

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche scientifique
UNIVERSITE ABOU BEKER BELKAID TLEMCCEN

Faculté des sciences de la nature et de la vie, et des sciences de la terre et de
l'univers
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE
MEMOIRE

Pour l'obtention d'un Diplôme de master en biologie
Option : physiologie cellulaire et physiopathologie

THEME :



**Evaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits
de *Daucus crinitus*, *Lavandula multifida*
et *Thymus fontanesii***



Présenté par : BENHADDOUCHE Khireddine

Soutenue le :/..../2014

Devant le jury composé de :

M ^{me} Bouanane S.	MCA	Présidente	Université Tlemcen
M ^r BENAMMAR C.E.	MCB	Examineur	Université Tlemcen
M ^r BENDAHOU Mourad	Professeur	Promoteur	Université Tlemcen

Année universitaire : 2013-2014

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche scientifique
UNIVERSITE ABOU BEKER BELKAID TLEMCCEN
Faculté des sciences de la nature et de la vie, et des sciences de la terre et de
l'univers
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE
MEMOIRE

Pour l'obtention d'un Diplôme de master en biologie
Option : physiologie cellulaire et physiopathologie

THEME :

**Evaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits
de *Daucus crinitus*, *Lavandula multifida*
et *Thymus fontanesii***

Présenté par : BENHADDOUCHE Khireddine

Soutenue le :/..../2014

Devant le jury composé de :

M ^{me} Bouanane S.	MCA	Présidente	Université Tlemcen
M ^r BENAMMAR C.E.	MCB	Examineur	Université Tlemcen
M ^r BENDAHOU Mourad	Professeur	Promoteur	Université Tlemcen

Année universitaire : 2013-2014

D é d i c a c e s

A l ' a i d e d e d i e u n o u s a v o n s r é a l i s é c e

m o d e s t e t r a v a i l q u e j e d é d i e :

A u x ê t r e s l e s p l u s c h e r s à m o n c œ u r , m e s
p a r e n t s q u i o n t f a i t p r e u v e d e b e a u c o u p
d e c o m p r é h e n s i o n e t q u i n ' o n t c e s s é d e m e
s o u t e n i r e t m ' e n c o u r a g e r d u r a n t m e s

é t u d e s .

A m e s a m i s , F e t h i B e n b e l a ï d e t

A b d e l m o u n a ï m K h a d i r .

Remerciements

Le présent travail a été effectué au laboratoire de microbiologie appliquée LAMAABE et au laboratoire de substances naturelles LASNABIO à l'Université Abou BekerBelkaid de Tlemcen, sous la direction de monsieur **Mourad BENDAHOU**.

J'exprime ma profonde gratitude à **Mme Bouananne S. Maître de conférences A** au département de biologie à l'université de Tlemcen pour l'honneur qu'elle m'a fait de présider le jury de mon travail, qu'elle trouve ici toutes les expressions de respect.

Je remercie sincèrement Monsieur **Mr. Mourad BENDAHOU**, professeur au département de biologie à l'université de Tlemcen, qui ma honoré de sa confiance et qui a bien voulu guider et juger ce travail.

Mes remerciements vont également à **Mr. BENAMMAR C.E.**, Maître de Conférence B au département de biologie à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Liste des figures

Figure 1. Structure de base des flavonoïdes.	7
Figure 2. Place d'alicament entre l'aliment et le médicament.	11
Figure 3. Rupture d'équilibre en faveur des antioxydants.	14
Figure 4. Oxydation des molécules biologiques.	17
Figure 5. ROS et maladies.	25
Figure 6. Plante entière, <i>Lavandulamultifida</i> .	28
Figure 7. <i>Daucuscrinitus</i> L.	32
Figure 8. Répartition géographique des lieux de récolte.	35
Figure 9. Montage de type Clevenger.	37
Figure 10. Montage de type Soxhlet.	38
Figure 11. Courbe d'étalonnage des polyphénols.	39
Figure 12. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.	41
Figure 13. Teneur en huile essentielle.	43
Figure 14. Teneur en polyphénols totaux des différentes plantes (g/100g de poids sèche de la plante).	44
Figure 15. Pourcentage d'inhibition en fonction de la différente concentration de l'acide ascorbique.	46
Figure 16. Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de BHT.	46
Figures 17 – 34. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits.	47- 55

Liste des tableaux

Tableau 1. Exemples de quelques maladies humaines associées avec des modifications de la concentration d'antioxydants.	24
Tableau 2. Classification botanique de <i>Lavandula multifida</i> L.	28
Tableau 3. Classification botanique de <i>Daucus crinitus</i> L.	31
Tableau 4. Classification botanique de <i>Thymus fontanesii</i> Désf.	33
Tableau 5. Données sur les espèces végétales étudiées.	35
Tableau 6. Les valeurs des IC ₅₀ des différents extraits.	56

Table des matières

Introduction	1
Partie 1. Synthèse bibliographique	
Chapitre 1. La phytothérapie	2
1. Historique	2
2. Domaines d'application des plantes médicinales	2
2.1. Utilisations en médecine	3
2.2. Utilisations en alimentation	4
2.3. Utilisations en cosmétique	4
3. Les métabolismes secondaires	4
3.1. Les huiles essentielles	4
3.1.1. Définition	4
3.1.2. Etat naturel et répartition	5
3.1.3. Localisation	5
3.1.4. Composition chimique des huiles essentielles	5
3.1.5. Rôle physiologique	6
3.2. Les flavonoïdes	6
3.2.1. Définition	6
3.2.2. Classification	7
3.2.3. Biosynthèse des flavonoïdes	8
3.2.4. Localisation des flavonoïdes	8
3.2.5. Intérêt des flavonoïdes	9

3.2.5.1. Activité des flavonoïdes contre le cancer	9
Chapitre 2. Les alicaments	10
1. Se soigner et se nourrir en même temps	11
2. Aliments fonctionnel et nutraceutique	11
3. Intérêts des alicaments	12
4. Classification des alicaments	12
Chapitre 3. Le stress oxydatif	13
1. Définition	13
2. Origine du stress	14
2.1. Les radicaux libres	15
2.1.1. Définition	15
2.1.2. Principaux des radicaux libres	15
2.1.2.1. L'anion superoxyde	15
2.1.2.2. Le radical hydroxyle	15
2.1.2.3. L'oxygène singulet	16
2.1.3. Origine des radicaux	16
2.1.4. Les conséquences du stress oxydant	17
3. Les antioxydants	18
3.1. Les antioxydant endogènes	19
3.1.1. Un système de défense primaire	19
3.1.2. Un système de défense secondaire	20
3.1.3. Les antioxydants naturels	20
3.1.1. La vitamine E	20

3.1.2. Les caroténoïdes	21
3.1.3. La vitamine C	21
4. Les maladies du stress oxydant	22
Chapitre 4. Présentation des plantes étudiées	25
1. <i>Lavandula multifida</i> L.	25
1.1. Généralité	25
1.2. Origine et répartition	26
1.3. Nomenclature	27
1.4. Description	27
1.5. Classification	28
2. <i>Daucus crinitus</i> L.	29
2.1. Description botanique	29
2.2. Classification botanique	30
3. <i>Thymus fontanesii</i> Désf.	32
3.1. Généralité	32
3.2. Caractéristiques botaniques	33
3.3. Classification botanique	33
3.4. Répartition géographique en Algérie	34
Partie 2. Matériels et méthodes	35
1. Matériel végétal	35
2. Hydrodistillation des huiles essentielles	36
3. Préparation des extraits bruts	38
3.1. Extraction	38

3.2. Calcule des rendements	39
3.3. Dosage des poly phénols	39
4. Extraction des flavonoïdes	40
4.1. Procédure	40
4.2. Dosage des flavonoïdes	41
5. Activité antioxydantes. Méthode de piégeage de radical libre DPPH	41

Partie 3. Résultats et discussion **43**

1. Rendement en huile essentielle et extraits secs	43
2. Taux d polyphénols	44
3. Taux des flavonoïdes	45
4. Résultats des tests du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH	46

Conclusion **59**

Références bibliographiques **60**

Introduction

Les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches via l'exploitation des métabolites secondaires utilisés dans la santé et vis-à-vis des maladies pernicieuses (cancer) et dans l'industrie agro-alimentaire. Ces composés, en particulier les flavonoïdes sont largement recherchés pour leurs propriétés biologique: antioxydants, anti-inflammatoires, antiallergique et anti carcinogénèse. Notant que l'efficacité puissante de ces substances à stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est due principalement à leurs structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyles.

Dans le but de recherche et de la valorisation de la flore de l'ouest algérien en particulier la recherche de substances antioxydantes, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antiradicalaire de trois plantes aromatiques et médicinales utilisées traditionnellement comme alicaments : *Daucus crinitus*, *Lavandula multifida* et *Thymus fontanesii*.

Le travail est structuré comme suit :

- Une synthèse bibliographique sur la phytothérapie, les alicaments, le stress oxydatif et les plantes étudiées.
- Matériel et méthodes
- Résultats et discussion

Partie 1. Synthèse bibliographique

Chapitre 1. La phytothérapie

1. Historique

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remède pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants des valeurs thérapeutiques. Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à leur richesse de ce qu'on appelle les métabolismes secondaires. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir de néolithique (8000 ans av. J.C.). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade (Fouché et al., 2000).

2. Domaines d'application des plantes médicinales

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse (Bahorun, 1997).

Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effets secondaires défavorables. Ainsi, une recherche de nouvelles drogues est un choix normal (scientifique correspondance, 2003).

2.1. Utilisations en médecine

- En urologie, dermatologie, gastrite aiguës, toux, ulcère d'estomac, laxatifs, sommeil et désordre nerveux (Svoboda et Hampson, 1999).
- Système cardiovasculaire, ex : Flavoce est un médicament constitué par la Flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercétine est utile dans le traitement de l'athérosclérose (Narayana et al., 2001)
- Drogues immunostimulantes, antispasmodique et anti-inflammatoire (*Melaleuca alternifolia*, *Echinacea angustifolia*, *Chrysanthemum parthenium*, *Achillea millefolium*,....etc.). (Svoboda et Hampson, 1999 ; Pednault et al., 2001 ; Amjed Hossain, 2005).
- Contre le diabète (*Azadirachta indica*) (Amjed Hossain, 2005).
- Les maladies du stress, des activités antioxydantes ; tel le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composés phénoliques, parmi lesquels le théaflavine, le resvératrol, le gallate et l'epigallocatechine procyanidine, très étudié en raison de leur rôle en tant qu'agent chimiopréventif basé sur leurs capacités antioxydantes (Lee et al., 2003).
- Activités antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire: Les produits naturels des plantes depuis des périodes très anciennes ont joué un rôle important dans la

découverte de nouveau agent thérapeutique ex : la quinine obtenu à partir du quinquina, a été avec succès employée pour traiter le malaria (Dastidar et al., 2004).

2.2. Utilisations en alimentation

Assaisonnement, des boissons, des colorants (Svoboda et Hampson, 1999 ; Porter, 2001) et des composés aromatiques (Smallfield, 2001). Les épices et les herbes aromatique utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsable du plaisir de la table (Delaveau, 1987).

2.3. Utilisations en cosmétique

Des produits de beauté, parfums et article de toilette, produits d'hygiène (Porter, 2001).

3. Les métabolismes secondaires

3.1. Les huiles essentielles

3.1.1. Définition

Ces produits appelés communément essence (essence végétales) sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes odorants volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Il faut différencier les huiles essentielles des huiles fixes (huile d'olive,...etc.), ainsi que des graisses contenues dans les végétaux. Seuls sont volatiles les huiles essentielles, qui suppose par ce caractère aux huiles fixes et aux graisses, dont elles diffèrent de plus, par leur composition chimique et leur caractéristique physique (Bruneton, 1987; AFNOR, 1992; Wichtl et Anton, 2003).

3.1.2. Etat naturel et répartition

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal; cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles: Conifères, Rutacées, Ombellifères, Myrtacées, Labiées, tous les organes peuvent en renfermer, surtout les sommités fleuries (lavandes, menthes, etc.), mais on en trouve dans les racines ou rhizomes (vétiver, gingembre), les écorces (cannelle), le bois (camphrier), les fruits (poivres), les graines (muscade). La teneur d'une drogue en huile essentielle varie selon l'organe végétal, la période de récolte (saison, jour), le lieu de récolte, la plante fraîche, la plante sèche, le mode opératoire d'obtention des huiles (hydrodistillation, entraînement à la vapeur d'eau, expression à froid, enfleurage, par des solvants organiques apolaires,...), le moyen d'extraction (alambic, appareil standard de la pharmacopée, etc...). (Paris et Moyses, 1967; Arctander, 1969; Wichtl et Anton, 2003).

3.1.3. Localisation

Les huiles essentielles sont élaborées au sein de cytoplasme de certaines cellules; elles s'en séparent par synérèse, sous forme de petites gouttelettes qui confluent ensuite en plages plus ou moins étendues. Les essences peuvent être localisées dans les cellules sécrétrices isolées, mais on peut les trouver le plus souvent dans les organes sécréteurs: poche sécrétrice schizogènes ou schizolysigènes, canaux sécréteurs, poils sécréteurs, etc. (Paris et Moyses, 1967; Arctander, 1969; Wichtl et Anton, 2003).

3.1.4. Composition chimique des huiles essentielles

Les constituants sont principalement des mono terpènes et des sesquiterpènes de formule général (C_{5H_8}). Les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures incluent

des alcools, des aldéhydes, des esters, des éthers, des cétones, des phénols et des oxydes. On estime qu'il y a plus de 1000 mono terpènes et 3000 de structures sesquiterpènes. D'autres composés incluent des phénylpropanes et des composés spécifique contenant le soufre ou l'azote (Svoboda et Hampson, 1999).

3.1.5. Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaire, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai et al ., 2003). Il y a beaucoup de spéculation au sujet du "rôle" d'huiles essentielles des plantes. Certainement plusieurs effets apparents "utiles" ont été décrits: réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse.

3.2. Les flavonoïdes

3.2.1. 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-phénylchromane (Figure 1) (Bruneton, 1999).

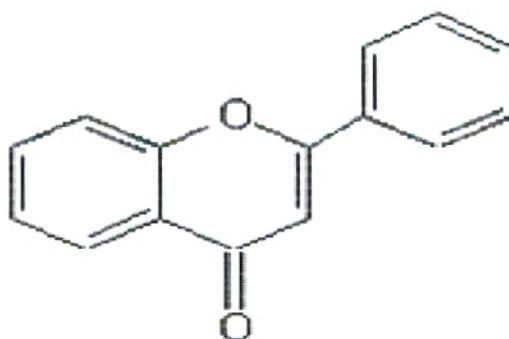


Figure 1. Structure de base des flavonoïdes.

Chez les angiospermes que la diversité structural des flavonoïdes est maximale. Ils sont de façon très générale localisés dans les feuilles (dans l'épiderme ou entre l'épiderme et me mésophile), dans les fleurs (cellule épidermique) ou encore dans les fruits (tégument externe) (Bruneton, 1999).

3.2.2. 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).De façon générale, les flavonoïdes peuvent être hydroxylés en position 3,5,7,3',4',5' et/ou 6'(suivant la numération présentée pour les flavones. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, sulfatés. Dans les plantes, les flavonoïdes peuvent être présent sous forme C- ou O-glycosylés. Les formes libres, sans sucre attachés sont appelées les génines ou aglycones (Bruneton, 1999). Les flavonoïdes minoritaires sont représentés par les Chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les flavanones, les dihydroflavonols et les anthocyanidols (Harborne, 2000).

