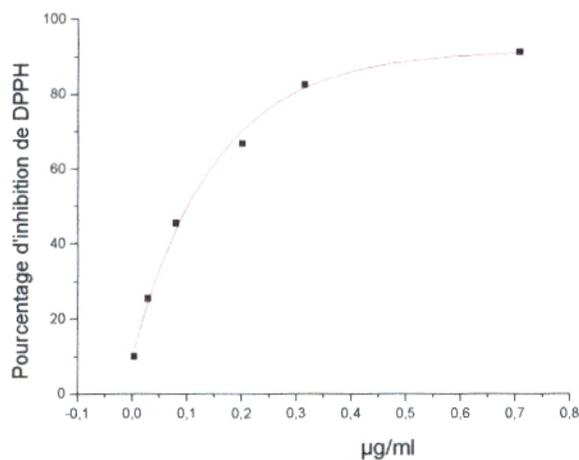
*Warionia saharae* (feuilles).  
( La phase Acétate d'éthyle)



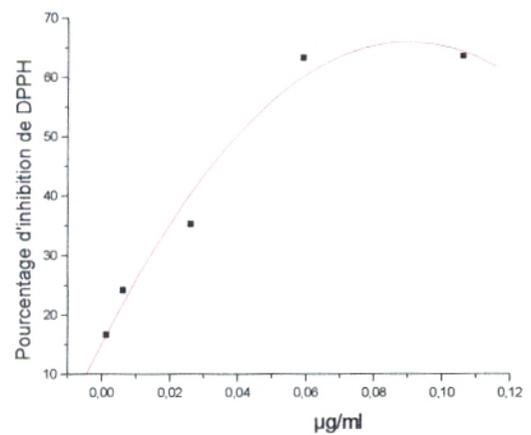
*Warionia saharae* (feuilles).  
(La phase n-butanol )



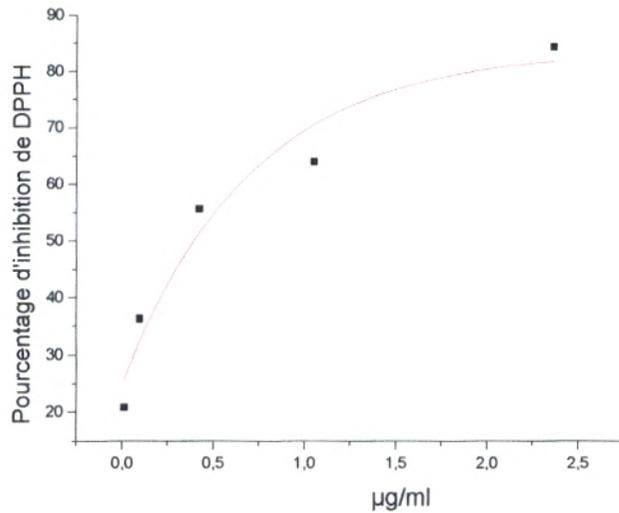
*Warionia saharae* (fleurs).  
(L'extrait brut)



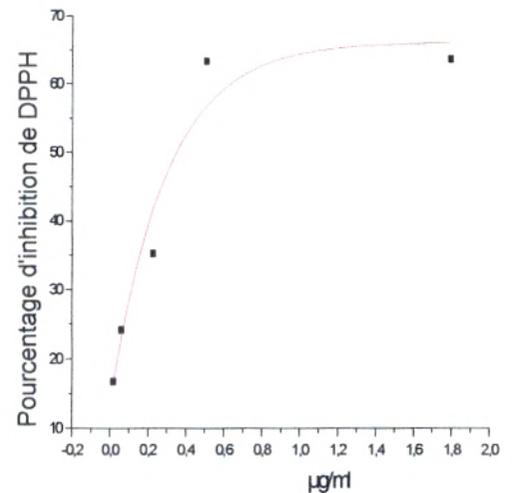
*Warionia saharae* (fleurs).  
(La phase Acétate d'éthyle)



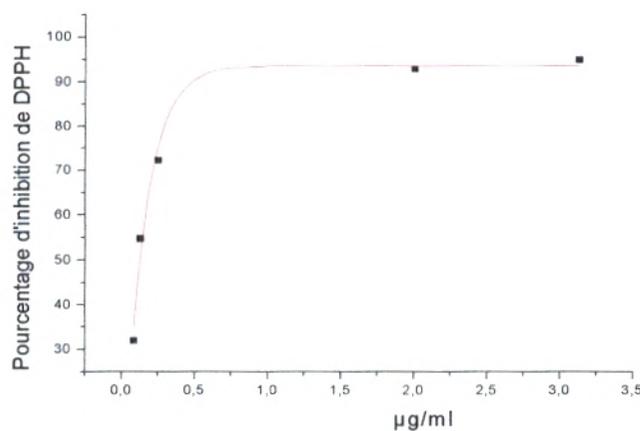
*Warionia saharae* (fleurs).  
(La phase n-butanol )



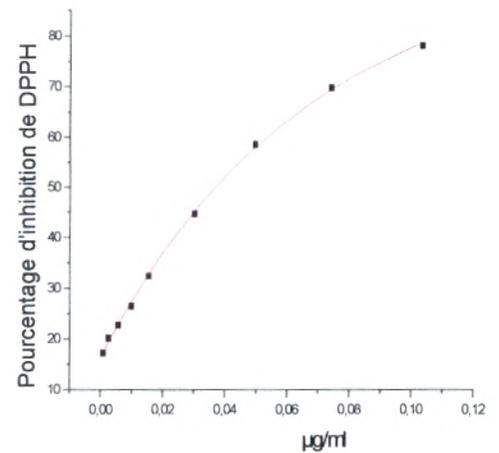
*Herniaria mauritanica*  
(L'extrait brut)



*Herniaria mauritanica*.  
(La phase Acétate d'éthyle)



*Herniaria mauritanica*.  
(La phase n-butanol)



L'acide Ascorbique.

Figure 28: Pouvoir antioxydant des extraits falvoniques de *Warionia saharae*, *Herniaria mauritanica* et l'acide ascorbique.

Nous constatons que l'acide ascorbique révèle un pourcentage d'inhibition élevée de 88 % à la concentration 0,13 µg/ml. L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en EC50 (tableau 19) et (Figure 29). Ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte 50% de l'activité de DPPH<sup>\*</sup> (Molyneux, 2004). Ces EC50 sont déterminés graphiquement des trois tests séparés dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait naturel et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. La valeur de chaque EC50 exprime la concentration de l'extrait

flavonique exigée pour réduire le DPPH en solution de 50%. L'ARP présente la puissance anti radicalaire, c'est l'inverse d'EC50.

Tableau 19: Puissance anti radicalaire des extraits flavoniques et de l'acide ascorbique

	Extrait naturel		EC50 (µg/ml)	ARP
<i>Warionia saharæ</i>	Feuilles	Extrait bruts	3,51 ± 0.04	0.28 ± 0.04
		Extrait acétate	0,07 ± 0.01	14,08 ± 0.50
		Extrait n-butanol	7,48 ± 0.02	0,13 ± 0.03
	Fleurs	Extrait brut	0,10 ± 0.1	9,8 ± 0.10
		Extrait acétate	0,04 ± 0.01	25 ± 0.60
		Extrait n-butanol	0,40 ± 0.02	2,48 ± 0.11
<i>Herniaria mauritanica</i>	Feuilles	Extrait bruts	0,34 ± 0.01	2,91 ± 0.15
		Extrait acétate	0,34 ± 0.01	2.91 ± 0.60
		Extrait n-butanol	0,11 ± 0.05	8,77 ± 0.80
Acide ascorbique			0,034 ± 0.00	29.41 ± 0.00

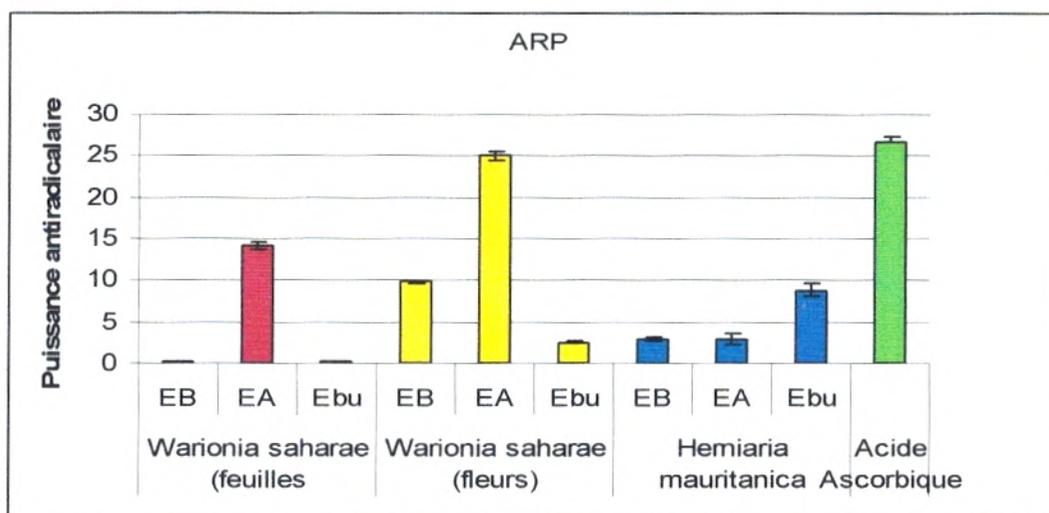


Figure 29 : Puissance anti radicalaire des extraits flavoniques et de l'acide ascorbique.

