

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITÉ CONSTANTINE 1**

N° d'ordre : .....

N° de série : .....



Faculté des Sciences de la Nature  
Département de Biologie-Ecologie

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de docteur en Sciences

OPTION : Phytochimie

Par

**Mr. Chibani Salih**

thème

# Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'est Algerien

Soutenue le :

Devant le jury :

Président : Mr. M. Baka

Prof. Université Constantine 1

Rapporteur : Mme Z. Kabouche

Prof. Université Constantine 1

Examineurs: Mr. L. Arrar

Prof. Université Ferhat-Abbas, Sétif

Mr. R. Merghem

Prof. Université Constantine 1

Mr. A. Yahia

Prof. Centre Universitaire de Mila

Mr. A. Baghiani

Prof. Université Ferhat-Abbas, Sétif

**Année 2012-2013**

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier très sincèrement ma directrice de thèse Prof. Zahia KABOUCHE, Directrice du laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques pour m'avoir accueilli au sein de son équipe et pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail et qui durant ces cinq années m'a initié à la recherche avec exigence et générosité. Je lui suis reconnaissant pour la confiance et le soutien permanent qu'elle m'a témoigné dans ce travail ainsi que pour sa disponibilité et pour la grande autonomie qu'elle m'a accordée.

Je tiens à remercier plus particulièrement Monsieur le Professeur Moubarek BAKA, Chef du département de Biologie-Ecologie qui, malgré ses nombreuses responsabilités et ses occupations, a accepté de juger ce travail en tant que président, ainsi que le professeur Rachid MERGHEM (Université Constantine 1) qui a accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également les professeurs Abderrahmane BAGHIANI, Lekhemissi ARRAR (université Ferhat-Abbas, Setif) et Abdelouheb YAHIA (centre universitaire de Mila) d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail en qualité d'examineurs.

Je tiens à remercier le doyen de la faculté de pharmacie (University of Jordan), le Professeur Talal ABURJAI, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, à Amman pour effectuer une bonne partie de ce travail avec la collaboration du professeur Sawssan ABUHAMADAH. Je les remercie vivement pour leur aide précieuse dans la réalisation des analyses GC et GC-MS.

Je tiens également à adresser tous mes remerciements à Monsieur le Professeur Ahmed KABOUCHE pour son aide et sa gentillesse.

Enfin, j'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué dans la réalisation de ce travail.

# *Dédicaces*

*À la mémoire de mes parents,*

*À la mémoire de ma sœur et de mon frère*

*Wahiba et Fahim.*

*À ma grande famille.*

## Abréviations

<b>AAPH</b>	: dichlorhydrate de 2,2'-azobis-2-méthyl-propanimidamide.
<b>ABTS</b>	: Ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylBenzoThiazoline-6-Sulfonique).
<b>AcOEt</b>	: acétate d'éthyle.
<b>AcOH</b>	: acide acétique.
<b>AFNOR</b>	: Association Française de Normalisation.
<b>A<sub>p</sub></b>	: absorbance de pyrogallol.
<b>ATCC</b>	: American type culture collection.
<b>ATP</b>	: adénosine triphosphate.
<b>A<sub>tx</sub></b>	: absorbance des extraits.
<b>BHT</b>	: Butyl-Hydroxy-Toluène.
<b>CC</b>	: Chromatographie sur Colonne.
<b>CCM</b>	: Chromatographie sur Couche Mince.
<b>CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub></b>	: Acétone deutérés.
<b>CD<sub>3</sub>OD</b>	: Méthanol deutérés.
<b>CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub></b>	: dimethyl sulfoxide deutéré.
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	: Chloroforme deutérés.
<b>CI<sub>50</sub></b>	: Concentration d'Inhibition de 50 % de croissance.
<b>CMB</b>	: Concentration Minimale Bactéricide.
<b>CMI</b>	: Concentration Minimale Inhibitrice.
<b>Co A</b>	: coenzyme A.
<b>CPG</b>	: Chromatographie en Phase Gazeuse.
<b>CUPRAC</b>	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity.
<b>DCM</b>	: dichlorométhane.
<b>DHF</b>	: dihydrofolate.
<b>DHP</b>	: dihydroptéroate.
<b>DMSO</b>	: dimethyl sulfoxide.
<b>DPPH</b>	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
<b>EASR</b>	: l'extrait acétate de <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.
<b>EBSR</b>	: l'extrait butanolique de <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.
<b>EDTA</b>	: l'acide éthylènediaminetétraacétique.
<b>GC</b>	: Gaz Chromatography.
<b>GC/MS</b>	: Gaz Chromatography-Masse Spectrometry.
<b>GPP</b>	: diphosphate de géranyle.
<b>HIV</b>	: Human Immunodeficiency Virus.

<b>LPP</b>	: diphosphate de linalyle.
<b>MEB</b>	: Malt extracts broth.
<b>NaOAc</b>	: Acétate de sodium.
<b>NCCLS</b>	: National Committee for Clinical Laboratory Standard.
<b>nd</b>	: non déterminé.
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé.
<b>ORAC</b>	: Oxygen Radical Absorbance Capacity.
<b>R<sub>f</sub></b>	: facteur de rétention.
<b>RMN</b>	: Résonance Magnétique Nucléaire.
<b>RPE</b>	: Résonance Paramagnétique Electronique.
<b>RSA</b>	: Radical Scavenger Activity.
<b>SH</b>	: souche hospitalière.
<b>THF</b>	: tétrahydrofolate.
<b>TOSC</b>	: Total Oxyradical Scavenging Capacity.
<b>TRAP</b>	: Total Radical Trapping Antioxidant Parameter.
<b>UV</b>	: Ultra-Violet.
<b>VIH</b>	: Virus de l'Immunodéficience Humaine.
<b>VMHD</b>	: Vacuum Microwave Hydro-Distillation.

**Les tableaux :**

N°	Le nom	La page
1	Absorption UV des flavonoïdes dans le méthanol.	7
2	Activités biologiques des plants du genre <i>Santolina</i> .	20
3	les flavones aglycones isolés du genre <i>Santolina</i> .	21
4	les flavonols aglycones isolés du genre <i>Santolina</i> .	23
5	les flavones hétérosidiques isolés du genre <i>Santolina</i> .	24
6	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles des espèces de <i>Santolina</i> récolté en Europe.	33
7	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles des espèces de <i>Santolina</i> distribuées dans les pays Arabes.	34
8	Composants majoritaires ( $\geq 5.0\%$ ) d'huiles essentielles de l'espèce <i>Mentha spicata</i> provenant de différents pays	38
9	Composants majoritaires ( $\geq 5.0\%$ ) d'huiles essentielles de l'espèce <i>Mentha pulegium</i> provenant de différents pays.	39
10	Composants majoritaires ( $\geq 5.0\%$ ) de l'huile essentielle de l'espèce <i>Mentha pulegium</i> provenant de différentes régions de l'est d'Algérie	40
11	Composants majoritaires ( $\geq 5.0 \%$ ) d'huiles essentielles de l'espèce <i>Mentha piperita</i> provenant de différents pays.	41
12	Composants majoritaires ( $\geq 5.0 \%$ ) des huiles essentielles des espèces <i>Mentha aquatica</i> et <i>Mentha retundifolia</i> provenant de différents pays.	42
13	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles d'espèces <i>Artemisia herba-elba</i> distribuées dans les pays Maghrébins.	44
14	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles d'espèces <i>Artemisia herba-elba</i> récoltées de différents pays.	45
15	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles de l'espèce <i>Ferula assa-foetida</i> .	49
16	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i> récolté en Iran.	50
17	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i> récolté en Europe.	52
18	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i> récolté en Asie.	54

19	Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles de genre <i>Senecio</i> .	57
20	Relation entre la couleur du spot et la structure flavone ou flavonol.	72
21	Relation $R_f$ et structure flavonique.	73
22	déplacement et multiplicité des protons du noyau A.	76
23	déplacement chimiques et multiplicité des protons du noyau B.	77
24	Fractionnement sur colonne de gel de silice de l'extrait dichlorométhane.	81
25	Fractionnement sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle.	82
26	Regroupement des fractions similaires.	83
27	Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait butanolique.	84
28	Concentrations utilisées pour le test antioxydant.	104
29	Les différentes dilutions de la solution mère de l'huile essentielle	105
30	Données de la série spectrale UV du produit C1.	111
31	Données RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit C1.	112
32	Données de la série spectrale UV du produit C2.	114
33	Données RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit C2.	115
34	Données de la série spectrale UV du produit C3.	117
35	Données RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du produit C3.	118
36	Données de la série spectrale UV du produit C4.	119
37	Données RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> ) du produit C4.	120
38	Données spectroscopiques UV-visible du produit C5.	123
39	Données RMN <sup>1</sup> H (250 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) du produit C5.	124
40	Données de la série spectrale UV du produit C6.	128
41	Données RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) du composé C6.	130
42	Données spectroscopiques UV-visible du produit C7.	133
43	Données RMN <sup>1</sup> H (250 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) du produit C7.	134
44	Taux de polyphénols existant dans les extraits EASR et EBSR.	137
45	Les taux d'inhibition du DPPH aux différentes concentrations de l'EBSR.	138
46	CI <sub>50</sub> de l'EBSR et des références pour l'inhibition du DPPH.	138
47	Composition de l'huile essentielle de l'espèce <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.	140
48	L'activité antibactérienne (zones d'inhibition) de l'huile essentielle d'espèces	142

	<i>Santolina rosmarinifolia</i> L. et d'antibiotiques vis-à-vis de quelques souches bactériennes.	
49	Concentrations minimales inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle d'espèces <i>Santolina rosmarinifolia</i> L. vis-à-vis les souches bactériennes.	143
50	Composition de l'huile essentielle des parties aériennes sèches de l'espèce <i>Mentha piperita</i>	144
51	Composition de l'huile essentielle des parties aériennes fraîche de l'espèce <i>Mentha piperita</i>	145
52	Activité antibactérienne des parties aériennes sèches de l'huile essentielle de <i>Mentha piperita</i> et d'antibiotiques vis-à-vis de quelques souches bactériennes.	147
53	Concentration minimale d'inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de l'espèce <i>Mentha piperita</i> sèche vis-à-vis les souches bactériennes.	148
54	composants de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> Poiret.	149
55	Composants de l'huile essentielle de <i>Ferula communis</i> L.	151
56	composants de l'huile essentielle de <i>Ferula lutea</i> L.	153
57	Composants de l'huile essentielle de <i>Senecio giganteus</i> .	154

**Les figures :**

N°	Titre	Pages
1	Squelette de base des flavonoïdes.	3
2	Les différentes classes des flavonoïdes.	4
3	Partie benzoyle et partie cinnamoyle d'absorption en UV (bande I et bande II).	5
4	exemples d'autoxydation de flavonoïdes.	7
5	Éléments essentiels pour l'activité antioxydant des flavonoïdes.	8
6	Schéma de biosynthèse des flavonoïdes	10-11
7	Protocole d'extraction des flavonoïdes.	13
8	Les différents types de fleurs des astéracées.	15-16
9	Image de la plante <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.	18
10	Biosynthèse des huiles essentielles	26-27
11	Trois types de trichomes sur calice de <i>L. angustifolia</i> (MEB x500 12kV).	28
12	Détail des 8 cellules sécrétrices d'une glande peltée sur calice de <i>L. lanata</i> (MEB x500 8kV).	28
13	Schéma d'un trichome pelté de lavande	28
14	Schéma des interactions des plantes avec leur environnement via les composés organiques volatils	29
15	Spectromètre ESP300E Brucker.	63
16	Principe de la méthode de diffusion par disque.	71
17	Mode d'action des antibiotiques.	72
18	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne.	72
19	Protocole d'extraction de l'espèce <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.	81
20	Carte flavonique sur polyamide des extraits AcOEt et de n-Butanol de <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.	83
21	Carte géographique montre les sources des échantillons.	89
22	<i>Mentha piperita</i> .	91
23	Type du genre <i>Artemisia</i>	92
24	<i>Artemisia herba-alba</i> .	93

25	Fleurs des Apiaceae	94
26	Fruit akène	94
27	L'espèce <i>Ferula communis</i>	96
28	L'espèce <i>Ferula lutea</i>	97
29	Le genre <i>Senecio</i>	98
30	Description du genre <i>Senecio</i>	99
31	<i>Senecio giganteus</i>	100
32	Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit C1.	115
33	Spectre RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du produit C2.	118
34	Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du produit C3.	120
35	Spectre RMN <sup>1</sup> H étalé (6.5 à 7.1 ppm) du composé C4.	123
36	Spectre RMN <sup>1</sup> H étalé (6.1 à 6.5 ppm) du composé C4.	123
37	Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé C5.	127
38	Spectre RMN <sup>1</sup> H étalé (6 à 8 ppm) du composé C5.	128
39	Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé C6 (500 MHz).	131
40	Spectre RMN <sup>1</sup> H étalé du composé C6 (500 MHz).	132
41	Co-chromatographie avec des échantillons authentiques de sucres, de la phase aqueuse du composé C6.	133
42	Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé C7.	137
43	Effet inhibiteur de l'EBSR sur le DPPH.	142

## Sommaire

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

### REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre 1 : Flavonoïdes du genre *Santolina* L.

I. Généralités sur les flavonoïdes.....	3
I. 1. Définition.....	3
I. 2. Structure chimique.....	3
I. 3. Les différentes classes de flavonoïdes.....	4
I. 4. Propriétés physico-chimiques.....	5
I. 4. a) Solubilité des flavonoïdes.....	5
I. 4. b) Absorption des rayonnements UV.....	5
I. 4. c) Stabilité des flavonoïdes.....	6
I. 5. Effet des flavonoïdes.....	7
I. 6. Biosynthèse des flavonoïdes.....	9
I. 7. Méthodes utilisées pour l'extraction des flavonoïdes .....	13
II. Généralités sur la famille des Asteraceae et sur le genre <i>Santolina</i> L. ....	14
II. 1. La famille des Asteraceae .....	14
II. 1. 1. Introduction.....	14
II. 1. 2. Caractères morphologiques .....	14
II. 1. 3. Types de fleurs des Asteraceae.....	15
II. 1. 3. a) Les liguliflores.....	15
II. 1. 3. b) Les tubuliflores.....	15
II. 1. 3. c) Les radiées .....	15
II. 2. Le genre <i>Santolina</i> .....	16
II. 2. 1. Présentation botanique .....	16
II. 2. 2. Classification dans la systématique.....	17
II. 2. 3. Caractéristiques botaniques et répartition géographique.....	17
II. 2. 4. Intérêts biologiques et pharmacologiques .....	18
II. 2. 5. Métabolites secondaires du genre <i>Santolina</i> .....	20
II. 2. 6. Les flavonoïdes.....	20

## Chapitre 2 : Huiles essentielles des genres *Santolina*, *Mentha*, *Artemisia*, *Ferula* et *Senecio*.

I. Généralité sur les huiles essentielles.....	24
I. 1. Introduction .....	24
I. 2. Biosynthèse des huiles essentielles.....	24
I. 3. Lieux de biosynthèse et d'accumulation.....	27
I. 4. Rôle écologique.....	29
I. 5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....	29
I. 5. Intérêts des huiles essentielles.....	30
I. 6. Méthodes d'extraction et d'analyses des huiles essentielles.....	29
I. 6. a) Hydrodistillation.....	31
I. 6. b) Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	31
I. 6. c) Hydrodiffusion .....	31
I. 6. d) Expression à froid.....	31
I. 6. e) Extraction par CO <sub>2</sub> supercritique .....	31
I. 6. f) Extraction par enfleurage.....	32
I. 6. g) La distillation à vapeur saturée.....	32
I. 6. h) Extraction par micro-ondes.....	32
I. 7. Analyses des huiles essentielles et critères de qualité.....	33
II. 1. Les huiles essentielles du genre <i>Santolina</i> .....	33
II. 2. Les composants majoritaires d'huiles essentielles du genre <i>Santolina</i> .....	34
III. Les huiles essentielles de <i>Mentha</i> .....	38
III. 1. Introduction.....	38
III. 2. Utilisation de <i>Mentha piperita</i> .....	38
III. 3. Les composants majoritaires d'huiles essentielles de l'espèce <i>Mentha piperita</i> .....	38
IV. Les huiles essentielles d' <i>Artemisia</i> .....	45
IV. 1. Introduction.....	45
IV. 2. Les composants majoritaires d'huiles essentielles de l'espèce <i>Artemisia herba alba</i> ...	45
V. Les huiles essentielles de <i>Ferula communis</i> & <i>F.lutea</i> .....	49
V. 1. Introduction.....	49
V. 2. Les composants majoritaires d'huiles essentielles du genre <i>Ferula</i> .....	50
VI. Les huiles essentielles de <i>Senecio giganteus</i> .....	58
VI. 2. Les composants majoritaires d'huiles essentielles du genre <i>Senecio</i> .....	57

### **Chapitre 3 : Activité antioxydante**

Généralité sur les méthodes utilisées dans l'activité antioxydante.....	62
I. 1. Définition.....	62
II. Les méthodes les plus utilisées dans l'étude de l'activité antioxydante.....	62
II. 1. DPPH.....	62
II.1. a) Réaction entre le radical libre DPPH• et l'antioxydant .....	62
II. 1. b) Méthode de la RPE.....	63
II. 1. c) 1. Le «spin-labelling».....	63
II. 1. c) 2. Le «spin-trapping» ou piégeage de spin.....	64
II. 1. d) Evaluation du potentiel anti-radicalaire.....	65
II. 2. Méthode l'ABTS.....	66
II. 3. Méthode TRAP ( <i>Total Radical Trapping Antioxidant Parameter</i> ).....	66
II. 4. Méthode ORAC ( <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> ).....	67
II. 5. Méthode TOSC ( <i>Total Oxyradical Scavenging Capacity</i> ).....	67
II. 6. Méthode CUPRAC.....	68
II. 7. Méthode du métal chélatant.....	68

### **Chapitre 4 : Activité antibactérienne**

Activité antibactérienne.....	69
1. Introduction.....	69
2. Principe.....	69
3. Techniques en milieu liquide.....	70
3. a) Méthode des disques de Sarbach .....	70
3. b) Méthode de Marzuella.....	70
4. Techniques en milieu solide .....	70
Méthode de Vincent .....	71
5. Méthode générale des CMI et CMB par dispersion dans le milieu de culture.....	71
6. Mode d'action contre les bactéries.....	71

## **MATERIEL ET METHODES**

### **Chapitre 1 : Extraction, identification et analyse des flavonoïdes**

I. Méthodes de séparation et d'identification des flavonoïdes.....	73
I. 1. Séparation.....	73
I. 1. a) Chromatographie sur colonne.....	73
I. 1. b) Chromatographie sur couche mince.....	73
I. 1. c) Chromatographie sur papier.....	73
I. 2. Identification.....	74
I. 2. a) Fluorescence sous lumière UV .....	74
I. 2. b) Relation $R_f$ structure.....	75
I. 2. c) Spectrophotométrie UV-visible.....	75
I. 2. c) 1- Absorption dans le méthanol.....	76
I. 2. c) 2- Absorption en présence de réactifs spécifiques.....	76
I. 2. d) Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H.....	77
I. 2. d) 1- Protons aromatiques.....	78
I. 2. d) 2- Protons aliphatiques.....	79
I. 2. e) Spectroscopie RMN <sup>13</sup> C.....	79
II. Matériel végétal.....	79
<i>Santolina rosmarinifolia</i> L.....	80
III. Méthodes d'extraction.....	80
Extraction de l'espèce <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.....	80
III. 2. Séparations chromatographiques.....	82
III. 2. a) Tests préliminaires par CCM.....	82
III. 2. b) Tests préliminaires sur polyamide.....	82
III. 3. Fractionnement de l'extrait dichlorométhane.....	83
III. 4. Fractionnement de l'extrait acétate.....	84
III. 4. a) Etude de la fraction F3.....	85
III. 4. b) Etude de la fraction F5.....	85
III. 4. c) Etude de la fraction F6.....	85
III. 5. Fractionnement de l'extrait butanolique.....	86
III. 5. a) Etude de la fraction F3.....	86
III. 5. b) Etude de la fraction F5.....	86
IV. Méthodes d'analyse.....	87
IV. 1. Analyse spectrophotomètre UV-Visible .....	87
IV. 2. Analyse spectrale en RMN .....	87
IV. 4. Hydrolyse acide.....	87

IV. 4. a) Récupération des composés flavoniques.....	87
IV. 5. Analyse des sucres éventuels par CCM.....	87
IV. 5. a) Préparation des échantillons.....	87
IV. 5. b) Préparation de la plaque.....	88
IV. 5. c) Conditions d'analyse.....	88

## Chapitre 2 : Extraction et analyse des huiles essentielles

I. Matériel végétal.....	89
I. 1. <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.....	89
I. 2. <i>Mentha piperita</i> .....	90
I. 2. a) Le genre <i>Mentha</i> .....	90
I. 2. b) L'espèce <i>Mentha piperita</i> .....	90
I. 3. <i>Artemisia herba-alba</i> Poiret.....	91
I. 2. Description botanique et classification du genre <i>Artemisia</i> .....	91
I. 3. Description botanique et classification de l'espèce <i>Artemisia herba alba</i> .....	92
I. 4. <i>Ferula communis</i> L. & <i>F. lutea</i> .....	93
I. 4. 1. Présentation botanique de la famille des Apiaceae.....	93
I. 4. 2. Description botanique et classification.....	95
I. 4. 2. a) Le genre <i>Ferula</i> L.....	95
I. 4. 2. b) <i>Ferula communis</i> .....	95
I. 4. 2. c) <i>Ferula lutea</i> .....	95
I. 5. <i>Senecio giganteus</i> Desf. ....	97
I. 5. 1. Introduction.....	97
I. 5. 2. Description botanique et classification du genre <i>Senecio</i> .....	97
I. 5. 3. Description botanique et classification de l'espèce <i>Senecio giganteus</i> .....	100
II. Méthodes d'extraction et d'analyses des huiles essentielles.....	100
II. 1. Méthodes d'extraction des huiles essentielles des espèces étudiées.....	101
II. 1. a) <i>Santolina rosmarinifolia</i> L. (fleurs fraîches).....	101
II. 1. b) <i>Artemisia herba-alba</i> Poiret. (fleurs fraîches) .....	101
II. 1. c) <i>Ferula communis</i> L. (fleurs fraîches) .....	101
II. 1. d) <i>Ferula lutea</i> L. (fleurs fraîches) .....	101
II. 1. e) <i>Senecio giganteus</i> Desf. (fleurs fraîches) .....	101
III. Analyses GC et GC/MS.....	101
III. 1. Analyses GC et GC/MS de l'huile essentielle de l'espèce <i>Santolina</i>	