3.2.3. Biosynthèse des flavonoïdes

Se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6' - tetrahydroxychalcone. Cette chalcone métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en naringénine, sur cette dernière, agit la flavonesynthétase pour donner : apigénine ou le dihydroflavonone.

Le dihydroflavonon, en présence de la flavonolsynthétase, se métabolise en kaempférol ou en leucoanthocyanidol. Ce dernier semble être le précurseur des flavanes-3,4-ols et anthocyanidol, ce dernier sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (Marfac, 2003).

3.2.4. Localisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des membres d'une classe de composés naturels avec l'occurrence répandue dans le règne des végétaux. Largement distribué dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes (Medic-Saric et col., 2003), abondant dans les légumes feuilles (Marfac., 2003), présent dans les aliments de nature végétal (légumes, céréales, légumineuses, fruits,.....etc.) et boissons (vin, cidres, bière, thé, cacao, etc.). Cette présence est en grande partie influencée par les facteurs génétiques et des conditions environnementales. La teneur en flavonol et en flavone des aliments végétaux est fortement influencée par des facteurs tels que la variation du type et la croissance, la saison, le climat et le degré de maturité (Lugasi et al., 2003).

3.2.5. Intérêt des flavonoïdes

Plusieurs flavonoïdes ont montré des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, inhibitrice d'enzymes, et prévention des maladies cardiovasculaires (Wang et Mazza, 2002). Ils ont montré *in vivo* comme *in vitro* un certain nombre d'activités.

Particulièrement les aglycones sont pharmacologiquement efficace. Plusieurs d'entre elles exercent des effets hépatoprotecteur, diurétique, effet de vasodilatation, antibactériens et chemopreventive, anti-inflammatoire, antidiabétique, antiallergique et autres exemple de la Morine (3, 3', 5, 5',7-pentahydroxyflavone) est la substance active de la de *Morus tinctoria* L. Elle appartient au groupe de flavonols dont le squelette de base est substitué par cinq groupes d'hydroxyle, les essais *in vitro* ont prouvé son activité chimioprotectrice, antimutagène, antivirales et antioxydantes (Bartosikova et al, 2003). Nakagawa et al. (2000) ont évalué l'efficacité antioxydant de la quercétine dans les fractions lysosomales hépatique des souris).

Les flavonoïdes montrent aussi une activité antimicrobien exemple des travaux de Harikrishna et al. (2004), ont démontré le pouvoir antimicrobien d'un flavonoïde glycoside (prunine-6-O-P-coumarate) contre deux souches de bactéries.

Les flavonoïdes montrent plusieurs effets biologiques tels que des effets antiulcéreux, anti-inflammatoires et anti-hépatotoxique. Ils sont également inhibiteurs des enzymes telles que l'aldose réductase et xanthine oxydase. Ce sont des antioxydants efficaces.

3.2.5.1. Activité des flavonoïdes contre le cancer

Parmi les flavonoïdes les plus actifs sur les cellules tumorales, nous citons la quercétine et la catéchine qui sont très abondantes dans les aliments.

La quercétine prévient la cancérogénèse, surtout le cancer de la peau et du colon. La présence de 20% de quercétine dans l'alimentation chez les animaux diminue le cancer du côlon et y prévient l'apparition du cancer. Le mécanisme suggéré est que la quercétine joue le rôle d'un antagoniste des topoisomérases 1 et 2 produites par les cellules tumorales.

La catéchine quant à elle, est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxydesoxyguanosine (8-OHdG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN. La catéchine a été démontré comme étant plus actifs que la vitamine E sur les radicaux libres. Elle est très abondante dans le thé sous forme d'epigallocatechingallate (EGCG) (Pietta 2000 ; Tomofuji et al., 2009).

En général, les mécanismes de l'action d'un antioxydant peuvent comprendre :

- Le piégeage direct des ERO.
- La protection des systèmes de défense antioxydants.
- L'inhibition des enzymes et la chélation.

Chapitre 2. Les alicaments

Avoir de bonne habitude alimentaires et un corps sain ne consiste plus simplement à consommer les recommandés cinq fruits et légumes journaliers mais également une nouvelle catégorie d'aliments proclamant avoir des propriétés boostant sur l'organisme, voir médicinal.

1. Se soigner et se nourrir en même temps

Comme son nom l'indique le terme alicament vient de la contraction des termes aliment et médicament. Les définitions de ce terme sont multiples, ceci révélant une législation encore floue dans ce domaine, permettant une grande liberté d'action aux industriels. On peut définir un alicament comme étant un aliment conventionnel faisant partie d'une alimentation normale, enrichie en un ou plusieurs composants, apportant au consommateur des effets bénéfique sur son organisme, dépassant les effets naturels de l'aliment de base et/ou qui peut également réduire le risque de certains maladies chroniques.

En résumé, les alicaments (Figure 2) sont des aliments normaux, artificiellement enrichies en substances diverses dans le but d'avoir des vertus thérapeutiques bénéfique à l'organisme. Les alicaments ne sont donc pas des médicaments, ils sont une nouvelle catégorie de produits alimentaires normalement destiné à chacun.

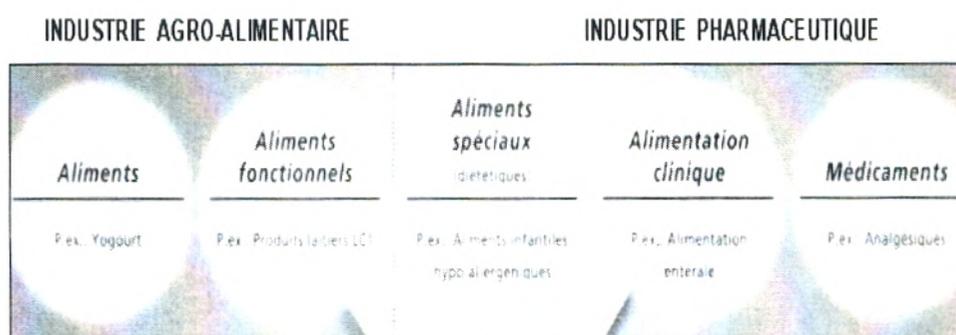


Figure 2. Place d'aliment entre l'aliment et le médicament.

2. Aliments fonctionnel et nutraceutique

Une des grandes difficultés pour reconnaître les dits (aliment santé) est que les noms les définissant sont multiples.

On entend par exemple aliments fonctionnel, nutraceutique, ou encore alicaments dans les pays francophones et/ou (nutraceutical), (functionalfoods), (pharmafoods), (designerfoods) dans les pays anglophones. Cela entraîne évidemment une confusion car ces termes, bien que très proches, n'ont pas tous la même signification.

Dans les pays francophones, on distingue deux catégories du type (Aliment santé):

- Les nutraceutique qui se rapproche plus de médicaments car ils se présentent sous forme de poudre ou de pastilles.
- Les aliments fonctionnels et les alicaments, produits alimentaires enrichies en diverses substances (vitamines, sels minéraux, calcium...etc.)

3. Intérêts des alicaments

Le but de ces aliment est toujours le même, apporter un bénéfice réel à la santé du consommateur ou réduire le risque de certains maladies chronique. Les effets devant être toujours supérieurs aux effets naturels des contenants (ex: margarine, yaourt...etc.).

4. Classification des alicaments

Il est difficile d'obtenir une classification des différents types d'aliments, car actuellement il n'existe pas de définition claire de terme lui-même.

Sur certains sites, par exemple, les produits (lighte) sont donc aussi considérés comme étant des alicaments. Malgré tout on peut classer les alicaments en quatre classes distincts suivant leurs procédés de fabrication :

- Aliment dont on a extrait un composant aux effets indésirables. Exemple: le riz hypoallergénique, le lait écrémé (ce type de produit ne répond pas tout à fait à la définition de l'alicament).
- Aliment dans lequel on a augmenté la concentration d'un composé déjà présent dans l'aliment sous sa forme naturelle. Exemple : céréales, jus d'orange et lait enrichis respectivement en fibres, vitamine C et calcium.
- Aliment dans lequel on a incorporé un nouveau composant. Exemple : œufaux omégas 3, yoghourts aux esters de stérols et esters de stanols.
- Aliment dans lequel on a substitué un composant néfaste pour la santé par un autre ayant une action bénéfique pour l'organisme (pas encore introduit sur le marché suisse).
- Au final, on se rend compte que les alicaments, quels qu'ils soient, sont toujours fabriquée par adjonction ou extraction de substance dans les aliments de base.

Chapitre 3. Le stress oxydatif

1. Définition

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatif (boyd et al., 2003), il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Morel et Barouki ,1999).

2. Origine du stress

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologique car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maitrisée par un système de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydant/pro oxydant est en équilibre (Figure 3). Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydant ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé (stressoxydant) (Favier, 2003).

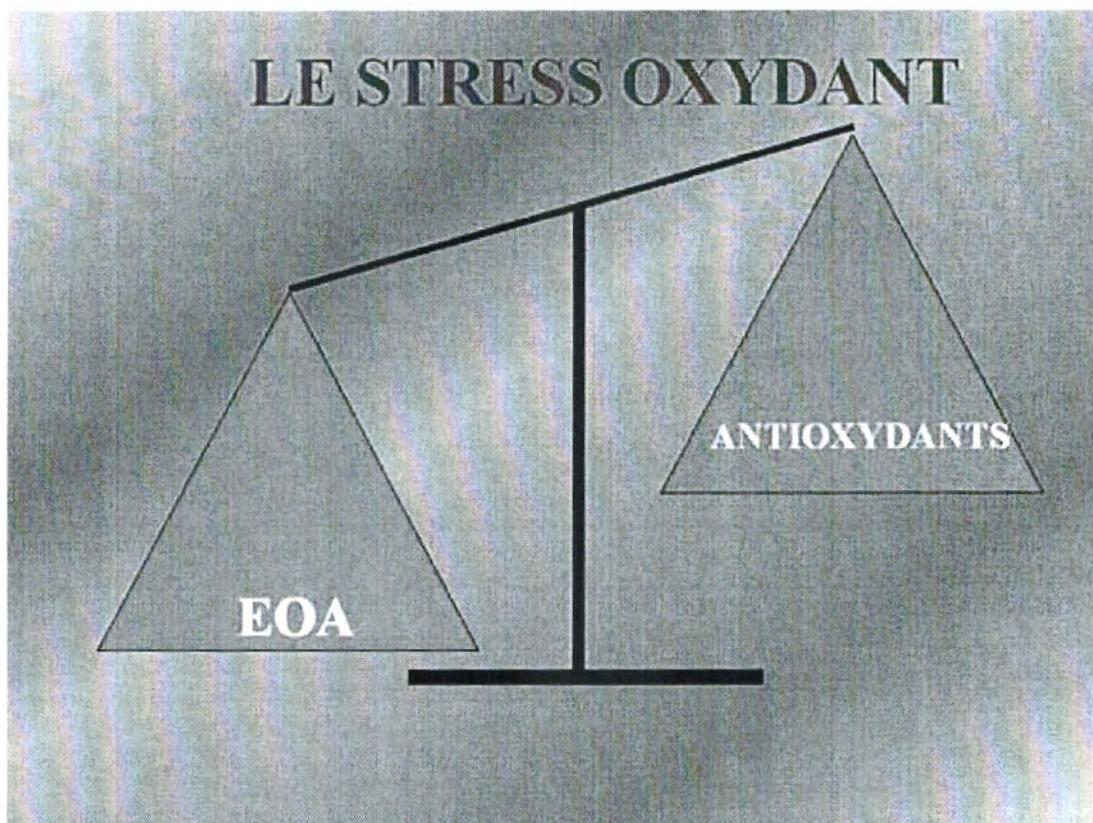


Figure 3. Rupture d'équilibre en faveur des antioxydants.

2.1. Les radicaux libres

2.1.1. Définition

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons manquants, ce qui le rend extrêmement réactif (Vansant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactif de l'oxygène (Favier, 2003)

L'appellation dérivés réactif de l'oxygène n'est pas restrictive elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactif non radicalaire dont la toxicité est importante tel peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite ($ONOO^-$) (Noveilli, 1997).

2.1.2. Principaux des radicaux libres

2.1.2.1. L'anion supéroxyde

La molécule, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion supéroxyde, cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.

2.1.2.2. Le radical hydroxyle

$OH\cdot$, il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto oxydation lipidique. Le radical peroxyde : $ROO\cdot$.

2.1.2.3. L'oxygène singulet

O^2 forme excitée de l'oxygène moléculaire est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité.

2.1.3. Origine des radicaux

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaire) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales tel la mort cellulaire programmée ou apoptose (Favier, 2003). Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production de super oxyde se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produit directement par les cellules phagocytaires activées. Le monoxyde d'azote, est produit par les systèmes enzymatiques que sont les différentes NO synthétase, à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages (Favier, 2003). Des sources importantes des radicaux libres sont les mécanismes de cycle redox que produit dans l'organisme l'oxydation des molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément soit surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome. Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante silice) sont aussi sources des radicaux libres (Favier, 2003). L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux (Hadi, 2004). L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production des radicaux libres dans l'organisme (Hosein et Lytle, 2001).

2.1.4. Les conséquences du stress oxydant

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques: l'oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides (Figure 4).

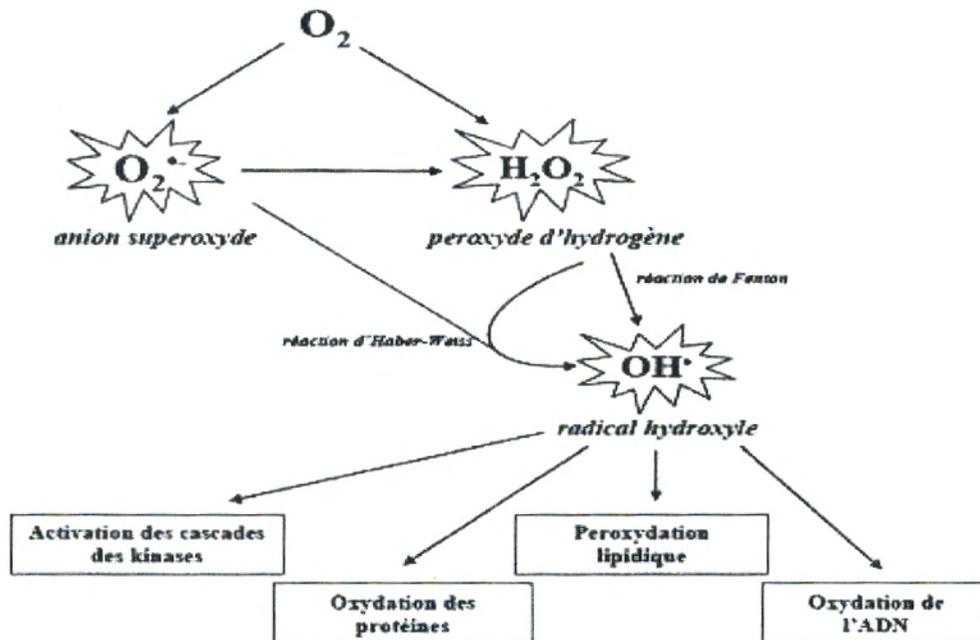


Figure 4. Oxydation des molécules biologiques.

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, réaction appelée peroxydation lipidique. Les conséquences seront différentes: l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation des LDL oxydés qui sont captés par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome (maladies cardiovasculaires), l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003)

Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou de ruptures de brins (Hadi, 2004). Ils inhibent la sécrétion d'insuline (Kriepette-Drews et al., 1994), modifient les structure primaires, secondaires et tertiaires des protéines (Pincemail et al., 1999).

