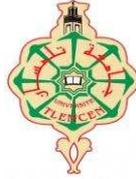


RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABOU-BEKR-BELKAID TLEMCEM



*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences
de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie*

Laboratoire de Produits naturels



THESE

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

En Biologie

Option : Biochimie

Présentée par : M^r EL-HACI Imad Abdelhamid

Thème

**Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales
endémiques du Sud de l'Algérie : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.,
Anabasis aretioides Moq. & Coss. et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.**

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} BELARBI Meriem	Professeur à l'Université de Tlemcen
Directrice de thèse :	M ^{me} ATIK BEKKARA Fawzia	Professeur à l'Université de Tlemcen
Examineurs :	M ^{me} BEKHECHI Chahrazed	MCA à l'Université de Tlemcen
	M ^{me} BENACEUR Malika	Professeur à l'Université d'Oran 1
	M ^r DJEBLI Nouredine	Professeur à l'Université de Mostaganem
	M ^r MOUSSAOUI Abdellah	Professeur à l'Université de Béchar

Année Universitaire : 2014-2015

Remerciements

Louange à ALLAH qui nous a fait musulmans et qui nous a donné pour guide le Coran, afin qu'on se rappelle de la vérité et que la paix et les bénédictions de Dieu soient sur notre prophète Mohammed (que la paix et le salue soient sur lui).

Tout d'abord, je tiens à remercier du fond du cœur, mon professeur et mon encadreur M^{me} ATIK BEKKARA Fawzia, Professeur à l'Université de Tlemcen, chef d'équipe « *Etude des composés volatils et des composés phénoliques* » au sein du laboratoire des Produits Naturels. Ce fut un véritable plaisir de travailler avec vous Madame pendant toute cette période ; vous m'avez laissé libre dans mes choix, vous m'avez encouragé, vous m'avez soutenu et vous m'avez fait confiance. Votre compréhension ainsi que votre gentillesse m'ont toujours fasciné. Soyez assurée, Madame, de ma profonde gratitude.

Je tiens aussi à remercier le Directeur du laboratoire des Produits Naturels, Monsieur le Professeur CHABANE-SARI Daoudi, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour sa disponibilité et ses encouragements pour accomplir ce travail. Qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance.

Aux membres de jury :

J'adresse de sincères remerciements à M^{me} BELARBI Meriem, Professeur à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse. Vos remarques et suggestions seront de grande valeur pour enrichir ce travail.

Je remercie profondément M^{me} BEKHECHI Chahrazed, Maitre de Conférences A à l'Université de Tlemcen, pour l'aide précieuse qu'elle m'a apportée pour l'étude de la plante *Ammodaucus leucotrichus*. Je vous remercie, Madame, du fond du cœur pour votre esprit scientifique et humain de grande qualité. Je vous remercie aussi d'avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à remercier, également, M^{me} BENNACEUR Malika, Professeur à l'Université d'Oran 1, pour avoir accepté de faire partie de mon jury. Vos conseils et suggestions, tant scientifiques et techniques, seront de grande valeur à ce travail.

Mes remerciements vont également à M^r DJEBLI Nouredine, Professeur à l'Université de Mostaganem, pour avoir accepté de juger ce travail. Je le remercie aussi pour sa bienveillance, sa gentillesse et pour ses encouragements sans cesses.

À M^r MOUSSAOUI Abdellah, Professeur à l'Université de Béchar, vont mes remerciements pour avoir accepté de juger ce travail. Merci pour les remarques, suggestions et critiques que vous allez m'apporter, qui vont, sans doute, me permettre d'enrichir le contenu de ce travail.

J'adresse également mes remerciements les plus profondes à M^r FELIX Tomi, Professeur à l'Université de Corse- France, pour l'aide qui nous a fourni, en collaboration avec M^{me} BEKHECHI Chahrazed, pour les analyses en CPG, CPG/SM et RMN C¹³ de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus*, ainsi que pour son aide dans la soumission de l'article sur les résultats obtenus de cette plante.

Je remercie de même M^{me} BENDIMERAD Nassima, Professeur à l'Université de Tlemcen, membre de l'équipe « *Etude des composés volatils et des composés phénoliques* » au sein du laboratoire des Produits Naturels, pour ses encouragements, ses conseils et sa bienveillance. Qu'elle trouve ici toute ma reconnaissance.

J'exprime aussi ma reconnaissance à M^r HASSANI Fayçal, Maitre de Conférences A à l'Université de Tlemcen, pour son aide pour l'identification des plantes médicinales étudiées et pour son esprit scientifique et humain.

À M^r GHERIB Mohammed, j'exprime ma reconnaissance et ma gratitude. Tous mes remerciements à cette personnalité pleine de foi, de générosité, d'amitié ... Merci Mohammed pour votre aide et vos encouragements.

À M^{me} EL-HACI Wissame née MAZARI vont les remerciements les plus profonds. Pour le soutien moral, les encouragements, les conseils, la présence, la disponibilité, l'engagement et pour l'aide scientifique ; qu'elle trouve ici ma profonde reconnaissance.

J'adresse également mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de cette thèse.

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, je tiens à remercier de tout mon cœur mes parents, mes frères et mes sœurs. Un grand merci.

Résumé

Les plantes à usage médicinal sont considérées comme principale source de soins de santé pour la majorité de la population mondiale. Dans le but de valoriser les plantes médicinales de l'Algérie, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités biologiques de différents extraits de trois plantes médicinales endémiques du sud ouest algérien, à savoir : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

L'analyse chimique de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus*, par CPG/SM ainsi que par la RMN ¹³C, a permis de dévoiler la présence de onze composés dont le périllaldéhyde comme composé majoritaire (87.04 %) suivi par le limonène (8.2 %). L'étude de l'activité antimicrobienne de cette huile a révélé une importante activité antibactérienne vis-à-vis de plusieurs souches : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* avec des valeurs de CMI comprises entre 0.5 à 1 µL/mL, ainsi qu'une remarquable activité antifongique vis-à-vis des champignons filamenteux ; *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*, avec des valeurs de CMI comprises entre 0.25 à 0.5 µL/mL. L'évaluation de la cytotoxicité vis-à-vis des globules rouges humains a montré un faible pouvoir hémolytique de l'huile essentielle à l'état pure alors qu'il est nul à faible concentration de celle-ci.

Les différents extraits organiques d'*A. aretioides* ont exprimé des teneurs variées en polyphénols et en flavonoïdes, ces teneurs varient entre 101.85 à 213.84 mg GAE/g et 46.68 à 132.8 mg CEQ/g, respectivement. Ces extraits organiques ont présenté une modeste activité antioxydante et un très faible pouvoir antimicrobien.

Les extraits organiques polaires : méthanolique, éthanolique et acétonique de *L. feei* ont présenté des teneurs considérables en polyphénols et en flavonoïdes. Ces teneurs ont été comprises entre 127.07 à 262.11 mg GAE/g et 84 à 157.88 mg CEQ/g, respectivement.

Une considérable activité antioxydante des extraits organiques polaires de *L. feei* a été révélée. L'extrait méthanolique a exprimé une valeur de la CI₅₀ de l'ordre de 3.2 µg/mL, qui est comparable à celle de l'acide ascorbique (2.48 µg/mL) dans le test du piégeage du radical libre DPPH. Le même extrait a exprimé un fort pouvoir piégeur du radical hydroxyle avec une valeur de la CI₅₀ de l'ordre de 36.33 µg/mL, qui est supérieure à celle de l'acide ascorbique (61.83 µg/mL). Dans le test de l'inhibition de la décoloration du β-carotène, l'extrait acétonique a exprimé un remarquable pouvoir antioxydant comparable à l'antioxydant de référence BHA (CI₅₀ : 5.85 µg/mL et 4.26 µg/mL, respectivement). Un faible pouvoir cytotoxique vis-à-vis des globules rouges humains a été exercé par l'extrait méthanolique de *L. feei*, ce qui rend l'utilisation de cette plante sans risque pour les populations indigènes.

Mots clés : Plantes médicinales, *Ammodaucus leucotrichus*, *Anabasis aretioides*, *Limoniastrum feei*, Activités biologiques, Huile essentielle, Polyphénols, Flavonoïdes.

Abstract

Plants for medicinal purposes are considered as the main source of health care for the majority of the world population. In order to promote medicinal plants in Algeria, we were interested in this work to the study of biological activities of various extracts of three medicinal plants endemic in south-west of Algeria: *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. and *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

Chemical analysis of the essential oil from *A. leucotrichus* by GC/MS as well as by the NMR of the ^{13}C allowed to reveal the presence of eleven compounds including perillaldehyde as the major compound (87.04%) followed by limonene (8.2%).

The study of the antimicrobial activity of this oil showed significant antibacterial activity against several strains: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* with an MIC values between 0.5 to 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$, and a remarkable antifungal activity against filamentous fungi: *Aspergillus flavus* and *Fusarium oxysporum*, with an MIC values ranging from 0.25 to 0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

The assessment of the cytotoxicity of the essential oil against human red blood cells showed a low hemolytic activity of pure oil while it was negative at low concentration.

Organic extracts of *A. aretioides* expressed varied levels of phenols and flavonoids, these levels were ranged from 101.85 to 213.84 mg GAE/g and 46.68 to 132.8 mg CEQ/g, respectively. These organic extracts showed a modest antioxidant and very low antimicrobial activities.

Polar organic extracts: methanol, ethanol and acetone of *L. feei* presented considerable levels of phenols and flavonoids. These levels were ranged from 127.07 to 262.11 mg GAE/g and 84 to 157.88 mg CEQ/g, respectively.

Considerable antioxidant activity of polar organic extracts of *L. feei* was revealed. In the DPPH scavenging method, methanolic extract expressed an IC_{50} of about 3.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ which is comparable to that of the ascorbic acid (2.48 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The same extract expressed strong power against hydroxyl radical with an IC_{50} of about 36.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$, which is higher than that of the ascorbic acid (61.83 $\mu\text{g}/\text{mL}$). In the test of the β -carotene bleaching, acetone extract expressed a remarkable antioxidant power comparable to the BHA (positive control) (IC_{50} : 5.85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 4.26 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively). A low cytotoxic activity against human red blood cells was observed by the methanol extract of *L. feei*, this can be explained the safety uses of this plant by indigenous populations.

Keywords: Medicinal plants, *Ammodaucus leucotrichus*, *Anabasis aretioides*, *Limoniastrum feei*, Biological activities, Essential oils, Phenolic compounds, Flavonoids.

المخلص

تعتبر النباتات المستعملة لأغراض طبية المصدر الرئيسي للتداوي بالنسبة لغالبية سكان العالم. فيهدف تبيين النباتات الطبية في الجزائر، اهتم بحثنا هذا بدراسة الأنشطة البيولوجية لمستخلصات ثلاثة نباتات طبية متوطنة بجنوب غرب الجزائر: نبتة المسوفة *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur، نبتة الدقع *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. و نبتة ملفت الخادم *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

دراسة التركيب الكيميائي للزيت العطري لنبتة *A. leucotrichus* بواسطة التحليل الكروماتوغرافي في المرحلة الغازية مقرونا بمطيافية الكتلة بالإضافة إلى التحليل بالرنين النووي المغناطيسي للكربون 13، سمحت بالكشف عن أحد عشر مركبا كيميائيا بما في ذلك مركب البيريل الدهيد كمركب رئيسي (87.04%) متبوعا بالليمونين (8.2%). أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات فعالية كبيرة لهذه الزيت اتجاه عدة سلالات بكتيرية و هي: *Staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus*، *Salmonella typhimurium*، *Escherichia coli* و *cloaceae Enterobacter* مع قيم CMI (التركيز الأدنى للتثبيط) متراوحة بين 0.5 إلى 1 ميكرو ل/مل، كما أبانت عن نشاط جد فعال ضد الفطريات الخيطية: *Fusarium oxysporum* و *Aspergillus flavus*، مع قيم CMI متراوحة بين 0.25 و 0.5 ميكرو ل/مل. بالإضافة إلى ذلك، أظهر تقييم السمية الخلوية اتجاه كريات الدم الحمراء البشرية نشاطا ضعيفا للزيت العطري الخام في حين أنه في تركيز أقل من الزيت كان النشاط السمي معدوما.

محتوى المستخلصات العضوية لنبتة *A. aretioides* فيما يخص متعددات الفينول و الفلافونويدات كان متنوعا حيث تراوحت كميات هذه المركبات بين 101.85 و 213.84 مغ معادل حمض الغاليك/غ و بين 46.68 و 132.8 مغ معادل الكاتشين/غ، على الترتيب. نفس المستخلصات أظهرت نشاطا متواضعا مضادا للأكسدة و نشاطا مضادا للميكروبات جد ضعيف.

المستخلصات العضوية (مستخلصات الكحول الميثيلي، الكحول الايثيلي والأسيتون) لنبتة *L. feei* احتوت على مستويات عالية من مركبات متعددات الفينول و الفلافونويدات بكميات تراوحت بين 127.07 و 262.11 مغ معادل حمض الغاليك/غ و بين 84 و 157.88 مغ معادل الكاتشين/غ، على الترتيب.

كشفت دراسة القدرة المضادة للأكسدة لمختلف المستخلصات العضوية لنبتة *L. feei* نشاطا جد معتبر للمستخلصات القطبية حيث أن قيمة CI_{50} (التركيز المثبط 50) لمستخلص الكحول الميثيلي بالنسبة لتثبيط الجذر الحر DPPH قدرت ب 3.2 ميكرو غ/مل و هي قيمة تقارب تلك التي وجدناها بالنسبة لحمض الأسكوربيك (2.48 ميكرو غ/مل). كما أظهر نفس المستخلص قدرة كبيرة على تثبيط الجذر الهيدروكسيلي بقيمة CI_{50} التي قدرت ب 36.33 ميكرو غ/مل، و التي تعتبر أعلى من تلك المسجلة بالنسبة لحمض الأسكوربيك (61.83 ميكرو غ/مل).

في حين أن نتائج البحث فيما يخص طريقة تثبيط تلون البيتا كاروتين، أظهرت أن مستخلص الأسيتون يملك قدرة عالية مضادة للأكسدة مماثلة لتلك التي سجلت لمضاد الأكسدة المرجعي المستعمل (BHA) (CI_{50} : 5.85 ميكرو غ/مل و 4.26 ميكرو غ/مل، على الترتيب).

أظهر تقييم السمية الخلوية اتجاه كريات الدم الحمراء البشرية نشاطا ضعيفا لمستخلص الكحول الميثيلي لنبتة *L. feei*، هذه النتيجة قد تؤيد سلامة استعمال هذه النبتة من طرف السكان المحليين.

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية، *Ammodaucus leucotrichus*، *Anabasis aretioides*، *Limoniastrum feei*، الأنشطة البيولوجية، الزيوت العطرية، متعدد الفينول، الفلافونويدات.

TABLE DES MATIERES

Remerciements	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Table des matières	
Liste des figures et tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	
Introduction générale.....	2
1^{ème} partie. Synthèse bibliographique	
Chapitre 1. Stress oxydant et antioxydants	7
1. Le stress oxydant	7
2. Les radicaux libres	7
3. Production des radicaux libres	7
3.1. Production endogène	7
3.2. Production exogène	9
4. Les conséquences biochimiques et biologiques du stress oxydant	9
5. Les antioxydants	10
5.1. Les moyens de défense contre les radicaux libres	10
5.1.1. Défense enzymatique	10
5.1.2. Défense non-enzymatique	11
5.1.3. Les antioxydants synthétiques	12
Chapitre 2. Les composés phénoliques	13
1. Chimie des composés phénoliques	13
1.1. Classification	13
1.1.1. Phénols simples	14
1.1.2. Acides phénols	15
1.1.3. Acétophénonés et acides phénylacétiques	15
1.1.4. Acides cinnamiques	15
1.1.5. Coumarines	16
1.1.6. Flavonoïdes	17
1.1.7. Biflavonyles	17
1.1.8. Benzophénones, xanthonés et stilbènes	17
1.1.9. Benzoquinones, anthraquinones et naphthaquinones	18
1.1.10. Bétacyanines	18
1.1.11. Lignanes	18
1.1.12. Lignines	18
1.1.13. Tannins	19
1.1.14. Phlobaphènes	19
2. Les flavonoïdes	19
2.1. Classes des flavonoïdes	20
2.2. Rôles attribués aux flavonoïdes	23
Chapitre 3. Les huiles essentielles	26
1. Méthodes d'obtention des huiles essentielles	27
1.1. Les méthodes conventionnelles	27
1.1.1. Hydrodistillation	27
1.1.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	28
1.1.3. Extraction par solvant organique	28
1.1.4. Le pressage à froid	28
1.2. Les méthodes innovantes	28

1.2.1. Extraction par CO ₂ supercritique	29
1.2.2. Extraction par les ultrasons	30
1.2.3. Extraction assistée par micro-ondes	30
2. Chimie des huiles essentielles	31
2.1. Les terpènes et terpénoïdes	32
2.2. Les composés aromatiques	33
3. Analyse des huiles essentielles	34
3.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)	34
3.2. Le couplage CG avec la spectrométrie de masse (CPG-SM)	34
3.3. La résonance magnétique nucléaire RMN du carbone 13	35
4. Les activités biologiques des huiles essentielles	36
5. Applications des huiles essentielles	38
Chapitre 4. Mécanismes réactionnels des méthodes de l'évaluation de la capacité antioxydante utilisées dans cette étude	39
1. Mécanisme réactionnel	39
2. Méthodes pour l'évaluation de l'activité antioxydante impliquant le transfert d'électron comme mécanisme réactionnel	41
2.1. Analyse de la capacité antioxydante totale (<i>TAC : Total Antioxidant Capacity</i>)	41
2.2. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical hydroxyle (<i>OH[•] scavenging activity</i>)	41
2.3. Analyse de la capacité antioxydante par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)	41
3. Méthodes pour l'évaluation de l'activité antioxydante impliquant le transfert d'hydrogène comme mécanisme réactionnel	42
3.1. Analyse de la capacité antioxydante par la Co-oxydation du β -carotène et de l'acide linoléique	42
4. Méthodes pour l'évaluation de l'activité antioxydante impliquant le transfert d'hydrogène et le transfert d'électron comme mécanisme réactionnel	43
4.1. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2,2 diphényle-1- picrylhydrazyl DPPH (<i>DPPH scavenging activity</i>)	43
4.2. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du peroxyde d'hydrogène (<i>H₂O₂ scavenging activity</i>)	43
Chapitre 5. Plantes médicinales étudiées	44
1. Critères de sélection des plantes à intérêt	44
1.1. Utilisation des plantes en médecine traditionnelle	44
1.2. Aspects chimiotaxonomiques	44
1.3. Apports de la littérature	44
2. Plantes médicinales étudiées	45
2.1. <i>Ammodaucus leucotrichus</i> Coss. & Dur.	45
2.1.1. Description botanique	45
2.1.2. Ethnopharmacologie	47
2.1.3. Travaux antérieurs	47
2.2. <i>Anabasis aretioides</i> Coss. & Moq.	48
2.2.1. Description botanique	48
2.2.2. Ethnopharmacologie	50
2.2.3. Travaux antérieurs	50
2.3. <i>Limoniastrum feei</i> (Girard) Batt.	50
2.3.1. Description botanique	50
2.3.2. Ethnopharmacologie	52
2.3.3. Travaux antérieurs	52

1. Récolte des plantes	56
2. Extraction des métabolites secondaires	59
2.1. Extraction des huiles essentielles	59
2.1.1. Calcul du rendement en huile essentielle	59
2.1.2. Détermination des caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles	59
2.1.3. Analyse de l'huile essentielle d' <i>A. leucotrichus</i>	61
2.1.3.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	61
2.1.3.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)	62
2.1.3.3. Analyse par spectroscopie de la résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ¹³ C)	63
2.2. Extraction des composés phénoliques	64
2.2.1. Calcul des rendements en extraits secs	64
2.2.2. Dosage des polyphénols	64
2.2.3. Dosage des flavonoïdes	65
3. Evaluation des activités biologiques	65
3.1. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	65
3.1.1. Activité antioxydante totale par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)	65
3.1.2. Capacité antioxydante totale par la méthode au molybdate d'ammonium (<i>Total Antioxidant Capacity TAC</i>)	66
3.1.3. Réduction du Fer : FRAP (<i>Ferric reducing antioxidant power</i>)	66
3.1.4. Piégeage du radical libre DPPH [•] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	67
3.1.5. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (<i>H₂O₂ scavenging activity</i>)	68
3.1.6. Piégeage du radical hydroxyle (<i>OH[•] scavenging activity</i>)	68
3.1.7. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β -carotène (<i>β-carotene bleaching method</i>)	69
3.2. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE	70
3.2.1. Provenance des germes utilisés	70
3.2.2. Méthodes d'étude du pouvoir antimicrobien	70
3.3. ETUDE DE L'ACTIVITE HEMOLYTIQUE (POUVOIR CYTOTOXIQUE)	72
3.3.1. Préparation de la suspension érythrocytaire	72
3.3.2. Mesure de la fuite de l'hémoglobine	72

3^{ème} partie. Résultats et Interprétations

Chapitre 1. <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	74
1. Etude de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	74
1.1. ANALYSE CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE	74
1.1.1. Rendement d'extraction et caractéristiques physico-chimiques	74
1.1.2. Analyse chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	75
1.2. POUVOIR ANTIMICROBIEN DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FRUITS d' <i>A. leucotrichus</i>	77
1.3. POUVOIR ANTIOXYDANT DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FRUITS d' <i>A. leucotrichus</i>	80
1.3.1. Piégeage du radical libre DPPH [•] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	80
1.4. POUVOIR HEMOLYTIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FRUITS d' <i>A. leucotrichus</i>	81
2. Etude des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	83
2.1. Rendement d'extraction et dosages chimiques	83
2.1.1. Rendement d'extraction	83
2.1.2. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes	83

2.2. POUVOIR ANTIOXYDANT DES EXTRAITS ORGANIQUES DES FRUITS d' <i>A. leucotrichus</i>	86
2.2.1. Activité antioxydante totale par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)	86
2.2.2. Capacité antioxydante totale par la méthode au molybdate d'ammonium (<i>Total Antioxidant Capacity TAC</i>)	86
2.2.3. Réduction du Fer : FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	87
2.2.4. Piégeage du radical libre DPPH [*] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	89
2.2.5. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (<i>H₂O₂ scavenging activity</i>)	92
2.2.6. Piégeage du radical hydroxyle (<i>OH[*] scavenging activity</i>)	92
2.2.7. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β-carotène (<i>β-carotene bleaching method</i>)	95
3. Discussion	98
Chapitre 2. <i>Anabasis aretioides</i>	104
1. Etude des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i>	104
1.1. Rendement d'extraction	104
1.2. Dosages de polyphénols et des flavonoïdes	105
2. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i>	106
2.1. Activité antioxydante totale par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)	106
2.2. Capacité antioxydante totale par la méthode au molybdate d'ammonium (<i>Total Antioxidant Capacity TAC</i>)	107
2.3. Réduction du Fer : FRAP (<i>Ferric reducing antioxidant power</i>)	108
2.4. Piégeage du radical libre DPPH [*] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	110
2.5. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (<i>H₂O₂ scavenging activity</i>)	112
2.6. Piégeage du radical hydroxyle (<i>OH[*] scavenging activity</i>)	113
2.7. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β-carotène (<i>β-carotene bleaching method</i>)	116
3. Pouvoir antimicrobien des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i>	118
4. Discussion	120
Chapitre 3. <i>Limoniastrum feei</i>	124
1. Etude des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i>	124
1.1. Rendement d'extraction	124
1.2. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes	125
2. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i>	126
2.1. Activité antioxydante totale par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)	126
2.2. Capacité antioxydante totale par la méthode au molybdate d'ammonium (<i>Total Antioxidant Capacity TAC</i>)	127
2.3. Réduction du Fer : FRAP (<i>Ferric reducing antioxidant power</i>)	128
2.4. Piégeage du radical libre DPPH [*] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	130
2.5. Activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène (<i>H₂O₂ scavenging activity</i>)	132
2.6. Activité du piégeage du radical hydroxyle (<i>OH[*] scavenging activity</i>)	134
2.7. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β-carotène (<i>β-carotene bleaching method</i>)	136
3. Pouvoir antimicrobien des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i>	139
4. Pouvoir hémolytique des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i>	140
5. Discussion	143
4^{ème} partie. Conclusion générale	
Conclusion générale	149
Références bibliographiques	154
Valorisation des résultats de recherches	

TABLE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figures

Fig. 01.	Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène	08
Fig. 02.	Structure chimique de la vitamine E	11
Fig. 03.	Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques	12
Fig. 04.	Structure chimique d'un phénol	13
Fig. 05.	Structures chimiques de deux phénols simples	15
Fig. 06.	Structures chimiques de quelques acides phénols	15
Fig. 07.	Structure chimique de l'hydroxyacétophénone	15
Fig. 08.	Structures chimiques de quelques acides cinnamiques	16
Fig. 09.	Structure chimique de l'acide chlorogénique	16
Fig. 10.	Structure chimique du Ginkgetine	17
Fig. 11.	Structures chimiques de quelques benzophénones et xanthones	17
Fig. 12.	Structure chimique de l'ubiquinone	18
Fig. 13.	Structure chimique du bétanidine	18
Fig. 14.	Structure générale des phlobaphènes	19
Fig. 15.	Structures chimiques des flavonoïdes, isoflavonoïdes et néoflavonoïdes	20
Fig. 16.	Structure chimique de la catéchine et de l'epicatéchine	21
Fig. 17.	Structure générale d'un flavone et d'un flavonol	21
Fig. 18.	Structure de base des anthocyanines	22
Fig. 19.	Structures chimiques de quelques isoflavonoïdes	22
Fig. 20.	Structures chimiques de quelques néoflavonoïdes	23
Fig. 21.	Flavonoïdes secondaires	23
Fig. 22.	Schéma descriptif du dispositif d'extraction par CO ₂ supercritique	30
Fig. 23.	Description schématique du système d'extraction par micro-ondes sans solvant	31
Fig. 24.	Structure de l'isoprène	32
Fig. 25.	Structures chimiques de quelques mono- et sesquiterpénoïdes	33
Fig. 26.	Exemples de quelques composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des HE	33
Fig. 27.	Exemples de quelques composés aromatiques C6-C1 rencontrés dans les HE	34
Fig. 28.	Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN du ¹³ C	36
Fig. 29.	Les sites d'action des HE sur la cellule microbienne	38
Fig. 30.	Structures chimiques des quatre flavonoïdes de la partie tige de <i>L. feei</i>	53
Fig. 31.	Structures chimiques des composés phénoliques isolés à partir de <i>L. feei</i>	54
Fig. 32.	Position géographique des stations de récolte des plantes étudiées	58
Fig. 33.	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH'	67
Fig. 34.	Profil chromatographique de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	75
Fig. 35.	Structures chimiques des composés identifiés dans l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	77
Fig. 36.	Pouvoir antioxydant par le piégeage du radical libre DPPH de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	81
Fig. 37.	Pouvoir hémolytique de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> et celui du triton-X100	82
Fig. 38.	Rendements d'extraction des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	83
Fig. 39.	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	84
Fig. 40.	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	84
Fig. 41.	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	85
Fig. 42.	Pouvoir antioxydant des différents extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu	86

Fig. 43.	Pouvoir antioxydant total des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode au molybdate d'ammonium	87
Fig. 44.	Pouvoir réducteur des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode FRAP	88
Fig. 45.	Pouvoir réducteur des différents extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode FRAP à une concentration de 1 mg/mL	89
Fig. 46.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH'	90
Fig. 47.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode du piégeage du peroxyde d'hydrogène	92
Fig. 48.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle	93
Fig. 49.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle à une concentration de 1mg/mL	94
Fig. 50.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> testé par la méthode de la décoloration du β -carotène	96
Fig. 51.	Rendements d'extraction des différents extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i>	104
Fig. 52.	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i>	106
Fig. 53.	Pouvoir antioxydant des différents extraits de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu	107
Fig. 54.	Pouvoir antioxydant total des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode au molybdate d'ammonium	108
Fig. 55.	Pouvoir réducteur des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode FRAP	109
Fig. 56.	Pouvoir réducteur des différents extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode FRAP à une concentration de 1 mg/mL	110
Fig. 57.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH'	111
Fig. 58.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode du piégeage du peroxyde d'hydrogène	113
Fig. 59.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle	114
Fig. 60.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle à une concentration de 1mg/mL	115
Fig. 61.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> testé par la méthode de la décoloration du β -carotène	117
Fig. 62.	Rendements d'extraction des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i>	124
Fig. 63.	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i>	125
Fig. 64.	Pouvoir antioxydant des différents extraits de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu	126
Fig. 65.	Pouvoir antioxydant total des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la méthode au molybdate d'ammonium	127
Fig. 66.	Pouvoir réducteur des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la méthode FRAP	128
Fig. 67.	Pouvoir réducteur des différents extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la méthode FRAP à une concentration de 1 mg/mL	129
Fig. 68.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH'	131
Fig. 69.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la méthode du piégeage du peroxyde d'hydrogène	133
Fig. 70.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle	134
Fig. 71.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle à une concentration de 0.5 mg/mL	135
Fig. 72.	Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> testé par la	

	méthode de la décoloration du β -carotène	137
Fig. 73.	Cinétique de la décoloration du β -carotène induite par les extraits méthanoliques des parties feuille et tige de <i>L. feei</i>	138
Fig. 74.	Pouvoir hémolytique des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> et celui du triton-X100	141
Fig. 75.	Activité hémolytique des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> à différentes concentrations, à 60 min	142
Fig. 76.	Piégeage des ERO par les flavonoïdes	145

Tableaux

Tableau 01.	Classification des composés phénoliques	14
Tableau 02.	Situation géographique et étage bioclimatique des différentes stations de récolte des plantes étudiées	57
Tableau 03.	Les différentes souches microbiennes testées	70
Tableau 04.	Rendement d'extraction et caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	74
Tableau 05.	Composition chimique de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	76
Tableau 06.	Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	78
Tableau 07.	Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i>	78
Tableau 08.	Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> vis-à-vis des souches sensibles	79
Tableau 09.	Activité antioxydante des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH [•] exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	91
Tableau 10.	Activité antioxydante des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> vis-à-vis du piégeage du radical hydroxyle exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$).....	95
Tableau 11.	Activité antioxydante des extraits organiques des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> vis-à-vis du test de la décoloration du β -carotène exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$).....	97
Tableau 12.	Activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH [•] exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$).....	112
Tableau 13.	Activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> vis-à-vis du piégeage du radical hydroxyle exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$).....	116
Tableau 14.	Activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i> vis-à-vis du test de la décoloration du β -carotène exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$).....	118
Tableau 15.	Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque des différents extraits organiques de la partie aérienne d' <i>A. aretioides</i>	119
Tableau 16.	Pouvoir réducteur des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> exprimé en EC ₅₀	130
Tableau 17.	Activité antioxydante des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH [•] exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	132
Tableau 18.	Pourcentages de piégeage du H ₂ O ₂ par les extraits bruts méthanoliques testés	133
Tableau 19.	Activité antioxydante des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> vis-à-vis du piégeage du radical hydroxyle exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	136
Tableau 20.	Activité antioxydante des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i> vis-à-vis du test de la décoloration du β -carotène exprimée par la valeur CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)....	139
Tableau 21.	Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque des extraits organiques de la partie feuille de <i>L. feei</i>	140

ABREVIATIONS

Les abréviations ont été indiquées généralement sous la forme la plus couramment utilisée dans la littérature.

%	: Pourcentage
°C	: Degré Celsius
ABTS	: <i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)</i>
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AlCl ₃	: Chlorure d'aluminium
AMP	: Adénosine monophosphate
ATCC	: <i>American type culture collection</i>
Atm	: Atmosphère
ATP	: Adénosine triphosphate
Batt	: Abréviation botanique standard de Jules Aimé Battandier
BHA	: Butylhydroxyanisole
BHT	: Butylhydroxytoluène
CDC1 ₃	: Chloroforme deutéré
CI	: Concentration inhibitrice
cm	: Centimètre
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CO ₂	: Dioxyde de carbone
Coss	: Abréviation botanique standard d'Ernest Cosson
CPG/SM	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
DMSO	: Diméthyl sulfoxyde
DPPH [•]	: <i>2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl</i>
Dur	: Abréviation botanique standard de Michel Charles Durieu
E.C	: Commission d'enzyme
EC ₅₀	: <i>Efficient concentration 50</i>
EDTA	: Acide éthylène diamine tétra acétique
ERN	: Espèces réactives de l'azote
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène
<i>et al.</i>	: et autres auteurs
eV	: Electron volte
Fe ²⁺	: Ions ferreux
Fe ³⁺	: Ions ferriques
FeCl ₃	: Chlorure ferrique
FID	: Détecteur à ionisation de flamme
g	: Gramme
GHz	: Gigahertz
Girard	: Abréviation botanique standard de Charles Frédéric Girard
GPX	: Glutathion peroxydase
GSH	: Glutathion réduit
GSSH	: Glutathion oxydé
h	: Heure
H ₂ O ₂	: Peroxyde d'hydrogène
H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	: Acide phosphomolybdique
HCl	: Acide chlorhydrique
HO [•]	: Radical hydroxyle
HPGPx	: Glutathion peroxydase membranaire
IP	: Institut Pasteur
IP	: Potentiel d'ionisation
IR	: Indice de rétention

$K_3Fe(CN)_6$: Ferricyanure de potassium
kHz	: Kilohertz
LDL	: Lipoprotéine de densité légère
M	: Molarité
m/z	: rapport masse/charge
mg QC/g	: Milligramme équivalent quercétine par gramme
mg	: Milligramme
$MgCl_2$: Chlorure de magnésium
MHz	: Mégahertz
min	: Minutes
mL	: Millilitre
mm	: Millimètre
MNHN	: Muséum national d'histoire naturelle
Moq	: Abréviation botanique standard d'Alfred Moquin Tandon
N	: Normalité
Na_2CO_3	: Carbonate de sodium
NaCl	: Chlorure de sodium
NADPH	: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
$NaNO_2$: Nitrite de sodium
NaOH	: Hydroxyde de sodium
nm	: Nanomètre
NO	: Oxyde d'azote
$O_2^{\cdot-}$: Radical superoxyde
PBS	: <i>Phosphate buffer solution</i>
PDA	: <i>Potato dextrose agar</i>
PLA_2	: Phospholipase A_2
ppm	: Partie par million
Psi	: <i>Pound-force per square inch</i>
r^2	: Coefficient de corrélation
RMN C^{13}	: Spectroscopie de résonance magnétique du carbone 13
ROO^{\cdot}	: Radical peroxyde
Roxb	: Abréviation botanique standard de William Roxburgh
rpm	: Rotation par minute
SOD	: Superoxyde dismutase
TCA	: Acide trichloracétique
TEAC	: <i>Trolox equivalent antioxidant capacity</i>
TRX	: Thiorédoxine
UV	: Ultra-violet
v/v	: Rapport volume/volume
Vis	: Visible

Introduction

Générale

Partout dans le monde, l'être humain a su tirer de son environnement des remèdes naturels à des maladies diverses via les expériences cumulées au fil des années. Dans les grandes civilisations qui ont marqué l'humanité, se trouve une bonne partie de l'histoire de l'utilisation des plantes en tant que remède. La civilisation arabo-musulmane a marqué son empreinte dans le domaine des plantes médicinales et a « boosté » l'exploitation des plantes pour l'usage médicinal.

Aujourd'hui, nous avons un héritage important de savoir ancestral sur l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques que nous devons préserver et consolider. Ce savoir ancestral que nous trouvons chez les tradipraticiens, les herboristes et chez les vendeurs (ses) d'herbes médicinales, constitue un patrimoine socioculturel et socioéconomique que l'Algérie en possède une partie.

De nos jours, dans chaque région et dans chaque ville, nous trouvons des herboristes et des magasins par dizaines et des centaines activant dans le commerce des plantes médicinales. Ceci est interprété par la valeur socioculturelle de la médication par les plantes que nous avons héritée de nos ancêtres. La place des tisanes à base de thym et de verveine est non reprochable quand il s'agit d'un début de grippe ou d'un rhume.

Par définition, les plantes aromatiques et médicinales se définissent comme étant des matières premières utilisées à des fins thérapeutiques, aromatiques et/ou culinaires, ou en tant que composants entrant dans la fabrication de produits cosmétiques, de médicaments, d'aliments naturels et autres produits de santé.

Actuellement, la demande industrielle de plantes médicinales et aromatiques est indéniable, et ce grâce à la production accrue de formulations thérapeutiques et cosmétiques et de compléments alimentaires à base de plantes.

Dans les pays développés, les produits finis à base de plantes médicinales et aromatiques sont de plus en plus prescrits et vendus. Cette activité est cernée par plusieurs cadres juridiques, particulièrement, aux Etats Unies et en Europe, où une législation draconienne est appliquée pour organiser ce marché.

Dans les pays en voie de développement, ce type de produits constitue un potentiel économique important que certains exportateurs s'efforcent pour le développer et l'exploiter en entier. Le Maroc, 12^{ème} exportateur mondial, donne l'exemple de l'exploitation des plantes aromatiques et médicinales (El-Khenchoufi, 2013).

L'évolution et le changement du mode de vie que le monde connaît fait que les produits d'origine naturelle sont de plus en plus demandés et sollicités par les consommateurs. A titre d'exemple, les produits alimentaires qui renferment des additifs naturels sont plus demandés que ceux additionnés par des additifs synthétiques.

En effet, la communauté scientifique a mené plusieurs travaux scientifiques pour étudier les plantes médicinales en recherchant les molécules actives dotées d'activités biologiques. Les différentes bases de données scientifiques en témoignent, des centaines de milliers d'articles scientifiques portant sur l'étude des plantes aromatiques et médicinales y sont répertoriées.

Les importantes avancées technologiques dans le domaine de l'analyse chimique, essentiellement, le développement des techniques et appareils ultrasensibles, ont fait progresser la phytochimie de la simple macération à la purification et l'identification, voire même, le suivi du métabolisme d'une molécule donnée au sein de la plante : la métabolomique.

Plusieurs aspects sont traités par les chercheurs dans leurs études. Parmi ces aspects, la recherche des molécules antioxydantes a connu un essor spectaculaire ces deux dernières décennies. Très nombreux sont les brevets et les articles portant sur la recherche des antioxydants dans les plantes médicinales. Ceci dans le but de remplacer les antioxydants de synthèse qui se sont avérés dangereux pour la santé humaine (Baur *et al.*, 2001 ; INCHEM, 2002 ; Hazmap, 2010).

La recherche des composés antimicrobiens dans les plantes médicinales a tiré l'attention des chercheurs partout dans le monde et ce à cause des problèmes de santé que pose la résistance aux antibiotiques existants. A titre d'exemple, quelques huiles

essentielles sont connues pour leur pouvoir antimicrobien et sont utilisées comme des antiseptiques dans différents domaines.

Les plantes aromatiques et médicinales de part leur utilisation ancestrale nous offre un terrain important d'investigation.

La région sud de notre pays, même si elle est désertique et dotée d'un climat sec, renferme des régions spécifiques qui possèdent des variétés de plantes surprenantes par leur aspect et par leur pouvoir d'adaptation. On en dénombre plusieurs espèces endémiques. Les populations autochtones gardent avec une grande passion le savoir faire et l'utilisation traditionnelle (médicinales, culinaires ...) de ces plantes.

D'un point de vue scientifique, peu d'études ont été menées sur ces espèces. Néanmoins, ces dernières années, certains projets de recherche et certaines études ont été entamées pour essayer de valoriser cette ressource que possède l'Algérie.

Dans ce contexte, et dans le but de la valorisation de la flore locale, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités biologiques de quelques plantes endémiques du Sud Algérien.

Notre choix s'est porté sur les plantes suivantes : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

Certains critères de sélection ont été respectés pour le choix de ces plantes. Le premier critère étant l'utilisation médicinale qui est un critère important pour s'investir dans l'étude d'une plante. La connaissance de ces informations fournit des données importantes, par exemple la période de récolte, le mode de séchage, le mode de préparation, la voie d'administration... toutes ces informations nous encadrent pour rechercher un effet ciblé. Le deuxième critère est que peu de travaux ont été effectués sur ces trois plantes, un fait qui nous a encouragé à les explorer.

Cette thèse est divisée en quatre parties ; la première partie est consacrée pour une synthèse bibliographique : des définitions de base concernant le stress oxydant et les moyens de défense contre ce déséquilibre (notion d'antioxydant). Nous avons consacré un chapitre pour les composés phénoliques, et un autre sur les huiles

essentielles. Une explication des mécanismes réactionnels impliqués dans les méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydante utilisées dans cette étude est aussi rapportée. En fin de cette partie, les données bibliographiques concernant les plantes étudiées (descriptions botaniques, activités biologiques, utilisations traditionnelles ...), sont également rapportées.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous expliquons les étapes et les modes opératoires utilisés dans cette étude et qui seront développés tout au long de cette partie baptisée : matériel et méthodes.

La troisième partie de cette thèse, trois chapitres sont développés ; un pour chaque plante. Dans chaque chapitre, nous rapportons les travaux effectués ; résultats et interprétations avec une discussion des résultats obtenus dans chaque chapitre.

La quatrième partie est une conclusion générale pour restituer les principaux résultats obtenus, les limites de notre travail et les perspectives voulues pour pouvoir compléter et améliorer cette étude.

Première partie

Synthèse bibliographique

« C'est ce que nous pensons déjà connaître qui nous empêche souvent d'apprendre »

Claude Bernard

Biologiste, Médecin, Physiologiste, Scientifiques (1813-1878)

Chapitre 1.

[Stress oxydant et antioxydants]

1. Le stress oxydant

Élément indispensable à notre survie, à notre vie, à notre développement, à notre capacité d'adaptation : l'oxygène est également à l'origine de toxicité, d'acidité, d'altération et de dégénérescence. En effet, le métabolisme de l'oxygène, lorsqu'il est dérégulé, peut entraîner de part ce que l'on appelle « le stress oxydant » (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN), radicalaires ou non radicalaires, sont produites en permanence par plusieurs types cellulaires dans l'organisme (Swain *et al.*, 2002).

Le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des ERO, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Le métabolisme cellulaire produit, à l'état physiologique normal, plusieurs variétés de radicaux libres (Halliwell et Gutteridge, 1990).

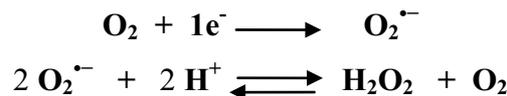
3. Production des radicaux libres

3.1. Production endogène

Lors du transport des électrons dans la chaîne respiratoire des cellules aérobies, la respiration oxydative est la principale source d'énergie. L'étape ultime de la chaîne respiratoire mitochondriale est la synthèse de l'eau à partir de l'oxygène. Une réduction incomplète de l'oxygène peut apparaître pour 1 à 2 % de l'oxygène moléculaire conduisant à

la formation de radicaux libres oxygénés : principalement l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (fig. 01) (Hadi, 2004).

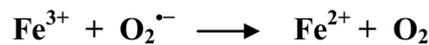
Si l'anion superoxyde est libéré dans un milieu dépourvu de protons, il peut exercer ses effets délétères. Si cet anion est libéré dans un milieu protoné, il subit une dismutation, phénomène au cours duquel l'anion $O_2^{\cdot-}$ cède son électron célibataire à un autre anion superoxyde, ce dernier réagit alors avec les protons du milieu pour donner le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :



En présence du fer ferreux, le peroxyde d'hydrogène se décompose en OH^- et HO^{\cdot} selon la réaction de Fenton.



L'anion superoxyde permet aussi de reformer du fer ferreux à partir du fer ferrique :



Globalement, cette suite de réactions est appelée cycle d'Haber-Weiss. Une enzyme intervient dans l'organisme pour accélérer la vitesse de la réaction de dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$; la superoxyde dismutase (SOD), qui multiplie par 10^{10} la vitesse de la réaction au pH de l'organisme (Afonso *et al.*, 2007).

Une NADPH oxydase, activée par la protéine kinase C et l'acide arachidonique libéré par la phospholipase A_2 (PLA_2), intervient et permet la synthèse d' $O_2^{\cdot-}$ au prix d'une forte consommation d' O_2 (Henderson *et al.*, 1989).

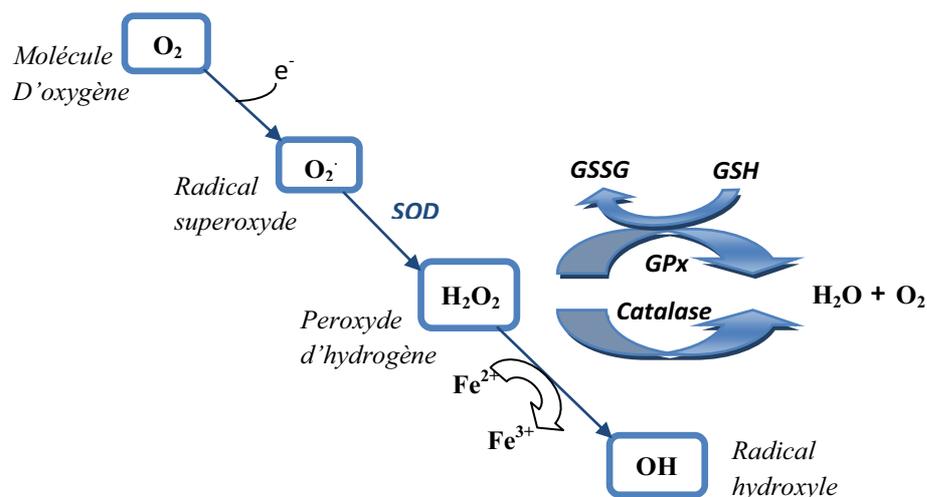


Fig. 01. Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène

3.2. Production exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents (les rayonnements UV, les radiations ionisantes, l'ingestion d'alcool ...) capables de donner naissance à des radicaux libres (Afonso *et al.*, 2007). Des toxiques tels que le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), présents dans notre environnement (goudron, tabac, polluants industriels ...), sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires (Hadi, 2004).

4. Les conséquences biochimiques et biologiques du stress oxydant

Les acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué oxydé en radical peroxy. Cette réaction est appelée : peroxydation lipidique (Esterbauer *et al.*, 1992).

L'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL oxydées, favorise la formation du dépôt lipidique de la plaque d'athérome dans les maladies cardiovasculaires.

L'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité des membranes, et par conséquent, le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs sera dérégulé ainsi que la transduction des signaux (Hadi, 2004).

Les bases qui composent l'ADN, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et peut entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées, comme elle peut toucher la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (Cadet *et al.*, 2002).

La modification de l'ADN induit des mutations par transversion souvent observées dans les cellules cancéreuses. Ce sont les premières étapes de la carcinogenèse et ce n'est pas une coïncidence si les agents cancérigènes sont tous des générateurs puissants de radicaux libres (Huet et Duranteau, 2008).

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles (le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires) (Montagnier *et al.*, 1998).

5. Les antioxydants

5.1. Les moyens de défense contre les radicaux libres

La production physiologique des ERO est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes : superoxyde dismutases (SOD), catalase, glutathion peroxydases (GPx's), thiorédoxine réductase, hème oxygénase, peroxyrédoxine ..., de molécules antioxydantes de petite taille : caroténoïdes, vitamines C et E, glutathion, acide urique, bilirubine ..., et de protéines : transferrine, ferritine, céruléoplasmine, qui maintiennent les métaux de transition dans un état inactif pour la formation des ERO (Pincemail *et al.*, 2002).

5.1.1. Défense enzymatique

5.1.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD) : EC 1.15.1.1

La SOD catalyse la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$ en dioxygène et en H_2O_2 selon la réaction suivante:



Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La SOD 1 cytosolique et la SOD 3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, alors que la SOD 2 mitochondriale, utilise le manganèse (Johnson et Giulivi, 2005 ; McCord et Edeas, 2005).

5.1.1.2. Les catalases : EC 1.11.1.6

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Parmi les enzymes connues, c'est une des plus efficaces. Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogène en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles.

5.1.1.3. Les peroxydases : EC 1.11.1.9

Cette enzyme est présente dans le corps humain sous plusieurs formes. On peut citer la glutathion peroxydase à sélénium (GPx), la glutathion peroxydase cytosolique, la glutathion peroxydase plasmatique et la glutathion peroxydase membranaire (HPGPx).

5.1.1.4. Les thiorédoxines (TRX) : EC 1.6.4.5

Des données biochimiques montrent que les thiorédoxines réduisent des protéines clefs pour le développement, la division cellulaire ou la réponse au stress oxydatif (Pincemail *et al.*, 2002).

5.1.2. Défense non-enzymatique

5.1.2.1. La vitamine C

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs des ERO. Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl), qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Mak *et al.*, 2002).

5.1.2.2. La vitamine E

La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères: α , β , γ , δ , dont la forme alpha (α -TocH) est la plus active. Sa structure chimique comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe (fig. 02).

Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, l' α -TocH cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique (Eiselt *et al.*, 2001).

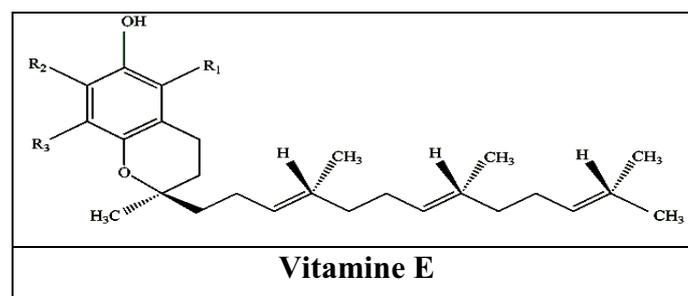


Fig. 02. Structure chimique de la vitamine E

5.1.2.3. Le sélénium

Le sélénium joue un rôle clef dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases séléno-dépendantes, et à l'activité biologique antiradicalaire des sélénoprotéines (Neve *et al.*, 1989).

5.1.2.4. Le zinc

Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines et il peut aussi inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (Anderson *et al.*, 2001).

5.1.2.5. Les caroténoïdes

Les principaux caroténoïdes incluent : l'alpha carotène, bêta carotène, lycopène, phytofluène, lutéine, viloxanthine, anthéroxanthine, alpha cryptoxanthine et bêta cryptoxanthine. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet (Hale, 2003).