<i>rosmarinifolia</i> .....	101
III. 2. Analyse GC et GC/MS de l'huile essentielle de l'espèce <i>Artemisia herba-alba</i> .....	102
III. 3. Analyse GC et GC/MS de l'huile essentielle de l'espèce <i>Ferula communis</i> L. et <i>F. lutea</i> .....	102
III. 4. Analyse GC et GC/MS de l'huile essentielle de l'espèce <i>Senecio giganteus</i> Desf....	102

### **Chapitre 3 : Activité antioxydante des flavonoïdes de *Santolina rosmarinifolia* L.**

I. Dosage des polyphénols totaux.....	103
II. Mesure de l'absorbance du témoin pyrogallol.....	104
III. Mode de calcul.....	105
IV. Activité antioxydante.....	105
IV. 1. Préparation de la solution de DPPH.....	105
IV. 2. Solution d'extrait.....	106
IV. 3. Test du DPPH.....	106

### **Chapitre 4 : Activité antibactérienne**

I. Revivification des souches.....	107
II. Préparation des dilutions.....	107
III. L'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé (Méthode des disques).....	108
IV. Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice).....	110
IV. 1. Définition.....	110
IV. 2. Procédé.....	110
IV. 3. Lecture.....	111

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

### **Chapitre 1 : Résultats d'étude phytochimique et d'évaluation de l'activité antioxydante de *Santolina rosmarinifolia* L.**

I. Récapitulation des résultats.....	112
I. 1. Elucidation de la structure du composé C1.....	112
I. 1. a) Propriétés physico-chimiques .....	112
I. 1. b) Les analyses spectroscopiques UV .....	112
I. 1. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup> H .....	113
I. 2. Elucidation de la structure du composé C2.....	115

I. 2. a) Propriétés physico-chimiques.....	115
I. 2. b) Les analyses spectroscopiques UV.....	116
I. 2. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup> H.....	117
I. 3. Elucidation de la structure du composé C3.....	118
I. 3. a) Propriétés physico-chimiques.....	118
I. 3. b) Les analyses spectroscopiques UV.....	119
I. 3. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup> H.....	120
I. 4. Elucidation de la structure du composé C4.....	121
I. 4. a) Les analyses spectroscopiques UV.....	121
I. 4. b) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup> H.....	122
I. 5. Elucidation de la structure du composé C5.....	124
I. 5. a) Propriétés physico-chimiques .....	124
I. 5. b) Les analyses spectroscopiques UV.....	124
I. 5. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup> H.....	124
I. 6. Elucidation de la structure du composé C6 .....	129
I. 6. a) Propriétés physico-chimiques.....	129
I. 6. b) Les analyses spectroscopiques UV .....	129
I. 6. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup> H.....	130
I. 6. d) Hydrolyse acide du composé C6.....	133
I. 7. Elucidation de la structure du composé C7.....	134
I. 7. a) Propriétés physico-chimiques .....	134
I. 7. b) Les analyses spectroscopiques UV.....	134
I. 7. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup> H .....	137
I. 7. d) Hydrolyse acide du composé C7.....	138
II. Résultats de l'Activité antioxydante de l'espèce <i>S. rosmarinifolia</i> L. ....	141
II. 1. Résultats et discussion.....	141
II. 2. Résultat de l'activité antioxydante testée par la méthode du DPPH.....	141
III. Conclusion.....	143

**Chapitre 2 :** Résultats d'analyses GC et GC/MS d'huiles essentielles de *Santolina rosmarinifolia* L., *Mentha piperita*, *Artemisia herba alba*, *Ferula communis* L. & *F. lutea* et *Senecio giganteus* Desf.

I. <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.....	144
I. 1. Résultats GC et GC/MS de l'espèce <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.....	144
I. 2. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.....	145
Protocole et souches utilisés .....	145
II. <i>Mentha piperita</i> .....	147
II. 1. Composition de l'huile essentielle des parties aériennes sèches de <i>Mentha piperita</i> ....	147
II. 2. Composition de l'huile essentielle des parties aériennes fraîches de <i>Mentha piperita</i> ...	148
II. 3. Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Mentha piperita</i> .....	150
III. <i>Artemisia herba-alba</i> .....	152
IV. <i>Ferula communis</i> & <i>F. lutea</i> .....	155
IV. 1. Composition de l'huile essentielle de <i>Ferula communis</i> .....	155
IV. 2. Composition de l'huile essentielle de <i>Ferula lutea</i> .....	156
V. <i>Senecio giganteus</i> Desf. ....	158
Conclusion.....	160
Conclusion générale.....	161
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	163

# Introduction générale

Depuis longtemps, l'homme se sert des plantes pour se nourrir et se soigner. Les premiers écrits concernant l'utilisation des plantes médicinales, pour traiter les maladies, datent depuis des millénaires. L'une des plantes médicinales prétendument utilisées à l'époque, était l'achillée millefeuille.

Les écrits de l'empereur Shen-Nong ont servi de base à ses successeurs, il aurait cueilli, goûté et classifié lui-même plus de 250 herbes.

Les Grecs ont donné un essor à la médecine par les plantes avec les plus célèbres médecins comme Hippocrate (460-377 av J.-C.) et Théophraste (370-285 av J.-C.) qui utilisaient couramment les plantes. C'est Hippocrate qui mentionnait plus de 400 remèdes simples à base de plantes.

Les Arabes mélangeaient les plantes pour accroître leurs effets et en améliorer le goût. Grâce à leurs contacts avec les traditions chinoise et hindoue, ils ont largement développé leurs connaissances médicales.

Ce n'est qu'à la fin du 18<sup>ème</sup> siècle que les médicaments s'inscrivent dans une logique scientifique. Dans un premier temps, on a découvert que les plantes renfermaient plusieurs constituants, la première substance médicinale pure dérivée des plantes était la morphine, qui a été extraite du pavot au début du 19<sup>ème</sup> siècle (Simmonds, 2003).

Avec l'isolement des premiers principes actifs avec les progrès de la chimie aux 18<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup> siècles, l'histoire du rôle thérapeutique des plantes est aussi longue que l'histoire de l'humanité elle-même (Quentin-Leclerc, 2002). Actuellement, environ 25 % des médicaments modernes sont développés à partir de plantes (Liu et Wang, 2008; Newman et Cragg, 2007). Les criblages de collections de plantes ou de micro-organismes sont une méthode classique, qui a permis, par exemple, la découverte de la plupart des antibiotiques actuels (Simmonds, 2003). Il est actuellement possible de trouver des informations sur les applications thérapeutiques de plus de 85 000 espèces de plantes (Balunas et Kinghorn, 2005).

A l'heure actuelle, environ 25-30% de tous les médicaments, disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés des produits naturels (des plantes, des animaux, des bactéries et des champignons).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 65-80% de la population des pays en développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire.

Aujourd'hui, de nombreux travaux, menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes, utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées, sont souvent des plantes efficaces et presque toutes dépourvues de toxicité.

La valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays car les phytomédicaments présentent de plus en plus d'avantages par rapport aux médicaments synthétiques. Dans ce contexte, et en continuité aux travaux développés au sein du laboratoire d'obtention des substances thérapeutiques, nous avons réalisé des travaux phytochimiques et biologiques sur une espèce de la famille des Asteraceae : *Santolina rosmarinifolia* L., utilisée en médecine traditionnelle comme antispasmodique, emménagogue et vermifuge (Cornara *et al.*, 2009) et étudié des huiles essentielles d'espèces appartenant à des familles variées.

Ces travaux sont décrits dans le présent manuscrit qui est divisé en trois parties : revue bibliographique ; matériel et méthodes et résultats et discussion. La revue bibliographique comprend trois chapitres traitant des généralités sur les flavonoïdes et les huiles essentielles et sur les flavonoïdes isolés antérieurement du genre *Santolina* ainsi que sur les compositions d'huiles essentielles des genres : *Santolina*, *Mentha*, *Artemisia*, *Ferula* et *Senecio*. La deuxième partie (matériel et méthodes) comprend trois chapitres traitant le matériel végétal (*Santolina rosmarinifolia* L., *Mentha piperita*, *Artemisia herba-alba* Poiret., *Ferula communis* L., *F. lutea* L. et *Senecio giganteus* Desf.) et les méthodes d'extractions et d'analyse ainsi que les méthodes d'études de l'activité antioxydante et antibactérienne.

La troisième partie comprend les résultats et discussion sous forme deux chapitres. Le premier concerne l'étude d'isolement et de séparation des flavonoïdes de *Santolina rosmarinifolia* L., et le deuxième chapitre comprend les résultats et discussion sur les analyses GC et GC/MS des huiles essentielles de *Santolina rosmarinifolia* L., *Mentha piperita*, *Artemisia herba-alba* Poiret., *Ferula communis* L., *F. lutea* L. et *Senecio giganteus* Desf. et les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Santolina rosmarinifolia* L. et *Mentha piperita*.

# Revue bibliographique

# CHAPITRE 1

## Flavonoïdes du genre *Santolina* L.

## I. Généralités sur les flavonoïdes :

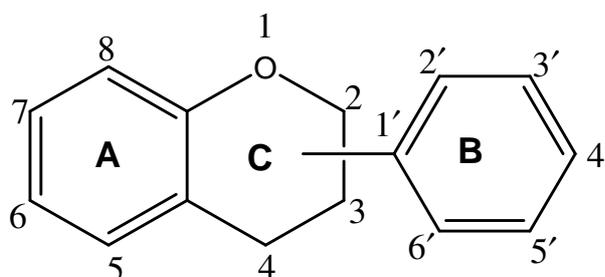
### I. 1. Définition :

Les flavonoïdes (de *flavus*, « jaune » en latin) sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles ; près de 6500 flavonoïdes repartis en 12 classes sont connus (Wollgast et Anklam, 2000).

L'existence des différentes classes structurales des flavonoïdes serait fonction des modifications de l'hétérocycle C ; on distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, aurones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, etc....

### I. 2. Structure chimique :

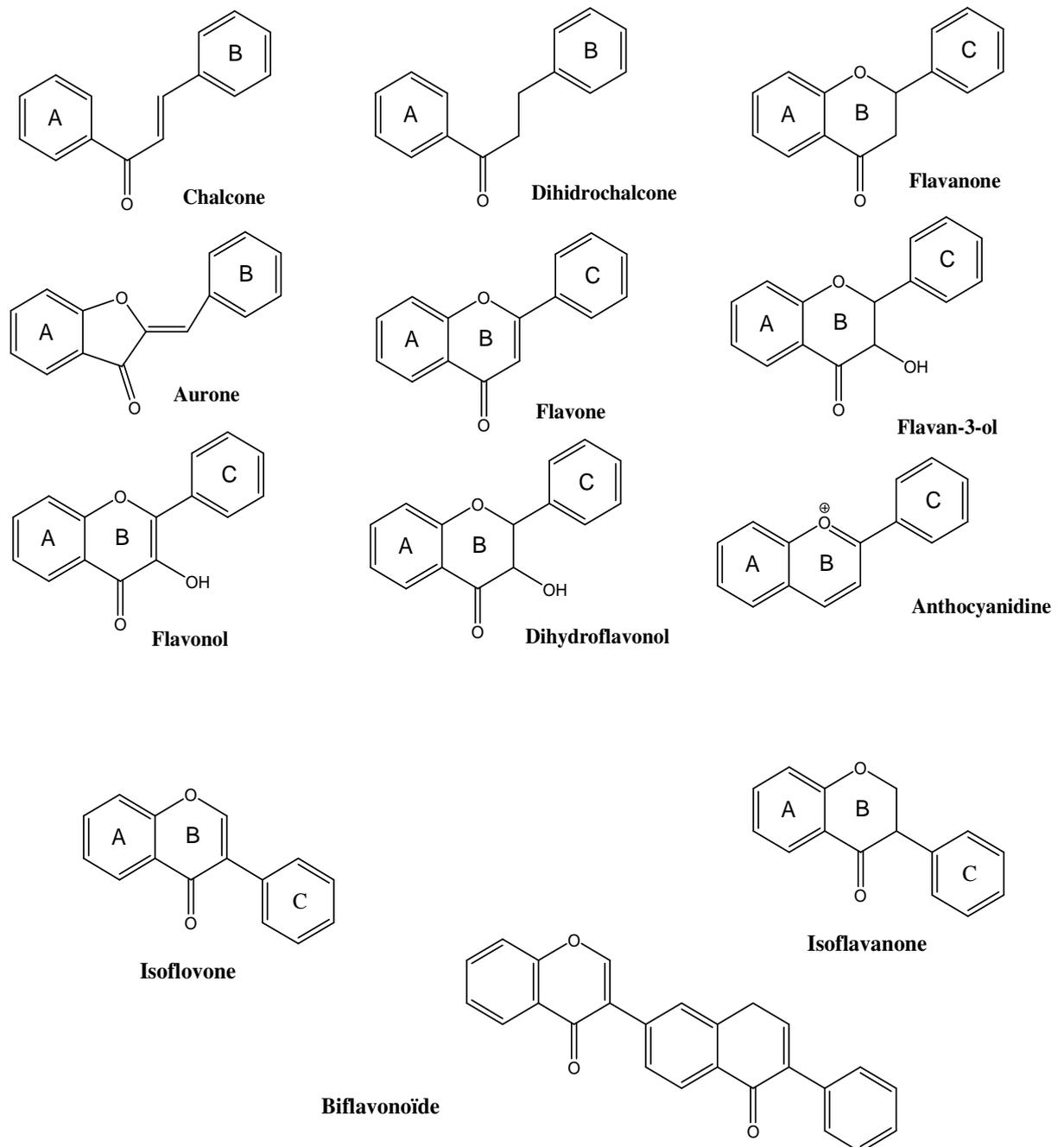
A l'heure actuelle, près de 6500 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et, par conséquent, possèdent un squelette de base à quinze carbones, qui consiste en deux cycles phényles, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (Figure 1) (Bruneton, 1999).



**Figure 1.** Squelette de base des flavonoïdes.

### I. 3. Les différentes classes de flavonoïdes :

Plusieurs classes de flavonoïdes ont été proposées selon le chemin biosynthétique (Figure 2) (Bruneton, 1999):



**Figure 2.** Les différentes classes de flavonoïdes.

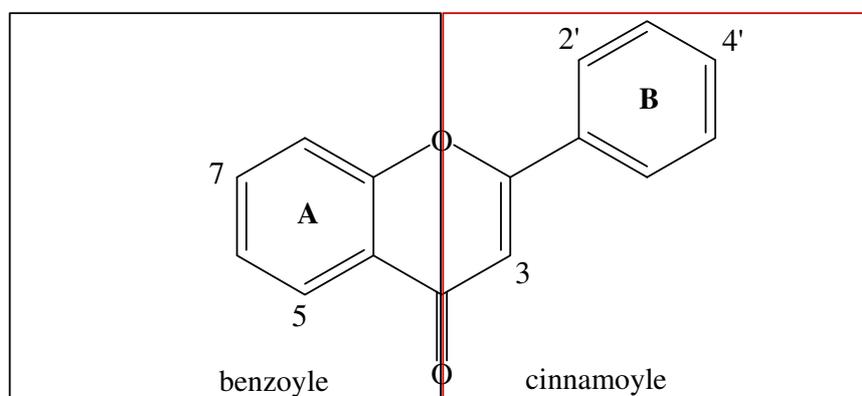
**I. 4. Propriétés physico-chimiques :****I. 4. a) Solubilité des flavonoïdes :**

En présence d'un solvant, la structure du flavonoïde pourrait être différente selon les diverses interactions (type hydrophobe, liaisons hydrogène, type électrostatique...) (Mompon *et al.*, 1996 ; Saidman *et al.*, 2002).

Les différences structurales au sein d'une même famille sont tellement importantes qu'il est difficile d'estimer la solubilité d'un composé dans un solvant. Toutefois, les flavonoïdes sont faiblement solubles dans l'eau (Abou El Hassan *et al.*, 2000 ; Benavente-García *et al.*, 2001 ; Calias *et al.*, 1996 ; Pulley, 1936 ; Walle, 2004).

**I. 4. b) Absorption des rayonnements UV :**

Les spectres UV des flavonoïdes permettent d'observer deux bandes d'absorption principales dans la région 240-400 nm. La bande I (300-395 nm) due à l'absorption de la partie cinnamoyle (noyau B) du flavonoïde et de la bande II (240-280 nm) qui est associée à l'absorption de la partie benzoyle (figure 3) (Harborne et Williams, 2000).



**Figure 3 :** Partie benzoyle et partie cinnamoyle d'absorption en UV (bande I et bande II).

Un grand nombre de flavonoïdes ont été étudiés en UV-visible, en présence d'une série de réactifs conduisant à des observations et conclusions dressées dans le tableau 1 (Harborne, 1989 ; Markham, 1982 ; Voirini, 1983).

**Tableau 1 :** Absorption UV des flavonoïdes dans le méthanol (Harborne, 1989 ; Markham, 1982 ; Merghem ; 2009 ; Voirin, 1983):

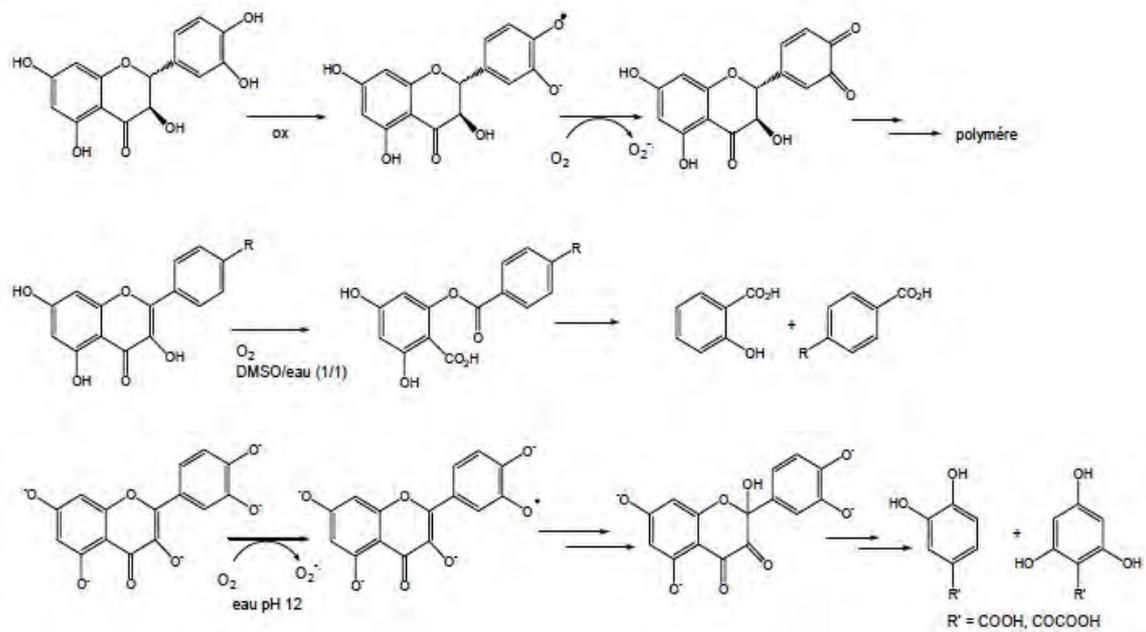
Classe des flavonoïdes	$\lambda$ max (nm)	
	Bande II	Bande I
<b>Flavonol</b>	250-280	330-385
Quercétine	255, 269s	301s, 370
Quercétine 3-O-glucoside	257, 269s	299s, 362
Hespéretine	288	300s
Taxifoline	290	327s
<b>Flavone</b>	250-280	310-350
Chrysin	247s, 268	313
Apigénine	267, 296s	336
<b>Favanone et dihydroflavanol</b>	275-295	300-330
<b>Flavanol</b>	270-280	-
<b>Chalcone</b>	230-270	340-390
4'-Hydroxychalcone	-	328
2', 4, 4'-Trihydroxychalcone	-	367
<b>Aurone</b>	230-270	380-430
4-Hydroxyaurone	-	389
6, 3', 4'-Trihydroxyaurone-6-glucoside	-	405
<b>Anthocyane</b>	270-280	465-560
Cyanidin-3-glucoside	274	523
Pelargonidine 3,7-diglucoside	279	498
<b>Isoflavone</b>	245-275	310-330
Daidzeine	238s, 249	260s, 303s
Genisteine	261	328s

En absence d'hydroxyle en position 3 (cas des flavones), la longueur d'onde de la bande I est plus courte de 20 à 30 nm. La méthylation comme la glycosylation, en particulier sur les hydroxyles en position 3, 5, 7, 4', provoquent un déplacement hypsochrome vers les longueurs d'ondes plus courtes. Toutefois, la nature du sucre n'a généralement pas d'effet (Markham, 1982). Pour l'acylation, peu de données existent sur l'effet de cette réaction sur les propriétés spectrales des flavonoïdes.

#### I. 4. c) Stabilité des flavonoïdes :

La lumière, le pH, la température, la nature du solvant, la présence d'enzyme, d'ion métallique ou non, d'oxydant exercent une influence sur la stabilité des flavonoïdes

(Fargeix, 2000). Des travaux sur la cinétique d'oxygénation des flavonoïdes ont été décrits (Balogh-Hergovich et Speier, 2001 ; Barhacs *et al.*, 2000 ; Fargeix, 2000 ; Mochizuki *et al.*, 2002 ; Ramos-Tejada *et al.*, 2002) (figure 4).



**Figure 4.** Exemples d'autoxydation de flavonoïdes

(Fargeix, 2000; Balogh-Hergovich et Speier, 2001; Mochizuki *et al.*, 2002).