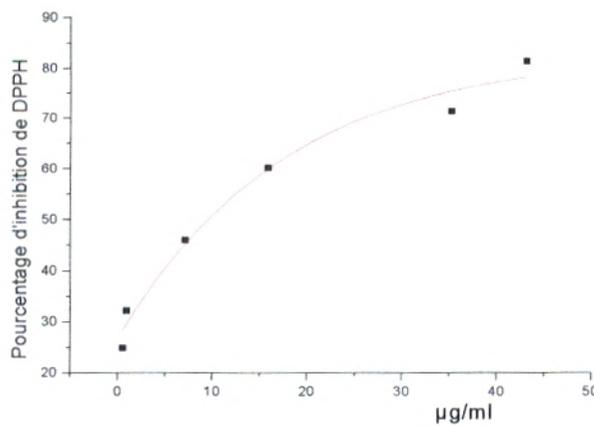
Légende : EB : Extrait brut, EA : Extrait de la phase acétate, Ebu : Extrait n-butanol, A asc : acide ascorbique.

Nous remarquons d'après la figure (29) que la puissance anti radicalaire de l'extrait de la phase acétate de *Warionia saharæ* (Fleurs) est comparable à celle de l'acide ascorbique Les extraits de *Herniaria mauritanica* sont moins anti radicalaires.

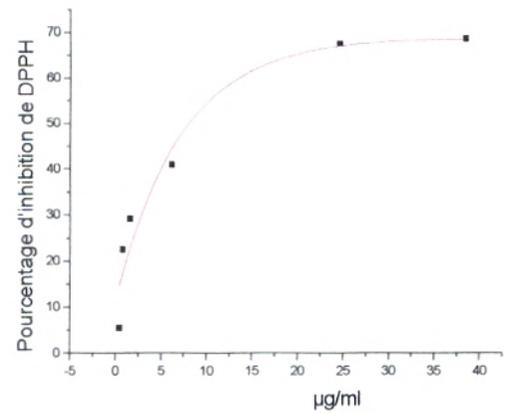
Nous pouvons expliquer la puissance anti radicalaire élevée de l'extrait de la phase acétate de *Warionia saharae* par la présence de la quercétine et le pyrocathécol qu'on a pu identifier par la CCM. La quercétine et le pyrocathécol sont des flavonoïdes qui possèdent des bonnes activités antioxydantes ; ceci a été vérifié par plusieurs auteurs (**Roback et Gryglewski, 1988; Cuvelier et al., 1992**).

**IV.2. Activité antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica* et *Warionia saharae* :**

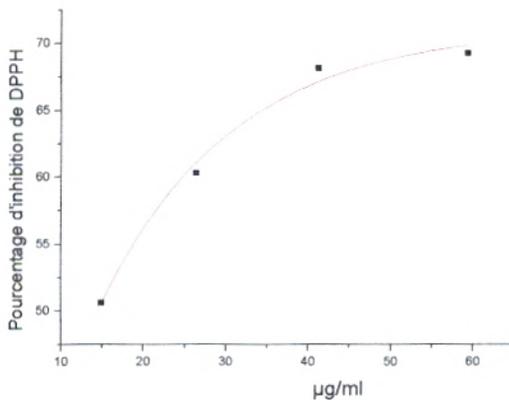
L'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de nos échantillons se fait par la réduction du radical libre DPPH<sup>•</sup> par la méthode de **Tepe et al 1996**. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition dans la figure (30) (Annexe IV.3). L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.



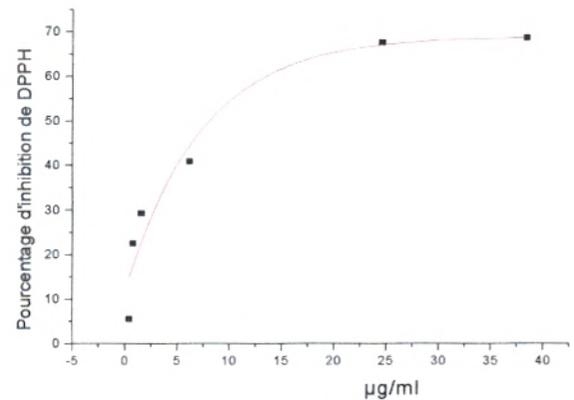
*Artemisia herba alba*



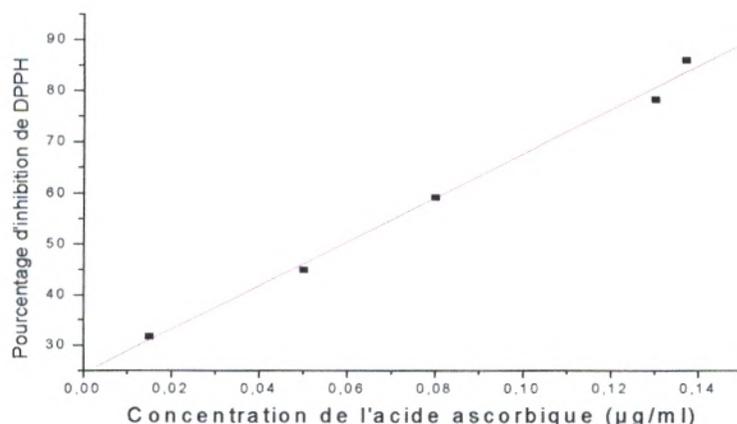
*Artemisia campestris.*



*Artemisia judaica*



*Warionia saharae.*



L'acide ascorbique.

Figure 30 : Activité antioxydante des huiles essentielles et de l'acide ascorbique.

$$(R^2 = 0,99, A = 43.1, B = 24.52)$$

Afin de comparer l'activité antioxydante des huiles essentielles, nous calculons la puissance anti radicalaire (ARP) dont les résultats sont présentés dans le tableau (20).

Tableau 20: Puissance anti radicalaire des huiles essentielles et de l'acide ascorbique.

Huile essentielle de	EC50 (µg/ml)	ARP
<i>Artemisia herba alba</i>	9,11	0,109
<i>Artemisia campestris</i>	8,007	0,124
<i>Artemisia judaica</i>	14,077	0,07
<i>Warionia saharae</i>	50,03	0,02
Acide ascorbique	0,058	17,241

Les huiles essentielles présentent une capacité de réduction du radical libre (Figure 30), les concentrations requises pour la neutralisation de 50 % de la concentration du DPPH<sup>\*</sup> s'échelonnent entre 0.02 et 59.3µg/ml. La capacité antioxydante des quatre huiles essentielles est dans l'ordre :

*Artemisia campestris* > *Artemisia herba alba* > *Artemisia judaica* > *Warionia saharae*.

Nous remarquons que la puissance anti radicalaire de l'acide ascorbique est supérieure à celle des huiles essentielles de nos échantillons. L'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* de notre région (Naama) est faible par rapport à celle trouvée au Maroc par **Bekkali et al., 2005**. Nous avons révélé la même activité antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia*

*judaica* à celle trouvée en Egypte. (El-Massry *et al.*, 2002).

L'activité antioxydante est liée aux composés phénoliques. En effet l'étude comparative sur la capacité de réduction du DPPH<sup>\*</sup> par des produits différents a prouvé que les composés phénoliques montrent des capacités antioxydantes supérieures au non phénoliques (Jukié *et al.*, 2005).

#### IV. Test antioxydant des extraits flavoniques et des huiles essentielles de *Warionia saharae* par la méthode d'autobiographie :

L'activité antioxydante des extraits naturels a été évaluée sur couche mince par le DPPH<sup>\*</sup> (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) en suivant un protocole adapté de Takao *et al.*, 1994. Les résultats sont exprimés dans le tableau (21) et la figure (31).

La recherche de l'activité antioxydante par bio autographie révèle qu'une activité anti-radicalaire est présente dans l'extrait naturel des feuilles et l'huile essentielle de *Warionia saharae*.

Tableau 21: Résultats de l'activité anti-radicalaire par la méthode bio autographique.  
nd. = non déterminé

Extraits	DPPH	$\beta$ -Carotène
Extrait brut	+	nd
Huile essentielle	+	+

L'extrait brut des feuilles présente une bande active, de Rf = 0,5 dans le système de solvant Acétate d'éthyle : acide formique : acide acétique : eau (100 :11 :11 :26).

L'huile essentielle présente une bande très active de Rf = 0,9 dans le même système.

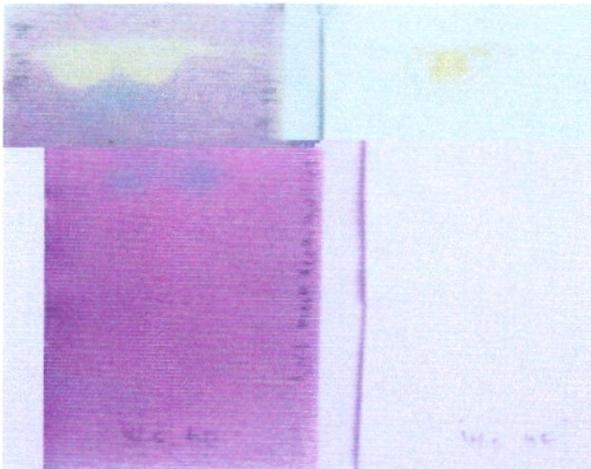


Figure 31 : Résultat du test bio autographique de mise en évidence de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Warionia saharae* par blanchiment du DPPH<sup>•</sup> (à gauche) et par  $\beta$ -carotène (à droite).