5.1.3. Les antioxydants synthétiques

Il s'agit du butylhydroxytoluène (BHT), du butylhydroxyanisole (BHA) et des esters de l'acide gallique : gallate de propyle, gallate d'octyle, et de dodécyle. Le BHT est un antioxydant de rupture de chaîne, très efficace et peu coûteux.

Il existe d'autres antioxydants synthétiques peu utilisés tels que la TBHQ (tertiobutylhydroquinone) utilisée pour la conservation des huiles brutes, l'acide nordihydrogualarétique (NDGA) utilisé dans les produits à usage topique, et le 4-hydroxyméthyl 2,6-ditertiobutylphénol ou Ionox 100, dont les propriétés antioxydantes sont voisines à celles du BHT (fig. 03) (Johnson et Gu, 1988).

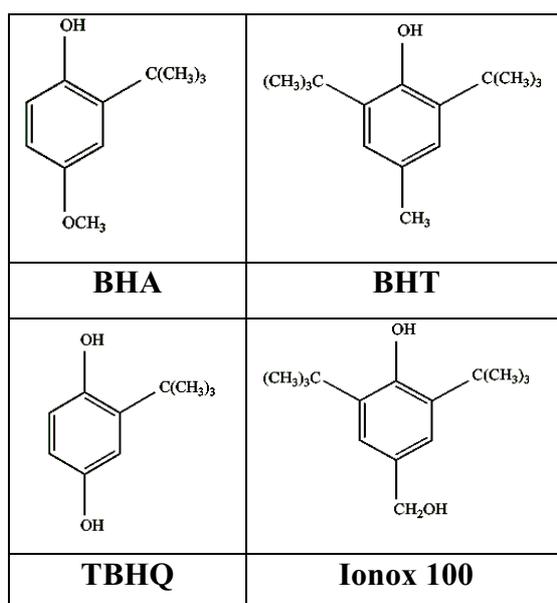


Fig. 03. Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques

Chapitre 2.

[Les composés phénoliques]

Une des singularités des végétaux est de former de nombreux composés. Le fait que ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces indique qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général et qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, c'est ce qu'on appelle : les métabolites secondaires (Vermerris et Nicholson, 2006).

Parmi les métabolites secondaires que synthétisent les plantes, il existe une grande et importante classe : les composés phénoliques.

1. Chimie des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des composés qui ont un ou plusieurs groupes hydroxyle attachés directement à un cycle aromatique (fig. 04).

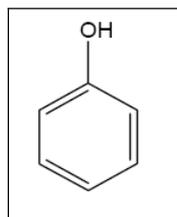


Fig. 04. Structure chimique d'un phénol

Les polyphénols sont des composés qui ont plus d'un groupe hydroxyle phénolique attaché à un ou plusieurs cycles benzènes. Les composés phénoliques sont caractéristiques des plantes et sont habituellement trouvés comme esters ou glycosides plutôt qu'en tant que composés libres (Vermerris et Nicholson, 2006).

1.1. Classification

Les composés phénoliques couvrent un groupe diversifié de composés chimiques. Ces composés peuvent être classifiés différemment. Harborne et

Simmonds (1964) ont classifié ces composés dans des groupes basés sur le nombre de carbones dans la molécule (tableau 01)

Tableau 1. Classification des composés phénoliques (Harborne et Simmonds, 1964)

Structure	Classes
C ₆	Phénols simples
C ₆ -C ₁	Acide phénoliques et dérivés
C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique et acétophénones
C ₆ -C ₃	Acide cinnamique, cinnamyl aldehydes,...
C ₆ -C ₃	Coumarines, isocoumarines et chromones
C ₁₅	Chalcones, aurones, dihydrochalcone, flavonoïdes
C ₁₅	Anthocyanines
C ₃₀	Biflavonyles
C ₆ -C ₁ -C ₆ , C ₆ -C ₂ -C ₆	Benzophénones, xanthones, stilbènes
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Quinones
C ₁₈	Bétacyanines
Lignanes	Dimères ou oligomères
Lignines	Polymères
Tanins	Oligomères ou polymères
Phlobaphenes	Polymères

1.1.1. Phénols simples

Les phénols simples sont des phénols substitués en ortho, méta et en para, par des groupements hydroxyles. Avec trois groupes fonctionnels, le modèle de substitution peut être 1.3.5, alors qu'il est indiqué comme modèle méta-tri-substitution, tandis que les substitutions 1.2.6 représentent le modèle vic-tri (Vermerris et Nicholson, 2006).

Des exemples incluent le résorcinol (1,3-dihydroxybenzene), un phénol simple métadihydroxylé, et le phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene), un phénol simple méta-trihydroxylé sont représentés dans la figure 05.

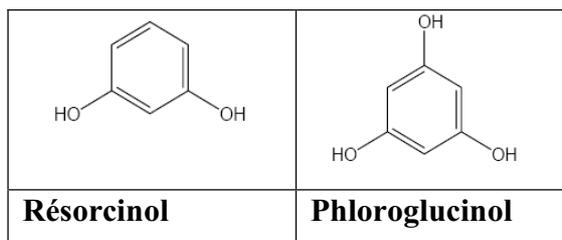


Fig. 05. Structures chimiques de deux phénols simples

1.1.2. Acides phénols

Les acides hydroxybenzoïques sont caractérisés par la présence d'un groupe carboxylique substitué sur un phénol. Les exemples incluent l'acide gallique, l'acide salicylique et l'acide vanillique (fig. 06) (Styles et Ceska, 1989).

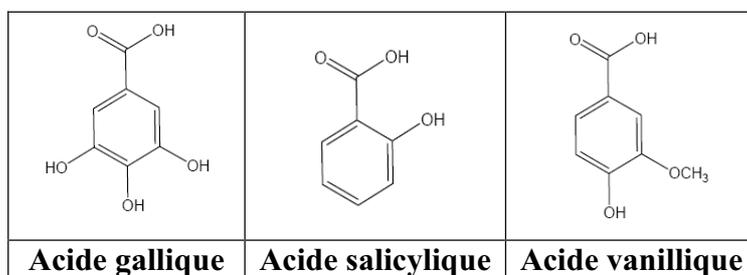


Fig. 06. Structures chimiques de quelques acides phénols

1.1.3. Acétophénones et acides phénylacétiques

Les phénones sont des composés en C₆-C₂ qui sont rarement trouvés dans la nature. Le représentant majeur de cette classe est l'hydroxyacétophénone (fig. 07).

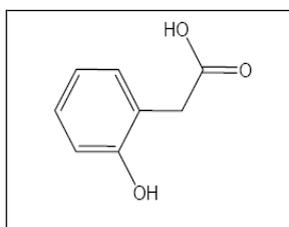


Fig. 07. Structure chimique de l'hydroxyacétophénone

1.1.4. Acides cinnamiques

Il existe six acides cinnamiques communs. Toutes les plantes contiennent probablement au moins trois d'entre eux. Les représentants de cette famille sont l'acide cinnamique, l'acide *p*-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide hydroxyferulique et l'acide sinapique (fig. 08).

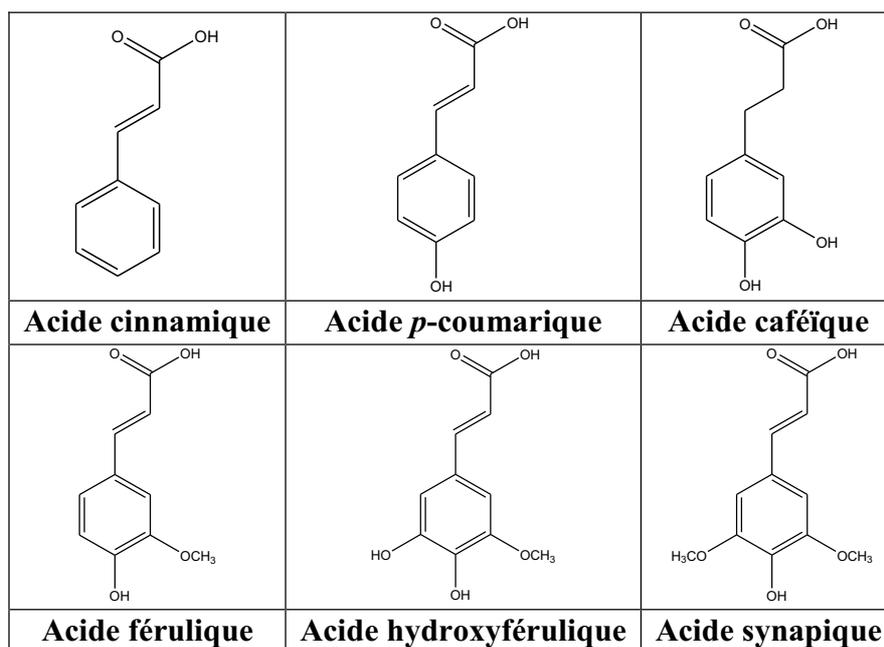


Fig. 08. Structures chimiques de quelques acides cinnamiques

Les acides cinnamiques sont généralement trouvés dans les plantes sous forme d'esters d'acide quinique, d'acide shikimique et d'acide tartrique. Par exemple, l'acide chlorogénique est un ester d'acide caféïque et d'acide quinique (fig. 09) (Grotewold, 2006).

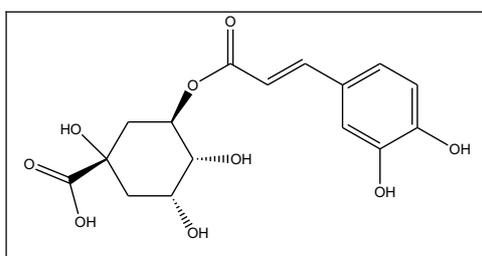


Fig. 09. Structure chimique de l'acide chlorogénique

1.1.5. Coumarines

Les coumarines ont également le squelette en C₆-C₃, mais elles possèdent un hétérocycle de l'oxygène. Il existe de nombreuses coumarines. Ces composés semblent jouer un rôle dans la résistance contre les parasites, aussi bien que la protection contre les radiations UV (Vermerris et Nicholson, 2006).

1.1.6. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés en C_{15} qui ont la structure $C_6-C_3-C_6$. Les flavonoïdes peuvent être groupés en trois grandes classes selon leur structure générale.

1.1.7. Biflavonyles

Les biflavonyles ont le squelette en C_{30} . Ils sont des dimères des flavones ou des dérivés méthylés et sont trouvés dans les gymnospermes. Peu de composés sont connus. Le plus familier est le ginkgetine (fig. 10) du *Ginkgo biloba* (Grotewold, 2006).

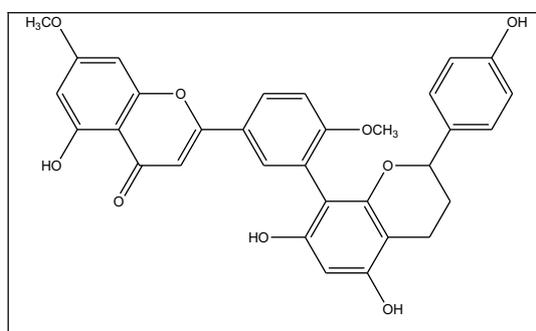


Fig. 10. Structure chimique du Ginkgetine

1.1.8. Benzophénones, xanthones et stilbènes

Les benzophénones et les xanthones ont la structure en $C_6-C_1-C_6$, tandis que les stilbènes ont la structure en $C_6-C_2-C_6$. Les xanthones sont les colorants jaunes des fleurs. Parmi eux, on trouve : la benzophénone, le xanthone, le resvératrol et le pinosylvine (fig. 11) (Vermerris et Nicholson, 2006).

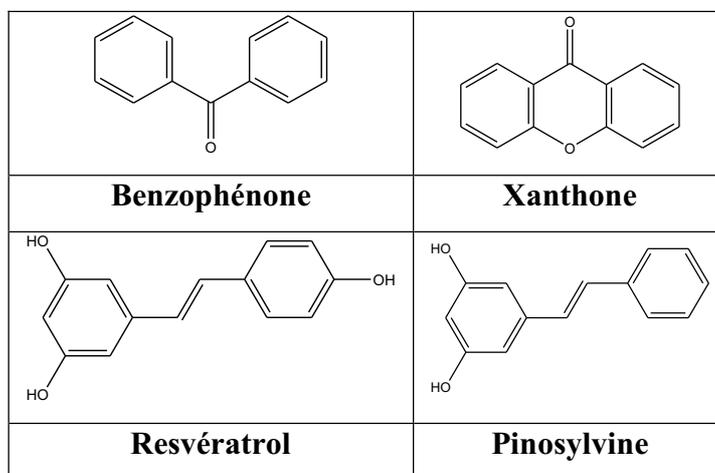


Fig. 11. Structures chimiques de quelques benzophénones et xanthones

1.1.9. Benzoquinones, anthraquinones et naphthaquinones

Les benzoquinones sont présents en exsudats des racines de maïs et jouent un rôle de défense contre les attaques des parasites sur les plantes (Matvienko *et al.*, 2001). Les ubiquinones, tel que l'ubiquinone (3) (fig. 12), également connu sous le nom de coenzyme Q, a un rôle dans le transport d'électron dans les mitochondries.

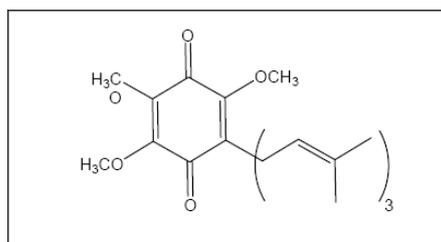


Fig. 12. Structure chimique de l'ubiquinone (3)

1.1.10. Bétacyanines

Les bétacyanines sont des colorants rouges abondamment retrouvés dans les betteraves. Elles ont des spectres d'absorption qui ressemblent à des anthocyanines, mais elles contiennent l'azote. L'exemple courant est la bétanidine (fig. 13).

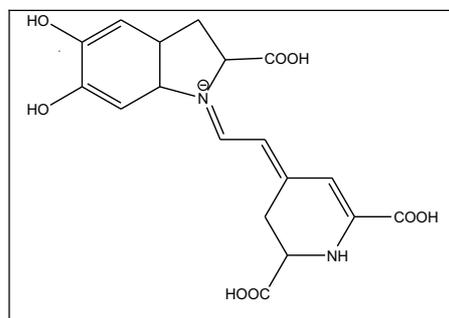


Fig. 13. Structure chimique du bétanidine

1.1.11. Lignanes

Les lignanes sont des dimères ou des oligomères qui ont comme précurseur les monolignols. Ils sont présents dans les fougères, les gymnospermes et les angiospermes. Ils sont localisés dans les tiges boisées et dans les graines et jouent un rôle comme moyens de dissuasion d'insecte. Certains de ces composés ont des propriétés médicinales.

1.1.12. Lignines

La lignine est un polymère phénolique. C'est le deuxième biopolymère abondant sur la terre après la cellulose. Elle fournit l'appui structural aux plantes. Son

caractère hydrophobe facilite également le transport de l'eau par le tissu vasculaire. De par sa complexité chimique et le manque apparent de régularité dans sa structure, les lignines se comportent comme une entrave physique contre les insectes.

1.1.13. Tannins

Les tannins constituent un groupe avec une diversité large en structure qui partage leur capacité de lier et précipiter les protéines. Les tannins se rapportent au processus de bronzer la peau animale pour former le cuir, ce processus a été connu depuis des époques préhistoriques.

Les tannins peuvent être classifiés en trois groupes : tannins condensés, tannins hydrolysables et tannins complexes (Khanbabae et Van Ree, 2001).

1.1.14. Phlobaphènes

Les phlobaphènes sont des polymères phénoliques (fig. 14). L'accumulation des phlobaphènes a comme conséquence une pigmentation rouge (Styles et Ceska, 1989).

La structure des phlobaphènes est mal connue. Certaines hypothèses suggèrent que ces composés sont des polymères de flavan-4-ols (Shirley-Winkel, 2001).

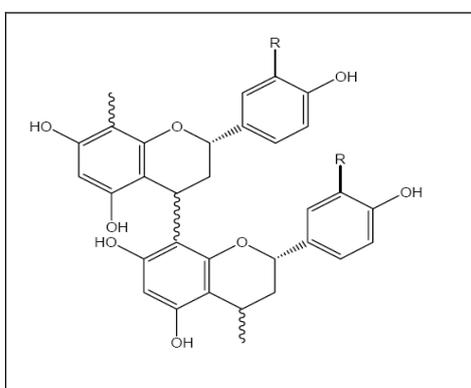


Fig. 14. Structure générale des phlobaphènes

2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une famille de composés qui sont omniprésents dans le règne végétal. Plus de 4.000 flavonoïdes naturels ont été découverts (Marin *et al.*, 2002).

2.1. Classes des flavonoïdes

Le terme "flavonoïde" est généralement employé pour décrire une large famille de produits naturels qui incluent le cadre de carbone C₆-C₃-C₆. Selon la position en C-3 central, ce groupe de produits naturels peut être divisé en trois classes : flavonoïdes (2-phénylbenzopyranes), isoflavonoïdes (3-benzopyranes) et néoflavonoïdes (4-benzopyranes) (fig. 15) (Jannie *et al.*, 2006).

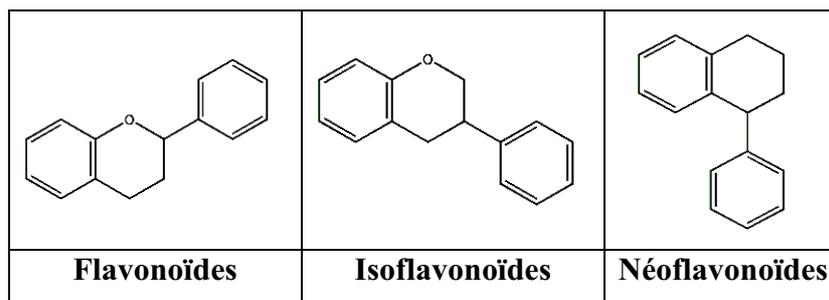


Fig. 15. Structures chimiques des flavonoïdes, isoflavonoïdes et néoflavonoïdes

2.1.1. Flavonoïdes (Phénylbenzopyranes)

Basés sur le degré d'oxydation et de saturation dans le C-3 de l'anneau hétérocyclique, les flavonoïdes peuvent être divisés en groupes suivants :

2.1.1.1. Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols

Ces trois groupes de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C-4. Cette position peut être libre (cas des flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (cas des flavan-3,4-diols).

Les anthocyanidols les plus fréquents sont le pélargonidol et le cyanidol. Les anthocyanosides sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (Bruneton, 1999).

➤ *Catéchines*

Les catéchines sont également connues comme flavan-3-ols et diffèrent des flavonols par l'absence de la double liaison entre les carbones 2 et 3, qui est leur empreinte digitale ainsi qu'un hydroxyle à la position 4 de l'anneau central.

Les différentes formes des catéchines sont : les épicatechines, les gallocatéchines et les epigallocatéchines (fig. 16) (Marin *et al.*, 2002).

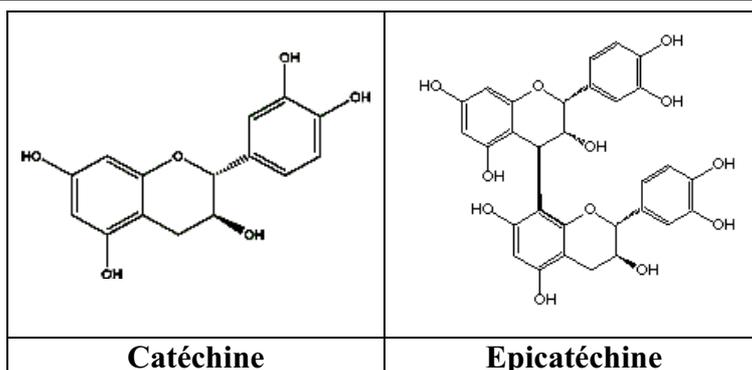


Fig. 16. Structure chimique de la catéchine et de l'epicatéchine

2.1.1.2. Flavones et flavonols

Les flavones ont une empreinte digitale structurale principale, qui est la présence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 de l'anneau central. De tous les produits chimiquement dérivés possibles de la structure de base, ceux avec le modèle d'hydroxylation de C-3 désigné spécifiquement sous le nom des flavonols (fig. 17) (Marin *et al.*, 2002).

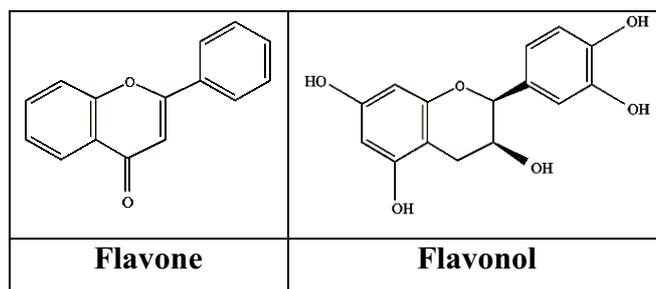


Fig. 17. Structure générale d'un flavone et d'un flavonol

2.1.1.3. Flavanones

Le modèle structural de base des flavanones est le squelette de 2 phénylbenzopirane-4-one. Les flavanones sont des composés qui ont un grand intérêt, puisqu'elles constituent une étape importante dans la voie métabolique des autres flavonoïdes. Leurs précurseurs métaboliques sont les chalcones, les flavones et les dihydroflavonols (Hunt et Baker, 1980).

2.1.1.4. Anthocyanines :

Les anthocyanines sont les colorants hydrosolubles responsables de la couleur rouge à la couleur pourpre des plantes (fig. 18).

Les anthocyanines ont un potentiel considérable dans l'industrie alimentaire en tant qu'additifs sûrs et efficaces (Marin *et al.*, 2002).

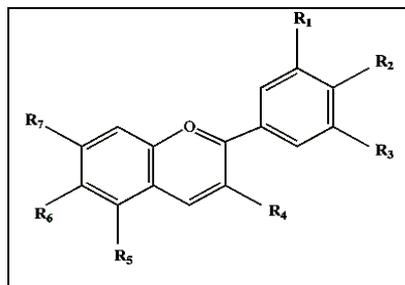


Fig. 18. Structure de base des anthocyanines

2.1.2. Isoflavonoïdes

Les isoflavonoïdes sont une sous-classe distinctive des flavonoïdes. En dépit de leur distribution limitée dans le règne végétal, les isoflavonoïdes sont remarquablement divers en ce qui concerne les variations structurales (fig. 19) (Jannie *et al.*, 2006).

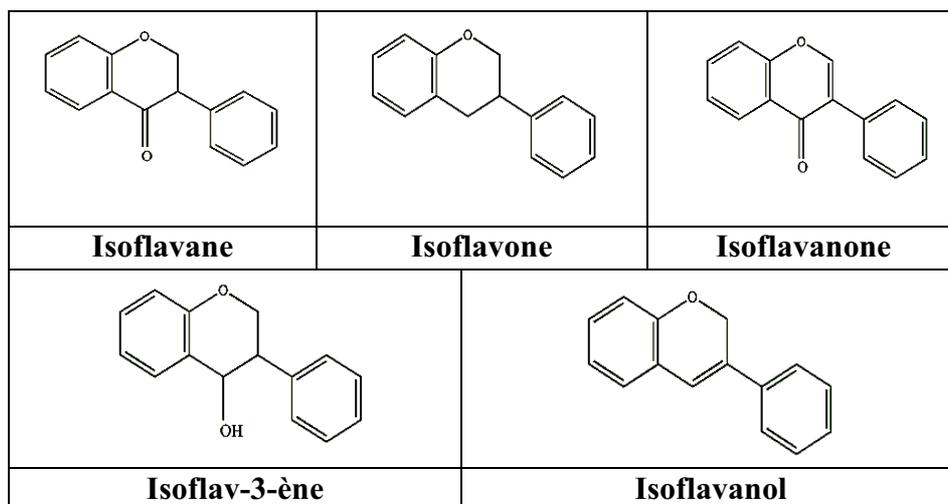


Fig. 19. Structures chimiques de quelques isoflavonoïdes

2.1.3. Néoflavonoïdes

Les néoflavonoïdes (fig. 20) sont structurellement étroitement liés aux flavonoïdes et aux isoflavonoïdes et comportent les 4-arylcoumarines (4-aryl-2H-1-benzopyran-2-one), 3,4 dihydro-4-arylcoumarines et néoflavènes (Jannie *et al.*, 2006).

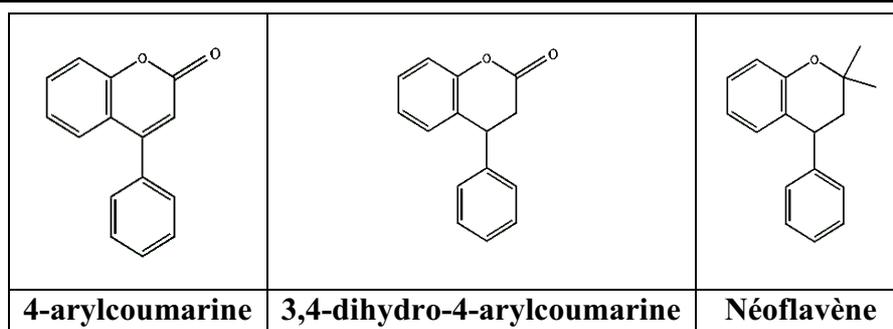


Fig. 20. Structures chimiques de quelques néoflavonoïdes

2.1.4. Flavonoïdes secondaires

Les produits naturels tels que les chalcones et les aurones contiennent également la structure en C₆-C₃-C₆ et sont considérés comme des flavonoïdes secondaires. Ces groupes de composés incluent la 2-hydroxychalcone, la 2'-OH-dihydrochalcone, 2-OH-rétro-chalcone, aurone (2-benzylidencoumaranone) et auronol (fig. 21) (Jannie *et al.*, 2006).

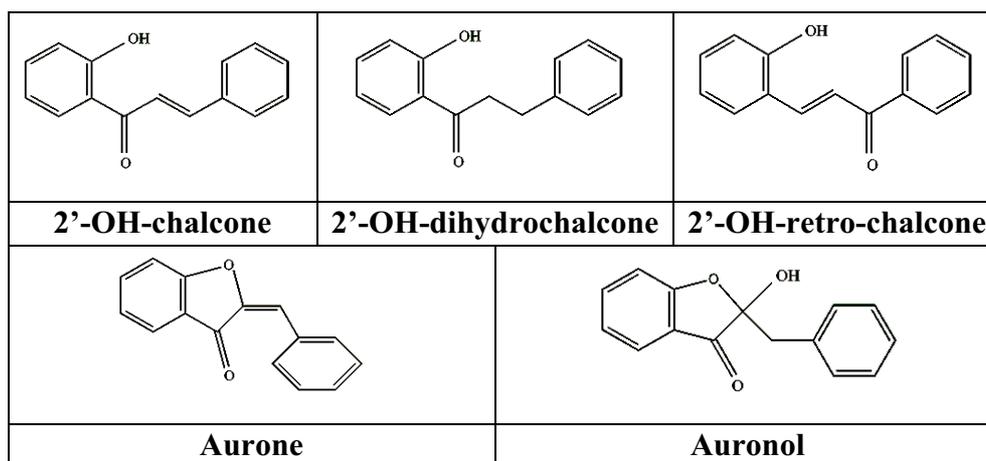


Fig. 21. Flavonoïdes secondaires

2.2. Rôles attribués aux flavonoïdes

Plusieurs rôles sont attribués aux composés phénoliques. La famille des flavonoïdes étant la famille la plus caractéristique et la plus étudiée et qui renferme des molécules, biologiquement, actives.

Les flavonoïdes, au sein des plantes, montrent des propriétés diverses et importantes à leur survie contre les agressions extérieures. En tant que colorants protecteurs, ils protègent les plantes des effets préjudiciables de la lumière UV. Ils ont aussi des propriétés protectrices contre les herbivores, comme beaucoup de

phytoalexines, et sont également considérés comme des signaux d'interaction entre les plantes qui vivent en symbiose (Andersen et Markham, 2006).

Les isoflavones, aussi bien chez les animaux que chez l'homme, ont un effet semblable à celui des œstrogènes, et c'est pour cette raison qu'elles ont été appelées des phytoestrogènes (Heldt, 2005 ; Hwang *et al.*, 2006).

Les travaux les plus récents semblent s'accorder sur un effet protecteur des isoflavones vis-à-vis du cancer de la prostate (Adlercreutz, 2002 ; Sarkar et Li, 2003 ; Greenwald, 2004 ; Singh et Agarwal, 2005).

2.2.1. Effets protecteurs sur l'ADN

Les flavonoïdes peuvent protéger l'ADN contre les dommages qui sont provoqués par les rayonnements UV (Kooststra, 1994).

2.2.2. Effets antiprolifératifs

Les flavonoïdes ont montré un effet antiprolifératif sur plusieurs variétés de cellules néoplasiques humaines, telles que les cellules de la leucémie lymphoïde et myéloïde (Larocca *et al.*, 1990), les cellules cancéreuses ovariennes et gastriques (Scambia *et al.*, 1990) et les cellules cancéreuses de la prostate (Peterson et Barnes, 1993). Ils peuvent affecter plusieurs activités enzymatiques et/ou régler l'activité d'autres enzymes qui peuvent jouer un rôle critique dans la prolifération et la croissance des cellules (Marin *et al.*, 2002).

2.2.3. Effets sur les parois vasculaires

Ghedira (2005) rapporte que l'ingestion des flavonoïdes d'origine alimentaire a été associée à une réduction considérable de la mortalité liée aux maladies cardio-vasculaires. Il cite aussi qu'une étude faite sur 805 sujets de sexe masculin, menée aux Pays-Bas (*Zulphen Elderly Study*) a mis en évidence une corrélation négative entre la prise de flavonoïdes d'origine alimentaire et les maladies cardio-vasculaires.

Les flavonoïdes exercent un effet sur l'agrégation des plaquettes qui bloquent la microcirculation et mènent à la pathologie vasculaire. Actuellement, ces désordres peuvent être traités par beaucoup de médicaments qui sont à base de flavonoïdes fondamentalement dérivés du diosmine ou la méthylchalcone et les hydroxyéthylrutosides d'héspéridine, qui agissent principalement sur l'endothélium microvasculaire pour réduire l'hyper perméabilité et l'œdème (Marin *et al.*, 2002).

2.2.4. Effets Antiallergiques

Les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMPc phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. La quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium, utilisé comme médicament, en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (Favier, 2003 ; Ghedira, 2005).

2.2.5. Effets Anti-inflammatoires

Les flavonoïdes : lutéoline, galangine et catéchine, inhibent de façon modérée la cycloxygénase, tandis que l'apigénine et la phlorétine diminuent l'activité cycloxygénase et inhibent l'agrégation plaquettaire (Girotti-chanu, 2006).

2.2.6. Effets Antiulcéreux

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques (Baggio *et al.*, 2007).

2.2.7. Activités lipolytiques

Outre ses effets sur l'adipogenèse, la génistéine augmente significativement la lipolyse. Le pycnogénol stimule la lipolyse et inhibe la lipogenèse (Girotti-Chanu, 2006).

2.2.8. Propriétés hépatoprotectrices

La silymarine est un mélange complexe de flavolignane et de flavanone, extrait de la plante *Silybum marianum*. Ce mélange a été utilisé depuis des siècles pour ses vertus thérapeutiques contre les affections hépatiques. La silymarine a été testée sur un modèle animal expérimental et a démontré un effet positif sur les hépatocytes intacts et sur les cellules hépatiques endommagées, agissant sur la membrane cellulaire et prévenant l'entrée des substances toxiques. Elle stimule la capacité régénérative des cellules hépatiques après hépatectomie partielle, ce qui prouve son utilisation médicinale (Ghedira, 2005).

Chapitre 3.

[Les huiles essentielles]

Une huile essentielle ou essence se décrit communément comme un mélange de composés aromatiques extrait d'une plante, obtenu par entraînement à la vapeur ou par hydrodistillation, cette dernière, étant développée par les Arabes vers le IX^{ème} siècle, notamment, après le développement de l'alambic par Avicenne.

Les huiles essentielles (HE) ont été utilisées depuis des millénaires pour leurs vertus thérapeutiques (antiseptique, antibactérienne, antivirale, analgésique, sédative, anti-inflammatoire ...) et ont été largement utilisées en tant que fragrance et le sont toujours.

Actuellement, le règne végétal nous offre une grande diversité permettant d'obtenir plus de 3000 HE, parmi lesquelles, environ 300 sont importantes d'un point de vue commercial, spécialement dans l'industrie pharmaceutique, l'agroalimentaire, le cosmétique et la parfumerie (Bakkali *et al.*, 2008).

Selon la pharmacopée européenne, une HE est : un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (Fillatre, 2011).

D'un point de vue chimique, les HE sont des liquides odorants de consistance huileuse, très volatils, dotées de caractère hydrophobe, solubles dans les solvants organiques et de densité inférieure à celle de l'eau.

Les HE sont synthétisées par les plantes par ses différents organes : à partir de racines (iris), de bulbes (ail) ou de rhizomes (gingembre). Elles peuvent aussi être issues de la tige (petits grains), du bois (rose, cèdre) ou encore de l'écorce (cannelle). Les feuilles (eucalyptus, citronnelle), les bourgeons (pin), les fleurs (rose), les fruits (orange) et les graines (muscade, anis). Pour certaines HE, comme celles de la lavande ou de la sauge, c'est la plante entière qui est utilisée.

Dans la nature, les HE semblent jouer un rôle dans la protection des végétaux contre les agressions extérieurs causées par les microorganismes, contre les insectes et même les animaux herbivores (Bakkali *et al.*, 2008). Elles ont aussi un rôle dans l'attraction des insectes pour la dispersion des grains de pollen et des graines de certaines plantes.

1. Méthodes d'obtention des huiles essentielles

L'obtention des HE se fait, actuellement, par plusieurs méthodes d'extraction. Certains auteurs les classifient en deux groupes : les méthodes conventionnelles, dites classiques, et les méthodes innovantes.

1.1. Les méthodes conventionnelles

1.1.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et la plus ancienne, utilisée depuis des siècles pour l'extraction des HE (Meyer-Warnod, 1984). Historiquement, Avicenne (980-1037) a été le premier à développer l'extraction à travers l'alambic. Il a extrait la première HE pure de la rose.

La matière végétale est immergée directement dans l'eau à l'intérieur d'un alambic et le tout est porté à l'ébullition. Le dispositif d'extraction comprend une source de chauffage surmontée par un alambic, dans lequel, le matériel végétal et l'eau sont mélangés. Le dispositif comprend, en outre, un condenseur et d'un décanteur pour recueillir le condensat et pour séparer les HE de l'eau.

Le principe d'extraction est basé sur la distillation azéotropique. En fait, à la pression atmosphérique et pendant le processus d'extraction (de chauffage), l'eau et les

molécules des HE forment un mélange hétérogène dont le point d'ébullition est proche de 100 °C, alors que pour les molécules des HE, ce point d'ébullition est très élevé. Le mélange HE/eau est ensuite distillé simultanément comme s'il était un seul composé. Ceci est désigné comme une co-distillation en présence de vapeurs d'eau comme solvant d'entraînement.

L'hydrodistillation par le système Clevenger est recommandée par la troisième édition de la Pharmacopée Européenne pour la détermination des rendements en HE. Ce système permet le recyclage des condensats par un système de cohobage (Bohra *et al.*, 1994 ; Asbahani *et al.*, 2015).

Une variante de cette technique optimisée ; la turbo-distillation, permet d'obtenir des rendements élevés en recyclant l'eau aromatique. Cette variante a l'avantage de réduire le temps de distillation grâce à la présence des turbines (Seiller et Martini, 1999).

1.1.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Cette méthode est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'obtention des HE. Son principe est le même que celui de l'hydrodistillation sauf qu'il n'y a pas de contact direct entre la matière végétale et l'eau (Masango, 2005).

1.1.3. Extraction par solvant organique

Le principe de cette méthode est que le matériel végétal soit macéré dans un solvant organique. L'extrait est concentré par élimination du solvant sous pression réduite. Cette technique a l'avantage d'éviter les modifications et les artefacts chimiques.

1.1.4. Le pressage à froid

Le pressage à froid est une méthode traditionnelle, essentiellement, utilisée pour extraire les HE à partir des agrumes. L'expression à froid consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit. Les HE sont obtenues mécaniquement par pression à froid qui donne une émulsion aqueuse. L'HE est ensuite récupérée par centrifugation (Ferhat *et al.*, 2007).

1.2. Les méthodes innovantes

Un des inconvénients des techniques conventionnelles est lié à la thermolabilité des HE qui subissent des transformations chimiques (hydrolyse, isomérisation,

oxydation) en raison des températures élevées appliquées lors de l'extraction. Ainsi, la qualité des HE est remise en cause, particulièrement, si le temps d'extraction est long.

Il est important que les méthodes d'extraction utilisées pour obtenir les HE, maintiennent la composition des HE proportionnelle à son état d'origine. De ce fait, de nouvelles techniques d'extraction doivent être appliquées pour réduire le temps d'extraction, réduire la consommation d'énergie, réduire l'utilisation des solvants et réduire les émissions de CO₂ (Asbahani *et al.*, 2015).

1.2.1. Extraction par CO₂ supercritique

Le dioxyde de carbone est généralement le plus largement utilisé comme solvant d'extraction des HE en raison de ses nombreux avantages: (i) son point critique est facilement accessible (basse pression critique: 72.9 atm et basse température: 31.2 °C), (ii) il présente aucune agressivité pour les composés thermolabiles des HE, (iii) il est chimiquement inerte et non toxique, (iv) non inflammable, (v) disponible en haute pureté à un coût relativement faible, (vi) son élimination de l'extrait est facile (se fait par simple dépression) et (vii) sa polarité semblable à du pentane qui le rend approprié pour l'extraction des composés lipophiles (Herrero *et al.*, 2006 ; Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007).

Le principe est basé sur l'utilisation et le recyclage du liquide dans les étapes répétées de compression/décompression. Par une haute compression et chauffage, le CO₂ atteint l'état supercritique. Il passe à travers la matière végétale et extrait les composés volatils. Ceci est suivi par une étape de décompression; l'extrait est acheminé à un ou plusieurs séparateurs, où le CO₂ est décomprimé progressivement (perdant ainsi son pouvoir solvant) pour séparer l'extrait obtenu à partir du fluide. Ce dernier pourrait être transformé en un gaz libéré et pourraient donc être recyclé (fig. 22) (Fornari *et al.*, 2012).

Le seul obstacle à l'utilisation de cette technique est le coût exorbitant des équipements, leurs installations et leurs opérations de maintenance.

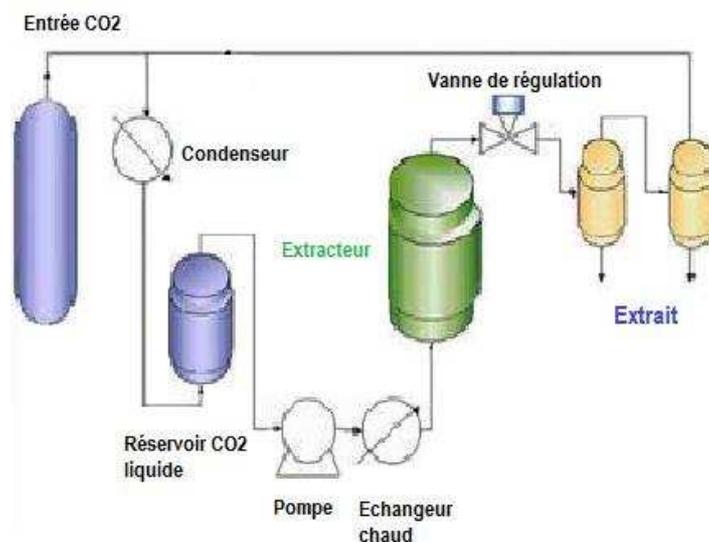


Fig. 22. Schéma descriptif du dispositif d'extraction par CO₂ supercritique (Fillatre, 2011)

1.2.2. Extraction par les ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons est une technique de laboratoire développée en 1950 (Vinatoru, 2001). Cette technique permet l'intensification et la sélectivité de l'extraction des HE en accélérant leurs sorties des poches sécrétrices à partir des plantes aromatiques. Le matériel végétal est ainsi immergé dans de l'eau ou dans un solvant et en même temps soumis à l'action des ultrasons. Les ondes ultrasons utilisées ont une fréquence de 20 kHz à 1 MHz. Ceci induit des vibrations mécaniques au niveau des membranes des poches sécrétrices induisant une libération rapide des gouttelettes d'HE.

Par rapport aux méthodes d'extraction classiques, l'extraction par ultrasons améliore l'efficacité de l'extraction et le rendement, réduit la température d'extraction et augmente les intervalles de sélection de solvants (Romanik *et al.*, 2007).

1.2.3. Extraction assistée par micro-ondes

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques avec une fréquence entre 300 MHz et 30 GHz et une longueur d'onde comprise entre 1 cm et 1 m. L'utilisation de telle technique a évolué avec le développement du concept d'extraction vert et le besoin de nouvelles méthodes qui économisent à la fois le temps et l'énergie.

L'innovation de l'extraction assistée par micro-ondes a conduit au développement d'un grand nombre de variantes de cette technique, telles que l'hydrodistillation assistée

par micro-ondes (Stashenko *et al.*, 2004 ; Golmakani Rezaei, 2008), l'extraction sans solvant par micro-ondes (Lucchesi *et al.*, 2004), la distillation accélérée à la vapeur par micro-ondes (Chemat et Lucchesi, 2006 ; Sahraoui *et al.*, 2008) et l'extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité (Vian *et al.*, 2008).

L'extraction assistée par micro-ondes présente plusieurs avantages : c'est une technique qui économise l'énergie et le temps, reproductible et facile à mettre en œuvre (fig. 23).

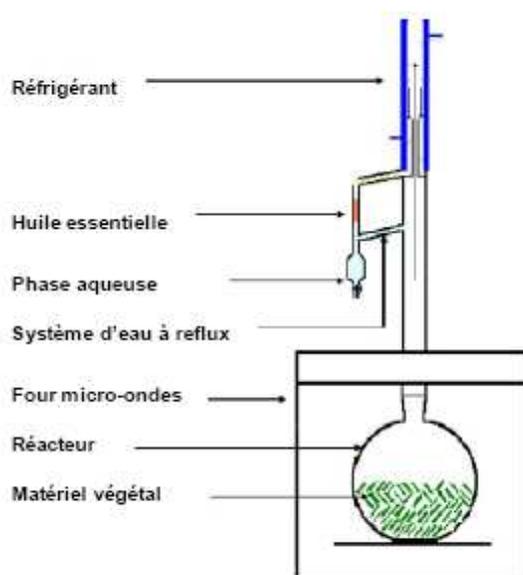


Fig. 23. Description schématique du système d'extraction par micro-ondes sans solvant (Fillatre, 2011)

2. Chimie des huiles essentielles

D'un point de vue général, une HE se définit chimiquement comme un mélange complexe constitué d'environ 20 à 60 composés, à des concentrations différentes, appartenant majoritairement à deux groupes. Il s'agit des terpènes et des terpénoïdes, représentant la classe la plus importante, et des composés aromatiques et aliphatiques qui sont, tous, des composés de faible poids moléculaire (Bakkali *et al.*, 2008).

2.1. Les terpènes et terpénoïdes

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représentés et d'un intérêt chimique considérable. Bien que de structures très diverses, les terpènes ont un caractère commun : ils sont tous formés par la réunion d'unités isopréniques (fig. 24).

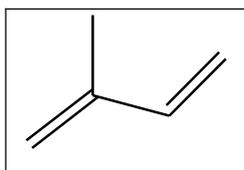


Fig. 24. Structure de l'isoprène

Une classification rationnelle est basée sur le nombre d'unités isopréniques qu'ils renferment. On définit alors les hémiterpènes (1 unité : C₅), les monoterpènes (2 unités : C₁₀), les sesquiterpènes (3 unités : C₁₅), les diterpènes (4 unités : C₂₀), les sesterpènes (5 unités : C₂₅), les triterpènes (6 unités : C₃₀), les carotènes (8 unités : C₄₀) et les polyisoprènes (n unités : C_{5n}).

Un terpène qui possède un oxygène est un terpénoïde. A noter que le terme terpène, anciennement employé pour caractériser l'ensemble de la classe des terpénoïdes, a une définition, aujourd'hui, plus restreinte et ne s'adresse qu'aux (mono)-terpénoïdes hydrocarbonés. Dans le cas des HE, seuls sont rencontrés les terpénoïdes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, principalement, les mono- et sesquiterpénoïdes et beaucoup plus rarement les diterpénoïdes. Les monoterpénoïdes représentent à eux seuls environ 90 % des HE.

Les terpénoïdes se caractérisent par une grande variété de structures dont certaines sont regroupées dans la figure 25.

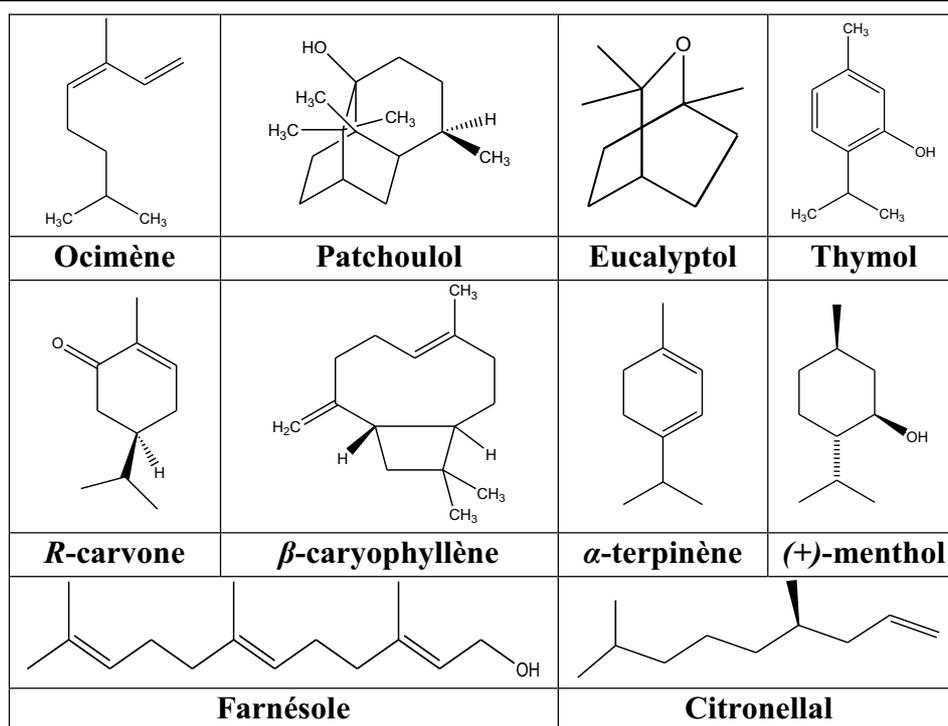


Fig. 25. Structures chimiques de quelques mono et sesquiterpénoïdes

2.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques des HE sont principalement des dérivés du phénylpropane C6-C3, parmi lesquels se trouvent des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des phénols (eugénol), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou dioxy méthylène (safrol) (fig. 26).

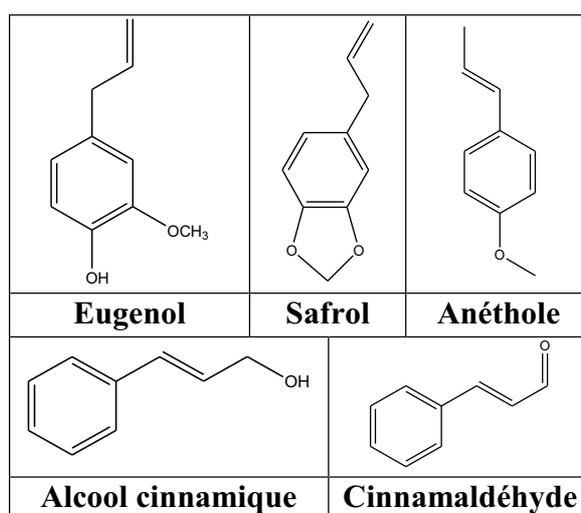


Fig. 26. Exemples de quelques composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des HE

Il est cependant possible de rencontrer des C6-C1, comme la vanilline et l'anthranilate de méthyle, ainsi que des lactones qui proviennent des coumarines (fig. 27).

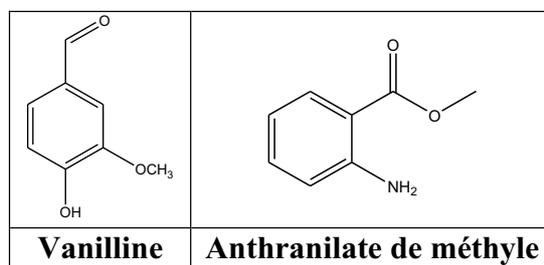


Fig. 27. Exemples de quelques composés aromatiques C6-C1 rencontrés dans les HE

3. Analyse des huiles essentielles

3.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse est un outil incontournable dans l'analyse des HE. Cette technique d'analyse est utilisée depuis le milieu du siècle dernier. Elle s'est rapidement imposée de par son coût relativement modéré, son automatisation, sa robustesse ainsi que sa large gamme de colonnes et de détecteurs disponibles.

Son principe repose sur la séparation de composés volatils selon leurs affinités pour la phase stationnaire (colonne). L'analyse des composés liquides ou solides impose donc la nécessité de les volatiliser à haute température. Ce point étant son inconvénient majeur.

Plusieurs détecteurs sont utilisés pour l'analyse des HE, principalement, le détecteur à ionisation de flamme (FID) et le détecteur à conductibilité thermique (TCD).

3.2. Le couplage CPG avec la spectrométrie de masse (CPG-SM)

Le détecteur SM permet, via les spectres, de donner des informations sur la structure des composés d'une HE permettant ainsi leur identification.

En sortie de colonne (partie CPG), le composé élué est bombardé par un faisceau d'électrons de haute énergie (70 eV). La molécule s'ionise et se fragmente en différents ions. Ces ions sont séparés selon leur rapport masse/charge (m/z). Cette séparation se fait

dans le quadripôle. Tout le processus se fait à vide afin d'éliminer toutes les entités non chargées positivement et d'augmenter la durée de vie des ions formés.