Les substituants (alkyle, alcoxy, glycosyle) interviennent également dans la stabilité des flavonoïdes (Friedman et Jurgens, 2000 ; Makris et Rossiter, 2002 ; Smith *et al.*, 2000 ; Ungar *et al.*, 2003). Par exemple, la quercétine 3-O-galactoside et la rutine ont une photostabilité et une thermorésistance plus élevées que la quercétine (Makris et Rossiter, 2002 ; Smith *et al.*, 2000).

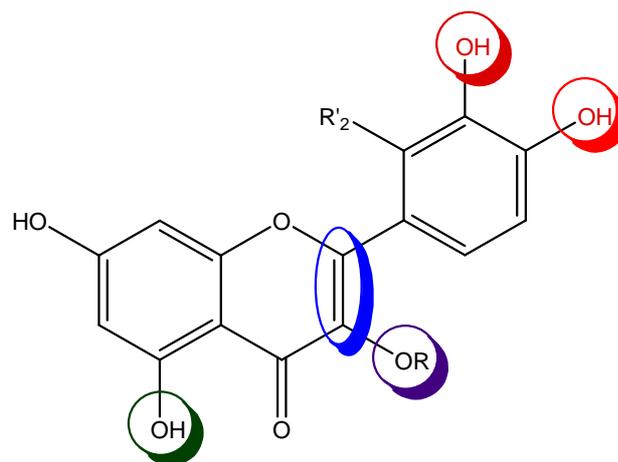
### I. 5. Effet des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont trouvé plusieurs applications comme :

- Complexants réversible et irréversible : (Charlton *et al.*, 2002 ; Cornard et Merlin, 2002a ; Cornard et Merlin, 2002b ; Ficarra *et al.*, 2002 ; Le Nest *et al.*, 2004 ; Tommasini *et al.*, 2004 ; Walle *et al.*, 2003 ; Zhu *et al.*, 2002 ; Zsila *et al.*, 2003).
- Inhibiteurs d'enzymes (Arockia Babu *et al.*, 2002 ; Chi *et al.*, 2001 ; Havsteen, 2002 ; Sadik *et al.*, 2003).
- Photoprotecteurs (Bonina *et al.*, 1996 ; Saija *et al.*, 2003 ; Saliou *et al.*, 1999 ; Zhai et Maibach, 2002 ; Zhang *et al.*, 1997).

- Anti-HIV, Antiviraux (Formica et Regelson, 1995 ; Mantas *et al.*, 2000).
- Anti-inflammatoires et anti-tumoraux (Di Carlo *et al.*, 1999 ; Formica et Regelson, 1995).
- Protecteurs des cartilages, inhibiteurs de la dégradation du protéoglycane et traitement de l'arthropathie (Watanabe *et al.*, 1993 ; Watanabe *et al.*, 1994 a ; Watanabe *et al.*, 1994 b).
- Antibactériens (Alcaraz *et al.*, 2000 ; Syuchi *et al.*, 2006).
- Traitement d'anomalies thrombotiques et artérioscléreuses (Cavazza, 2003).
- Anti-angiogéniques (Matsubara *et al.*, 2004).
- Dans la prévention du cancer et des maladies cardio-vasculaires (Manach *et al.*, 1996).
- Dans le traitement et la prévention des maladies liées à l'hyperlipidémie (Bok *et al.*, 2001).
- veinotoniques, analgésiques, antiallergiques, antispasmodiques, oestrogéniques et/ou anti-oestrogéniques, (Basile *et al.*, 1999 ; Galvez *et al.*, 1993a ; Galvez *et al.*, 1993b ; Goodarzi *et al.*, 2006 ; Martini *et al.*, 2004 ; Ouali *et al.*, 2007).
- Antioxydants et antiradicalaires (Burda et Oleszek, 2001; Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Van Acker *et al.*, 1996).

L'activité Antioxydante à été la plus étudiée. Une relation structure-activité qui a été établie montre la nécessité de la présence d'un squelette 3',4',5-trihydroxyflavonol nécessitant également la présence d'un substituant OR en position 3 (figure 5) (Aliaga et Lissi, 2004 ; Heim *et al.*, 2002 ; Van Acker *et al.*, 1996) :



**Figure 5.** Éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.

## I. 6. Biosynthèse des flavonoïdes :

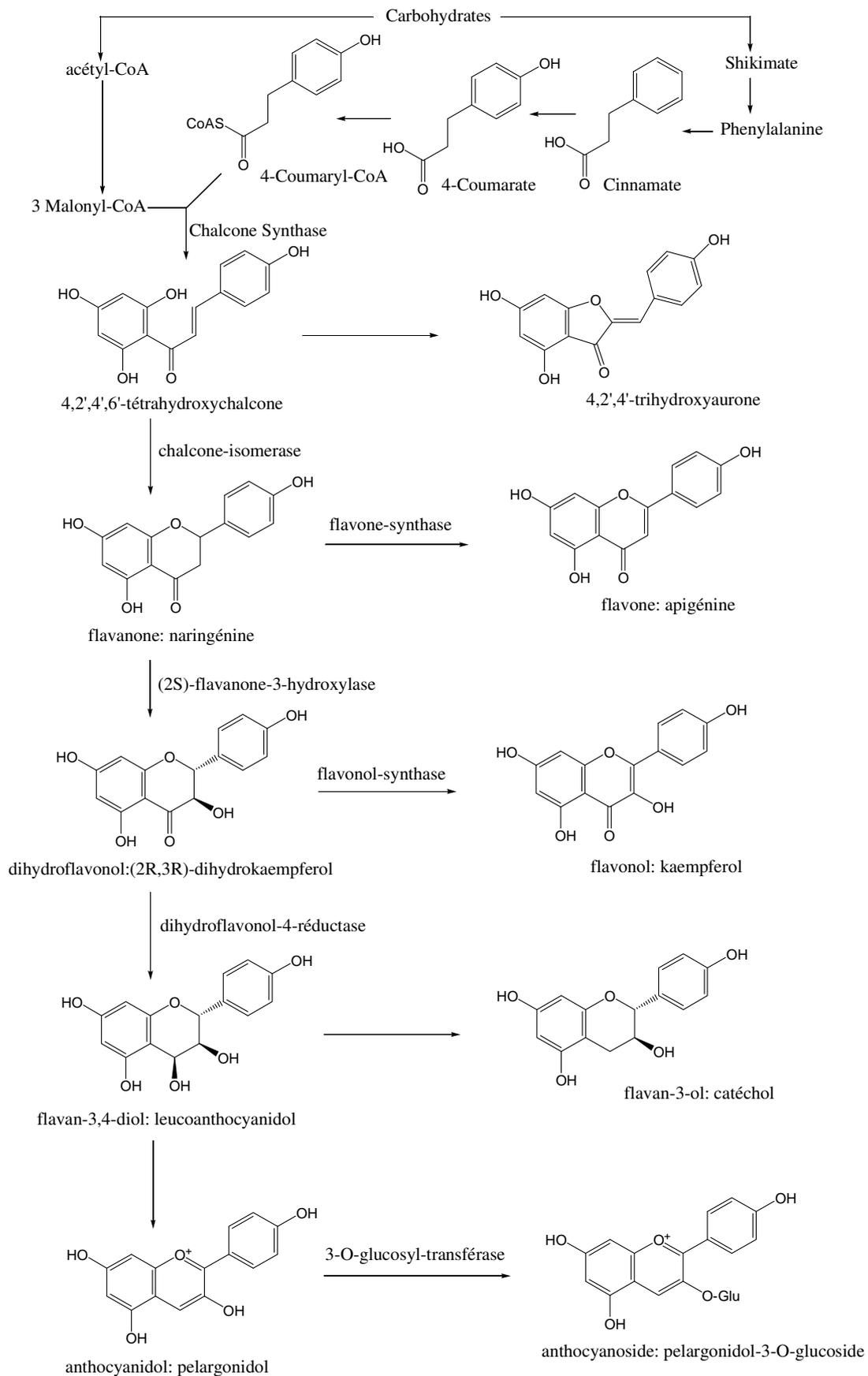
La biosynthèse des flavonoïdes se fait par deux voies principales qui sont :

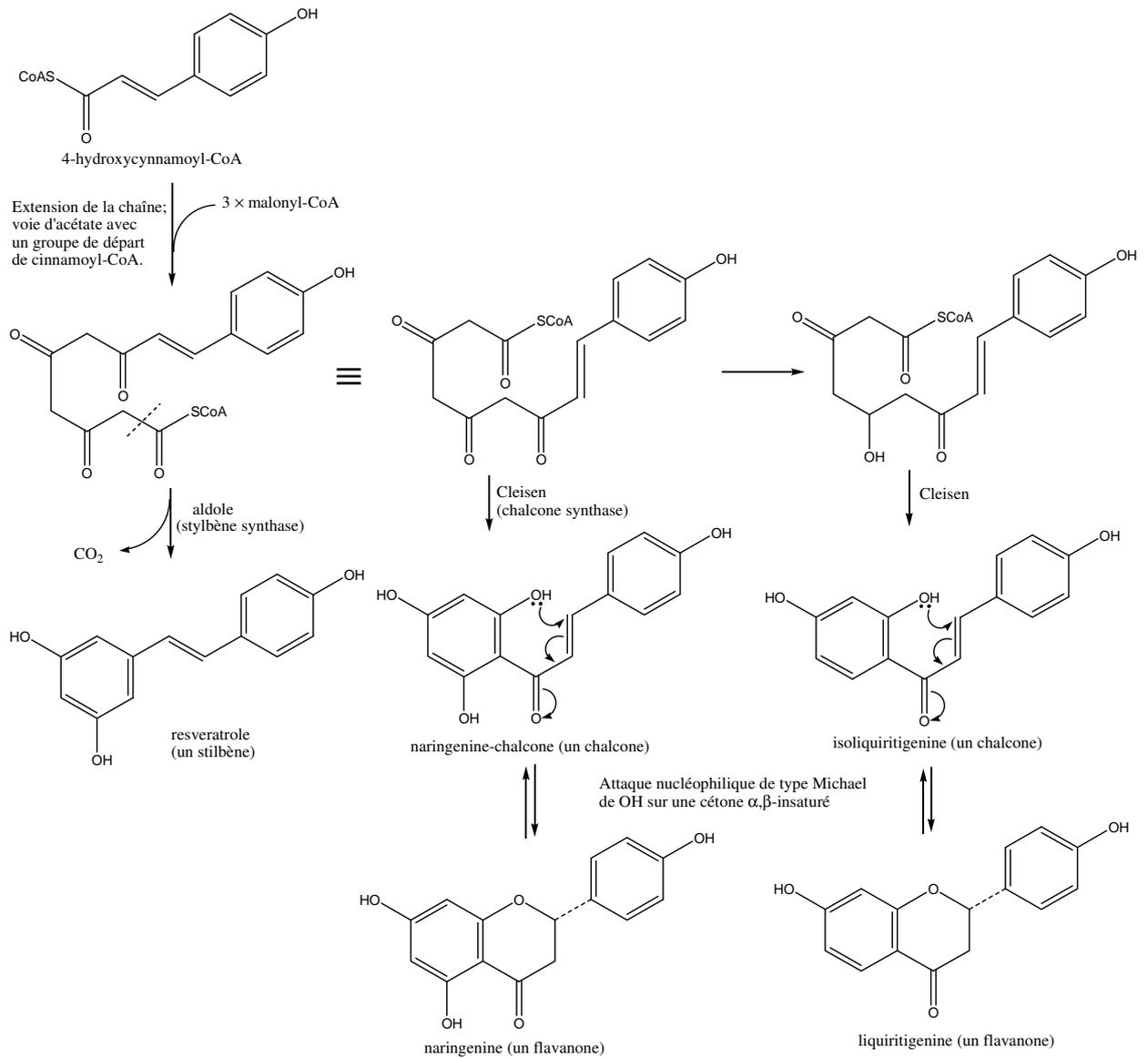
- La voie de shikimate, c'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Kening *et al*, 1995), dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses et la glycolyse respectivement, ces dernières sont à l'origine des composés phénoliques C<sub>6</sub> – C<sub>1</sub> formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés (Haslam, 1994 ; Dewick, 1995). Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. En effet, ces deux acides aminés sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique (Figure 6).
- La voie malonate : cette voie se produit aussi par les carbohydrate, La glycolyse et la β-oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate, C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités "Acétate" qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA, Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase, 3 molécules d'acétyl CoA pour le cycle A qui dérive de la voie acétate malonate (Fleeger et Flipse 1964, Richter 1993).

C'est alors à partir de la chalcone ainsi formée par cette condensation chimique que vont être mis en place les flavonoïdes appartenant aux diverses classes, en particulier des pigments comme les anthocyanes, les flavonols, ou certains monomères de type flavonols dont la polymérisation conduira aux tannins condensés.

Cette biosynthèse des flavonoïdes se fait par un intermédiaire commun, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour donner la formation de la flavone : apigénine ou le dihydroflavonol : (2R, 3R)-dihydrokaempférol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonolsynthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol : kaempférol ou en flavan-3,4-diol : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols et anthocyanidols. Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont

pas encore élucidées. Le pélargonidol, sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside : pélargonidol-3-glucoside (Figure 6).





**Figure 6.** Les schémas de biosynthèse des flavonoïdes (voie malonate et shikimate)  
(Bruneton, 1999 ; Treki, 2002).

**I. 7. Méthodes utilisées pour l'extraction des Flavonoïdes :**

Les flavonoïdes peuvent être extraits selon le protocole général de tous les métabolites secondaires, basé sur la macération dans un système hydro-alcoolique suivie de l'extraction liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante (éther de pétrole, dichlorométhane ou chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol).

Les flavonoïdes aglycones polyméthoxylés sont plus fréquents dans les extraits apolaires alors que les flavonoïdes moglycosylés et aglycones polaires se trouvent plus généralement dans l'extrait acétate d'éthyle.

Les flavonoïdes polyglycosylés sont plus fréquents dans l'extrait n-butanol. Cependant, le protocole spécifique visant l'extraction des flavonoïdes au détriment d'autres métabolites secondaires, s'articule sur l'utilisation de l'eau bouillante suivie de l'extraction liquide-liquide en utilisant l'acétate d'éthyle et le n-butanol (figure 7).

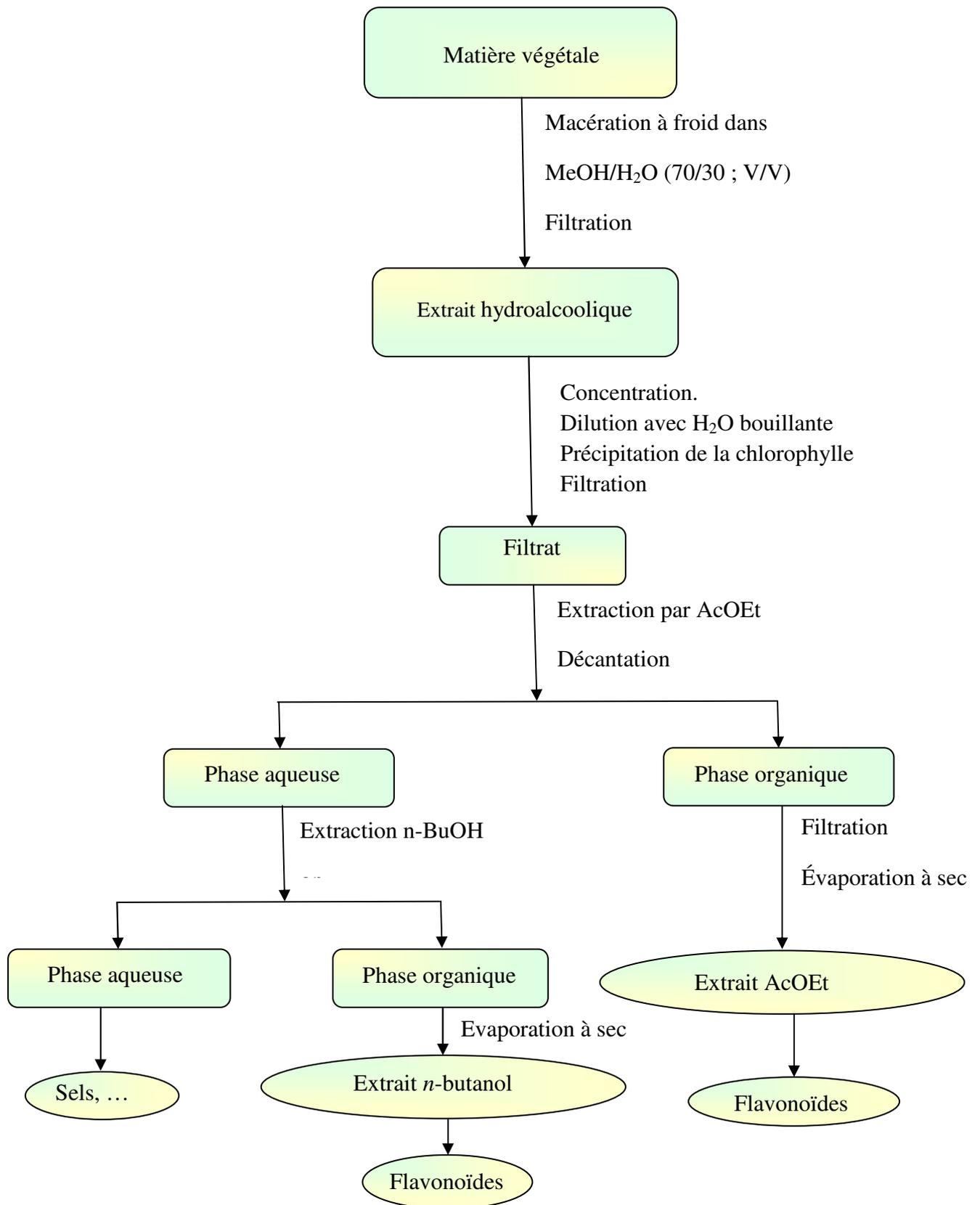


Figure 7 : Protocole d'extraction des flavonoïdes.

## II. Généralités sur la famille des Asteraceae et sur le genre *Santolina* L. :

### II. 1. La famille des Asteraceae

#### II. 1. 1. Introduction :

Autrefois, les plantes de la famille des Asteraceae étaient connues sous le nom de Composées (Composacées, Compositae). C'est l'une des plus vastes familles du règne végétal. Elle comprend plus de 1000 genres et entre 20.000 et 25.000 espèces (Dupont et Guignard, 2007 ; Spichiger *et al.*, 2004). Les Asteraceae appartiennent à l'ordre des Campanulales. Pour Cronquist, cette même famille est rattachée au super-ordre des Asteridae et l'ordre des Astrales. Dahlgren classe la famille des Asteraceae dans le superordre des Asteriflorae et l'ordre des Astrales. Thorne a élaboré une classification selon laquelle les Asteraceae se trouvent dans le superordre des Asteranae et l'ordre des Astrales (Spichiger *et al.*, 2004). D'après APG II (Angiosperm Phylogeny Group), l'immense famille des Asteraceae est subdivisée en cinq sous familles principales : Barnadesioïdées, Mutisioïdées, Carduoïdées, Cichorioïdées et Astéroïdées (Dupont et Guignard, 2007).

#### II. 1. 2. Caractères morphologiques :

Les Asteraceae sont répandues dans le monde entier; surtout dans les régions tempérées, moins fréquentes dans les forêts tropicales humides (Dupont et Guignard, 2007 ; Spichiger *et al.*, 2004). Herbes érigées ou grimpantes, parfois arbustes ou arbres (*Vernonia*). Les *Senecio* et *Espeletia* des hautes montagnes tropicales sont des arbustes monocaules terlinés par un mouchet de feuilles. Certaines Asteraceae sont également succulentes (*Senecio polyodon*, *Othonna clavifolia*,...). Les Asteraceae peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. Elles ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre.

Ainsi, contrairement à l'opinion populaire, ce qu'on appelle une « fleur » de tournesol, de chardon, ou des pissenlits... ; n'est en réalité pas « une » fleur mais un capitule de fleurs (Barreda *et al.*, 2010).

Le latex est fréquent dans les tiges (Florin, 2008) ; elles sont caractérisées par l'inflorescence en capitules. Un capitule comprend un réceptacle commun, plat le plus

souvent, sur lequel sont insérées de la base au sommet, en ordre spiralé : d'abord des bractées stériles vertes (parfois écailleuses, à crochets ou épineuses) formant un involucre, ensuite des petites bractées fertiles non vertes ou paillettes, axillant chacune une fleur. L'ensemble forme une fleur composée, ce qui justifie l'emploi du mot "Composées" pour désigner cette famille (Boullard, 1997 ; Dupont et Guignard, 2007).

### II. 1. 3. Types de fleurs des Asteraceae :

On peut diviser les fleurs des Asteraceae, appelées aussi fleurons, en trois groupes suivant l'aspect des capitules :

#### II. 1. 3. a) Les liguliflores :

(Chicorée, pissenlit, laitue ...etc.) composées uniquement de fleurons ligulés. Elles présentent des languettes, ou ligules, dans lesquelles les équivalents des pétales sont soudés, généralement par cinq, parfois par trois, reconnaissables seulement aux dents de la languette, et où un pétale prédomine,

#### II. 1. 3. b) Les tubuliflores :

(Chardon, cirse, centaurée ...etc.) dont le capitule n'est composé que de fleurons tubulés (ou fleurs tubulaires). Elles présentent des tubes terminés par des lèvres imperceptibles ou s'ouvrant plus ou moins largement en cinq lobes.

#### II. 1. 3. c) Les radiées :

Aux fleurons périphériques ligulés entourant un disque de fleurons tubulés (marguerite, aster, séneçon ...etc.) (Barreda *et al.*, 2010). en faisant la synthèse des deux types de fleurons on obtient les radiées dont le capitule est composé de ligules imitant les pétales à la périphérie et de tubules imitant les étamines et le pistil au centre (Florin, 2008 ; Spichiger *et al.*, 2004). Cinq étamines soudées en tube par les anthères, autour du style.