# CONCLUSION

Les plantes restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale, en particulier dans les pays en voie de développement. Environ 40 % des médicaments sont ainsi dérivés de la nature (Newman et Cragg, 2007). La nouvelle démarche consiste à s'intéresser à la recherche d'un principe actif dans les produits naturels d'origine végétal, plus particulièrement les métabolites secondaires à savoir les huiles essentielles et les flavonoïdes, issus de plantes médicinales qui sont utilisées depuis longtemps pour traiter des maladies et améliorer la santé.

Le présent travail pourtant sur deux axes dont le premier concerne les huiles essentielles. La quantification des huiles essentielles chez les espèces *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica* et *Warionia saharae*, nous a permis de conclure que :

Ces différentes plantes renferment des teneurs variables d'huile essentielle qui varie de 0.50 % chez *Warionia saharae* à 0.20 % pour *Artemisia herba alba*. Ces variations sont étroitement liées à la période de la récolte et à la méthode d'extraction.

L'analyse phytochimique effectuée par la CPG et la RMN <sup>13</sup>C sur les huiles essentielles de *Warionia saharae* et *Artemisia judaica* a permis de mettre en évidence :

Le composant majoritaire, le Camphre (20,2 %) suivi par Borneol (8,8 %), Cineole (7,9 %), Davanone (7,6 %) et  $\alpha$ -terpinyl ac (5,4 %), pour *Artemisia judaica*.

Pour *Warionia saharae*, le composant majoritaire est le  $\beta$ -eudesmol (34.6%), suivi par (E)-nérolidol (25,7%), Linalol (14,6%), Geraniol (2.9 %),  $\alpha$ -eudesmol (1,4 %).

Après la détermination de la composition chimique de certaines huiles essentielles, nous avons étudié le pouvoir antibactérien et antifongique de ces produits naturels sur les souches bactériennes de références. Les différentes souches réagissent à la même manière à l'ensemble des huiles essentielles. Ces substances sont actives sur la majorité des bactéries. Cependant, elles sont moins actives sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Rhizopus stolonifer*. L'efficacité des huiles essentielles contre les bactéries leur confère un intérêt certain en tant qu'agents antimicrobiens dans plusieurs domaines tel que le milieu hospitalier et dans le domaine agroalimentaire.

Dans le deuxième axe de flavonoïdes, le rendement des composés phénoliques est considérable dans *Warionia saharae* (3.14 %) par rapport à *Herniaria mauritanica* (0.92 %). L'analyse par CCM, nous a permis d'identifier dans *Herniaria mauritanica*, deux acides phénoliques qui sont l'acide gallique et l'acide para-coumarique, un phénol qui est le pyrocathécol, un flavanol qui est la catéchine. Nous avons identifié dans *Warionia saharae*, le pyrocathécol, la quercétine, la catéchine et un acide phénol qui est l'acide gallique.

Cependant l'activité antibactérienne et antifongique des extraits des deux espèces est moins active.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres. Nous remarquons que l'activité antioxydante du piégeage du DPPH de l'extrait d'acétate d'éthyle de feuilles (ARP = 14.08) et de fleurs (ARP = 25) de *Warionia saharae* est comparable à celle de l'acide ascorbique (ARP = 29.41).

Dans notre étude nous nous sommes intéressés aux analyses des huiles essentielles par CPG et RMN  $^{13}\text{C}$ , aux composés flavoniques par CCM et CLHP et aussi aux tests antimicrobiens et antioxydants de tous extraits *in vitro*.

Les études futures devront dans un premier temps compléter l'identification des composés des huiles essentielles et des composés flavoniques des ces plantes et dans un 2<sup>ème</sup> temps faire le fractionnement de ces extraits ; ainsi il faut choisir la fraction qui aura un pouvoir antibactérien et antioxydant considérable. Ensuite faire des tests *in vivo*, afin de déterminer de nouveaux agents thérapeutiques.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdalla, S.S., Abu-Zagra., M.H., 1987.** Effects of cirsimaritin, a flavone isolated from *Artemisia judaica*, on isolate guinea-pig ileum. *Planta Med.* 53, 322–324.
- Abdelgaleil S. (2007).** Bioactivity of two major constituents isolated from essential oil of *Artemisia judaica*. 10.1016/j.biotech..10.043.
- Akrout A., Chemli R., Chreïf I., Hammani M. (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L *Flavour and fragrance Journal* 16: 337-339.
- Akrout A., Neffati M., Chemli R., Aouni M., Jerraya R., Dammak M., Dar A. (2007).** Composition chimique et activité biologiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. *Revue des régions arides.* pp 231-240.
- Al-Gaby A., Allam R. (2000).** Analyse chimique, activité antimicrobienne, et les huiles essentielles de certaines herbes sauvages en Egypte *Journal d'herbes, d'épices et les plantes médicinales* vol. 7, n°1, pp. 15-23.
- Anto, R. J., Sukumaran, K., Kuttan, G., Rao, M. N., Subbaraju, V., Kuttan, R.(1995).** Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. *Cancer Lett* 97, 33-37.
- Anton R et Witchel M (1999).** *Plantes thérapeutiques : traditions pratiques officinales, sciences et thérapeutique*, 3<sup>ème</sup> édition, Ed. Françaises Strasbourg
- Atmani F., Slimani Y., Mimouni M., Aziz M (2004)..** Effect of aqueous extract from *Herniaria hirsuta* L. on experimentally nephrolithiasic rats. *J Ethnopharmacol*, 95:87-93
- Atwel R. (2003).** In vitro antimicrobial activity Assesment of zymox otic solution. Againt a broad range of microbial organisms. *Int. J. Res. Veterinary Medicine. Rancho Dominiguez .California.*
- Avissar N., Whitin J.C., Allen P.Z (1989).** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.* , 2 : 15850-15855.

- Bach T. J., Weber T., Motel A. (1990).** Some properties of enzymes involved in the biosynthesis and metabolism of hydroxy-methylglutaryl-CoA in plants. in Towers (G.H.N.) & Stafford (H.A.) Biochemistry of the Mevalonic Acid Pathway to Terpenoids, New York, Plenum Press, pp. 1-8.
- Bachelot C., Blaise A., Corbel T. (2006)** Le Guernic, A. U.C.O Bretagne Nord .
- Baudoux D. (2001).** Aromathérapie se soigner par les huiles essentielles .2ème éd. Atlantica pp 25-26-35-36
- Bekkali, F., Averbek D., Idaomar M. (2006).** Balance anti et pro-oxydante en relation avec l'activité antimutagène de trois huiles essentielles. UMR2027 CNRS, 91405 Orsay.
- Bekkara, F ; Tay, M ; Viricel, MR et al.** Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba*. CVS differing in their seed tannin content; and study of their seed, and root phenolic exudation [J] Plant soil; 2003: 27-36. 1998
- Belaiche P (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. ED Maloine, Paris.
- Benhamou N. (2006)** Etude antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des composés phénoliques de *Pistacia lentiscus*, *Pistacia atlantica* et *Inula viscosa* de la région de Tlemcen. Mémoire de magister. 82-84.
- Benhamou N., Bekkara F. A., Panovska T. K. (2008).** Antioxydant and antimicrobial activities of the *Pistachia lentiscus* and *Pistachia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 2(2). pp. 022-028,
- Béniston Ws. Nt. (1984)** Fleurs d'Algérie. Ed. Entreprise Nationale du livre.
- Benjlali B., Sarris J., Richard H (1982).** New chemotypes of *Artemisia herba alba*. Sci Aliments, 2, 515-527 (1982)

- Bouraoui N., Lafi B. (2003).** Plantes médicinales dans les traitements traditionnels (fréquence d'utilisation, formes de préparation et pathologies traitées). Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine, Ecole supérieure des sciences et techniques de la santé, Tunis
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris. France : Lavoisier. 278-279.
- Bruneton, J (1999).** Pharmacognosie, phytochimie ; plantes médicinales. 3ème édition. Paris : Editions médicales, Int. édition Tec et Doc Lavoisier, 1120 p.
- Buchbauer G., Jirovetz L. (1994)** Aromatherapy- Use of fragrances and essential oils as medicaments. *Flavour and Fragrance J.*, 9: 217-222.
- Burt S.A., and Reinders R.D.,** Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* 0157: H7 *Letters in Applied Microbiology.* 2003.36.162-167.
- Burton G.W (1984).** Ingold K.U. 13-carotene an unusual type of lipid antioxydant. *Sciences,* 224: 569-573.
- Cakir, A., Mavi, A., Yildirim, A., Duru, M. E., Harmandar, M., Kazaz, C. (2003).** Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology,* 87, 73–83.
- Carée P. (1953).** Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Ed. Ballière JB. Et fils.
- Chamí N., hamí F., Bennis S., Trouillas J., Remmaí A.,(2004).** Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats . *Brazilian J Infections Disease,* 8: 217-226
- Charchari A, Dahoun F, Benslimani A, (1996).** Antimicrobial activity in vitro of essential oil of *Artemisia herba alba* Asso and *Artemisia judaica* L from Algeria *Riv .Itl. EPPOS,* 18,3-6.