3.3. La résonance magnétique nucléaire RMN du carbone 13

La RMN du ^{13}C , en tant qu'outil d'analyse des mélanges, a fait l'objet de travaux dans différents domaines d'investigation : coupes pétrolières, produits agroalimentaires, huiles essentielles... Dans le droit fil des travaux précurseurs de Formàcek et Kubeczka (1982) dans le domaine des huiles essentielles, la plupart des études continuent à utiliser la RMN comme une méthode de confirmation plutôt qu'une méthode d'identification.

Depuis le début des années 1990s, les travaux menés par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse, ont fait de la RMN du ^{13}C , un véritable outil d'analyse des mélanges complexes naturels (Corticchiato et Casanova, 1992 ; Tomi *et al.*, 1995) complémentaire des techniques conventionnelles développées.

Selon la méthode mise au point et développée au sein du laboratoire « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse - France, l'identification des composés dans le spectre RMN du ^{13}C du mélange, est réalisée par comparaison des déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux de produits de référence contenus dans des banques de données spectrales conçues à cet effet. L'enregistrement des spectres de référence et des mélanges sont réalisés dans les mêmes conditions expérimentales (nature du solvant, concentration, paramètres d'enregistrement des spectres ...).

Ainsi, l'identification des composés présents dans un mélange est réalisée par la prise en compte de trois paramètres directement accessibles par un logiciel propre au laboratoire :

- le nombre de pics observés par rapport au nombre de pics attendus pour chaque molécule ;
- le nombre de superpositions de pics qui peuvent se produire quand deux carbones appartenant à des molécules différentes présentent fortuitement le même déplacement chimique ;
- les variations des déplacements chimiques des carbones dans le spectre du mélange par rapport aux valeurs de références ;

- de plus, l'intensité des pics permet, éventuellement, de contrôler l'appartenance du signal d'un carbone à tel ou tel composé.

Cette méthode a été appliquée à différentes familles de molécules (terpènes, lipides, sucres, phénols ...) selon un protocole expérimental spécifiquement adapté à chaque famille (nature du solvant, dilution, paramètres d'enregistrement des spectres) (fig. 28) (Gherib, 2014).

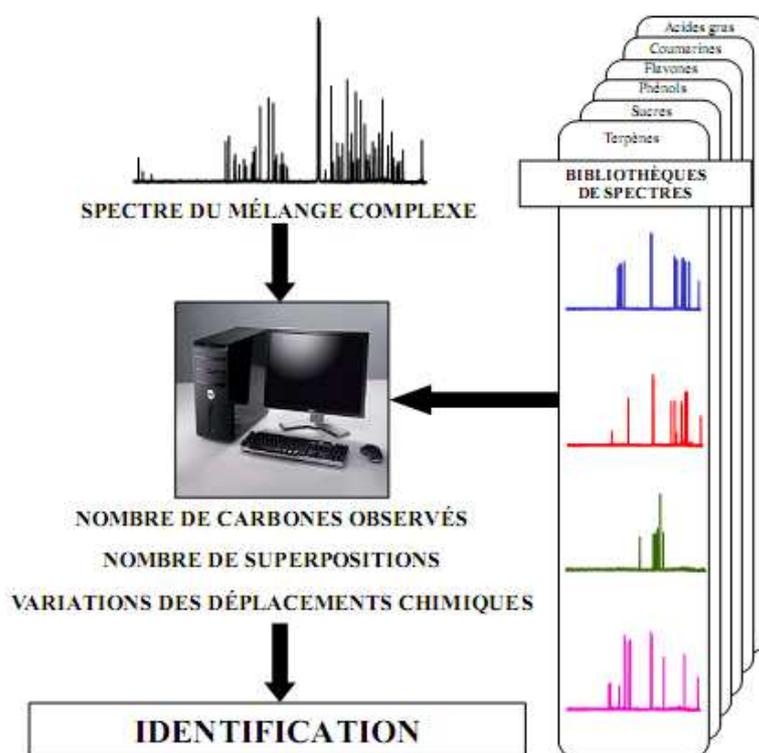


Fig. 28. Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN ¹³C (Gherib, 2014)

4. Les activités biologiques des huiles essentielles

Le rôle que jouent les HE au sein des plantes reste mal connu. Néanmoins, les effets biologiques bénéfiques de ces mélanges pour l'être humain sont connus depuis la nuit des temps. Les recherches récentes ont approuvé l'utilisation des HE pour des fins thérapeutiques.

Nous savons, aujourd'hui, que de nombreuses HE, comme les huiles de cannelle, de piment, de laurier et d'origan, présentent un pouvoir antioxydant (Politeo *et al.*, 2006 ;

Miguel, 2010 ; Saleh *et al.*, 2010 ; Amorati *et al.*, 2013). D'autres HE présentent des effets anti-inflammatoires intéressants (Silva *et al.*, 2003 ; Lin *et al.*, 2008 ; Olufunke *et al.*, 2009 ; Cabral *et al.*, 2015). D'autres sont même dotées d'activité antitumorale (De Sousa *et al.*, 2004 ; Mbarek *et al.*, 2007).

Parmi les activités biologiques intéressantes des HE et qui a été abondamment étudiée depuis des années, l'activité antimicrobienne des HE est aujourd'hui un fait approuvé et qui est en plein exploitation dans différents domaines. L'activité antimicrobienne est le résultat de groupes fonctionnels présents dans les métabolites et de leurs synergies. Les plus actifs de ces groupes fonctionnels sont les : phénols > aldéhydes > cétones > alcools > éthers > hydrocarbures (Fernandez et Chemat, 2012).

Plusieurs publications ont montré que certains composés des HE ont une activité antimicrobienne : le limonène (Singh *et al.*, 2010), *p*-cymène (Akash Kedia, 2013 ; Chen *et al.*, 2014), géraniol (Chen et Viljoen, 2010), linalool (Changmann Yoon, 2011 ; Park *et al.*, 2012 ; Huo *et al.*, 2013 ; Miyashita et Sadzuka, 2013), bornéol (Abdelrhafour Tantaoui- Elaraki, 1993 ; Jaafari *et al.*, 2007), citronellal (Singh *et al.*, 2012 ; Sadaka *et al.*, 2013), thymol (Riella *et al.*, 2012 ; Wattanasatcha *et al.*, 2012 ; Gavliakova et Biringerova, 2013) cinnamaldéhyde (Ye *et al.*, 2013), périllaldéhyde (Kim *et al.*, 1995 ; Tian *et al.*, 2015).

La majorité des travaux publiés se limitent à la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des HE. Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont très peu nombreuses et ne constituent que des hypothèses. La complexité de ces mélanges de produit rend l'identification exacte du mécanisme d'action très difficile à cerner d'un point de vue moléculaire. Néanmoins, il est supposable que le mécanisme d'action des HE se fait en trois phases :

- attaque de la paroi microbienne par l'HE, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire (ATP) due à la perte d'ions et la réduction du potentiel membranaire ;
- destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Fernandez et Chemat, 2012).

La figure 29 résume l'action antimicrobienne des huiles essentielles (Nazzaro *et al.*, 2013).

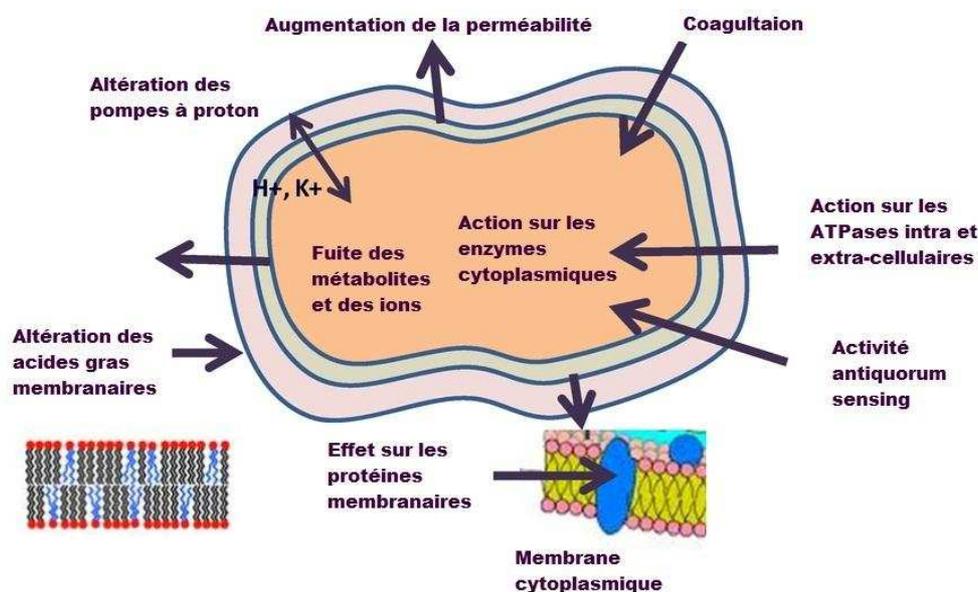


Fig. 29. Les sites d'action des HE sur la cellule microbienne

5. Applications des huiles essentielles

Depuis plus d'une trentaine d'années, des études sont menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des HE dans divers autres domaines (Fernandez et Chemat, 2012).

Notamment, les HE ont des applications intéressantes dans le domaine de l'agroalimentaire pour la conservation des produits alimentaires (Oussalah *et al.*, 2007). Le domaine du cosmétique étant le premier domaine d'application des HE, en particulier, en parfumerie. Leur emploi historique le plus notable a été dans l'eau de cologne, créée par Jean-Marie Farina vers 1714. Une autre application intéressante des HE, c'est leur propriété insecticide et pesticide (Chen et Viljoen, 2010 ; Singh *et al.*, 2012 ; Evergetis *et al.*, 2013 ; Huo *et al.*, 2013). D'autres applications intéressantes en médecine sont en cours de recherche.

Chapitre 4.

[Mécanismes réactionnels des méthodes de l'évaluation de la capacité antioxydante utilisées dans cette étude]

La capacité antioxydante est la capacité d'un composé à protéger un système biologique (une matrice) contre les effets, potentiellement, nocifs des processus chimiques impliquant des ERO et des ERN (Karadag *et al.*, 2009).

Ces effets protecteurs des antioxydants ont reçu une attention croissante durant les dernières années, et ce dans différents domaines de la biologie, de la médecine, de la nutrition, et de l'agrochimie.

De ce fait, plusieurs tests antioxydants ont été mis en place pour tester, chercher et vérifier le pouvoir antioxydant des composés d'intérêt. Le développement de ces tests a été basé sur plusieurs paramètres (mécanisme réactionnel, espèces cibles, conditions opératoires, expression de résultats et identification des interférences) dans le but de disposer d'un pool de méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante qui soit adapté aux différents domaines d'application.

Les méthodes ainsi mises à disposition doivent être simples, fiables, peu coûteuses et reproductibles.

1. Mécanisme réactionnel

Le mécanisme réactionnel des antioxydants a été trop discuté et détaillé dans différents articles scientifiques et dont plusieurs définitions et hypothèses ont été proposées. Ceci peut être expliqué par la complexité des matrices impliquées dans les différents tests antioxydants ainsi que les cibles pour chaque méthode.

D'une façon générale, la définition la plus adaptée pour expliquer le mécanisme réactionnel des méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydante est basée sur deux mécanismes : le transfert d'hydrogène (TH) et le transfert d'électrons (TE).

Les méthodes basées sur le TH mesurent la capacité d'un antioxydant à piéger les radicaux libres par le don d'hydrogène pour former des composés stables. La majorité de ces méthodes sont basées sur la cinétique chimique et impliquent un schéma réactionnel compétitif entre l'antioxydant et le substrat sur les radicaux libres générés (Phatak et Hendre, 2014).

Quant aux méthodes basées sur le TE, le principe est qu'un antioxydant cède un électron pour stopper la réaction d'oxydation. Dans ces méthodes, il s'agit d'une mesure de la capacité qu'a un composé (antioxydant) à réduire un oxydant qui va changer de couleur suite à sa réduction (Prior *et al.*, 2005 in Karadag *et al.*, 2009).

Le TH et le TE peuvent se produire en parallèle dans une réaction, mais le mécanisme dominant peut être défini par les propriétés et la structure de l'antioxydant, sa solubilité dans le milieu réactionnel, son coefficient de partage et la nature du solvant utilisé. L'énergie de dissociation de liaison (BDE) et le potentiel d'ionisation (IP) sont deux facteurs majeurs qui déterminent le mécanisme et l'efficacité des antioxydants (Wright *et al.*, 2001 ; Prior *et al.*, 2005).

Outre ces paramètres, les méthodes basées sur le TE sont pH dépendants. Dans des conditions acides, la capacité réductrice peut être diminuée en raison de la protonation des antioxydants, tandis que, dans des conditions alcalines, la dissociation des protons des composés phénoliques augmenteraient la capacité antioxydante des échantillons (Huang *et al.*, 2005).

Quant aux méthodes basées sur le TH, ce sont des méthodes qui dépendent fortement du pH du milieu et du solvant utilisé. Contrairement au TE, les méthodes TH sont plus rapides et qui se terminent en quelques secondes à quelques minutes (Prior *et al.*, 2005).

D'un point de vue physiologique, la question se pose, quel mécanisme réactionnel est dominant ? Wright *et al.* (2001) ont étudié la densité théorique fonctionnelle pour calculer les valeurs de l'enthalpie, en phase gazeuse, de la dissociation des liaisons et le potentiel d'ionisation des molécules dites

antioxydantes ; tocophérols, aminophénols et catéchines. Les résultats obtenus ont montré la dominance du mécanisme TH par rapport au mécanisme TE.

2. Méthodes pour l'évaluation de l'activité antioxydante impliquant le transfert d'électron comme mécanisme réactionnel

2.1. Analyse de la capacité antioxydante totale (TAC : Total Antioxidant Capacity)

L'analyse de la capacité antioxydante totale d'un composé donné ou d'un extrait végétal est une méthode spectroscopique pour la détermination quantitative de la capacité antioxydante, par la formation d'un complexe de phosphomolybdène. Le mécanisme réactionnel est basé sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) par l'échantillon qui forme ainsi un complexe de Mo (V) de couleur verte à pH acide. Le processus se base sur l'auto-oxydation par la chaleur (95 °C) et nécessitant de longues périodes d'incubation (90 minutes).

2.2. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical hydroxyle (*OH*[•] scavenging activity)

Le radical hydroxyle est l'une des espèces réactives de l'oxygène dans les systèmes biologiques, qui réagit avec les acides gras polyinsaturés des phospholipides de la membrane cellulaire et provoque ainsi des dommages à la cellule (Alam *et al.*, 2013).

En raison de la réactivité élevée des radicaux hydroxyles, presque toutes les molécules dans les systèmes biologiques peuvent être considérées comme des piègeurs du radical hydroxyle. Ainsi, l'évaluation du piégeage direct de HO[•] est délicate, ceci peut être expliqué par la nécessité d'avoir des concentrations très élevées du piègeur pour concurrencer les molécules adjacentes *in vivo*. De ce fait, l'interprétation des résultats reste toujours difficile.

2.3. Analyse de la capacité antioxydante par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)

La méthode au réactif de Folin-Ciocalteu, simple et sensible, est habituellement utilisée pour doser des polyphénols totaux d'un échantillon. Elle peut

également représenter une mesure de la capacité réductrice d'un échantillon et, par conséquent, être représentative de son activité antioxydante.

La chimie derrière l'analyse au réactif de Folin-Ciocalteu (FC) se fonde sur le transfert des électrons dans un milieu alcalin à partir des composés phénoliques et de toutes autres espèces réductrices au molybdène, formant des complexes bleus qui peuvent être détectés à 750-765 nm (Singleton *et al.*, 1999).

Par conséquent, ce n'est que récemment que l'analyse par le FC est proposée pour mesurer la capacité réductrice totale des échantillons (Huang *et al.*, 2005). D'excellentes corrélations linéaires entre l'analyse FC avec d'autres méthodes ont été établies (Roginsky et Lissi, 2005).

3. Méthodes pour l'évaluation de l'activité antioxydante impliquant le transfert d'hydrogène comme mécanisme réactionnel

3.1. Analyse de la capacité antioxydante par la Co-oxydation du β -carotène et de l'acide linoléique

Cette technique consiste à mesurer à 470 nm, la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique.

La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux, induit un retard de la cinétique de la décoloration du β -carotène (Koleva *et al.*, 2001).

Cette méthode est sujette au parasitage de composés absorbants dans la fenêtre spectrale du β -carotène et l'interprétation des données n'est pas aisée, car le β -carotène est lui-même un antioxydant (Laguerre *et al.*, 2007).

4. Méthodes pour l'évaluation de l'activité antioxydante impliquant le transfert d'hydrogène et le transfert d'électron comme mécanisme réactionnel

4.1. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl DPPH (*DPPH scavenging activity*)

Dans cette analyse, le radical libre stable DPPH[•] de couleur pourpre est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle. La capacité de piégeage est généralement évaluée dans des milieux organiques en suivant la diminution de l'absorbance à 515 nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante (Brand-Williams *et al.*, 1995).

L'accessibilité stérique du radical DPPH[•] est une cause déterminante de la réaction, puisque les petites molécules qui ont un meilleur accès à l'emplacement du radical ont une capacité antioxydante relativement plus élevée (Huang *et al.*, 2005). De ce fait, beaucoup de composés antioxydants de taille moléculaire élevée qui réagissent rapidement avec les radicaux peuvent réagir lentement ou peuvent même être inertes dans cette analyse.

D'un point de vue critique, la solubilité du radical DPPH[•] limitée qu'aux solvants organiques, essentiellement les alcools, constitue une limite majeure de cette technique (Arnao, 2000). En outre, la présence des impuretés (basique ou acide) dans le solvant influe sur l'équilibre d'ionisation des composés testés et qui conduit soit à une diminution ou une amélioration des constantes de vitesses mesurées (MacDonald-Wicks *et al.*, 2006).

4.2. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du peroxyde d'hydrogène (*H₂O₂ scavenging activity*)

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité de piégeage contre cette molécule est basée sur l'absorption intrinsèque du H₂O₂ dans le domaine de l'UV (Ruch *et al.*, 1989). Comme la concentration d'H₂O₂ est diminuée par les composés piègeurs, la valeur de l'absorbance à 230 nm est également diminuée. Néanmoins, il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, ce qui peut compromettre la précision et l'exactitude de cette méthode.

Chapitre 5.

[Plantes médicinales étudiées]

1. Critères de sélection des plantes à intérêt

1.1. Utilisation des plantes en médecine traditionnelle

Plusieurs travaux scientifiques menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous confirment que les plantes utilisées en médecine traditionnelle sont souvent des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et sont quasiment dépourvues de toxicité.

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie mettent en relation les savoirs ancestraux des médecins traditionnels et les connaissances scientifiques actuelles. Les informations de terrain recueillies auprès des populations sont le reflet d'une approche culturelle de la maladie qui est fondée sur la symptomatologie.

L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles est donc extrêmement important pour une sélection efficace des plantes (Gurib-Fakim, 2006).

1.2. Aspects chimiotaxonomiques

Les plantes appartenant aux mêmes familles et/ou poussant dans les mêmes biotopes sont susceptibles de synthétiser les mêmes molécules chimiques. La chimiotaxonomie permet, si des substances sont particulièrement connues pour leur potentiel thérapeutique, de choisir des plantes proches de celles dans laquelle la substance a été détectée et étudiée (Grayer *et al.*, 1999).

1.3. Apports de la littérature

Il est plus judicieux de choisir des plantes qui ont été peu ou pas étudiées chimiquement. Cependant, si la famille ou le genre a déjà été étudié, il sera plus facile de trouver des procédés analytiques, d'identifier rapidement les composés déjà connus et de trouver des traceurs qualitatifs et quantitatifs (Lhuillier, 2007).

2. Plantes médicinales étudiées

Sur la base des critères de choix des plantes médicinales cités ci-dessus, notre sélection s'est portée sur trois plantes médicinales, à savoir : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Coss. & Moq. et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. Les trois plantes sélectionnées sont des plantes natives du Sud-ouest algérien et ont de multiples utilisations dans la médecine traditionnelle algérienne. Dans ce qui suit, nous rapportons la description botanique, l'utilisation médicinale ainsi que les travaux antérieurs pour chaque plante.

2.1. *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.

2.1.1. Description botanique

Les apiacées sont une famille de plante très importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 55 genres. C'est une famille d'arbustes, plantes sous-frutescentes ou herbacées, très variables, à feuilles en général très divisées. Inflorescences ombellifonnes munies à leur base de bractées souvent très caduques, simples ou le plus souvent composées d'ombellules munies ou non de bractéoles à leur base.

Les fleurs sont de type 5. Etamines 5 alternipétales, libres, insérées sur un disque plus ou moins apparent. Fruit constitué par un diakène couronné par le bourrelet calycinal, et se décomposant en ses deux parties qui restent souvent adhérentes à une columelle centrale bifide (Quezel et Santa, 1963).

Ammodaucus leucotrichus est une plante glabre, annuelle, à tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées, à lanières étroites, un peu charnues; ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées et petites; fruits très velus, portant de longs poils crépus, jaune-roux à la base, puis blancs, et longs de 8 à 10 mm. Assez commun dans tout le Sahara (Ozenda, 1991).

D'après Quézel et Santa (1963); Guignard et Dupont (2007), la classification qu'occupe *A. leucotrichus* est la suivante :

Classification botanique

Embranchement : *Spermaphytes*

Sous Embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Eudicots*

Sous Classe : *Astéridées*

Ordre : *Apiales*

Famille : *Apiacées*

Genre : *Ammodaucus*

Espèce : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.
syn. *Torilis leucotrichus* Coss. & Dur.

Noms Vernaculaires

Arabe : *الكمون الصُّوفي، المَصْوفَة، المَسْوفَة*

Berbère : *Akâman*

Français : *Cumin vélu, Cumin de Sahara*



Photos (1) : *A. leucotrichus*

<http://www.sahara-nature.com/plantes.php?aff=imprim&plante=ammodaucus%20leucotrichus>

2.1.2. Ethnopharmacologie

A. leucotrichus est une plante à usage médicinale et culinaire par les populations indigènes. Ses principales utilisations sont contre : les maux d'estomac, l'indigestion, les diarrhées, les vomissements, les spasmes et coliques, les vers intestinaux et la constipation (Merzouki *et al.*, 2000 ; Didi *et al.*, 2003 ; Fakchich et Elachouri, 2014).

La plante est aussi utilisée pour le traitement des symptômes d'allergie (Didi *et al.*, 2003 ; Hammiche et Maiza, 2006). Elle est utilisée aussi contre la toux, comme emménagogue et contre l'anorexie (Hammiche et Maiza, 2006). Sous forme d'infusion, les fruits d'*A. leucotrichus* sont utilisés pour le traitement des palpitations cardiaques (Jouad *et al.*, 2001). Une étude récente faite par Kabbaj *et al.* (2012) rapporte que quelques populations indigènes, au Maroc, utilisent les fruits d'*A. leucotrichus* pour le traitement du cancer des poumons sous forme de poudre mélangée avec du miel et administrée par voie orale.

Des herboristes locaux nous ont affirmé que la plante est utilisée aussi pour le traitement de l'hypertension artérielle, en mettant le fruit sous la langue lors d'un pic de tension sentis par le patient. Cette utilisation traditionnelle est soutenue par une étude faite par Takagi *et al.*, (2005). Cette dernière a étudié l'effet vasodilatateur du périllaldehyde (composé contenu dans la plante) sur des rats, pour en conclure que ce composé exerce un effet vasodilatateur en bloquant les canaux Ca^{2+} des aortes isolés des rats expérimentaux.

Le cumin velu est utilisé, surtout par les nomades, dans la préparation du thé, et est utilisé aussi comme épice dans le Sahara algérien.

2.1.3. Travaux antérieurs

Très peu d'études phytochimiques ont été rapportées sur l'espèce *A. leucotrichus*. En effet, l'étude faite par Muckensturm *et al.* (1997) sur la fraction étherée des fruits de cette espèce a révélé la présence de plusieurs composés, à savoir : ammolactone, limonène, périllaldéhyde, hydroxypérillaldéhyde, méthyl-périllate, bornéole angelate et un décalactone.

L'étude faite par Velasco-Negueruela *et al.* (2006) qui porte sur la caractérisation chimique des huiles essentielles extraites de deux variétés de l'espèce *A. leucotrichus* : *nanocarpus* et *leucotrichus*, a mis en évidence la présence de 22 composés terpéniques, dont le limonène et le périllaldéhyde comme composés majoritaires.

Une autre étude a révélé l'effet protecteur de l'extrait aqueux des fruits d'*A. leucotrichus* contre la lithiase urinaire testé *in vitro*. Des pourcentages d'inhibition élevés ont été rapportés (Beghalia *et al.*, 2008).

A notre connaissance, et suite à l'interrogation des différentes bases de données bibliographiques, aucune étude sur les activités biologiques d'*A. leucotrichus* n'a été publiée.

2.2. *Anabasis aretioides* Coss. & Moq.

2.2.1. Description botanique

Les Amaranthacées (Chénopodiacées) sont des plantes buissonnantes, rarement des herbes (*Chenopodium*, *Bassia*). Quelques genres ont des feuilles à limbe plat et bien développé (*Atriplex*, *Beta*, *Chenopodium*), mais très souvent les feuilles se réduisent à une gaine entourant la tige et terminée par un limbe réduit à une pointe coriace, les rameaux présentant alors un aspect articulé. Les fleurs sont toujours petites, peu visibles, cachées en partie entre des bractées; la floraison est en général automnale.

Les Amaranthacées comprennent plus de 100 genres et un millier d'espèces. Ce sont essentiellement des plantes de terrains salés vivant surtout sous les climats arides ou semi-arides: Bassin méditerranéen et Sahara, Moyen-Orient, steppes et déserts de l'Asie centrale, de l'Afrique du Sud, de l'Australie et des deux Amériques. En Europe, cette famille compte quelques dizaines de représentants: ce sont, soit des plantes de terrains salés littoraux ou sublittoraux (Salicornes de la Camargue par ex.), soit des plantes nitrophiles poussant sur les décombres (Chénopodes).

Anabasis aretioides est une plante formant des touffes compactes hémisphériques pouvant dépasser 50 cm de diamètre, constituées par des rameaux très serrés les uns contre les autres et dont les interstices sont remplis de sable (photo 2); feuilles opposées, très serrées, glauques, dures et terminées chacune par une épine; fleurs peu visibles, par deux ou trois au sommet des rameaux. Commun dans le Sahara oranais, dans les régions de Beni-Ounif et Igli surtout, plus rare vers l'Est dans les régions de Laghouat, Biskra et Touggourt; vit sur les regs durs où il forme souvent des peuplements étendus (Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1991).

- Dans la Wilaya de Béchar, cette espèce constitue des peuplements sur les regs de Béni-Ounif, Taghit, Igli, Béni Abbès et Zéghamra.

- Dans la Wilaya de Tindouf, la plante constitue de vastes peuplements dans la région de Tabelbala, dans la Hamada de Tindouf et du Drâa (site internet : <http://www.naturevivante.org>, consulté le 27/11/2014)

D'après Quézel et Santa (1963); Guignard et Dupont (2007), la classification qu'occupe *A. aretioides* est la suivante :

Classification botanique

Embranchement : *Spermaphytes*

Sous Embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Eudicots*

Sous Classe : *Caryophyllidées*

Ordre : *Caryophyllales*

Famille : *Amaranthacées*, ex : *chénopodiacées*

Genre : *Anabasis*

Espèce : *Anabasis aretioides* Coss. & Moq.

syn. *Fredolia aretioides* Coss. & Dur. ex
Bunge.

Noms Vernaculaires

Arabe : الدفوع، السليف

Berbère : *Achnoud*

Français : *Choux Fleur de Bouamama*

Anglais : *Desert Cauliflower*



Photo (2) : *A. aretioides*

<http://www.biodiversidadvirtual.org/herbarium/Fredolia-aretioides-%28Moq.-y-Coss.-ex-Bunge%29-Ulbr.-img63326.html>

2.2.2. Ethnopharmacologie

A. aretioides est une plante utilisée par les populations indigènes du sud-ouest algérien, particulièrement, sous forme de décoction, pour soigner les maladies rhumatismales. Sa partie aérienne est utilisée sous forme de poudre pour son action hypoglycémiant, diurétique et antirhumatismale. Elle est aussi utilisée comme antidote de poison (Merzouki *et al.*, 2000 ; Bnouham *et al.*, 2002 ; Cheriti *et al.*, 2011 ; Fakchich et Elachouri, 2014).

2.2.3. Travaux antérieurs

Très peu de travaux sur les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes ainsi que sur les activités biologiques d'*A. aretioides* ont été rapportés dans la littérature.

Néanmoins, quelques études sont à signaler. Nous citerons l'étude faite par Boulenouar *et al.* (2012) qui porte sur l'étude de l'effet des extraits organiques de quelques plantes sahariennes sur la croissance de *Fusarium oxysporum* sp. *albedinis* (agent causal du Bayoud), dont l'*A. aretioides* fait partie des plantes étudiées. Les résultats indiquent que l'extrait hexanique de la partie aérienne exerce un effet remarquable sur la croissance de *Fusarium oxysporum* sp. *albedinis*.

Une autre étude faite par Rached *et al.* (2010) qui porte sur l'étude du potentiel antioxydant de 52 plantes locales (natives de l'Algérie), dont l'*A. aretioides* fait partie des plantes étudiées. Des teneurs de l'ordre de 110 mg GAE/g en polyphénols et de 17 mg CEQ/g en flavonoïdes dans la partie racines ont été rapportées. Aucune activité antioxydante n'a été détectée dans la partie feuille de la plante.

La plante renferme aussi des saponines et des alcaloïdes (anabasine), rapporté par Benhouhou (2005).

2.3. *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

2.3.1. Description botanique

Les plumbaginacées est une famille de plantes qui comprend 775 espèces réparties en 24 genres.

Selon Quezel et Santa (1963), les plumbaginacées sont des plantes ligneuses à la base, ou sous arbrisseau glabre ramifié. Feuilles ovales lancéolées plus ou moins amplexicaules, parsemées en dessous de petites concrétions calcaires. Fleurs en épis courts et denses,

violettes ou bleu-violacées ; large de 1 cm, de symétrie 5. Calice glanduleux, tubuleux à 5 lobes courts. Corolle infundibuliforme et capsule à graines.

Limoniastrum feei est une plante ligneuse à la base, à souche prostrée. Inflorescences isolées au sommet de hampes sans feuilles, haute de 7 à 15 cm. Bractée interne de l'épillet épineuse, feuilles disposées en rosette denses au sommet des rameaux, lancéolées, linéaires entièrement couvertes de concrétions blanchâtres (Quezel et Santa, 1963).

Cette espèce est retrouvée largement dans les rocailles désertiques. Elle pousse aussi dans tous les milieux, y compris les milieux salins des régions froides et tropicales.

Une enquête menée par le ministère de l'agriculture dans la région d'El Oued (Chott Melghir) a indiqué la présence de 14 espèces endémiques, parmi elles, six sont de distribution assez restreinte, confinée en Algérie ou sur les deux pays limitrophes, Tunisie et/ou Maroc, ce qui souligne leur importance. *L. feei* est recensée parmi ces espèces (DGF, 2002).

D'après Quézel et Santa (1963) ; Guignard et Dupont (2007), la classification qu'occupe *L. feei* est la suivante :

Classification botanique

Embranchement : *Spermaphytes*

Sous Embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Eudicots*

Sous Classe : *Caryophyllidées*

Ordre : *Plumbaginales*

Famille : *Plumbaginacées*

Genre : *Limoniastrum*

Espèce : *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

Noms Vernaculaires

Arabe : ملفت الخادم



Photo (3) : *L. feei*

http://plantsofsouthernmorocco.biota-africa.net/plantdata_sub.php?Mspec_ID=437&PHPSESSID=2t2ihksvqo161i1c6t99crki85

2.3.2. Ethnopharmacologie

Dans quelques régions en Algérie, notamment dans la région sud-ouest, *L. feei* est utilisée dans le traitement des personnes qui ont eu des piqueurs de scorpions (témoignage au cours de la récolte de la plante). Son usage le plus fréquent par les populations indigènes est le traitement des infections gastriques et pulmonaires (Belboukhari et Cheriti, 2005, 2009).

2.3.3. Travaux antérieurs

L. feei a fait l'objet de quelques études rapportées dans la littérature. Nous citerons celle faite par Belboukhari et Cheriti (2005), qui rapporte que cette espèce possède un pouvoir antimicrobien important vis-à-vis d'*Escherichia coli* et un pouvoir antifongique vis-à-vis de *Candida albicans*. Les mêmes auteurs ont contribué à l'étude de la caractérisation des flavonoïdes extraits à partir des tiges de *L. feei*, ils ont identifié quatre flavonoïdes qui sont : 6,3',4'-tri-methoxy 3,5,5'-trihydroxyflavonol (1), 3-(6''-malonyl 2''ramnosyl glucosil) 6,3',4'-tri-methoxy 5,5'-dihydroxyflavonol (2), tétra-acétate 7-dihydroxy-4'-methoxy 8-O-β-glucopyranoside isoflavone (3) et tétra-acétate 7,4'-dimethoxy 8-O- β-glucopyranoside isoflavone (4) (Belboukhari et Cheriti, 2007) (fig. 30).

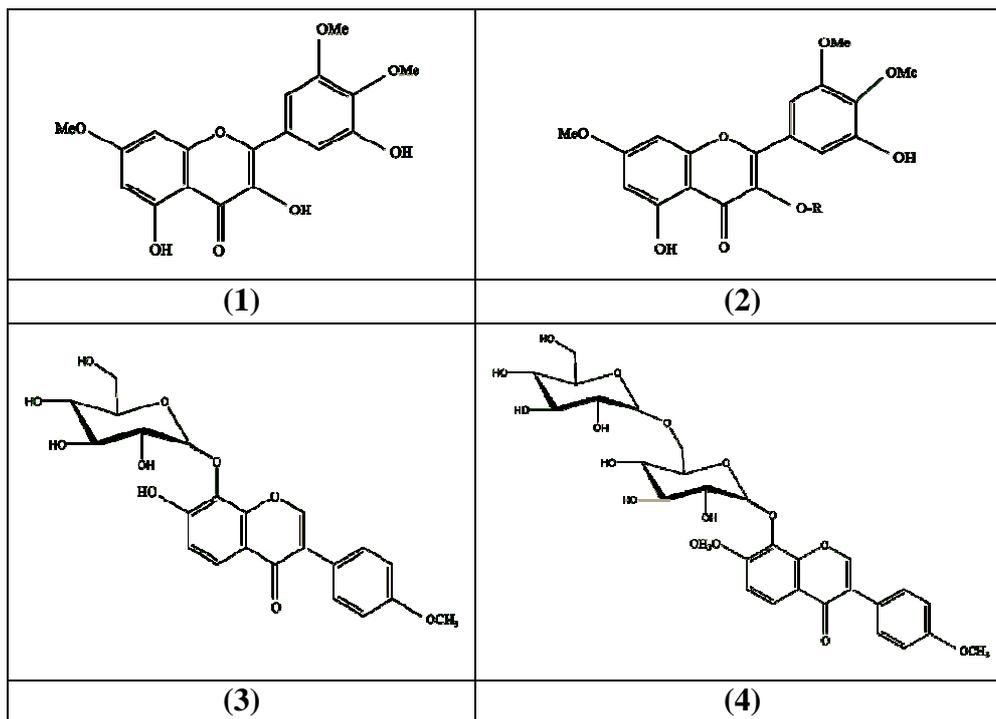


Fig. 30. Structures chimiques des quatre flavonoïdes de la partie tige de *L. feei* (Belboukhari et Cheriti, 2007)

Les travaux effectués par Chaabi *et al.* (2008) ont conduit à l'identification de sept composés phénoliques qui sont: acide gallique, myrciaphenone A, myricétin-3-*O*- β -galactopyranoside, epigallocatechine-3-*O*-gallate, myricétine 3-*O*- α -rhamnopyranoside, quercétine et myricétine (fig. 31). Les mêmes auteurs ont évalué l'activité antioxydante de chaque composé isolé. L'acide gallique a présenté l'activité antioxydante la plus élevée.

Dans une autre étude, deux molécules de la famille des saponosides ont été extraites et identifiées par Belboukhari et Cheriti (2009), à partir des tiges de *L. feei*, il s'agit de : 2 α ,3 β ,23-trihydroxy-30-acetylolean-12-ène et de 1-*O*-[α -L-Rhamnopyranosyl-(1)-6-*O*-acétyl- β -D-galactopyranosyl]-1 β ,3 β ,22 ξ -26-tetrahydrofurost-5(6)-ène-26-*O*- β -D-glucopyranoside.

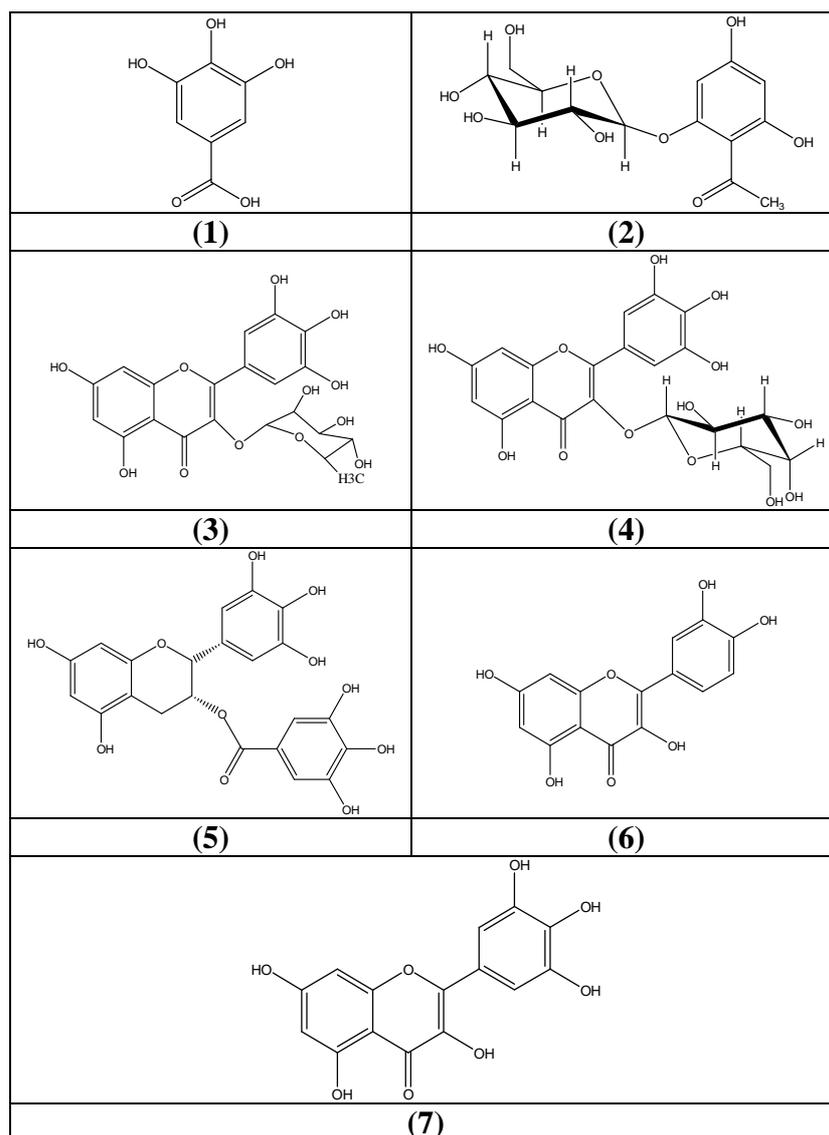


Fig. 31. Structures chimiques des composés phénoliques isolés à partir de *L. feei* selon Chaabi *et al.*, (2008) : (1) acide gallique, (2) myricaphenone A, (3) myricétine 3-*O*- α -rhamnopyranoside, (4) myricétine-3-*O*- β -galactopyranoside, (5) epigallocatechine-3-*O*-gallate, (6) quercétine et (7) myricétine.

Deuxième partie

Matériel et Méthodes

Deuxième partie :

[Matériel et Méthodes]

Dans cette deuxième partie, nous aborderons quelques aspects d'ordres techniques concernant l'extraction des métabolites secondaires, les différents dosages chimiques, l'analyse des huiles essentielles par les méthodes conventionnelles et l'étude des activités biologiques : activité antimicrobienne, antioxydante et pouvoir hémolytique des différents extraits obtenus à partir des plantes sélectionnées : *A. leucotrichus*, *A. aretioides* et *L. feei*. Les différentes étapes seront développées et détaillées tout au long de cette partie.

1. Récolte des plantes

Les espèces sélectionnées : *A. leucotrichus* et *A. aretioides* ont été récoltées dans leur habitat naturel dans la région de Béni Abbas (Wilaya de Béchar), durant le mois de Novembre de l'année 2010. Alors que l'espèce *L. feei* a été récoltée dans la région d'Ain Ouarka (Wilaya de Naâma), durant le mois de Décembre de l'année 2007 (tableau 02, fig. 32).

Les différentes espèces ont été identifiées par M^r HASSANI Fayçal (Maitre de conférences à l'université de Tlemcen), et ont été classées et enregistrées dans le laboratoire « Produits Naturels » sous les références suivantes :

- A. 1918 pour *A. leucotrichus* ;
- A. 750 pour *A. aretioides* ;
- A. 2124 pour *L. feei*.

Le matériel végétal récolté est ensuite séché à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil. La durée du séchage est variée entre les espèces sélectionnées. Une fois séchée, la matière végétale a été réduite en poudre à l'aide d'un mortier, puis conservée à basse température.

Dans cette étude, nous avons choisi de prendre la partie utilisée en médecine traditionnelle pour chaque plante. De ce fait, la partie utilisée pour :

- *A. leucotrichus* : partie fruit ;
- *A. aretioides* : partie aérienne (feuille et tige) ;
- *L. feei* : partie feuille.

Tableau 02. Situation géographique et étage bioclimatique des différentes stations de récolte des plantes étudiées

Plantes	Stations	Etage bioclimatique	Altitude (m)	Latitude (Nord)	Longitude (Ouest)
<i>L. feei</i>	Aïn Ouarka	Aride, chaud	1058	32°43'57.049"	0°9'11.888"
<i>A. leucotrichus</i>	Béni Abbes	Aride, chaud	530	30°7'56.887"	2°10'1.663"
<i>A. aretioides</i>	Béni Abbes	Aride, chaud	530	30°7'56.887"	2°10'1.663"

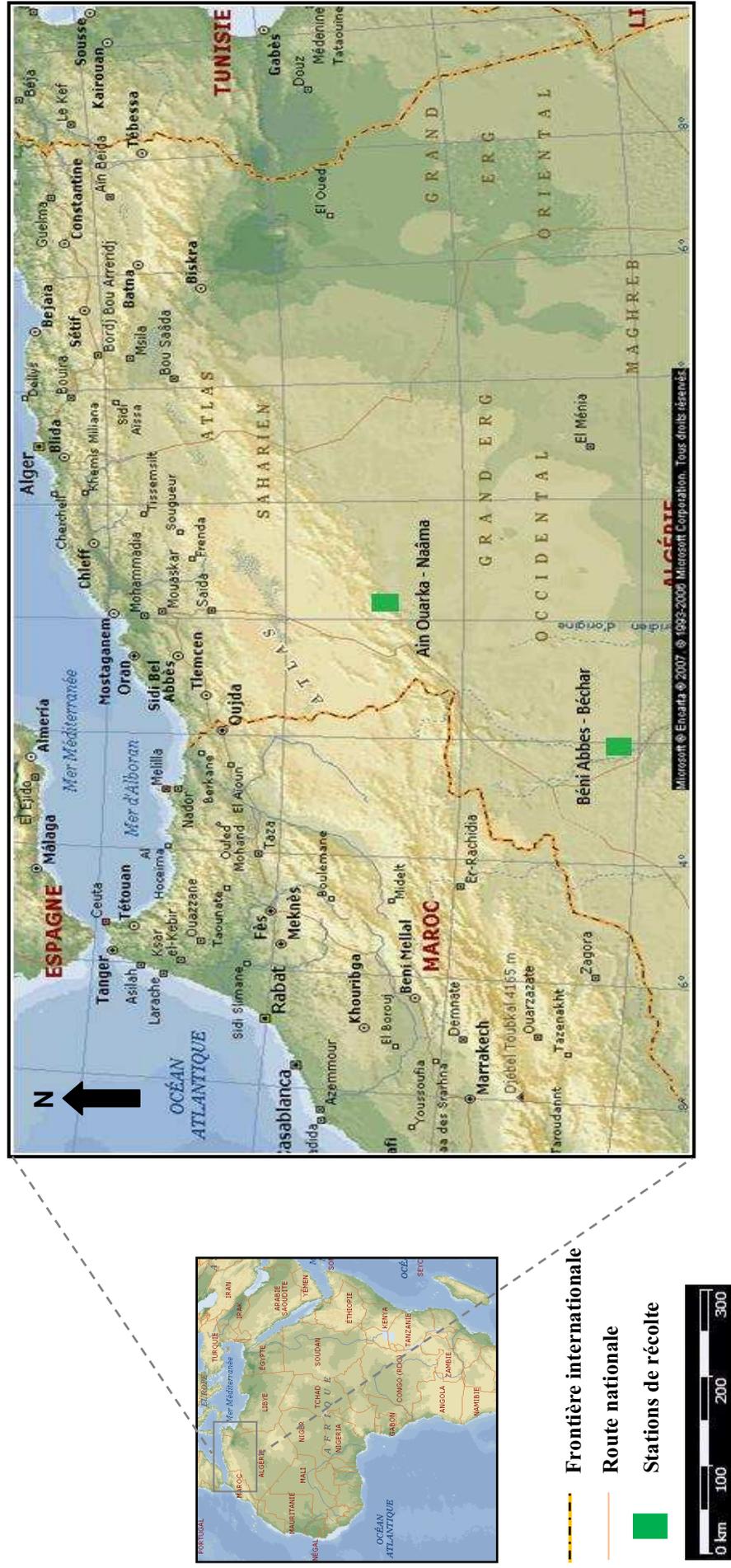


Fig. 32. Position géographique des stations de récolte des plantes étudiées (Encarta, 2007)

2. Extraction des métabolites secondaires

2.1. Extraction des huiles essentielles

L'obtention de l'huile essentielle a été effectuée selon la méthode conventionnelle qui est l'hydrodistillation. L'extraction a été faite par un montage de type Clevenger. Le temps d'extraction est de 3 h. Afin d'éliminer toute trace d'eau, un séchage de l'huile essentielle a été effectué sur du sulfate de sodium (Na_2SO_4).

L'huile essentielle ainsi obtenue est conservée au réfrigérateur (+ 4°C) dans des tubes ombrés et bien fermés.

2.1.1. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue (m) et la masse végétale sèche traitée (m_0).

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{m}{m_0} \times 100$$

2.1.2. Détermination des caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

a. Caractéristiques physiques

Densité relative :

La densité relative est un caractère important pour la détermination de la qualité et la pureté de l'huile essentielle.

Par définition, la densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile essentielle à 20°C, à la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C (AFNOR, 1992).

A l'aide d'un pycnomètre, des pesées successives ont été effectuées sur des volumes égaux d'huile essentielle et d'eau distillée à la température de 20°C.

La densité relative est donnée par la formule suivante :

$$d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

m_0 : masse en gramme du pycnomètre vide

m_1 : masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau

m_2 : masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile essentielle

Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle de l'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux, de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle, maintenue à une température constante (AFNOR, 1992).

L'indice de réfraction a été déterminé par lecture directe à l'aide d'un réfractomètre. L'indice de réfraction à la température de référence t , est donné par la formule suivante :

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0.0004 (t' - t)$$

$n_D^{t'}$: valeur de la lecture obtenue à la température t'

t : température de référence (20°C)

t' : température à laquelle a été effectuée la lecture

Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle est l'angle exprimé en milliradians et/ou degrés d'angle, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100 mm d'une huile essentielle dans les conditions déterminées de température. Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle en solution est dit : pouvoir rotatoire apparent.

b. Caractéristiques chimiques

Miscibilité à l'éthanol

Une huile essentielle est dite miscible à V volumes et plus d'éthanol de titre alcoolométrique déterminé, à la température de 20°C, lorsque le mélange d'un volume de l'huile essentielle considéré avec V volumes de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre jusqu'à un total de 20 volumes (AFNOR, 1992).

Indice d'acide

L'indice d'acide (I.A) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle

(AFNOR, 1992). Il consiste à neutraliser les acides libres par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titrée.

L'indice d'acide est donné par la formule suivante :

$$\text{I.A} = 5.61 (V/m)$$

V : volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de potassium

m : masse en grammes de la prise d'essai

Indice d'ester

L'indice d'ester (I.E) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme d'huile essentielle (AFNOR, 1992). Il s'agit d'une hydrolyse des esters par chauffage en présence d'une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium, et dosage de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique

L'indice d'ester est donné par la formule suivante :

$$\text{I.E} = 28.05 (V_0 - V_1) / m$$

V_0 : volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai à blanc

V_1 : volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai

m : masse en gramme de la prise d'essai

2.1.3. Analyse de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus*

Les analyses CPG, CPG-SM et RMN ^{13}C de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus* ont été effectuées au sein du laboratoire de « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse-CNRS, France.

2.1.3.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation des composés volatils après chauffage sans pour autant être décomposés. Elle permet ainsi l'analyse de mélanges, éventuellement, très complexes dont les constituants peuvent différer d'une façon considérable par leur nature et leur volatilité.

a. Conditions opératoires

L'analyse de l'huile essentielle a été faite à l'aide d'un chromatographe Perkin-Elmer Clarus 500, équipé d'un détecteur FID, d'un injecteur diviseur, de deux colonnes capillaires de dimensions 50 m x 0.22 mm (épaisseur du film: 0.25 μm): une colonne polaire BP-20 (polyéthylène glycol) et une colonne apolaire BP-1 (polydiméthylsiloxane).

- Le gaz vecteur est l'hélium (0.8 mL/min), avec 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 : mode Split (1/60).

b. Identification des constituants

Les constituants ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (IR) calculés par rapport à une série d'alcane ($\text{C}_8\text{-C}_{28}$) avec interpolation linéaire sur les deux colonnes, avec ceux des composés de référence, contenus dans la bibliothèque du laboratoire.

2.1.3.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)**a. Conditions opératoires**

L'huile essentielle d'*A. leucotrichus* a été analysée à l'aide d'un chromatographe Agilent Technology 5975C, doté d'un injecteur automatique et d'une colonne capillaire de silice fondue, HP-MS 5 % (phénylméthylsiloxane), de dimension 30 m x 0.25 mm avec une épaisseur du film égale à 0.25 μm .