Liguliflore : Fleurons tous ligulés (pissenlit);  
(artichaut)



Tubuliflore : Fleurons tous tubulés



Radiée : Fleurons ligulés et tubulés (marguerite)

**Figure 8.** Les différents types de fleurs des astéracées.

Dans tous les cas, le fruit provenant de l'ovaire infère est un akène surmonté généralement d'une aigrette de soies (*Pappus*) provenant du développement du calice après fécondation (Blamey et Grey-wilson, 2003 ; Dupont et Guignard, 2007 ; Spichiger *et al.*, 2004).

## II. 2. Le genre *Santolina* :

### II. 2. 1. Présentation botanique :

Le genre *Santolina* pousse dans la région méditerranéenne. Il présente plus de 10 espèces largement distribuées (Ferrari *et al.*, 2005 ; Kisiel *et al.*, 2003). Les espèces les plus répandues sont : *S. viridis* W. (sud de la France et nord de l'Espagne), *S. pectinata* Lag. (Péninsule Ibérique) et *S. chamaecyparissus* (plante commune dans le bassin méditerranéen) (Liu *et al.*, 2007).

Il renferme des sous-arbrisseaux de petite taille, ligneux et rustiques ; le feuillage est alterne, très finement penne, à hélices foliaires minces ; les capitules en boule, jaunes, crèmes ou blancs, longuement pédicelés, sont composés de petites fleurs tubulaires (Utrecht *et al.*, 1995). Les capitules homogames, discoïdes, à fleurs toutes tubuleuses hermaphrodites. Corolle présentant évagination qui coiffe le sommet de l'ovaire. Bractées de l'involucre imbriquées sur peu de rangs. Réceptacle convexe ou subhémisphérique, paléacé. Akènes non ailés, chauves, tétragones ; entièrement dépourvus de côtes et de faisceaux libéro-ligneux saillants. Plantes suffrutescentes (Quezel et Santa, 1963).

## II. 2. 2. Classification dans la systématique :

Notre espèce est classée comme suit (Dupont et Guignard, 2007 ; Spichiger *et al.*, 2004) :

Règne	: Plantae,
Embranchement	: Angiospermes (plantes à fleurs),
Classe	: Dicotylédones,
Sous classe	: Asteridae Gamopétales,
Ordre	: Asterales,
Division	: Magnoliophyta (angiospermes phanérogames, plantes à fleurs et à fruits)
Famille	: Asteraceae,
Tribu	: Anthemideae (Spichiger <i>et al.</i> , 2004 ; Florin, 2008)
Genre	: <i>Santolina</i> ,

## II. 2. 3. Caractéristiques botaniques et répartition géographique :

L'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. forme des buissons odorants, glabres, de couleur vert foncé et de 40-50 cm de hauteur. Les fleurs réunies en capitules fleurissent en juillet-août (Ferrari *et al.*, 2000 ; Kisiel *et al.*, 2003). Les capitules de 8-15mm de diamètre, homogames, discoïdes, à fleurs tubuleuses, hermaphrodites (les périphériques à anthères parfois stériles). Corolle présentant une évagination qui coiffe le sommet de l'ovaire. Bractées de l'involucre imbriquées sur peu de rangs, oblongues et entourées par un appendice scarieux et lacéré (Dupont et Guignard, 2007 ; Ferrari *et al.*, 2000 ; Kabissi, 1998).

Réceptacle convexe ou subhémisphérique, paléacé. Akènes non ailés, chauves, tétragones (ce dernier caractère est parfois difficile à observer sur le sec) ; entièrement dépourvus de côtes et de faisceaux libéro-ligneux saillants. Sous-arbrisseau suffrutescent, touffu, à tiges ligneuses (figure 9).

Rameux monosépales. Inflorescence en corymbe dense (Dupont et Guignard, 2007 ; Kabissi, 1998). Feuilles aromatiques, étroitement linéaires, longues de 3-5 mm (Dupont et Guignard, 2007 ; Ferrari *et al.*, 2000 ; Kabissi, 1998). Il existe deux sous espèces de

l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. La sous espèce typique "*rosmarinifolia*" est trouvée dans toutes les régions de distribution de cette espèce, elle a un aspect un peu tomenteux, alors que la sous espèce "*canescens*", réservée aux régions du sud de l'Espagne, possède un aspect densément tomenteux, de couleur blanc à gris (Ferrari *et al.*, 2000). En Algérie cette espèce n'a pas de sous-espèce.

Sous arbrisseau touffu, à tiges ligneuses. Rameaux monocéphales. Inflorescence en corymbe dense. Feuilles étroitement linaires. Bractées de l'involucre oblongues et entourées par appendice scarieux et lacéré : ssp *pectinata* ; forêts pâturages ; région montagneuse (Quezel et Santa, 1963).



**Figure 9.** : Image de la plante *Santolina rosmarinifolia* L.

#### II. 2. 4. Intérêts biologiques et pharmacologiques :

Ce genre présente des plantes ornementales (Gardner, 2005). Plusieurs espèces ont été utilisées en médecine traditionnelle (Palá-Paul *et al.*, 2001), dans différentes régions du pays et elle sont utilisées aussi comme insecticides car leurs feuillages aromatiques éloignent les insectes. Les tisanes à base de fleurs de cette espèce sont expectorantes, stimulantes et digestives (Suresh *et al.* 1997). *S. chamaecyparissus*, la plus populaire et courante en culture (Utrecht *et al.*, 1995), possède des propriétés analgésique, antispasmodique, anti-inflammatoire, digestive et antimicrobienne (Kisiel *et al.*, 2003 ; Sala *et al.*, 2000).

L'infusion des feuilles et des fleurs de *S. ligustica*, poussant en Italie, est utilisée contre les douleurs gastriques (Cornara *et al.*, 2009).

L'espèce *S. rosmarinifolia* L. est largement utilisée en médecine traditionnelle (Ushakov *et al.*, 1975). En Algérie, elle est employée comme stimulant, antispasmodique et vermifuge (Kabissi, 1998). Au Portugal, la macération de la plante (fleurs sèches) dans l'eau sert comme antipyrétique (Suresh *et al.* 1997). L'infusion des fleurs fraîches ou sèches est prescrite comme hépato-protectrice, hypotensive, intestinale, anti-inflammatoire et appétissante (Novais *et al.*, 2004). Giner et collaborateurs ont mis en évidence des propriétés analgésiques dans les extraits apolaires de *S. chamaecyparissus* (De Logu *et al.*, 2000 ; Giner *et al.*, 1988). Ils ont montré aussi l'effet inhibiteur de ces extraits contre les contractions des muscles induites par différents agonistes comme l'histamine et la sérotonine, ainsi qu'une activité anti-inflammatoire (De Logu *et al.*, 2000 ; Giner *et al.*, 1988) (tableau 2).

**Tableau 2 :** Activités biologiques des plantes du genre *Santolina*.

Espèce	Activité	Références
<i>S. chamaecyparissus</i>	anti-inflammatoire	(Kisiel <i>et al.</i> , 2003 ; Sala <i>et al.</i> , 2000)
	antimicrobienne	(Kisiel <i>et al.</i> , 2003 ; Sala <i>et al.</i> , 2000)
	antispasmodique	(Kisiel <i>et al.</i> , 2003 ; Sala <i>et al.</i> , 2000)
	analgésique	(Kisiel <i>et al.</i> , 2003 ; Sala <i>et al.</i> , 2000)
	digestive	(Kisiel <i>et al.</i> , 2003 ; Sala <i>et al.</i> , 2000)
	antioxydante	(Lopez <i>et al.</i> , 2008)
	antifongique	(Lopez <i>et al.</i> , 2008)
<i>S. ligustica</i>	contre les douleurs gastriques	(Cornara <i>et al.</i> , 2009)
	<i>S. rosmarinifolia</i> L. ssp. <i>rosmarinifolia</i>	Antispasmodique
Antipyrétique		(Novais <i>et al.</i> , 2004)
anti-inflammatoire		(Novais <i>et al.</i> , 2004)
antimicrobienne		(Loannou <i>et al.</i> , 2007)
<i>S. oblongifolia</i>	anti-inflammatoire	(Giner <i>et al.</i> , 1988 ; Silvan <i>et al.</i> , 1996 ; Rossi <i>et al.</i> , 2007)
<i>S. corsica</i>	Antimicrobienne	(Bakkali <i>et al.</i> , 2008 ; Gardner, 2005)

## II. 2. 5. Métabolites secondaires du genre *Santolina* :

Les principaux métabolites secondaires du genre *Santolina* sont :

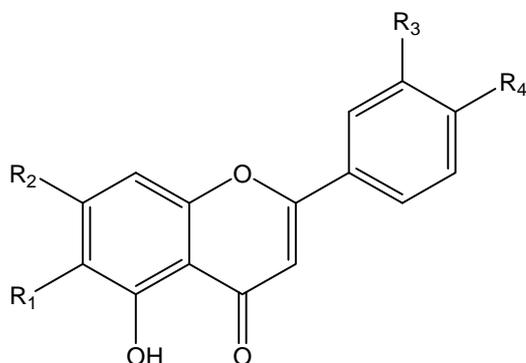
- Les sesquiterpènes : rapportés des espèces *S. chamaecyparissus*, *S. oblongifolia*, *S. ligustica*, *S. rosmarinifolia* *S. canescens* (Gardner, 2005).
- Les triterpènes et stéroïdes : rapportées des espèces *S. oblongifolia* (Miyazawa *et al.*, 1996 ; Utrecht *et al.*, 1995), *S. corsica* (Ferrari *et al.*, 2005).
- Les monoterpènes : *S. chamaecyparissus*, *S. oblongifolia*, *S. ligustica*, *S. rosmarinifolia* L. ssp. *rosmarinifolia* et *S. canescens*, *S. corsica* (Gardner, 2005).
- Les flavonoïdes : rapportés des espèces *S. corsica*, *S. rosmarinifolia* ssp. *rosmarinifolia*, *S. chamaecyparissus*, *S. pinnata* *S. insularis* (Bruce et Told, 2001 ; Cottiglia *et al.*, 2005 ; Giner Pons et Rios Canavate, 2000 ; Loannou *et al.*, 2007 ; Maqua *et al.*, 1988 ; Miyazawa *et al.*, 1996 ; Silván *et al.*, 1996).
- Les coumarines : rapportées des espèces *S. oblongifolia* (Silván *et al.*, 1996), *S. rosmarinifolia* ssp. *rosmarinifolia* (Maqua *et al.*, 1988).

## II. 2. 6. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes de type aglycones et glycosylés de squelettes flavones et flavonols ont été isolés du genre *Santolina*. Ils sont dressés dans les tableaux 3-5. De cette étude, il apparait que 12 flavonoïdes aglycones dont 8 flavones et 4 flavonols ont été isolés du genre *Santolina*, en plus de 2 flavones mono-glycosylées particulièrement 7-O-glucosides.

**Tableau 3** : les flavones aglycones isolées du genre *Santolina*.

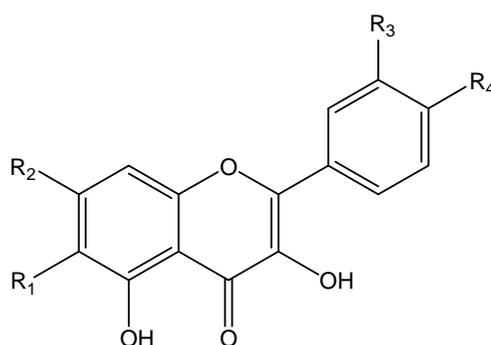
flavones aglycones	Espèces	Structure	Références
Apigénine	<i>S. chamaecyparissus</i> <i>S. pinnata</i>	1. a	(Bruce et Told, 2001) (Bruce et Told, 2001)
Lutéoline	<i>S. chamaecyparissus</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i> <i>S. pinnata</i> <i>S. insularis</i>	1. b	(Bruce et Told, 2001) (Bruce et Told, 2001) (Bruce et Told, 2001) (Bruce et Told, 2001)
6-méthoxylutéoline	<i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i> <i>S. insularis</i> <i>S. chamaecyparissus</i> <i>S. pinnata</i>	1. c	(Bruce et Told, 2001) (Cottiglia <i>et al.</i> , 2005) (Bruce et Told, 2001) (Bruce et Told, 2001)
7-méthoxylutéoline	<i>S. chamaecyparissus</i>	1. d	(Bruce et Told, 2001)
5,4'-dihydroxy-6,7-Diméthoxyflavone	<i>S. chamaecyparissus</i> <i>S. insularis</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	1. e	(Bruce et Told, 2001) (Cottiglia <i>et al.</i> , 2005)
5,7-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone (pectolinarigenine)	<i>S. chamaecyparissus</i>	1. f	(Bruce et Told, 2001)
5, 7,4'-trihydroxy-6, 3'-diméthoxyflavone (jacéosidine)	<i>S. chamaecyparissus</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	1. g	(Bruce et Told, 2001) (Bruce et Told, 2001)
6-méthoxyapigénine (hispiduline)	<i>S. insularis</i> <i>S. chamaecyparissus</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	1. h	(Cottiglia <i>et al.</i> , 2005) (Bruce et Told, 2001) (Bruce et Told, 2001)



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
A	H	OH	H	OH
B	H	OH	OH	OH
C	OMe	OH	OH	OH
D	H	OMe	OH	OH
E	OMe	OMe	H	OH
F	OMe	OH	H	OMe
G	OMe	OH	OMe	OH
H	OMe	OH	H	OH

**Tableau 4 :** les flavonols aglycones isolés du genre *Santolina*.

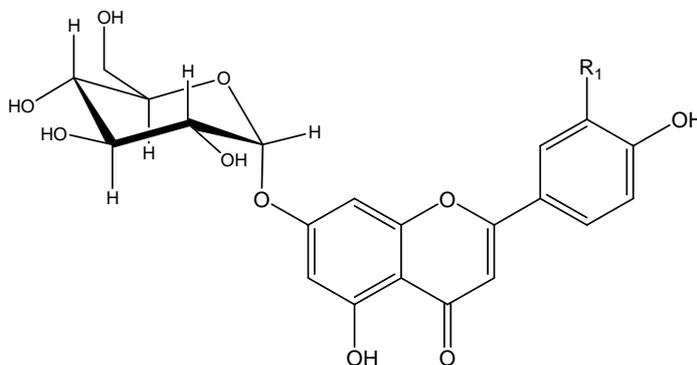
Flavonol aglycone	Espèce	Structure	Références
Kaempférol	<i>S. pinnata</i>	3. a	(Bruce et Told, 2001)
	<i>S. rosmarinifolia</i> ssp.		(Bruce et Told, 2001)
	<i>rosmarinifolia</i>		
Rhamnocitrine	<i>S. insularis</i>	3. b	(Cottiglia <i>et al.</i> , 2005)
Isorhamnétine	<i>S. rosmarinifolia</i>	3. c	(Bruce et Told, 2001)
6-méthoxyquercetagétine (patulétine)	<i>S. chamaceypaissus</i>	3. d	(Bruce et Told, 2001)



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
3a	H	OH	H	OH
3b	H	OMe	H	OH
3c	H	OH	OMe	OH
3d	OMe	OH	OH	OH

**Tableau 5** : les flavones hétérosidiques isolées du genre *Santolina*.

flavone hétérosidique	Espèce	Structure	Références
Apigénine 7-O-β-D-glucoside	<i>S. chamaceypaissus</i>	2. a	(Bruce et Told, 2001)
Lutéoline 7-O-β-D-glucoside	<i>S. insularis</i> <i>S. pinnata</i>	2. b	(Cottiglia <i>et al.</i> , 2005 )  (Bruce et Told, 2001)



	R <sub>1</sub>
2. a	H
2. b	OH

## CHAPITRE 2

Huiles essentielles des  
genres *Santolina*, *Mentha*,  
*Artemisia*, *Ferula* et  
*Senecio*.

## I. Généralité sur les huiles essentielles :

### I. 1. Introduction :

Depuis des milliers d'années, les huiles essentielles sont utilisées en cuisine, en médecine, en parfumerie, etc... La thérapie par les huiles essentielles a connu un développement progressif à travers les civilisations arabe, égyptienne, grecques, etc... (Buchbauer *et al.*, 1993 ; Robert, 2000 ; Roulier, 1992 ; Sell, 2006). Les huiles essentielles et les arômes extraits à partir des herbes aromatiques et d'épices sont le résultat d'un mélange complexe de substances volatiles (Afnor, 2000 ; Garnero, 1996).

Selon les normes internationales, les huiles essentielles doivent être liquides à température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques cas (cannelle, sassafras et vétiver), volatiles, insolubles dans l'eau, et solubles dans les huiles végétales, dans l'éther et dans l'alcool jusqu'à un certain pourcentage, peu polaires (Durvelle, 1893 ; Durvelle, 1930).

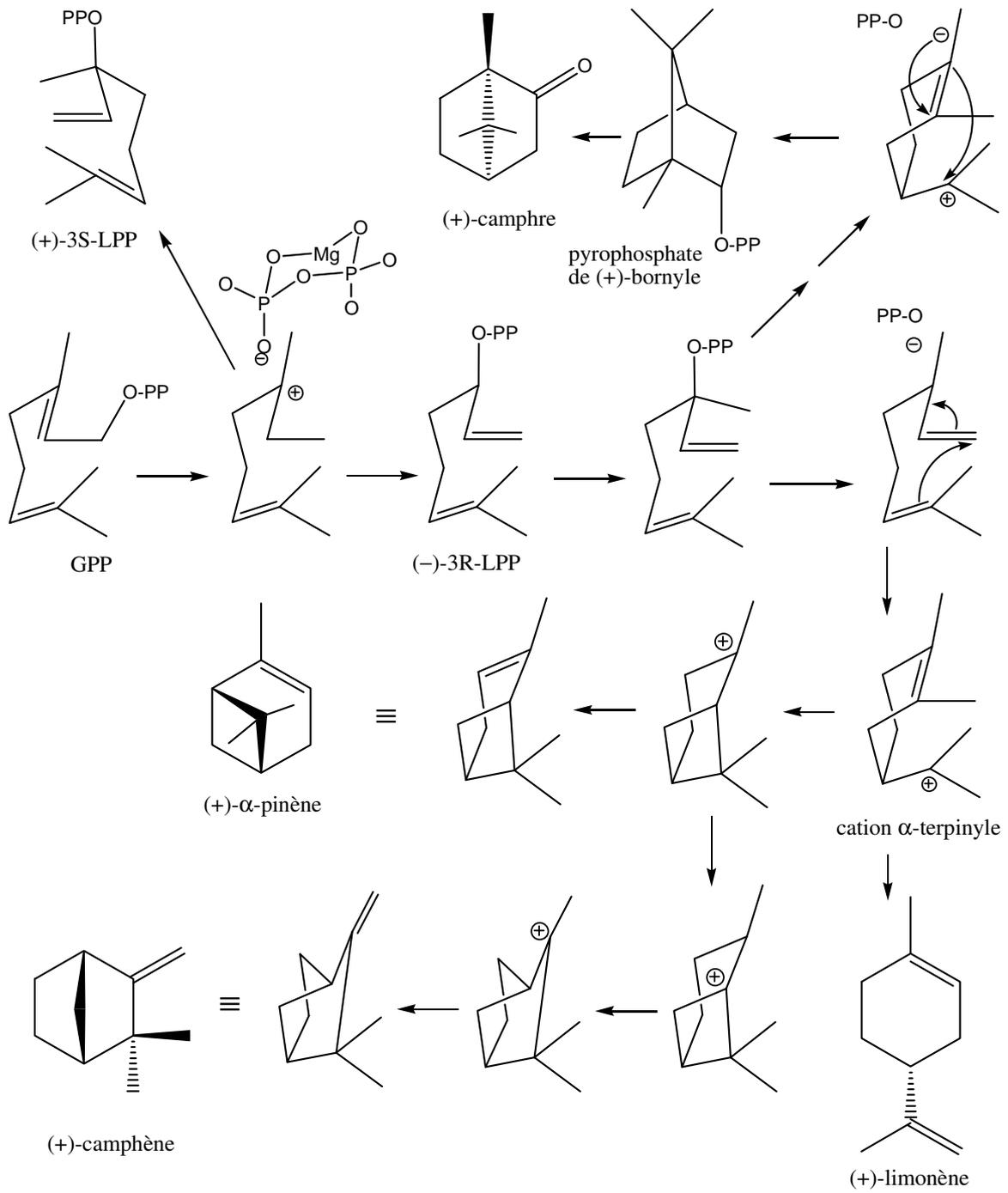
### I. 2. Biosynthèse des huiles essentielles (terpènes):

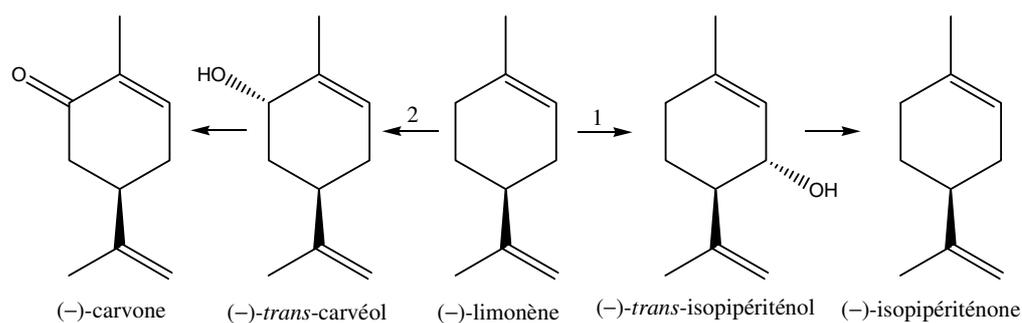
La formation du diphosphate de géranyl (GPP) est le point de départ de la formation des monoterpènes réguliers. Si la formation d'alcools et de carbures acycliques à partir du GPP est évidente, celle des monoterpènes cycliques implique formellement l'attaque nucléophile intramoléculaire du C-1 du cation néryle par la double liaison distale, attaque qui conduit à la formation du cation intermédiaire  $\alpha$ -terpinyle.