Parailleurs, le glucose peut s'oxydé dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes , H_2O_2 et $OH\cdot$, qui entraîne la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde. Ce phénomène de glycooxydation est très important chez les diabétiques et contribuent à la fragilité de leurs paroi vasculaire et de leurs rétine(Favier, 2003).

Le stress oxydant est principalement cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu,œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003), maladie de Parkinson, les inflammation gastro-intestinale, ulcère (Atawodi, 2005), les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau (Géorgitti et al., 2003).

3. Les antioxydants

un antioxydant est définie comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (boyd et al., 2003). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensif (Vansant, 2004)

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyle, collectivement connus sous le nom d'oxygène actif (Boyd et al., 2003).

Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne et de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un autre acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. En même temps les antioxydants arrêtent la réaction, la plus part du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (Vansant, 2004).

D'un point de vue biologique les composés antioxydants peuvent protéger les systèmes cellulaires des effets des processus potentiellement nocifs qui causent l'oxydation excessive, ils sont la stratégie préventive la plus prometteuse contre la formation des cataractes (Hale, 2003)

3.1. Les antioxydants endogènes

3.1.1. Un système de défense primaire

Composé d'enzymes et de substances antioxydantes

- La superoxyde-dismutase (SOD) : Diminue la durée de vie de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$.

- La catalase: transforme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en simple molécule d'eau (localisé dans les peroxysomes).
- La glutathion peroxydase (Gpx): détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidique
- Les molécules piègeurs: le glutathion(GSH), l'acide urique, les protéines a groupement thiols, ubiquinone,...etc.

3.1.2. Un système de défense secondaire

composé d'enzyme protéolytique, des phospholipases, des ADN end nucléases et ligase, des macroxyprotéinases (Pincemail et al., 1998).

3.1.3. Les antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydant *in vivo* ont été proposé. Elle inclue la beta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également la capacité de lier les acides gras libres (Svoboda et Hampson., 1999).

3.1.1. La vitamine E

Est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés au radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement (Maydani, 2000) et la diminution de l'athérosclérose (Maydani, 2000). La vitamine E joue un rôle important dans l'agrégation de la beta amyloïde, d'ailleurs les données cliniques ont prouvé que les patients

d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la vitamine E (Pieroni et al., 2002).

Il a été déterminé que la vitamine E naturelle, semble être deux fois plus bio disponible que la vitamine E synthétique (Burton et al., 1998). La vitamine E est rencontrée surtout dans les huiles végétales, les noix et les germes de diverses graines (Vansant, 2004).

3.1.2. Les caroténoïdes

Sont une classe de composés photochimiques très importantes, trouvés dans les légumes et fruits, également dans le lait, empêchent les dommages génétiques, protègent contre les dommages oxydant en augmentant le métabolisme de désintoxication, empêchent l'expression des oncogènes, augmentent l'activité de communication des gap junctions.

Les exemples des caroténoïdes, incluent l'alpha carotène, bêta carotène, lycopène, phytofluène, phytoène, lutéine, neoxanthine, viloxanthine, anthéroxanthine, alpha cryptoxanthine et beta cryptoxanthine. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet. Cette chaîne polyène, par mécanisme d'addition, permet l'incorporation des espèces réactives ou radicaux libres et de ce fait ralentir leur propagation. Les caroténoïdes sont impliqués dans la prévention de nombreux types de cancer; cancer de la prostate; cancer du poumon (Hale; 2003).

3.1.3. La vitamine C

Est largement répandue dans les fruits (Vansant; 2004), l'influence sur les dégâts protéiques a été examinée dans des études d'apport de suppléments, principalement

sur des modèles de rats et il y a eu quelques essais chez l'homme. De façon intéressante, de supplémenter des volontaires sains pendant Cinque semaines avec de la vitamine c n'a aucun effet. Cependant, après 10 et 15 semaines de traitement, les taux de carbonyles ont été significativement abaissés (Carty et al., 2000). Ceci suggère que les autres études, qui n'ont pas réussi

4. Les maladies du stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire, Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Figure 5). La plus part des maladies incluent par le stress oxydant apparaissent avec l'Age car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondrial de radicaux.

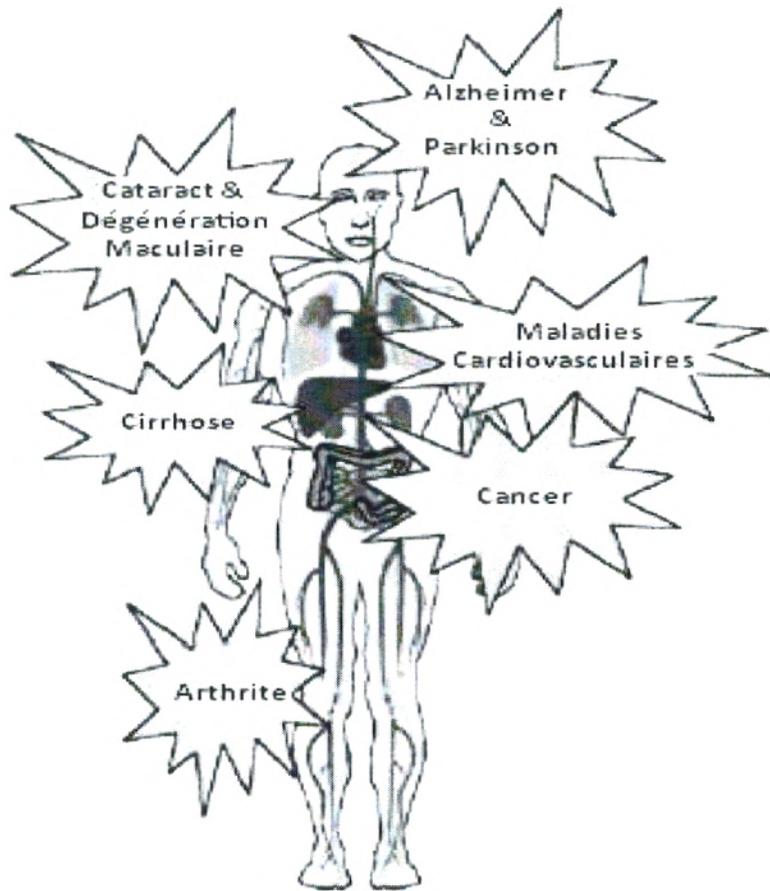


Figure 5. ROS et maladies: Les ROS endommagent les protéines, lipides et ADN entraînant des changements de structure et de fonction des structures biologiques et sont impliquées dans de nombreuses maladies.

Le vieillissement s'accompagne d'une altération globale d'un ensemble de fonctions physiologiques ainsi qu'une susceptibilité plus élevée face à différentes maladies. La théorie radicalaire explique ces altérations par l'accumulation de molécules oxydées et par conséquent l'apparition de mutations. La carbonylation des protéines, leur dénaturation, et leur agrégation, l'oxydation des lipides. Une élévation des marqueurs biologiques du stress oxydant comme la 8-oxo-guanine, le dialdéhyde malonique (MDA) et les isoprostanes a été observée au cours du vieillissement. En plus, l'efficacité des mécanismes de réparations cellulaires comme le protéasome, les protéines

chaperons, plusieurs enzymes réductrices et les systèmes de réparation de l'ADN diminuent avec l'âge, ce qui contribue à la fixation et l'accumulation des anomalies.

Tableau 1. Exemples de quelques maladies humaines associées avec des modifications de la concentration d'antioxydants :

Evolution de l'antioxydant	Situation pathologique
Diminution du vit C	Maladies respiratoires, pancréatite aiguë
Diminution de la vitamine E	Syndrome de détresse respiratoire, Choc septique
Diminution de Glutathion, Proteine-SH	Syndrome détresse respiratoire
Diminution de l'ubiquinone	Hyperlipédimie
Augmentation de l'acide urique	Phénomène d'ischémie – reperfusion.
Diminution du pouvoir antioxydant totale	Maladies respiratoires, maladies du foie, Naissance de prématurés.
Augmentation de la SOD	Leucémie, Hépatite, Diabète
Diminution de la SOD	Arthrite rhumatoïdes, Anémie de Fanconi

Les ROS sont impliquées dans plusieurs pathologies rénales et c'est durant la reperfusion qu'apparaissent les ROS mettant en jeu l'implication du stress oxydant dans les lésions d'IR (Ischémie reperfusion). Les ROS ont également été identifiées comme étant l'agent causal de la perte neurale dans la maladie d'Alzheimer, l'épilepsie, l'Ischémie cérébrale, la commotion cérébrale, la maladie de Parkinson, la sclérose amyotrophique latérale et dans le processus de vieillissement du cerveau.

Chapitre 4. Présentation des plantes étudiées

1. *Lavandula multifida* L.

1.1. Généralité

Les labiées constituent une famille étendue, mais très homogène (Gallinard, 1960) d'angiosperme, dicotylédones, gamopétales réunis dans l'ordre des tubiflorales (Encyclopediainiversalis, 1985). Cette famille est répartie en 7 sous familles (Roques, 1959) dont la plupart sont utilisées en parfumerie, en pharmacie et dans les préparations culinaires (Boumlique, 1995). Beaucoup de genres de labiées telle la lavande secrètent des essences volatiles très odoriférantes (Francois, 2002).

La lavande est définie comme une plante vivace de la famille des labiacées, dont le nom vient du latin (lavare) qui signifie (laver) (Le petit Larousse en couleur, 1998). Elle fait partie du genre *Lavandula* (BARDEAU, 1966) qui comprend 28 à 30 espèces d'arbustes ou d'arbrisseaux bénéficiant d'un climat sec de type méditerranéen (Brickell et Mioulane , 2002).

La culture de la lavande montre en plus de l'intérêt qu'elle présente pour la production des essences parfum et aussi du miel, un autre avantage, elle permet de fixer les sols et de limiter ainsi l'action de l'érosion (Laumonier, 1959).

La lavande croit sur les coteaux secs et rocailleux de la région méditerranéenne (Djerroum et Nacef, 2004) mais aujourd'hui elle se rencontre un peu partout dans le monde (jusqu'à 2000 m d'altitude) (Jean-Francois, 2003).

Le genre *Lavandula* regroupe une trentaine d'espèces, diverses variétés et de nombreux hybrides (Bœlens, 1995), les principales sont :

- *Lavandula latifolia*: (ou lavande aspic) elle est très répandue en Espagne cultivée dans les régions centrales et Sud-est (Garcia Vallejo et Coll., 1989).
- *Lavandul aofficinalis*: (ou lavande vraie) elle est originaire de l'Ouest de la méditerranée (Fournier, 1947). on appelle aussi lavande femelle (Baba Aissa, 1999).
- *Lavandula angustifolia*: c'est une plante aromatique poussant spontanément dans les régions méditerranéennes, sur les coteaux ensoleillés et les montagnes jusqu'à 1800 m d'altitude (Anton et Wichtel, 1999).
- *Lavandu lalanta*: (lavande laineuse) : espèce originaire des montagnes du Sud de l'Espagne (Garcia Vallejo et Coll., 1989).
- *Lavanduladentata*: cette lavande existe et croit en Espagne, au Maroc et en Algérie, elle est proche de lavande stœchas (Becker et Coll., 1982).
- *Lavandula stoechas*: c'est une espèce silicicole sensible au froid (Garnier et Coll., 1961), elle croit dans la région du littoral méditerranéen du Portugal à l'Asie mineure (Mourre, 1923).

1.2. Origine et répartition

Lavandula multifida se développe dans toute l'Algérie, sauf dans le tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa, 1963). Elle est fréquente dans les subérais, les garrigues, les broussailles et les pâturages des terrains marneux et rocaillieux des plaines et des moyennes montagnes jusqu'à 1200 m. Elle fuit l'argile et la trop humidité (Bellakhdar et Coll., 1986).

1.3. Nomenclature

Selon les régions, *Lavandula multifida* est connue sous différents noms :

- Kohhila: Maroc (Bellakhdar, 1978).
- Klila dial amir: Tlemcen (Bellakhdar et Coll., 1986).
- Hlilhla: Beni-saf.
- Djaada: Ouchba. Le même nom est donné pour *Lavanduladentata* (KLAUS, 1991).

1.4. Description

Lavandula multifida (Figure 6) est une plante sous frutescent à souche épaisse, à nombreuses tiges quadrangulaires atteignant 50 cm de hauteur et parfois davantage. Les feuilles, multifides et pétiolées présentent une pilosité identique à celle des tiges, c'est à dire plus dense à la base qu'au sommet (Bellakhdar et Coll., 1986). Les fleurs de 7 à 8 mm en épis (les épis ont en général moins de 3 cm mais parfois jusqu'à 7 cm) (Brickelle et Mioulane, 2002), ont une couleur bleu violacée (Quezel et Santa, 1963 ; Brickell et Mioulane, 2002). Les inflorescences sont denses de fleurs insérées à l'aisselle d'une bractée velue, dont la morphologie représente un caractère différentiel important à l'intérieur du genre (Bellakhdar et Coll., 1986).

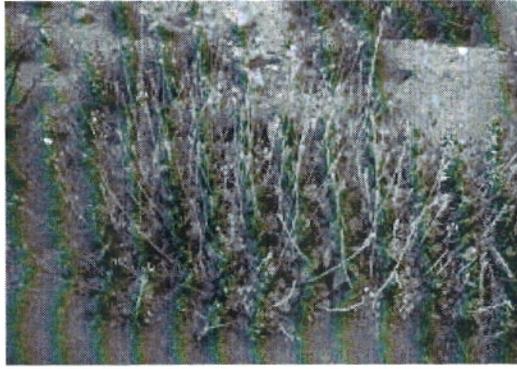


Figure 6. Plante entière, *Lavandulamultifida*.

1.5. Classification

Le tableau 2 montre la place dans la classification botanique de *Lavandula multifida* L.

Taxonomie	Espèce
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopetales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>multifida</i>

- *Lavandula multifida* a été traditionnellement utilisée comme plante aromatique, culinaire décoratif, cosmétique et dans des butes médicinaux (Maganga, 2004).

- Le genre *Lavandula multifida* fournit plusieurs huiles essentielles importantes à l'industrie des parfums (Wiesenfeld, 1999)
- La plante est employée comme expectorant, antispasmodique, carminatif, bon désinfectant des plaies
- L'huile employée comme remède contre les affections du colon, soulager les maux de tête (Gören et al, 2002).

2. *Daucus crinitus* L.

2.1. Description botanique

Selon Lamark et Poiret (1811), cette espèce est remarquable par les poils nombreux, mous, allongés, blanchâtres ou violets dont les semences sont chargées. Les tiges sont simples ou à peine rameuses, droites, rudes, légèrement striées, hautes de deux à trois pieds ; les feuilles distantes, longuement pétiolées ; les folioles glabres, filiformes, courtes, nombreuses, inégales, aiguës, divariquées, un peu roide, les pédoncules simples, très lisses, souvent longs d'un pied ; l'involucre composé de huit à dix folioles linéaires, pinnatifides à leur sommet ; les découpures aiguës, inégales ; les folioles des involucre partiels presque simples ; l'ombelle plane, touffue ; les ombellules touffues ; la plupart des fleurs centrales ont une avortée, les pétales blancs presque égaux ; les semences à demi cylindriques. Les fleurs, froissées, entre les doigts, répandent une odeur aromatique. Cette plante croît sur les monts Atlas et sur les collines incultes, aux environs de Mascara et de Tlemcen ; elle fleurit au commencement du printemps.