- Volume d'injection est de 0.2 μL ;
- Le gaz vecteur est l'hélium (1 mL/min), exerçant une pression en tête de colonne de 43 psi ;
- La température linéaire est programmée depuis 60 °C jusqu'à 250 °C, à raison de 4 °C/min, suivie d'un palier de 52.5 min à 250 °C ;
- Spectre de masse à ionisation électrique obtenu au-dessus d'un intervalle de 33-350 m/z ;
- Injection automatique: mode Split (1/80).

b. Identification des constituants

La méthode d'identification est basée sur la comparaison du spectre de masse obtenu pour chacun des composés de l'huile essentielle avec une banque de spectres de produits de référence (Adams, 1989 ; Mc Lafferty et Stauffer, 1994 ; Joulain et König, 1998 ; National

Institute of Standards and Technology, 1999). La comparaison a été effectuée avec les bases de données propre au laboratoire de « Chimie et Biomasse », de l'Université de Corse (Tomi *et al.*, 1995 ; Rezzi *et al.*, 2002 ; Tomi et Casanova, 2006 ; Bighelli et Casanova, 2009).

2.1.3.3. Analyse par spectroscopie de la résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ^{13}C)

La RMN du ^{13}C selon la méthode développée par l'équipe « 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 référence enregistrés dans des conditions expérimentales rigoureusement identiques à celles des huiles essentielles et stockés dans des bibliothèques de spectres propres au laboratoire.

a. Conditions opératoires

Les spectres RMN ont été enregistrés dans le chloroforme deutéré, sur spectromètre de marque « Bruker AVANCE 400 », opérant à 100.623 MHz pour le carbone 13, sous les conditions opératoires suivantes : Sonde de 5mm, durée d'impulsion (PW): 4 μs (angle 45°), temps d'acquisition: 2.7 s, correspondant à une acquisition de 128 K avec une largeur spéciale (SW) de 24000 Hz (240 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 donnés en ppm par rapport au TMS (Tétra Méthyl Silane) pris comme référence interne.

L'analyse d'un mélange est menée sur un échantillon de 40 mg dilué dans 0.5 mL de CDCl_3 . Les données du signal de précession libre (FID) sont multipliées avant la transformée de Fourier par une fonction exponentielle (1.0 Hz).

b. 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 référence. En plus de ces paramètres qui sont directement accessibles par un logiciel élaboré au laboratoire, 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.

2.2. Extraction des composés phénoliques

La matière végétale, sèche et broyée, est mise en contact avec différents solvants organiques de polarité croissante avec un rapport de 80 %. Les solvants choisis pour cette étude sont : méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle et chloroforme. La préparation est portée sous reflux pendant 3h. Après refroidissement à température ambiante, l'extrait est filtré puis évaporé sous pression réduite à sec (60°C) par un évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris et conservé à - 4°C.

2.2.1. Calcul des rendements en extraits secs

Nous pouvons déterminer le rendement des plantes en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \times 100$$

m_1 : masse du ballon après évaporation

m_2 : masse du ballon avant évaporation

m_3 : masse de la matière végétale de départ

2.2.2. Dosage des polyphénols

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 700 et 750 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par Vermerius et Nicholson (2006).

0.1 mL de l'extrait organique de chaque plante étudiée, est mélangé avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2 %, fraîchement préparée. Le tout est agité par un vortex. Après 5 min, 100 μL du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange. Le tout est laissé pendant 30 min à la température ambiante et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Analytica Jena) à 700 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g).

2.2.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

Le dosage des flavonoïdes de nos extraits est réalisé par la méthode colorimétrique décrite par Zhishen *et al.* (1999) dans Ardestani et Yazdanparast (2007).

500 µL de l'extrait organique de chaque plante étudiée sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée, suivis de 150 µL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15 %. Après 6 min, 150 µL de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 6H₂O) à 10 % sont ajoutés au mélange. Le tout est laissé pendant 6 min. Ensuite, 2 mL d'hydroxyde de sodium à 4 % sont ajoutés aux tubes et le volume final est complété immédiatement à 5 mL. Après 15 min, la lecture est faite à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg CEQ/g).

3. Evaluation des activités biologiques

3.1. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

3.1.1. Activité antioxydante totale par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)

La chimie derrière l'analyse FC se fonde sur le transfert des électrons dans un milieu alcalin à partir des composés phénoliques et de toutes autres espèces réductrices au molybdène, formant des complexes bleus qui peuvent être détectés par spectrophotométrie à 750-765 nm (Singleton *et al.*, 1999).

Le protocole expérimental suivi est celui de Vermerius et Nicholson (2006). 0.1 mL de l'extrait organique de chaque plante étudiée, est mélangé avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2 % fraîchement préparée. Le tout est agité par un vortex. Après 5

min, 100 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange. Le tout est laissé pendant 30 min à la température ambiante et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Analytica Jena) à 700 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g).

3.1.2. Capacité antioxydante totale par la méthode au molybdate d'ammonium (Total Antioxidant Capacity TAC)

Dans cet essai, le mécanisme réactionnel est basé sur la réduction du molybdène (VI) au molybdène (V) par les composés réducteurs présents dans l'échantillon. Le complexe ainsi réduit composé de phosphomolybdate (V) de couleur verte est mesuré par spectrophotométrie à 695 nm.

Le protocole expérimental suivi est celui de Prieto *et al.* (1999).

Un aliquote de 0.2 mL de l'échantillon à différentes concentrations (50, 100 et 150 μ g/mL) est mélangé avec 2 mL d'une solution de réactif constitué de : 0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium, et 4 mM molybdate d'ammonium. Le tout est incubé à 95 °C pendant 90 min. Après refroidissement à la température ambiante, la lecture de l'absorbance se fait contre un blanc à 695 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires.

3.1.3. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu (1986), basée sur la réaction chimique de réduction du Fer (III) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe (II). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

1 mL de l'échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 2.5 mL d'une solution tampon phosphate 0.2 M (pH 6.6) et 2.5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1 %. Le tout est incubé à 50 °C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2.5 mL d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. 2.5 mL du surnageant sont ajoutés à 2.5 mL d'eau distillée et 500 μ L d'une solution de chlorure du fer ($FeCl_3, 6H_2O$) à 0.1 % sont

ajoutés au mélange. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif aux mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions opératoires.

3.1.4. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH[•] est un radical stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (Bandoniene *et al.*, 2002 ; Pavlov *et al.*, 2002 ; Gazi *et al.*, 2004).

La méthode au DPPH[•] est décrite par plusieurs auteurs dans la littérature (Yen et Duh, 1994 ; Masuda *et al.*, 1999 ; Anderson et padhye, 2004 ; Iwashima *et al.*, 2005). Le test consiste à mettre le radical DPPH[•] (pourpre), en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire le radical DPPH[•] (fig. 33). La forme réduite (jaune pâle) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

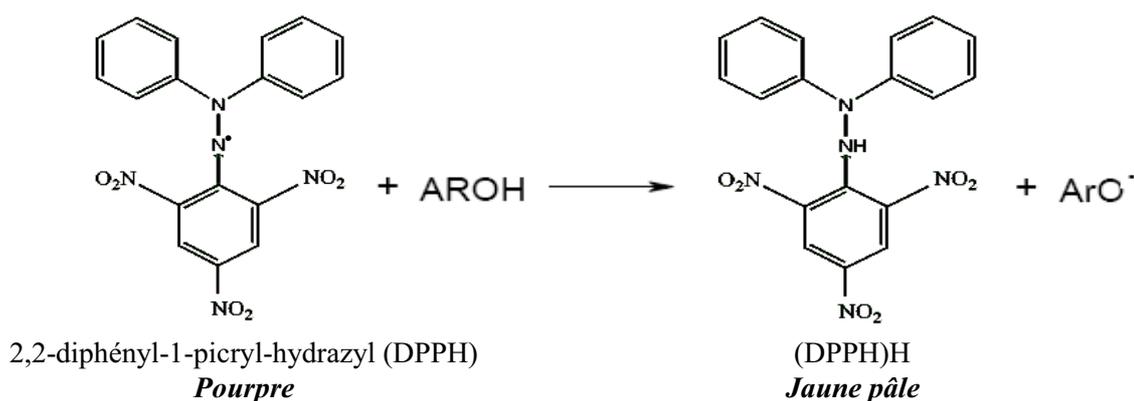


Fig. 33. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH[•]

Le protocole expérimental suivi est celui de Benhammou *et al.* (2007).

50 μ L de l'échantillon à différentes concentrations, sont ajoutés à 1.95 mL d'une solution méthanolique de DPPH[•] à 6.34×10^{-5} M. Pour chaque concentration un blanc est préparé. Un contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 μ L du méthanol avec 1.95 mL d'une solution méthanolique de DPPH[•] à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

❖ Calcul des pourcentages d'inhibition

Nous avons calculé les pourcentages d'inhibition par la formule suivante:

$$\% \text{ inhibition} = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

A_C : Absorbance du contrôle

A_T : Absorbance du test effectué

❖ *Calcul des CI_{50}*

CI_{50} ou concentration inhibitrice de 50 % est la concentration de l'échantillon testée nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH[•].

3.1.5. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity)

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV.

Comme la concentration du H_2O_2 est diminuée par les composés piègeurs, la valeur de l'absorbance de ce dernier à 230 nm est également diminuée (Magalhaes *et al.*, 2008).

Pour étudier l'activité du piégeage du H_2O_2 , nous avons utilisé la méthode décrite par Ruch *et al.* (1989). Le protocole expérimental suivi est celui de Bhatia *et al.* (2011).

1 mL de l'échantillon à une seule concentration (100 $\mu\text{g/mL}$) préparé dans une solution tampon phosphate à 0.1 M (pH 7.4) sont mélangés avec 2 mL d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 20 mM. La lecture de l'absorbance des échantillons est effectuée à 230 nm après 10 min contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Dans les mêmes conditions opératoires, le BHA et l' α -tocophérol, à la même concentration choisie, sont utilisés comme contrôles positifs.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante :

$$\% \text{ du piégeage du } H_2O_2 = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

A_C : Absorbance du contrôle négatif

A_T : Absorbance du test effectué

3.1.6. Piégeage du radical hydroxyle (OH^{\bullet} scavenging activity)

Le radical hydroxyle est considéré parmi les radicaux les plus réactifs dans l'organisme humain. L'évaluation du pouvoir piègeur des extraits de plantes contre ce radical est alors d'une importance considérable.

Le protocole expérimental suivi est celui de Wang *et al.* (2008).

Le mélange réactionnel (3 mL) est constitué de 1 mL de $FeSO_4$ à 1.5 mM, 0.7 mL de H_2O_2 à 6 mM, 0.3 mL de salicylate de sodium à 20 mM et de différentes concentrations de l'échantillon. Après incubation à 37 °C pendant 1 h, l'absorbance du complexe salicylate hydroxylé est mesurée à 562 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

$$\% \text{ de piégeage} = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100$$

A_0 : Absorbance du contrôle négatif

A_1 : Absorbance du test effectué

A_2 : Absorbance de l'échantillon sans salicylate de sodium

3.1.7. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β -carotène (*β -carotene bleaching method*)

Cette méthode consiste à mesurer la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C). L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de décoloration du β -carotène (Laguerre *et al.*, 2007).

Le protocole expérimental suivi est celui d'Ozsoy *et al.* (2008).

Pour préparer l'émulsion du β -carotène, 2 mg de ce dernier sont dissouts dans 10 mL de chloroforme, puis 1 mL de cette solution est mélangé avec 20 mg d'acide linoléique purifié et 200 mg du Tween 40. Ensuite, le chloroforme est évaporé sous pression réduite par un évaporateur rotatif à 40 °C et le résidu obtenu est repris par 50 mL d'eau ultra pure oxygénée. Des tubes contenant 5 mL de cette émulsion sont préparés, pour lesquels, 200 μ L d'échantillons ou d'antioxydant de référence (BHA) à différentes concentrations sont ajoutés. Le mélange est bien agité et la lecture de l'absorbance à 470 nm se fait immédiatement à t_0 contre un blanc qui contient l'émulsion sans le β -carotène. Les tubes couverts sont incubés à 50 °C et la lecture de l'absorbance est effectuée après 120 min.

Un contrôle négatif est réalisé en parallèle, comprenant 5 mL de l'émulsion du β -carotène et 200 μ L d'éthanol.

Les résultats obtenus sont exprimés en termes de pourcentage d'inhibition de la décoloration du β -carotène en employant la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [1 - (A_0 - A_t / A_0^0 - A_t^0)] \times 100$$

A_0 : Absorbance de l'échantillon à t_0

A_t : Absorbance de l'échantillon après incubation de 120 min

A_0^0 : Absorbance du contrôle négatif à t_0

A_t^0 : Absorbance du contrôle négatif après incubation de 120 min

3.2. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

3.2.1. Provenance des germes utilisés

Les souches pathogènes utilisées sont parmi ceux qui causent les maladies les plus courantes, ce sont des contaminants fréquents, provoquant ainsi des infections importantes. Nous avons utilisé dans cette étude des souches de références (tableau. 03).

Tableau 03. Les différentes souches microbiennes testées

	Espèces	Références
Bactéries à Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
	<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 13331
Bactéries à Gram +	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
Levures	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
	<i>Candida albicans</i>	IP 444
Moisissures	<i>Fusarium oxysporum</i>	MNHN 963917
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	MNHN 566
	<i>Aspergillus flavus</i>	MNHN 994294

3.2.2. Méthodes d'étude du pouvoir antimicrobien

Dans un premier temps, l'huile essentielle ainsi que les extraits de plantes ont été testés vis-à-vis des souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque et dans l'affirmation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide a été déterminée.

3.2.2.1. Méthode de diffusion sur disque

Afin de tester l'activité antimicrobienne, nous avons utilisé la méthode de la diffusion sur disques (NCCLS, 1997). Pour effectuer ce test, une culture bactérienne confluyente est réalisée à la surface d'une gélose Mueller-Hinton. Les disques imprégnés d'une dose connue d'extrait de plante sont déposés à la surface de la gélose. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet de déduire les caractères de sensibilité de la souche bactérienne.

Une suspension des microorganismes testés (1 mL d'une suspension à 10^6 cellules/mL, 10^7 cellules/mL pour *S. aureus* et 10^4 spores/mL pour les moisissures) a été étalée sur une gélose de Mueller-Hinton pour les bactéries, Sabouraud dextrose pour les levures et milieu PDA pour les moisissures. Des disques de papier-filtre (6 mm de diamètre) imprégnés de 15 μ L de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus* et de 5 μ L de DMSO ont été placés sur la surface des boîtes inoculées.

En parallèle, nous avons utilisé un disque témoin négatif imbibé par le DMSO (20 μ L). Les antibiotiques utilisés sont : amikacin, ceftazidime et cefotaxime. Pour l'activité antifongique, nous avons utilisé la nystatine (30 μ g/disque).

Après 1 h à température ambiante, les boîtes ont été incubées pendant 24 h à 37 °C pour les bactéries, 24 - 48 h à 37 °C pour les levures et 48 h à 25 °C pour les moisissures. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés (exprimés en mm).

3.2.2.2. Méthode de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI correspond à la concentration provoquant l'absence de croissance d'une population initiale de bactéries visible à l'œil nu en 24 h. Cette technique consiste à mettre en culture les bactéries, les levures et les moisissures sur des boîtes avec une gamme de concentration croissante d'huile essentielle.

Pour déterminer la CMI, l'huile essentielle est disposée dans les boîtes afin d'effectuer une gamme de concentration de 0.25 à 4 μ L/mL, dans le milieu de culture : gélose Mueller-Hinton pour les bactéries, Sabouraud dextrose pour les levures et milieu PDA pour les moisissures, avec pour chaque concentration, son équivalent en DMSO. Le mélange est alors homogénéisé et ensuite refroidi. Après une durée d'incubation de 24 h à 37 °C pour les bactéries, de 24 - 48 h à 37 °C pour les levures et 48 h à 25 °C pour les moisissures, la lecture des résultats se fait par présence ou absence de croissance microbienne.

3.3. ETUDE DE L'ACTIVITE HEMOLYTIQUE (POUVOIR CYTOTOXIQUE)

Pour étudier l'activité hémolytique (cytotoxicité) de nos extraits, le choix s'est porté sur le modèle universel qui est les globules rouges humains. Le sang utilisé dans ce test est un sang provenant d'un donneur sain et unique.

3.3.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

Du sang fraîchement prélevé sur tube hépariné est centrifugé à 4000 rpm pendant 5 min à l'aide d'une centrifugeuse. Après élimination du surnageant, le culot est lavé 2 fois avec une solution de lavage glacée $MgCl_2$ (2 mM), NaCl (150 mM) puis resuspendu à nouveau dans le tampon phosphate de sodium salé (PBS) 10 mM (pH 7.4).

3.3.2. Mesure de la fuite de l'hémoglobine

Les globules rouges sont suspendus dans le PBS 10 mM (pH 7.4) à raison de 4000 cellules/mL (500 μ L sont mis en contact avec 9.5 mL du même tampon).

La suspension érythrocytaire à 2 % est incubée (dans un incubateur de paillasse type Orbital Shaker, Thermo Forma) à 37 °C pendant 90 min avec différentes concentrations de l'échantillon. Des prélèvements de 500 μ L sont réalisés chaque 15 min pour être suspendus dans 2.5 mL d'une solution de lavage glacée $MgCl_2$ (2 mM). Les tubes sont centrifugés à 4000 rpm pendant 5 min. Le surnageant est utilisé pour suivre la fuite de l'hémoglobine intracellulaire par mesure de l'absorbance à 548 nm.

Pour le contrôle positif, l'hémolyse totale est obtenue par la mise en suspension des globules rouges avec le triton-X100 à une concentration de 1 % (v/v). Le tampon seul est utilisé comme contrôle négatif. Pour chaque échantillon, le pourcentage de l'activité hémolytique maximale est déterminé par la formule suivante (Lee, 2002) :

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = (At - At') / Ac \times 100$$

At : Absorbance du test

At' : Absorbance de l'hémolyse spontanée test d'échantillon

Ac : Absorbance du test au triton-X100

Troisième partie

Résultats et Interprétations

« La connaissance s'acquiert par l'expérience, tout le reste n'est que de l'information »

Albert Einstein

Mathématicien, Physicien, Scientifique (1879-1955)

Chapitre 1.

[*Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.]

1. Etude de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*

1.1. ANALYSE CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE

1.1.1. Rendement d'extraction et caractéristiques physico-chimiques

L'extraction de l'huile essentielle à partir des fruits d'*A. leucotrichus* a été effectuée par hydrodistillation via un montage de type Clevenger. Le rendement d'extraction ainsi que les caractéristiques physico-chimiques étudiées de cette huile sont résumés dans le tableau 04.

Tableau 04. Rendement d'extraction et caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*

Caractéristiques physico-chimiques	Huile essentielle d' <i>A. leucotrichus</i>
<i>Aspect visuel (couleur)</i>	Bleu
<i>Rendement (%)</i>	1.5 ± 0.02
<i>Densité relative</i>	0.957
<i>Pouvoir rotatoire à 20°</i>	- 120
<i>Miscibilité à l'éthanol</i>	2v :1v
<i>Indice de réfraction</i>	1.502
<i>Indice d'acide</i>	2.244
<i>Indice d'ester</i>	56.1

Les valeurs des indices physico-chimiques de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus* rapportés dans le tableau 04, représentent une première caractérisation de cette huile.

1.1.2. Analyse chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*

L'huile essentielle obtenue à partir des fruits d'*A. leucotrichus* a été analysée par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme (FID) afin d'avoir une quantification des composés chimiques présents dans l'huile essentielle. Une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à spectrométrie de masse a été effectuée ensuite pour pouvoir identifier la composition chimique de l'huile essentielle. Une troisième analyse, et dans le même but, a été faite par résonance magnétique nucléaire du carbone 13 RMN ^{13}C , technique développée par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse.

La figure 34 rapporte le profil chromatographique de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*.

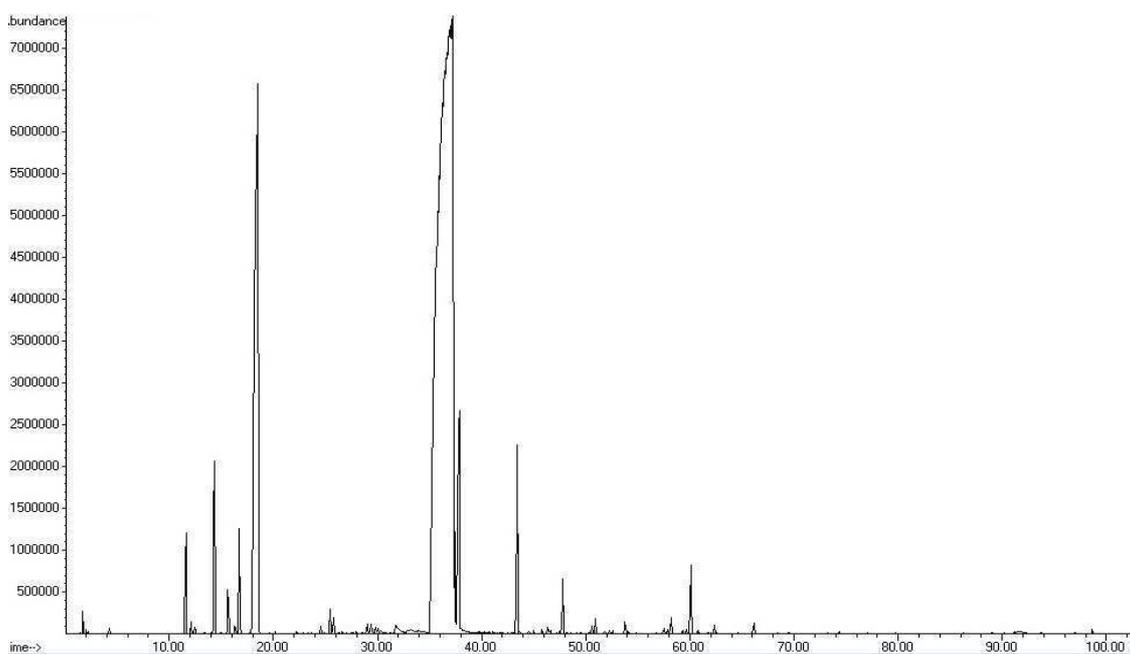


Fig. 34. Profil chromatographique de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*

A partir des données recueillies des chromatographes et des spectres de la spectrométrie de masse ainsi que le spectre RMN ^{13}C et après traitement des résultats, nous avons pu mettre en évidence 11 composés chimiques dans l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 05.

Tableau 05. Composition chimique de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*

Composés identifiés	IR _a	IR _p	Pourcentages (%)	Mode d'identification
α -Pinène	930	1012	0.34	IR, SM, RMN- ¹³ C
β -Pinène	973	nd	0.10	IR, SM
Myrcène	980	1161	0.10	IR, SM
δ -3-Carène	1005	1150	0.50	IR, SM, RMN- ¹³ C
ρ -Cymène	1011	1271	0.10	IR, SM
Limonène	1021	1203	8.20	IR, SM, RMN- ¹³ C
Cuminaldéhyde	1220	1782	0.10	IR, SM
Périllaldéhyde	1249	1784	87.04	IR, SM, RMN- ¹³ C
Alcool périllylique	1270	2010	tr	IR, SM
Perillate méthyl	1369	1866	0.60	IR, SM
γ -Décalactone	1423	nd	0.10	IR, SM
Total (%) : 97.18				

IR_a: Idice de rétention sur colonne apolaire, IR_p : Indice de rétention sur colonne polaire, tr : traces (<0.05%), nd : valeur non déterminée

L'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* renferme comme composé majoritaire le périllaldéhyde (monoterpène cyclique) avec un pourcentage de 87 % et en second degré, le limonène avec un pourcentage de 8.2 %. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Muckensturm *et al.* (1997) et Velasco-Negueruela *et al.* (2006). Les teneurs des autres composés identifiés varient entre 0.1 à 0.5 %, à savoir : α -pinène, β -pinène, myrcène, δ -3-carène, ρ -cymène, cuminaldéhyde, périllyl alcool (traces), perillate méthyle et γ -décalactone. La figure 35 rapporte les structures chimiques des composés identifiés dans l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*.

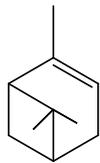
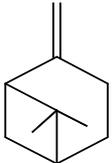
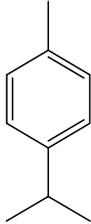
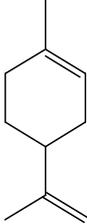
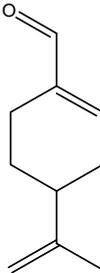
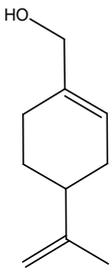
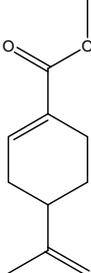
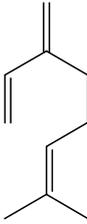
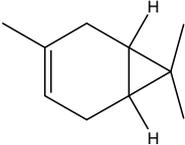
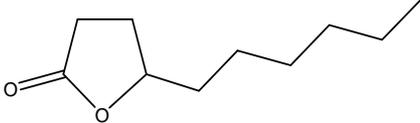
			
α-Pinène	β-Pinène	ρ-Cymène	Limonène
			
Périllaldéhyde	Péryllyl alcool	Perillate méthyl	Myrcène
			
Cuminaldéhyde	δ-3-Carène	γ-Déalactone	

Fig. 35. Structures chimiques des composés identifiés dans l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*

1.2. POUVOIR ANTIMICROBIEN DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FRUITS d'*A. leucotrichus*

Le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* a été testé sur huit souches bactériennes, deux levures et trois moisissures, en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Les zones d'inhibition obtenues sont rapportées dans le tableau 06 pour les souches bactériennes et dans le tableau 07 pour les levures et les moisissures.

Tableau 06. Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* vis-à-vis des souches bactériennes

Souches Bactériennes	Zones d'inhibition de l'huile essentielle d' <i>A. leucotrichus</i> ^a	Amikacine ^b	Ceftazidine ^b	Cefotaxime ^b	DMSO ^c
<i>P. aeruginosa</i>	06.6 ± 0.00	29.3 ± 1.15	24.0 ± 1.73	21.3 ± 1.53	06
<i>E. coli</i>	18.0 ± 2.00	25.0 ± 0.00	23.3 ± 2.31	28.7 ± 1.53	06
<i>K. pneumoniae</i>	11.0 ± 0.00	23.0 ± 1.00	10.7 ± 1.53	19.7 ± 0.58	06
<i>S. typhimurium</i>	39.0 ± 1.00	26.0 ± 0.00	23.5 ± 2.12	34.5 ± 2.12	06
<i>E. cloacae</i>	23.3 ± 2.31	25.0 ± 0.00	19.0 ± 1.41	25.5 ± 0.71	06
<i>S. aureus</i>	21.0 ± 2.65	26.0 ± 1.41	14.5 ± 2.12	27.5 ± 2.12	06
<i>E. faecalis</i>	13.7 ± 1.15	11.5 ± 0.71	06.0 ± 0.00	23.5 ± 2.12	06
<i>B. cereus</i>	30.0 ± 2.00	25.7 ± 1.53	06.0 ± 0.00	07.8 ± 0.96	06

^a zones d'inhibition exprimées en mm ; ^b 30 µg/disque ; ^c contrôle négatif.

Tableau 07. Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* vis-à-vis des souches fongiques

Levures et champignons filamenteux	Zones d'inhibition de l'huile essentielle d' <i>A. leucotrichus</i> (mm)	Nystatine (30µg/disque)	DMSO ^c
<i>C. albicans</i> ^a	29.5 ± 1.50	20.0 ± 0.00	06
<i>C. albicans</i> ^b	31.0 ± 1.50	16.0 ± 0.00	06
<i>F. oxysporum</i>	49.0 ± 0.00	16.0 ± 1.00	06
<i>A. flavus</i>	49.0 ± 0.00	22.3 ± 0.58	06
<i>A. fumigatus</i>	49.0 ± 0.00	33.67 ± 1.15	06

^a *Candida albicans* 444 IP ; ^b *Candida albicans* ATCC 10231 ; ^c contrôle négatif.

A partir des résultats obtenus, nous avons constaté que l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* n'a exercé aucun effet sur la croissance de *P. aeruginosa*, alors que son activité vis-à-vis de *K. pneumoniae* et *E. faecalis* était modérée (diamètre des zones d'inhibition de l'ordre de 11.0 et 13.7 mm, respectivement) (tableau 06).

En revanche, la croissance d'*E. coli* (18.0 mm), de *S. aureus* (21.0 mm), d'*E. cloacae* (23.3 mm) et de *B. cereus* (30.0 mm) était ainsi inhibée par l'effet de l'huile essentielle.

Une activité remarquable de l'huile essentielle a été observée vis-à-vis de *S. typhimurium* avec une zone d'inhibition égale à 39.0 mm, qui est plus élevée par rapport aux trois antibiotiques utilisés : ceftazidime (23.5 mm), amikacine (26.0 mm) et cefotaxime (34.5 mm) (tableau 06).

En ce qui concerne l'activité de l'huile essentielle contre les levures, nous avons remarqué que l'huile essentielle a exercé une activité antifongique intéressante vis-à-vis des deux souches de *C. albicans* avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 29.5 à 31.0 mm (tableau 07).

Une activité très remarquable de l'huile essentielle a été observée sur les champignons filamenteux avec un diamètre des zones d'inhibition de l'ordre de 49.0 mm pour les trois souches testées (tableau 07).

L'efficacité de l'huile sur les souches microbiennes sensibles a été déterminée par mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les résultats sont rapportés dans le tableau 08.

Tableau 08. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* vis-à-vis des souches sensibles

Microorganismes testés	Huile essentielles des fruits d' <i>A. leucotrichus</i> (µL/mL)	
<i>E. coli</i>	1.00	
<i>S. typhimurium</i>	0.50	
<i>E. cloacae</i>	1.00	
<i>S. aureus</i>	1.00	
<i>B. cereus</i>	0.75	
<i>C. albicans</i> IP444	0.75	
<i>C. albicans</i> 10231	0.75	
<i>F. oxysporum</i>	0.25 ^M	0.50 ^S
<i>A. flavus</i>	0.25 ^M	0.50 ^S
<i>A. fumigatus</i>	0.50 ^M	0.75 ^S

M : Mycelium, S : Spores

A partir des résultats obtenus des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*, nous avons remarqué une CMI de l'ordre de 1.00 µL/mL vis-à-vis de trois souches bactériennes qui sont : *S. aureus*, *E. cloacae* et *E. coli*, alors qu'elle était de l'ordre de 0.75 µL/mL vis-à-vis de *B. cereus*.

Pour *S. typhimurium*, la souche bactérienne la plus sensible, la valeur de la CMI était davantage intéressante, de l'ordre de 0.5 µL/mL, ce qui explique la grande zone d'inhibition observée.

En ce qui concerne les levures, des valeurs de CMI intéressantes ont été également observées, particulièrement, vis-à-vis des deux souches de *Candida* avec une valeur de l'ordre de 0.75 µL/mL.

L'activité la plus puissante a été observée vis-à-vis des moisissures. En effet, les valeurs de CMI étaient de l'ordre de 0.25 et 0.5 µL/mL pour la croissance du mycélium et 0.5 à 0.75 µL/mL pour la production de spores.

F. oxysporum et *A. flavus* ont été les plus sensibles à l'huile essentielle.

1.3. POUVOIR ANTIOXYDANT DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FRUITS d'*A. leucotrichus*

1.3.1. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

La figure 36 montre le profil antioxydant de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*.

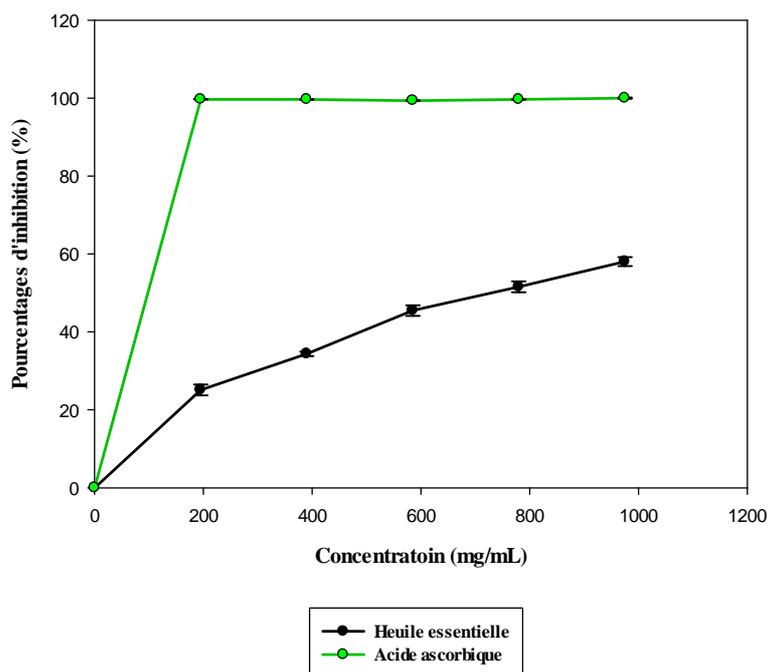


Fig. 36. Pouvoir antioxydant par le piégeage du radical libre DPPH de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*

Nous avons constaté que l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* a exercé un faible pouvoir antioxydant par rapport à l'acide ascorbique (contrôle positif). A l'état pur, l'huile essentielle a renfermé un pouvoir antioxydant de l'ordre de 58.08 ± 1.15 %.

Pour les autres tests antioxydants utilisés dans cette étude : méthode FRAP, piégeage du H_2O_2 , décoloration du β -carotène, nous avons remarqué une absence d'activité antioxydante de l'huile essentielle à l'état pure.

1.4. POUVOIR HEMOLYTIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FRUITS d'*A. leucotrichus*

Le pouvoir hémolytique (autrement dit cytotoxicité) a été évalué en utilisant les globules rouges humains comme modèle universel et le triton-X100 comme contrôle positif.

Les résultats obtenus sont exprimés en terme de pourcentages d'hémolyse ; fuite d'hémoglobine intracellulaire, en fonction de temps. La figure 37 rapporte les résultats trouvés.

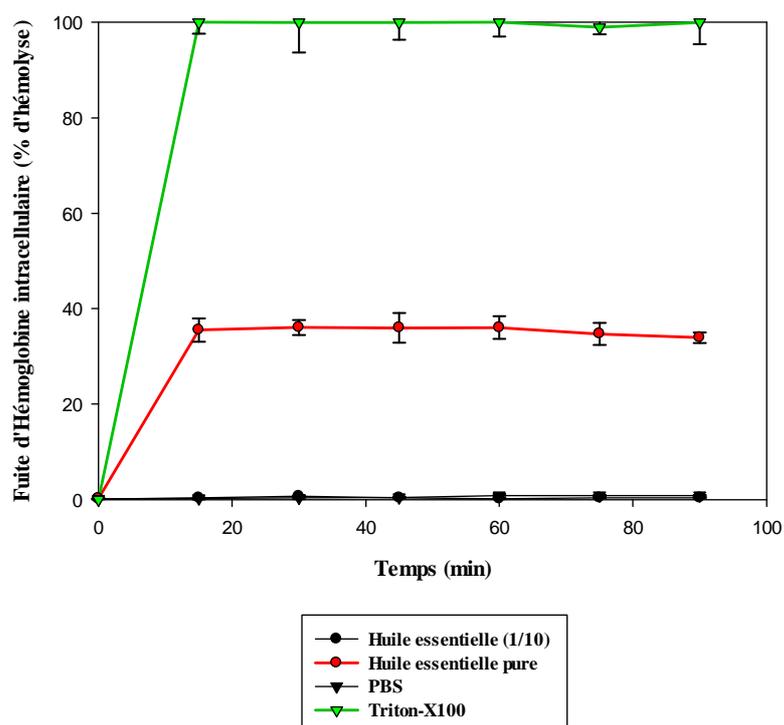


Fig. 37. Pouvoir hémolytique de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* et celui du triton-X100

Le contrôle positif utilisé a exercé un effet hémolytique important et ce au cours de toute la cinétique ; le pourcentage d'hémolyse était de l'ordre de 100 %. Cependant, la solution tampon phosphate (PBS) n'a entraîné aucune fuite d'hémoglobine intracellulaire des globules rouges (témoins négatif).

Quant à l'effet de l'huile essentielle, nous avons remarqué un pouvoir hémolytique modéré de l'ordre de 36.04 ± 2.36 %, en le comparant avec le contrôle positif qui est proche du 100 %, à 60 min. Nous n'avons observé aucun effet hémolytique de l'huile essentielle lorsqu'elle est diluée au 1/10.

2. Etude des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*

2.1. Rendement d'extraction et dosages chimiques

2.1.1. Rendement d'extraction

Dans cette étude, nous avons opté pour des extractions par des solvants organiques avec des polarités croissantes afin d'extraire différents groupes de composés chimiques que peut contenir la plante étudiée.

La figure 38 rapporte les rendements d'extraction trouvés pour les extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*.

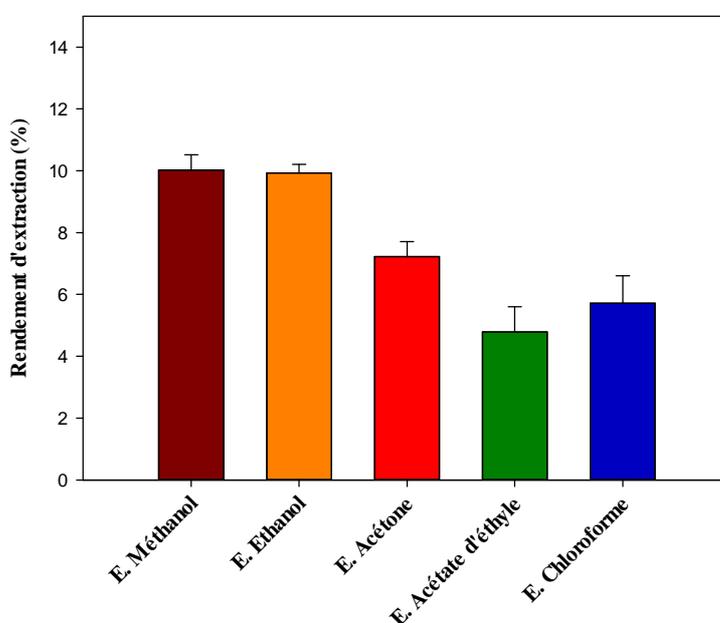


Fig. 38. Rendements d'extraction des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que les extraits : méthanolique et éthanolique, ont présenté des rendements similaires avec des valeurs de l'ordre de 10.02 ± 0.49 % et 9.92 ± 0.29 %, respectivement. Le rendement d'extraction le plus faible a été enregistré pour l'extrait d'acétate d'éthyle avec une valeur de l'ordre de 4.78 ± 0.81 %.

2.1.2. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes

Le dosage des polyphénols a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu comme décrit dans la partie matériel et méthodes.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique ($y = 0.0524 x - 0.0329$, $r^2 = 0.9972$) (fig. 39).

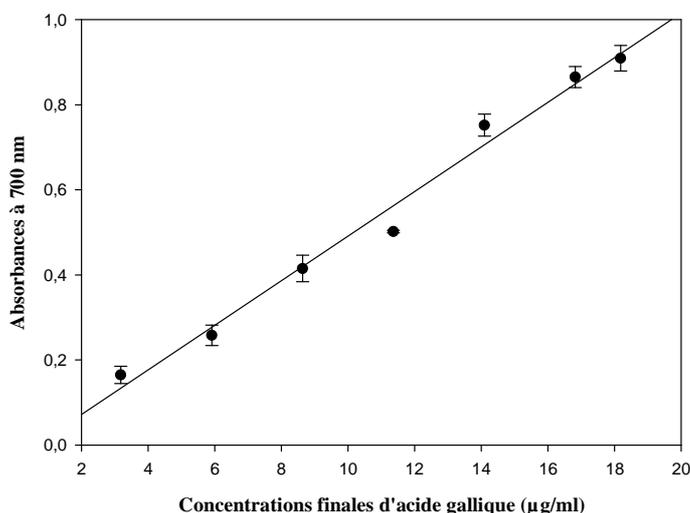


Fig. 39. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg CEQ/g) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine ($y = 0.0264 x + 0.0775$, $r^2 = 0.998$) (fig. 40).

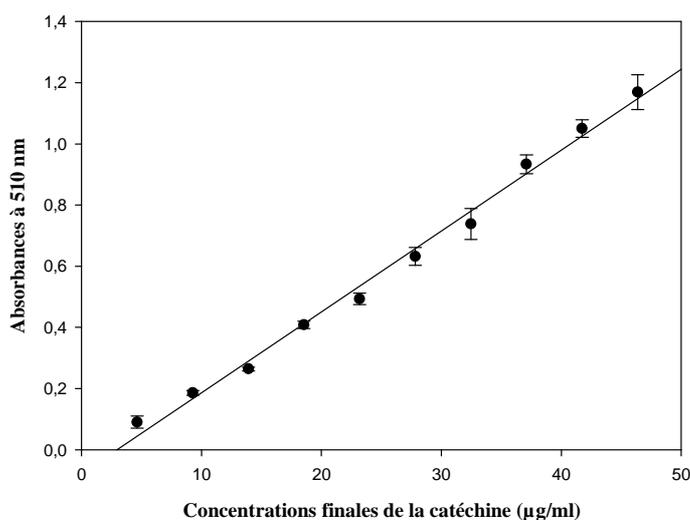


Fig. 40. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

La figure 41 rapporte les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*.

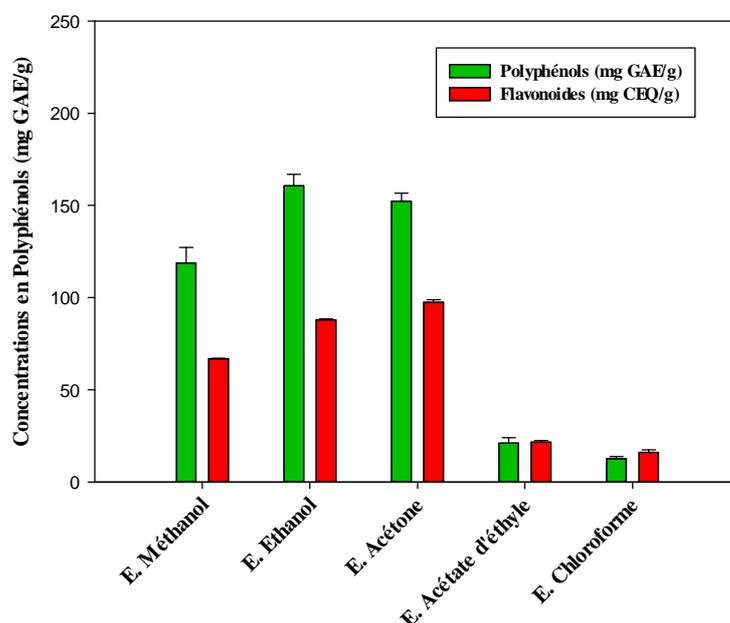


Fig. 41. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*

A partir des résultats obtenus, nous avons observé des teneurs variées en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*. Les teneurs les plus élevées en polyphénols ont été enregistrées pour les deux extraits organiques : éthanolique et acétonique, avec des valeurs de l'ordre de 160.61 ± 6.28 mg GAE/g et 152.26 ± 4.44 mg GAE/g, respectivement. Une importante teneur en polyphénols a été aussi observée dans l'extrait méthanolique (118.69 ± 8.51 mg GAE/g). Quant aux teneurs en flavonoïdes, nous avons remarqué des teneurs assez importantes pour les extraits : acétonique, éthanolique et méthanolique, avec des teneurs de l'ordre de : 97.38 ± 1.3 mg CEQ/g, 87.79 ± 0.51 mg CEQ/g et 66.65 ± 0.37 mg CEQ/g, respectivement. Les extraits organiques des solvants apolaires ont présenté des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes moins importantes.

2.2. POUVOIR ANTIOXYDANT DES EXTRAITS ORGANIQUES DES FRUITS d'*A. leucotrichus*

2.2.1. Activité antioxydante totale par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)

La figure 42 rapporte les résultats obtenus de l'activité antioxydante des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testée par la méthode au réactif FC.

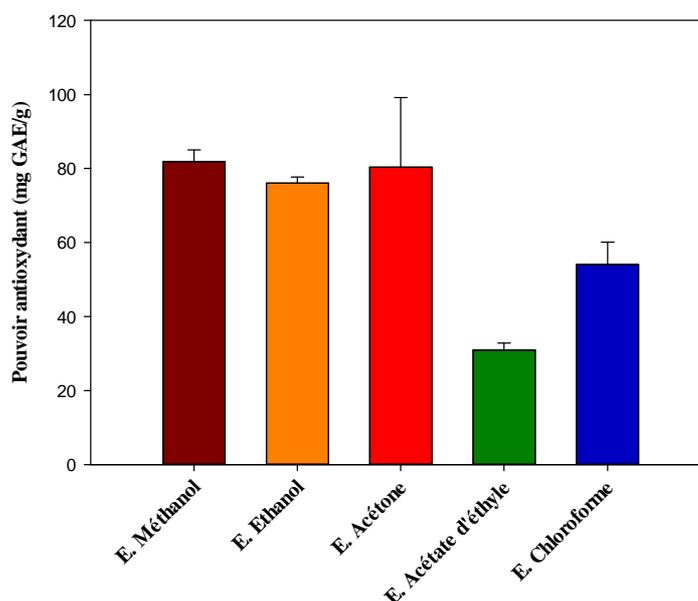


Fig. 42. Pouvoir antioxydant des différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testé par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu

A partir des résultats obtenus, et à une concentration de 1 mg/mL, nous avons remarqué que les deux extraits : méthanolique et acétonique ont présenté presque la même réponse (81.87 ± 3.11 mg GAE/g et 80.38 ± 16.79 mg GAE/g, respectivement). L'extrait d'acétate d'éthyle a présenté une activité antioxydante la moins importante par rapport aux autres extraits avec une valeur de l'ordre de 30.94 ± 1.9 mg GAE/g.

2.2.2. Capacité antioxydante totale par la méthode au molybdate d'ammonium (*Total Antioxidant Capacity TAC*)

La figure 43 rapporte les résultats obtenus du pouvoir antioxydant testé par la méthode au molybdate d'ammonium des différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*.

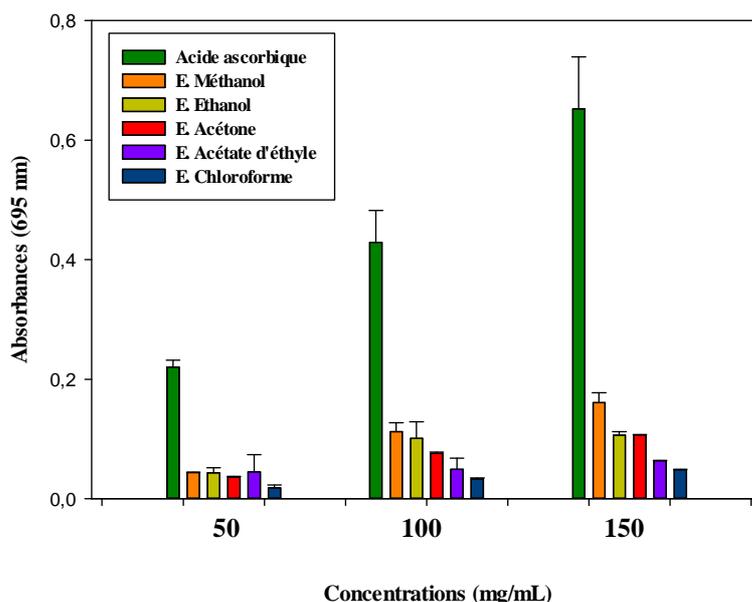


Fig. 43. Capacité antioxydante totale des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testée par la méthode au molybdate d'ammonium

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique a présenté l'effet antioxydant le plus remarquable par rapport aux autres extraits organiques, suivi par celui de l'extrait éthanolique et acétonique. L'extrait chloroformique, a présenté le faible effet antioxydant.

En comparant le pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique (contrôle positif) à celui des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*, nous remarquons que ces derniers ont été moins actifs et ont présenté une activité antioxydante faible par rapport à l'acide ascorbique, et ce pour les trois concentrations utilisées. Le pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique augmente avec l'augmentation de la concentration. Ce qui n'est pas le cas pour l'ensemble des extraits organiques testés.

2.2.3. Réduction du Fer : FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Dans ce test de l'évaluation de l'activité antioxydante, l'augmentation de l'absorbance signifie une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Ozturk *et al.*, 2007).

La figure 44 rapporte le pouvoir réducteur des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*.

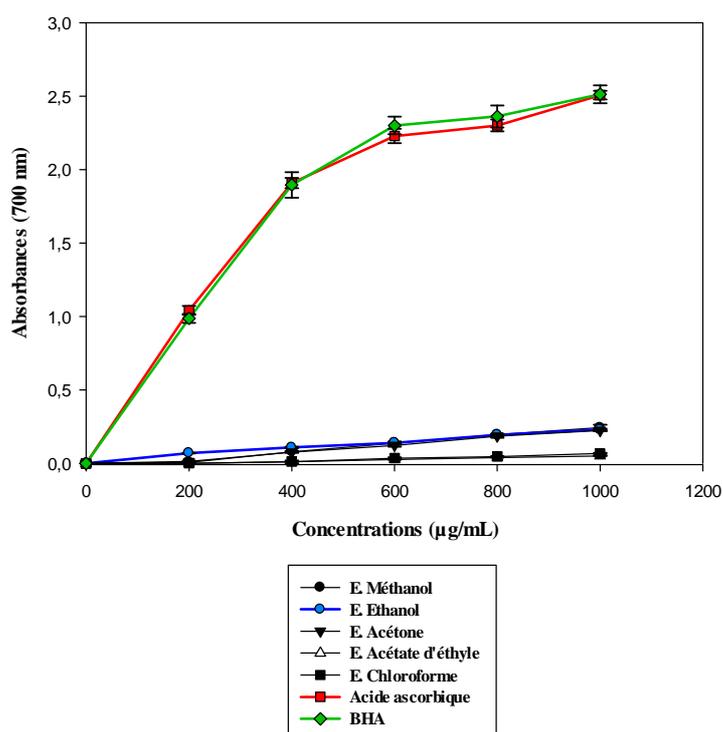


Fig. 44. Pouvoir réducteur des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testé par la méthode FRAP

A partir des résultats rapportés dans la figure 44, nous avons remarqué que les extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* ont présenté un pouvoir réducteur faible en les comparant avec les deux contrôles positifs utilisés, et ce à des concentrations différentes.