En fait, l'expérience montre que la réaction se déroule sans qu'apparaisse dans le milieu d'intermédiaires néryle ou linalyle libres : il est maintenant démontré que la formation des composés mono- et bicycliques à partir du GPP fait intervenir des monoterpène-cyclases qui opèrent selon un mécanisme d'isomérisation-cyclisation. Au cours de ce mécanisme le diphosphate de géranyl est d'abord ionisé en une paire d'ions, la réaction étant vraisemblablement assistée par un cation métallique divalent ( $Mn^{2+}$  ou  $Mg^{+2}$ ). Le cation allylique est ensuite isomérisé en (3R)- ou (3S)-diphosphate de linalyle (LPP) qui reste lié et s'ionise à nouveau et se cyclise pour donner le cation (4R)- ou (4S)- $\alpha$ -terpinyle. La plupart des cyclases connues sont également capables de catalyser la formation des carbures et ce de façon stéréospécifique (ex. : (4S)-(-)-limonène chez *Mentha spicata*, (4R)-(+)- limonène chez *Citrus sinensis*).

La figure 10 illustre la potentialité du cation  $\alpha$ -terpinyle de conduire, *via* des cyclisations additionnelles sur la double liaison cyclohexénylique résiduelle, des déplacements de proton et autres réarrangement classiques aux principaux squelettes monoterpéniques. L'étude d'un cas particulier tel que celui de la biosynthèse du (+)-camphre (chez la sauge officinale) ou du (-)-camphre (chez la tanaïsie ou le romarin) montre que le GPP est converti en LPP puis en diphosphate de bornyle *via* le cation  $\alpha$ -terpinyle ; le bornéol formé par hydrolyse de l'ester diphosphorique est ensuite oxydé.

Les réactions (cyclisations-réarrangements) se terminent soit par perte d'un proton et donc formation de carbures, soit par addition d'un nucléophile tel que l'eau et donc formation d'un alcool. En dehors du cas des alcools formés par capture de carbocations par l'eau, l'introduction de l'oxygène est rarement contemporaine de la cyclisation. Il semble que les enzymes impliquées dans cette figure réactionnelles soient, le plus le plus souvent, spécifiques. Ainsi, chez *Mentha piperita*, le (-)-limonène est hydroxylé en (-)-*trans*-isopipériténol, celui-ci est oxydé en (-)-isopipériténone et une première réduction conduit à la (+)-*cis*-pulégone. Ultérieurement, isomérisation et réductions conduiront à la (-)-menthone et aux menthols. Chez *Mentha spicata* la réaction est du même type, mais la régiospécificité est différente : l'hydroxylation conduit au (-)-*trans*-carvéol, oxydé ensuite en (-)-carvone. Un mécanisme identique explique la formation de (+)-*cis*-sabinol et de (+)-sabinone à partir du (+)-sabinène ; la réduction stéréosélective de la (+)-sabinone conduit ensuite à la (+)-3-thuyone ou à la (-)-3-isothuyone (Bruneton, 1999).



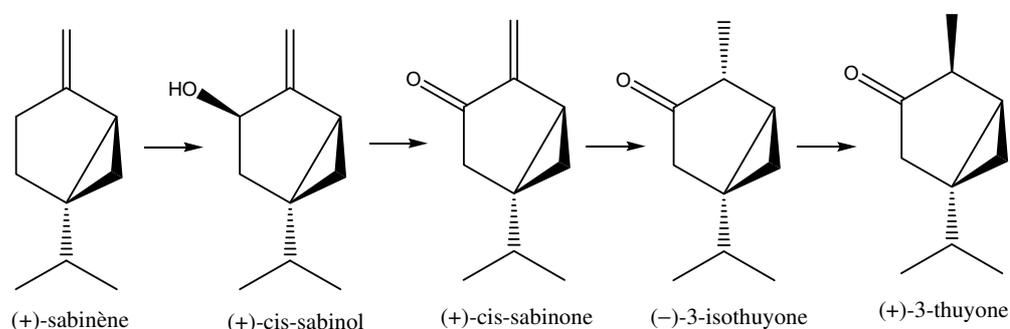


Oxydation des monoterpènes :

hydroxylation allylique et oxydation  
en cétone  $\alpha$ - $\beta$ -insaturée

Cas des menthes : exemple de régiosélectivité

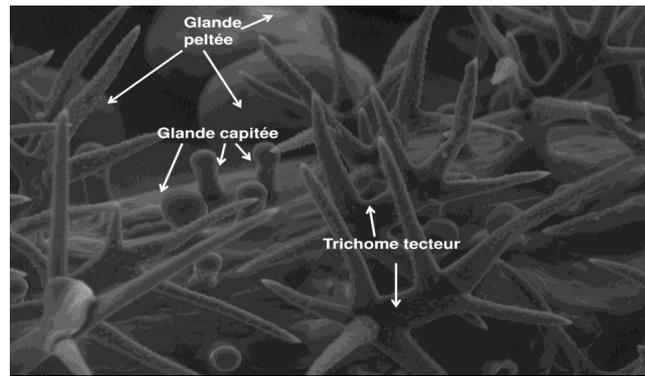
1 = *Mentha piperita*  
2 = *Mentha spicata*



**Figure 10** : les schémas de Biosynthèse des huiles essentielles (Bruneton, 1999).

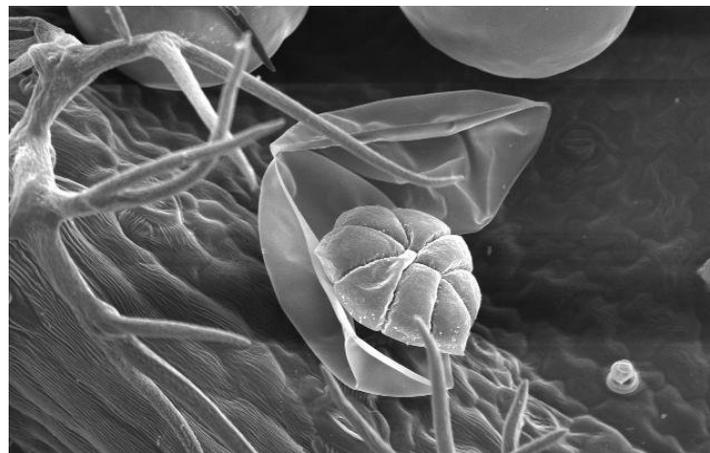
### I. 3. Lieux de biosynthèse et d'accumulation :

Les huiles essentielles sont retrouvées dans tous les organes de la plante racine, feuille, fleur, exclusivement chez les spermaphytes : familles des Conifères, Lamiacées, Myrtacées, Apiacées, Lauracées, Rutacées et Astéracées. Elles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices spécialisées, qui se situent dans un ou plusieurs organes de la plante (figure 10-12) (Charabot *et al.*, 1899 ; Loupy, 2006).



**Figure 11 :**

Trois types de trichomes sur calice de *Lavandula angustifolia*. (MEB x500 12kV)  
(Charabot *et al.*, 1899 ; Loupy, 2006).



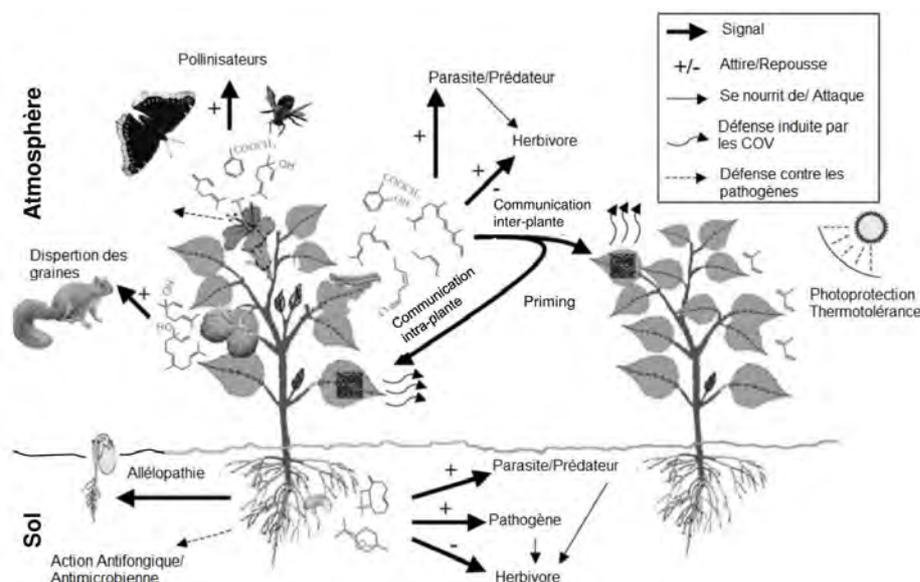
**Figure 12 :** Détail des 8 cellules sécrétrices d'une glande peltée sur calice de *Lavandula lanata* (MEB x500 8kV) (Charabot *et al.*, 1899 ; Loupy, 2006).



**Figure 13 :** Schéma d'un trichome pelté de Lavande (Iriti *et al.*, 2006).

#### I. 4. Rôle écologique :

Les composés organiques volatils des huiles essentielles permettent à la plante de communiquer avec les plantes voisines (Baldwin, 2006) et également entre ses propres organes. Ils lui servent également de moyen de défense (Dudareva *et al.*, 2006 ; Ton *et al.*, 2007 ; Unsicker *et al.*, 2009) (figure 13).



**Figure 14** : Schéma des interactions des plantes avec leur environnement *via* les composés organiques volatils (Dudareva *et al.*, 2006).

#### I. 5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

- Ce sont généralement des liquides.
- La coloration varie de l'incolore au brun clair.
- La densité est en général inférieure à celle de l'eau (de 0,850 à 0,950).
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240° C.
- Les huiles essentielles sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires. (Duraffourd et Lapraz, 2002).
- Elles sont neutres au tournesol, mais elles s'oxydent à la lumière.
- Elles absorbent le chlore, l'iode avec dégagement de chaleur. Elles peuvent se combiner à l'eau pour former les hydrates (Duraffourd et Lapraz, 2002).

### **I. 6. Intérêts des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries (Kato *et al.*, 1990 ; Schwartz *et al.*, 1992 ; Sourai, 1989). Les huiles essentielles sont également utilisées par massage, inhalation ou ingestion. Des écrits divers sur l'utilisation des huiles essentielles ont vu le jour, l'essence de rose a été la plus utilisée à travers les siècles, dans les civilisations grecque, macédonienne, perse, égyptienne, etc.... Elle a été employée dans les infections des yeux et des oreilles, les gingivites, les hémorroïdes et pour arrêter la transpiration (Ronniger, 1924).

Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires (Debuigue, 1972). En Algérie, on l'appelle "Ziitra" (origan) et on l'emploie en cuisine et comme tisane contre les rhumes et les spasmes.

En plus de leurs utilisations thérapeutiques, les huiles essentielles sont appliquées en cosmétiques (aromatisation des savons, parfumerie, etc...) (Beylier-Maurel, 1976 ; Borris, 1996 ; Maruzzella, 1962 ; Roulier, 1992 ; Schilcher, 1985; Vargas, 1999).

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure, et pour réduire la prolifération des micro-organismes (Hammer *et al.*, 1999 ; Lis-Balchin *et al.*, 1998). Les huiles essentielles sont utilisées dans les aliments comme conservateurs antioxydant et antimicrobien (Arora et Kaur, 1999 ; Beraoud *et al.*, 1991 ; Fan et Chen, 1999 ; Hitokoto *et al.*, 1978 ; Hitokoto *et al.*, 1980 ; Lachowicz *et al.*, 1998 ; Tantaoui-Elaraki et Beraoud, 1994).

### **I. 7. Méthodes d'extraction et d'analyses des huiles essentielles :**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction des huiles essentielles dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Hellal, 2010).

**I. 7. a) Hydrodistillation :**

Le principe de l'hydro-distillation consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau (aujourd'hui remplacé par un Clevenger), que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. La pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et son appareillage n'est pas coûteux (Lucchesi, 2005).

**I. 7. b) Distillation par entraînement à la vapeur d'eau :**

Le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (Hellal, 2010).

**I. 7. c) Hydrodiffusion :**

La vapeur d'eau est pulsée à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. Cette technique offre une amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (Chemat, 2009).

**I. 7. d) Expression à froid:**

Le procédé est simple mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008).

**I. 7. e) Extraction par CO<sub>2</sub> supercritique :**

Le CO<sub>2</sub> permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Il est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction

choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Chemat, 2009).

#### **I. 7. f) Extraction par enfleurage :**

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants (Chemat, 2009).

#### **I. 7. g) Distillation à vapeur saturée :**

Dans cette variante, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales. En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées (Chemat, 2009).

#### **I. 7. h) Extraction par micro-ondes :**

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelé Vacuum Microwave, Hydro-distillation (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps, d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (Chemat, 2009 ; Brian, 1995 ; Mompon, 1994).

### I. 8. Analyses des huiles essentielles et critères de qualité :

Selon la Pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais. Ce contrôle a pour but de définir les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle comme : masse volumique, indice de réfraction, indice d'acide, indice d'ester, etc. Ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité. Les méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques à utiliser sont décrites avec précision dans le recueil de normes publiées par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 2000).

L'identification des différents constituants de l'huile essentielle se fait par chromatographie en phase gazeuse GC et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC/MS. La chromatographie en phase gazeuse GC est utilisée pour l'analyse quantitative et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC/MS pour l'analyse qualitative (Bourkhis *et al.*, 2007 ; Lahlou, 2004 ; Lamarti *et al.*, 1993 ; Marriott *et al.*, 2001).

Grace à une série d'alcane ( $C_7$ - $C_{18}$ ), on arrive à calculer les indices de Kovats d'un composant x (indice de rétention), en appliquant la formule de Kovats :

$$I_x = 100n + 100 \frac{\log t'_R(X) - \log t'_R(n)}{\log t'_R(n+1) - \log t'_R(n)}$$

$I_x$  : indice de rétention de X (indice de Kovats).

$t'_R(n)$  : temps réduit de l'alcane ayant  $n$  atomes de carbone.

La valeur sera ensuite comparée à celle proposée par la banque de données (NIST, Wiley) et vérifiée en accord avec les tables d'Adam (Adams, 1995) et en tenant compte du type de colonne utilisée (DB-1, DB-5, DB-WAX) (Kováts, 1965; Van Den Dool et Kratz, 1963) et d'autres données de la littérature (McLafferty et Tureček, 1993).

### II. 1. Les huiles essentielles du genre *Santolina* :

L'huile essentielle de *Santolina rosmarinifolia* L. est un antispasmodique, emménagogue et vermifuge, comme elle peut être utilisée comme parfum d'ambiance (Cornara *et al.*, 2009).

**II. 2. Les composants majoritaires d'huiles essentielles du genre *Santolina* :**

Les huiles essentielles du genre *Santolina* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études. Nous avons classé les composants majoritaires d'huiles essentielles ( $\% \geq 5.0$ ), par zones, dans les tableaux 6 et 7.

**Tableau 6** : Composants majoritaires (%  $\geq$  5.0) d'huiles essentielles des espèces de *Santolina* récoltées en Europe.

Composés (%)	Sierra de Béjar, (Salamanca), Espagne (De Pascual-T <i>et al.</i> , 1983)	Corse, France (Liu <i>et al.</i> , 2007)	Madrid, Espagne (Palá-Paúl <i>et al.</i> , 2001)	Sardaigne, Italie (Poli <i>et al.</i> , 1997)		Grenade, Espagne (Casado <i>et al.</i> , 2002)	Espagne (Pérez-Alonso et Velasco-Negueruela, 1992)	
	<i>S. oblongifolia</i>	<i>S. corsica</i>	<i>S. rosmarinifolia</i>	<i>S. insularis</i>	<i>S. corsica</i>	<i>S. canescens</i>	<i>S. chamaecyparissus</i>	
Santolina triène		13.50						
$\alpha$ -Pinène						5.30		
Camphène				8.47				
Sabinène			8.20					
$\beta$ -Pinène			24.60					
Myrcène		34.60	14.40					
Limonène			5.00					
$\beta$ -Phellandrene			26.70					
1,8-Cinéole				9.01				2.3–8.7
Artémisylcétone	18.00			21.18	12.97	29.80		
Isolyratol		6.10						
Camphre					18.53	13.20		9.2–24.9
Bornéol					7.41			11.6–28.4
Acétate de bornyle				6.35				
$\beta$ -Caryophyllène		11.70						
Aromadendrene					5.55			
Elémol	5.40						5.0	
(E)-Nérolidol							9.3	
Spathulenol								
Cubéol							6.70	
Copaéol							15.20	
$\beta$ -Eudesmol	23.50							
$\beta$ -Maalliene	4.90							
<i>trans</i> -Bejarol	13.10							
<i>cis</i> -Bejarol	10.00							
Chamazulène				12.70				

**Tableau 7:** Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles des espèces de *Santolina* distribuées dans les pays Arabes.

Composés (%)	Giza, Egypte (El-Sahhar <i>et al.</i> , 2011)	Jordanie (Senatore et De Feo, 1994)	Tahanaout, Marrakech, Maroc ( Fdil <i>et al.</i> , 2011)	
			Feuilles	Fleurs
	<i>S. chamaecyparissus</i>	<i>S. neapolitana</i>	<i>S. africana</i>	
$\alpha$ -Pinène		15.50		
$\beta$ -Phellandrène	1.51			
1,8-Cinéole	17.79			
Santolinol	18.04			
Artémisyl cétone	15.66			
Camphre			71,37	80,44
Bornéol	14.31	9.40	18,13	12,34
Acétate de bornyle			8,12	3,50
$\gamma$ -Muuroleone		31.90		

---

Les tableaux 6 et 7 permettent de déduire que l'artémisylcétone se trouve être majoritaire dans les huiles essentielles de 4 espèces Européennes :

*S. insularis* et *S. corsica* (Poli *et al.*, 1997) du sud Italien, *S. canescens* (Casado *et al.*, 2002) de Grenade et de *S. oblongifoli* de Sierra de Béjar (De Pascual-T *et al.*, 1983) (Espagne) et une espèce arabe croissant en Egypte, *S. chamaecyparissus* (El-Sahhar *et al.*, 2011).

Le tableau 11 permet d'observer la présence majoritaire du bornéol dans les espèces *S. chamaecyparissus* (El-Sahhar *et al.*, 2011) (Egypte), *S. neapolitana* (Senatore et De Feo, 1994) (Jordan) et *S. africana* (Fdil *et al.*, 2011) (feuilles et fleurs) (Maroc).

Le Camphre est un chemotype de l'huile essentielle de l'espèce marocaine *S. africana* ( Fdil *et al.*, 2011).

### III. Les huiles essentielles du genre *Mentha* :

#### III. 1. Introduction :

*Mentha* est classé dans la tribu *Menthae* qui inclut aussi des genres ayant une valeur économique importante comme *Agastache*, *Calamintha*, *Cedronella*, *Hedeoma*, *Hyssopus*, *Monarda*, *Nepeta*, *Origanum*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja*, et *Thymus* (Kaufmann et Wink, 1994).

La menthe, du nom latin *Mentha*, est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues : les archéologues ont découvert ses feuilles dans des pyramides d'Égypte vieilles de 3000 ans, Les menthes sont des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes (Benayad, 2008). Les menthes conservent depuis l'antiquité une diversité d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique. Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de menthe doivent leur odeur et activité à leurs Huiles Essentielles ou Essences de menthe (Benayad, 2008). Ces essences très odoriférantes ont un intérêt industriel important ; elles sont souvent extraites des plantes de la race cultivée avec de bons rendements. Autant les menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride, qui les relie. Parmi toutes les lamiacées, les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales (Benayad, 2008). Les principales caractéristiques de ces espèces sont :

- une tige quadrangulaire.
- des feuilles simples et opposées.
- l'odeur caractéristique qui se dégage par simple touché.

#### III. 2. Utilisation de *Mentha piperita* :

*Mentha piperita* est utilisée, depuis fort longtemps en nature et pour son huile essentielle. Hippocrate et Aristote l'employaient comme aphrodisiaque (calmant, anesthésiant). Comme à toutes les menthes, la tradition lui attribue des propriétés aromatiques (toniques, fortifiantes) et des propriétés digestives (combattre les lourdeurs, les ballonnements, les gaz).

Actuellement, les principales indications thérapeutiques « traditionnelles » pour la feuille et la sommité fleurie de menthe poivrée sont les suivantes (Bruneton, 1999 ; McKay et Blumberg, 2006 ; Ford *et al.*, 2008) :

- anti-inflammatoire (Arakawa *et al.*, 1992; Juergens *et al.*, 1998 ; Siani *et al.*, 1999).
- antispasmodique (Carnesecchi *et al.*, 2001 ; Forster *et al.*, 1980).
- en cas de nez bouché, de rhume, pour l'hygiène buccale, comme antalgiques dans les affections buccales ou pharyngées (Göbel *et al.*, 1995).
- pour soulager les maux de tête (EMEA), migraines et sinusites. les démangeaisons cutanées (Bowen et Cubbin, 1992 ; Briggs, 1993).
- les algies rhumatismales et musculaires (usage reconnu en Allemagne).
- L'huile essentielle de menthe et le menthol peuvent provoquer des troubles graves chez le jeune enfant lorsqu'ils sont appliqués sur les narines et le visage (risque de détresse respiratoire, de coma) (Bowen et Cubbin, 1992 ; Briggs, 1993).
- L'obstruction des voies biliaires et l'inflammation de la vésicule biliaire constituent des contre-indications (Juergens *et al.*, 1998; Shin et Kim, 1998).
- Le contact avec les muqueuses et les yeux peut provoquer des irritations.
- L'huile de *M. piperita* réduit la synthèse du cholestérol chez les lapins (White *et al.*, 1986).
- L'huile essentielle de *M. piperita* inhibe lentement le glucose d'anthérocyte (Beesley *et al.*, 1996).

La menthe poivrée occupe une place privilégiée dans la phytothérapie digestive grâce à l'huile essentielle que renferment ses feuilles. Les États-Unis sont le plus grand producteur de *Mentha piperita* et l'huile de la menthe verte, tandis que l'Inde et la Chine sont les plus grands producteurs de cette huile.

### III. 3. Les composants majoritaires d'huiles essentielles du genre *Mentha* :

Les huiles essentielles du genre *Mentha* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études. Nous avons classé les composants majoritaires d'huiles essentielles ( $\% \geq 5.0$ ) par espèces de menthes distribuées à travers le monde (Tableaux 8-12).