Selon Pujadas Salvà (2003), c'est une plante pérenne, de (18) 24-115 cm, dressée, ramifiée ou non au niveau de la base. Tiges scabrides à poils rétroscées. Feuilles basales 3-4 pinatiséquées, avec des segments sessiles ou sous-sessiles apparemment verticillées,

avec des divisions de dernier ordre linéaires-lancéolées ou linéaires, longuement apiculées, avec pétiole et rachis scabrides à poils rétrorses, le rachis parfois sous-glabre, nervure sous-glabre ou avec poils antrorses dispersés ; les supérieurs similaires aux basales 1-3 pinatiséquées. Ombelle longuement pédonculées, légèrement convexes, parfois planes, non contractées à la fructification, avec (9) 15-25 (30) rayons de (15)35-70 (95) mm d'inégaux à sous-égaux, scabrides à poils patents ou rétrorses . Bractées 5-10, de longueur beaucoup plus petite que celle de rayons adpressées ou patentés, indivisées linéaires-lancéolées, trifides ou pinatiséquées avec des lobules linéaire-lancéolés scabrides à poils antrorses, avec une large marge scarieuse. Bractéoles 5-9 de longueur inférieur ou égale à celle des fleurs, indivisées linéaires-lancéolées, parfois bifides, trifides ou pinnatiséquées avec des lobules linéaires-lancéolées, adpressés, avec une nervure medianescarbide et une large marge scarieuse. Sépale jusqu'à 0.4 mm, triangulaire, caducs, pétale largement obovales, avec le cœur abruptement acuminé, incurvées, glabre, bancs.

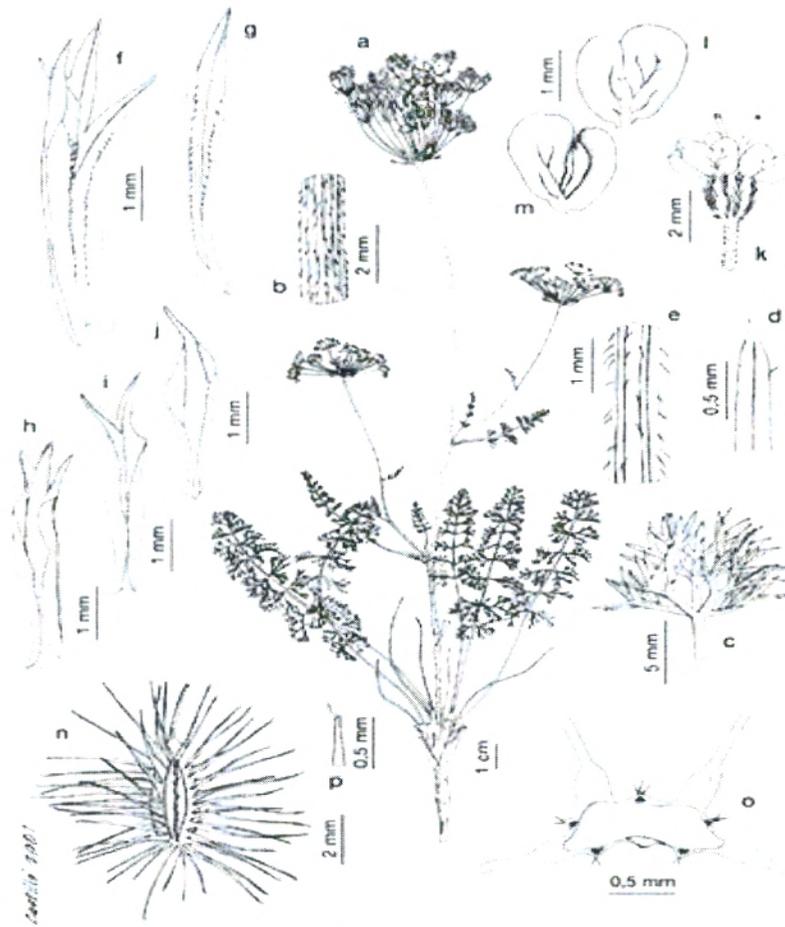
2.2. Classification botanique

L'espèce étudiée est connue par deux nomenclatures botaniques qui sont considérées comme synonymes : *Daucus crinitus* Desf. (par référence à René Louiche Desfontaines) et *Daucus meifolius* Brot. (par référence à Félix de Silva AvellarBrotero). La systématique la plus récente des deux nomenclatures suit les hiérarchie de SystémaNaturae 2000 (Brands, 1989-2005) (Tableau 3).

Tableau 3. Classification botanique de *Daucus crinitus* L.

Taxonomie	Espèce
Embranchement	<i>Tracheophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Euphyllophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Cornidae</i>
Ordre	<i>Araliales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Sous-famille	<i>Apiioidea</i>
Genre	<i>Daucus</i>
Espèce	<i>crinitus</i>
Espèce	<i>Daucus crinitus</i>

L'espèce a pour nom commun (bouzeffour) chez les habitants de la région de Tlemcen ; elle est connue aussi par les noms (carotte à semences chevelues) (Lamarck et Pioret, 1811). En Algérie (Figure 7), cette espèce pousse fréquemment aux environs de Tlemcen et Mascara à côté de la frontière marocaine et aux environs d'EL-Taraf à côté de la frontière tunisienne.



Lám. 30 -*Daucus crinitus*, a, b, f-m) Magacela, Badajoz (MAF 87234), c-e) Belvis de la Jara, Toledo (JACA 42667), n-p) pr. Espiel, Sierra Morena, Córdoba (COA 8937). a) hábito, b) detalle del tallo, c) detalle de una hoja, haz, d) detalle del ápice de una división foliar de último orden, haz, e) detalle del pecíolo, f, g) brácteas, h-j) bractéolas, k) flor, l) pétalo, cara externa, m) pétalo, cara interna, n) mericarpo, o) sección transversal de un mericarpo, p) detalle de una espina de un mericarpo.

Figure 7. *Daucus crinitus* L.

3. *Thymus fontanesii* Desf.

3.1. Généralité

Le terme (thym) est apparu dans la langue française au 18ème siècle, d'abord sous la forme de (thym), selon certaines sources, il est dérivé du latin thymus, qui l'a emprunté du grec thymos, signifiant de façon quelque peu obscure (gros ou loupe). D'autre pense que le mot vient du grec thymosouthyein, qui signifie (fumé),

par allusion au fait qu'il était jadis brûlé comme encens et qu'on lui attribuait alors le pouvoir d'éloigner les créatures venimeuses. D'autres, enfin font dériver le mot du grec *thymus* qui signifie courage, la plante étant jadis considérée comme revigorante.

3.2. Caractéristiques botaniques

Les thymus (*thymus*) sont des plantes bases sous-ligneuses, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vertes foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes appelés trichomes. Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono terpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi recouverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose.

3.3. Classification botanique

Tableau 4. Classification botanique de *Thymus fontanesii* Desf.

Taxonomie	Espèce
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dycotilédones
Sous classe	Métachlamydées
Ordre	Tubiflorales
Sous ordre	Verbéninées
Famille	Labiacées

3.4. Répartition géographique en Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thym de la famille de lamiacées ou labiées, comprend plusieurs espèces botaniques répartie sur tout le littorale et même dans les régions interne jusqu'aux zones arides. Il est représenté en Algérie par des nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement.

Partie 2. Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Les trois espèces étudiées dans ce travail ont été récoltées de différentes localités situées dans la wilaya de Tlemcen en pleine inflorescence. Ces plantes se trouvent en abondance à l'état sauvage. La Figure 5 représente bien la distribution géographique des lieux de récolte. Concernant le matériel végétal récolté, juste la partie utilisée traditionnellement a été sélectionnée et séchée pendant 10 jours (Tableau 5).

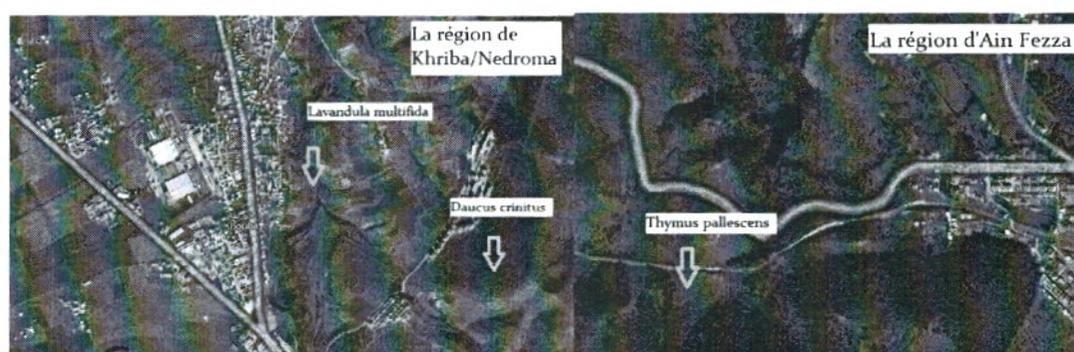


Figure 8. Répartition géographique des lieux de récolte.

Tableau 5. Données sur les espèces végétales étudiées.

Espèce	Appellation	Organes utilisés	Utilisation en
	locale	traditionnellement	alimentation
<i>Lavandula multifida</i>	<i>Kehila</i>	La partie aérienne	Assaisonnement
<i>Daucus crinitus</i>	<i>Bouzeffour</i>	Les racines	Assaisonnement
<i>Thymus fontanesii</i>	<i>Zatâr</i>	Les feuilles	Assaisonnement

2. Hydrodistillation des huiles essentielles

La grande majorité des huiles essentielles est produite par distillation. Cependant, il existe différents procédés utilisés. Dans chaque d'eux, l'eau est chauffé pour produire de la vapeur, qui transport les produits chimique les plus volatiles de ma matière aromatique avec elle. La vapeur est ensuite réfrigérée (dans un condensateur) et le distillat obtenu est recueilli. L'huile essentielle va normalement flotter au-dessus de l'hydrosol (la composante de l'eau distillée) et peut être séparée.

Pour notre travail, nous avons utilisé l'hydrodistillation. C'est la plus simple technique parmi toutes les techniques d'extraction des huiles essentielles. L'extraction des huiles essentielle a été conduite dans un appareil de type Clevenger modifié (Figure 9). La durée de la distillation est un facteur de grande importance dans la détermination des rendements en huiles essentielles, dont la plus part contiennent de nombreux constituants de volatilités différentes, et il est impossible en pratique de mener une distillation à sa fin. Toutefois, pour un type d'huile essentielle, au-delà d'un certain temps, la distillation donne des quantités d'huile essentielles négligeable. Une série de distillation permet de déterminer ce temps nécessaire.

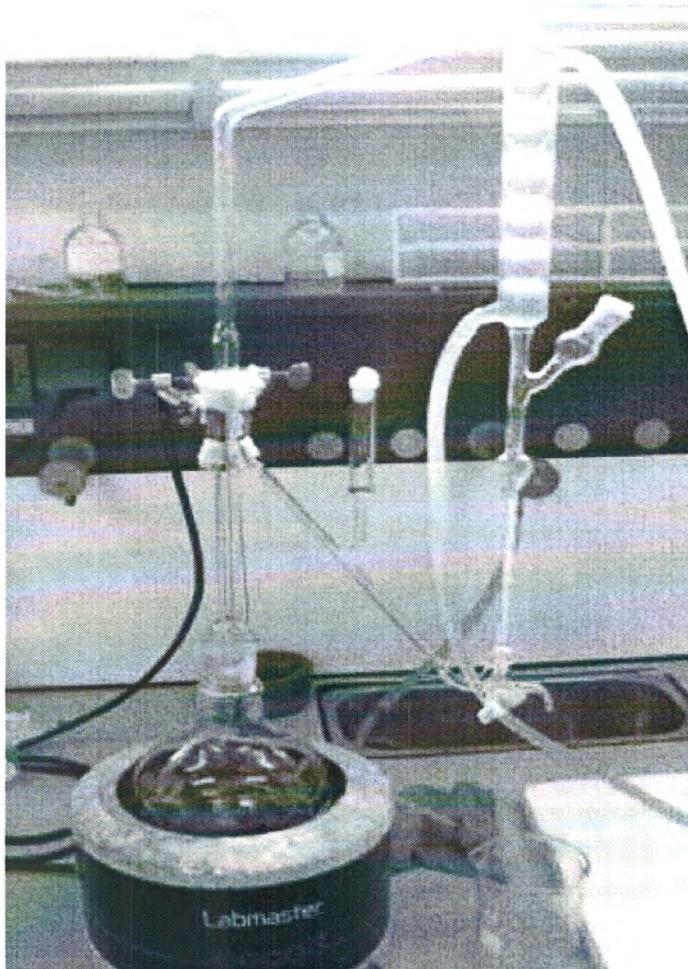


Figure 9. Montage de type Clevenger.

Il est constitué d'une chauffe ballon, un ballon en verre pyrex ou l'on place 10g de la matière végétale et 100ml d'eau distillé, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation. L'huile essentielle obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à 4°C et à l'ombre.

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter (Carré, 1953). Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante: $R = PB/PA \times 100$.

3. Préparation des extraits bruts

3.1. Extraction

L'obtention des extraits bruts a été effectuée à partir du matériel végétal séché et pulvérisé dans un montage de type Soxhlet (Figure 10) par trois solvants, à savoir l'hexane, l'éthanol et l'eau distillé. Les extractions ont été réalisées successivement par ordre croissant de polarité. Les extraits obtenus ont été concentrés à l'aide d'un rota évaporateur à une concentration standard de 50 mg/ml, puis stockés à 4°C dans l'obscurité.

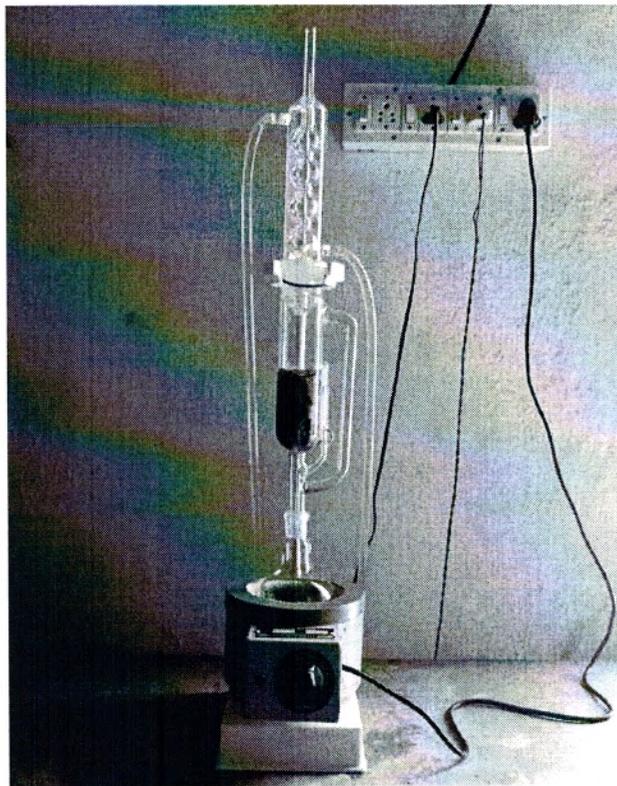


Figure 10. Montage de type Soxhlet.

3.2. Calcule des rendements

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon pleine et le poids du ballon vide.

3.3. Dosage des poly phénols

L'étude quantitative en polyphénols des extraits (éthanolique,, hexanique et aqueux) au moyen des dosages spectrophotométries. Une quantité de 200 µl des extraits de la plante est mélangé avec 1ml du réactif de **Folin-Ciocalteu** fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0,8ml de carbonate de sodium à 7,5% Na₂CO₃. L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (UV/VIS OPTIZEN) à 765nm.