La figure 45 montre l'effet réducteur des différents extraits organiques à une concentration de 1 mg/mL

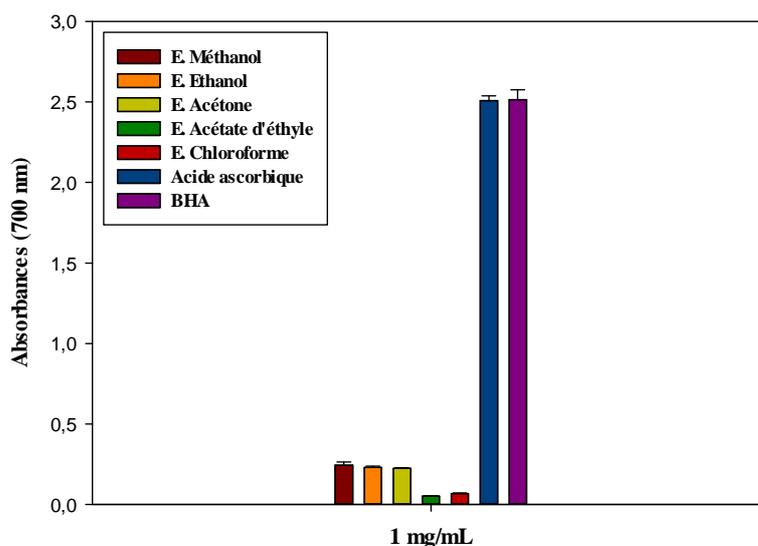


Fig. 45. Pouvoir réducteur des différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testé par la méthode FRAP à une concentration de 1 mg/mL

Nous pouvons voir clairement sur la figure 45, le faible pouvoir réducteur des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* en comparant ces derniers avec le pouvoir réducteur de l'acide ascorbique qui est de l'ordre de 2.51 ± 0.03 et celui du BHA qui est de l'ordre de 2.51 ± 0.06 .

Nous remarquons aussi que les extraits organiques : d'acétate d'éthyle et chloroformique, ont présenté le pouvoir réducteur le plus faible.

2.2.4. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Le radical DPPH[•] est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de cette analyse.

La figure 46 rapporte le pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* comparé à celui des contrôles positifs utilisés (acide ascorbique, BHA et quercétine) vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH[•].

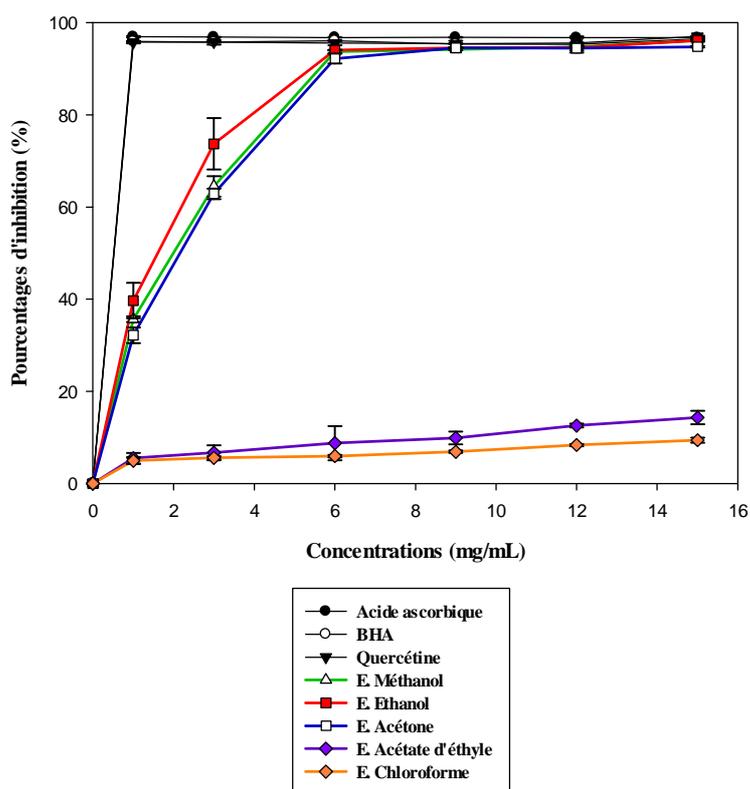


Fig. 46. Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH*

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que les extraits organiques : méthanolique, éthanolique et acétonique des fruits d'*A. leucotrichus* ont montré une activité antioxydante importante vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH*, ceci est traduit par les graphes tracés qui ont une allure exponentielle qui se termine par une phase stationnaire, phase dans laquelle le radical DPPH* est réduit totalement en sa forme non radicalaire. Les trois extraits organiques ont enregistré des valeurs importantes en pourcentages d'inhibition du DPPH* de l'ordre de 96.15 ± 0.04 %, 96.12 ± 0.29 % et 94.76 ± 0.21 %, respectivement.

En revanche, les extraits organiques : d'acétate d'éthyle et chloroformique ont présenté une très faible activité antioxydante traduit par les pourcentages d'inhibition enregistrés qui sont de l'ordre de 14.28 ± 1.44 % et de 9.39 ± 0.53 %, respectivement, à la concentration de 15 mg/mL.

Quant aux contrôles positifs utilisés, nous avons remarqué une forte activité antioxydante traduit par des pourcentages d'inhibition élevés, de l'ordre de $96.71 \pm$

0.04 % pour l'acide ascorbique, 96.44 ± 0.05 % pour le BHA et 96.98 ± 0.13 % pour la quercétine, à la concentration de 15 mg/mL.

Le tableau 09 rapporte les valeurs de la CI_{50} pour chaque extrait organique des fruits d'*A. leucotrichus*.

Tableau 09. Activité antioxydante des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH' exprimée par la valeur CI_{50} (concentration finale)

Extraits organiques	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Méthanol	38.10 ± 2.54
Ethanol	29.00 ± 1.85
Acétone	41.00 ± 0.56
Acétate d'éthyle	nd
Chloroforme	nd
<i>Acide ascorbique</i>	2.48 ± 0.09
<i>BHA</i>	2.61 ± 0.13
<i>Quercétine</i>	2.59 ± 0.15

nd : Valeur non déterminée

Du tableau 09, nous remarquons clairement le fort pouvoir antioxydant des contrôles positifs utilisés, qui est de l'ordre de 2.48 ± 0.09 $\mu\text{g/mL}$, 2.61 ± 0.13 $\mu\text{g/mL}$ et 2.59 ± 0.15 $\mu\text{g/mL}$ pour l'acide ascorbique, le BHA et la quercétine, respectivement. Ces résultats confirment les résultats trouvés dans plusieurs publications (Chew *et al.*, 2008 ; Conforti *et al.*, 2008). Alors que pour les extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*, l'extrait éthanolique a présenté une importante valeur de la CI_{50} (29.00 ± 1.85 $\mu\text{g/mL}$), suivi par l'extrait méthanolique (38.10 ± 2.54 $\mu\text{g/mL}$) et celle de l'extrait acétonique (41.00 ± 0.56 $\mu\text{g/mL}$).

Les extraits organiques : d'acétate d'éthyle et chloroformique n'ont pratiquement exercé aucun effet sur le radical DPPH', de ce fait, aucune activité antioxydante n'a été révélée.

2.2.5. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity)

Les résultats obtenus pour le test du piégeage du peroxyde d'hydrogène par les différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* sont rapportés dans la figure 47.

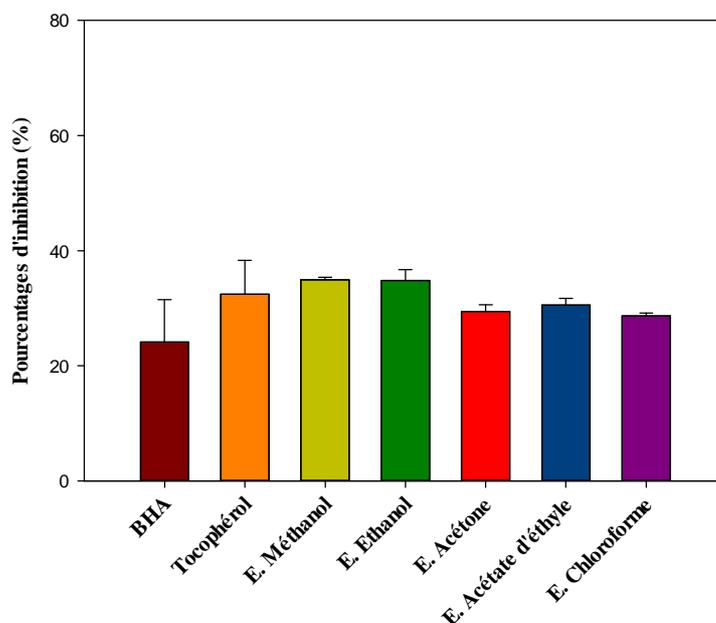


Fig. 47. Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testé par la méthode du piégeage du peroxyde d'hydrogène

A partir des résultats obtenus, nous remarquons que l'ensemble des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* ont présenté un pouvoir piégeur du peroxyde d'hydrogène, comparable à celui des contrôles positifs utilisés (24.13 ± 7.33 % pour le BHA et 32.44 ± 5.87 % pour le tocophérol). Les extraits organiques : méthanolique et éthanolique étant les plus actifs, avec des pourcentages du piégeage de l'ordre de 34.93 ± 0.42 % et 34.79 ± 1.93 %, respectivement.

2.2.6. Piégeage du radical hydroxyle (OH^\bullet scavenging activity)

La figure 48 rapporte le pouvoir des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* vis-à-vis du piégeage du radical hydroxyle.

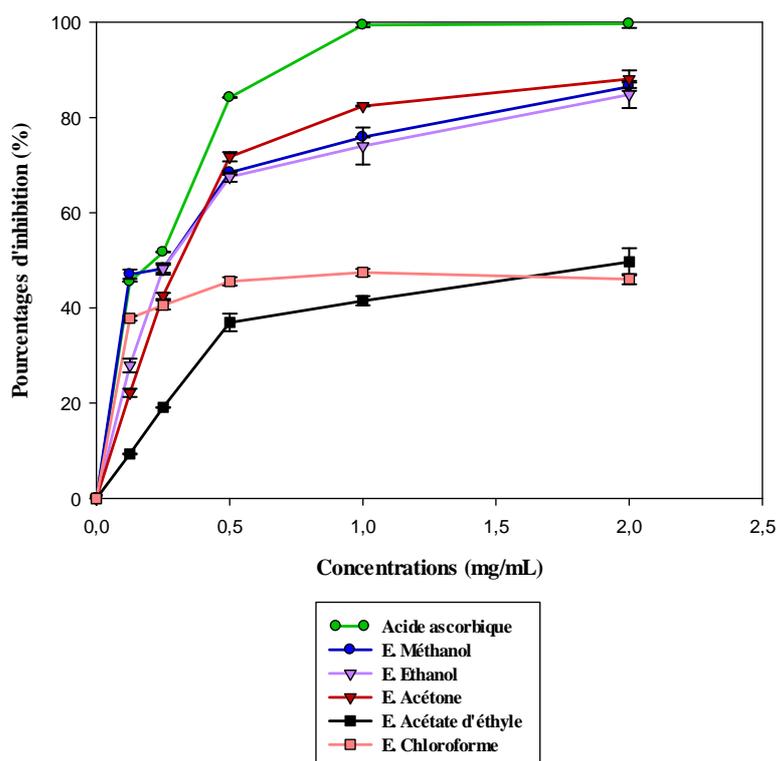


Fig. 48. Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle

A partir des graphes de la figure 48, nous avons remarqué que le pouvoir antioxydant des extraits organiques : méthanolique, éthanolique et acétonique a été le plus important avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de $86.51 \pm 0.8 \%$, $84.83 \pm 2.84 \%$ et $88.08 \pm 1.84 \%$, respectivement. Alors que les extraits organiques d'acétate d'éthyle et chloroformique ont présenté une activité antioxydante moyenne.

La figure 49 rapporte l'activité antioxydante par le piégeage du radical hydroxyle des différents extraits organiques et de l'acide ascorbique à une concentration de 1 mg/mL.

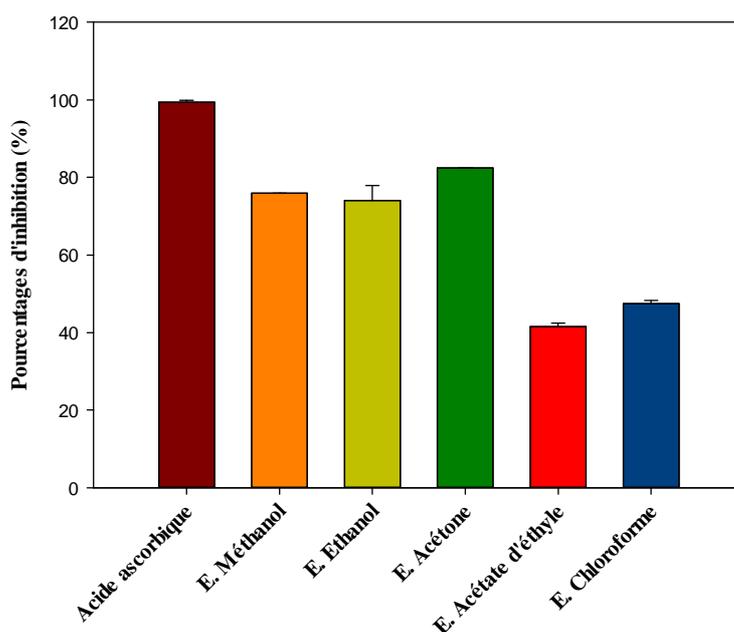


Fig. 49. Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle à une concentration de 1mg/mL

A une concentration de 1 mg/mL, les différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* ont présenté des réponses différentes par rapport au piégeage du radical hydroxyle. Nous avons remarqué que les extraits organiques : méthanolique, éthanolique et acétonique ont exercé l'effet antioxydant le plus important, avec une prédominance de l'extrait acétonique (82.43 ± 0.09 %). L'acide ascorbique a exprimé un pouvoir antioxydant le plus important (99.43 ± 0.47 %). Nous avons remarqué aussi que l'effet antioxydant des deux extraits organiques : d'acétate d'éthyle et chloroformique a été moins important, et ce à la concentration de 1 mg/mL (41.51 ± 0.94 % et 47.47 ± 0.75 %, respectivement).

Le tableau 10 rapporte les valeurs des CI_{50} des différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*.

Tableau 10. Activité antioxydante des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* vis-à-vis du piégeage du radical hydroxyle exprimée par la valeur CI_{50} (concentrations finales)

Extraits organiques	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Méthanol	43.33 ± 1.32
Ethanol	89.67 ± 3.33
Acétone	96.33 ± 5.21
Acétate d'éthyle	666.67 ± 7.44
Chloroforme	nd
Acide ascorbique	61.83 ± 1.98

nd : Valeur non déterminée

Le calcul des CI_{50} est un paramètre important pour évaluer l'activité antioxydante d'un extrait ou d'une substance. D'après les CI_{50} calculées des différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique a exercé un pouvoir antioxydant important avec une valeur de $43.33 \pm 1.32 \mu\text{g/mL}$, qui est plus important que celui de l'acide ascorbique (CI_{50} de l'ordre de $61.83 \pm 1.98 \mu\text{g/mL}$). L'extrait éthanolique, quant à lui, a exercé une activité antioxydante assez importante avec une valeur de CI_{50} de l'ordre de $89.67 \pm 3.33 \mu\text{g/mL}$. Les autres extraits organiques ont présenté un faible pouvoir antioxydant.

2.2.7. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β -carotène (β -carotene bleaching method)

La figure 50 rapporte le pouvoir antioxydant testé par la méthode de la décoloration du β -carotène des différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*.

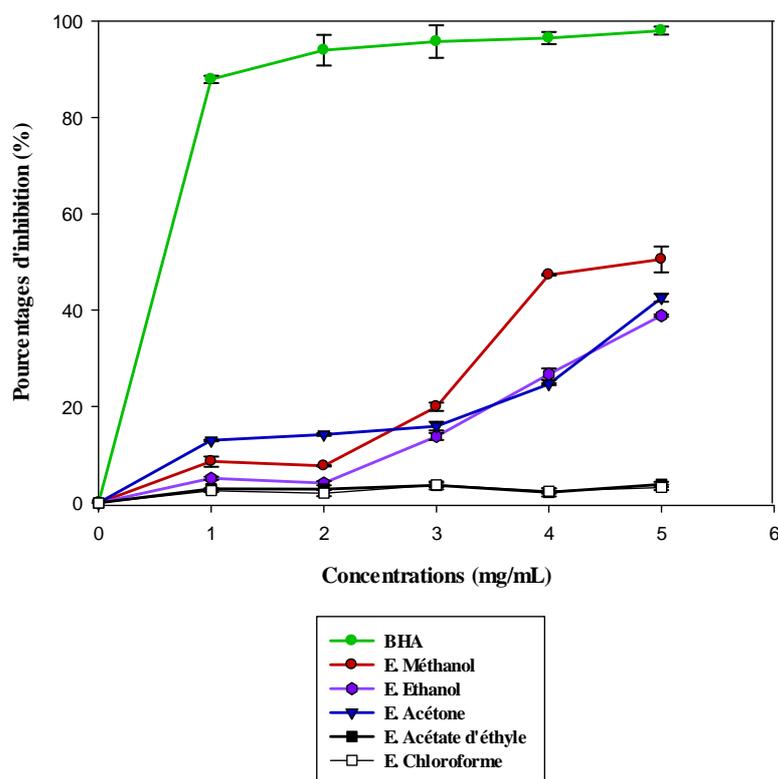


Fig. 50. Pouvoir antioxydant des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* testé par la méthode de la décoloration du β -carotène

Comme le montre la figure 50, nous remarquons clairement la faible activité antioxydante des extraits organiques : d'acétate d'éthyle et chloroformique vis-à-vis de la décoloration du β -carotène. De très faibles pourcentages d'inhibition ont été enregistrés pour ces deux extraits. Quant aux extraits organiques : méthanolique, éthanolique et acétonique, nous avons remarqué une légère amélioration de l'activité antioxydante traduit par une augmentation des valeurs des pourcentages d'inhibition, nous avons enregistré : 50.58 ± 2.69 % pour l'extrait méthanolique, 38.89 ± 0.24 % pour l'extrait éthanolique et 42.57 ± 0.81 % pour l'extrait acétonique. Une moyenne activité antioxydante a été observée. Pour le contrôle positif, nous remarquons clairement que le BHA exerce un fort effet antioxydant, avec des pourcentages d'inhibition qui arrivent jusqu'à 98.05 ± 0.83 %.

Le tableau 11 rapporte les valeurs des CI_{50} calculées pour les extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* et du BHA.

Tableau 11. Activité antioxydante des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* vis-à-vis du test de la décoloration du β -carotène exprimée par la valeur CI_{50} (concentrations finales)

Extraits organiques	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Méthanol	191.53 ± 1.53
Ethanol	nd
Acétone	nd
Acétate d'éthyle	nd
Chloroforme	nd
<i>BHA</i>	4.26 ± 0.98

nd : Valeur non déterminée

Les résultats expérimentaux trouvés nous ont permis de calculer les valeurs des CI_{50} que pour l'extrait méthanolique et pour le contrôle positif. La valeur est de l'ordre de $191.53 \pm 1.53 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait méthanolique, alors qu'elle est plus importante pour le contrôle positif (BHA) qui est de l'ordre de $4.26 \pm 0.98 \mu\text{g/mL}$, soit un facteur de 45. Nous avons remarqué que l'extrait méthanolique a exercé un effet antioxydant nettement plus faible que le BHA. Alors que les autres extraits n'ont présenté aucun effet antioxydant.

3. Discussion

Dans la littérature, très peu d'études ont été faites sur l'espèce *A. leucotrichus* native de l'Algérie. En effet, l'odeur de cette plante caractéristique nous indique la richesse de cette plante en huiles essentielles. De ce fait, nous nous sommes intéressés à investiguer la partie volatile de cette espèce.

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle était de l'ordre de 1.5 ± 0.02 %, qui est un rendement assez important. Ce résultat est en accord avec une étude faite récemment par Khaldi *et al.* (2014) qui ont rapporté un rendement en huile essentielle de l'ordre de 1.55 %. Par contre, l'étude faite par Velasco-Negueruela *et al.* (2006) rapporte un rendement d'extraction de l'ordre de 2.76 % de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* de la région de Dakhla. Cette différence de rendement peut être expliquée par plusieurs facteurs, à savoir : différence de l'origine de l'espèce, le climat, la nature du sol et les conditions édaphiques.

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* a été faite par une application conjointe d'une chromatographie en phase gazeuse (CPG), une chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (CPG/SM) et une spectroscopie de résonance magnétique du carbone 13 (RMN C¹³). Cette analyse nous a permis de révéler la présence de 11 composés. Nos résultats montrent que cette huile renferme le perillaldéhyde comme composé majoritaire (87 %) suivi par le limonène avec un pourcentage de 8.20 %. Ce résultat est en accord avec ce qui a été rapporté dans l'étude de Velasco-Negueruela *et al.* (2006) avec un pourcentage de l'ordre de 63.6 % pour le périllaldéhyde.

Nous avons étudié le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* par la méthode conventionnelle de diffusion sur disque. Les résultats que nous avons trouvés ont montré un remarquable pouvoir antimicrobien de cette huile. L'activité antibactérienne a été observée vis-à-vis d'*E. coli*, de *S. aureus*, d'*E. cloacae* et de *B. cereus* avec des CMI de l'ordre de 0.75 à 1 µL/mL. *S. typhimurium* était la souche la plus sensible à l'action de l'huile essentielle avec une CMI de l'ordre de 0.5 µL/mL. Quant à l'activité antifongique, les levures ainsi que les champignons filamenteux ont été très sensibles à l'action de l'huile essentielle. Une activité remarquable a été décelée, traduite par des CMI allant du 0.25 à 0.75 µL/mL. Les résultats rapportés par Khaldi *et al.* (2014) viennent de confirmer nos résultats.

Une activité antifongique remarquable de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus* a été trouvée vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis*, *Alternaria*, *Cladosporium* et *Penicillium expansum* à une concentration d'huile à 1/5000 (v/v) (Khaldi *et al.*, 2014).

Cette remarquable activité antimicrobienne de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* que nous avons révélée peut être attribuée en grande partie à la présence du périllaldéhyde comme composé majoritaire dans cette huile. Ce dernier étant largement étudié pour ses activités biologiques intéressantes. Plusieurs études ont rapporté l'effet antimicrobien du périllaldéhyde. Kim *et al.* (1995), rapporte un effet bactéricide du périllaldéhyde sur *E. coli*, *E. coli* 0157:H7 et *S. typhimurium* à une concentration de 500 µg/mL. Tian *et al.* (2015) ont étudié l'effet conservateur du périllaldéhyde sur les tomates. Une remarquable activité antifongique a été démontrée sur la croissance mycélienne et la germination de quatre souches fongiques, à savoir: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* et *Alternaria alternata*. À une concentration de 0.5 µL/mL, la croissance mycélienne a été totalement inhibée. De plus, l'étude rapporte que le périllaldéhyde inhibe la synthèse de l'aflatoxine B1 par *A. flavus* à une concentration de 0.4 µL/mL (Tian *et al.*, 2015). Une autre étude faite par McGeady et Wansley (2002) a démontré l'effet inhibiteur du périllaldéhyde vis-à-vis de la croissance de *C. albicans*. Le brevet d'invention de Kobayachi *et al.* (2008) rapporte l'utilisation du périllaldéhyde comme agent désinfectant et antiseptique en synergie avec d'autres composés, et qui peut être utilisé dans différentes industries (alimentaire, pharmaceutique, cosmétique ...).

La présence du limonène dans l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* vient de renforcer l'effet antimicrobien de cette huile. L'effet antimicrobien du limonène a été aussi démontré sur plusieurs souches bactériennes (Sonboli *et al.*, 2005).

Le mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles est non spécifique vu la complexité de leur composition chimique. Le caractère hydrophobe des huiles essentielles renforce leur action. De ce fait, plusieurs cibles cellulaires sont envisagées; la membrane étant leur cible privilégiée. D'une façon générale, il est rapporté que la présence des phénols, des aldéhydes et des alcools dans les huiles essentielles sont à l'origine de cette activité (Bakkali *et al.*, 2008 ; Fernandez et Chemat, 2012).

Nous nous sommes après intéressés à étudier l'activité antioxydante de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus*. Les premiers tests nous ont révélé une faible activité antioxydante de l'huile (test du piégeage du radical libre DPPH^{*}), et même une très faible voire même absence de l'activité antioxydante par les différents tests antioxydants utilisés dans cette étude (méthode FRAP, piégeage du H₂O₂ et la décoloration du β -carotène), ceci peut être expliqué par la faible concentration des molécules dotées d'activité antioxydante dans cette huile.

L'intéressant effet antimicrobien trouvé de l'huile essentielle et l'utilisation traditionnelle de cette plante nous ont incités à étudier le pouvoir hémolytique de cette huile. L'évaluation de l'activité hémolytique des huiles essentielles est un bon indicateur de leur cytotoxicité. La stabilité de la membrane des globules rouges humains est un indicateur pour évaluer les effets cytotoxiques, *in vitro*, de divers composés (Sharma et Sharma, 2001). Le traitement des cellules avec un agent cytotoxique peut causer différents problèmes au corps humain. Les cellules peuvent subir une perte de l'intégrité de la membrane et meurent rapidement en raison de la lyse cellulaire (Riaz *et al.*, 2012). De ce fait, le globule rouge humain représente un modèle approprié pour une première évaluation de la cytotoxicité d'un extrait ou d'une substance. La libération de l'hémoglobine suite à l'hémolyse des globules rouges peut être mesurée par spectrophotométrie, se qui constitue un avantage important d'un point de vue expérimental.

En effet, les résultats obtenus pour le pouvoir hémolytique de l'huile essentielle des fruits d'*A. leucotrichus* ont montré un pouvoir cytotoxique modéré de l'huile essentielle pure, avec un pourcentage d'hémolyse de l'ordre de 36.04 ± 2.36 %. Par contre, nous avons trouvé que lorsque l'huile essentielle est diluée au 1/10, aucun effet hémolytique n'a été observé. Ceci suggère que cette plante ne présente pas une toxicité vis-à-vis des globules rouges humains, ce qui prouve son utilisation, sans risque, par les populations indigènes pour se soigner.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aussi à l'étude des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus*. Plusieurs extractions par différents solvants organiques, de polarité croissante, ont été effectuées. Les extraits organiques : méthanolique et éthanolique ont présenté des rendements de l'ordre de 10.02 ± 0.49 % et 9.92 ± 0.28 %, respectivement. Un rendement d'extraction par macération au

méthanol des fruits d'*A. leucotrichus* de l'ordre de 20.4 % a été rapporté par Sifi *et al.* (2015). Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* ont été importantes dans les solvants polaires. La teneur en polyphénols la plus importante a été enregistrée dans l'extrait éthanolique (160.61 ± 6.28 mg GAE/g). Alors que la teneur en flavonoïdes la plus importante était enregistrée dans l'extrait acétonique (97.38 ± 1.31 mg CEQ/g). L'extrait chloroformique a renfermé les teneurs les moins importantes en polyphénols et en flavonoïdes. Certaines espèces de la famille des Apiacées renferment des teneurs importantes en polyphénols et en flavonoïdes. L'étude de Saeed *et al.* (2012) sur l'espèce *Torilis leptophylla* rapporte des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de l'ordre de 121.9 ± 3.1 mg GAE/g et 60.9 ± 2.2 mg RTE/g, respectivement. Une autre étude faite sur trois espèces de la famille des Apiacées ; *Heracleum lasiopetalum* Boiss, *Kelussia odoratissima* Mozaff., et *Echinophora platyloba* DC., a rapporté des teneurs en polyphénols allant de 74 à 120 mg TAE/g, et en flavonoïdes allant de 7.63 à 14.52 mg RE/g (Pirbalouti *et al.*, 2013). L'extraction des composés phénoliques est régie par plusieurs facteurs qui influent directement sur les teneurs de ces molécules, parmi ces facteurs ; l'augmentation de la température d'extraction, le temps de contact du matériel végétal avec le solvant d'extraction, ainsi que la diminution de la taille des particules pour augmenter le coefficient de diffusion du solvant.

Bruneton (2005) rapporte que l'extraction des hétérosides peut être effectuée le plus souvent à chaud par l'acétone ou par les alcools (tels que le méthanol ou l'éthanol) additionnés à l'eau (20 à 50% selon que la plante est fraîche ou sèche). Dans notre cas, nous avons utilisé des solvants d'extraction mélangés avec de l'eau en respectant le rapport de 80/20 (v/v). Ce rapport étant le plus efficace et le plus utilisé dans la littérature (Markham, 1982 ; Harborne, 1998 ; Wong *et al.*, 2006 ; Djeridane *et al.*, 2007 ; Tawaha *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2008).

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* a été effectuée par sept méthodes conventionnelles, afin de tester ces extraits par rapport aux différents mécanismes réactionnels qu'impliquent ces tests antioxydants.

L'activité antioxydante des Apiacées a été investiguée par plusieurs auteurs dans la littérature. Chandran *et al.* (2013) ont étudié l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique des feuilles d'*Ardisia solanaceae* Roxb. L'extrait méthanolique de cette plante a présenté plus d'activité antioxydante par rapport à l'extrait aqueux. Une intéressante activité antioxydante a été rapportée par les auteurs de cette publication. Pirbalouti *et al.* (2013) dans leur étude sur trois espèces de la famille des Apiacées, endémiques de l'Iran, ont rapporté un pouvoir antioxydant intéressant de leurs extraits méthanoliques testé par : le piégeage du radical libre DPPH^{*}, réduction du Fer et le test par l'ABTS. Une autre étude faite par Matejic *et al.* (2014) sur l'espèce *Cachrys cristata* DC., native de la Serbie, rapporte un pouvoir antioxydant assez intéressant des extraits aqueux, méthanolique, acétonique et d'acétate d'éthyle de la partie fruits de cette plante. Des valeurs importantes pour le test du piégeage du radical ABTS^{*} ont été rapportées (pour l'extrait d'acétate d'éthyle : 1.01 ± 0.017 mg VitC/g par rapport au BHA : 2.66 ± 0.005 mg VitC/g). Par contre, via le test du piégeage du radical libre DPPH^{*}, une activité antioxydante moins importante a été décelée par rapport aux antioxydants de référence.

L'activité antioxydante d'*A. leucotrichus* que nous avons évaluée était modérée par rapport à l'ensemble des tests antioxydants utilisés dans notre étude. Les extraits des solvants organiques polaires ont présenté une activité antioxydante plus importante que ceux des solvants apolaires. Via le test au réactif de Folin-Ciocalteu, nous avons remarqué que les extraits : méthanolique, acétonique et éthanologique ont présenté une activité antioxydante avec des valeurs de l'ordre de 81.87 ± 3.11 mg GAE/g, 80.37 ± 1.79 mg GAE/g et 76.05 ± 1.68 mg GAE/g, respectivement. Quant au test de l'activité antioxydante totale (TAC), nous avons remarqué que l'extrait méthanolique a exercé l'activité antioxydante la plus importante par rapport aux autres extraits organiques, mais inférieure à celle de l'acide ascorbique. Pour le test du piégeage du radical libre DPPH^{*}, les extraits organiques : éthanologique, méthanolique et acétonique ont présenté un pouvoir antioxydant modéré, avec des valeurs de CI₅₀ de l'ordre de 29 ± 1.85 µg/mL, 38.10 ± 2.54 µg/mL et 41 ± 0.56 µg/mL, respectivement. Néanmoins, ces extraits restent moins actifs par rapport aux contrôles positifs utilisés. Dans le test du piégeage du peroxyde d'hydrogène, les deux extraits organiques : méthanolique et éthanologique ont présenté une activité importante supérieure à celle des contrôles positifs utilisées (BHA et tocophérol). Les autres extraits étant eux aussi

actifs. La chimie derrière ce test se base sur un transfert d'électrons et de proton entre l'antioxydant et le peroxyde d'hydrogène en le réduisant en une molécule d'eau. La mesure dans l'UV rend ce test très sensible et à estimer d'un œil critique.

Quant au test du piégeage du radical hydroxyle, une bonne activité antioxydante a été enregistrée pour l'extrait méthanolique, plus intéressante que le contrôle positif (acide ascorbique). Une CI_{50} de l'ordre de $43.33 \pm 1.32 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait méthanolique, alors qu'elle est de $61.83 \pm 1.98 \mu\text{g/mL}$ pour l'acide ascorbique. L'évaluation de l'activité d'un extrait à piéger le radical hydroxyle est importante, en raison de la grande réactivité de ce radical qui réagit avec une large gamme de molécules trouvées dans les cellules vivantes (telles que les sucres, les lipides, les protéines, les nucléotides...). Dans le test de l'inhibition de la décoloration du β -carotène, l'ensemble des extraits organiques ont présenté une activité modérée et seul l'extrait méthanolique a présenté une CI_{50} ($191.53 \pm 1.53 \mu\text{g/mL}$) qui est nettement inférieure à celle du BHA ($4.26 \pm 0.98 \mu\text{g/mL}$).

Dans le test FRAP, tous les extraits organiques ont présenté une très modeste activité antioxydante. Les extraits d'acétate d'éthyle et chloroformique n'ont présenté aucun pouvoir antioxydant intéressant, et ce dans tous les tests utilisés.

Conclusion

Il ressort de l'étude de cette plante les points suivants :

- *A. leucotrichus* renferme une huile essentielle possédant un fort pouvoir antimicrobien et une très faible activité cytotoxique.
- Les extraits organiques des fruits d'*A. leucotrichus* renferment une modeste activité antioxydante.

Chapitre 2.

[*Anabasis aretioides* Coss. & Moq.]

1. Etude des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*

1.1. Rendement d'extraction

Dans cette étude, nous avons opté pour des extractions par des solvants organiques avec des polarités croissantes afin d'extraire différents groupes de composés chimiques que peut contenir la plante étudiée.

La figure 51 rapporte les rendements d'extraction trouvés pour les différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*.

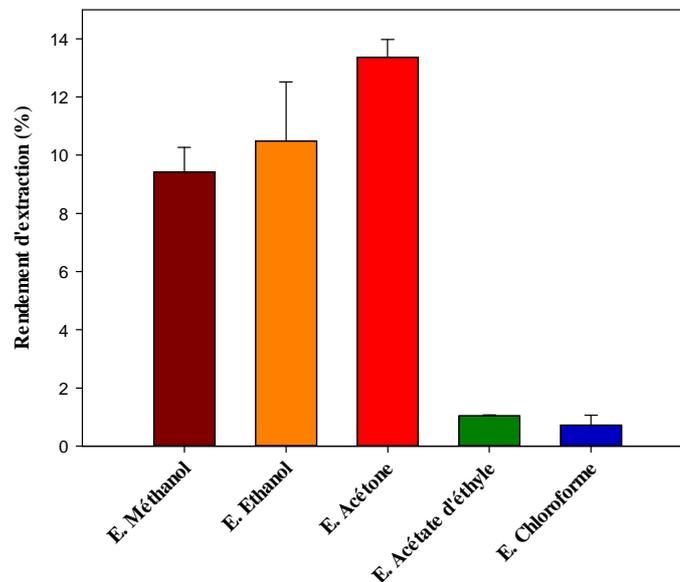


Fig. 51. Rendements d'extraction des différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que les extraits organiques des solvants polaires ont présenté les rendements les plus élevés, à savoir : 9.42 ± 0.84 % pour l'extrait méthanolique, 10.49 ± 2.02 % pour l'extrait éthanolique et 13.36 ± 0.62 % pour l'extrait acétonique. Alors que les autres extraits, d'acétate d'éthyle et chloroformique, de très faibles rendements ont été obtenus, à savoir : 1.04 ± 0.3 % et 0.72 ± 0.34 % pour les deux extraits, respectivement.

1.2. Dosages de polyphénols et des flavonoïdes

Le dosage des polyphénols a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu comme décrit dans la partie matériel et méthodes.

Quant au dosage des flavonoïdes, ce dernier a été effectué par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl_3).

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique ($y = 0.0524 x - 0.0329$, $r^2 = 0.9972$) (fig. 39).

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg CEQ/g) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine ($y = 0.0264 x + 0.0775$, $r^2 = 0.998$) (fig. 40).

La figure 52 rapporte les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*.

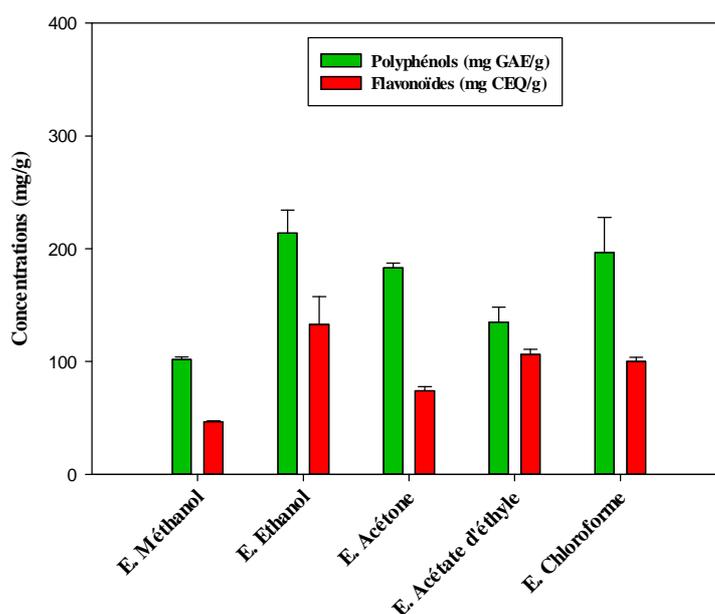


Fig. 52. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*

A partir des résultats obtenus, nous avons observé des teneurs variées en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits organiques étudiés. La teneur la plus faible en polyphénols était celle de l'extrait méthanolique avec une teneur de l'ordre de 101.85 ± 2.31 mg GAE/g, alors que la valeur la plus élevée était celle de l'extrait éthanolique avec une teneur de l'ordre de 213.85 ± 20.59 mg GAE/g.

En ce qui concerne les teneurs en flavonoïdes, nous avons remarqué que l'extrait éthanolique a exprimé la valeur la plus élevée avec une teneur de l'ordre de 132.81 ± 24.58 mg CEQ/g. L'extrait qui a présenté la teneur la plus faible était l'extrait méthanolique avec une teneur de l'ordre de 46.68 ± 0.74 mg CEQ/g. Nous avons remarqué aussi que les extraits organiques d'acétate d'éthyle et chloroformique ont présenté des valeurs élevées en termes de teneurs en flavonoïdes, ce qui n'est pas souvent rencontré dans la littérature.

2. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*

2.1. Activité antioxydante totale par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)

La figure 53 rapporte les résultats obtenus de l'activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testée par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu.

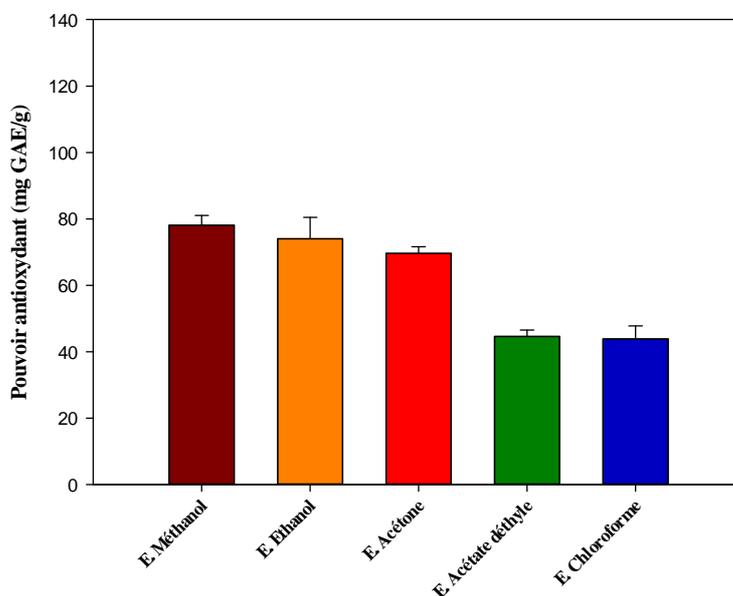


Fig. 53. Pouvoir antioxydant des différents extraits de la partie aérienne d'*A. aretioides* testé par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu

A partir des résultats obtenus, et à une concentration de 1 mg/mL, nous avons remarqué que les extraits organiques : méthanolique, éthanolique et acétonique ont présenté la plus importante activité antioxydante par rapport aux extraits organiques : d'acétate d'éthyle et chloroformique, avec une légère prédominance de l'extrait méthanolique (78.11 ± 2.93 mg GAE/g), comme le montre la figure 53.

2.2. Capacité antioxydante totale par la méthode au molybdate d'ammonium (*Total Antioxidant Capacity TAC*)

La figure 54 rapporte les résultats obtenus du pouvoir antioxydant testé par la méthode au molybdate d'ammonium des différents extraits organique de la partie aérienne d'*A. aretioides*.

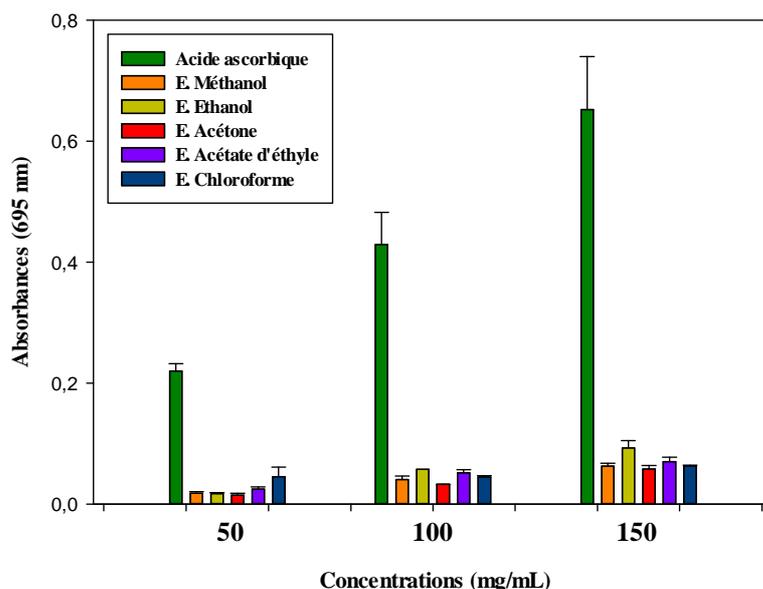


Fig. 54. Capacité antioxydante totale des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testée par la méthode au molybdate d'ammonium

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que le contrôle positif (acide ascorbique) a présenté une activité antioxydante totale importante, et ce dans les trois concentrations utilisées. Quant aux extraits d'*A. aretioides*, nous avons remarqué que les différents extraits organiques, et dans les trois concentrations utilisées, n'ont pas exercé un pouvoir antioxydant, en le comparant avec l'acide ascorbique. En l'occurrence, l'extrait éthanolique a présenté une légère prédominance et a exprimé un pouvoir antioxydant le plus important en le comparant avec les autres extraits organiques. A une concentration de 150 mg/mL, ce dernier a exprimé une absorbance égale à 0.09 ± 0.01 , par contre, la valeur était égale à 0.65 ± 0.08 pour l'acide ascorbique

2.3. Réduction du Fer : FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

La figure 55 rapporte le pouvoir réducteur des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* à différentes concentrations comparé à celui de l'acide ascorbique et du BHA.

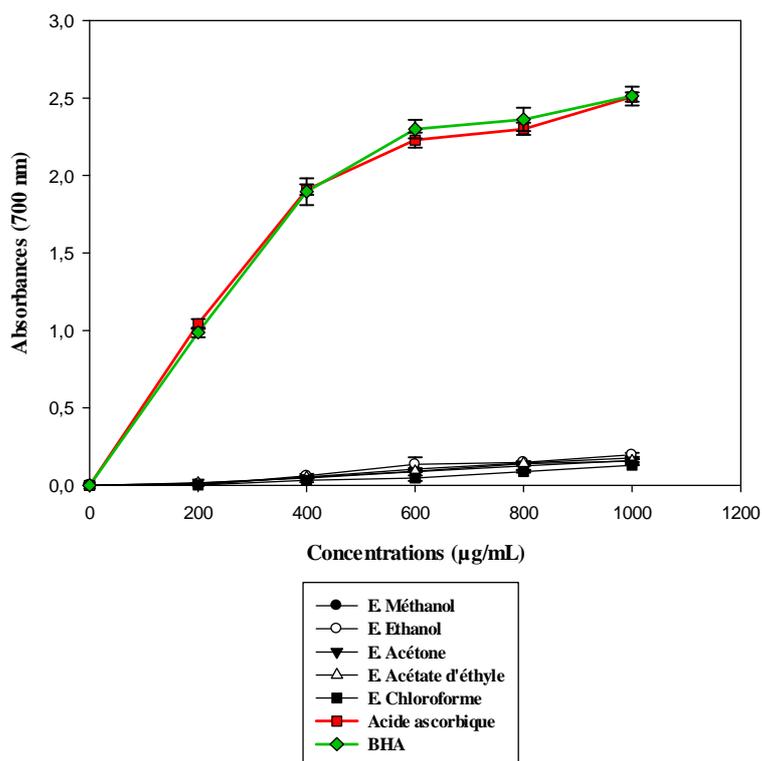


Fig. 55. Pouvoir réducteur des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testé par la méthode FRAP

A partir des résultats rapportés dans la figure 55, nous avons remarqué que tous les extraits organiques ont présenté un pouvoir réducteur faible en les comparant avec les deux contrôles positifs utilisés, et ce à des concentrations différentes.

La figure 56 montre l'effet réducteur des différents extraits organiques à une concentration de 1 mg/mL

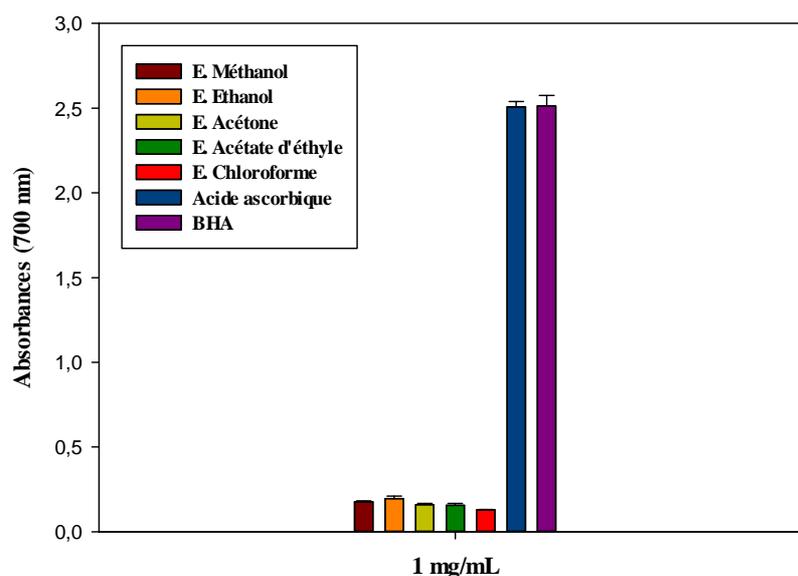


Fig. 56. Pouvoir réducteur des différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testé par la méthode FRAP à une concentration de 1 mg/mL

Nous pouvons voir clairement sur la figure 56 le faible pouvoir réducteur des extraits organiques par rapport au pouvoir réducteur de l'acide ascorbique qui est de l'ordre de 2.51 ± 0.03 et celui du BHA qui est de l'ordre de 2.51 ± 0.06 .

Néanmoins, nous avons remarqué que l'extrait éthanolique a exercé un effet réducteur plus ou moins élevé par rapport aux autres extraits organiques.

2.4. Piégeage du radical libre DPPH^{*} (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

La figure 57 rapporte le pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* comparé à celui des contrôles positifs utilisés (acide ascorbique, BHA et quercétine) vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH^{*}.

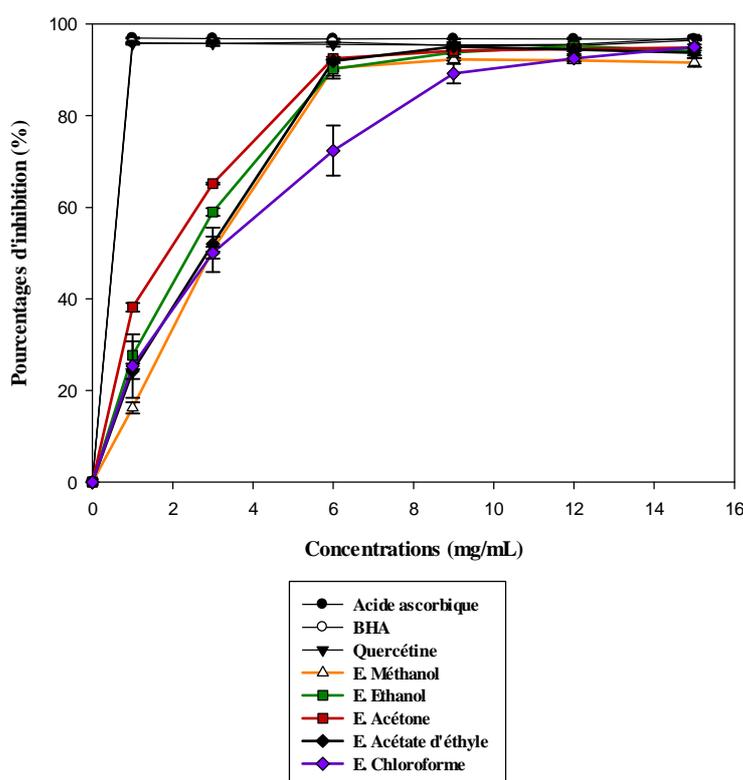


Fig. 57. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH*

Les différents extraits organiques ont montré une activité antioxydante modérée vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH*. Nous avons remarqué que tous les extraits organiques ont fourni des pourcentages d'inhibition qui ont atteint la phase de saturation. Les pourcentages d'inhibition trouvés étaient de l'ordre de 91.62 ± 0.93 % pour l'extrait méthanolique, 94.07 ± 1.51 % pour l'extrait éthanolique, 94.85 ± 0.06 % pour l'extrait acétonique, 93.74 ± 0.52 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle et 95.01 ± 2.34 % pour l'extrait chloroformique, à une concentration de 15 mg/mL.