- Chang J. D., Park H. (2004).** *Antimalarial Activity of Lavandulyl Flavanones Isolated from the Roots of Sophora flavescens.* Biological & Pharmaceutical Bulletin 27, 748-750.
- Chang S.T., Chen P. F., Chang S. C. (2001).** Antimicrobial activity of leaf essential oil and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. J. Ethnopharmacology, 77: 123-127.
- Cheriti A., Sekkoum K. (1996).** Flavonoids from *Herniaria mauritanica* Indian journal of pharmaceutical sciences. Volume 58, issue 3, page 203-204.
- Cimanga K., Kambu K., Tona L., Apers S., De Bruyne T., Hermans N., Totté J., Pieters L., Vlietinck A. J. (2002).** Correlation between chemical and antimicrobial activity of essential oil of some aromatic medicinal plants in the Democratic republic of Congo. J of Ethno. 79: 229-233.
- Cox S D., Mann C. M., Markham J.L., Bell H. C., Gustafson J. E., Warmington J.R., Wyllie S. G. (2000).** The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alterniflora* (tea tree oil). J of Applied Microbiology, 88. 170-175.
- Cuvelier M-E., Berset C., Richard H. (1990).** Use of a new test for determining comparative antioxidant activity of BHA, BHT,  $\alpha$ - and  $\beta$ -tocopherols and extracts from rosemary and sage. Sci. Aliments. 10, 797-806
- Daferera D. J., Ziogas B. N., Poulissiou M. G. (2003).** The effectiveness of plant essential oil on the growth of *Botrytis Cinera*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* Crop protection 22: 39-44.
- De Billerbeck V G (2000)** Activité fongique de l'huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* sur *Aspergillus niger*/ Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet des substances volatiles en phase vapeur. Faculté des sciences pharmaceutiques, institut national polytechnique de Toulouse, pp 236.

- De Billerbeck V G (2002).** Essais d'utilisation d'huiles essentielles en traitement de l'air, les contaminants biologiques des biens culturels. Museum National d'histoire naturelle et éd . Scientifiques et médicales, pp 345-358.
- Deng S., Brett J., Jarakae C. (2008).** Simultaneous characterization and quantitation of flavonol glycosides and aglycones in noni leaves using a validated HPLC-UV/MS method. Food chemistry doi: 10.1016/j.foodchem.2008.04.021.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stoker., Vidal N. (2005).** Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food chemistry 97 p 654-660
- Dob T., Chelghoume C. (2006).** Chemical composition of the essential oil of *Artemisia judaica* L. from Algeria. Flavour and fragrance journal, vol. 21, n°2, pp. 343-347.
- Dob T., Benabdelkader T.(2006).** Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. The Journal of essential oil research, vol.18, n°6, pp. 685-690.
- Don-sun L., Nam-Soon K., Sang-Han L. (2001).** 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate, a stable Free radical, IS an  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitor, J biological and pharmaceutical bulletin; Volume 24; n°6; pp 727-728.
- Dupont F,2004.** Botanique – Systématique Moléculaire . Ed Masson. 110-125.
- El-Massry K., El-Ghorab A., Farouk A., (2002).** Antioxidant activity and volatile components of Egyptian *Artemisia judaica* L. Vol 79, n°3, pp, 331-336.
- Essaqui A., Elamrani A., Cayuela J., Benaïssa M. (2007).** Composition of essential oil of *Warionia saharae* from Morocco. J. of essential oil Bearing N°3. Vol 10 PP 10-14.
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115.

- Ferchichi L., Merza j., Landreau A., Marie Le Ray A., Legseir B., Richomme P. (2006).** Occurrence of iso coumarinic and phenol derivatives in *Artemisia campestris* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 34 (2006) 829-832.
- Feuerstein I., M'uller D., Hobert., K., Danin A., Segal R. (1986).** The constituents of essential oils from *Artemisia herba alba* population of Israel and Sinai. *Phytochemistry* 25, 2343–2347.
- Fleisher Z., Fleisher A., Nachbar R. (2002).** Chemovariation d'*Artemisia herba-alba* Asso. plantes aromatiques de la terre Sainte et le Sinaï. Partie XVI. *J. Essent. Oil Res.*, 14, 156-160.
- Francis Joannès (2001).** Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. *Ed Robert Laffont.*
- Friedman J., Yanis Z., Dafni A., Palewitch D., (1986).** A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev desert, Israel. *J Ethno.. Jun; 16(2-3):275-87.*
- Fulbert J. C., Cals M.-J. (1992).** Les Radicaux libres en biologie clinique. *Pathol. Biol.*, 49(1), 66- 77, 1992.
- Gerhard R (1993).** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Edition Française. Presses polytechnique et universitaire ramandes.
- Go M., Wu X., Liu X. L., (2005).** *Chalcones: An Update on Cytotoxic and Chemoprotective Properties.* *Current Medicinal Chemistry* 12, 483-499.
- Goven K. C. (1963).** avec des enquêtes de l'espèce *Artemisia turc: II-Artemisia campestris* L. *Folia Pharmaceutica*, 5, 386-390 (1963).
- Hadi A Milane., Genviève U., Thierry F. (2004).** Isolation of quercetin's salts and studies of their physicochemical properties and antioxidant relationships. *Journal Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Volume 12, Issue 13, p 3627-3635.

- Hanato T., Edamatsu R., Hiramatsu R., Mori A., (1989), Fugita Y., Yasuhara T. (1989).** Effect of the interaction of tannin with co-existing substances VI. Effect of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical. Chem Pharm. Bull. 37, 2016-2021.
- Harborne, J. B. (1993).** The flavonoids: advances in research since 1986. Chapman&Hall/CRC, London.
- Harborne J. B., Williams C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry, Vol 55, N° 6, pp 481-504.
- Heimer N., Idrissi H., Seghini M. (2004).** Les polyphénols de *Pyrus mamorensis* (Rustaceae) Reviews in biology and biotechnologie .vol.3 N°1, p 37-42.
- Houmani Z., Skoula M. (2007).** Comparaison des profils chimiques des huiles essentielles d'espèces d'Artemisia spontanées en Algérie Revue des régions arides, pp. 608-611.
- Hostettman K., Marston A. (2002).** Twenty years of research into medicinal plants: Results and perspectives. Phytochemistry Reviews 1:275-285.
- Hudaib m, Aburjai, Talal A** Journal of Essential Oil Research: JEOR, May/June 2006  
Composition of the Essential Oil from Artemisia herba-alba Grown in Jordan Jan-Feb, v. 18, no.1p.97-99
- Iscan G., Kirimer N., Kurkcuoglu M., Baser K. H. C., Demiri F. (2002).** Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oil .J. Agricultural and Food Chemistry, 50: 3943-3946
- Jacob M., Pellecuer J., Tomei R. (1979).** Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. Rivista Italiana EPPOS, P. 26-30.

**Jerraya R., Dammak M., Dar A. (2007).** Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L, pp. 231-240.

**Joulain D., König W. A. (1998).** The Atlas of spectral Data of sesquiterpene hydrocarbons E. B.-Verlag; Hamburg.

**Jukić M., Miloš M. (2005). (1978).** Catalytic Oxidation and Antioxidant Properties of Thyme Essential Oils (*Thymus vulgaris* L.). Croatica Chemica Acta. pp 105-110.

**Kahkomen M. P., Hopia A., Vuorela H. J., Heinonen M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. J. Agric chen, 47;3954-3962.

**Karaman S., Digrak M., Ravid U., Heim A (2001).** Antibacterial and antifungal activity of the essential oil of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. J. of Ethno, 47: 997-1001.

**Khaled F., El-Massry A., El-Ghorab A., Farouk A. (2002).** Antioxidant activity and volatile components of Egyptian *Artemisia judaica* L Food Chemistry, Volume 79, Issue3 p331-336.

**Kim J ; Marchall M M. R., Vei C. (1995)** Antibacterial activity of some E oil components against five foodborne. J. of Agricultural and food chemistry, 43; 2839-2845.

**Kim, Y. C., Kim H. S., Wataya Y., Sohn D. H., Kang T. H., Kim M. S., Kim Y. M., Lee G. M.,**

**Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H., Weis N.( 1989).** Antimicrobial and antifungal properties of essential oils components. J of essential oil Research, 4: 189-190.

**Kofujita H., Yaguchi M., Doi N., Suzuki K. (2004).** A novel cytotoxic prenylated flavonoid from the root of *Morus alba*. Journal of Insect Biotechnology and Sericology 73, 113-116.

**Le Floch E. (1989).** Biologie et écologie des principaux taxons dans " Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne: I. Eléments de botanique et de phyto-écologie". 193 p.

- Maatooq G. T., Hoffman J. J. (1996).** Fungistatic sesquiterpenoids from *Parthenium*. *Phytochemistry*, vol 43, N°1, pp. 67-69.
- Mahadevan (1982).** Biochemical aspects of plant disease resistance . Part I: Performed inhibitory substances. Today and Tomorrow Printers and Publisher, New Delhi, India, pp 425-431.
- Marco J., Barbera O. (1990).** Natural products from the genus *Artemisia*. In: X Atta-ur-Rahman. , editor. *Studies in Natural Products. 7A*. Amsterdam, Elsevier.
- Markham K. R. (1982).** *Technic of flavonoids identification Biological techni series.*
- Marrif H. I., Ali B. H., Hassan K. M. (1995).** Some pharmacological studies on *Artemisia herba-alba* (Asso) in rabbits and mice. *Journal of Ethnopharmacology* 49, 51-55.
- Martin A. R., Salgueiro L. R., Goncalves M. J., Vila R., Tomi F., Adzet T., Casanova J. (2000).** Activity and chemical composition of the bark oil of *Croton stellulifer* *PlantaMedica*, 66(7), 647-650.
- Mejholm O., Dalgaard P.(2002).** Antimicrobial effects of essential oils on the seafood spoilage microorganism *Photobacterim phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 34;27-31.
- Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26 (2), 211-219.
- Muriel V., Nicolas B., Dominique R., Félix T., Casanova J.(2005).**  $\beta$ -cyclolavandulyl and  $\beta$ -isocyclolavandulyl esters from *Peucedanum paniculatum* L., an endemic species to Corsica. *Phytochemistry* 66: 1956-1962
- Nabli M A, (1989).** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis) ; 186-188 p.