Une courbe d'étalonnage ($y = ax + b$) a été réalisée en parallèle par l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec de la plante en appliquant la formule suivante :

$$C=(c \times V) / m$$

C : La teneur en phénols totaux (mg d'ac. gallique / g de matière sèche).

c: La concentration de l'ac. gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

V: Volume de l'extrait méthanolique ou aqueux

m: Le poids de la matière sèche (g).

4. Extraction des flavonoïdes

4.1. Procédure

On a employé les solutions méthanoliques pour l'extraction des flavonoïdes, méthode décrite par Upson et al. (1999).

- Pour 10g de plante séchée et rendu en poudre placé dans un récipient en verre (fiolle ou bécher), couvert de 20ml de MeOH aqueux 70%
- Le tout est chauffé à 70°C pendant 5 minutes (ce procédé tue le tissu végétal, empêchant l'oxydation ou l'hydrolyse enzymatique).
- L'échantillon est laissé macérer durant une nuit (24heures).
- Après une première filtration sur papier filtre n°589, 13 cm de diamètre,
- Le filtrat est évaporé sous vide à sec en utilisant un Rota vapeur à la température de 45-50°C.
- L'extrait est ensuite récupéré par l'eau tiède à 50°C.
- La solution est soumise à une extraction de type liquide/liquide à l'aide d'une ampoule à décanter par deux solvant successivement, le n-butanol et l'acétate d'éthyle.
- Les deux extraits sont récupérés avec le DMSO après évaporation à sec (notant ici que la quantité de départ de la plante sous forme de poudre mis à l'extraction est de 20g et que l'extrait sec résultant est solubilisé dans 5 ml de DMSO).
- L'extrait sec en solution est conservé à +5°C.

4.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïde a été déterminée spectrophotométriquement selon la méthode décrite par Upson et al. (1999). Une quantité de 1ml de l'extrait de chaque plante a été mélangée avec 0,4ml d'eau distillé et par la suite avec 0,03ml d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 à 5%.

Après 5 minutes, 0,02ml d'une solution d' AlCl_3 à 10% a été ajouté. Après 5 minutes on additionne au mélange 0,2 ml de solution de Na_2CO_3 1M et 0,25ml d'eau distillée. L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 510 nm.

La teneur en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage ($y=ax+b$) réalisée par la catéchine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons.

5. Activité antiradicalaire. Méthode de piégeage de radical libre DPPH

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 col (2001). Les composés antioxydant présents dans les extraits de nos espèces végétales peuvent réduire le radical libre (DPPH) selon la réaction suivante : $\text{DPPH}\cdot + \text{AH} \longrightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}\cdot$

La réaction DPPH. S'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution, mesurable à $\lambda=517$ 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 de 48h à l'obscurité. On prend 50 μl de l'extrait à différentes concentration (g/l) on lui ajoute 1.95 ml de DPPH dessous dans le méthanol. On incube à la température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. On mesure la

densité optique à λ 517 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.

$$I\% = ((A_t - A_e) / A_t) \cdot 100 \text{ (Wang et Col, 2002).}$$

Où A_t : L'absorbance de DPPH 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 phénolique n'étant pas linéaire mais logarithmique (plateau atteint vers 80% d'inhibition), Les extrait 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 (μ g) de composés phénoliques nécessaire pour obtenir 50 % d'inhibition.

Partie 3. Résultats et discussion

1. Rendement en huile essentielle

Les huiles essentielles ont été extraites des matériaux végétaux secs, le rendement en huile essentielle varie beaucoup avec la plante utilisé (figure 11), le matériel employé pour l'extraction et la période de récolte. *Lavandula multifida* ne renferme que des traces d'huiles. Alors que pour les deux autres plantes, le rendement était largement variable où *Thymus fantasia* présente le rendement le plus élevé. En revanche, *Daucus crinitus* présentent un rendement moyen de 1,5 %.

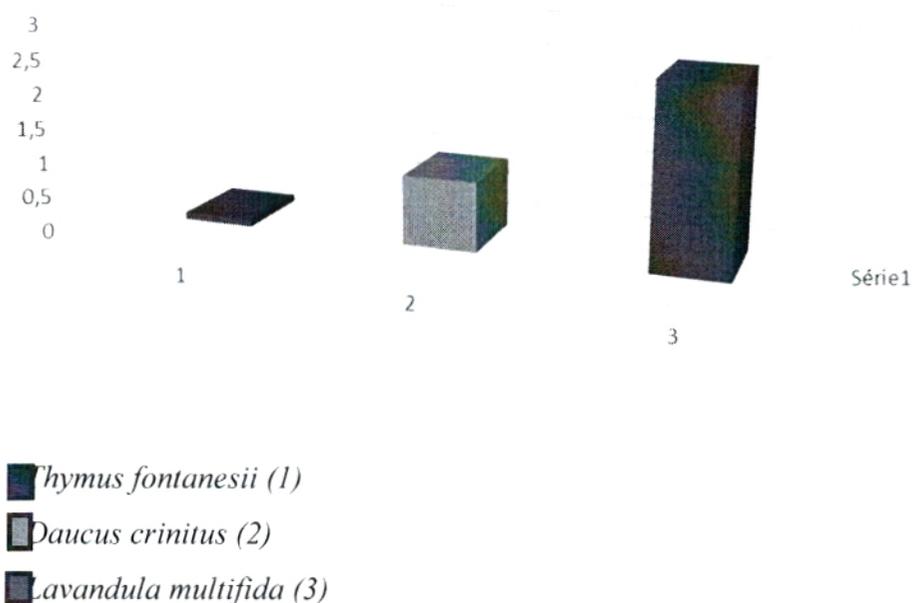


Figure 11. Teneur en huile essentielle.

2. **Taux de polyphénols** : Les teneurs en polyphénols totaux sont rapportées en équivalent gramme de l'acide gallique (figure 12).

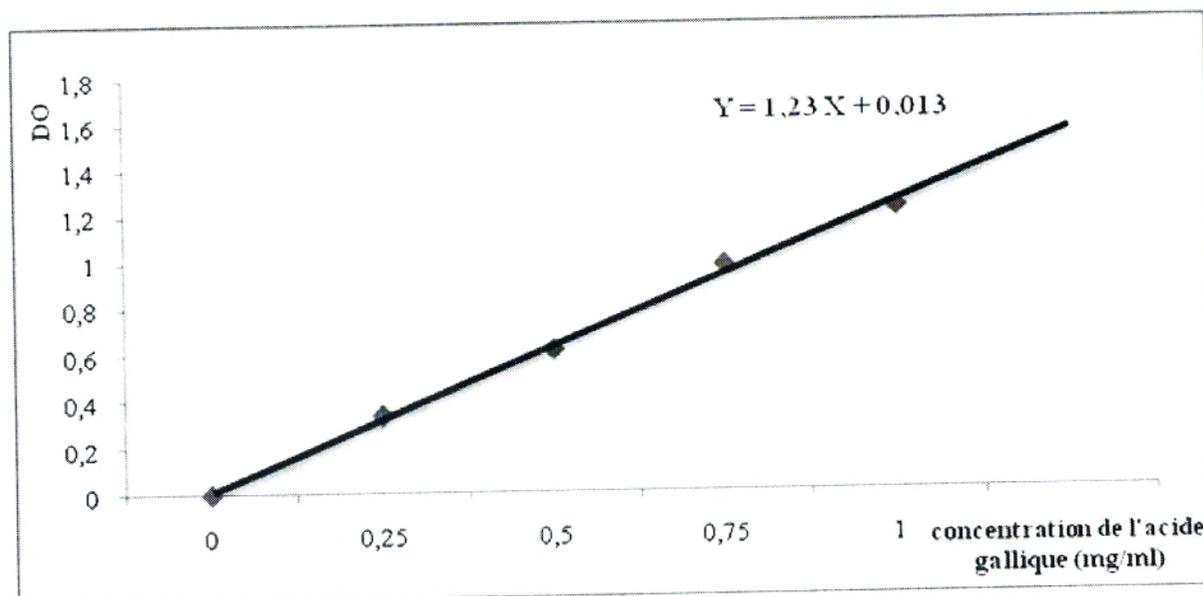


Figure 12. Courbe d'étalonnage des polyphénols.

L'étude quantitative en polyphénols des extraits au moyen des dosages spectrophotométriques est présentée par la figure 13.

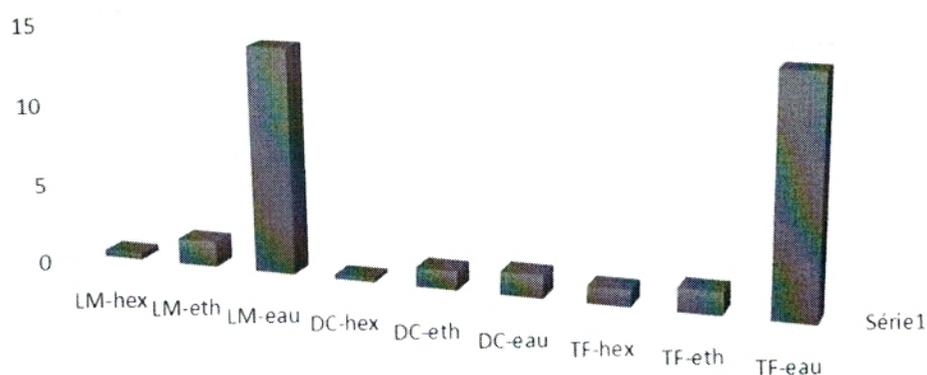


Figure 13. Teneur en polyphénols totaux des différentes plantes (g/100g de poids sèche de la plante).

On remarque que les extraits aqueux de lavandula et de Thymus sont riches en polyphénols.

3. Taux des flavonoïdes

Une courbe d'étalonnage a été tracée pour doser les flavonoïdes, réalisée avec un extrait de catéchine (figure 14).

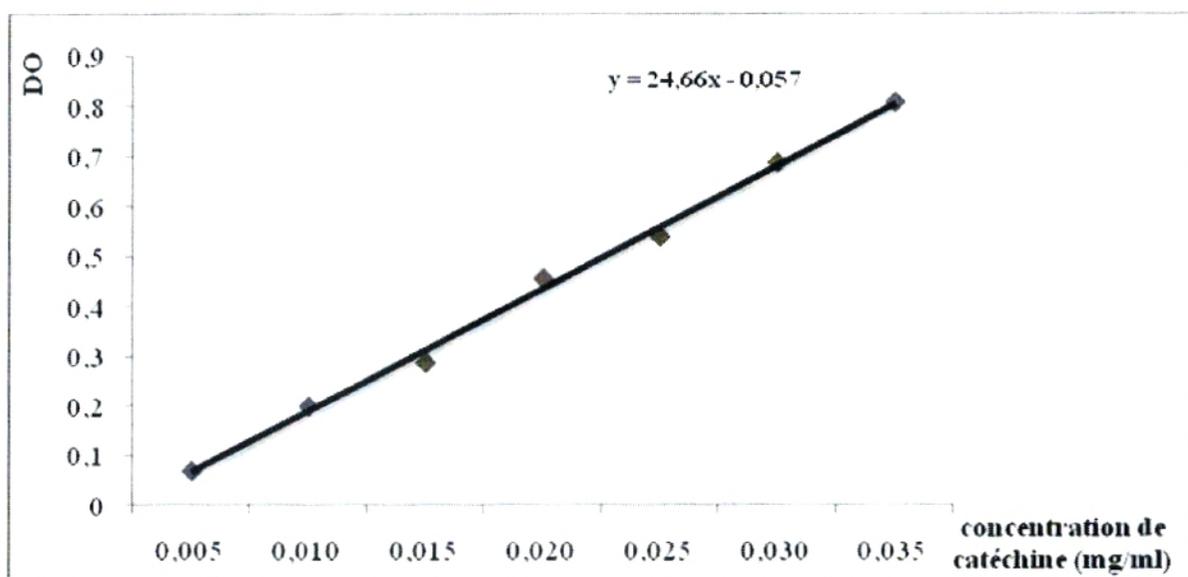


Figure 14. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes des fractions brutes, d'acétate d'éthyle et N-butanol sont donnés par les figures 15. Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent gramme de l'étalon utilisé et déterminés par l'équation de type: $y = ax + b$.

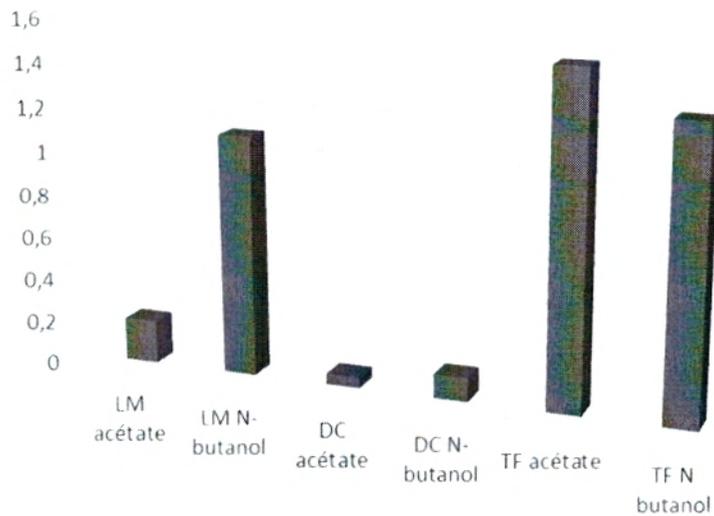


Figure 15. Teneur en flavonoïdes (g/100g de matière végétale).

Selon les figures ci-dessus, on remarque que *Thymus fontanesii* renferme le taux le plus élevés des flavonoïdes, dont la fraction acétate 1,5% et N-butanol 1,31%, alors qu'on a constaté des quantités infimes pour le *Daucus crinitus* et *Lavandula multifida*, dont les résultats sont respectivement : Acétate d'éthyle (0,05% ; 0,2%), (N-butanol 0,1% ; 1,1 %).

4. Résultats des tests du pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

Afin de comparer cette activité à celle de l'acide ascorbique et BHT, des courbes d'étalonnage sont réalisées et tracées dans les figures 16 et 17.

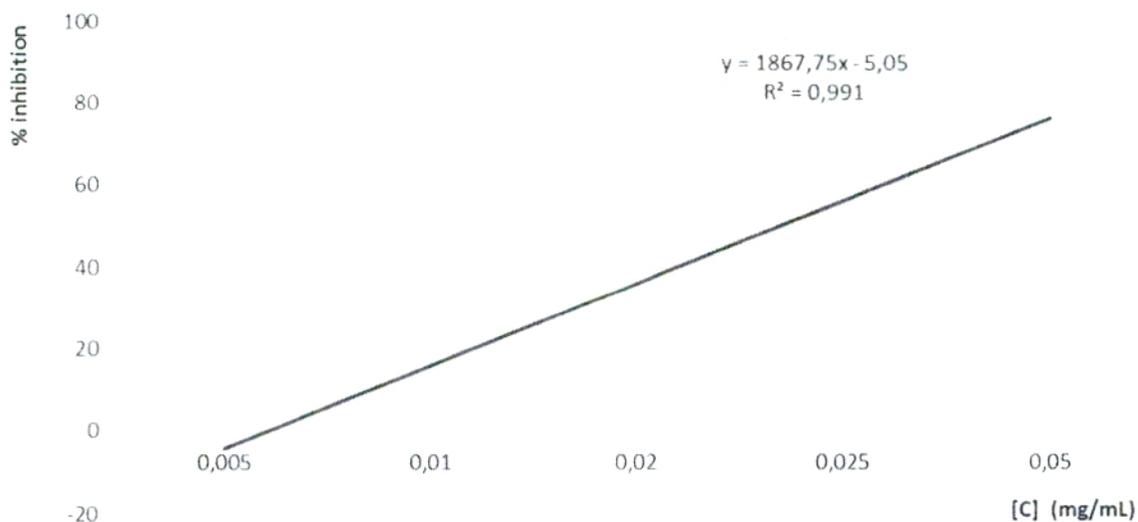


Figure 16. Pourcentage d'inhibition en fonction de la différente concentration de l'acide ascorbique.