Quant aux contrôles positifs utilisés, nous avons remarqué un fort pouvoir antioxydant traduit par des pourcentages d'inhibition élevés et ce même à de très faibles concentrations.

Le tableau 12 rapporte les valeurs des CI_{50} pour chaque extrait organique de la partie aérienne d'*A. aretioides*.

Tableau 12. Activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH' exprimée par la valeur CI₅₀ (concentration finale)

Extraits organiques	CI ₅₀ (µg/mL)
Méthanol	79.15 ± 04.23
Ethanol	65.08 ± 01.98
Acétone	47.71 ± 01.13
Acétate d'éthyle	72.15 ± 01.04
Chloroforme	86.73 ± 10.68
<i>Acide ascorbique</i>	2.48 ± 00.09
<i>BHA</i>	2.61 ± 00.13
<i>Quercétine</i>	2.59 ± 00.15

Du tableau 12, nous remarquons clairement le fort pouvoir antioxydant des contrôles positifs utilisés, qui est de l'ordre de $2.48 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$, $2.61 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$ et $2.59 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$ pour l'acide ascorbique, le BHA et la quercétine, respectivement. Ces résultats confirment les résultats trouvés dans plusieurs publications (Chew *et al.*, 2008 ; Conforti *et al.*, 2008). Alors que pour les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*, nous remarquons que ces derniers ont exercé un effet antioxydant faible, avec légère prédominance de l'extrait acétonique avec une valeur de la CI₅₀ de $47.71 \pm 1.13 \mu\text{g/mL}$.

2.5. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (*H₂O₂ scavenging activity*)

Les résultats obtenus du piégeage du peroxyde d'hydrogène par les différents extraits de la partie aérienne d'*A. aretioides* sont rapportés dans la figure 58.

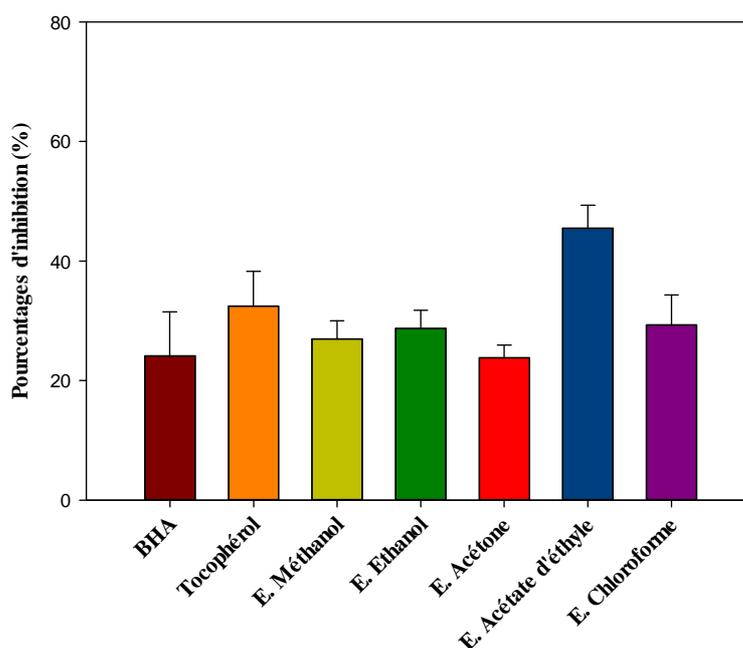


Fig. 58. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testé par la méthode du piégeage du peroxyde d'hydrogène

A partir des résultats obtenus, nous remarquons que l'ensemble des extraits organiques ont présenté un pouvoir piégeur du peroxyde d'hydrogène, comparable à celui des contrôles positifs utilisés, voire même plus important, et ce dans le cas de l'extrait d'acétate d'éthyle (45.49 ± 3.84 %) qui a présenté un effet piégeur du peroxyde d'hydrogène nettement plus grand que le BHA et le tocophérol (24.12 ± 7.32 et 32.44 ± 5.87 %, respectivement).

2.6. Piégeage du radical hydroxyle (OH^\bullet scavenging activity)

Le pouvoir piégeur du radical hydroxyle des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* est rapporté dans la figure 59.

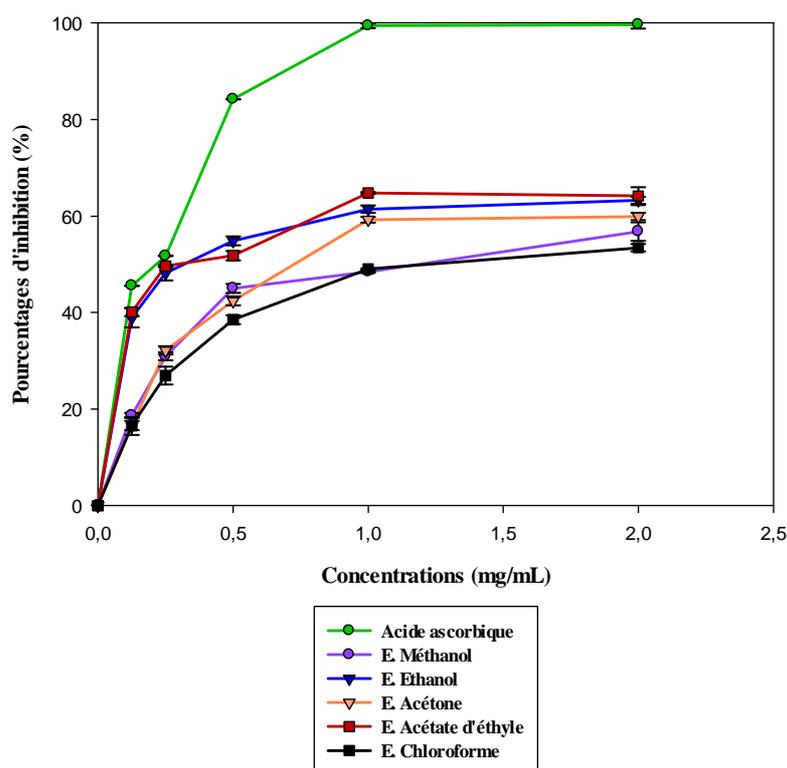


Fig. 59. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que l'acide ascorbique a présenté un pouvoir piégeur du radical hydroxyle le plus important et à différentes concentrations. La phase stationnaire a été atteinte dès la concentration de 1 mg/mL. Quant aux extraits organiques, nous avons remarqué qu'ils ont un pouvoir piégeur du radical hydroxyle moyen en le comparant avec celui de l'acide ascorbique. Les pourcentages d'inhibition trouvés étaient de l'ordre de $65,78 \pm 1,93$ % pour l'extrait méthanolique, $63,29 \pm 0,72$ % pour l'extrait éthanolique, $59,91 \pm 0,76$ % pour l'extrait acétonique, $64,16 \pm 1,84$ % pour l'extrait d'acétate d'éthyle et $53,44 \pm 0,74$ % pour l'extrait chloroformique.

La figure 60 rapporte l'activité antioxydante par le piégeage du radical hydroxyle des différents extraits organiques et de l'acide ascorbique à une concentration de 1 mg/mL.

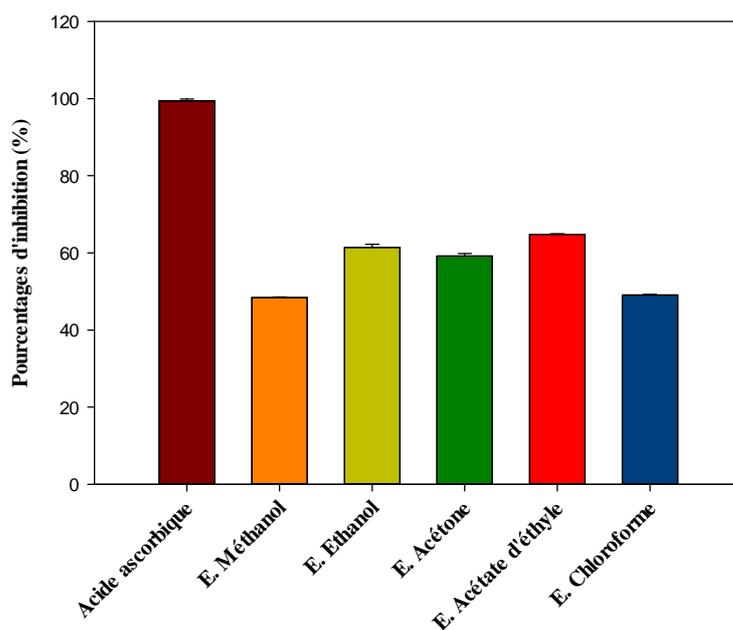


Fig. 60. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle à une concentration de 1mg/mL

A une concentration de 1 mg/mL, nous avons remarqué que les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* ont présenté une activité antioxydante presque similaire mais inférieure à celle de l'acide ascorbique. Nous avons remarqué que l'extrait organique d'acétate d'éthyle a exercé l'effet antioxydant le plus important par rapport aux autres extraits avec un pourcentage d'inhibition égale à 64.79 ± 0.2 %.

Le tableau 13 rapporte les valeurs des CI_{50} des différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*.

Tableau 13. Activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* vis-à-vis du piégeage du radical hydroxyle exprimée par la valeur CI_{50} (concentrations finales)

Extraits organiques	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Méthanol	416.67 ± 6.87
Ethanol	199.33 ± 1.76
Acétone	256.00 ± 4.90
Acétate d'éthyle	87.33 ± 3.42
Chloroforme	351.67 ± 3.43
<i>Acide ascorbique</i>	61.83 ± 1.98

D'après les CI_{50} calculées des différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*, nous avons remarqué que l'extrait d'acétate d'éthyle a exercé un pouvoir antioxydant assez important avec une valeur de l'ordre de $87.33 \pm 3.42 \mu\text{g/mL}$, et qui est proche de la valeur de la CI_{50} de l'acide ascorbique (contrôle positif), qui est de l'ordre de $61.83 \pm 1.98 \mu\text{g/mL}$. L'extrait méthanolique a exercé la faible activité antioxydante avec une valeur de la CI_{50} de l'ordre de $416.67 \pm 6.87 \mu\text{g/mL}$.

2.7. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β -carotène (*β -carotene bleaching method*)

La figure 61 rapporte le pouvoir antioxydant testé par la méthode de la décoloration du β -carotène des différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*.

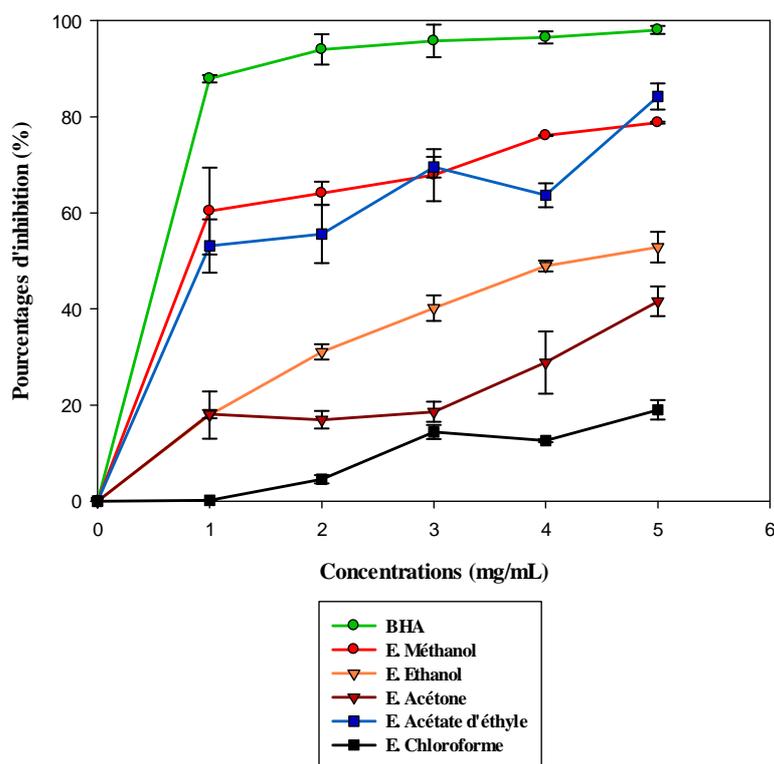


Fig. 61. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* testé par la méthode de la décoloration du β -carotène

Comme le montre la figure 61, nous remarquons que les extraits organiques ont présenté des réponses différentes vis-à-vis de la décoloration du β -carotène. La plus importante activité antioxydante a été exercée par l'extrait méthanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 74.78 ± 0.21 % et 84.25 ± 2.73 %, respectivement. Alors que l'extrait chloroformique a exercé l'effet antioxydant le plus faible. Par contre, nous remarquons clairement que le BHA exerce un fort effet protecteur (antioxydant) sur le β -carotène, avec des pourcentages d'inhibition qui arrivent jusqu'au 98.05 ± 0.83 %.

Le tableau 14 rapporte les valeurs des CI_{50} calculées pour les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* et du BHA.

Tableau 14. Activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* vis-à-vis du test de la décoloration du β -carotène exprimée par la valeur CI_{50} (concentrations finales)

Extraits organiques	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Méthanol	22.27 ± 1.55
Ethanol	158.92 ± 2.34
Acétone	nd
Acétate d'éthyle	30.58 ± 0.91
Chloroforme	nd
<i>BHA</i>	4.26 ± 0.98

nd : Valeur non déterminée

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique a exercé un effet inhibiteur de la décoloration du β -carotène de l'ordre $22.27 \pm 1.55 \mu\text{g/mL}$, suivi par celui de l'extrait d'acétate d'éthyle avec une CI_{50} de l'ordre de $30.58 \pm 0.91 \mu\text{g/mL}$, alors qu'elle était moins importante dans le cas de l'extrait éthanolique, de l'ordre de $158.92 \pm 2.34 \mu\text{g/mL}$. Le *BHA* étant un contrôle positif, il a exercé un pouvoir antioxydant important traduit par une valeur de la CI_{50} qui est la plus importante de l'ordre de $4.26 \pm 0.98 \mu\text{g/mL}$.

3. Pouvoir antimicrobien des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*

Le tableau 15 rapporte le pouvoir antimicrobien des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*.

Tableau 15. Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque des différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* vis-à-vis des souches microbiennes

Souches Microbiennes	Zones d'inhibition (mm)				
	Extrait méthanolique	Extrait éthanolique	Extrait acétonique	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait chloroformique
<i>P. aeruginosa</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>E. coli</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>K. pneumoniae</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>S. typhimurium</i>	06.0 ± 0.00	09.0 ± 0.34	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>E. cloaceae</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>S. aureus</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	07.0 ± 0.00
<i>E. faecalis</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>B. cereus</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>C. albicans</i> ^a	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>C. albicans</i> ^b	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00

^a *Candida albicans* 444 IP ; ^b *Candida albicans* ATCC 10231

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que l'ensemble des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* n'ont exercé aucun effet antimicrobien et ce sur toutes les souches microbiennes testées.

4. Discussion

A. aretioides est une des plantes endémiques du Sud Algérien. Le peu d'études effectuées sur les activités biologiques de cette espèce nous a poussé à l'étudier et à l'explorer. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à étudier les activités biologiques des extraits organiques de la partie aérienne de cette plante, en évaluant son pouvoir antioxydant et son activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique).

L'étude faite par Boulenouar *et al.* (2012) rapporte des rendements d'extraction des extraits ; méthanolique et d'acétate d'éthyle de l'ordre de 4.69 % et 1.05 %, respectivement. Le rendement d'extraction que nous avons obtenu concernant l'extrait d'acétate d'éthyle est en accord avec leur résultat (1.04 ± 0.3 %). Par contre, l'extrait méthanolique dans notre étude a présenté plus de rendement (9.42 ± 0.84 %). Plusieurs facteurs peuvent influencer le rendement d'extraction (méthode d'extraction utilisée, période de récolte de la plante, pureté de solvant utilisé, conditions de stockage de la plante ...). La même étude rapporte des rendements faibles concernant des solvants apolaires (dichlorométhane et hexane), ce qui est en accord avec nos résultats. Une étude faite sur une autre plante de la même famille (Amaranthacées), rapporte des rendements d'extraction similaires à ceux que nous avons trouvés pour la partie aérienne d'*A. aretioides*, à savoir 11.6 % pour l'extrait méthanolique et 2 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle, et ce pour l'espèce *Amaranthus lividus* (Ozsoy *et al.*, 2009).

Les différents extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* ont présenté des teneurs assez importantes en ce qui concerne les polyphénols et les flavonoïdes. Plusieurs espèces de la famille des Amaranthacées renferment des concentrations non négligeables en polyphénols et en flavonoïdes. Les travaux de Benhammou *et al.* (2013 ; 2014) sur l'espèce *Anabasis articulata* ont rapporté des teneurs moyennes en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des tiges et des racines de cette plantes, à savoir : 25.48 ± 3.83 mg GAE/g, 3.08 ± 0.2 mg CE/g pour la partie tige et 19.85 ± 7.52 mg GAE/g, 3.8 ± 0.06 mg CE/g pour la partie racine, respectivement. L'étude faite par Rached *et al.* (2010) qui étudie le potentiel antioxydant de 52 plantes locales (natives de l'Algérie), dont la plante *A. aretioides*, rapporte des teneurs de l'ordre de 110 mg GAE/g en polyphénols et de 17

mg CEQ/g en flavonoïdes dans la partie racines de cette espèce. Les résultats que nous avons trouvés rapportent des teneurs nettement plus élevées que celles trouvées dans la littérature. Nous avons remarqué que l'extrait éthanolique a renfermé la teneur la plus élevée en polyphénols et en flavonoïdes (213.85 ± 20.59 mg GAE/g et 132.81 ± 24.58 mg CEQ/g, respectivement). Ce fait peut être expliqué, probablement, par les conditions environnementales dans lesquelles la plante pousse.

La famille des Amaranthacées de part sa distribution géographique (plantes qui poussent dans les terrains salés) est caractérisée par ses espèces qui poussent dans des climats arides ou semi-arides. Dans ces circonstances, les plantes s'adaptent parfaitement aux conditions climatiques extrêmes en adaptant leurs métabolismes à synthétiser des substances qui leur permettent de survivre. Les composés phénoliques jouent un rôle important dans l'adaptation de ces espèces à ces conditions climatiques. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* a été effectuée par sept méthodes conventionnelles, afin de tester ces extraits par rapport aux différents mécanismes réactionnels qu'impliquent ces tests antioxydants.

L'activité antioxydante des Amaranthacées a été largement étudiée ces dernières années. Plusieurs études ont été publiées dans ce contexte. Essaidi *et al.* (2013) ont étudié l'activité antioxydante de *Salicornia herbacea* par le piégeage du radical libre DPPH[•] et par le test de l'inhibition de la décoloration du β -carotène. Ils ont rapporté une bonne activité antioxydante. A titre indicatif, la valeur de la CI₅₀ trouvée pour l'extrait méthanolique de cette plante était de l'ordre de 55.3 ± 2.7 μ g/mL. Par contre, une étude faite sur l'espèce *Cyathula prostrata* (Linn.) Blume par Ibrahim *et al.* (2012) rapporte une très faible activité antioxydante de cette espèce testée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH[•] et par le test de la peroxydation lipidique. Benhammou *et al.* (2013 ; 2014) rapportent une modeste activité antioxydante des extraits organiques d'*A. articulata* testée par plusieurs méthodes antioxydantes. A titre indicatif, les valeurs de la CI₅₀ trouvées pour l'extrait méthanolique pour les parties tige et racine étaient de l'ordre de 1.98 ± 0.15 et 0.57 ± 0.03 mg/mL, respectivement, alors que la valeur de la CI₅₀ pour l'acide ascorbique était de l'ordre de 0.12 mg/mL, et ce dans le cas du test du piégeage du radical libre DPPH[•].

L'activité antioxydante d'*A. aretioides* que nous avons évaluée était modérée par rapport à l'ensemble des tests antioxydants utilisés dans notre étude. Pour le test du piégeage du radical libre DPPH[•] (le test le plus utilisé dans la littérature), les extraits organiques : acétonique, éthanolique et d'acétate d'éthyle ont présenté le plus de pouvoir antioxydant, avec des valeurs de la CI₅₀ de l'ordre de $47.71 \pm 1.13 \mu\text{g/mL}$, $65.08 \pm 1.98 \mu\text{g/mL}$ et $72.15 \pm 1.04 \mu\text{g/mL}$, respectivement. Dans le test du piégeage du peroxyde d'hydrogène, l'extrait d'acétate d'éthyle a présenté une activité importante supérieure à celle des références utilisées (BHA et tocophérol). Les autres extraits étant, également, actifs.

Quant au test du piégeage du radical hydroxyle, une activité antioxydante modérée a été observée pour l'extrait d'acétate d'éthyle mais la plus intéressante par rapport aux autres extraits. Une CI₅₀ de l'ordre de $87.33 \pm 3.42 \mu\text{g/mL}$ a été trouvée qui n'est pas trop éloignée à celle de l'acide ascorbique ($61.83 \pm 1.98 \mu\text{g/mL}$). Par contre, l'extrait méthanolique a exercé une activité antioxydante moins importante. Dans le test de l'inhibition de la décoloration du β -carotène, l'extrait méthanolique a présenté l'effet le plus protecteur par rapport aux autres extraits organiques avec une valeur de la CI₅₀ égale à $22.27 \pm 1.55 \mu\text{g/mL}$. Les extraits : acétonique et chloroformique n'ont présenté aucun effet antioxydant.

En revanche, les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* ont présenté une très modeste activité antioxydante par les méthodes TAC et FRAP. Ces deux dernières, sont considérées comme des méthodes généralistes pour l'évaluation de l'activité antioxydante. En revanche, l'étude faite par Rashed *et al.* (2010) rapporte que les extraits organiques de la partie feuille d'*A. aretioides* n'ont fourni aucune activité antioxydante testée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH[•].

Nous avons aussi investigué le pouvoir antimicrobien des extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides*. Les résultats que nous avons obtenus ont montré une très faible, voire même, une absence de l'activité antimicrobienne des différents extraits organiques testés.

L'étude de l'activité antimicrobienne de quelques espèces de la famille des Amaranthacées a dévoilé que certaines espèces possèdent cette propriété. L'étude faite par Ozusaglam *et al.* (2011) sur l'espèce *Salsola stenoptera* rapporte une assez bonne activité antibactérienne de cette espèce avec des valeurs de CMI allant de 5.625

à 180 µg/µL. En outre, l'étude faite par Essaidi *et al.* (2013) sur l'espèce *Salicornia herbacea* rapporte une modeste activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de cette espèce. *S. aureus* étant la souche la plus sensible. Une autre étude faite par Shakeri *et al.* (2012) sur l'espèce *Anabasis aphylla* démontre une moyenne activité antimicrobienne des extraits ; méthanolique, butanolique et d'acétate d'éthyle vis-à-vis de plusieurs souches microbiennes. L'extrait butanolique a exercé l'effet le plus important, mais largement inférieur à celui des antibiotiques utilisés dans l'étude.

L'absence d'une activité antimicrobienne dans les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* peut être expliquée par plusieurs facteurs ; ou bien la plante ne renferme pas des substances à effet antimicrobien, ou la concentration des substances à effet antimicrobien n'est pas adéquate, ou bien, la diffusion dans le milieu de culture des molécules actives pose problème, ou bien, ça peut être due à la période de récolte de la plante et la méthode d'extraction des molécules dotées d'activité antimicrobienne. Tous ces facteurs et autres peuvent expliquer l'absence de l'activité antimicrobienne dans cette espèce.

Dans la littérature, certains travaux ont rapporté la présence des saponines et des alcaloïdes dans l'espèce *A. aretioides* (Benhouhou, 2005). Ces molécules sont réputées d'avoir des effets toxiques sur les globules rouges humains (Sharma et Sharma, 2001 ; Sparg *et al.*, 2004 ; Arslan et Çelik, 2013). De ce fait, le test de l'activité hémolytique n'a pas été effectué.

Conclusion

Il ressort de l'étude de cette plante les points suivants :

- Les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* renferment une modeste activité antioxydante ;
- Les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* ne renferment aucune activité antimicrobienne.

Chapitre 3.

[*Limoniastrum feei* (Girard) Batt.]

1. Etude des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*

1.1. Rendement d'extraction

Dans cette étude, nous avons opté pour des extractions par des solvants organiques avec des polarités croissantes afin d'extraire différents groupes de composés chimiques que peut contenir la plante étudiée.

La figure 62 rapporte les rendements d'extraction trouvés pour les différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*.

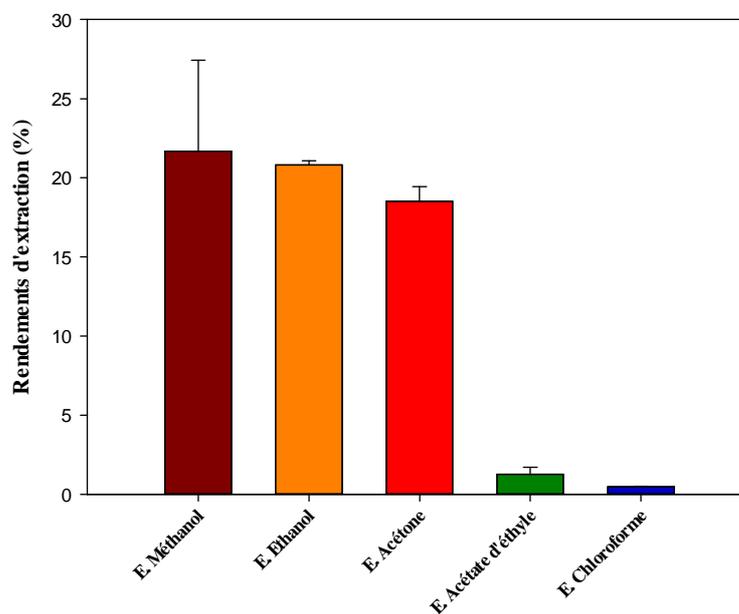


Fig. 62. Rendements d'extraction des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que les extraits organiques des solvants polaires ont présenté les rendements les plus élevés, à savoir : 21.68 ± 5.75 % pour l'extrait méthanolique, 20.81 ± 0.27 % pour l'extrait éthanolique et 18.51

± 0.93 % pour l'extrait acétonique. Alors que pour les autres extraits, de très faibles rendements ont été obtenus, à savoir : 1.26 ± 0.45 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle et 0.48 ± 0.01 % pour l'extrait chloroformique.

1.2. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes

Le dosage des polyphénols a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu comme décrit dans la partie expérimentale.

Quant au dosage des flavonoïdes, ce dernier a été effectué par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl_3).

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique ($y = 0.0524 x - 0.0329$, $r^2 = 0.9972$) (fig. 39).

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg CEQ/g) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine ($y = 0.0264 x + 0.0775$, $r^2 = 0.998$) (fig. 40).

La figure 63 rapporte les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*.

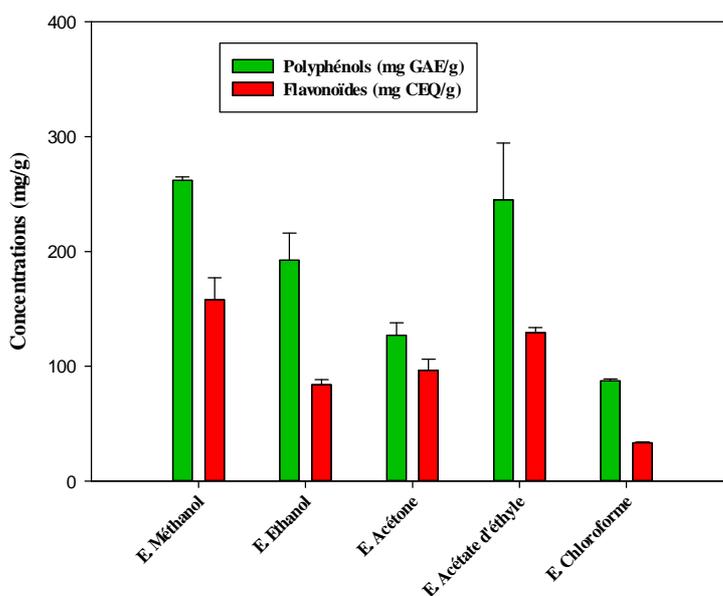


Fig. 63. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*

A partir des résultats obtenus, nous avons observé des teneurs variées en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*. Nous avons remarqué que l'extrait méthanolique a présenté la teneur la plus importante que ce soit en polyphénols (262.11 ± 2.86 mg GAE/g) ou en flavonoïdes (157.88 ± 19.11 mg CEQ/g). Alors que l'extrait chloroformique a présenté de faibles teneurs (87.36 ± 1.59 mg GAE/g et 33.37 ± 0.63 mg CEQ/g). Il est à noter aussi que l'extrait organique d'acétate d'éthyle a présenté une teneur assez importante en polyphénols et en flavonoïdes comme le montre la figure 63.

2. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*

2.1. Activité antioxydante totale par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (FC)

La figure 64 rapporte les résultats obtenus de l'activité antioxydante des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testée par la méthode FC.

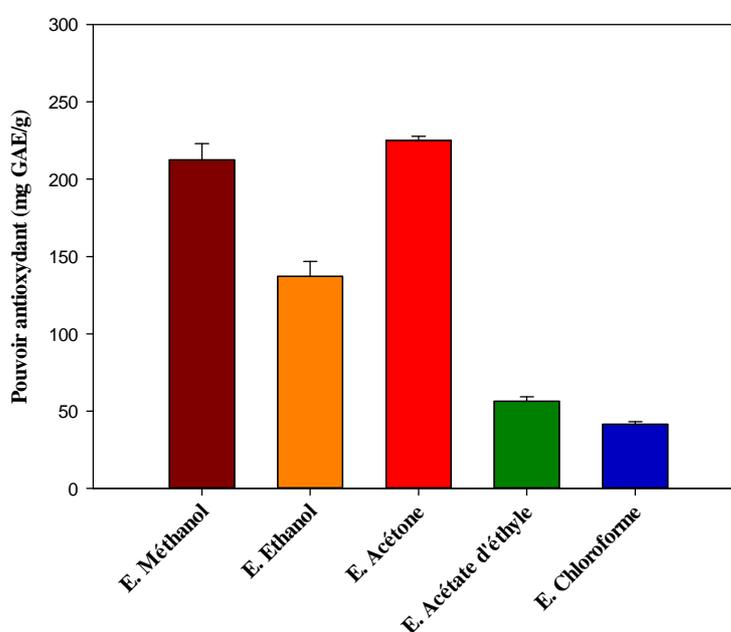


Fig. 64. Pouvoir antioxydant des différents extraits de la partie feuille de *L. feei* testé par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu

A partir des résultats obtenus, et à une concentration de 1 mg/mL, nous avons remarqué que les deux extraits : acétonique et méthanolique ont présenté les réponses les plus élevées par rapport aux autres extraits organiques (225.18 ± 2.64 mg GAE/g et 212.44 ± 10.56 mg GAE/g, respectivement). Alors que l'extrait chloroformique a présenté le pouvoir antioxydant le moins important (41.48 ± 1.72 mg GAE/g), comme le montre la figure 64.

2.2. Capacité antioxydante totale par la méthode au molybdate d'ammonium (*Total Antioxidant Capacity TAC*)

La figure 65 rapporte les résultats obtenus du pouvoir antioxydant testé par la méthode au molybdate d'ammonium des différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*.

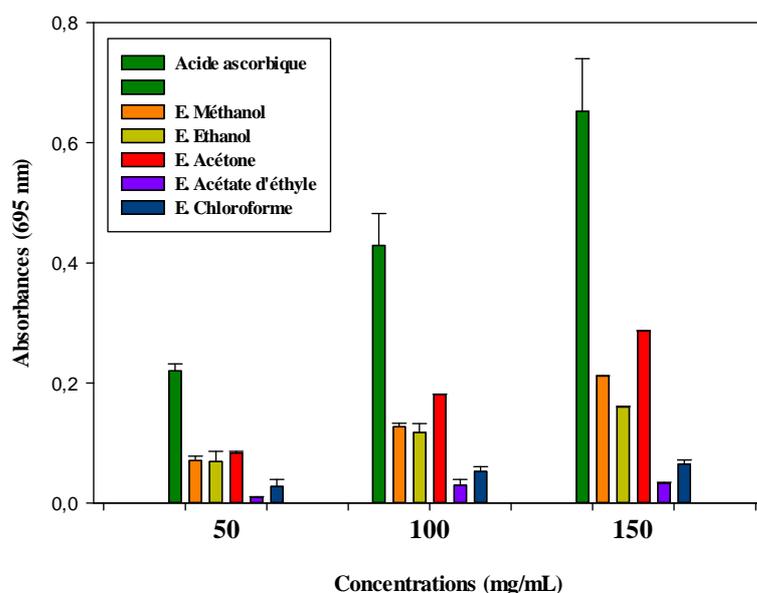


Fig. 65. Capacité antioxydante totale des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testée par la méthode au molybdate d'ammonium

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que le contrôle positif (acide ascorbique) a présenté une activité antioxydante totale importante, et ce dans les trois concentrations utilisées. Quant aux extraits organiques, nous avons remarqué que l'extrait acétonique a présenté le pouvoir antioxydant le plus important par rapport aux autres extraits (absorbance : 0.28 ± 0.04 à une concentration de 150 mg/mL), suivi par celui de l'extrait méthanolique (absorbance : 0.21 ± 0.02 à une

concentration de 150 mg/mL). En l'occurrence, les extraits organiques : d'acétate d'éthyle et chloroformique ont présenté une très faible activité antioxydante.

2.3. Réduction du Fer : FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

La figure 66 rapporte le pouvoir réducteur des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* à différentes concentrations comparé à celui de l'acide ascorbique et du BHA.

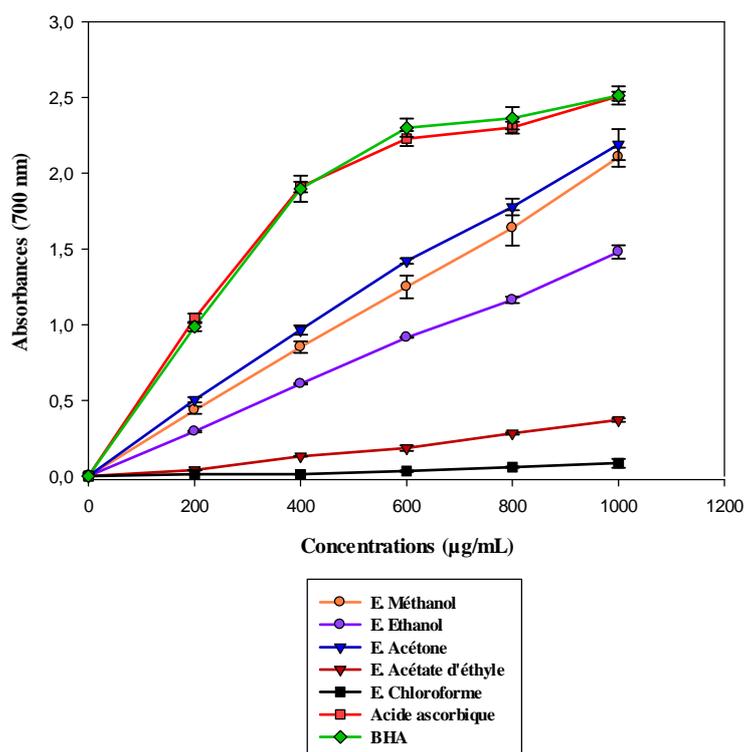


Fig. 66. Pouvoir réducteur des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testé par la méthode FRAP

A partir des résultats rapportés dans la figure 66, nous avons remarqué que les extraits organiques : méthanolique, éthanolique et acétonique ont présenté un pouvoir réducteur important avec des absorbances de l'ordre de 2.19 ± 0.11 pour l'extrait acétonique, 2.11 ± 0.06 pour l'extrait méthanolique et 1.48 ± 0.04 pour l'extrait éthanolique. Ces valeurs ont été proches à celle des contrôles positifs utilisés, qui sont de l'ordre de 2.51 ± 0.03 pour l'acide ascorbique et 2.51 ± 0.06 pour le BHA. Les extraits organiques : d'acétate d'éthyle et chloroformique ont présenté une faible activité antioxydante.

La figure 67 montre l'effet réducteur des différents extraits organiques à une concentration de 1 mg/mL

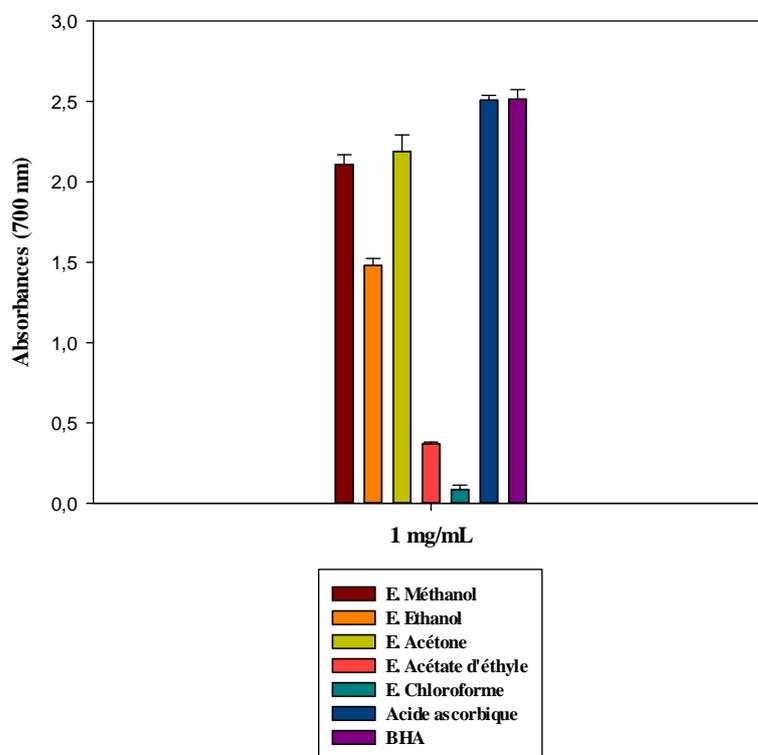


Fig. 67. Pouvoir réducteur des différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testé par la méthode FRAP à une concentration de 1 mg/mL

Nous pouvons voir clairement sur la figure 67 l'important pouvoir réducteur des extraits organiques : méthanolique, éthanolique et acétonique par rapport au pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et du BHA.

Nous pouvons aussi exprimer le pouvoir réducteur des extraits organiques et des contrôles positifs par la valeur par laquelle un extrait atteint la valeur 0.5 de l'absorbance. Cette valeur peut être appelée la CE_{50} (concentration efficace). Le tableau 16 rapporte les valeurs de la CE_{50} des différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*.

Tableau 16. Pouvoir réducteur des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* exprimé en CE₅₀

Extraits organiques	CE ₅₀ (µg/mL)
Méthanol	230.50 ± 1.09
Ethanol	327.43 ± 0.41
Acétone	201.50 ± 0.11
Acétate d'éthyle	nd
Chloroforme	nd
<i>Acide ascorbique</i>	120.20 ± 1.08
<i>BHA</i>	112.80 ± 1.33

Selon les valeurs des CE₅₀ calculées, nous remarquons que l'extrait acétonique a présenté le pouvoir réducteur le plus important de l'ordre de 201.5 ± 0.11 µg/mL mais inférieur à ceux des antioxydants de références utilisés.

2.4. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

La figure 68 rapporte le pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* comparé à celui des contrôles positifs utilisés (acide ascorbique, BHA et quercétine) vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH[•].

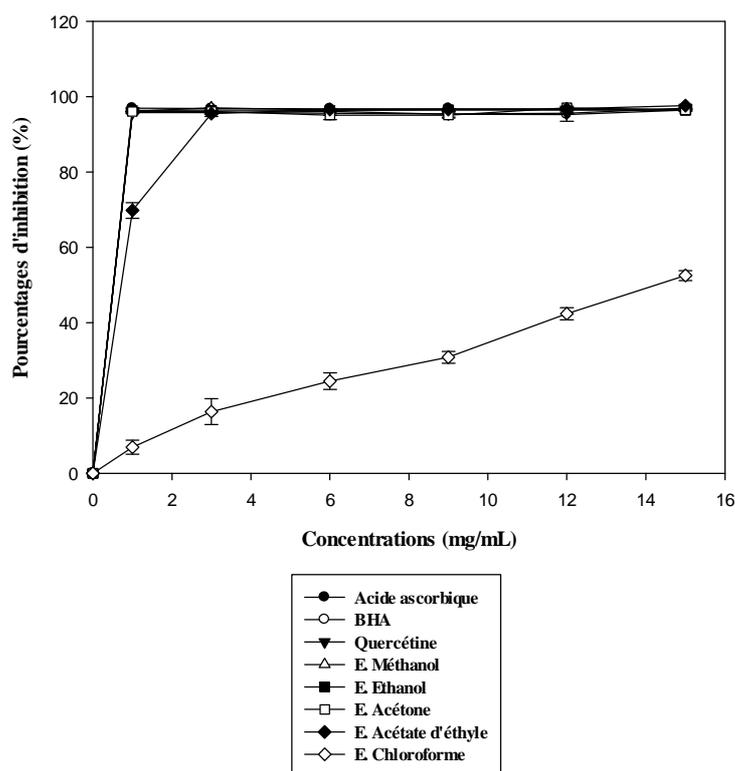


Fig. 68. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH^{*}

D'après la figure 68, nous avons remarqué que les différents extraits organiques ont montré une activité antioxydante très importante vis-à-vis du piégeage du radical DPPH^{*}, sauf pour l'extrait chloroformique qui a exercé un pouvoir antioxydant faible. Nous avons remarqué aussi que pour les extraits organiques (méthanolique, éthanolique, acétonique et d'acétate d'éthyle), des pourcentages d'inhibition importants ont été atteints avec présence d'une phase stationnaire (saturation). Les pourcentages d'inhibition trouvés étaient de l'ordre de 96.45 ± 0.11 % pour l'extrait méthanolique, 96.36 ± 0.19 % pour l'extrait éthanolique, 96.47 ± 0.32 % pour l'extrait acétonique et 97.65 ± 0.32 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle, à une concentration de 15 mg/mL.

Quant aux contrôles positifs utilisés, nous avons remarqué un fort pouvoir antioxydant traduit par des pourcentages d'inhibition élevés et ce même à de très faibles concentrations.

Le tableau 17 rapporte les valeurs des CI₅₀ pour chaque extrait organique de la partie feuille de *L. feei*.

Tableau 17. Activité antioxydante des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH[•] exprimée par la valeur CI₅₀ (concentration finale)

Extraits organiques	CI ₅₀ (µg/mL)
Méthanol	3.2 ± 0.32
Ethanol	3.2 ± 0.65
Acétone	7 ± 0.98
Acétate d'éthyle	12.4 ± 1.34
Chloroforme	269.6 ± 10.34
<i>Acide ascorbique</i>	2.48 ± 0.09
<i>BHA</i>	2.61 ± 0.13
<i>Quercétine</i>	2.59 ± 0.15

Du tableau 17, nous remarquons le fort pouvoir antioxydant des extraits organiques par rapport aux contrôles positifs utilisés. Des valeurs très comparables à celles des antioxydants de références utilisés. Nous citons, les extraits méthanolique et éthanolique ont exprimé la même valeur de la CI₅₀ de l'ordre de 3.2 µg/mL et qui est très proche à celle de l'acide ascorbique (2.48 ± 0.09 µg/mL), à celle du BHA (2.61 ± 0.13 µg/mL) et à celle de la quercétine (2.59 ± 0.15 µg/mL). Alors que pour l'extrait chloroformique, nous remarquons le très faible pouvoir antioxydant exprimé par une valeur de la CI₅₀ égale à 269.6 ± 10.34 µg/mL.

2.5. Activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène (*H₂O₂ scavenging activity*)

Le tableau 18 rapporte les résultats d'une cinétique de piégeage du H₂O₂ exercé par les extraits méthanoliques de *L. feei* et par le BHA.

Tableau 18. Pourcentages de piégeage du H₂O₂ par les extraits bruts méthanoliques testés

Echantillons	Temps (min)				
	0	10	20	30	40
BHA	90,65	75,86	61,98	53,27	45,63
<i>L. feei</i> Feuille	43,87	42,75	39,81	30,99	22,08
<i>L. feei</i> Tige	32,88	19,97	12,70	09,92	09,60

À la concentration utilisée (0.1 µg/mL), nous remarquons que le BHA exerce un effet puissant de l'ordre de 90.65 %. En ce qui concerne les extraits testés, l'extrait méthanolique de la partie feuille de *L. feei* a exercé un pourcentage de piégeage du H₂O₂ de l'ordre de 43.87 % à t₀ pour arriver à 22.08 % en fin de cinétique, qui est assez proche à celui du BHA. Quant à l'extrait méthanolique de la partie tige, un modeste effet piégeur du H₂O₂ a été observé.

Les résultats obtenus du piégeage du peroxyde d'hydrogène par les différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* sont rapportés dans la figure 69.

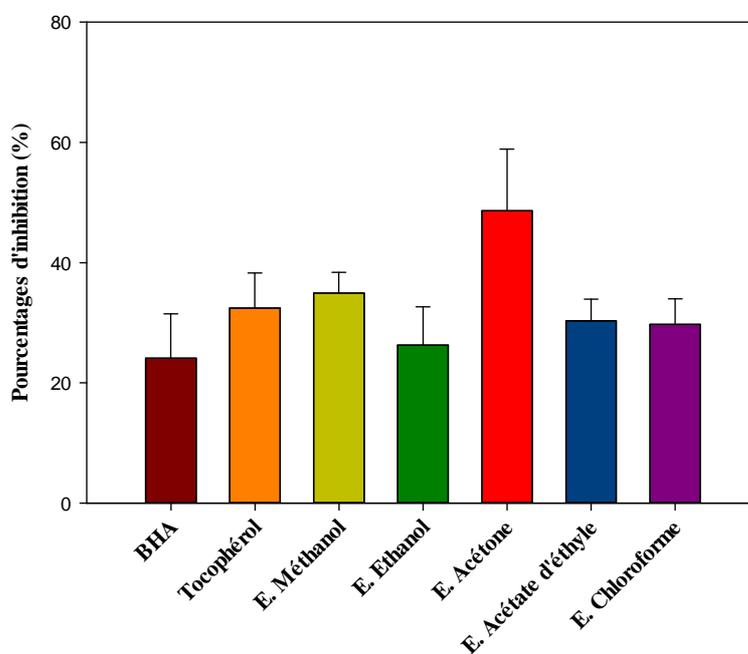


Fig. 69. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testé par la méthode du piégeage du peroxyde d'hydrogène

A partir des résultats obtenus, nous remarquons que l'ensemble des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* ont présenté un pouvoir piègeur du peroxyde d'hydrogène, comparable à celui des contrôles positifs utilisés, voire même plus important, et ce dans le cas de l'extrait acétonique qui a présenté un effet piègeur du peroxyde d'hydrogène nettement plus grand que le BHA et le tocophérol (48.62 ± 10.24 % pour l'extrait acétonique, 24.12 ± 7.32 % pour le BHA et 32.44 ± 3.48 % pour le tocophérol). Ainsi, l'extrait méthanolique a exprimé un pouvoir antioxydant comparable à celui du BHA mais inférieur au pouvoir réducteur du tocophérol. Nous avons remarqué aussi que les extraits : d'acétate d'éthyle et chloroformique ont exercé un pouvoir antioxydant similaire, comme le montre la figure 69.

2.6. Activité du piégeage du radical hydroxyle (OH^\bullet scavenging activity)

Le pouvoir piègeur du radical hydroxyle des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* est rapporté dans la figure 70.

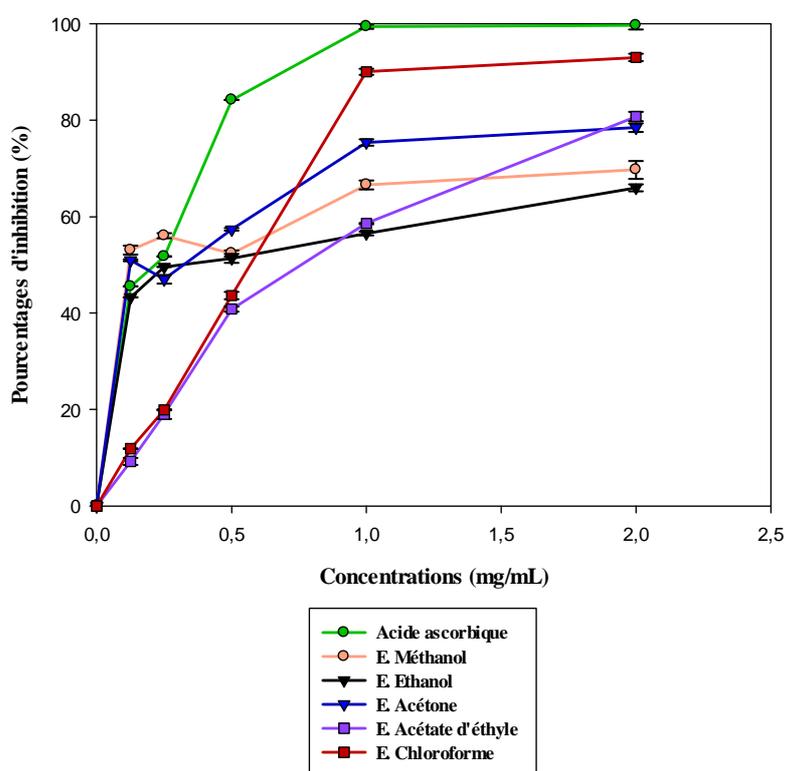


Fig. 70. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que l'acide ascorbique a présenté un pouvoir piègeur du radical hydroxyle le plus important et à différentes concentrations utilisées. La phase stationnaire a été atteinte dès la concentration de 1 mg/mL. Quant aux extraits organiques, nous avons remarqué qu'ils ont présenté un pouvoir piègeur du radical hydroxyle traduit par les différents pourcentages d'inhibition trouvés. Ces derniers étaient de l'ordre de 69.72 ± 1.85 % pour l'extrait méthanolique, 65.98 ± 0.75 % pour l'extrait éthanolique, 78.48 ± 0.90 % pour l'extrait acétonique, 80.77 ± 0.95 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle et 93.01 ± 0.77 % pour l'extrait chloroformique, ce dernier étant l'extrait qui a exercé la plus importante activité antioxydante.