- Neffati, (2002).** Allelochimique comportement d'*Artemisia campestris* L. dans les parcours de la Djeffara tunisienne. Mémoire de fin d'étude. INAT éditions, pp 100-109., Tunis, Tunisie
- Newman D. J., Cragg G. M., Snader K. M. (2000).** Natural Prod. Rep. 17 (2000) 175-285.
- Ngassapa O., Runyoro D. k. b., Harvala E., Chinou I. B. (2003).** Composition and antimicrobial activity of essential oil of two populations of Tanzanian *Lippia javanica* (Burn, F) Spereng (Verbenacea). Flavour and Fragrance I., 18: 221-224.
- Nowakowska Z. (2002).** Electron ionization induced fragmentation of 4-hydroxychalcone derivatives. Rapid Communications in Mass Spectrometry 16, 634-637.
- Nysten P. H. (1814)** Dictionnaire de médecine, et des sciences accessoires à la médecine. Publié par J.A. Brosson, Univ. Lausanne.
- Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M (2007).**Inhibitory effet of selected plant essential oil on the growth of four pathogeninc bacteria: E coli 0157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocitogenes*. Food Control, 18: 414-420.
- Oyaizu M (1986).** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jpn. J. Nutr. 44: 307-315
- Pannizzi L., Flamini G., Cioni P., Morelli I. (1993).** Composition and antimicrobial properties of essential oil of four Mediterranean Lamiaceae. J. of Ethnopharmacology, 39:167-170.
- Pibirí M. C., Seignézié C. (2001).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles et leurs effets sur le bien être des occupants. CISBAT, Lausanne, LESO, EPFL.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J. O. (1999)** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. Vaisseaux, Coeur, Poumon. 4 (5).

- Pitarokili D., Tzakou O., Loukis A., Harvala C. (2003).** Métabolites volatils à partir de *Salvia frucicosa* comme agents antifongiques dans soilborne agents pathogènes. J. de l'agriculture et de chimie des aliments. Vol.51 n° 11, pp 3294-3301.
- Pottier G. (1981).** *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones–gamopétales, 1012 p
- Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Ed. CNRS. Paris.
- Ramaut J. L., Hofinger M., Dimbi R. (1985).** Corvisier M. Main constituents of the essential oil of *Warionia saharae* Benth and coss. *Chromatographis* Vol. 20. N° 3, pp 66-69.
- Robak J., Gryglewski R. J. (1988).** Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical pharmacology*, vol 37, n°5, pp. 837-841
- Roberto Lo Scalzo (2008)** organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid *Food chemistry* 107, 40-43.
- Ronald M. E. (2005).** Highlights of HPLC 2005. *LC GC North America* vol. 23 n° 9 pp.988-1007.
- Rossi P. G. (2003).** Caractérisation et valorisation des produits issus de la biomasse : activité biologique des huiles essentielles. Université de Corse, pž.
- Sagdac O. (2003).** Sensitivity of four pathogenic bacteria to turkish. Thyme and oregano hydrosols. *Lebensm.-Wiss. U. Technol.*, 36:467-473.
- Salah S. M., J'ager A. K. (2005).** Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *Journal of Ethnopharmacology* 97, 145–149.
- Shahidi F., Wanasundara D., Hong C. (1992)** In phenolic compounds in foods and their effects on Health. American Chemical Society, Washington, DC. Pp 214-222.

**Shirley B. W. (1996).** Flavonoid biosynthesis : a new function for an old pathway. Trends in plant science 1, 377-382.

**Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue Y., Guolin Z. (2005).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Chrysanthemum indium*. J. of Ethno96: 151-158.

**Silvestre DJA.,** AMS S., Almeida L., CCL Pereira et JAS C. (1999). L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. ssp. *maritime*. Acta Hort, Word Deuxième Congrès sur les plantes médicinales et aromatiques pour le bien-être de l'homme, 1997, 500, 93-96.

**Singh N.,** Luthra T., Sangwan R., Thakur S.(1990). Metabolism of monoterpenoids in aromatic plants. - Curr. Res. Med. Aromat. Plants, 11, 174-196

**Singleton V.L.,** Ortofer R., Lameela R. M.(1999). Analus of total phenols and other oxidation substrats and antioxidants bu means of Folin Ciocalteu reagent.In; Packer I.(ed) Methods in enzymology orlando.Academic Press 152-178.

**Smallfield B. (2001).** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. Number 45, 4p.

**Svoboda K. P., Deans S. G. (1995).** Biological activities of essential oil from selected aromatic plants. Acta Horticult 390: 203-209.

**Sofia S., Luis R., Joaquin A, Eusebio C., (2004).** Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from S.outhern Spain.Biochemical systematics and Ecology. 32: 265-277.

- Svoboda, K. P. Hampson, J.B.(1999).** Bioactivité of essential oils of selected. Temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant biology department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK. 56, KA 65 HW.
- Steven P.(2001)** Angiospermphylogeny website : [http:// www.mobot.org/MOBOT/research](http://www.mobot.org/MOBOT/research)
- Tackholm V. (1974).** Student Flora of Egypt, 2nd ed. Cairo University Press, Cooperative printing Co., Beirrut, Lebanon, p. 581.
- Takao F (1994).** Development of insulin-dependent diabetes mellitus in mixed allogenic bone marrow chimeras. *Immunobiol* 194: 376-389.
- Tappel A., Moller L. (1987).** Glutathion Peroxidase and other Selenoproteinler. VAN Nostrand Co. P 122-132. N.Y.
- Tepe B., Sokem M., Dafarera D., Polission M., Sokmen A. (2005).** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* J. food eng. 66, 447-454.
- Tomi F., Bradesi P., Bighelli A., Casonova J. (1995).** C omputer –aidede identification or individual components of essential oils using carbob-13. NMR spectroscopy, *J Magn. Reson. Anal.*, 1: 25-34.
- Vernin G., Merad L. O. (1994).** Mass spectra Kovats indices et de nouvelles cis-chrysanthenyl esters trouvé dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* de l'Algérie. *J. Essent. Oil Res.*, 6, 437-438.
- Vlietinck A. J. (2002).** Correlation between chemical activity of essential oil of somme aromatic medicinal plants in the Democratic Republic of Congo. *J. of Ethnopharmacology*, 79: 229-233.

**Wagner H., Hikino H., Farnsworth N.R (eds) (1989).** Prince P. P. (1989). The economic significance of plants and their constituent as drugs. Economic and Medicinal Plant Research, vol 3. Academic Press, London.

**Wang s. y., Chen P. F., Chang., S. T. (2005).** Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves againsts wood decay fungi. Bioresource Technology, 96: 813-818.

**Wollenweber E., Wehde R., Dorr M., Lang G., Stevens J. F. (2000).** C-methyl-flavonoids from the leaf waxes of some Myrtaceae. Phytochemistry 55, 965-970.

# ANNEXES

## Annexe I

### Rendements en huile essentielle des différentes plantes

**An.I.1:** Les rendements en huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia judaica*, *Artemisia campestris* et *Warionia saharae* obtenus par hydro distillation.

Plante	Novembre 2007	Juin 20008
<i>Artemisia herba alba</i>	0.30 % ± 0.01	0.20 % ± 0.01
<i>Artemisia judaica</i>	0.40 % ± 0.01	0.21 % ± 0.01
<i>Artemisia campestris</i>	0.30 % ± 0.01	0.20 % ± 0.01
<i>Warionia saharae</i>	0.50 % ± 0.01	0.330 % ± 0.01