**Tableau 8** : Composants majoritaires ( $\geq 5.0\%$ ) d'huiles essentielles de l'espèce *Mentha spicata* provenant de différents pays.

Composants	Bangladesh (Chowdhury <i>et al.</i> , 2007)	Inde (Chauhan <i>et al.</i> , 2009)	Soudan (Younis <i>et al.</i> , 2004)	Jalisco, Mexique (Pino <i>et al.</i> , 2001)	Algérie (Benyousef <i>et al.</i> , 2004)	Turquie (Sarere <i>et al.</i> , 2011)	Tunisie (Mkadem <i>et al.</i> , 2009)	Italie (Shimizu <i>et al.</i> , 1967)	Zagazig, Egypte (El-Sayed <i>et al.</i> , 2009)	Cuba (Pino <i>et al.</i> , 2001).
Carvone	73.29	49.6-76.6	78.9	36.4	56.4-79.9	48.4	50.47			
Limone	7.59	9.57-22.31	8.8	14.5						
1,8-Cineole						21.3	9.14	11.1	18.79	
Linalool								54.9		
Acétate de linalyle								27.9		
Menthone									32.43	
$\alpha$ -Pinene									5.03	
$\beta$ -pinene									7.12	
Pulegone									10.01	
<i>cis</i> -Isopulegone									16.65	
$\alpha$ -Cadinol									5.30	
Oxyde de pipériténone										52.3

Ce tableau montre que la plupart des huiles essentielles de l'espèce *M. spicata* sont "Carvone" chemotype.

**Tableau 9** : Composants majoritaires ( $\geq 5.0\%$ ) d'huiles essentielles de l'espèce *Mentha pulegium* provenant de différents pays.

Composants	Egypte (El-Ghorab et Ahmed, 2006)	Bulgari e (Stoyanova et al., 2005)	Cuba (Pino et al., 1996)	Cachem ire (Chopra et al., 1964)	Portugal (Costa et al., 1952)	Italie (Aiquel et al., 1977)	Yougosla vie (Chalchat et al., 2000)	Maroc (Derwich et al., 2010)
Pulégone	43.5	42.9-45.4	25.14	73.46	83	50.1	14.1	6.45
Isopulégone				5.25				
Menthone						25.0	30.9	
Isomenthone		11.3-12.8				20.7		
Pipéritone	12.2							35.56
Pipéritenone		21.7-23.1						21.18
p-Menthane-1,2,3-triol	6.5							
Neoisomenthol			20.68					
Neomenthol							13.8	
Oxyde de caryophyllene							9.0	
$\alpha$ -Terpineol								10.89

Dans le tableau 9, il apparaît que les huiles essentielles de l'espèce *Mentha pulegium* sont "Pulégone" chemotype.

**Tableau 10** : Composants majoritaires ( $\geq 5.0\%$ ) d'huiles essentielles de l'espèce *Mentha pulegium* provenant de différentes régions de l'est Algérien (Beghidja *et al.*, 2007).

Composition	Oued Zrafa	Bir Guecha	Tassala 1	Tassala 2	Tassala 3	Bouhatem 1	Bouhatem 2	Ahmed Rachedi	Jijel
Pulegone	54.9	55.9	63.6	48.3	51.6	59.3	57.5	43.5	87.3
Piperitenone	26.7		8.25	6.28	8.01	15.1	14.4	19.2	
Isomenthone			10.32	11.55	22.6				
Menthone	6.46	6.78					6.17		
$\alpha$ -Pinene				8.09					
$\beta$ -Pinene				7.99					
Limonene							5.60		
Camphene				5.38					
1,8-Cineol							5.75		

Comme le montre le tableau 10, la pulegone est un chemotype des espèces *Mentha pulegium* distribuées dans l'est Algérien. D'autre part, la pipéritènone semble se trouver en majorité dans la plupart de ces espèces.

**Tableau 11** : Composants majoritaires ( $\geq 5.0$  %) d'huiles essentielles de l'espèce *Mentha piperita* provenant de différents pays.

	Mongolie (Karasawa <i>et al.</i> , 1995)	Turquie (Tanker <i>et al.</i> , 1976)	Maroc (Derwich <i>et al.</i> , 2011)	Cachemire (Vashist <i>et al.</i> , 1963)	Vietnam (Nguyen et Thiphuong, 2003)	Mexique, Jalisco (Pino <i>et al.</i> , 2002)	Inde (Sharma <i>et al.</i> , 2010)	Italie, Calabre (Calvarano <i>et al.</i> , 1969)	Maroc (Debbab <i>et al.</i> , 2007)
Menthol	35.07	41.07	5.58	47.5	47.60	35.4	9.94	38.0-44.98	
Menthone	32.22	35.37	29.01	11.0	24.10	15.4	28.66	20.28- 27.86	
Acétate de menthyle				8.4		12.4		3.24-6.86	
Menthofurane					6.07	18.2		1.96-5.16	
1,8-Cinéole					5.55		7.03	6.10-7.52	
Oxyde de pipéritone							16.0		
Linalool									60.72
Acétate de linalyle									20.79

Les travaux résumés dans le tableau 11 montrent que les huiles essentielles de *M. piperita* sont généralement composées de menthol et de menthone comme composants majoritaires.

**Tableau 12** : Composants majoritaires ( $\geq 5.0$  %) des huiles essentielles des espèces *Mentha aquatica* et *Mentha rotundifolia* provenant de différents pays.

	<i>M. aquatica</i> (Ethiopie)  (Getahun <i>et al.</i> , 2008)	<i>M.aquatica</i> (Iran)  (Esmaeili <i>et al.</i> , 2006)		<i>M.aquatica</i> (Turquie)  (Senatore <i>et al.</i> , 2005)	<i>M.rotundifolia</i> (Maroc)  (Derwich <i>et al.</i> , 2010)
		Tiges	Feuilles		
Menthofuran	70.5				
Limonene	9.42				
Menthone	7.20				5.0
$\beta$ -Caryophyllene		22.4	12.0		
1,8-Cinéole		10.9	10.3	55.3	
Viridiflorol		11.3			
Oxide de piperitenone			25.7		
Carvacrol				9.3	
Sabinene				6.7	
Menthol					40.50

D'après le tableau 12, l'espèce *M. rotundifolia* est peu étudiée tandis que le 1,8-cinéole se trouve être majoritaire dans les huiles essentielles d'espèce *M. aquatica* Iranienne et Turque (Esmaeili *et al.*, 2006 ; Senatore *et al.*, 2005).

#### **IV. Les huiles essentielles d'*Artemisia* :**

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

Le genre *Artemisia* (Asteraceae), comprenant près de 400 espèces (Sunset, 1995), regroupe des herbacées, des arbrisseaux et des arbustes, généralement aromatiques, densément tomenteux, pubescents ou glabres. Leur feuilles sont pennées (rarement palmées).

Les noms communs pour plusieurs espèces dans le genre incluent mugwort, wormwood, et sagebrush. Les espèces *Artemisia* grandissent dans des climats modérés des deux hémisphères, habituellement dans l'habitat sec ou semi-aride. Les espèces notables incluent *A. vulgaris* (mugwort commun), *A. tridentata* (grand sagebrush), *A. annua* (sagewort), *A. absinthum* (wormwood), *A. dracunculus* (estragon), et *A. abrotanum* (southernwood).

La plupart des espèces ont des arômes forts et des goûts amers à cause des terpenoïdes et des sesquiterpène lactones qui leur servent pour se défendre contre les herbivores (Lopes-Lutz *et al.*, 2008).

Les feuilles aromatiques de beaucoup d'espèces *Artemisia* sont médicinales, et quelques-unes sont utilisées en parfumerie. La plupart des espèces ont un goût extrêmement amer. *A. dracunculus* est largement utilisée comme une herbe culinaire. *Artemisia absinthium* a été utilisée pour repousser les puces et des papillons de nuit.

L'artémisine, isolée d'*A. annua*, possède une activité anti-malaria très puissante (Lopes-Lutz *et al.*, 2008). Les huiles d'*Artemisia* avaient des effets inhibiteurs sur la croissance des bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*), les levures (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*), et dermatophytes (*Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, et *Microsporum gypseum*), *Fonsecaea pedrosoi* et *Aspergillus niger* (Lopes-Lutz *et al.*, 2008).

##### **IV. 2. Les composants majoritaires d'huiles essentielles de l'espèce *Artemisia herba alba* :**

Les huiles essentielles de l'espèce *Artemisia herba alba* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études. Nous avons recensé les composants majoritaires d'huiles essentielles (%  $\geq$  5.0) rapportées dans les tableaux 13 et 14 :

**Tableau 13:** Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles d'espèces *Artemisia herba-alba* distribuées dans les pays Maghrébins.

Composé (%)	Méchr ia, L'oues t d'Algé rie (Bouc hikhi <i>et al.</i> , 2010)	Nord Sahara Algérie n (Dahm ani- Hamza oui et Baaliou amer, 2010)	Bisk ra (Bez za <i>et al.</i> , 2010 )	M'sila (Dob et Benabdel kader, 2006)	Dejelfa (Dahm ani- Hamza oui et Baaliou amer, 2005)	Tunis ie (semi- aride) (Kadr i <i>et al.</i> , 2011)	Tuni sie (Zou ari <i>et al.</i> , 2010 )	Maroc (Boutkhill <i>et al.</i> , 2009)		Nord- est du Maroc (Aziz <i>et al.</i> , 2012)	Machr aa Maroc (Paoli ni <i>et al.</i> , 2010)
								Ouj da	Errac hidia		
Camphène		4.9-4.5									5.50
1,8-Cinéole		13.4-2.4			5,80	8.91			4.98		
$\alpha$ -Thujone			7.85			24.88	8.73	21.1 7	17.27		
$\beta$ -Thujone	41.20			15.00		8.32		46.7 5	9.91		
Chrysanthenone			4.98	15.80					6.37	30.60	25.80
Camphre	22.20	49.3- 48.1		19.40	5,60	10.81		8.41	17.79	24.40	31.90
(E)-Pinocarvéol				16.90							
Pinocarvone		5.6-5.5									
Bornéol		7.3 - 7.1									
Verbenone			7.19								
Acétate de Chrysanthenyle			25.12				10.60		10.90		
Acétate de sabinyle							9.13				
Acétate de myrtenyle			7.39								
Davana ether					8,80						
Germacrene D						14.48					
Davanone					36,10				6.65		
(2E,3Z) 3,5- Heptadienal-2- ethyliden-6-Me			8.39								

**Tableau 14** : Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles d'espèces *Artemisia herba-alba* récoltées de différents pays.

Composé (%)	Ouest d'Azerbaïdjan (Aghaei <i>et al.</i> , 2011)	Jordanie (Hudaib <i>et al.</i> , 2006)	Egypte (Abou El-Hamd <i>et al.</i> , 2010)	Valentina Sud de l'Espagne (Salido <i>et al.</i> , 2001)
Myrcène				5.10
<i>p</i> -cymène				13.50
1,8-cinéole	7.42		50.00	10.20
Santolinol		13.00		
$\gamma$ -Terpinène				5.50
Artemisylcétone		12.40		
$\alpha$ -thujone		24.70	27.00	
$\beta$ -thujone	35.66			
Chrysanthénone				6.70
Camphre	34.94			
Acétate de chrysanthényle				5.60
Acétate de sabinyle		5.40		
Acétate de caryophyllène		5.70		
Davanone				18.10

D'après les tableaux 13 et 14, représentant les composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles rapportées de l'espèce *Artemisia herba-alba*, incluant le 1,8-cinéole,  $\alpha$ ,  $\beta$ -thujone et le camphre on distingue plusieurs cas :

- ✚ Les pourcentages les plus élevés en 1,8-cinéole ont été observés uniquement pour l'espèce *Artemisia herba-alba* récoltée en Egypte (Mohamed *et al.*, 2010) (chénotype).
- ✚ l'espèce *Artemisia herba-alba* trouvée dans les régions de Tunisie (semi-aride) (Kadri *et al.*, 2011), d'Errachidia et d'Oujda (Maroc) (Boutkhil *et al.*, 2009), de l'Ouest d'Azerbaïdjan (Aghaei *et al.*, 2011), Méchria (Bouchikhi *et al.*, 2010) (l'ouest d'Algérie), Jordanie (Hudaib *et al.*, 2006) et de l'Egypte (Abou El-Hamd *et al.*, 2010) sont caractérisées par la présence majoritaire de  $\alpha$ , et/ou  $\beta$ -thujone.
- ✚ Le davanone correspond au pourcentage le plus élevé dans l'huile de cette espèce distribuée dans la région de Dejelfa (Dahmani-Hamzaoui et Baaliouamer, 2010).
- ✚ Le chrysanthénone correspond au pourcentage le plus élevé dans l'huile de cette espèce récoltée au Nord-est du Maroc (Aziz *et al.*, 2012).

## V. Les huiles essentielles de *Ferula communis* & *F. lutea* :

### V. 1. Introduction :

De nombreuses espèces de *Ferula* sont connues depuis l'antiquité en tant que sources de gommés-oléorésines surtout le galbanum et l'ase fétide. L'ase fétide (*F. assa-foetida*) est réputée carminative et spasmolytique (Bruneton, 2009). Elle est rarement toxique.

Les racines et les résines des espèces de *Ferula* sont souvent les parties utilisées en médecine traditionnelle. Des travaux rapportant les activités d'espèces *Ferula* sont résumés comme suit :

- ❖ L'espèce *F. alliacea* est une source d'ase fétide et pour le traitement de l'épilepsie, de l'hystérie et de la piqûre de scorpion. Elle a des propriétés carminative et antiseptique intestinales (Heywood, 1971).
- ❖ L'espèce *F. assa-foetida* est aussi une source d'ase fétide et arômes alimentaires. ayant des propriétés diurétiques, anthelminthique, antirhumatismale et antispasmodique. Elle à des propriétés expectorantes, carminatives, laxatives, stimulante et traitement de la grippe et du cancer (Duan *et al.*, 2002 ; Heywood, 1971 ; Lee *et al.*, 2009).
- ❖ *F. badrakema* syn. *F. gummosa* ayant des propriétés stimulante et utilisée pour le Traitement de l'épilepsie, de l'hystérie et des maux d'estomac (Heywood, 1971).
- ❖ *F. communis* var. *breviedia* var. *communis*, autrefois utilisée pour traiter l'hystérie et la dysenterie. Cette plante est toxique pour les animaux et l'homme, utilisée pour son latex, pour traiter les infections de la peau (Heywood, 1971 ; Rubiolo *et al.*, 2006).
- ❖ *F. diversivittata* utilisée dans la prévention des convulsions et de l'hystérie (Iranshahi *et al.*, 2008).
- ❖ Les parties aériennes de *F. elaeochytris* sont utilisées pour augmenter la fertilité chez les animaux. Aphrodisiaque (Miski *et al.*, 1983).
- ❖ *F. ferulaeoides* syn. *F. ferulioides* utilisée pour traiter les muscles raides (Nagatsu *et al.*, 2002).
- ❖ *F. ferulago* est un antispasmodique (Abd El-Razek *et al.*, 2001).
- ❖ *F. foetida* est une source d'ase fétide, ayant des propriétés diurétique, anthelminthique, antirhumatismale et antispasmodique (Duan *et al.*, 2002 ; Heywood, 1971).

- ❖ *F. galbaniflua* syn. *F. gummosa* est une source de galbanum, utilisée dans la parfumerie et comme encens dans les églises, ayant des propriétés antispasmodiques, expectorantes, carminative, stimulante et pour le traitement de l'aménorrhée et de l'hystérie (Heywood, 1971).
- ❖ *F. hermonis* était utilisée au Moyen-Orient comme aphrodisiaque (Lhuillier *et al.*, 2005).
- ❖ *F. jeaschkeana* et *F. kuhistanica* permettent de traiter des maladies et les problèmes de peau (Heywood, 1971 ; Tamemoto *et al.*, 2002).
- ❖ *F. marmarica* et *F. orientalis* et *F. suaveolens* et *F. tingitana* sont des sources de gommés-oléorésines (Heywood, 1971 ; Miski *et al.*, 1987)
- ❖ *F. narthex* est une source d'ase fétide (Heywood, 1971).
- ❖ *F. persica* est une source d'ase fétide aussi, antidiabétique et utilisée contre les douleurs dorsales et les rhumatismes (Heywood, 1971).
- ❖ *F. sumbul* syn. *F. moschata* est une source d'ase fétide et possède des propriétés antispasmodique, stimulante et carminative, pour traiter les problèmes de système nerveux (Heywood, 1971).
- ❖ *F. teterrima* est utilisée en médecine traditionnelle chinoise pour les rhumatismes et des maladies de l'estomac (Yang *et al.*, 2006).
- ❖ *F. varia* syn *F. schair* est utilisée pour baisser la fièvre, traiter les parasites intestinaux et pour rincer la bouche, et est une source de galbanum (Suzuki *et al.*, 2007).

## V. 2. Les composants majoritaires d'huiles essentielles du genre *Ferula* :

Les huiles essentielles du genre *Ferula* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études. Nous avons classé les composants majoritaires d'huiles essentielles ( $\% \geq 5.0$ ) dans les tableaux 15-18.

**Tableau 15** : Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles de l'espèce *Ferula assa-foetida*.

Composants (%)	Iran										India
	Lares tan (Fars)	Yazd, (Dord) centre de Iran	Kerm an	Laresta n	Dara b (Fars)	Kashan (province d'Isfahan)		Kohs orkh-ekas mar	Yaz d	Kerm an Centr e d'Ira n	
	Amer	Sucré				Feuill es	fruit s				
	(Kameli <i>et al.</i> 2012)		(Khaj eh <i>et al.</i> , 2005)	(Kavoos i et Rowsha n, 2013)	(Kavoosi <i>et al.</i> , 2012)	(Bamoniri et Mazoochi, 2009)		(Mirzaei et Hasanloo, 2012)		(Sefid kon <i>et al.</i> , 1998)	(Kam eli <i>et al.</i> 2012)
$\alpha$ -Pinene	8.15		5.9				12.41				
$\beta$ -Pinene			5.0		5		6.22			5.0	
(Z)- $\beta$ -Ocimene	6.09			5.64	21.7					11.9	
(E)- $\beta$ -Ocimene										9.0	
(Z)-1-Propenyl sec-butyl disulfure	19.34	18.68	8.7	8.05	62.7			23.9	23		19.71
(E)-1-Propenyl sec-butyl disulfure	15.73	30.45	40.0	23.92				18.8	25.5	58.9	25.73
Thymol						10.89					
2-Undecene-1-ol						17.26					
Dodecanal						9.70					
Bis(1-methylthio) propyl disulfure	29.68	5.07						19.4	11.0		44.43
Bulnesol								6.7			
$\gamma$ -Elemene							32.21				
Spathulenol						8.54					
$\beta$ -Eudesmol						6.82					
Germacrene B			7.8								
1-(Propylthio)-propyle propyl disulfane		22.68									
10-epi- $\gamma$ -Eudesmol				15.09							
Tetrahydro-2-ethyl thiophène		7.14									

**Tableau 16** : Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles des espèces de *Ferula* récoltées en Iran.

Composants (%)	Région d'Iran											
	Ploor, Tehran (Sayyah et al., 2001)	Firuzkoh (2550 m) Nord d'Iran (Jalali et al., 2012)	Isfahan, (Sadraei et al., 2001)	Isfahan (Abedi et al., 2008)	Ferido nshahr (Kouyakh et al., 2008)	Kas han	Mout eh (province d'Isfahan)	Bazagh (province de'Khorasan)	Taleghan Nord ouest de Tehran (Azarnivand et al., 2011)	Meim eh (province d'Isfahan) (Ghannadi et al., 2013)	Tiges / feuilles	Fleurs / fruits
	<i>F. gummosa</i>	<i>F. gummosa</i>	<i>F. gummosa</i>	<i>F. gummosa</i>	<i>F. gummosa</i>		<i>F. kashanica</i>	<i>F. diversivittata</i>	<i>F. Ovina</i>	<i>F. Ovina</i>		<i>F. szovitsiana</i>
$\alpha$ -Thujène				8.12	5.61							
$\alpha$ -Pinène	18.30		13.00	14.28	27.97		33.21	25.80	15.20	8.20		
Sabinène				40.08								
Camphène						5.04	16.82	11.38			8.00	5.50
$\beta$ -Pinène	50.10			14.11	30.68	28.44		6.34			6.70	3.90
Myrcène			10.00	8.46			8.66	7.90	7.70			
Phellandrène						10.30					8.90	
<i>iso</i> -Sylvestrène									5.10			
$\delta$ -3-Carène	6.7		9.00			8.86						
Limonène			14.00		6.78	5.09	20.30	15.42	16.90	6.70		
(Z)- $\beta$ -Ocimène									6.10			
$\gamma$ -Terpinène			6.00									
Acétate de endofenchyle					6.70							
Acétate de Bornyl					6.22	11.61						
Terpinolène			12.50									

---

Linalool			9.00									
Phellandral			5.00									
Carvacrol									9.00			
Neryl acetate										33.00	41.50	
Carotol									6.50			
Bulnesol		7.11										
Propionate de geranyle									7.00			
Isovalerate de geranyle									7.20			

**Tableau 17** : Composants majoritaires (%  $\geq$  5.0) d'huiles essentielles des espèces de *Ferula* récoltées en Europe.