La figure 71 rapporte l'activité antioxydante par le piégeage du radical hydroxyle des différents extraits organiques comparée à celle de l'acide ascorbique à une concentration de 0.5 mg/mL.

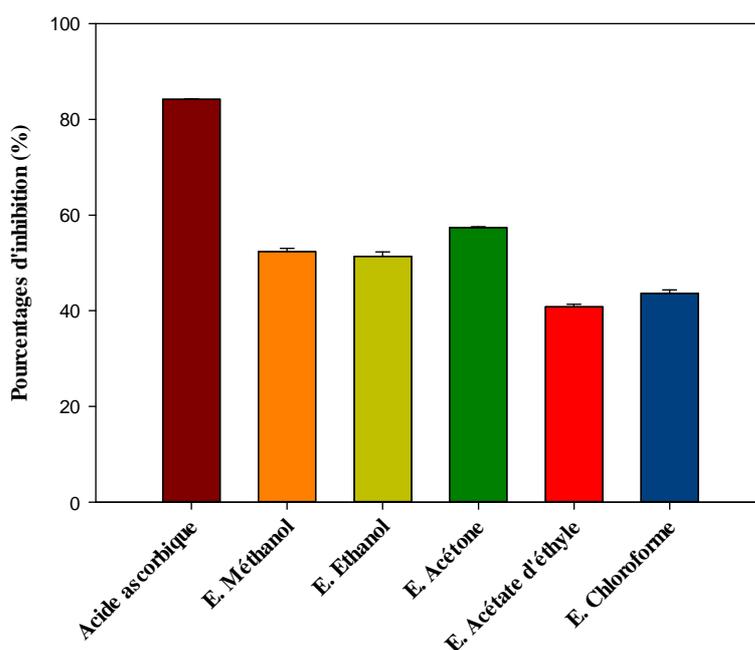


Fig. 71. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testé par la méthode du piégeage du radical hydroxyle à une concentration de 0.5 mg/mL

A une concentration de 0.5 mg/mL, nous avons remarqué que tous les extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* ont présenté une activité antioxydante moyenne par rapport à l'acide ascorbique (84.22 ± 0.04 %) avec prédominance de l'extrait acétonique (57.37 ± 0.25 %). Nous avons remarqué aussi l'effet antioxydant

similaire des deux extraits organiques ; méthanolique et éthanolique (52.38 ± 0.63 % et 51.37 ± 0.93 %, respectivement).

Le tableau 19 rapporte les valeurs des CI_{50} des différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*.

Tableau 19. Activité antioxydante des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* vis-à-vis du piégeage du radical hydroxyle exprimée par la valeur CI_{50} (concentration finale)

Extraits organiques	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Méthanol	36.33 ± 1.65
Ethanol	87.33 ± 0.54
Acétone	56.00 ± 0.99
Acétate d'éthyle	214.33 ± 4.07
Chloroforme	185.33 ± 3.76
Acide ascorbique	61.83 ± 1.98

D'après les valeurs des CI_{50} calculées des différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique a exercé un pouvoir antioxydant assez important avec une valeur de l'ordre de 36.33 ± 1.64 $\mu\text{g/mL}$, et qui est plus important que celui de l'acide ascorbique, qui est de l'ordre de 61.83 ± 1.98 $\mu\text{g/mL}$. La même remarque à faire pour l'extrait acétonique, qui a exercé une assez forte activité antioxydante avec une valeur de la CI_{50} de l'ordre de 56 ± 0.99 $\mu\text{g/mL}$, qui est, elle aussi, supérieure à celle de l'acide ascorbique. La faible activité antioxydante qui a été observée est celle de l'extrait d'acétate d'éthyle avec une CI_{50} de l'ordre de 214.33 ± 4.07 $\mu\text{g/mL}$.

2.7. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β -carotène (β -carotene bleaching method)

La figure 72 rapporte le pouvoir antioxydant testé par la méthode de la décoloration du β -carotène des différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*.

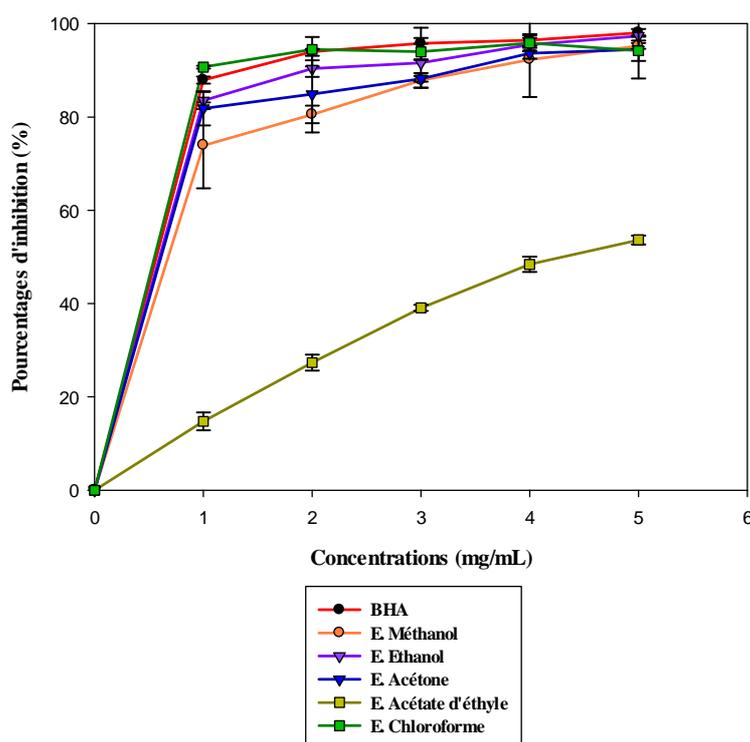


Fig. 72. Pouvoir antioxydant des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* testé par la méthode de la décoloration du β -carotène

Comme le montre la figure 72, nous remarquons que les extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* ont présenté des réponses différentes vis-à-vis de l'inhibition de la décoloration du β -carotène. La plus importante activité antioxydante a été exercée par les extraits : méthanolique, éthanolique, acétonique et chloroformique avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 95.24 ± 0.63 %, 97.39 ± 0.11 %, 94.48 ± 6.23 % et 94.22 ± 2.21 %, respectivement. L'extrait d'acétate d'éthyle étant l'extrait qui a présenté le moins de pouvoir antioxydant avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 53.66 ± 0.94 %.

La figure 73 rapporte la cinétique de décoloration du β -carotène par l'extrait méthanolique de *L. feei* des parties feuilles et tiges à une concentration de 2.5 mg/mL.

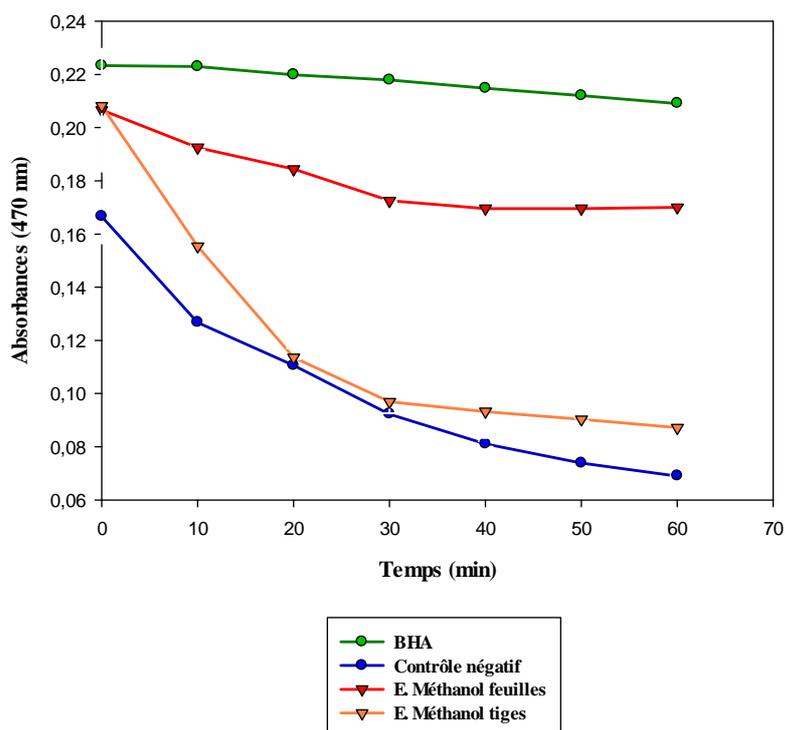


Fig. 73. Cinétique de la décoloration du β -carotène induite par les extraits méthanoliques des parties feuille et tige de *L. feei*

Nous remarquons sur la figure 73, la faible activité de l'extrait méthanolique de la partie tige à inhiber la décoloration du β -carotène, qui produit une cinétique comparable à celle du contrôle négatif. En revanche, l'extrait méthanolique de la partie feuille présente une activité assez intéressante mais inférieure à celle du BHA. Nous remarquons, également, une certaine stabilité de l'activité de cet extrait pendant 40 min, ce qui signifie, probablement, un pouvoir relativement important vis-à-vis de l'inhibition de la décoloration du β -carotène.

Le tableau 20 rapporte les valeurs des CI_{50} calculées pour les extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* et du BHA.

Tableau 20. Activité antioxydante des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* vis-à-vis du test de la décoloration du β -carotène exprimée par la valeur CI_{50} (concentration finale)

Extraits organiques	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Méthanol	8.23 ± 0.15
Ethanol	11.88 ± 0.43
Acétone	5.85 ± 0.21
Acétate d'éthyle	162.31 ± 2.01
Chloroforme	9.88 ± 0.71
<i>BHA</i>	4.26 ± 0.98

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que l'extrait acétonique a exercé un important effet inhibiteur de la décoloration du β -carotène, de l'ordre de $5.85 \pm 0.21 \mu\text{g/mL}$, assez voisin à celui du BHA qui est de l'ordre de $4.26 \pm 0.98 \mu\text{g/mL}$.

Les extraits : méthanolique et chloroformique ont exercé presque la même activité antioxydante avec des CI_{50} de l'ordre de $8.23 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$ et de $9.88 \pm 0.71 \mu\text{g/mL}$, respectivement. Alors qu'elle était moins importante dans le cas de l'extrait éthanolique avec une valeur de l'ordre de $11.88 \pm 0.43 \mu\text{g/mL}$. Le BHA étant un contrôle positif, a exercé un pouvoir antioxydant important traduit par une valeur de la CI_{50} qui est la plus importante, de l'ordre de $4.26 \pm 0.98 \mu\text{g/mL}$.

3. Pouvoir antimicrobien des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*

Le tableau 21 rapporte le pouvoir antimicrobien des différents extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* exprimé en zones d'inhibition.

Tableau 21. Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*

Souches Microbiennes	Zones d'inhibition (mm)				
	Extrait méthanolique	Extrait éthanolique	Extrait acétonique	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait chloroformique
<i>P. aeruginosa</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>E. coli</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>K. pneumoniae</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>S. typhimurium</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>E. cloaceae</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>S. aureus</i>	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>E. faecalis</i>	11.0 ± 1.00	10.0 ± 0.00	10.0 ± 1.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>B. cereus</i>	07.0 ± 0.00	09.0 ± 0.00	09.0 ± 1.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>C. albicans</i> ^a	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00
<i>C. albicans</i> ^b	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00	06.0 ± 0.00

^a *Candida albicans* 444 IP ; ^b *Candida albicans* ATCC 10231

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que seulement les souches *E. faecalis* et *B. cereus* ont été légèrement sensibles à l'action des extraits polaires de la partie feuille de *L. feei*. Les autres souches ont été résistante à l'ensemble des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*.

4. Pouvoir hémolytique des extraits organiques de la partie feuille de L. feei

Le pouvoir hémolytique a été évalué en utilisant les globules rouges humains comme modèle universel et le triton-X100 comme contrôle positif.

Les résultats obtenus sont exprimés en terme de pourcentages d'hémolyse ; fuite d'hémoglobine intracellulaire, en fonction de temps.

La figure 74 rapporte les résultats trouvés pour les deux extraits : méthanolique et d'acétate d'éthyle de la partie feuille de *L. feei*.

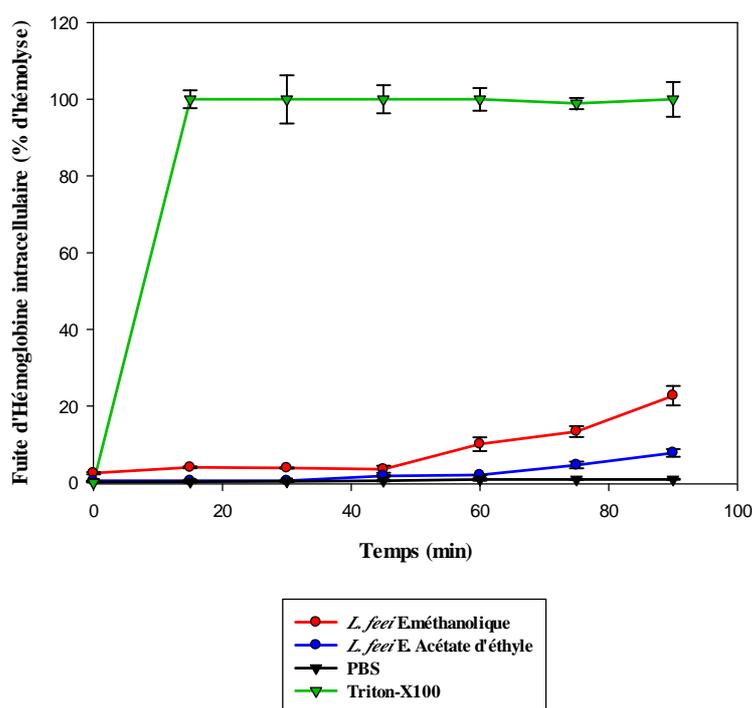


Fig. 74. Pouvoir hémolytique des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* et celui du triton-X100

Comme le montre la figure 74, le triton-X100 a exercé un effet hémolytique important et ce au cours de toute la cinétique, le pourcentage d'hémolyse était de l'ordre de 100 %, alors que la solution tampon phosphate (PBS) n'a entraîné aucune fuite d'hémoglobine intracellulaire des globules rouges.

Quant à l'effet des deux extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*, nous avons remarqué un pouvoir hémolytique faible de l'ordre de 10.05 ± 1.77 % pour l'extrait méthanolique, alors qu'il est plus faible dans le cas de l'extrait d'acétate d'éthyle, de l'ordre de 1.97 ± 0.04 %, ceci après une cinétique de 60 min.

La figure 75 rapporte l'effet hémolytique des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* à différentes concentrations, à 60 min.

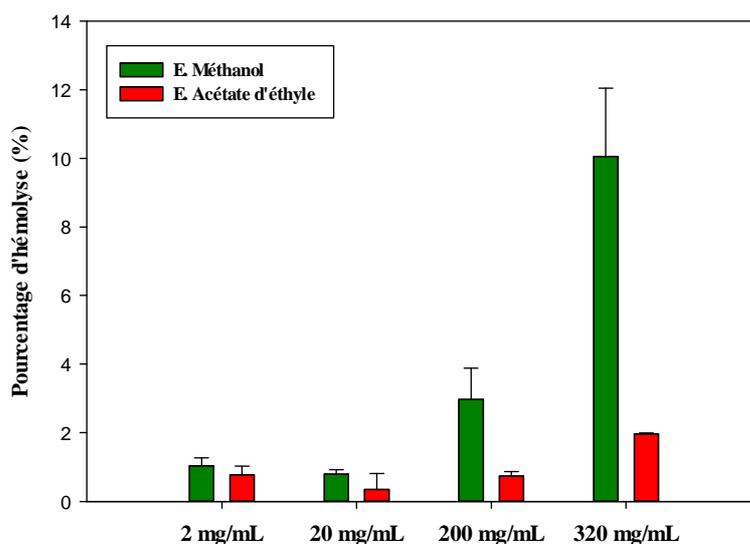


Fig. 75. Activité hémolytique des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* à différentes concentrations, à 60 min

Nous avons remarqué qu'à différentes concentrations, l'extrait d'acétate d'éthyle n'a pas induit une importante fuite d'hémoglobine intracellulaire, une faible activité hémolytique a été observée et ce même à une concentration de 200 mg/mL.

Quant à l'extrait méthanolique, nous avons observé une activité hémolytique qui augmente avec l'augmentation de la concentration, à 320 mg/mL, elle est de l'ordre de 10 %, alors qu'à des concentrations basses (2 et 20 mg/mL), l'activité hémolytique était nettement moins importante (1.04 ± 0.23 % et 0.79 ± 0.13 % d'hémolyse, respectivement).

5. Discussion

Ce travail constitue une contribution à la valorisation de la flore endémique locale par le biais de l'étude phytochimique et l'évaluation des activités biologiques des substances extraites de ces plantes.

De ce fait, nous nous sommes intéressés à étudier les activités biologiques des extraits organiques d'une des plantes endémiques du Sahara Algérien : *L. feei*, en évaluant son pouvoir antioxydant par différents tests ainsi que son activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) et la cytotoxicité de quelques extraits sur les globules rouges humains testée *in vitro*.

Les résultats obtenus pour les rendements d'extraction des différents solvants organiques de la partie feuille de *L. feei* sont en accord avec ceux rapportés par Chaabi *et al.* (2008), qui ont rapportés un rendement de l'ordre de 25.50 % pour l'extrait éthanolique et 4.2 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle. Une autre étude faite par Boulenouar *et al.* (2012), révèle un rendement d'extraction par l'acétate d'éthyle de l'ordre de 1.30 %, cette valeur est très proche à celle que nous avons trouvée dans notre étude.

Dans la littérature, seulement quelques articles rapportent les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de *L. feei* ou du genre *Limoniastrum*. L'étude faite par Chaabi *et al.* (2008), rapporte une teneur de l'ordre de 36 mg GAE/g dans l'extrait d'acétate d'éthyle de la partie feuille de *L. feei*. Une autre étude faite par Debouba *et al.* (2013), rapporte des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de deux espèces de *Limoniastrum* ; *L. guyonianum*, avec des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'ordre de : 217.82 ± 14.38 mg GAE/g et 50.20 ± 5.23 mg QC/g, respectivement, et *L. monopetalum*, avec des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'ordre de : 225.22 ± 8.10 mg GAE/g et 42.26 ± 5.70 mg QC/g, respectivement. En faisant une comparaison entre ces résultats et ceux que nous avons trouvés (teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique : $262.11 \pm 2,86$ mg GAE/g et 157.87 ± 19.10 mg CEQ/g, respectivement), nous observons que l'extrait méthanolique renferme des teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes et ce pour toutes les études faites sur le genre *Limoniastrum*.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* a été effectuée par sept méthodes conventionnelles, afin de tester ces extraits par rapport aux différents mécanismes réactionnels qu'impliquent ces tests antioxydants.

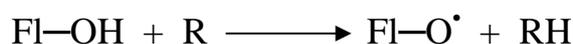
Il est à préciser que dans la littérature, très peu d'études ont rapporté l'activité antioxydante de cette plante. Néanmoins, l'étude faite par Chaabi *et al.* (2008) a rapporté un pouvoir antioxydant considérable de cette plante testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH[•]. Ce pouvoir a été attribué à la présence dans cette espèce de certains polyphénols et flavonoïdes tels que l'acide gallique, la quercétine, la myricétine et l'épigallocatechine gallate (Chaabi *et al.*, 2008). La présence de tels composés dans un extrait de plante lui confère un pouvoir antioxydant important (Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Harborne et Williams, 2000 ; Marin *et al.*, 2002 ; Montoro *et al.*, 2006 ; Othman *et al.*, 2007 ; Shan *et al.*, 2007).

Dans notre étude, nous avons constaté une activité antioxydante remarquable des extraits : méthanolique, éthanolique et acétonique et ce dans toutes les méthodes utilisées. Preuves à l'appui, pour le test du piégeage du radical libre DPPH[•], des valeurs très importantes de la CI₅₀ ont été enregistrées pour les extraits ; méthanolique et éthanolique (3.2 µg/mL) ainsi que pour l'extrait acétonique (7 µg/mL). L'allure des courbes obtenues, montre le pouvoir antioxydant intéressant des extraits organiques de cette plante. Pour le test du piégeage du radical hydroxyle, les mêmes extraits ont donné des CI₅₀ importantes, voire même plus importantes que l'antioxydant de référence, et ce pour l'extrait méthanolique, avec une valeur de l'ordre de 36.33 ± 1.65 µg/mL, et pour l'extrait acétonique avec une valeur de l'ordre de 56 ± 0.99 µg/mL. Ces valeurs sont plus importantes que celle de l'acide ascorbique (61.83 ± 1.98 µg/mL). La même remarque s'applique aux résultats trouvés pour le test de l'inhibition de la décoloration du β-carotène, la CI₅₀ trouvée pour l'extrait acétonique était proche à celle du BHA (5.85 ± 0.21 µg/mL et 4.26 ± 0.98 µg/mL, respectivement). Dans le même test, les extraits : méthanolique et chloroformique ont exercé une intéressante activité antioxydante. Les résultats obtenus pour le test du piégeage du peroxyde d'hydrogène ont montré que l'ensemble des extraits organiques de *L. feei* ont exercé un effet antioxydant comparable à celui des antioxydants de référence sauf pour l'extrait acétonique qui a révélé une remarquable activité antioxydante dans cette méthode. Pour les tests généralistes de l'évaluation de

l'activité antioxydante, TAC et FRAP, nous avons remarqué une bonne activité antioxydante des extraits organiques : méthanolique, éthanolique et acétonique, avec une légère prédominance de l'extrait acétonique.

Cette intéressante activité antioxydante que renferme cette plante via ces extraits polaires peut être expliquée par la nature des constituants que renferment ces extraits organiques. La polarité de ces solvants leur confère un pouvoir extractant important vis-à-vis des molécules polaires actives, telles que certains composés phénoliques. L'extrait acétonique de *L. feei* a exercé un effet antioxydant assez remarquable par rapport aux autres extraits. Ce type d'extrait (à l'acétone) est le plus souvent employé pour l'extraction de molécules actives (Belboukhari et Cheriti, 2007 ; Yeşilyurt *et al.*, 2008). Néanmoins, l'extrait méthanolique a présenté une intéressante activité antioxydante.

D'une manière générale, l'interaction des composés phénoliques et flavonoïdiques avec de nombreux radicaux a été employée dans plusieurs études afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. À cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, le peroxyde et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène, rapporté par Fabri *et al.* (2009) :



Où R représente le radical libre. Le radical flavonoxy (Fl-O[•]) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (fig. 76).

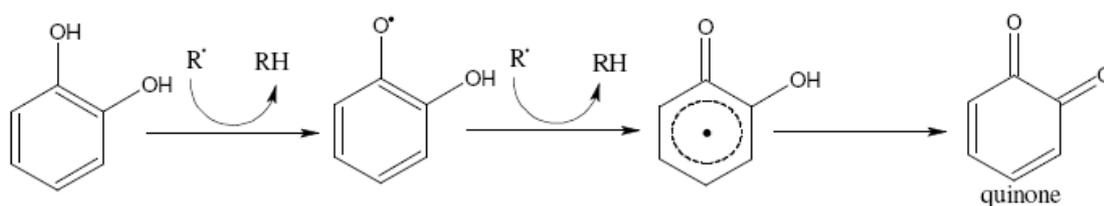


Fig. 76. Piégeage des ERO par les flavonoïdes

En outre, le radical flavonoxy peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d'un effet pro-oxydant indésirable des flavonoïdes. Il est noté que la capacité des flavonoïdes d'agir comme antioxydants dépend non seulement du potentiel redox du couple Fl-O[•]/Fl-OH, mais aussi de la réactivité du radical flavonoxy (Halliwell, 1994). Par ailleurs, la capacité

des flavonoïdes à piéger les radicaux libres dépend essentiellement de leur structure (Sharififar *et al.*, 2009).

Il existe quelques flavonoïdes qui réagissent rapidement avec le radical DPPH[•] cela peut être expliqué par la présence des groupes hydroxyles dans la structure de ces molécules, en particulier les substitutions 3—OH (Sharififar *et al.*, 2009). Le même auteur suggère que la présence de la double liaison C-2—C-3 est responsable de la délocalisation des électrons, favorisant ainsi le pouvoir antioxydant des flavonoïdes.

Par contre, les extraits : d'acétate d'éthyle et chloroformique, ont révélé une activité antioxydante faible. Ceci peut être expliqué par l'absence des substances actives dans ces extraits puisque ces solvants sont apolaires et sont presque dépourvus de substances qui peuvent libérer des hydrogènes ou des électrons comme est le cas pour les substances polaires extraits par les solvants polaires.

Nous avons aussi investigué le pouvoir antimicrobien des extraits organiques de la partie feuille de *L. feei*. Les résultats que nous avons obtenus ont montré une très faible voire même absence d'une activité antimicrobienne des différents extraits organiques testés vis-à-vis de l'ensemble des souches testées, exception faite par les deux souches : *E. faecalis* et *B. cereus* qui ont été légèrement sensibles à l'action des extraits polaires : méthanolique, éthanolique et acétonique de la partie feuille de *L. feei*, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 7 à 11 mm.

En revanche, l'étude faite par Belboukhari et Cheriti (2005) a rapporté un effet antibactérien et antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles de *L. feei*, avec des diamètres de zones d'inhibition assez importants. Les auteurs n'ont pas fourni les valeurs des CMI. Cette différence de résultats peut être expliquée par différents facteurs, parmi eux, la période et le lieu de récolte de la plante, peuvent influencer les résultats des tests de l'activité antimicrobienne.

L'administration d'un extrait de plante doté d'une activité biologique déterminée doit être faite avec précaution. Les extraits de plantes médicinales sont en réalité des mélanges de composés différents avec des concentrations variées et qui peuvent induire une cytotoxicité. L'évaluation de leur activité hémolytique est un bon indicateur de leur cytotoxicité (Sharma et Sharma, 2001 ; Lee *et al.*, 2002 ; Arbos *et al.*, 2008 ; Riaz *et al.*, 2012). Un agent cytotoxique ou un extrait de plante doté

d'activité cytotoxique peut causer l'hémolyse des globules rouges par différents mécanismes non spécifiques.

L'intéressante activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *L. feei* nous a poussé à évaluer son pouvoir hémolytique. Nous avons constaté que cet extrait a présenté un très faible pouvoir hémolytique et ce même à des concentrations élevées, puisqu'à 2 mg/mL, cet extrait a entraîné 1.04 ± 0.23 % d'hémolyse et à une concentration 10 fois plus supérieure (20 mg/mL), il a entraîné 0.79 ± 0.13 % d'hémolyse, et à une concentration de 200 mg/mL, il a entraîné 2.96 ± 0.92 % d'hémolyse. Ces concentrations sont nettement plus élevées que celles des CI_{50} trouvées par les tests de l'activité antioxydante. Ceci suggère que cette plante ne présente pas une toxicité vis-à-vis des globules rouges humains, ce qui prouve son utilisation, sans risque, par les populations indigènes pour se soigner.

Conclusion

Il ressort de l'étude de cette plante les points suivants :

- Les extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* renferment une intéressante activité antioxydante avec une très faible activité cytotoxique ;
- Ces extraits sont dotés d'un très faible pouvoir antimicrobien.

Quatrième Partie

Conclusion Générale

« Savoir s'étonner à propos est le premier pas fait sur la route de la découverte »

Louis Pasteur

Biologiste, Chimiste, Microbiologiste, Scientifique (1822-1895)

L'Algérie de part ses caractéristiques géographiques (grande surface, climats variés, sols fertiles ...) renferme une richesse floristique importante et diversifiée et dont les plantes à usage médicinale occupent une partie importante d'un point de vue socioculturel et socioéconomique. On estime aujourd'hui que plus de 500 plantes sont connues par les populations indigènes dont plusieurs centaines sont utilisées en médecine traditionnelle et qui se vendent chez les herboristes.

Les plantes endémiques de l'Algérie, et en particulier celles qui sont dites médicinales, constituent une ressource non négligeable en matière de molécules bioactives. Néanmoins, cette ressource reste peu exploitée que se soit au niveau des études scientifiques ou au niveau économique. La région sud de l'Algérie abrite plusieurs espèces endémiques et plusieurs d'entre elles, sont à usage médicinal.

Dans le cadre de la valorisation de la flore locale du sud ouest algérien, nous nous sommes intéressés à l'évaluation des activités biologiques de trois plantes endémiques, à savoir : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. et *Limonis astrum feei* (Girard) Batt.

Nous avons évalué les activités biologiques des extraits organiques de chaque plante ainsi que l'huile essentielle d'*A. leucotrichus*.

Il ressort de notre étude un certains points importants à souligner :

En ce qui concerne la plante *A. leucotrichus* :

- L'analyse de l'huile essentielle par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et par la résonance magnétique nucléaire du carbone 13, nous a permis de caractériser la composition chimique de cette huile. Le périllaldéhyde étant le composé majoritaire avec un pourcentage de 87.04 % suivi par le limonène avec un pourcentage de 8.2 %, l'huile étant identifiée à 97.18% ;

- Une importante activité antimicrobienne de l'huile essentielle a été trouvée ;

une CMI de l'ordre de 1 μ L/mL vis-à-vis de trois souches bactériennes : *S. aureus*, *E. cloacae* et *E. coli*, et une CMI de l'ordre de 0.75 μ L/mL vis-à-vis de *B. cereus*. La souche *S. typhimurium*, était la plus sensible, la valeur de la CMI était davantage intéressante, de l'ordre de 0.5 μ L/mL.

Quant aux levures, des valeurs de CMI intéressantes ont été obtenues (0.75 $\mu\text{L/mL}$) pour les deux souches de *Candida albicans*.

Une remarquable activité antifongique a été observée vis-à-vis des champignons filamenteux. Des valeurs de CMI de l'ordre de 0.25 et 0.5 $\mu\text{L/mL}$ pour la croissance du mycélium, 0.5 et 0.75 $\mu\text{L/mL}$ pour la production de spores, ont été obtenues. *F. oxysporum* et *A. flavus* ont été les plus sensibles à l'huile essentielle d'*A. leucotrichus*.

- L'huile essentielle a présenté un très faible pouvoir antioxydant.
- L'étude du pouvoir cytotoxique de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus* vis-à-vis des globules rouges humains, a révélé l'absence de l'effet hémolytique à une dilution de 1/10 (de l'ordre de 0.18 % à 60 min), alors qu'un faible pouvoir cytotoxique a été observé à l'état pur (de l'ordre de 36.04 % à 60 min). Ce qui rend son utilisation, *a priori*, sans risque pour la santé humaine.
- L'étude des extraits organiques a révélé des teneurs assez importantes en polyphénols et en flavonoïdes. Les extraits organiques des solvants polaires ont présenté les teneurs les plus élevées dont les valeurs les plus élevées ont été enregistrées pour l'extrait éthanolique (160.61 ± 6.28 mg GAE/g et 87.79 ± 0.51 mg CEQ/g, respectivement).
- L'étude de l'activité antioxydante par les sept méthodes conventionnelles a révélé un faible pouvoir antioxydant des extraits organiques de cette plante.

En ce qui concerne la plante *A. aretioides* :

- Les extraits organiques des solvants polaires ont présenté les rendements les plus importants, ainsi que pour les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes. L'extrait éthanolique a présenté les teneurs les plus importantes avec des teneurs de l'ordre de 213.85 ± 20.59 mg GAE/g et 132.81 ± 24.58 mg CEQ/g, respectivement.
- L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits organiques par les méthodes : au réactif de Folin-Ciocalteu, au molybdate d'ammonium (TAC) et par la méthode FRAP a révélé un faible pouvoir antioxydant pour l'ensemble des extraits organiques. Alors que pour les méthodes : piégeage du radical libre DPPH, piégeage

du radical hydroxyle et piégeage du peroxyde d'hydrogène, une activité antioxydante moyenne a été décelée.

- Pour le test de l'inhibition de la décoloration du β -carotène, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique a exercé un effet inhibiteur de l'ordre de : $CI_{50} = 22.27 \pm 1.55 \mu\text{g/mL}$, suivi par celui de l'extrait d'acétate d'éthyle avec une CI_{50} de l'ordre de $30.58 \pm 0.91 \mu\text{g/mL}$.

- En ce qui concerne le pouvoir antimicrobien des extraits organiques, nous avons remarqué une très faible voire même une absence d'activité antimicrobienne et ce vis-à-vis de toutes les souches microbiennes testées.

En ce qui concerne la plante *L. feei* :

- Des rendements d'extraction importants ont été enregistrés pour les extraits des solvants polaires et des teneurs importantes en polyphénols et en flavonoïdes ont été trouvées. L'extrait méthanolique étant le solvant d'extraction qui a présenté les valeurs les plus élevées ($21.68 \pm 5.75 \%$).

- L'étude de l'activité antioxydante a révélé une considérable activité antioxydante de cette plante, et ce via les méthodes utilisées. Les extraits : méthanolique et éthanolique ont présenté une importante activité antioxydante ($CI_{50} 3.2 \mu\text{g/mL}$) dans le test du piégeage du radical libre DPPH comparable à celle des antioxydants de référence utilisés. Les extraits : méthanolique et acétonique ont révélé une activité antioxydante importante via le test du piégeage du radical hydroxyle ($CI_{50} 36.33 \pm 1.65 \mu\text{g/mL}$, $56 \pm 0.99 \mu\text{g/mL}$, respectivement), plus importante que celle de l'acide ascorbique ($CI_{50} 61.83 \pm 1.98 \mu\text{g/mL}$).

En outre, les tests : au réactif de Folin-Ciocalteu, au molybdate d'ammonium (TAC), la méthode FRAP et le test de l'inhibition de la décoloration du β -carotène ont démontré une bonne activité antioxydante des extraits polaires.

- En ce qui concerne le pouvoir antimicrobien des extraits organiques, nous avons remarqué une faible activité antimicrobienne vis-à-vis de deux souches bactériennes : *E. faecalis* et *B. cereus*. Le reste des souches microbiennes testées ont été résistantes.

- L'étude de l'activité cytotoxique de l'extrait méthanolique a révélé un faible pouvoir hémolytique de cet extrait, ce qui nous a fait penser à l'innocuité de l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle.

D'après les résultats obtenus de cette étude, nous pouvons dire que la plante *A. leucotrichus* de part son huile essentielle présente un potentiel économique non négligeable que nous devons exploiter. Le marché des huiles essentielles dotées d'activités biologiques, et essentiellement d'activité antimicrobienne, est très porteurs de tels produits. La faible cytotoxicité que présente cette huile est un autre avantage majeur.

Les composés phénoliques de *L. feei* extraits à partir des solvants organiques polaires représentent un potentiel important en matière d'antioxydants naturels. Cette plante fait partie des plantes dotées d'activité antioxydante.

Au-delà des résultats obtenus, d'autres études doivent compléter ce qui a été fait :

- investiguer profondément et rechercher des applications de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus*, seront les principales perspectives ;
- isoler et purifier les substances antioxydantes à partir des extraits organiques polaires de *L. feei*, et étudier l'incorporation de ces substances dans les produits alimentaires ;
- investiguer profondément la plante *A. aretioides* en cherchant d'autres composés avec d'autres activités biologiques ;
- poursuivre la valorisation des plantes locales et essayer de faire en sorte d'exploiter les résultats obtenus en profit de la société.

Références

Bibliographiques

- Abdelrhafour Tantaoui-Elaraki, N.L. (1993). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus broussonettii*, *T. zygis* and *T. satureioides*, *J Essent Oil Res*, 5, 45–53.
- Adams, R.P. (1989). Identification of essential oils by Ion Trap Mass Spectroscopy, Academic Press Inc., San Diego.
- Adlercreutz, H. (2002). Phyto-oestrogens and cancer, *Lancet Oncol*, 3 (6), 73–364.
- AFNOR, (1992). Association Française de Normalisation, « Recueil des normes françaises sur les huiles essentielles », 2^{ème} édition, Paris.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases, *Revue du Rhumatisme*, 74, 636–643.
- Akash Kedia, B.P., (2013). Antifungal and antiaflatoxicogenic properties of *Cuminum cyminum* (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities, *Int J Food Microbiol*, 1–7.
- Alam, N., Bristi, N.J., Ratiqzaman, M. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity, *Saudi Pharm J*, 21, 143–152.
- Amorati, R., Foti, M.C., Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activity of Essential Oils, *J Agric Food Chem*, 61, 835–847.
- Anderson, J.A., Padhye, S.R. (2004). Protein aggregation, radical scavenging capacity, and stability of hydrogen peroxide defense systems in heat-stressed vinca and sweet pea leaves, *Am Journal Soc Hortic Sci*, 129, 54–59.
- Anderson, O.M., Markham, K.R. (2006). Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications, Edited by Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, 32–425.
- Anderson, R.A., Roussel, A.M., Zouari, N., Mahjoub, S., Matheau, J.M., Kerkeni, A. (2001). Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus, *Am Journal Coll Nutr*, 20 (3), 212–218.
- Arbos, K.A., Claro, L.M., Borges, L., Santos, C.A.M., Weffort-Santos, A.M. (2008). Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts, *Nutr Res*, 28 (7), 457–463.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007). Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on *in vitro* protein glycoxidation, *Food Chem Toxicol*, 45, 2402–2411.
- Arnao, M.B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals, *Trends Food Sci Technol*, 11, 419–568.
- Arslana, I., Çelik, A. (2013). Saponin rich fractions (SRPs) from soapwort show antioxidant and hemolytic activity, *APCBEE Procedia*, 7, 103–108.
- Asbahani, A.E., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Aït Addi, E.H., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F.N.R., Elaissari, A. (2015). Essential oils: from extraction to encapsulation, *Int J Pharmaceut*, 483, 220–243.
- Baggio, C.H., Freitas, C.S., Otofujii, G.M., Cipriani, T.R., Souza, L.M., Sasaki, G.L., Iacomini, M., Marques, M.A., Mesia-Vela, S. (2007). Flavonoid-rich fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex. Reiss protects the gastric mucosa of rodents through inhibition of both H⁺,K⁺-ATPase activity and formation of nitric oxide, *J Ethnopharmacol*, 113 (3), 433–440.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review, *Food Chem Toxicol*, 46, 446–475.
- Bandoniene, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D. (2002). Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and online HPLC-DPPH methods, *Eur Food Res Technol*, 214, 143–147.
- Baur, A.K., Dwyer-Nield, L.D., Hankin, J.A., Murphy, R.C., Malkinson, A.M. (2001). The lung tumor promoter, butylated hydroxytoluene (BHT), causes chronic inflammation in promotion-sensitive BALB/cByJ mice but not in promotion-resistant CXB4 mice, *Toxicol*, 169, 1–15.
- Beghalia, M., Ghalem, S., Allali, H., Belouatek, A., Marouf, A. (2008). Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using

- Algerian medicinal plants, *J Med Plants Res*, 2 (3), 66–70.
- Belboukhari, N., Cheriti, A. (2005). Antimicrobial activity of aerial part crude extracts from *Limoniastrum feei* L., *Asian J Plant Sci*, 4 (5), 496–498.
- Belboukhari, N., Cheriti, A. (2007). Flavonoids of *Limoniastrum feei* L., *Res J Phytochem*, 1 (2), 74–78.
- Belboukhari, N., Cheriti, A. (2009). Analysis and isolation of saponins from *Limoniastrum feei* by LC-UV, *Chem Nat Compd*, 45 (5), 756–758.
- Benhammou, N., Atik-Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf, *Adv Food Sci*, 29 (3), 155–161.
- Benhammou, N., Ghambaza, N., Benabdelkader, S., Atik-Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*, *Int Food Res J*, 20 (5), 2057–2063.
- Benhammou, N., Belyagoubi, L., Atik-Bekkara, F. (2014). Phenolic contents and antioxidant activities in vitro of some selected Algerian plants, *J Med Plant Res*, 8 (40), 1198–1207.
- Benhouhou, S. (2005). A guide to medicinal plants in north Africa: database on medicinal plants, 125, IUCN center for Mediterranean cooperation (Málaga, Spain), disponible sur le site : googlebooks.com
- Benouham, M., Mekhefi, H., Legssyer, A., Ziyat, A. (2002). Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco, *Int J Diabets Metabolism*, 10, 33–50.
- Bhatia, L., Bishonoi, H., Chauhan, P., Kinja, K., Shailesh, S. (2011). *In vitro* comparative antioxidant activity of ethanolic extracts of *Glycosmis pentaphylla* and *Bauhinia variegata*, *Recent Res Sci Technol*, 3 (7), 1–3.
- Bighelli, A., Casanova, J. (2009). Analytical methods for cymbopogon oils, in *Essential Oil-Bearing Grasses, The genus Cymbopogon*. Taylor and Francis, London.
- Bohra, P.M., Vaze, A.S., Pangarkar, V.G., Taskar, A. (1994). Adsorptive recovery of water soluble essential oil components, *J Chem Technol Biotechnol*, 60, 97–102.
- Boizot, N., Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, INRA-Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques, *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79–82.
- Boulenouar, N., Marouf, A., Cheriti, A., Belboukhari, N. (2012). Medicinal plants extracts as source of antifungal agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, *J Agr Sci Tech*, 14, 659–669.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Sci Technol*, 28 (1), 25–30.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 2^{ème} édition, Editions médicales internationales, *Tec et Doc*, Paris, 120–245.
- Bruneton, J. (2005). Composés phénoliques, pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition, Editions médicales internationales, *Tec et doc*, Paris, 233–447.
- Cabral, C., Poc, J., Goncalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Salgueiro, L. (2015). *Ridolfia segetum* (L.) Moris (Apiaceae) from Portugal: A source of safe antioxidant and anti-inflammatory essential oil, *Ind Crop Prod*, 65, 56–61.
- Cadet, J., Bellon, S., Berger, M., Bourdat, A.G., Douki, T., Duarte, V., Frelon, S., Gasparutto, D., Muller, E., Ravanat, J.L., Sauvaigo, S. (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases, *Biol Chem*, 383 (6), 93–125.
- Chaabi, M., Beghidja, N., Benayache, S., Lobstein, A. (2008). Activity-Guided isolation of antioxidant principles from *Limoniastrum feei* (Girard) Batt., *Z.Naturforsch*, 63, 801–807.
- Chandran, P.R., Manju, S., Vysakhi, M.V., Shaji, P.K., Achuthan Nair, G. (2013). *In vitro* antioxidant potential of methanolic and aqueous

- extracts of *Ardisia solanacea* Roxb. leaf, *J Pharm Res*, 6, 555–558.
- Changmann-Yoon, S.R.M. (2011). Repellency of lavender oil and linalool against spot clothing wax cicada, *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) and their electrophysiological responses, *J Asia Pac Entomol*, 14, 411–416.
- Chemat, F., Lucchesi, M.E. (2006). Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: a rapid, clean and environmentally friendly approach, *Anal Chim Acta*, 555, 157–160.
- Chen, Q., Gan, Z., Zhao, J., Wang, Y., Zhang, S., Li, J., Ni, Y. (2014). *In vitro* comparison of antioxidant capacity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) oils and their main components, *LWT-Food Sci Technol*, 55, 632–637.
- Chen, W., Viljoen, A.M. (2010). Geraniol : a review of a commercially important fragrance material, *S Afr J Bot*, 76, 643–651.
- Cheriti, A., Talhi, M.F., Belboukhari, N., Taleb, S. (2011). Copper ions biosorption properties of biomass derived from Algerian Sahara plants, expanding issues in desalination, Prof. Robert Y. Ning (Edition) CHINA, InTech, disponible sur le site : <http://www.intechopen.com/books/expandingissues-in-desalination/copper-ions-biosorption-properties-of-biomass-derived-from-algerian-sahara-plants>
- Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M., Khoo, K.S. (2008). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia, *LWT-Food Sci Technol*, 41, 1067–1072.
- Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, F., Statti, G.A., Uzunov, D., Tubaro, A., Menichini, F., Loggia, R.D. (2008). *In vivo* anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of Mediterranean dietary plants, *J Ethnopharmacol*, 116, 144–151.
- Corticchiato, M., Casanova, J. (1992). Analyse des mélanges complexes par RMN du Carbone-13 : application aux huiles essentielles, *Anal Mag*, 20, 51-58.
- De Sousa, A.C., Alviano, D.S., Blank, A.F., Alves, P.B., Alviano, C.S., Gattass, C.R. (2004). *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities, *J Pharm Pharmacol*, 56, 677–681.
- Debouba, M., Zouari, S., Zouari, N. (2013). Evaluation of antioxidant status of two *Limoniastrum* species growing wild in Tunisian salty lands, *Antioxidants*, 2, 122–131.
- DGF : Direction Générale des Forêts, Ministère de l’Agriculture. Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar, Chott Melghir (Wilaya d’El Oued, Algérie), Avril (2002).
- Didi, O.M., Hadj-Mahammed, M., Zabeirou, H. (2003). Place of the spontaneous plants samples in the traditional pharmacopoeia of the area of Ouargla (Septentrional east Sahara), *Courrier du Savoir – N°03*, Janvier, 47–51.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgard, J.F., Stocker, P. (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity, *Eur Food Res Technol*, 224, 801–809.
- Eiselt, J., Racek, J., Trefil, L., Opatrny, K.J. (2001). Effects of a vitamin E-modified dialysis membrane and vitamin C infusion on oxidative stress in hemodialysis patients, *Artif Organs*, 25, 06–430.
- El-Khenchoufi, A. (2013). Plantes aromatiques et médicinales: une richesse peu exploitée au Maroc, Disponible sur le site: http://www.aufait.ma/2013/01/31/une-richeesse-peu-exploitee-au-maroc_61693
- Encarta. (2007). Microsoft Encyclopedia Encarta Reference Library.
- Essaidi, I., Brahmi, Z., Snoussi, A., Koubaier, H.B., Casabianca, H., Abe, N., El Omri, A., Chaabouni, M.N., Bouzouita, N. (2013). Phytochemical investigation of Tunisian *Salicornia herbacea* L., antioxidant, antimicrobial and cytochrome P450 (CYPs) inhibitory activities of its methanol extract, *Food Control*, 32, 125–133.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jurgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Rad Biol Med*, 13, 341–356.
- Evergetis, E., Michaelakis, A., Haroutounian, S.A. (2013). Exploitation of Apiaceae family essential oils as potent biopesticides and rich

- source of phellandrenes, *Ind Crop Prod*, 41, 365–370.
- Fabri, R.L., Nogueira, M.S., Braga, F.G., Coimbra, E.S., Scio, E. (2009). *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial and antioxidant effects, *Bioresource Technol*, 100, 428–433.
- Fakchich, J., Elachouri, M. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in oriental Morocco to manage various ailments, *J Ethnopharmacol*, 154 (1), 76–87.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *Actualité en Chimie*, 108–115.
- Ferhat, M.A., Meklati, B.Y., Chemat, F. (2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from citrus fruits: cold pressing: hydrodistillation and microwave dry distillation, *Flavour Fragr J*, 22, 494–504.
- Fernandez, X., Chemat, F. (2012). La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation, Vuibert-Paris, 217–227.
- Fillatre, Y. (2011). Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem, Thèse de doctorat, Université d'Angers, p 267.
- Formáček, V., Kubeczka, K.H. (1982). ¹³C NMR Analysis of Essential Oils in Aromatic Plants: Basic and Applied Aspects. Margaris N, Koedam A., Vokou D., Martinus Nhoff Edition, La Haye, 177–181.
- Fornari, T., Vicente, G., Vázquez, E., García-Risco, M.R., Reglero, G. (2012). Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction, *J Chromatogr A*, 1250, 34–48.
- Gavliakova, S., Biringeroova, Z. (2013). Antitussive effects of nasal thymol challenges in healthy volunteers, *Respir Physiol Neurobiol*, 187, 104–107.
- Gazi, M.R., Kanda, K., Yasuda, M., Kato, F. (2004). Optimisation of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *Sporobolomyces salmonicolor*, *Pak Journal Biol Sci*, 7, 1365–1370.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, *Phytothérapie*, 4, 162–169.
- Gherib, M. (2014). Analyse des huiles essentielles de *Warionia saharae* Benth. & Hook. et de *Pulicaria mauritanica* Coss. de l'ouest Algérien (Nâama) par CPG(Ir), CC, CPG/SM et RMN ¹³C et étude de leur pouvoir antimicrobien. Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen, p 127.
- Girotti-Chanu, C. (2006). Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis*. Thèse de Doctorat, Institut national des sciences appliquées de Lyon, p 127.
- Golmakani, M.T., Rezaei, K., (2008). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Food Chem*, 109, 925–930.
- Grayer, R.J., Chase, M.W., Simmonds, M.S.J. (1999). A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families, *Biochem Syst Ecol*, 27 (4), 369–393.
- Greenwald, P. (2004). Clinical trials in cancer prevention: Current results and perspectives for the future, *J Nutr*, 134 (12), 3507–3512.
- Grotewold, E. (2006). The Science of Flavonoids, The Ohio State University Columbus, Ohio, USA, Springer Science Business Media, Inc, 187–192.
- Guignard, J.L., Dupont, F. (2007). Botanique: Systématique moléculaire. 14^{ème} édition. Masson.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, *Mol Aspects Med*, 27, 01–93.
- Hadi, M. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, Thèse de doctorat, Université Strasbourg I, p155.