## Annexe II

### Les flavonoïdes (*Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*)

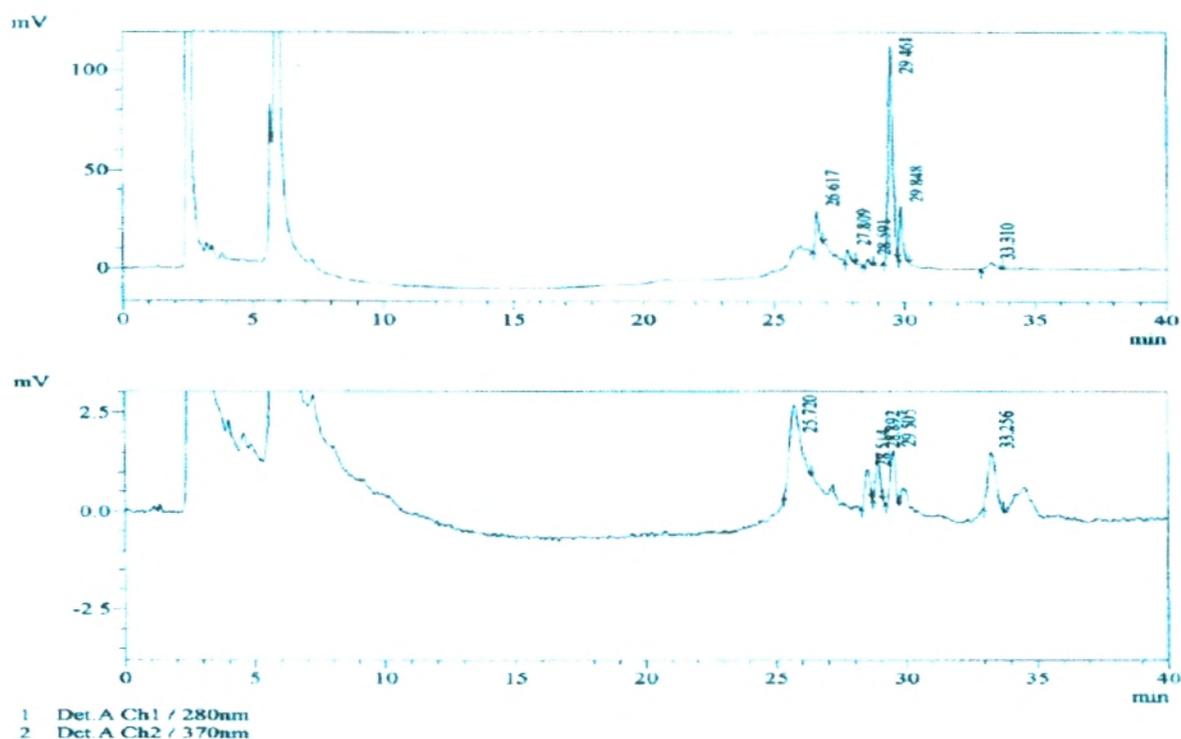
: **An.II.1** Phénols totaux exprimés en mg équivalent acide gallique/ g d'extraits brut.

Plante		Rendement d'extraits bruts en %.	Phénols totaux g/100g d'extrait brut
<i>Wazrionia saharae</i>	feuilles	15 ± 0.2	3.14 ± 0.01
	fleurs	12 ± 0.3	2.83 ± 0.01
<i>Herniaria mauritanica</i>		10.5 ± 0.15	0.92 ± 0.01

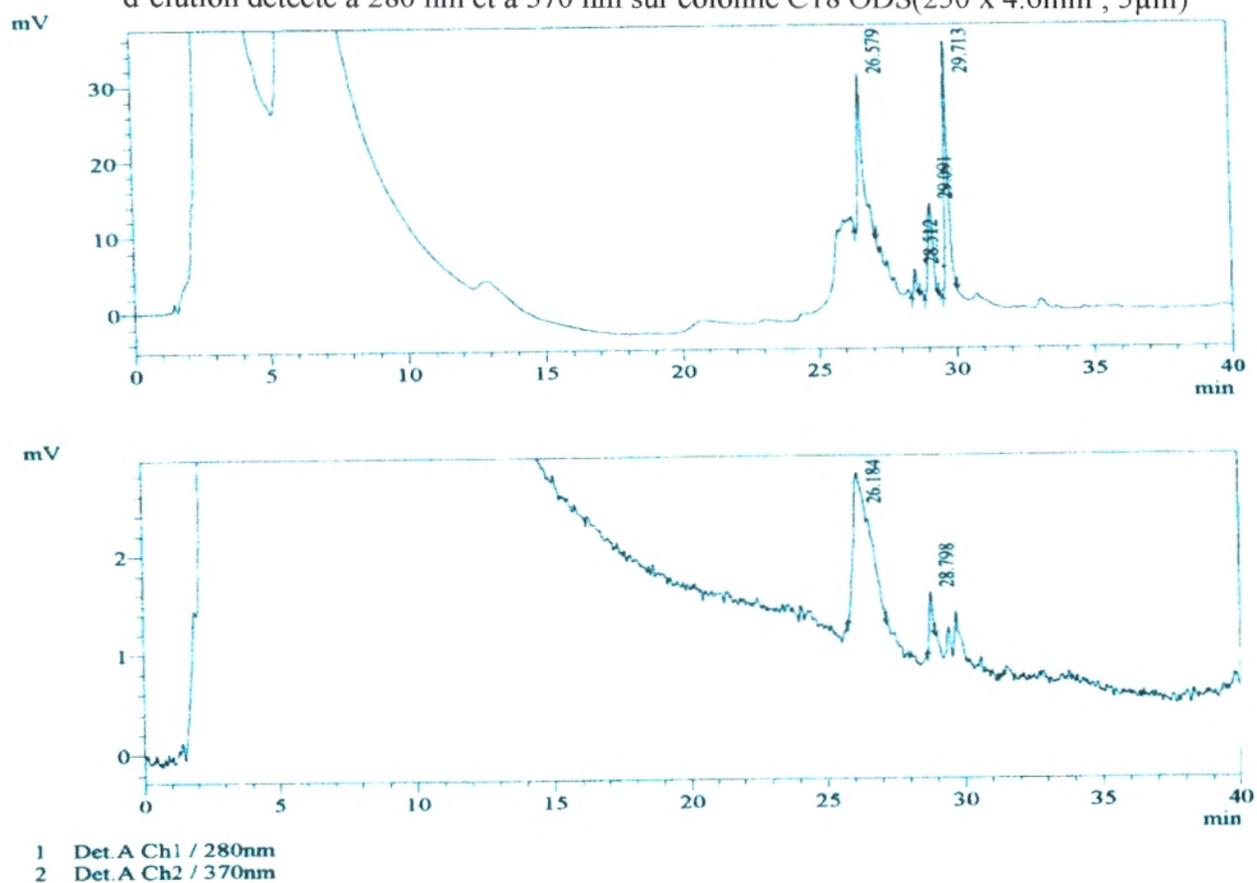
**An.II.2:** Flavonoides totaux exprimés en mg catéchine/ g d'extrait brut.

Plante		Quantité en mg/g d'extrait brut	Quantité g/100g d'extrait brut
<i>Wazrionia saharae</i>	feuilles	6.20	0.62 ± 0.02
	fleurs	6.17	0.617 ± 0.02
<i>Herniaria mauritanica</i>		3.08	0.308 ± 0.01

**An.II.5 :** Chromatogramme de l'extrait acétate de *Warionia saharae* (feuilles) en mode d'élution détecté à 280 nm et à 370 nm sur colonne C18 ODS(250 x 4.6mm ; 5 $\mu$ m).



**An.II.6 :** Chromatogramme de l'extrait n-butanol de *Warionia saharae* (feuilles) en mode d'élution détecté à 280 nm et à 370 nm sur colonne C18 ODS(250 x 4.6mm ; 5 $\mu$ m)



## Annexe III

## L'activité antibactérienne et antifongique

**An.III.1:** Activité des antibiotiques (le diamètre de la zone d'inhibition en mm)

Antibiotiques	E	En	P	St
CN 10	14 ± 0.2	20 ± 0.00	10 ± 0.01	22 ± 0.28
CL 30	0	0	0	35 ± 0.44
C 30	20 ± 0.11	9 ± 0.11	8 ± 0.25	25 ± 0.61
SXT 25	17 ± 0.04	0	0	30 ± 0.12
PEF 5	14 ± 0.32	21 ± 0.04	19 ± 0.55	23 ± 0.20
AK	24 ± 0.51	26 ± 0.21	28 ± 0.21	24 ± 0.22

Légende : CN : Clindamycine, CL30 : Cephaloxine, C30 : Chloramphenicole, SXT : Trimethoprime-sulfaméthoxazole, PEF : Péfloxacine ; AK : Amikacine.

St : *Staphylococcus aureus*, En: *Enterococcus faecalis*, E: *Escherichia coli*, P: *Pseudomonas aeruginosa*.

**An.III.2:** Le pourcentage d'inhibition des souches bactériennes par les huiles essentielles.

Huile essentielle	Volume en $\mu$ l	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Enterococcus faecalis</i>	
		DO + E	% inhibition	DO + E	% inhibition
<i>Artemisia herba alba</i>	10	0,41± 0,03	43,53	0,33± 0,01	52,19
	15	0,36± 0,03	50,06	0,32± 0,04	54,6
	20	0,34± 0,07	53,06	0,31± 0,01	56,02
	25	0,33± ,031	55,1	0,27± 0,07	61,71
<i>Artemisia campestris</i>	10	0,4± 0,09	46	0,284± 0,01	43,46
	15	0,3± 0,07	58,53	0,27± ,088	64
	20	0,28± 0,07	61,53	0,24± 0,02	68
	25	0,26± 0,03	64,13	0,185± 0,09	75,33
<i>Artemisia judaica</i>	10	0,2± 0,06	60,06	0,14± 0,040	72,38
	15	0,17± 0,07	65,22	0,13± 0,02	74,35
	20	0,15± 0,08	69,1	0,015± 0,03	97,04
	25	0,09± 0,01	82	0,03± 0,02	99,4
<i>Warionia saharae</i>	10	0,12± 0,01	62,57	0,235± 0,07	48,66
	15	0,08± 0,01	73,92	0,23± 0,05	57,64
	20	0,07± 0,01	78,52	0,118± 0,02	
	25	0,06± 0,01	79,72	0,7± 0,0	