Composants (%)	(Geminbeli Valley) Sivas, Turquie (Kartal <i>et al.</i> , 2007)	Marche (Camerino) centre d'Italie (Maggi <i>et al.</i> , 2009a)		Djerdap Gorge Serbie (Pavlović <i>et al.</i> , 2012)	Chania (Crete) Grèce (Manolakou <i>et al.</i> , 2013)	Antalya, Elmalı Turque (Kose <i>et al.</i> , 2010)	Pioraco, Centre d'Italie (Maggi <i>et al.</i> , 2009b)			
		feuilles	fleurs				feuilles	fleurs	fruits	racines
	<i>F. orientalis</i>	<i>F. glauca</i>		<i>F. heuffelii</i>	<i>F. communis</i>	<i>F. lycia</i>	<i>F. glauca</i>			
$\alpha$ -pinene	12.50		6.80			59.89		11.70	24.20	
$\beta$ -pinene						19.01		5.10	14.70	
Myrcene			10.10					13.60		
$\alpha$ -phellandrene	11.50									
$\beta$ -Phellandrene	23.60									
<i>p</i> -cymene					5.00					
(E)- $\beta$ -Ocimene	13.80									
Caryophyllène (E)		20.50	9.40					24.90	8.20	
$\beta$ -Barbatene										6.10
$\alpha$ -Humulene		7.60						6.8		
dehydro-Sesquicineole	10.10									
$\beta$ -Farnesene										10.00
germacrene D		6.80	16.40					5.70	14.20	
Epizonarene										7.10
$\beta$ -Bisabolene										5.10
$\gamma$ -Cadinene					5.40					6.80
$\delta$ -Cadinene					7.00					
Myristicin				20.60						7.40
Elemicin				35.40						9.00
Oxyde de caryophyllène		13.90			8.20			14.30		
Cedrol				5.10						
$\gamma$ -Eudesmol					6.20					
$\beta$ -Eudesmol					9.70					

---

$\alpha$ -Eudesmol					12.60					
--------------------	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--

**Tableau 18** : Composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ) d'huiles essentielles des espèces de *Ferula* récoltées en Asie sauf l'Iran.

Composants (%)	Naor, Jordanie (Al-Ja'fari <i>et al.</i> , 2011)	Kashmir Inde (Garg <i>et al.</i> , 1989)	L'ouest de Mongolie (Shatar, 2005)	Montagne d'El Cheikh, Liban (Hilan <i>et al.</i> , 2007)	
				Fleurs	Racines
	<i>F. hermonis</i>	<i>F. jaeschkeana</i>	<i>F. ferulaoides</i>	<i>F. hermonis</i>	
$\alpha$ -Pinene	43.40	8.32		38.00	31.00
1,8-Cineole					6.00
<i>p</i> -Cymene		14.30			
Limonene		25.96			
Terpinen-4-ol		5.80			
Acétate de linalyle					16.00
Carvacrol				5.50	
Nérolidol			10.16		
Guaiol			58.76		
Bisabolol	11.10				

On trouve également que l'espèce de *F. vesceritensis* (Zellagui *et al.*, 2012) distribuée au Sud Est d'Algérie est caractérisée par les composants majoritaires suivants : acétate de dihydrocarvyle (6.20 %), carvacrol (8.57 %), germacrene D (24.51%) et bisabolol (8.57%).

D'après les tableaux 15-18, représentant les composants majoritaires ( $\% \geq 5.0 \%$ ), incluant l' $\alpha$ -,  $\beta$ - pinene, le 1-propenyl sec-butyl disulfure *cis* et *trans*, le limonene et le germacrene D, on distingue plusieurs cas :

- On observe que l' $\alpha$ -pinène et le  $\beta$ -pinène sont des chénotype de ce genre dans trois espèces, de *F. lycia* (Antalya, distribués en Turkey) (Kose *et al.*, 2010), de *F. Gummosa* (Isfahan) (Abedi *et al.*, 2008) et *F. gummosa* boiss. (Ploor, Tehran) distribuées en Iran (Sayyah *et al.* 2001) respectivement.
- Le 1-propenyl sec-butyl disulfure est un chymotype pour l'espèce *F. assa-foetida* (Darab, Fars), distribuée au centre d'Iran (Kavoosi *et al.*, 2012) et on remarque que ce composé se trouve uniquement pour cette espèce dans la plupart des régions.
- Le guaiol est un chymotype de l'espèce *F. ferulaoides* (distribuée à l'ouest de Mongolie) (Shatar *et al.*, 2005).
- Le limonène est un composé majoritaire dans les huiles des espèces *F. gummosa* (Kouyakhii *et al.*, 2008 ; Sadraei *et al.*, 2001), *F. kashanica*, *F. diversivittata* (Akhgar *et al.*, 2011), *F. Ovina* (Azarnivand *et al.*, 2011 ; Ghannadi *et al.*, 2013) (Iran) et *F. Jaeschkeana* (Garg *et al.*, 1989) (India).
- Le germacrene D est un composé majoritaire dans les huiles des espèces *F. vesceritensis* (Zellagui *et al.*, 2012) (distribuées au sud d'Algérie), et *F. glauca* (Maggi *et al.*, 2009a) (feuilles et fleurs) (Centre d'Italie).

**VI. Les huiles essentielles de *Senecio giganteus* :**

**VI. 2. Les composants majoritaires d'huiles essentielles du genre *Senecio* :**

Les huiles essentielles du genre *Senecio* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études. Nous avons classé les composants majoritaires d'huiles essentielles ( $\% \geq 5.0$ ) dans le tableau 19:

**Tableau 19** : Composants majoritaires (% ≥ 5.0) d'huiles essentielles du genre *Senecio*.

Compounds (%)	Tres Cruces (Jujuy)	Benha, Kalubeya Egypte (El-Shazly <i>et al.</i> , 2002)			Uzungöl, Trabzon-Turque (Kahriman <i>et al.</i> , 2011)			Takoucht, Setif Algerie (Lograda <i>et al.</i> , 2012)	San Juan Bosco Argentine (Aranibia <i>et al.</i> , 1999)	Fluna, Santa Cruz Argentine (Balzarotti <i>et al.</i> , 2000)	Réunion, France (Robert <i>et al.</i> , 2011)	Nainital, Inde (Misra <i>et al.</i> , 2011)
	Argentine (Pérez <i>et al.</i> , 1999)	fleurs	feuilles	tiges	fleurs	feuilles	tiges		<i>S. perralderianus</i>	<i>S. filaginoides</i>	<i>S. Filaginoides</i>	<i>S. ambavilla</i>
1-Nonane		17.00	22.00	19.00								
α-Pinène								8.80	20.00	9.00	14.00	
β-Pinène										5.60		12.23
Myrcène		8.90		10.60								
α-Terpinène	60.00									41.67		
Sylvestrène									6.00			
β-Terpinène									28.00			
<i>p</i> -Cymène	14.00											
Undecane							12.00					
Undecene					7.40	8.30						
Bornéol					11.90	13.40						
Terpinen-4-ol	5.50											
Geraniol					13.00	13.60						
β-Cubebène								5.50				
β-Caryophyllène					6.00		7.20					
γ-Curcumène							14.90					
allo-Aromadendrène											40.00	
Germacrène D								5.80				40.19
α-Zingiberène						16.10	9.00					
α-Cuprenène					30.70							
α-Farnesène							8.80					
γ-Cadinène								15.30				
(E)-γ-Bisabolène						6.40						
γ-Eudesmol								4.90				

---

$\beta$ -Eudesmol					9.30	5.30						
6-Methoxy-2-(1-buten-3-yl)-naphthalene							6.50					

---

D'après le tableau 19, représentant les composants majoritaires ( $\% \geq 5.0$ ), on observe que :

- les pourcentages les plus élevés en  $\alpha$ -terpinène sont trouvés dans l'espèce *S. graveolens* (Tres Cruces) (Pérez *et al.*, 1999), et *S. Filaginoides* (Fluna, Santa Cruz) (Arancibia *et al.*, 1999).
- l' $\alpha$ -pinène correspond au composé majoritaire dans les huiles des espèces *S. perralderianus* (Lograda *et al.*, 2012) dans la région de Takoucht, (Setif), *S. ambavilla* (Robert *et al.*, 2011) récoltée des îles de la Réunion (France), *S. filaginoides* (Arancibia *et al.*, 1999) et *S. Filaginoides* (Balzaretti *et al.*, 2000) (Argentine).

## **CHAPITRE 3**

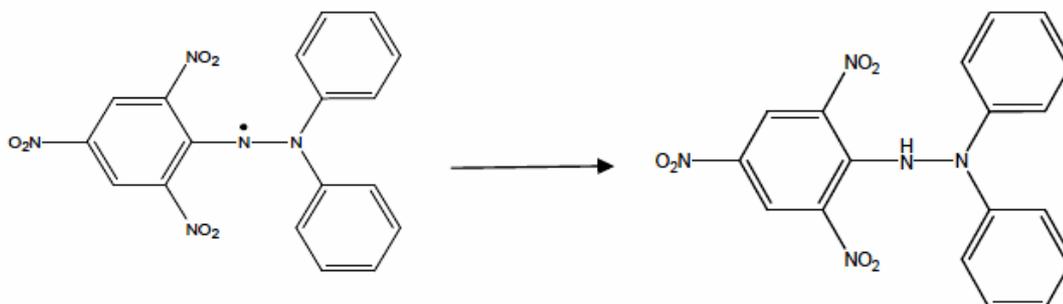
# Activité antioxydante

**Généralité sur les méthodes utilisées dans l'activité antioxydante :****I. Définition :**

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le Picnogénol. La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\bullet$ ) et superoxydes ( $\text{O}_2\bullet$ ) (Antolovich *et al.*, 2002 ; Bartosz, 2003 ; Burda et Oleszek, 2001 ; Rice-Evans *et al.*, 1995).

**II. les méthodes les plus utilisés dans l'étude de l'activité antioxydante :****II. 1. DPPH :****II. 1. a) Réaction entre le radical libre DPPH $\bullet$  et l'antioxydant :**Principe de la méthode :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams *et al.*, 1995) (figure 32). Le DPPH $\bullet$  reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH $\bullet$ . La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH $\bullet$ , mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.



Equation du radical DPPH $\bullet$  transformé en DPPH.

Ce radical est souvent utilisé pour estimer l'activité antioxydante de nombreux composés, dont les composés phénoliques.

### II. 1. b) Méthode de la RPE :

Parmi les techniques mises au point pour mesurer l'activité antioxydante de composés, l'utilisation de la Résonance Paramagnétique Electronique (R.P.E.) est satisfaisante, spécialement lorsque des mécanismes radicalaires sont mis en jeu. En effet, l'analyse du spectre obtenu en R.P.E. est spécifique du radical étudié (figure 15).



Figure 15. Spectromètre ESP300E Bruker.

La RPE, outre le fait qu'elle permette l'identification du radical étudié, a la capacité de détecter les radicaux libres dès les plus faibles concentrations (seuil de sensibilité  $\sim 10^{-8}$  M). Sa précision en fait un des outils de choix pour l'étude de l'activité antioxydante de composés biologiques ou de molécules (Rimbach *et al.*, 1999).

Les mesures effectuées en R.P.E. se basent sur deux techniques différentes, le « spin-labelling » et le « spin-trapping ».

#### II. 1. c) 1. Le «spin-labelling» :

L'échantillon à étudier est un composé qui est un radical en lui-même (spin-label). Ce composé radicalaire va présenter la particularité d'être stable au cours du temps et donner un spectre caractéristique en RPE.

La mesure de l'activité antioxydante d'un composé est déterminée par la capacité du composé à capter le radical du «spin label» en le transformant en un composé non radicalaire sans réponse en RPE. La réduction du «spin label» se caractérise alors par une

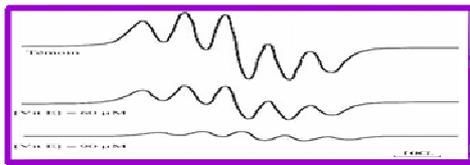
diminution de l'amplitude du signal mesuré. Lors de notre étude, le radical que nous avons utilisé est le 1,1- Diphényl-2-Pyrcil-Hydrazyl (DPPH). Ce radical est stable et facilement détectable par R.P.E. Il présente de plus l'avantage de pouvoir être utilisé en présence de tous les solvants employés dans notre étude. Dans ce cas, le spin-label est utilisé comme simple marqueur d'activité antioxydante et permet d'obtenir une information quantitative sur l'activité du composé à étudier. Il est à noter que ce test utilisant le DPPH est aussi développé par spectrophotométrie visible, en suivant la décoloration du DPPH (de couleur violette) à 517 nm lorsqu'il est réduit par un composé antioxydant. Les concentrations, et donc la quantité des échantillons utilisés, sont toutefois supérieures à celles nécessaires en R.P.E. (Jost et Griffith, 1984).

### II. 1. c) 2. Le «spin-trapping» ou piégeage de spin :

Du fait de leur extrême instabilité, les radicaux libres, notamment les radicaux oxygénés, ont une durée de vie très courte ( $\frac{1}{2}$  vie  $O_2^{\bullet -} = 10^{-6}$  s,  $\frac{1}{2}$  vie  $OH^{\bullet} = 10^{-9}$  s à 37°C) (Rimbach, 1999). Cette très faible durée de vie ne leur permet pas d'atteindre la concentration nécessaire à leur détection ultérieure par RPE. Afin de pallier ce problème, l'équipe du professeur Janzen a introduit en 1968 une nouvelle technique dite de «spin trapping» ou piégeage de spin (Halliwell, 1997). Cette méthode consiste à ajouter dans le milieu d'étude, un composé organique appelé piégeur de spin (PS). Ce dernier va réagir rapidement avec les radicaux libres ( $R^{\bullet}$ ) formés pour donner un nouveau composé appelé spin adduit » ( $A^{\bullet}$ ), dont la durée de vie sera supérieure à celle du radical qu'il a capté, et qui le rendra détectable par RPE. Le processus de piégeage de spin est représenté par l'équation ci-dessous (Janzen *et al.*, 1985).



En pratique, l'activité antioxydante = Capacité à capter le radical DPPH stable en le transformant en un composé non radicalaire sans réponse en RPE. La réduction se caractérise alors par une diminution de l'amplitude du signal mesuré.



$$\% inhibition = \frac{(ref - extrait)}{(ref - bdf)}$$

**ref:** double intégrale du signal de référence composé du mélange DPPH + solvant

**extrait:** double intégrale du signal de DPPH + extrait

**bdf:** mesure du bruit de fond occasionné par le solvant sans DPPH

## II. 1. d) Evaluation du potentiel anti-radicalaire :

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées: d'une part, la détermination de la réduction relative du radical DPPH• à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH• et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998 ; Scherer et Godoy, 2009). Dans la première approche, l'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité antiradicalaire en pourcentage % RSA (Radical Scavenger Activity), où l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps  $t$  :

$$\% RSA = [A_{\text{contrôle}} - (A_{\text{échantillon}} - A_{\text{blanc}})] / A_{\text{contrôle}} \times 100$$

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), les antioxydants synthétiques BHT (butylhydroxytoluène) ou le Trolox (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E (Molyneux, 2004).

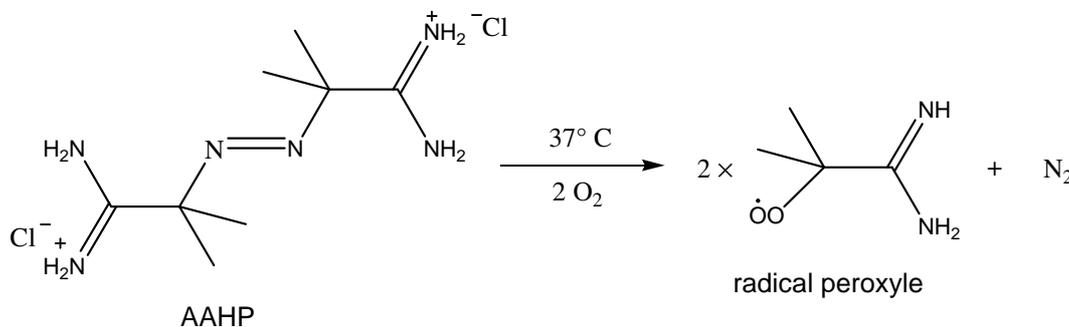
## II. 2. Méthode de l'ABTS :

L'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical  $ABTS^{*\cdot}$ , obtenu à partir de l'ABTS : sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine) (Miller et Rice-Evans, 1997) ou (horseradishperoxidase) (Arnao *et al.*, 2001) en présence de  $H_2O_2$  ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse) (Benavente-Garcia *et al.*, 2000 ; Miller *et al.*, 1997) ou persulfate de potassium (Re *et al.*, 1999). Le radical  $ABTS^{*\cdot}$ , en contact avec un donneur de  $H^\cdot$  conduit à l' $ABTS^+$  et à la décoloration à 734 nm de la solution (Lien *et al.*, 1999). La formation et le piégeage du radical  $ABTS^{*\cdot}$  par un antioxydant donneur de  $H^\cdot$ . Le radical  $ABTS^{*\cdot}$  (absorbant à 734 nm) est formé par arrachement d'un électron  $e^-$  à un atome d'azote de l'ABTS. En présence de Trolox (ou d'antioxydant donneur de  $H^\cdot$ ), l'atome d'azote concerné piège un  $H^\cdot$ , conduisant à l' $ABTS^+$ , ce qui entraîne la décoloration de la solution (Lien *et al.*, 1999).

## II. 3. Méthode TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter) :

La méthode TRAP a été développée par Wayner (Wayner, *et al.* 1985) en 1985 et est basée sur la mesure d'oxygène consommé lors d'une réaction de peroxydation lipidique. Cette réaction d'oxydation est induite par la décomposition thermique de l'AAPH (dichlorhydrate de 2,2'-azobis-2-méthyl-propanimidamide) qui permet de générer un radical peroxyde. Les résultats sont exprimés en  $\mu$ moles de radicaux peroxydes captés par litre de milieu étudié.

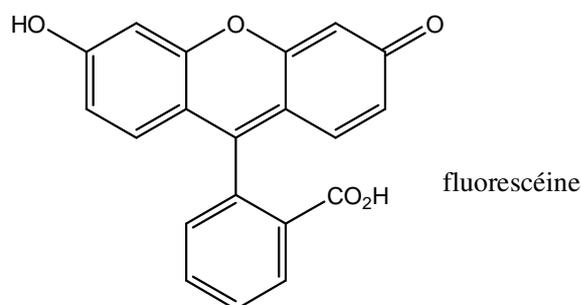


Wayner suivait la consommation de l'oxygène à l'aide d'une électrode thermostatée à oxygène. Cependant, une électrode à oxygène n'est pas stable durant toute la période de mesure.

#### II. 4. Méthode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) :

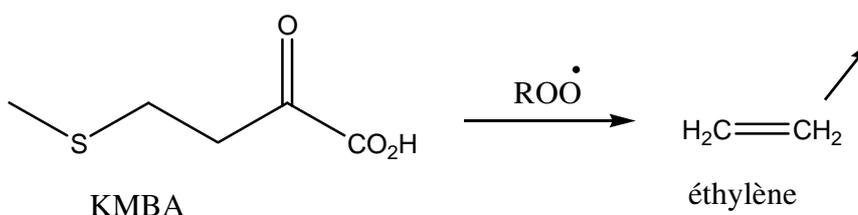
La méthode ORAC permet de mesurer la capacité d'un composé étudié à préserver une sonde de fluorescence de l'oxydation par un radical peroxyde. Comme pour la méthode TRAP, le radical peroxyde est formé à partir de l'AAPH. La réaction de ce radical avec la sonde de fluorescence s'accompagne d'une perte de la fluorescence. L'effet protecteur d'un antioxydant contre les radicaux peroxydes est ainsi déterminé par comparaison de la variation de fluorescence en présence ou non d'un composé potentiellement antioxydant.

Durant les premiers travaux, la B-phycoérythrine (B-PE) était utilisée comme sonde de fluorescence (Cao *et al.*, 1993 ; Cao et Prior, 1999). Cette méthode a été remplacée avec succès par la fluorescéine (Ou *et al.*, 2001) et la dichlorofluorescéine (Valkonen et Kuusi, 1997).



#### II. 5. Méthode TOSC (*Total Oxyradical Scavenging Capacity*) :

Cette méthode, développée par Winston (Winston *et al.* 1998), utilise la réaction d'oxydation de l'acide 2-céto-4-méthiobutyrique (KMBA) en éthylène par un radical peroxyde. Ce radical est formé à partir de l'AAPH et la formation d'éthylène est mesurée par chromatographie gazeuse. Le pouvoir antioxydant d'un composé est évalué par sa capacité à inhiber la formation d'éthylène.



**II. 6. Méthode CUPRAC :**

La méthode du CUPRAC (cupric reducing antioxidant capacity) est basée sur la mesure de l'absorbance en présence de standards :  $\alpha$ -tocopherol et BHT (butyl-hydroxy-toluène) (Apak *et al.*, 2004).

**II. 7. Méthode du métal chélatant :**

Cette méthode se base sur la complexation par le ferrene- $Fe^{+2}$ , l'EDTA (l'acide éthylènediaminetétraacétique) est utilisé comme standard (Decker *et al.*, 1990).

## **CHAPITRE 4**

# Activité antibactérienne

## **Activité antibactérienne :**

### **1. Introduction :**

De nombreux travaux antérieurs et actuels pour la recherche de nouvelles molécules étaient focalisés sur la mise en évidence de pouvoir antibactérien de plantes médicinales en raison de l'évolution rapide des bactéries pathogènes vers la multirésistance aux antibiotiques. Ceux dont l'efficacité contre les micro-organismes pathogènes ont été prouvés, trouvent des applications pratiques dans divers domaines. Les polyphénols et les huiles essentielles constituent les extraits les plus largement exploités. Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs.

Les antibiotiques ont montré aussi d'autres inconvénients et des limites d'utilisation: les effets secondaires, toxicité des molécules antimicrobiennes pour l'organisme traité et les difficultés rencontrées dans le traitement des maladies exigeant la destruction des germes pathogènes indépendamment des facultés de défense du malade (Siegenthaler et Luthy, 1978).

### **2. Principe :**

L'antibiogramme est un examen de laboratoire permettant d'apprécier la sensibilité d'une bactérie prélevée chez un malade vis-à-vis de divers antibiotiques (Dabena, 1997). La technique utilisée est celle de l'aromatogramme, identique à celle de l'antibiogramme utilisé pour tester les antibiotiques. C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles chémotypées. Différents types d'aromatogrammes, en milieu solide, liquide ou gazeux, sont exploitables. Les prélèvements effectués sur des malades sont préparés puis mis en contact avec différents milieux nutritifs (géloses enrichies) sur boîtes de Pétri. Placés dans une étuve à 37,5 °C, dans des conditions optimales de culture, les germes pathogènes se développent rapidement sur le milieu nutritif.

Sur ces colonies microbiennes, plusieurs séries (6 à 8 par boîte) de petits disques de papier buvard imprégné de différentes huiles essentielles à tester sont ensuite disposées. Après un temps de latence à 37,5 °C, le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré. Chaque halo, une zone claire, montre la destruction des germes

pathogènes et donne une indication précise de l'activité antibactérienne des huiles utilisées.