- 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*, p 260.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutr Rev*, 52, 253–265.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, *Method Enzymol*, 186, 01–85.
- Hammiche, V., Maiza, K. (2006). Traditional medicine in central Sahara : Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer, *J Ethnopharmacol*, 105, 358–367.
- Harborne, J.B. (1998). Phytochemical methods : a guide to moderne technique of plant analysis, Chapman and Hall, London.
- Harborne, J.B., Williams, C. (2000). Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry*, 55, 481–504.
- Hazmap. (2010). Hazardous Chemicals and Occupational Diseases. U.S. National Library of Medicine, Occupational exposure to hazardous agents, by Brown. Jay A. Disponible sur le site : <http://hazmap.nlm.nih.gov>.
- Heldt, H.W. (2005). Phenylpropanoids comprise a multitude of secondary metabolites, *Plant Biochemistry*, 3rd edition, Elsevier Academic Press, California, 448–450.
- Henderson, L.M., Chappell, J.B., Jones, O.T.G. (1989). Superoxide generation is inhibited by phospholipase A, *Biochem J*, 02, 249–255.
- Herrero, M., Cifuentes, A., Ibañez, E. (2006). Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review, *Food Chem*, 98, 136–148.
- Huang, D.J., Ou, B.X., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays, *J Agric Food Chem*, 53 (6), 1841–1856.
- Hubert, J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse de doctorat Institut national polytechnique de Toulouse, p 174.
- Huet, O., Duranteau, J. (2008). Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species, *Réanimation*, 17, 387–392.
- Hunt, G.M., Baker, E.A. (1980). Phenolic constituents of tomato fruit cuticles, *Phytochemistry*, 19, 1415–1419.
- Huo, M., Cui, X., Xue, J., Chi, G., Gao, R., Deng, X., Guan, S., Wei, J., Soromou, L.W., Feng, H., Wang, D. (2013). Anti-inflammatory effects of linalool in RAW 264.7 macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model, *J Surg Res*, 180, 47–54.
- Hwang, C.S., Kwak, H.S., Limb, H.J., Lee, S.H., Kanga, Y.S., Choec, T.B., Hurd, H.G., Han, K.O. (2006). Isoflavone metabolites and there *in vitro* dual functions: They can act as an estrogenic agonist or antagonist depending on the estrogen concentration, *J Steroid Biochem*, 101, 246–253.
- Ibrahim, B., Sowemimo, A., Rooyen, A.V., Venter, M.V. (2012). Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of *Cyathula prostrata* (Linn.) Blume (Amaranthaceae), *J Ethnopharmacol*, 141, 282–289.
- INCHEM. (2002). Chemical Safety Information From intergovernmental Organization. *2,6-di-tert-butyl-p-cresol* (BHT) Screening information data set : initial assessment report (Paris : PNUE), <http://www.inchem.org>.
- Iwashima, M., Mori, J., Ting, X., Matsunaga, T., Hayashi, K., Shinoda, D., Saito, H., Sankawa, U., Hayashi, T. (2005). Antioxidant and antiviral activities of plastoquinones from the brown alga *Sargassum micracanthum*, and a new chromene derivative converted from the plastoquinones, *Biol Pharm Bull*, 28, 374–377.
- Jaafari, A., Mouse, H.A., Rakib, E.M., M'barek, L.A., Tilaoui, M., Benbakhta, C., Boulli, A., Abbad, A., Ziad, A. (2007). Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of Moroccan thyme, *Rev Bras Farmacogn*, 17, 477–491.
- Jannie, P.J., Bettina-Deavours, M., Dixon, R.A., Ferreira, D. (2006). The Stereochemistry of flavonoids, *The Science of Flavonoids*, Edited

- by Erich Grotewold. The Ohio State University Columbus, Ohio, Springer Science Business Media, 01–46.
- Johnson, D.R., Gu, L.C. (1988). Autoxidation and antioxidants, John Wiley, New York, 433–448.
- Johnson, F., Giulivi, C. (2005). Superoxide dismutases and their impact upon human health, *Mol Aspects Med*, 26, 340–52.
- Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El Hilaly, J., Eddouks, M. (2001). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-Boulemane), *J Ethnopharmacol*, 77, 175–182.
- Joulain, D., Knig, W. A. (1998). The Atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons. E.B-Verlag, Hamburg.
- Kabbaj, F.Z., Meddah, B., Cherrah, Y., Faouzi, M.E. (2012). Ethnopharmacological profile of traditional plants used in Morocco by cancer patients as herbal therapeutics, *Phytopharmacol*, 2 (2), 243–256.
- Karadag, A., Ozcelik, B., Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities, *Food Anal Methods*, 2, 41–60.
- Khaldi, A., Meddah, B., Moussaoui, A. (2014). Antifungal activity of the essential oil from *Ammodaucus leucotrichus* Coss & Dur on fungal species development, poster presentation in fourth international conference on food studies, Monash university Prato Centre, Italy, 20-21 Octobre 2014, Disponible sur le site : http://o14.cgpublisher.com/proposals/215/index_html
- Khanbabaee, K., Van Ree, T. (2001). Tannins: Classification and definition, *Nat Prod Rep*, 18, 641–649.
- Kim, J., Marshall, R., Wei, C. (1995). Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens, *J Agric Food Chem*, 43, 2839–2845.
- Kobayashi, A., Okamoto, H., Okada, F. (2008). Antiseptic disinfectant, and cosmetics and toiletries, medicine or food containing the same, disponible sur le site : *google patents*.
- Koehler-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases, *Nutr Clin Metab*, 20, 165–177.
- Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., De Groot, A., Evstatieva, L.N. (2001). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochem Anal*, 13, 08–17.
- Kooststra, M. (1994). Protection from UV-B-induced DNA damage by flavonoids, *Plant Mol Biol*, 26, 771–774.
- Laguerre, M., López-Giraldo, L.J., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante, *Fondamental*, 14 (5), 278–292.
- Larocca, L.M., Piantelli, M., Leone, G., Sica, S., Teofili, L., Benedetti-Panici, P., Scambia, G., Mancuso, S., Capelli, A., Renelliti, P.O. (1990). Type II oestrogen binding sites in acute lymphoid and myeloid leukaemias : growth inhibitory effect of oestrogen and flavonoids, *Brit J Haematol*, 75, 489–495.
- Lee, J.Y., Cho, P.Y., Kim, T.Y., Kang, S.Y., Song, K.Y., Hong, S.J. (2002). Hemolytic activity and developmental expression of pore-forming peptide, clonarin, *Biochem Biophys Res Commun*, 296, 1238–1244.
- Lhuillier, A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *agauria polyphylla* Baker (*ericaceae*), *tambourissa trichophylla* baker (*monimiaceae*) et *embelia concinna* baker (*myrsinaceae*), Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, p 200.
- Li, H.B., Wong, C.C., Cheng, K.W., Chen, F. (2008). Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants, *LWT-Food Sci Technol*, 41, 385–390.
- Lin, C.T., Chen, C.J., Lin, T.Y., Tung, J.C., Wang, S.Y. (2008). Anti-inflammation activity of fruit essential oil from *Cinnamomum insularimontanum* Hayata, *Bioresource Technol*, 99, 8783–8787.
- Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with

- conventional hydro-distillation, *J Chromatogr A*, 1043, 323–327.
- MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G., Garg, M.L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review, *J Sci Food Agric*, 86 (13), 20–46.
- Magalhaes, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J. (2008). Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties, *Anal Chim Acta*, 613, 01–19.
- Mak, S., Egri, Z., Tanna, G., Colman, R., Newton, G.E. (2002). Vitamin C prevents hyperoxia-mediated vasoconstriction and impairment of endothelium-dependant vasodilatation, *Am J Phys*, 282, 21–414.
- Marin, F.R., Frutos, M.J., Perez-Alvarez, J.A., Martinez-Sanchez, F., Del Rio, J.A. (2002). Flavonoids as nutraceuticals: structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation, *Studies in Natural Products Chemistry, Elsevier Science*, 26, 741–778.
- Markham, K.R. (1982). Paper chromatography and the recognition of flavonoids, flavonoid structure information from p.c. data, *Technique of flavonoid identification, Biological Techniques Series*, 135–189.
- Masango, P. (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation, *J Clean Prod*, 13, 833–839.
- Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., Shinohara, A., Nakata, M. (1999). Evaluation of the antioxidant of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants, *J Agric Food Chem*, 47, 1749–1754.
- Matejic, J.S., Dzamic, A.M., Mihajilov-Krstev, T.M., Randelovic, V.N., Mileski, K.S., Marin, P.D. (2014). Total phenolic and flavonoid contents and biological activities of *Cachrys cristata* DC. extracts, *Arch Biol Sci Belgrade*, 66 (3), 1117–1123.
- Matvienko, M., Torres, M.J., Yoder, J.I. (2001). Transcriptional responses in the hemiparasitic plant *Triphysaria versicolor* to host plant signals, *Plant Physiol*, 127, 272–282.
- Mbarek, L.A., Mouse, H.A., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., Benharref, A., Chait, A., Kamal, M., Dalal, A., Ziad, A. (2007). Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. Anti-tumor effect of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts, *Braz J Med Biol Res*, 40, 839–847.
- McCord, J.M., Edeas, M.A. (2005). SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision, *Biomed Pharmacother*, 59, 42–139.
- McGeady, P., Wansley, D.L. (2002). Perillaldehyde research studies Carvone and perillaldehyde interfere with the serum-induced formation of filamentous structures in *Candida albicans* at substantially lower concentrations than those causing significant inhibition of growth, *J Nat Prod*, Department of Chemistry, Clark Atlanta University, Atlanta, Georgia, USA.
- McLafferty, F.W., Stauffer, D.B. (1994). Wiley registry of mass data, 6th edition, Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.1 Od. Palasade Co., Newfield.
- Merzouki, A.U., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J. (2000). Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine. II: Folk medicine in Ksar Lakbir district NW Morocco, *Fitoterapia*, 71, 278–307.
- Meyer-Warnod, B. (1984). Natural essential oils: extraction processes and application to some major oils, *Perfum Flavorist*, 9, 93–104.
- Miguel, M.G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review, *Molecules*, 15, 9252–9287.
- Miyashita, M., Sadzuka, Y. (2013). Effect of linalool as a component of *Humulus lupulus* on doxorubicin-induced antitumor activity, *Food Chem Toxicol*, 53, 174–179.
- Montagnier, L., Olivier, R., Pasquier, C. (1998). Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases, *Marcel Dekker, New York*, 356–396.
- Montoro, P., Tuberoso, C.I.G., Piacente, S., Perrone, A., De Feo, V., Cabras, P., Pizza, C. (2006). Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur, *J Pharm Biomed*, 41, 1614–1620.

- Muckensturm, B., Diyani, F., Le Nouen, D., Fekih-Tetouani, S., Reduron, J.P. (1997). Ammolactone, a guaianolide from a medicinal plant, *Ammodaucus leucotrichus*, *Phytochemistry*, 44 (5), 907–910.
- National Institute of Standards and Technology. (1999). PC Version 1.7 of The NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library. The Perkin Elmer Corporation.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria, *Pharmaceuticals*, 6 (12), 1451–1474.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1997). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. 6th edition. Approved Standard M2-A6, Wayne, PA.
- Neve, J., Vermongen, F., Carpentier, Y.A. (1989). Valeurs usuelles du sélénium et de la glutathion peroxydase dans une population belge, *Ann Biol Clin*, 47, 43–138.
- Olufunke, D.M., Oladosu, I.A., Adeleke, O., Ali, M.S. (2009). Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oil of the aerial part of *Mezoneuron benthamianum* Baill. (Caesalpinoideae), *Eur J App Sci*, 1 (3), 30–33.
- Othman, A., Ismail, A., Ghani, N.A., Adenan, I. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans, *Food Chem*, 100, 1523–1530.
- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oil on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, *Food Control*, 18, 414–420.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Jpn J Nutr*, 103, 413–419.
- Ozenda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara, 3^{ème} édition, CNRS, Paris.
- Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., Akev, A. (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts, *Food Chem*, 110, 571–583.
- Ozsoy, N., Yilmaz, T., Kurt, O., Can, A., Yanardag, R. (2009). *In vitro* antioxidant activity of *Amaranthus lividus* L., *Food Chem*, 116, 867–872.
- Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M.E., Topçu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant, *Food Chem*, 103, 623–630.
- Ozusaglam, M.A., Erzenin, M., Darilmaz, D.O., Erkul, S.K., Teksen, M., Karakoca, K. (2011). The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of various extracts of endemic *Salsola stenoptera* Wagenitz (Chenopodiaceae), *Abstracts/Current Opinion in Biotechnology*, S22, S150–S152.
- Park, S.N., Lim, Y.K., Freire, M.O., Cho, E., Jin, D., Kook, J.K. (2012). Antimicrobial effect of linalool and terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria, *Anaerobe*, 18, 369–372.
- Pavlov, A., Kovatcheva, P., Georgiev, V., Koleva, I., Ilieva, M. (2002). Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures, *Natur Forsch*, 57, 640–644.
- Peterson, G., Barnes, G. (1993). Genistein and Biochanin: a inhibit the growth of human prostate cancer cells but not epidermal growth, *Prostate*, 22, 335–345.
- Phatak, R.S., Hendre, A.S. (2014). Total antioxidant capacity (TAC) of fresh leaves of *Kalanchoe pinnata*, *J Pharmacogn Phytochem*, 2 (5), 32–35.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002). Physiological action of antioxidant defences, *Nutr Clin Metab*, 16, 233–239.
- Pirbalouti, A.G., Setayesh, M., Siahpoosh, A., Mashayekhi, H. (2013). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoids contents of three herbs used as condiments and additives in pickles products, *Herba Polonica*, 59 (3), 51–62.
- Politeo, O., Juki, M., Milo, M. (2006). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants, *Croat Chem Acta*, 79 (4), 545–552.

- Pourmortazavi, S.M., Hajimirsadeghi, S.S. (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis, *J Chromatogr A*, 1163, 2–24.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M.M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E, *Anal Biochem*, 269, 337–341.
- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *J Agric Food Chem*, 53 (8), 3101–3113.
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I et II. Edition CNRS, Paris.
- Rached, W., Benamar, H., Bennaceur, M., Marouf, A. (2010). Screening of the antioxidant potential of some algerian indigenous plants, *J Biol Sci*, 10 (4), 316–324.
- Rezzi, S., Bighelli, A., Castola, V., Casanova, J. (2002). Direct identification and quantitative determination of acidic and neutral diterpenes using ¹³C NMR spectroscopy: application to the analysis of oleoresin of *Pinus nigra*, *Appl Spectro*, 56, 312–317.
- Riaz, M., Rasool, N., Bukhari, I.H., Shahid, M., Zubair, M., Rizwan, K., Rashid, U. (2012). *In vitro* antimicrobial, antioxidant, cytotoxicity and GC–MS analysis of *Mazus goodenifolius*, *Molecules*, 17, 14275–14287.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Bio Chem*, 20, 933–956.
- Riella, K.R., Marinho, R.R., Santos, J.S., Pereira-Filho, R.N., Cardoso, J.C., Albuquerque-Junior, R.L.C., Thomazzi, S.M. (2012). Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents, *J Ethnopharmacol*, 143, 656–663.
- Roginsky, V., Lissi, E.A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chem*, 92 (2), 235–254.
- Romanik, G., Gilgenast, E., Przyjazny, A., Kaminski, M. (2007). Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis, *J Biochem Biophys Methods*, 70, 253–261.
- Ruch, R.J., Cheng, S.J., Klaunig, J.E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea, *Carcinogenesis*, 10 (6), 1003–1008.
- Sadaka, F., Nguimjeu, C., Brachais, C.H., Vroman, I., Tighzert, L., Couvercelle, J.P. (2013). Withdrawn: review on antimicrobial packaging containing essential oils and their active biomolecules, *Innov Food Sci Emerg Technol*, 20, 350.
- Saeed, N., Khan, M.R., Shabbir, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L., *BMC Complem Altern Med*, 12, 221.
- Sahraoui, N., Vian, M.A., Bornard, I., Boutekedjiret, C., Chemat, F. (2008). Improved microwave steam distillation apparatus for isolation of essential oils: comparison with conventional steam distillation, *J Chromatogr A*, 1210, 229–233.
- Saleh, M.A., Clark, S., Woodard, B., Deolu-Sobogun, S.A. (2010). Antioxidant and free radical scavenging activities of essential oils, *Ethn Dis*, 20 (S1), 78–82.
- Sarkar, F.H., Li, Y.W. (2003). Soy isoflavones and cancer prevention, *Cancer Investigation*, 21 (5), 744–757.
- Scambia, G., Renelliti, P.O., Benedetti-Panici, P., Piantelli, M., Bonanno, L.M., DeVincenzo, R., Ferrandina, G., Rumi, C., Larocca, L.M., Mancuso, S. (1990). Potentiates the effect of adriamycin in a multidrug-resistant MCF-7 human breast-cancer cell line, *Brit J Cancer*, 62, 942.
- Seiller, M., Martini, M.C. (1999). Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles, *Editions Tec et Doc*, Editions médicales internationales, p 563.

- Shakeri, A., Hazeri, N., Vlizadaeh, J., Ghasemi, A., Tavallael, F.Z. (2012). Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. extracts, *Kragujevac J Sci*, 34, 71–78.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts, *Int J Food Microbiol*, 117, 112–119.
- Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., Mirtajaldini, M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L., *Food Chem*, 112, 885–888.
- Sharma, P., Sharma, J.D. (2001). *In vitro* hemolysis of human erythrocytes by plant extracts with antiplasmodial activity, *J Ethnopharmacol*, 74, 239–243.
- Shirley-Winkel, B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology, *Plant Physiol*, 126, 485–493.
- Sifi, I., Benaddou, F.Z., Yousfi, M. (2015). Antioxidant and antimicrobial activities of phenolic extracts of endemic plants *Marrubium deserti* and *Ammodaucus leucotrichus* from Algeria, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 3 (1).
- Silva, J., Abebe, W., Sousa, S.M., Duarte, V.G., Machado, M.I., Matos, F.J. (2003). Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus, *J Ethnopharmacol*, 89, 277–283.
- Singh, H.P., Kaur, S., Negi, K., Kumari, S., Saini, V., Batish, D.R., Kohli, R.K. (2012). Assessment of *in vitro* antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents, *LWT-Food Sci Technol*, 48, 237–241.
- Singh, P., Shukla, R., Prakash, B., Kumar, A., Singh, S., Mishra, P.K., Dubey, N.K. (2010). Chemical profile, antifungal, antiaflatoxicogenic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene, *Food Chem Toxicol Int J*, 48, 1734–1740.
- Singh, R.P., Agarwal, R. (2005). Prostate cancer and inositol hexaphosphate: efficacy and mechanisms, *Anticancer Res*, 25 (4), 2891–2903.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods Enzymol*, 299, 152–178.
- Sonboli, A., Eftekhari, F., Yousefzadi, M., Kanani, M.R. (2005). Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Grammosciadium platycarpum* Boiss. from Iran, *Z Naturforsch*, 60, 30–34.
- Sparg, S.G., Light, M.E., Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins, *J Ethnopharmacol*, 94, 219–243.
- Stashenko, E.E., Jaramillo, B.E., Martínez, J.R. (2004). Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity, *J Chromatogr A*, 1025, 93–103.
- Styles, E.D., Ceska, O. (1989). Pericarp flavonoids in genetic strains of *Zea mays*, *Maydica*, 34, 227–237.
- Swain, S.D., Rohn, T.T., Quinn, M.T. (2002). Neutrophil priming in host defense: role of oxidants as priming agents, *Antioxid Redox Signal*, 04, 69–83.
- Takagi, S., Goto, H., Shimada, Y., Nakagomi, K., Sadakane, Y., Hatanaka, Y., Terasawa, K. (2005). Vasodilative effect of perillaldehyde on isolated rat aorta, *Phytomedicine*, 12 (5), 333–337.
- Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and phenolic content of selected Jordanian plant species, *Food Chem*, 104, 1372–1378.
- Tian, J., Zeng, X., Lü, A., Zhu, A., Peng, X., Wang, Y. (2015). Perillaldehyde, a potential preservative agent in foods: Assessment of antifungal activity against microbial spoilage of cherry tomatoes, *LWT-Food Sci Technol*, 60, 63–70.
- Tomi, F., Bradesi, P., Bighelli, A., Casanova, J. (1995). Computer-aided identification of

- individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy, *J Magn Reson Anal*, 1, 25–34.
- Tomi, F., Casanova, J. (2006). ^{13}C , NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from Labiatae: a review, *Acta Horticulturae*, 723, 185–192.
- Velasco-Negueruela, A., Pérez-Alonso, M.J., Pérez de Paz, P.L., Palá-Paúl, J., Sanz, J. (2006). Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the volatiles from the fruits of *Ammodaucus leucotrichus* subsp. *leucotrichus* and subsp. *nanocarpus* grown in North Africa and the Canary Islands, respectively, *J Chromatogr A*, 1108, 273–275.
- Vermerris, W., Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds, phenolic compound biochemistry, Published by Springer, Dordrecht, 151–191.
- Vian, M.A., Fernandez, X., Visinoni, F., Chemat, F. (2008). Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils, *J Chromatogr A*, 1190, 14–17.
- Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs, *Ultrason Sonochem*, 8, 303–313.
- Wang, H., Dong-Gao, X., Zhou, G.C., Cai, L., Yao, W.B. (2008). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit, *Food Chem*, 106, 888–895.
- Wattanasatcha, A., Rengpipat, S., Wanichwecharu, S. (2012). Thymol nanospheres as an effective anti-bacterial agent, *Int J Pharm*, 434, 360–365.
- Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing power assay, *Food Chem*, 97, 705–711.
- Wright, J. S., Johnson, E. R., DiLabio, G.A. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants, *J Am Chem Soc*, 123, 1173–1183.
- Ye, H., Shen, S., Xu, J., Lin, S., Yuan, Y., Jones, G.S. (2013). Synergistic interactions of cinnamaldehyde in combination with carvacrol against food-borne bacteria, *Food Control*, 34, 619–623.
- Yen, G.C., Duh, P.D. (1994). Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species, *J Agric Food Chem*, 42, 629–632.
- Yeşilyurt, V., Halfon, B., Öztürk, M., Topçu, G. (2008). Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella*, *Food Chem*, 108, 31–39.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chem*, 64, 555–559.

Valorisation des résultats de recherches

Valorisation des résultats de recherches

Publications Internationales

1. Antimicrobial Activity of *Ammodaucus leucotrichus* Fruit Oil from Algerian Sahara.

Imad Abdelhamid EL-HACI, Chahrazed BEKHECHI, Fewzia ATIK-BEKKARA, Wissame MAZARI, Mohamed GHERIB, Ange BIGHELLI, Joseph CASANOVA and Félix TOMI.
Natural Product Communications, (2014) Vol. 9 (5), 711–712.

2. Phenolics content and antioxidant activity of some organic extracts of endemic medicinal plant *Anabasis aretioides* Coss. & Moq. from Algerian Sahara.

Imad Abdelhamid EL-HACI, Fawzia ATIK BEKKARA, Wissame MAZARI, Mohammed GHERIB.
Pharmacognosy journal, (2013) Vol 5, 108-112.

3. Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien.

Imad Abdelhamid EL-HACI, Fawzia ATIK BEKKARA, Amel DIDI, Mohammed GHERIB, Mohamed Amine DIDI.
Phytothérapie, (2012) Vol 10, 280–285.

Communications

1. II^{ème} Colloque international de biotechnologie « *Biotech Word 2010* », Oran les 26 - 29 Avril 2010

Valorisation des ressources naturelles du sud algérien en matière de sources de substances bioactives.

2. I^{ère} conférence internationale sur la santé par les traitements naturels (*The First Conference on Natural Health*), Mostaganem les 07-09 Décembre 2010

Profil antioxydant et antiradicalaire des composés phénoliques et flavonoïdiques extraits d'une plante médicinale saharienne.

3. I^{ère} journée scientifique des Sciences de l'agronomie, environnement et santé, Tlemcen le 03 Juin 2014

Screening of antioxidant activities of organic extracts from *Anabasis aretioides* Coss. & Moq.

ANNEXES

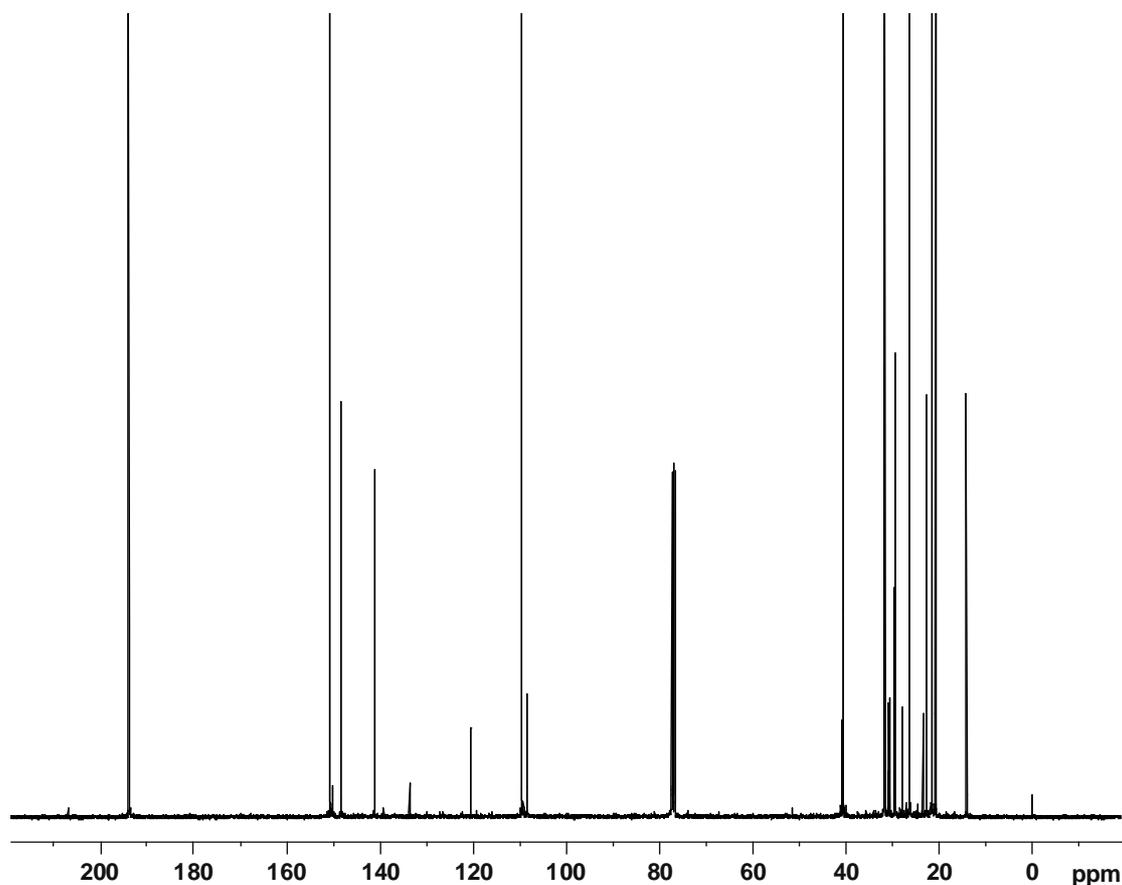


Fig A.1. Spectre RMN ^{13}C de l'huile essentielle de la partie fruit d'*A. leucotrichus*

Tableau A.1. Composition chimique de l'huile essentielle de la partie fruit d'*A. leucotrichus*

Composé chimique	RI lit	RIa	RIp	Ec 1	Ec 2	Ec 3	Mode d'Identification
α -Pinène	936	930	1012	2.00	2.5	0.3	RI, MS, RMN ^{13}C
β -Pinène	978	973	nd	tr	tr	0.1	RI, MS
Myrcène	987	980	1161	0.1	0.1	0.1	RI, MS
δ -3-Carène	1000	1005	1150	0.4	0.4	0.5	RI, MS, RMN ^{13}C
ρ -Cymène	1015	1011	1271	0.1	0.1	0.1	RI, MS
Limonène	1025	1021	1203	7.4	7.5	8.2	RI, MS, RMN ^{13}C
Cuminaldéhyde	1234	1220	1782	0.1	0.1	0.1	RI, MS
Périllaldéhyde	1260	1249	1782	87.9	87.4	87.0	RI, MS, RMN ^{13}C
Alcool périllylique	1280	1279	1211	tr	0.1	tr	RI, MS
Périllate méthyle	1381	1369	1866	0.5	0.5	0.6	RI, MS
γ -Décalactone		1423	nd	0.1	0.1	0.1	RI, MS
Total (%)				98.6	98.8	97.1	

RI lit : Indice de rétention dans la littérature, RIa : Indice de rétention déterminé dans une colonne apolaire, RIp : Indice de rétention déterminé dans une colonne polaire, tr : trace, nd : non déterminé

Tableau A.2. Rendements d'extraction obtenus pour les extraits organiques des trois plantes étudiées

	<i>A. leucotrichus</i>	<i>A. aretioides</i>	<i>L. feei</i>
Extrait MeOH	10.0 ± 0.5	9.4 ± 0.8	21.7 ± 5.7
Extrait EtOH	9.9 ± 0.3	10.5 ± 2.0	20.8 ± 0.3
Extrait Ac	7.2 ± 0.5	13.3 ± 0.6	18.5 ± 0.9
Extrait EtOAc	± 0.8	1.0 ± 0.0	1.2 ± 0.4
Extrait CHCl ₃	5.7 ± 0.9	0.7 ± 0.3	0.4 ± 0.0

Tableau A.3. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits organiques des trois plantes étudiées

		Extrait MeOH	Extrait EtOH	Extrait Ac	Extrait EtOAc	Extrait CHCl ₃
<i>A. leucotrichus</i>	Polyphénols (mg GAE/g)	118.7 ± 8.5	160.6 ± 6.3	152.2 ± 4.4	20.9 ± 3.1	12.5 ± 1.1
	Flavonoïdes (mg CEQ/g)	66.6 ± 0.3	87.8 ± 0.5	97.3 ± 1.3	21.5 ± 0.8	15.9 ± 1.4
<i>A. aretioides</i>	Polyphénols (mg GAE/g)	101.8 ± 2.3	213.8 ± 20.5	183.1 ± 4.3	134.8 ± 13.2	196.6 ± 31.2
	Flavonoïdes (mg CEQ/g)	46.6 ± 0.7	132.8 ± 24.7	74.1 ± 3.5	106.4 ± 4.4	100.0 ± 3.9
<i>L. feei</i>	Polyphénols (mg GAE/g)	262.1 ± 2.8	192.3 ± 23.8	127.0 ± 10.7	244.9 ± 49.7	87.3 ± 1.6
	Flavonoïdes (mg CEQ/g)	157.8 ± 19.1	83.9 ± 4.2	96.5 ± 9.7	129.2 ± 4.5	33.3 ± 0.6

MeOH : extrait méthanolique, EtOH : extrait éthanolique, Ac : extrait acétonique, EtOAc : extrait d'acétate d'éthyle, CHCl₃ : extrait chloroformique, GAE : équivalent acide gallique, CEQ : équivalent catéchine

Tableau A.4. Pourcentages d'hémolyse obtenus pour l'huile essentielle de la partie fruit d'*A. leucotrichus*

Temps (min)	Triton-X100	H ₂ O physiologique	Huile essentielle pure	Huile essentielle diluée (1/10)
0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0
15	97.0 ± 2.3	0.3 ± 0.0	35.5 ± 2.5	0.4 ± 0.0
30	96.0 ± 3.3	0.3 ± 0.1	36.1 ± 1.6	0.7 ± 0.1
45	99.9 ± 0.1	0.5 ± 0.1	36.0 ± 3.1	0.4 ± 0.0
60	99.9 ± 0.0	0.8 ± 0.0	36.0 ± 2.4	0.2 ± 0.0
75	98.9 ± 1.0	0.8 ± 0.1	34.7 ± 2.3	0.4 ± 0.0
90	100.0 ± 0.0	0.8 ± 0.1	33.9 ± 1.1	0.4 ± 0.1

Tableau A.5. Pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage du radical libre DPPH obtenu pour les extraits organiques de la partie fruit d'*A. leucotrichus* (pourcentages d'inhibition)

Concentrations [mg/mL]	Acide ascorbique	BHA	Quercétine	Extrait MeOH	Extrait EtOH	Extrait Ac	Extrait EtOAc	Extrait CHCl ₃
1	96.9 ± 0.1	95.9 ± 0.2	95.7 ± 0.2	12.9 ± 0.8	15.5 ± 0.6	15.7 ± 0.7	13.8 ± 0.8	4.9 ± 0.2
3	96.9 ± 0.0	95.8 ± 0.5	95.8 ± 0.2	26.7 ± 0.9	28.4 ± 0.5	32.4 ± 1.8	23.6 ± 1.0	9.1 ± 2.3
6	96.8 ± 0.0	96.1 ± 0.1	95.6 ± 0.5	43.4 ± 0.6	47.6 ± 1.3	52.2 ± 1.8	23.9 ± 1.0	13.2 ± 1.4
9	96.8 ± 0.1	95.3 ± 0.7	95.4 ± 0.1	55.5 ± 0.4	60.9 ± 0.1	63.6 ± 1.0	40.1 ± 3.0	16.3 ± 0.3
12	96.7 ± 0.0	95.3 ± 1.8	95.4 ± 0.2	67.2 ± 0.6	71.4 ± 2.3	76.2 ± 0.3	44.6 ± 1.7	19.5 ± 2.2
15	96.7 ± 0.0	96.4 ± 0.1	97.0 ± 0.1	76.8 ± 1.1	79.8 ± 0.7	83.8 ± 1.4	51.7 ± 1.3	22.7 ± 1.5

MeOH : extrait méthanolique, EtOH : extrait éthanologique, Ac : extrait acétonique, EtOAc : extrait d'acétate d'éthyle, CHCl₃ : extrait chloroformique, BHA : butylhydroxyanisole

Tableau A.6. Pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage du radical libre DPPH obtenu pour les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* (pourcentages d'inhibition)

Concentrations (mg/mL)	Acide ascorbique	BHA	Quercétine	Extrait MeOH	Extrait EtOH	Extrait Ac	Extrait EtOAc	Extrait CHCl ₃
1	96.9 ± 0.1	95.9 ± 0.2	95.7 ± 0.2	16.2 ± 1.2	27.7 ± 3.0	38.1 ± 0.9	24.2 ± 1.6	25.3 ± 6.9
3	96.9 ± 0.0	95.8 ± 0.5	95.8 ± 0.2	50.7 ± 4.8	58.9 ± 0.8	65.1 ± 0.1	51.9 ± 1.6	50.0 ± 1.3
6	96.8 ± 0.0	96.1 ± 0.1	95.6 ± 0.5	90.3 ± 1.6	90.2 ± 2.1	92.4 ± 0.3	91.9 ± 0.4	72.4 ± 5.4
9	96.8 ± 0.1	95.3 ± 0.7	95.4 ± 0.1	92.3 ± 0.3	93.8 ± 0.4	94.2 ± 0.0	95.1 ± 0.5	89.2 ± 2.1
12	96.7 ± 0.0	95.3 ± 1.8	95.4 ± 0.2	92.0 ± 0.6	95.2 ± 0.0	94.5 ± 0.1	94.4 ± 0.4	92.5 ± 0.6
15	96.7 ± 0.0	96.4 ± 0.1	97.0 ± 0.1	91.6 ± 0.9	94.0 ± 1.5	94.8 ± 0.0	93.7 ± 0.5	95.0 ± 2.3

MeOH : extrait méthanolique, EtOH : extrait éthanologique, Ac : extrait acétonique, EtOAc : extrait d'acétate d'éthyle, CHCl₃ : extrait chloroformique, BHA : butylhydroxyanisole

Tableau A.7. Pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage du radical libre DPPH obtenu pour les extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* (pourcentages d'inhibition)

Concentrations (mg/mL)	Acide ascorbique	BHA	Quercétine	Extrait MeOH	Extrait EtOH	Extrait Ac	Extrait EtOAc	Extrait CHCl ₃
1	96.9 ± 0.1	95.9 ± 0.2	95.7 ± 0.2	96.0 ± 0.0	96.4 ± 0.3	96.0 ± 0.2	69.8 ± 2.0	6.8 ± 1.8
3	96.9 ± 0.0	95.8 ± 0.5	95.8 ± 0.2	97.0 ± 0.0	96.4 ± 0.0	96.0 ± 0.3	95.5 ± 0.8	16.3 ± 3.4
6	96.8 ± 0.0	96.1 ± 0.1	95.6 ± 0.5	96.5 ± 0.1	96.3 ± 0.0	95.1 ± 1.3	96.6 ± 0.0	24.4 ± 2.2
9	96.8 ± 0.1	95.3 ± 0.7	95.4 ± 0.1	96.4 ± 0.2	96.6 ± 0.0	95.1 ± 0.7	96.6 ± 0.1	30.7 ± 1.5
12	96.7 ± 0.0	95.3 ± 1.8	95.4 ± 0.2	96.4 ± 0.2	96.6 ± 0.1	97.0 ± 0.4	96.8 ± 0.3	42.3 ± 1.6
15	96.7 ± 0.0	96.4 ± 0.1	97.0 ± 0.1	96.4 ± 0.1	96.3 ± 0.2	96.5 ± 0.3	97.6 ± 0.3	52.4 ± 1.3

MeOH : extrait méthanolique, EtOH : extrait éthanolique, Ac : extrait acétonique, EtOAc : extrait d'acétate d'éthyle, CHCl₃ : extrait chloroformique, BHA : butylhydroxyanisole

Tableau A.8. Pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage du radical OH obtenu pour les extraits organiques de la partie fruit d'*A. leucotrichus* (pourcentages d'inhibition)

Concentrations (mg/mL)	Acide ascorbique	Extrait MeOH	Extrait EtOH	Extrait Ac	Extrait EtOAc	Extrait CHCl ₃
0.1	45.5 ± 0.0	15.1 ± 0.3	12.9 ± 0.0	17.0 ± 0.1	34.0 ± 1.0	14.6 ± 0.0
0.3	51.7 ± 0.1	36.9 ± 1.0	31.9 ± 0.9	34.6 ± 0.9	42.0 ± 0.8	24.0 ± 0.1
0.5	84.2 ± 0.0	43.8 ± 1.4	39.8 ± 0.8	47.1 ± 0.4	52.0 ± 0.1	48.7 ± 0.5
1	99.4 ± 0.5	49.8 ± 1.3	44.7 ± 0.1	58.0 ± 1.4	59.9 ± 0.9	65.2 ± 1.7
2	99.7 ± 0.8	57.5 ± 2.5	60.6 ± 1.8	61.7 ± 1.8	66.8 ± 1.8	79.7 ± 1.6

MeOH : extrait méthanolique, EtOH : extrait éthanolique, Ac : extrait acétonique, EtOAc : extrait d'acétate d'éthyle, CHCl₃ : extrait chloroformique

Tableau A.9. Pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage du radical OH obtenu pour les extraits organiques de la partie aérienne d'*A. aretioides* (pourcentages d'inhibition)

Concentrations (mg/mL)	Acide ascorbique	Extrait MeOH	Extrait EtOH	Extrait Ac	Extrait EtOAc	Extrait CHCl ₃
0.1	45.5 ± 0.0	18.6 ± 0.0	38.9 ± 2.0	16.5 ± 1.8	40.1 ± 0.8	16.6 ± 1.0
0.3	51.7 ± 0.1	30.9 ± 0.8	48.2 ± 1.5	32.1 ± 0.9	49.6 ± 0.3	26.9 ± 1.8
0.5	84.2 ± 0.0	45.0 ± 0.9	54.9 ± 0.9	42.4 ± 0.9	51.8 ± 0.9	38.5 ± 0.9
1	99.4 ± 0.5	48.4 ± 0.2	61.4 ± 0.8	59.2 ± 0.6	64.8 ± 0.2	49.0 ± 0.1
2	99.7 ± 0.8	56.8 ± 1.9	63.3 ± 0.7	59.9 ± 0.8	64.2 ± 1.8	53.4 ± 0.7

MeOH : extrait méthanolique, EtOH : extrait éthanolique, Ac : extrait acétonique, EtOAc : extrait d'acétate d'éthyle, CHCl₃ : extrait chloroformique

Tableau A.10. Pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage du radical OH obtenu pour les extraits organiques de la partie feuille de *L. feei* (pourcentages d'inhibition)

Concentrations (mg/mL)	Acide ascorbique	Extrait MeOH	Extrait EtOH	Extrait Ac	Extrait EtOAc	Extrait CHCl ₃
0.1	45.5 ± 0.0	53.1 ± 0.9	43.3 ± 0.0	51.0 ± 0.2	9.2 ± 0.7	11.9 ± 0.0
0.3	51.7 ± 0.1	56.0 ± 0.5	49.6 ± 0.0	47.0 ± 0.9	19.0 ± 1.0	19.9 ± 0.0
0.5	84.2 ± 0.0	52.4 ± 0.6	51.4 ± 0.9	57.4 ± 0.3	40.8 ± 0.5	43.6 ± 0.7
1	99.4 ± 0.5	66.6 ± 0.9	56.5 ± 0.4	75.4 ± 0.7	58.6 ± 0.1	90.0 ± 0.6
2	99.7 ± 0.8	69.7 ± 1.8	66.0 ± 0.7	78.5 ± 0.9	80.8 ± 0.9	93.0 ± 0.8

MeOH : extrait méthanolique, EtOH : extrait éthanolique, Ac : extrait acétonique, EtOAc : extrait d'acétate d'éthyle, CHCl₃ : extrait chloroformique

المخلص : تعتبر النباتات المستعملة لأغراض طبية المصدر الرئيسي للتداوي بالنسبة لغالبية سكان العالم. فيهدف تمييز النباتات الطبية في الجزائر، اهتم بحثنا هذا بدراسة الأنشطة البيولوجية لمستخلصات ثلاثة نباتات طبية متوطنة بجنوب غرب الجزائر: نبتة المسوفة *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.، نبتة الدعق *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. و نبتة ملفت الخادم *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

دراسة التركيب الكيميائي للزيت العطري لنبتة *A. leucotrichus* بواسطة التحليل الكروماتوغرافي في المرحلة الغازية مقرونا بمطيافية الكتلة بالإضافة إلى التحليل بالرنين النووي المغناطيسي للكربون 13، سمحت بالكشف عن أحد عشر مركبا كيميائيا بما في ذلك مركب البيريل الدهيد كمركب رئيسي (87.04%) متبوعا بالليمونين (8.2%). أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات فعالية كبيرة لهذه الزيت اتجاه عدة سلالات بكتيرية وهي: *Staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus*، *Salmonella typhimurium*، *Escherichia coli* و *Enterobacter cloacae*، مع قيم CMI (التركيز الأدنى للتثبيط) متراوحا بين 0.5 إلى 1 ميكروغ/مل، كما أبانت عن نشاط جد فعال ضد الفطريات الخيطية: *Aspergillus flavus* و *Fusarium oxysporum*، مع قيم CMI متراوحا بين 0.25 و 0.5 ميكروغ/مل. بالإضافة إلى ذلك، أظهر تقييم السمية الخلوية اتجاه كريات الدم الحمراء البشرية نشاطا ضعيفا للزيت العطري الخام في حين أنه في تركيز أقل من الزيت كان النشاط السمي معموما.

محتوى المستخلصات العضوية لنبتة *A. aretioides*، فيما يخص متعددات الفينول و الفلافونويدات كان متنوعا حيث تراوحت كميات هذه المركبات بين 101.85 و 213.84 مغ معادل حمض الغاليك/غ و بين 46.68 و 132.8 مغ معادل الكاتشين/غ، على الترتيب. نفس المستخلصات أظهرت نشاطا متواضعا مضادا للأكسدة و نشاطا مضادا للميكروبات جد ضعيف. المستخلصات العضوية (مستخلصات الكحول الميثيلي، الكحول الإيثيلي والأسيتون) لنبتة *L. feei* احتوت على مستويات عالية من مركبات متعددات الفينول و الفلافونويدات بكميات تراوحت بين 127.07 و 262.11 مغ معادل حمض الغاليك/غ و بين 84 و 157.88 مغ معادل الكاتشين/غ، على الترتيب.

كشفت دراسة القدرة المضادة للأكسدة لمختلف المستخلصات العضوية لنبتة *L. feei* نشاطا جد معتبر للمستخلصات القطبية حيث أن قيمة CI_{50} (التركيز المثبط 50) لمستخلص الكحول الميثيلي بالنسبة لتثبيط الجذر الحر DPPH قدرت ب 3.2 ميكروغ/مل و هي قيمة تقارب تلك التي وجدناها بالنسبة لحمض الأسكوربيك (2.48 ميكروغ/مل). كما أظهر نفس المستخلص قدرة كبيرة على تثبيط الجذر الهيدروكسيلي بقيمة CI_{50} التي قدرت ب 36.33 ميكروغ/مل، و التي تعتبر أعلى من تلك المسجلة بالنسبة لحمض الأسكوربيك (61.83 ميكروغ/مل).

في حين أن نتائج البحث فيما يخص طريقة تثبيط تلون البيتا كاروتين، أظهرت أن مستخلص الأسيتون يملك قدرة عالية مضادة للأكسدة مماثلة لتلك التي سجلت لمضاد الأكسدة المرجعي المستعمل (BHA) (CI_{50} : 5.85 ميكروغ/مل و 4.26 ميكروغ/مل، على الترتيب).

أظهر تقييم السمية الخلوية اتجاه كريات الدم الحمراء البشرية نشاطا ضعيفا لمستخلص الكحول الميثيلي لنبتة *L. feei*، هذه النتيجة قد تؤيد سلامة استعمال هذه النبتة من طرف السكان المحليين.

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية، *Limoniastrum feei*، *Anabasis aretioides*، *Ammodaucus leucotrichus*، الأنشطة البيولوجية، الزيوت العطرية، متعدد الفينول، الفلافونويدات.

Résumé : Les plantes à usage médicinal sont considérées comme principale source de soins de santé pour la majorité de la population mondiale. Dans le but de valoriser les plantes médicinales de l'Algérie, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités biologiques de différents extraits de trois plantes médicinales endémiques du sud ouest algérien, à savoir : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

L'analyse chimique de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus*, par CPG/SM ainsi que par la RMN ^{13}C , a permis de dévoiler la présence de onze composés dont le périllaldéhyde comme composé majoritaire (87.04 %) suivi par le limonène (8.2 %). L'étude de l'activité antimicrobienne de cette huile a révélé une importante activité antibactérienne vis-à-vis de plusieurs souches : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* avec des valeurs de CMI comprises entre 0.5 à 1 μ L/mL, ainsi qu'une remarquable activité antifongique vis-à-vis des champignons filamenteux ; *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*, avec des valeurs de CMI comprises entre 0.25 à 0.5 μ L/mL. L'évaluation de la cytotoxicité vis-à-vis des globules rouges humains a montré un faible pouvoir hémolytique de l'huile essentielle à l'état pure alors qu'il est nul à faible concentration de celle-ci.

Les différents extraits organiques d'*A. aretioides* ont exprimé des teneurs variées en polyphénols et en flavonoïdes, ces teneurs varient entre 101.85 à 213.84 mg GAE/g et 46.68 à 132.8 mg CEQ/g, respectivement. Ces extraits organiques ont présenté une modeste activité antioxydante et un très faible pouvoir antimicrobien.

Les extraits organiques polaires : méthanolique, éthanolique et acétonique de *L. feei* ont présenté des teneurs considérables en polyphénols et en flavonoïdes. Ces teneurs ont été comprises entre 127.07 à 262.11 mg GAE/g et 84 à 157.88 mg CEQ/g, respectivement.

Une considérable activité antioxydante des extraits organiques polaires de *L. feei* a été révélée. L'extrait méthanolique a exprimé une valeur de la CI_{50} de l'ordre de 3.2 μ g/mL, qui est comparable à celle de l'acide ascorbique (2.48 μ g/mL) dans le test du piégeage du radical libre DPPH. Le même extrait a exprimé un fort pouvoir piégeur du radical hydroxyle avec une valeur de la CI_{50} de l'ordre de 36.33 μ g/mL, qui est supérieure à celle de l'acide ascorbique (61.83 μ g/mL). Dans le test de l'inhibition de la décoloration du β -carotène, l'extrait acétonique a exprimé un remarquable pouvoir antioxydant comparable à l'antioxydant de référence BHA (CI_{50} : 5.85 μ g/mL et 4.26 μ g/mL, respectivement). Un faible pouvoir cytotoxique vis-à-vis des globules rouges humains a été exercé par l'extrait méthanolique de *L. feei*, ce qui rend l'utilisation de cette plante sans risque pour les populations indigènes.

Mots clés : Plantes médicinales, *Ammodaucus leucotrichus*, *Anabasis aretioides*, *Limoniastrum feei*, Activités biologiques, Huile essentielle, Polyphénols, Flavonoïdes.

Abstract: Plants for medicinal purposes are considered as the main source of health care for the majority of the world population. In order to promote medicinal plants in Algeria, we were interested in this work to the study of biological activities of various extracts of three medicinal plants endemic in south-west of Algeria: *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. and *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.

Chemical analysis of the essential oil from *A. leucotrichus* by GC/MS as well as by the NMR of the ^{13}C allowed to reveal the presence of eleven compounds including perillaldehyde as the major compound (87.04%) followed by limonene (8.2%).

The study of the antimicrobial activity of this oil showed significant antibacterial activity against several strains: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* with an MIC values between 0.5 to 1 μ L/mL, and a remarkable antifungal activity against filamentous fungi: *Aspergillus flavus* and *Fusarium oxysporum*, with an MIC values ranging from 0.25 to 0.5 μ L/mL.

The assessment of the cytotoxicity of the essential oil against human red blood cells showed a low hemolytic activity of pure oil while it was negative at low concentration.

Organic extracts of *A. aretioides* expressed varied levels of phenols and flavonoids, these levels were ranged from 101.85 to 213.84 mg GAE/g and 46.68 to 132.8 mg CEQ/g, respectively. These organic extracts showed a modest antioxidant and very low antimicrobial activities.

Polar organic extracts: methanol, ethanol and acetone of *L. feei* presented considerable levels of phenols and flavonoids. These levels were ranged from 127.07 to 262.11 mg GAE/g and 84 to 157.88 mg CEQ/g, respectively.

Considerable antioxidant activity of polar organic extracts of *L. feei* was revealed. In the DPPH scavenging method, methanolic extract expressed an IC_{50} of about 3.2 μ g/mL which is comparable to that of the ascorbic acid (2.48 μ g/mL). The same extract expressed strong power against hydroxyl radical with an IC_{50} of about 36.33 μ g/mL, which is higher than that of the ascorbic acid (61.83 μ g/mL). In the test of the β -carotene bleaching, acetone extract expressed a remarkable antioxidant power comparable to the BHA (positive control) (IC_{50} : 5.85 μ g/mL and 4.26 μ g/mL, respectively). A low cytotoxic activity against human red blood cells was observed by the methanol extract of *L. feei*, this can be explained the safety uses of this plant by indigenous populations.

Keywords: Medicinal plants, *Ammodaucus leucotrichus*, *Anabasis aretioides*, *Limoniastrum feei*, Biological activities, Essential oils, Phenolic compounds, Flavonoids.