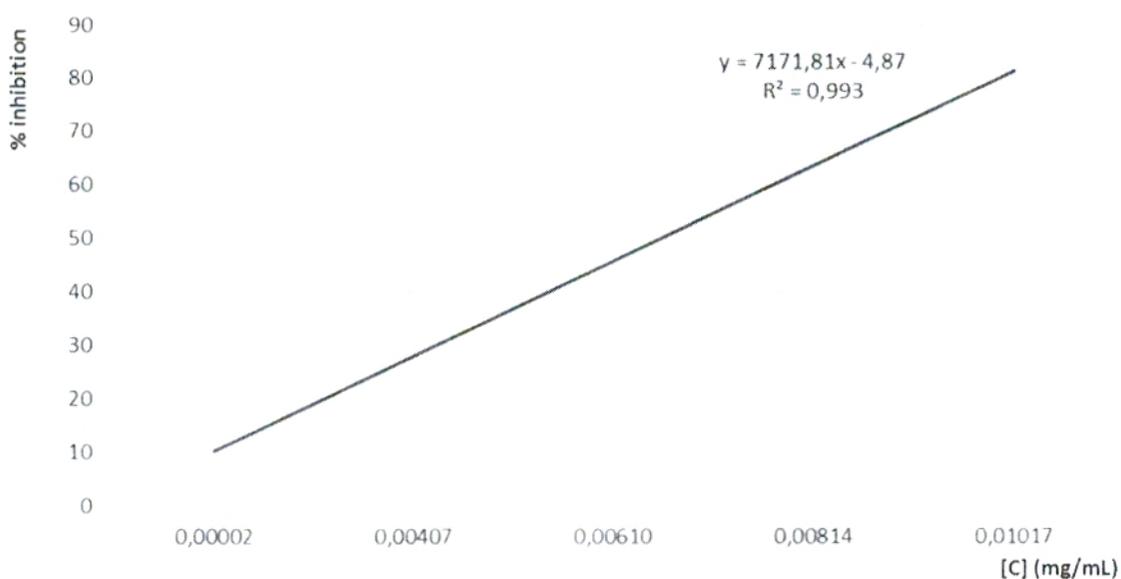


Figure 17. Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de BHT.

Les résultats au DPPH en fonction des concentrations d'HE, extraits bruts (extrait hexanique, éthanolique et aqueux) et des fractions flavonoïdiques (acétate d'éthyle ; N-butanol) sont présentés par les figures suivantes de 18 à 34 :

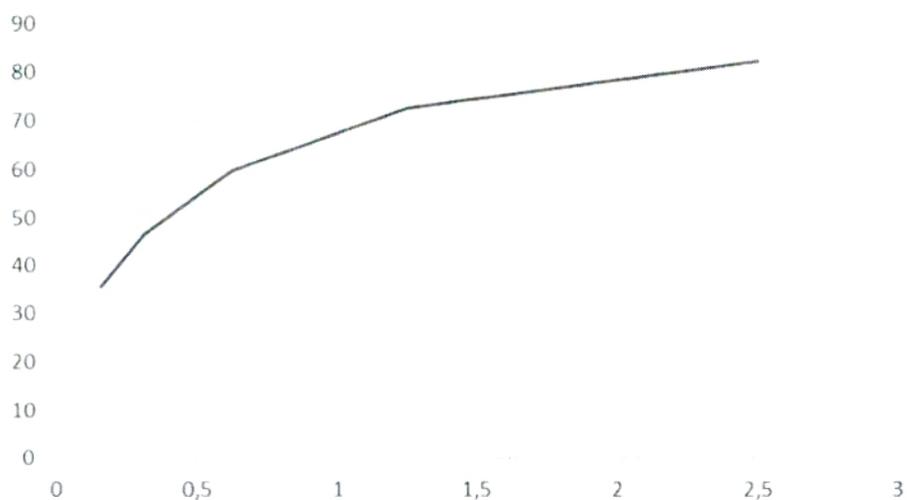


Figure 17. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'HE (*Lavandula multifida*).

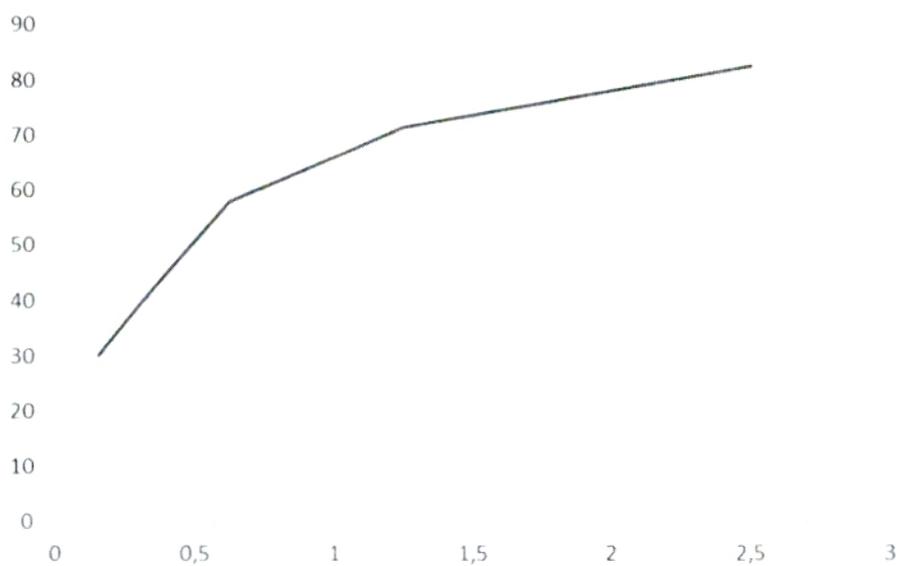


Figure 18. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'HE (*Thymus fontanesii*).

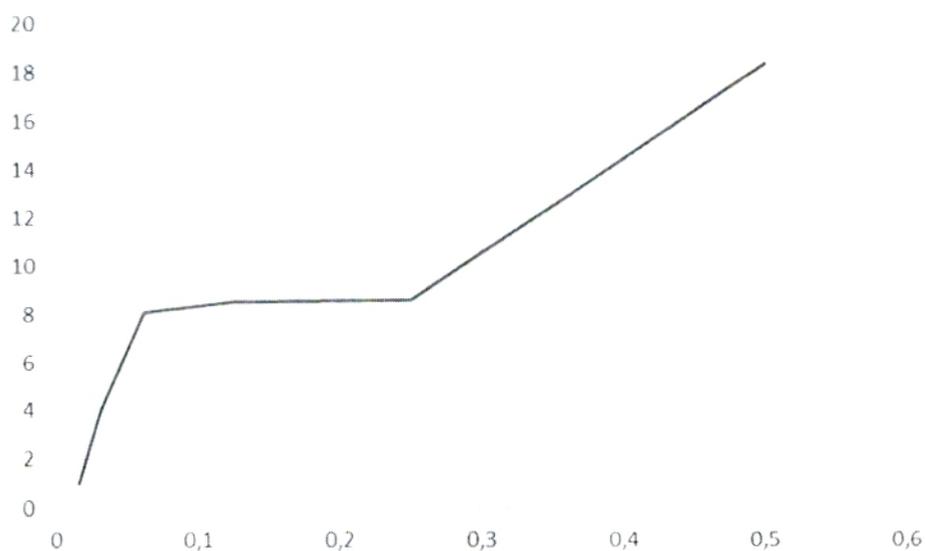


Figure 19. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'HE (*Daucus crinitus*).

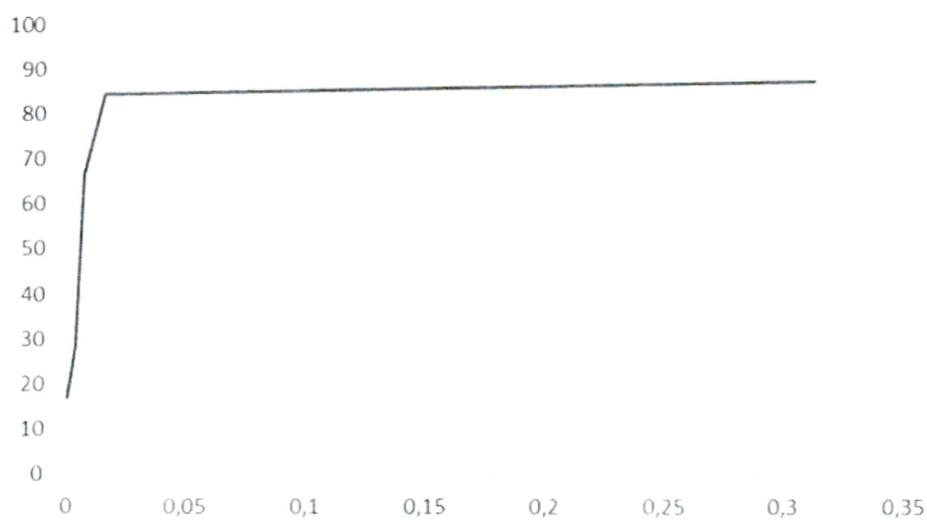


Figure 20. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait aqueux (*Lavandula multifida*).

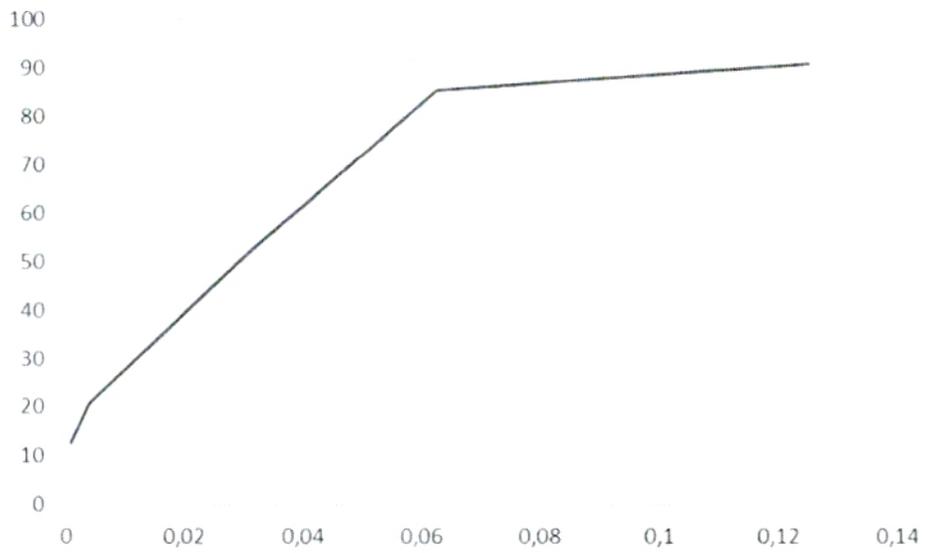


Figure 21. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extraits éthanolique (*Lavandula multifida*).

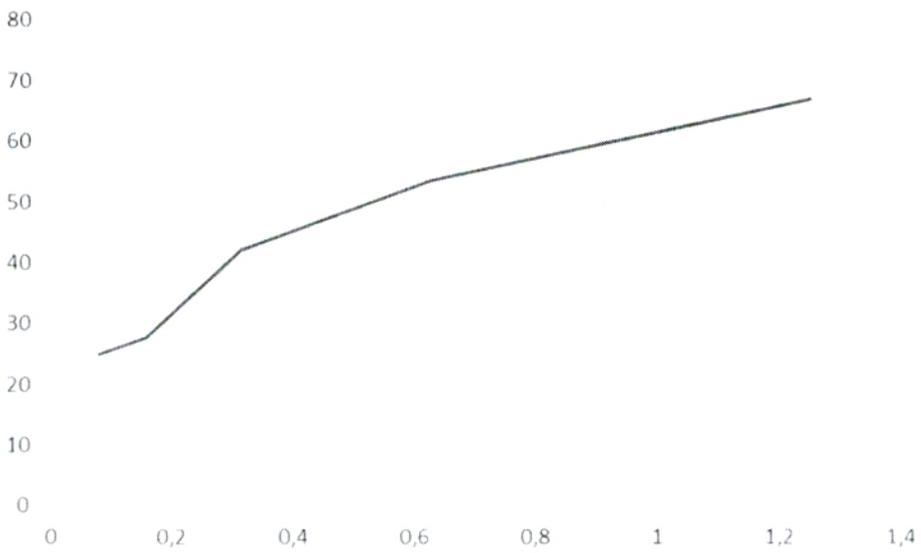


Figure 22. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait d'hexane (*Lavandula multifida*).

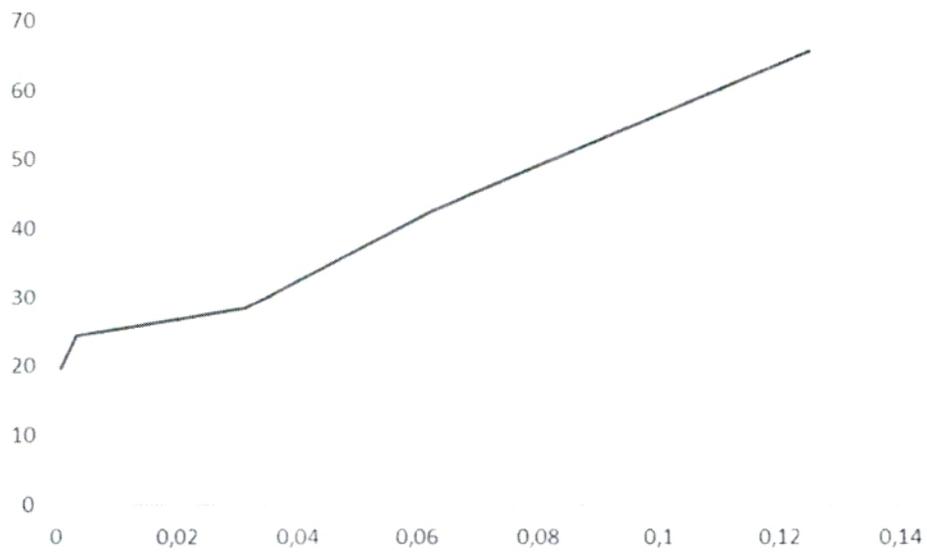


Figure 23. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait flavonoïdique, fraction N-buthanol (*Lavandula multifida*).

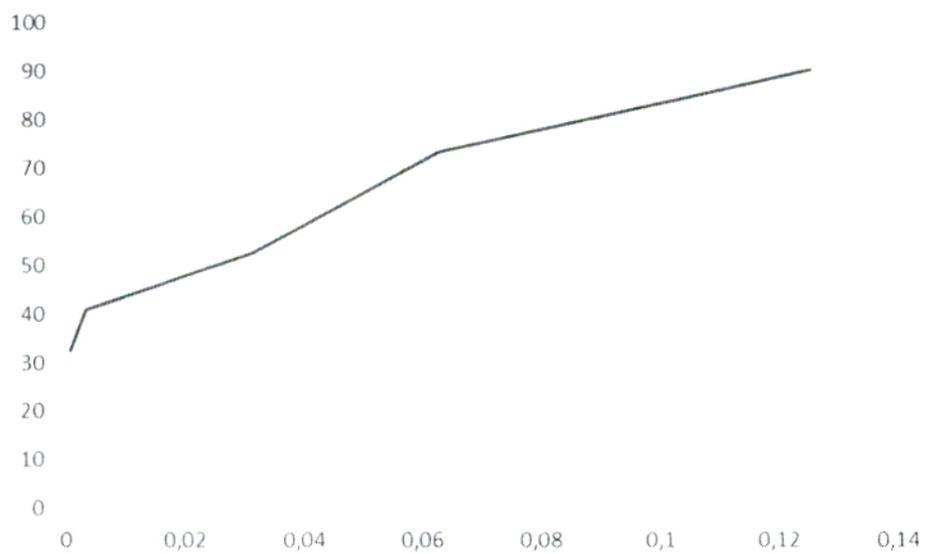


Figure 24. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait flavonoïdique, fraction acétate d'éthyle (*LM*).