## An.III.3: Le pourcentage d'inhibition des souches bactériennes par les huiles essentielles.

Huile essentielle	Volume en $\mu$ l	<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Candida albicans</i>	
		DO + E	% inhibition	DO + E	% inhibition	DO + E	% inhibition
<i>Artemisia herba alba</i>	10	0,47± 0,10	37,79	0,37± 0,06	42,46	0,12± 0,05	68,75
	15	0,4± 0,10	45,09	0,36± 0,04	44,61	0,11± 0,03	74,4
	20	0,37± 0,09	49,21	0,32± 0,02	50,76	0,9± 0,026	75,28
	25	0,23± 0,02	67,33	0,20± 0,02	67,84	0,087± 0,01	79,18
<i>Artemisia campestris</i>	10	0,34± 0,04	56,41	0,32± 0,07	54,61	0,09± 0,026	49,71
	15	0,25± 0,04	66	0,32± 0,03	56,8	0,1± 0,01	52,84
	20	0,235± 0,11	68,66	0,3± 0,105	60	0,177± 0,04	54,55
	25	0,21± ,04	72	0,23± 0,02	69,33	0,16± 0,05	56,1
<i>Artemisia judaica</i>	10	0,16± 0,01	42,35	0,32± 0,02	38	0,28± 0,07	20,4
	15	0,14± 0,03	76,27	0,18± 0,04	64,89	0,22± 0,041	34,66
	20	0,116± 0,01	80,33	0,13± 0,03	74	0,18± 0,05	48,4
	25	0,095± 0,03	83,89	0,09± 0,01	82,64	0,14± 0,03	59,89
<i>Warionia saharae</i>	10	0,201± 0,01	28,72	0,23± 0,02	39,49	0,091± 0,018	42,76
	15	0,19± 0,02	32,62	0,23± 0,04	41,77	0,05± 0,01	68,55
	20	0,18± ,02	36,17	0,22± 0,18	44,3	0,048± 0 ,01	69,81
	25	0,09± 0,01	68,08	0,2± 0,07	45,53	0,045± 0,01	71,07

**An.III.4:** IC50 : qui représente les concentrations inhibant 50 % de la population microbienne (IC50 en  $\mu\text{l} / \text{ml}$ ).

Huile essentielle	Souche bactérienne	IC50 en $\mu\text{l}/\text{ml}$	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	St	$1,48 \pm 0,03$	0,99
	En	$0,72 \pm 0,23$	0,91
	E	$2,00 \pm 0,04$	0,935
	P	$1,93 \pm 0,18$	0,983
	<i>Candida albicans</i>	$0,6 \pm 0,06$	0,96
<i>Artemisia campestris</i>	St	$1,16 \pm 0,03$	0,96
	En	$1,145 \pm 0,06$	0,90
	E	$0,88 \pm 0,10$	0,887
	P	$1,31 \pm 0,05$	0,99
	<i>Candida albicans</i>	$0,10 \pm 0,1$	0,89
<i>Artemisia judaica</i>	St	$1,38 \pm 0,04$	0,95
	En	$0,25 \pm 0,03$	0,92
	E	$1,21 \pm 0,05$	0,9
	P	$1,34 \pm 0,10$	0,96
	<i>Candida albicans</i>	$2,09 \pm 0,08$	0,99
<i>Warionia saharae</i>	St	$0,71 \pm 0,02$	0,99
	En	$1,118 \pm 0,01$	0,99
	E	$2,21 \pm 0,03$	0,99
	P	$3,5 \pm 0,04$	0,96
	<i>Candida albicans</i>	$0,55 \pm 0,08$	0,99

**An.III.5 :** Antifongogramme : Activité de la nystatine sur des souches mycélienne

	Diamètre de la colonie en cm
<i>Aspaergillus flavus</i>	$6,62 \pm 0,06$
<i>Aspergillus niger</i>	$5,8 \pm 0,36$
<i>Fusarium oxysporum</i>	$0 \pm 00$
<i>Rhizopus stolonifer</i>	$5,66 \pm 0,54$

**An.III.6:** antifongogramme : l'activité antigongique des extraits bruts de *Warionia saharae* et *Herniaria mauritanica*.

		<i>Aspergillus flavus</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Rhizopus stolonifer</i>	
		Diam en mm	% d'inhibition	Diam en mm	% d'inhibition	Diam en mm	% d'inhibition	Diam en mm	% d'inhibition
<i>Warionia saharae</i> (feuilles)	100	45 ± 0,07	30,77	62 ± 0,00	8,82	48,46±.51	42,59	85 ±0.00	0
	300	30,2 ± 1.1	53,54	53 ± 0.51	22,06	41,50 ± 0.12	51,04	80 ±0.00	5,88
	500	22,2 ±.55	65,85	45 ±.18	33,82	36,5±.3	46,32	80 ±0.00	5,88
<i>Warionia saharae</i> (fleurs)	100	40 ±.02	38,46	60 ± 0.11	11,76	80 ± 0.0	5,88	78 ±0.02	8,24
	300	35 ±1.2	46,5	45 ± 0.52	33,82	78 ± 0.02	8,24	70 ±0.13	17,65
	500	30 ±0.05	53,85	36 ± 0.32	47,06	60,5 ± 0.5	28,82	67,5 ±0.5	20,59
<i>Herniaria mauritanica</i>	100	63 ±.035	3,06	68 ± 0.0	0	77,5 ± 0.21	2,94	80 ±0.00	5,88
	300	65 + .87	0	62,6 ± 0.14	8,09	60,5 ± 0.01	28,82	77,5 ±0.2	8,82
	500	62 ±.21	4,62	55,5 ± 0.17	18,38	55 ± 0.02	35,39	72,8 ±0.01	14,35
contrôle		65 ±.00		68 ± 0.21		85 ± 0.00		85 ± 0.00	

## Annexe IV

## L'activité antioxydante

An.IV.1: L'activité antioxydante de l'extrait *Warionia saharae* (feuilles et fleurs) sur DPPH.

Plante	Extraits flavoniques	Concentration $\mu\text{g/ml}$	Densité optique (DO + E)	% Inhibition
<i>Warionia sahara</i> (Feuilles).	Extrait brut	45	0,041 $\pm$ 0,003	93,31%
		20	0,084 $\pm$ 0,012	87,27%
		12,8	0,083 $\pm$ 0,013	85,31%
		5	0,279 $\pm$ 0,008	54,48%
		0,18	0,429 $\pm$ 0,034	30,01%
		0,02	0,538 $\pm$ 0,031	12,23%
	Extrait Acétate d'éthyle	0,256	0,112 $\pm$ 0,005	79,74%
		0,144	0,164 $\pm$ 0,018	70,34%
		0,064	0,289 $\pm$ 0,035	47,73%
		0,016	0,396 $\pm$ 0,006	28,34%
		0,004	0,497 $\pm$ 0,017	10,12%
	Extrait n-Butanol	13,11	0,273 $\pm$ 0,057	54,11%
		10,054	0,275 $\pm$ 0,062	53,78%
		3,283	0,419 $\pm$ 0,016	34,65%
		1,539	0,443 $\pm$ 0,017	30,99%
		0,41	0,46 $\pm$ 0,087	28,34%
0,205		0,529 $\pm$ 0,028	17,60%	
0,051		0,573 $\pm$ 0,058	10,74%	
<i>Warionia sahara</i> (Fleurs).		Extrait brut	125	0,16 $\pm$ 0,036
	80		0,176 $\pm$ 0,048	66,38%
	45		0,298 $\pm$ 0,09	49,91%
	20		0,355 $\pm$ 0,037	40,33%
	12,8		0,39 $\pm$ 0,1	34,28%
	5		0,47 $\pm$ 0,095	21%
	0,8		0,547 $\pm$ 0,10	8,06%
	Extrait Acétate d'éthyle	0,106	0,233 $\pm$ 0,023	63,70%
		0,059	0,235 $\pm$ 0,059	63,39%
		0,026	0,415 $\pm$ 0,027	35,35%
		0,006	0,485 $\pm$ 0,097	24,29%
		0,0012	0,534 $\pm$ 0,037	16,82%
	Extrait n-Butanol	0,706	0,051 $\pm$ 0,009	91,37%
		0,314	0,106 $\pm$ 0,031	82,70%
		0,2	0,171 $\pm$ 0,017	66,88%
		0,0785	0,333 $\pm$ 0,049	45,59%
		0,0283	0,456 $\pm$ 0,001	25,61%
		0,0031	0,55 $\pm$ 0,1	10,19%

**An.IV.2:** L'activité antioxydante de l'extrait *Herniaria mauritanica* et de l'acide ascorbique sur DPPH.

Plante	Extraits flavonique	Concentration $\mu\text{g/ml}$	Densité optique (DO + E)	% Inhibition
<i>Herniaria mauritanica.</i>	Extrait brut	2,362	0,095 $\pm$ 0,009	84,50%
		1,05	0,220 $\pm$ 0,011	64,11%
		0,42	0,271 $\pm$ 0,061	55,70%
		0,262	0,386 $\pm$ 0,04	37,03%
		0,094	0,380 $\pm$ 0,074	36,37%
		0,01	0,480 $\pm$ 0,035	21,61%
	Extrait Acétate d'éthyle	1,792	0,233 $\pm$ 0,013	63,70%
		0,504	0,235 $\pm$ 0,025	63,39%
		0,224	0,415 $\pm$ 0,007	35,35%
		0,056	0,486 $\pm$ 0,006	24,29%
		0,014	0,534 $\pm$ 0,006	16,82%
	Extrait n-Butanol	3,125	0,050 $\pm$ 0,009	95,00%
		2	0,039 $\pm$ 0,0005	92,94%
		0,5	0,0475 $\pm$ 0,001	91,41%
		0,245	0,153 $\pm$ 0,051	72,33%
0,125		0,25 $\pm$ 0,21	54,79%	
Acide ascorbique		0,1375	0,0455 $\pm$ 0,021	88,02
		0,1033	0,124 $\pm$ 0,057	78,16
		0,074	0,156 $\pm$ 0,059	69,86
		0,0495	0,188 $\pm$ 0,043	58,68
		0,030	0,208 $\pm$ 0,004	44,8
		0,0153	0,268 $\pm$ 0,016	32,5
		0,0098	0,276 $\pm$ 0,007	26,58
		0,0055	0,291 $\pm$ 0,004	22,82
		0,0024	0,303 $\pm$ 0,016	20,26
		0,0006	0,331 $\pm$ 0,024	17,36