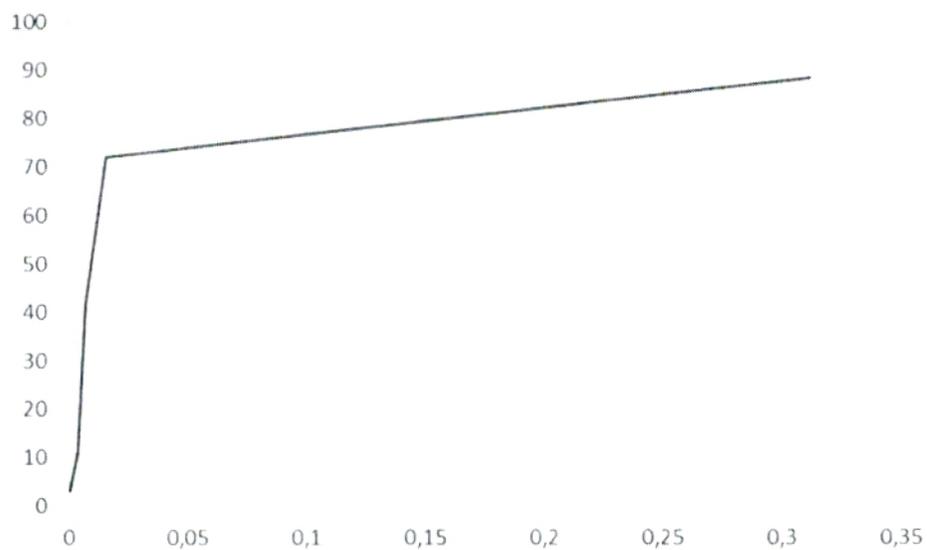


Figure 25. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait aqueux (*Thymus fontanisia TF*).

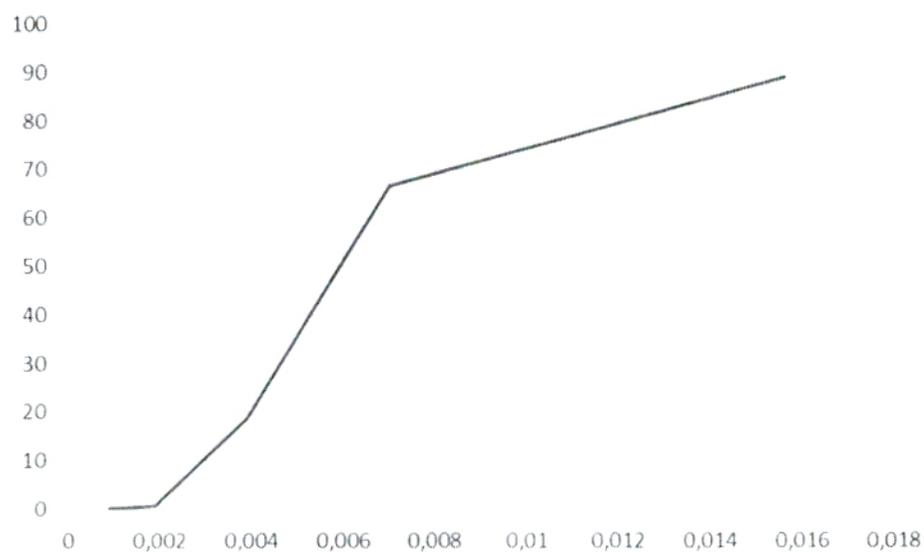


Figure 26. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait éthanolique (*TF*).

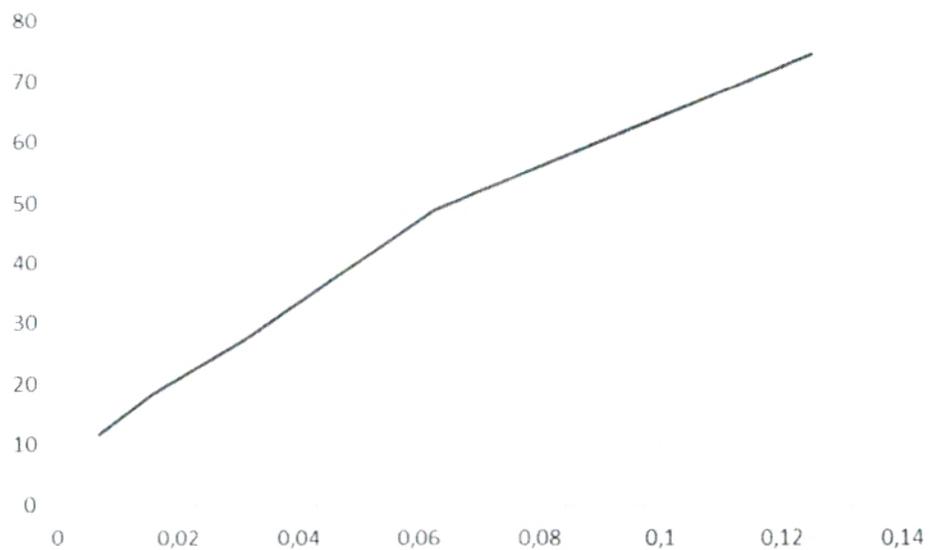


Figure 27. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentration d'extrait d'hexane (*TF*).

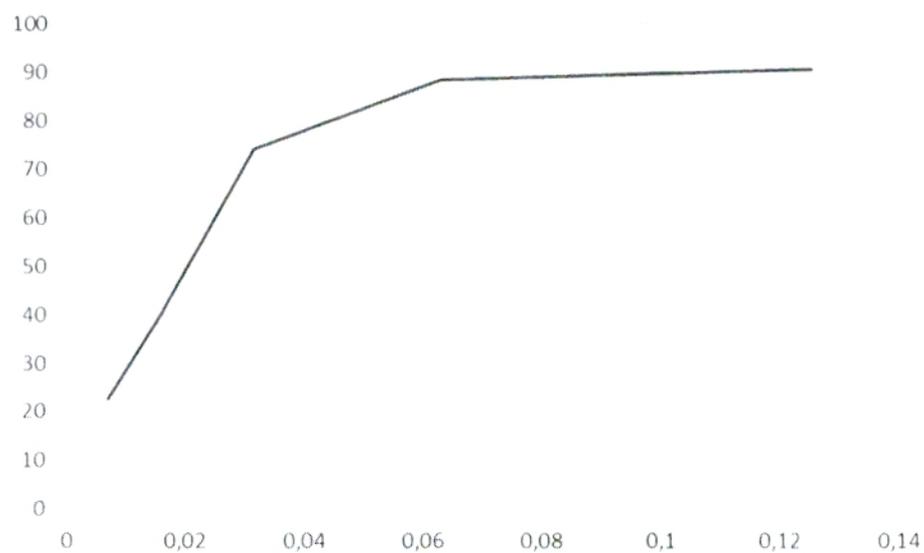


Figure 28. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations des flavonoïdes, fraction N-buthanol (*TF*).

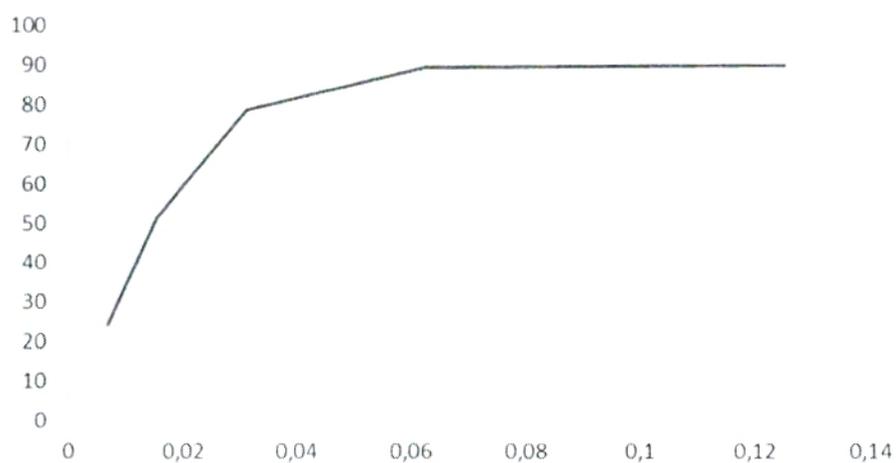


Figure 29. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations des flavonoïdes, fraction acétate d'éthyle (TF).

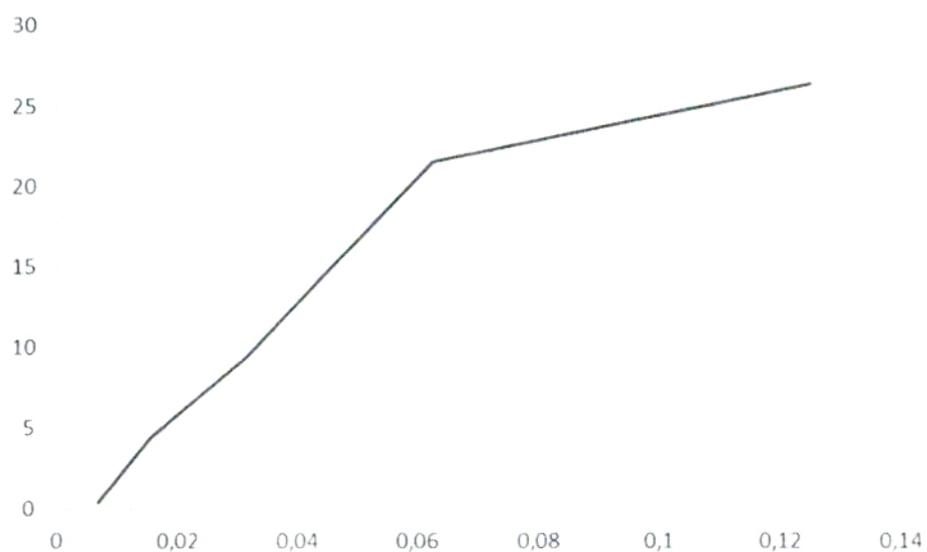


Figure 30. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait aqueux (*Daucus crinitus*).

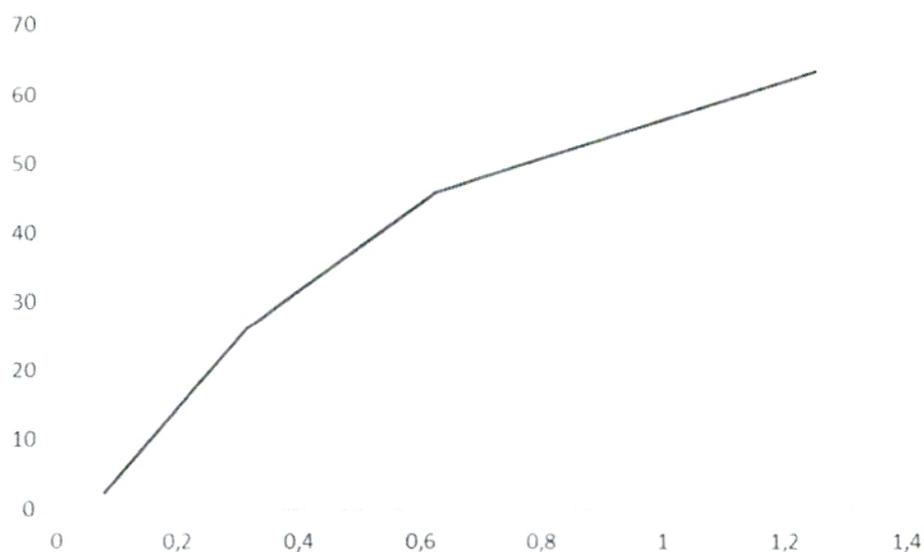


Figure 31. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait éthanolique (DC).

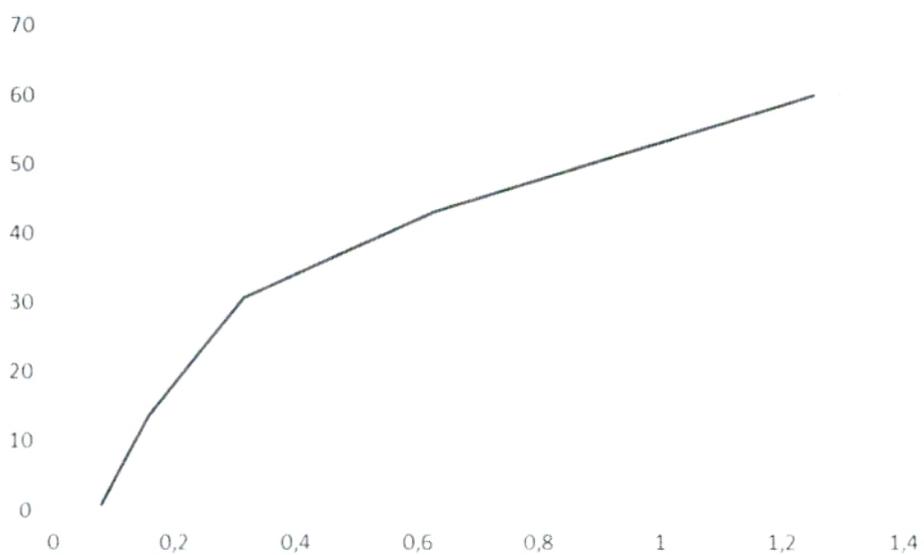


Figure 32. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations d'extrait d'hexane (DC).

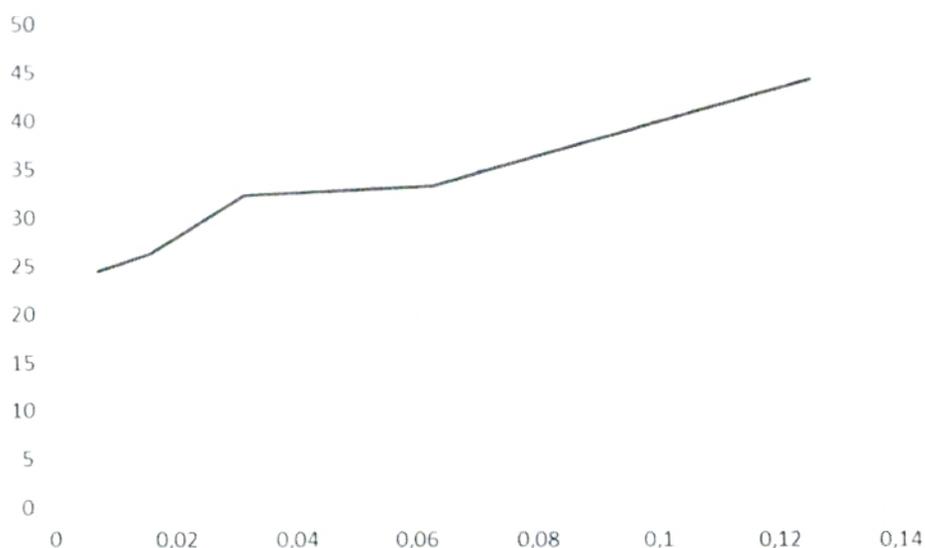


Figure 33. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations des flavonoïdes, fraction N-buthanol (*DC*).