**An.IV.3:** L'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica*, *Warionia saharae* et de l'acide ascorbique.

Huile essentielle	Concentration µg/ml	Densité optique (DO + E )	% Inhibition
<i>Artemisia herba alba</i>	59,3	0,289± 0,027	69,31
	41,18	0,252 ± 0,067	68,2
	26,35	0,354 ± 0,028	60,36
	14,82	0,464 ± 0,002	50,66
	6,58	0,57 ± 0,007	39,04
	1,647	0,664 ± 0,014	28,51
	0,0807	0,798 ± 0,012	16,37
	0,0207	0,76 ± 0	19,44
<i>Artemisia campestris</i>	38,4	0,321 ± 0,046	68,71
	24,57	0,332 ± 0,038	67,64
	13,82	0,576 ± 0,018	43,85
	6,14	0,605 ± 0,021	41,03
	1,536	0,725 ± 0,009	29,33
	0,752	0,794 ± 0	22,61
	0,384	0,968 ± 0,009	5,6
<i>Artemisia judaica</i>	59,3	0,289± 0,027	69,31
	41,18	0,252 ± 0,067	68,2
	26,35	0,354 ± 0,028	60,36
	14,82	0,464 ± 0,002	50,66
	6,58	0,57 ± 0,007	39,04
	1,647	0,664 ± 0,014	28,51
	0,0807	0,798 ± 0,012	16,37
	0,0207	0,76 ± 0	19,44
<i>Warionia saharae</i>	38,4	0,321 ± 0,046	68,71
	24,57	0,332 ± 0,038	67,64
	13,82	0,576 ± 0,018	43,85
	6,14	0,605 ± 0,021	41,03
	1,536	0,725 ± 0,009	29,33
	0,752	0,794 ± 0	22,61
	0,384	0,968 ± 0,009	5,6
Acide ascorbique	0,137	0,243± 0,032	86
	0,13	0,277± 0,066	78,2
	0,08	0,308± 0,025	59,2
	0,05	0,4± 0,007	45
	0,05	0,44± 0,028	31,8

## Résumé

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie sur la diversité des métabolites secondaires des végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. C'est dans ce contexte la présente étude porte sur l'évaluation des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* L; *Artemisia campestris* L et *Warionia saharae* Benth. et Coll, et des flavonoïdes de *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* . Benth. et Coll Les huiles essentielles de *Warionia saharae* et d'*Artemisia judaica* L sont analysées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et résonance magnétique nucléaire (RMN <sup>13</sup>C). Les constituants majeurs sont β-eudesmol (34.6 %), (E)-nerolidol (25.7 %) et Linanol (14.6 %) pour *Warionia saharae*. Le camphre (20.2 %), borneol (8.8%) et davanone (7.6 %) pour *Artemisia judaica*. Nous avons identifié les composés phénoliques suivants par chromatographie sur couche mince: - Pyrocatechol, quercétine et catéchine dans les fleurs de *Warionia saharae* Benth. et Coll - Pyrocatechol, catéchine et l'acide gallique, dans les feuilles de *Warionia saharae* .. En ce qui concerne *Herniaria mauritanica* Murb, quatre composés ont été mis en évidence : catéchine, acide p-coumarique, acide gallique et Pyrocathéchol. Les huiles essentielles ont une activité antibactérienne et antifongique bien significatif sur la majorité des souches (la concentration minimale d'huile essentielle inhibant 50 % des souches bactériennes, varie de 0.25 µl/ml à 3.5 µl/ml) bien que pour les flavonoïdes sont plus ou moins faibles. L'activité antioxydante des flavonoïdes des extraits acétate de *Warionia saharae* est comparable à celle de l'acide ascorbique (. la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (EC50) varie de 0.04 µg/ml à 7.48 µg/ml). Dans cette étude nous avons pu constater que les extraits flavoniques ont une activité de piégeage du radical DPPH considérable, alors que les huiles essentielles sont plus antimicrobiennes et plus antifongiques.

**Mots clés :** d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* L; *Artemisia campestris* L et *Warionia saharae* Benth. et Coll, *Herniaria mauritanica*; huiles essentielles ; flavonoïdes ; activité antimicrobienne ; activité antioxydante, CPG, RMN <sup>13</sup>C, CCM, CLHP

## Abstract

Plants have always been a key source of medicines. Even today a majority of the world's population, especially in developing countries, is treated only with traditional medicines made from plants. From aspirin to taxol, the modern pharmaceutical industry itself is based on the diversity of secondary metabolites of plants to find new molecules with novel biological properties. It is in this context this study focuses on the evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* L; *Artemisia campestris* L and *Warionia saharae* Benth. and Coll, and flavonoids of *Herniaria mauritanica* Murb and *Warionia saharae* . Benth. and Coll Essential oils *Warionia saharae* and *Artemisia judaica* L are analyzed by gas chromatography (GC) and nuclear magnetic resonance (NMR <sup>13</sup>C). The major constituents were β-eudesmol (34.6%), (E)-nerolidol (25.7%) and Linanol (14.6%) for *Warionia saharae*. Camphor (20.2%), Borneol (8.8%) and davanone (7.6%) for *Artemisia judaica*. We have identified the following phenolic compounds by thin-layer chromatography: - Pyrocatechol, catechin and quercetin in the flowers of *Warionia saharae* Benth. and Coll. - Pyrocatechol, catechin and gallic acid in the leaves of *Warionia saharae* .. Regarding *Herniaria mauritanica* Murb four compounds were identified: catechin, p-coumaric acid, gallic acid and Pyrocathéchol. The essential oils have antibacterial and antifungal activity of the significant majority of strains (the minimum concentration of essential oil to inhibit 50% of bacterial strains ranged from 0.25 µl / ml to 3.5 µl / ml) while the flavonoids are or less low. The antioxidant activity of flavonoids of n-butanol extract of *Herniaria* and *Warionia* is comparable to that of ascorbic acid (. The effective concentration of substrate that causes the loss of 50% of the activity of DPPH (EC50) varies from 0.04 g / ml to 7.48 g / ml). In this study we found that the extracts have activity flavones sequestration considerable DPPH radical, while essential oils are antimicrobial and antifungal.

**Keywords:** *Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* L; *Artemisia campestris* L and *Warionia saharae* Benth. and Coll, *Herniaria mauritanica*; essential oils, flavonoids, antimicrobial activity, antioxidant activity, CPG, <sup>13</sup>C NMR, TLC, HPLC

## المخلص

تعتبر النباتات مصدرا رئيسيا للأدوية . حيث تتعطي الغالبية العظمى من سكان العالم و خاصة سكان البلدان النامية الأدوية التقليدية من النباتات. تتركز صناعة الأدوية الحديثة علي تنوع الأيضات الثانوية للنباتات و العثور علي جزيئات جديدة ذات خصائص بيولوجية مميزة. في هذا الإطار تم خلال هذه الدراسة الحالية التقييم لمضادات الجراثيم و الأنشطة المضادة للأكسدة من الزيوت الأساسية للنباتات التالية: *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Artemisia judaica* et *Warionia saharae* و الفلافونيدات لل *Heniaria mauritanica* et *Warionia saharae* اعطي التحليل الكيمائي للزيوت بالكروماتوغرافيا الغازية و مطياف الرنين المغناطيسي النووي *Warionia saharae* المركب الرئيسي بيتا اودسومول (34.6%) متبوع ب بيروليدول (25.7%)، لينانول (14.5%) *Artemisia judaica* فنجد الكافور (20.2%) متبوع ب بورنيل (8.8%) و دافانو (7.6%). لقد تعرفنا علي بعض المركبات الفلافونيدية عن طريق الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة منها بيروكاتكول، حمض الغاليك و . كاتيشين و براكوماريك. النشاطات البيولوجية ضد الفطريات و البكتيريا للزيوت الطيارة عند النباتات المدروسة تكون أكثر عالية مقارنة مع مستخلصاتهما. أما النشاطات المضادة للتأكسد للزيوت الطيارة كانت معتبرة. المستخلصات الفلافونيدية تملك قدرة قوية للتثبيت الجدر الحرة

الكلمات المفتاحية : الزيوت الطيارة، المركبات الفلافونيدية، مضادات الجراثيم، الأنشطة المضادة للتأكسد RMN , CPG, CCM, HPLC

*Artemisia herba alba*, *Artemisia judaica*, *Artemisia campestris* *Warionia saharae* , *Herniaria mauritanica*