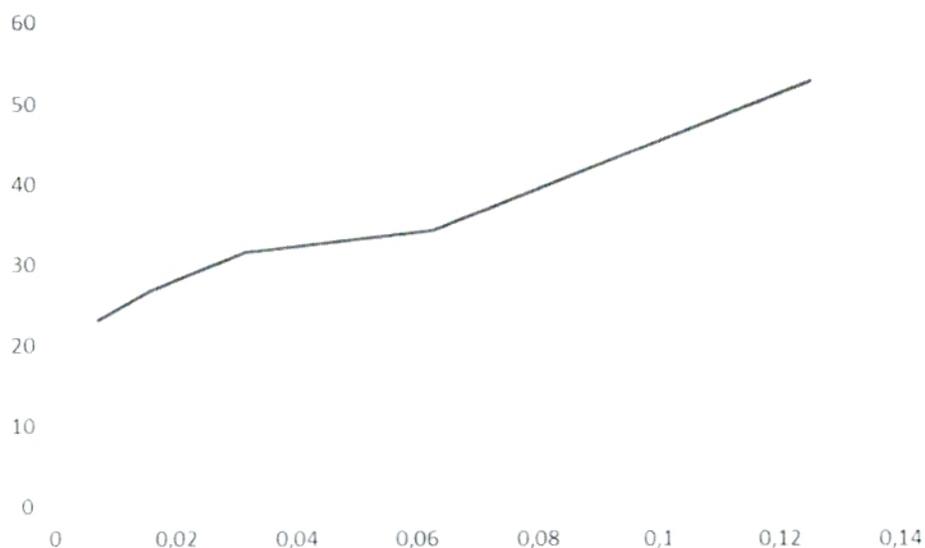


Figure 34. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des concentrations des flavonoïdes, fraction acétate d'éthyle (*DC*).

L'activité antiradicalaire de nos extraits exprimée en IC₅₀ (Tableau 6), ce paramètre a été apparemment introduit par Brand-Williams et ses collaborateurs et a été ensuite

employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace de l'extrait qui cause la perte de 50 % de l'activité de DPPH (couleur) (Molyneux, 2004).

Tableau 6. Les valeurs des IC₅₀ des différents extraits.

Extrait	IC₅₀ (mg/ml)
H.E (Lavandula multifida)	0,5
H.E (Daucus crinitus)	Pas d'activité
H.E (Thymus fontanisia)	0,7
E.F.LM (Fraction acétate d'éthyle)	0.9
E.F.LM (Fraction N-butanol)	0,8
E.F.DC (Fraction acétate d'éthyle)	0,12
E.F.DC (Fraction N-butanol)	0.10
E.F.TF (Fraction acétate d'éthyle)	0,01
E.F.TF (Fraction N-butanol)	0,03
Extrait aqueux(LM)	0,01
Extrait éthanolique (LM)	0,19
Extrait de l'hexane (LM)	0,64
Extrait aqueux (DC)	Pas d'activité
Extrait éthanolique (DC)	0,9
Extrait de l'hexane (DC)	1
Extrait aqueux (TF)	0,1
Extrait éthanolique (TF)	0,008
Extrait de l'hexane (TF)	0,085
Acide ascorbique	0.0295
BHT	0,0063

Comme figurant dans le tableau ci-dessus, tous nos extraits sont des excellentes antioxydants naturels, mise à part l'huile essentielle Daucus, fraction N-butanol DC et la fraction acétate d'éthyle LM.

Les extraits bruts et les fractions flavonoidique possèdent une forte capacité de neutralisation du radical libre DPPH. Tous les IC₅₀ sont très basses, comprises entre 0,008 et 1mg/ml.

Conclusion

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. L'étude des propriétés antioxydantes a concerné trois plantes de la région de Nedroma sélectionnés parmi celles poussant à l'état spontané.

La détermination des rendements en huiles essentielles ont montré une rentabilité.

L'étude du pouvoir antiradicalair par la méthode de DPPHa confirmé les propriétés puissantes qui possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres, suivant les résultats qu'on a obtenus expérimentalement, nous pouvons prédire que les flavonoïdes sont des agents antioxydants de première classe.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelle biologiquement actives. Des essais complémentaire seront nécessaires afin d'éprouver in vitro et in vivo le pouvoir antiradicalair et antioxydant de nos extraits seuls et sous forme d'alicaments.

Références bibliographiques

A

1. AFNOR. (1992) Recueil des normes françaises sur les huiles essentielles. Paris
2. AmjadHossain M. (2005) Neem seed oil : Bangladesh. Examples of the development of pharmaceutical products from Medicinal plants. Bangladesh Council of scientific and IndustrialResearch (BCSIR). 10, 59-63.
3. ANTON R. Et WICHTEL M., (1999).Plantes thérapeutiques : traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. 3^{ème} édition, ED françaisesstrasbourg.
4. Atawodi S.E. (2005) Antioxidant potential of African medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 4(2), 128-133.

B

5. Bahorun T. (1997) Substance Naturelles actives : La flore Mauricienne, Une source d'approvisionnement potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius.
6. BABA AISSA F., (1999). ✓
7. BARDEAU., (1966) Pharmacie du bon dieu. Ed.Stock, Paris ,350.
8. Bartosikova L., Necas J., Suchy V., Kubinova R., Vesela D., Benes L., Illek J., Salplachta J., Florian T., Frydrych M., Klusakova J., Bartosik T., Frana P. Et Dzurova J. (2003) antioxydantes effects of Morine in Ischemia-Reperfusion of Kidneys in the laboratory Rat. Acta Vet. Bmo. 72, 87-94.
9. BECKER M., PICARD J.F., ET TIMBAL J., (1982).Larousse des arbes, des arbustes et des arbisseaux de l'Europe occidentale. Ed.. Librairie Larousse, Paris, 330.

10. BekkaraAtik F. (1999) Etude des signaux chimiques impliqués dans la symbiose entre *Vicia faba* et *Rhizobium leguminosarum*. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat d'état Es-science. Option : biologie végétal e. Faculté des science. Univ. ABB. Tlemcen.
11. BELLAKHDAR J., BERRADA M., DENIER C., HOLEMAN M ET EL IDRISI A.,(1986). 
12. BELLAKHDAR J., (1978)Médecine traditionnelle et toxicologie ouest sahariennes, Rabat.
13. BCELENS M.H., (1995).Chemical and sensory evaluation of *Lavandula* oils. Perfumer and flavorist, vol 20, 23-50.
14. BOUMLIQUE M., (1995).Systématiques des spémaphytes. 2.01.3998
15. Boyd B., Ford C., Kopeke Michael C., Gary K., Horn E., Mc Analley B. (2003) .Etude de pilote ouverte de l'effet antioxydant d'arubrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. GlycoScience& Nutrition 4(6),7p.
16. BRICKELL, C et MIOULANE P., 2002. Encyclopédie Universelle de 15000 plantes et fleurs de jardin Edit. Bordas F.N.A.C, Paris.
17. BRICKELLE C. Et MIOULANE P., (2002).Encyclopédie Universelle de 15000 plantes et fleurs de jardins Edit. Bordas F.N.A.C, Paris
18. Bruneton, J (1999).Pharmacognosie et phytochimie. Plante médicinales. 3^{ème} édition. Paris : Edition médicales, Int.édition Tec et Doc Lavoisier, 120 p.

C

19. Carré P. (1953) précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Ed. Ballière JB. Et fils.

D

20. Dastidar S. G., Manna A., Kumar K A., Mazumdar K., Dutta N.K., Chakrabatary A.N., Motohashi N. Et Shirataki Y. (2004) Studies on the antibacterial potentialityv of isofavones. International Journal of Antimicribial Agents. 23, 99-102.
21. Delaveau P.(1987) Les Epices. Histoire, description et usage des différentes épices , aromates et condiments. Albin Michel Editeur. 372 p.
22. DJERROUMI A et NACEF M., (2004).100 Plantes médicinales d'Algérie.

E

23. ENCYCLOPEDIA UNIVERSALIS., (1985) Tome 1, Paris.
24. Etude chimique comparative des huiles essentielles de dix populations de *Lavandula miltifidal*du maroc. El Biruniya. Rev. Marocaine de pharmacognosie Tome1.

F

25. Favier A. (2003) le stress oxydant. Interet conceptuel et expérimentale dans la comprehension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115.
26. Fouché J. G., Marquet A. Et Hambuckers A. (2000) Les plantes médicinales, de la plantes aux médicaments. Observatoire du monde des plantes Sart-Tilman.
27. FOURNIER P., (1947).Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France Tome
28. FRANCOIS R., (2002).Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement 2^{ème} édition.

G

29. GALLINARD NRF , 1960 Botanique encyclopédie de la pléiade.
30. GARCIA VALLEJO M.C., GARCIA VALLEJO I. AND VELASCO-NEGUERUELA A., (1989).Essentials oils of genus Lavandula L. In Spain 11 th international congress and favours, Vol.4,15-26.
31. GARCIA VALLEJO M.C., GARCIA VALLEJO I. AND VELASCO- NEGUERUELA A., (1989).
32. GARNIER G., BEZANGER-BEAUQUESNE L. ET DEBRAUX G., (1961).Ressources médicales de la flore française. Tome 2, Vigot frères éditeurs, Paris 8 éme.
33. Géorgetti S. R., Casagrande R., Di Mambro V .M.,Azzolini Ana ECS. Et Fonseca Maria. J.V. (2003) Evaluation of the Antioxidant Activity of Different Flavonoids by the Chemiluminescence Methode. AAPS PharmSci. 5(2), 5

H

34. Hadi M. (2004) La quercetine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; etude et application thérapeutique. Thèse présenté en vue de l'obtention du grade du Docteur en science de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie. 155p.
35. Hale A. L. (2003) screening Potato Genotypes for antioxidant Activity, Identification of the Responsible compounds, And Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and microsatellite Marker Analysis. Office of Graduate studies of Texas A&M University. Genetics. 260p.

J

J. Hubert, « caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja : étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines », phd, 2006.

36. JEAN-FRANCOIS R., (2003). Les lavandes dossier du plantymag N°24

K

Karumi y., Onyeyili P A. Et Ogugbuaja V.O. (2004) Identification of Active Principles of *M. balsamia* (Balsam apple) Leaf extract. *J. Med .Sci.* 4 (3), 179-182.

37. KLAUS R., (1991). Plante d'Afrique du nord Deutsche Gesellschaft für

Technische Zusammenarbeit (GTZ) Gmbh, Eschborn.

38. Kripette-Drews P., LANG F., Haussinger D. Et Drews G. (1994) H₂O₂ induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflügers Arch.* 426, 552-554.

L

39. LAMARCK, M. ; Poiret, J.L.M (1811). Encyclopédie méthodique botanique ; Tome Agasse, Paris.

40. LAUMONNIER R., (1959). Cultures florales méditerranéennes. Ed Baillere 317.

41. LE PETIT LAROUSSE EN COULEUR., (1998).

42. Lee K. W., Kim Y . J., Lee H. J. et Lee C. Y. (2003) Cocoa Has More

Phenolic Phytochemicals and a higher antioxidant capacity than Teas and red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7292-7295.

43. Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V .et Biro L. (2003) The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis.* 47(1-4), 119-125.

M

44. Marfac A. (2003) Radiolyse Gamma des flavonoides. Etude de leurs Reactivite avec les radicaux Issus des Alcools : formation de Depsides. Thèse pour obtenir le grad de docteur de l'Université de Limoges. Spécialité : Biophysique. 187p.
45. Medic- Saric M., Jasprica I., Smolcic-Bubalo A. Et Mornar A. (2004) Optimization of Chromatographique condition in Thin Layer Chromatography of Flavonoides and Phenolic Acids. *CroaticaChemica Acta*. 77(1-2), 361-366.
46. Morel Y. EtBarouki. (1999) Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*.342 (3),481-496.
47. MOURRE C. (1923)La lavande francaise, sa culture, sonindustrie, son analyse.Ed. Ganthier-Villars et cie, Paris.

N

- Narayana K. R., reedy M. S., Chaluvadi M. R. Et Krishna D. R. (2001) bioflavonoids classification. Pharmacological, biochemical Effects and Thérapeutic Potential.*Indian Journal of pharmacology*. 33, 2-6.
48. Nakagawa K., Kawagoe M., Yoshimura M., Arata H., Minamikawa T., Nakamura M. Et Matsumoto A. (2000) Differential Effects of flavonoides
49. Noveilli G. P.(1997) Role of free radicals in septic schock. *J PhysiolPharmacol*. 48, 517-527
50. M.Oyaizu, « studies on products of browning reaction- Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine », *Vol.44*, p. 307-315,1986.

P

51. Pedneault., Leonhart S., Angers P., Gosselin A., Ramputh A., Arnason J.T. et Dorais M. (2001) Influence de la culture hydroponique de quelques plantes Médicinales sur la Croissance et la concentration en composés secondaires des Organes végétaux. Text de conférence – 5^{ième} colloque sur les produits naturels d'origine végétale. Université Laval, Qc, Canada. 2p.
52. Pieroni A., Janiak V ., Durr C. M., Ludeke S., Trachsel E. Et Heinrich M. (2002) In vitro antioxidant Activity of Non-cultivated Vegetables of Ethnic Albanians in Southern Italy. *Phytother .RES* . 16, 467-473.
53. 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).
54. Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J. O. (1998) Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. MS. 73.
55. Porter N. (2001) Essential oils and their production. *Crop& Food Reasearch*. Number 39.
56. PUDAJAS SALVA, A. J. (2003). *Daucus*L. In *Flora Iberica* ; Volume X ; *Araliaceae-Umbelliferae*. Real Jardin Botanico de Madrid. 97-125

Q

57. QUEZEL P ET SANTAS S., (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales*. Tome 2. Ed. CNRS Paris 57-1170

R

58. Rai M. K., Acharya D. Et Wadegaonkar P. (2003) Plant derived-antimycitics : Potential of asteraceous plants, In : *Plant-derived antimycotics : curents Trends and Futurr prospects*, Haworth press, N-yrok, Londin, Oxford. 156-185.

59. ROQUES H .,(1959).Précis de botanique pharmaceutique. Tome 2. Edit.

MaloinesS.A .Paris210-320

S

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

61. Scientifiquecorrespondance. (2003) Broad spectrum antimycotic drug for the treatment of ringworm infection in human beings. 85(1), 30-34.

62. Soto-Mendivil E.A, Moreno-Rodriguèze J.F, Estarron-Espinossa M, Garcia-Fajardo JA et Obleo-Vasquez E.N - Chemicals composition and fungicidal Activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternariacitri-E-Gnosis* (online) ; Vol.4 ;N°16. 2006.

63. Svoboda K.P. et Hampson J.B. (1999) Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants : Antibacterial, antioxidant, antiinflammatoryand other related pharmacological Activities. Plant biologyDepartment, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 HW

U

J. G. R. TM Upson, « Leaf flavonoids as systematic charcters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia.*, *Biochem. Syst. Ecol.*, vol.28,n°10, p. 991-1007, 2001.

V

64. Vansant G. (2004) Radicaux libres et Antoxydants : principes de bases.

Symposium « Antioxydants et alimentation». Institut Danone.

W

65. Wang J. etMazza G. (2002) Effects of Anthocyanins and Other phenolic Compounds on the production of Tumor Necrosis Factor α in LPS/INF- γ -Activated RAW 264.7 Macrophage. *J. Agric. Food Chem* 50, 4183-4189.