### **3. Techniques en milieu liquide :**

#### **3. a) Méthode des disques de Sarbach :**

L'essence est déposée à différentes concentrations sur des disques en papier filtre de 10 mm de diamètre, l'ensemble est placé dans des tubes à essai. Dans chaque tube est réparti un certain volume de bouillon nutritif ensemencé. Une agitation mécanique est assurée pendant toute la durée de l'incubation.

L'action bactéricide totale est confirmée par repiquage en milieu liquide d'une anse prélevée sur le milieu liquide de subculture. Le pouvoir bactéricide partiel est apprécié par l'évaluation du pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide (Banquour, 2000 ; Dorman et Deans, 2000).

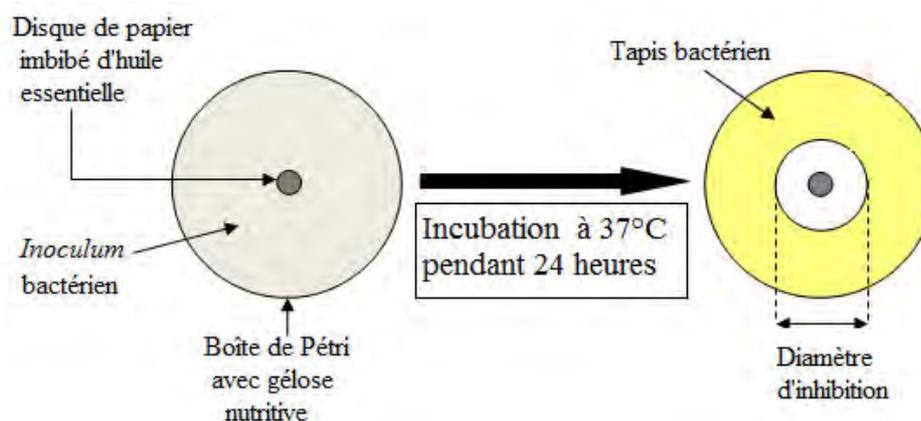
#### **3. b) Méthode de Maruzuella :**

Le pouvoir bactéricide est déterminé en bouillon après solubilisation de l'huile essentiel dans l'éthanol. Les solutions mères sont préparées dans l'éthanol 95 %, la solution alcoolique est ensuite répartie à différentes doses dans le milieu liquide préalablement ensemencé. Après la durée d'incubation, on effectue des subcultures qui permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) (Banquour, 2000).

### **4. Techniques en milieu solide :**

#### Méthode de Vincent :

Technique de l'antibioaromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques (Dayal et Purohit, 1971). Dans cette méthode, on utilise des disques de papier Whatman 3 mm, imprégnés de l'huile essentielle et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm. La dilution des huiles essentielles se fait toujours dans un solvant tel que l'éthylène glycol (Martinez Nadal *et al.*, 1973), l'acétone (Conner et Beuchat, 1984), l'éthanol à 95% (Cornet, 1981). Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'huile essentielle par diffusion dans la gélose. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles (Tharib *et al.*, 1983) (Figure 16).



**Figure 16.** Principe de la méthode de diffusion par disque (Tharib *et al.*, 1983).

### 5. Méthode générale des CMI et CMB par dispersion dans le milieu de culture :

Cette technique de détermination des CMI par contact direct en milieu gélosé ou liquide, consiste à disperser l'agent antimicrobien en concentration variable de façon homogène et stable dans le milieu de culture du germe étudié (Allegrini *et al.*, 1973). Cette technique, très fiable et reproductible pour les agents antimicrobiens hydrosolubles, pose un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les huiles essentielles qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture aqueux.

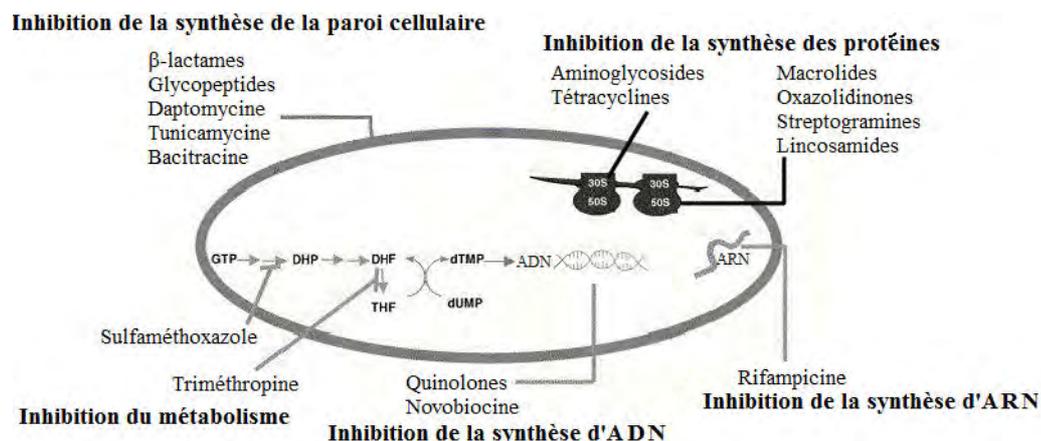
Ce problème a été résolu en partie par l'utilisation d'émulsions des huiles essentielles dans des solutions de différents détergents comme le Tween 20 et le Tween 80 (Allegrini *et al.*, 1973 ; Benjilali, 1986) ou de solvant comme l'éthanol (Drugeon *et al.*, 1991).

### 6. Mode d'action contre les bactéries :

Il y a peu d'études sur les mécanismes d'action de l'activité antimicrobienne. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des huiles essentielles. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des huiles essentielles ait son propre mécanisme d'action d'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, 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 et la synthèse des composants de structure.

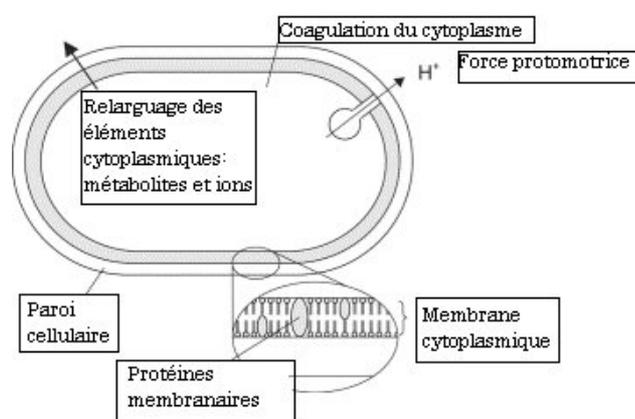
- destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Figure 17).



**Figure 17.** Mode d'action des antibiotiques (Sikkema *et al.*, 1994).

Avec DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate.

La principale caractéristique des molécules présentes dans les huiles essentielles est leur hydrophobicité. Elle permet leur solubilisation dans les membranes, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (Sikkema *et al.*, 1994). Ces modifications entraînent une fuite d'ions et de composés intracellulaires (Carson *et al.*, 2002 ; Ultée *et al.*, 1999). Si la perte de matériel est trop importante ou si les éléments cytoplasmiques relargués sont indispensables à la survie de la bactérie, cela entraîne la mort cellulaire (figure 18).



**Figure 18.** Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne. (Burt, 2004).

# Matériel et méthodes

## **CHAPITRE 1**

# Extraction, identification et analyse des flavonoïdes

**I. Méthodes de séparation et d'identification des flavonoïdes :**

La détection et l'identification des flavonoïdes se font par plusieurs méthodes qui se complètent :

**I. 1. Séparation :**

La séparation des produits flavoniques est essentiellement réalisée par des méthodes chromatographiques :

- Chromatographie sur colonne.
- Chromatographie sur couche mince.
- Chromatographie sur papier.

**I. 1. a) Chromatographie sur colonne :**

En général, on utilise comme phase stationnaire, le gel de polyamide ou de silice et des systèmes de solvants composés de toluène / méthanol à gradient croissant (cas de polyamide) ou des systèmes composés de solvants de type cyclohexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol etc... selon que la phase à séparer soit celle de l'acétate d'éthyle ou du butanol (cas du gel de silice).

**I. 1. b) Chromatographie sur couche mince :**

Pour cette technique on utilise du gel de polyamide DC6 dans les systèmes suivants :

S1 4/3/3 : Toluène / Méthyléthylcétone / Méthanol.

S2 13/3/3/1 : eau / Méthyléthylcétone / Méthanol / Acétylacétone.

**I. 1. c) Chromatographie sur papier :**

Le support utilisé est le papier Whatman N° 3 (46 cm × 57 cm), les systèmes de solvants utilisés contiennent souvent de l'acide acétique pour améliorer les séparations et pour éviter les traînées dues à l'ionisation des molécules (McLafferty et Michnowicz, 1992).

Les solvants chromatographiques de bases sont :

1. M/A/W (4/1/5) : Méthanol / Acide acétique/ eau.
2. B/A/W (4/1/5) : n-butanol / Acide acétique/ eau.
3. AcOH : Acide acétique à différentes concentrations de 5 à 70%.
4. T/B/A : Tertibutanol / Acide acétique/ eau.

**I. 2. Identification :**

Une fois que les produits isolés sont purifiés, les techniques suivantes sont utilisées pour déterminer la structure des composés flavoniques :

- ◆ Fluorescence sous lumière UV.
- ◆ Co-chromatographie sur couche mince en présence de témoins.
- ◆ Spectrométrie UV-visible.
- ◆ Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire.
- ◆ Spectrométrie de masse.

**I. 2. a) Fluorescence sous lumière UV :**

Le tableau 20 résume la relation entre les spots des flavonoïdes et leurs structures (El-Ghonemy, 1993 ; Harraz *et al.* 1994 ; Geppert *et al.* 1983).

**Tableau 20 :** Relation entre la couleur du spot et la structure flavone ou flavonol.

Couleur du spot du flavonoïde	Type de flavonoïde
Poudre-noir	-5,4'-OH flavones/flavonols avec 3,3' non libres ou 5'-OH. Même chose mais avec le groupement dihydroxylé en 3',4' flavones/flavonols comme au-dessus mais avec 6 et/ou 8-OH additionnel. 5-OH flavones/flavonols (3-OR) avec 4'-OH substitué.
Jaune brillant, fluorescence orangée	Flavonols avec 3-OH libre avec ou sans la 5-OH, souvent les 7 glycosides, Aurones, Chalcones, flavanones.
Jaune terne	Flavonols aglycones.
Bleu fluorescent	Flavones/flavonols (3-OH) à défaut d'un 5-OH libre.
Noir	Flavonols 5,6,7 tri-OH libre. Flavonols 5,7,8 tri-OH libre.
Violet	Flavones 5-OH libre et 4'-OH. Flavones (3-OR) et 5-OH, 4'-OH. Flavones 6-ou 8-OH libre. Chalcones, isoflavones, dihydroflavonols, flavonones.
Jaune pâle	Dihydroflavonols.

**I. 2. b) Relation  $R_f$  structure :**

La relation  $R_f$ - structure a été établie par Bate-Smith et Westall (De Hoffmann, 1999 ; Mabry *et al.* 1970).  $R_f$  est une valeur importante à connaître et facile à déterminer, il est défini comme le rapport entre la distance  $d$  parcourue par l'origine de la substance ayant migré et la distance  $D$  parcourue par l'origine et le front du solvant :

$$R_f = d/D$$

$R_f$  est une valeur caractéristique d'un composé pour des conditions de chromatographie donnée (éluant, température).  $R_f$  est égale à 1, dans le cas de produit très solubles dans la phase mobile et insolubles dans la phase stationnaire.

Inversement  $R_f$  est nul lorsque le produit est trop peu soluble dans la phase mobile.

**Tableau 21 :** Relation  $R_f$  et structure flavonique.

Structure flavoniques	$R_f$
Augmentation des groupes hydroxyles	$R_f$ diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvant aqueux (Markham, 1982).
Glucosylation	$R_f$ augmente dans les solvants aqueux $R_f$ diminue dans les solvants organiques (Markham, 1982).
Méthylation des hydroxyles	$R_f$ diminue dans les systèmes de solvants aqueux et augmente dans les systèmes de solvants organiques (Markham, 1982).

**I. 2. c) Spectrophotométrie UV-visible :**

Les flavonoïdes sont capables d'absorber sélectivement une partie de la lumière. Les fractions chimiques responsables de cette absorption sont dites Chromophores. Les groupements chimiques comme l'hydroxyle et le méthoxyle sont susceptibles de modifier la couleur de base offerte par le chromophore. Ainsi l'effet bathochrome correspond à une modification de la structure moléculaire par addition de groupements chimiques auxochromes. L'étude de ces propriétés se fait par la spectrophotométrie UV –Visible qui est une méthode très importante pour la détermination des composés flavoniques.

Chaque produit a un spectre d'absorption dans le méthanol et l'addition des réactifs provoque un changement dans ce spectre donne des indications précises sur le squelette flavonique (Harborne, 2000 ; Markham, 1982 ; Voirin, 1983).

### **I. 2. c) 1- Absorption dans le méthanol :**

L'absorption ultraviolette des flavonols dans le méthanol neutre donne deux bandes:

- ✓ la bande I : apparaissant entre 320 et 380 nm correspondant à l'absorption du système cinnamoyle.
- ✓ la bande II : apparaissant entre 240-280 nm correspondant à l'absorption du système benzoylé.

### **I. 2. c) 2- Absorption en présence de réactifs spécifiques:**

L'utilisation des réactifs spécifiques permet d'indiquer la nature des substituants sur le squelette flavonique.

#### En présence de NaOH :

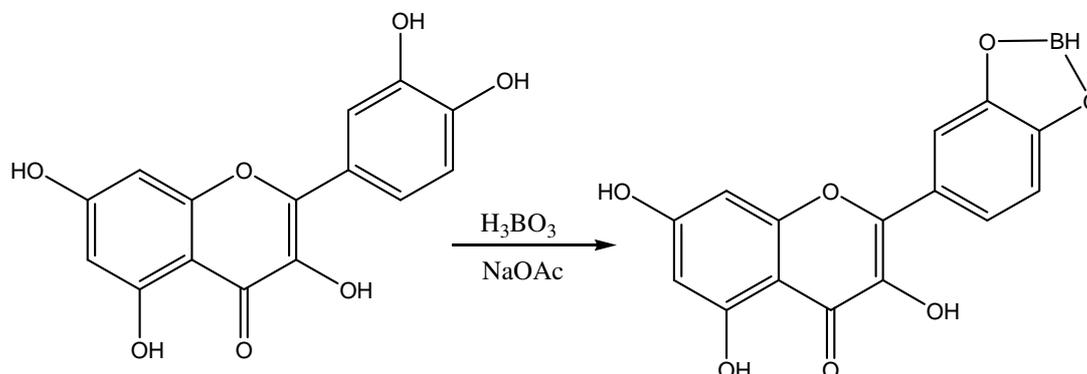
NaOH est une base forte, elle ionise tous les hydroxyles phénoliques de la molécule, ce qui indique un déplacement bathochrome de la bande I. L'enregistrement du spectre en présence du NaOH se fait en deux temps, instantanément, et après cinq minutes :

- Un déplacement bathochrome de 45-65 nm de la bande I, accompagné d'une stabilité de la densité optique qui confirme la présence d'un OH libre en 4'.
- Un déplacement bathochrome de 50-60 nm de la bande I, accompagné d'une diminution d'intensité, indique la présence d'un OH en 3.
- La présence d'un hydroxyle libre en position 7 peut être confirmée par l'apparition d'une nouvelle bande entre 320 et 335 nm.
- 

#### En présence de NaOAc et NaOAc + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> :

L'acétate de sodium NaOAc est une base faible qui ionise les hydroxyles phénoliques les plus acides de la molécule 3, 7 et 4' (Markham, 1976). Elle provoque un effet bathochrome de 5 à 20 nm, sur la bande II qui indique la présence d'un hydroxyle libre en 7.

L'addition d'acide borique en présence de l'acétate de sodium provoque un déplacement bathochrome de la bande I avec 12 à 13 nm suggérant un système orthodihydroxyle.



#### En présence de $\text{AlCl}_3$ et $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ :

La présence (ou absence) de système orthodihydroxylé dans les flavonoïdes peut être déduit à partir de l'analyse de leur spectre dans le méthanol avant et après l'addition de chlorure d'aluminium et l'acide chlorhydrique, la formation d'un complexe stable entre le groupement carbonyle et l'hydroxyle en 5 (ou en 3) et d'un complexe labile avec le système orthodihydroxylé sur les cycles A ou B (Mabry *et al.* 1970).

L'utilisation de  $\text{AlCl}_3$  pour la détection de groupement orthodihydroxylé, se traduit par un effet bathochrome de la bande I par rapport au spectre méthanolique neutre.

L'addition de HCl permet de s'assurer de la stabilité du complexe formé. La présence d'un système orthodihydroxyle est observée, sur le spectre obtenu avec le  $\text{AlCl}_3$  acidifié, par un déplacement hypsochrome de la bande I de 30 à 40 nm par rapport au spectre de  $\text{AlCl}_3$ . Un déplacement hypsochrome de la bande I de 20 nm est significatif d'une flavone tri-substituée sur le noyau B.

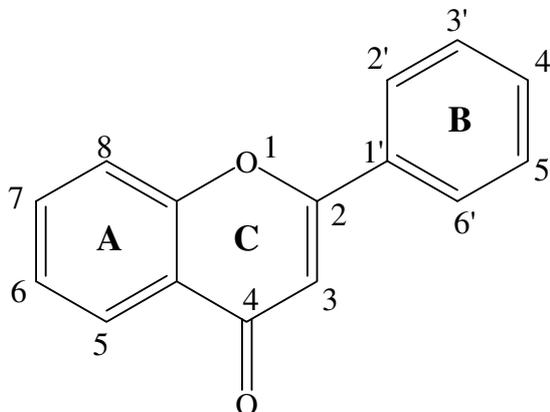
D'autre part, le spectre obtenu avec  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$  donne un déplacement bathochrome de la bande I de 60 nm, indiquant la présence de OH libre en 3, et éventuellement en 5. Un déplacement de cette bande de 35 à 55 nm signifie que l'hydroxyle en position 5 est libre.

#### **I. 2. d) Spectroscopie $\text{RMN}^1\text{H}$ :**

On utilise cette méthode dans l'analyse qualitative des flavonoïdes pour déterminer :

- Le nombre total de proton à partir de la courbe d'intégration.

- Le degré d'oxydation des noyaux A, B et C
- Le nombre des molécules de sucre et le type de liaison anomérique  $\alpha$  et  $\beta$  entre le sucre et l'aglycone.
- Le nombre et la position de groupements méthoxyle dans le produit.



### I. 2. d) 1- Protons aromatiques :

#### Protons du noyau A :

Selon les substitutions possibles. Les résonances et les multiplicités des protons  $H_5$ ,  $H_6$  et  $H_8$  sont résumées dans le tableau 22 (Agrawal, 1989 ; Harborne, 2000):

**Tableau 22 :** déplacement et multiplicité des protons du noyau A.

Flavonoïdes	H5 ( $\delta$ , ppm) ( $J$ , Hz)	H6 ( $\delta$ = ppm) ( $J \approx$ Hz)	H8 ( $\delta$ , ppm) ( $J$ , Hz)
5,7-di-hydroxy	-	6.00-6.20 ( $\approx 2.5$ )	6.30-6.50 ( $\approx 2.5$ )
5-OH 7-hydroxy, glucoside	-	6.20-6.40 ( $\approx 2.5$ )	6.50-7.00 ( $\approx 2.5$ )
5, 6, 7-OR R=H, sucre	-	-	6.3 (s)
5, 7, 8-OR	-	6.3 (s)	-
7-OR R=H, sucre	8.00 d (9)	6.70-7.10 dd ( $\approx 9$ et $\approx 2.5$ )	6.70-7.10 d ( $\approx 2.5$ )

#### Protons du noyau B :

Le déplacement chimique est basé sur les substituent dans le noyau B et le degré d'oxydation du noyau C (tableau 23).

**Tableau 23** : déplacement chimiques et multiplicité des protons du noyau B.

Flavonoïdes	Déplacement chimique (ppm) H <sub>2</sub> ' , H <sub>6</sub> ' ( $J \approx 8.5\text{Hz}$ )	Déplacement chimique (ppm) H <sub>3</sub> ' , H <sub>5</sub> '
4'-hydroxyflavone	7.70-7.90 (d)	6.50-7.10 (d) $J \approx 8.5\text{Hz}$
4'-hydroxyflavonol	7.90-8.10 (d)	6.50-7.10 (d) $J \approx 8.5\text{Hz}$
3',4'-dihydroxy	7.20-7.90	-
3',4',5'- trihydroxy	6.50-7.50 (s)	-

Proton du noyau C :

Le proton H<sub>3</sub> dans la Flavone, résonne sous forme d'un singulet dans l'intervalle (6.20-6.40 ppm).

**I. 2. d) 2- Protons aliphatiques :**Protons méthoxyle :

Ils se présentent sous la forme d'un signal singulet dans l'intervalle entre 3.5 et 4.5 ppm.

Protons du sucre :

La constante de couplage entre le proton anomérique du sucre et celui du proton existant en 2'' a une grande importance car elle permet de savoir le type de la liaison entre le sucre et l'aglycone, s'il s'agit d'une position  $\alpha$  ou  $\beta$ .

Pour le sucre glucose, le proton anomérique donne en général un doublet avec une constante de couplage de  $J \approx 7$  Hz car il est toujours en position  $\beta$  d'après la biogénèse. Pour le rhamnose, son proton anomérique donne un doublet avec une constante de couplage de  $J \approx 2.5$  Hz (position  $\alpha$ ). On peut aussi reconnaître le sucre rhamnose par le signal du groupement méthyle entre 0.8-1.2 ppm et avec une constante de couplage de  $J \approx 6$  Hz.

**I. 2. e) Spectroscopie RMN<sup>13</sup>C :**

Cette technique permet l'obtention des informations sur la structure : le nombre, la nature et l'environnement des carbones présents dans la molécule.

## II. Matériel végétal :

### *Santolina rosmarinifolia* L.

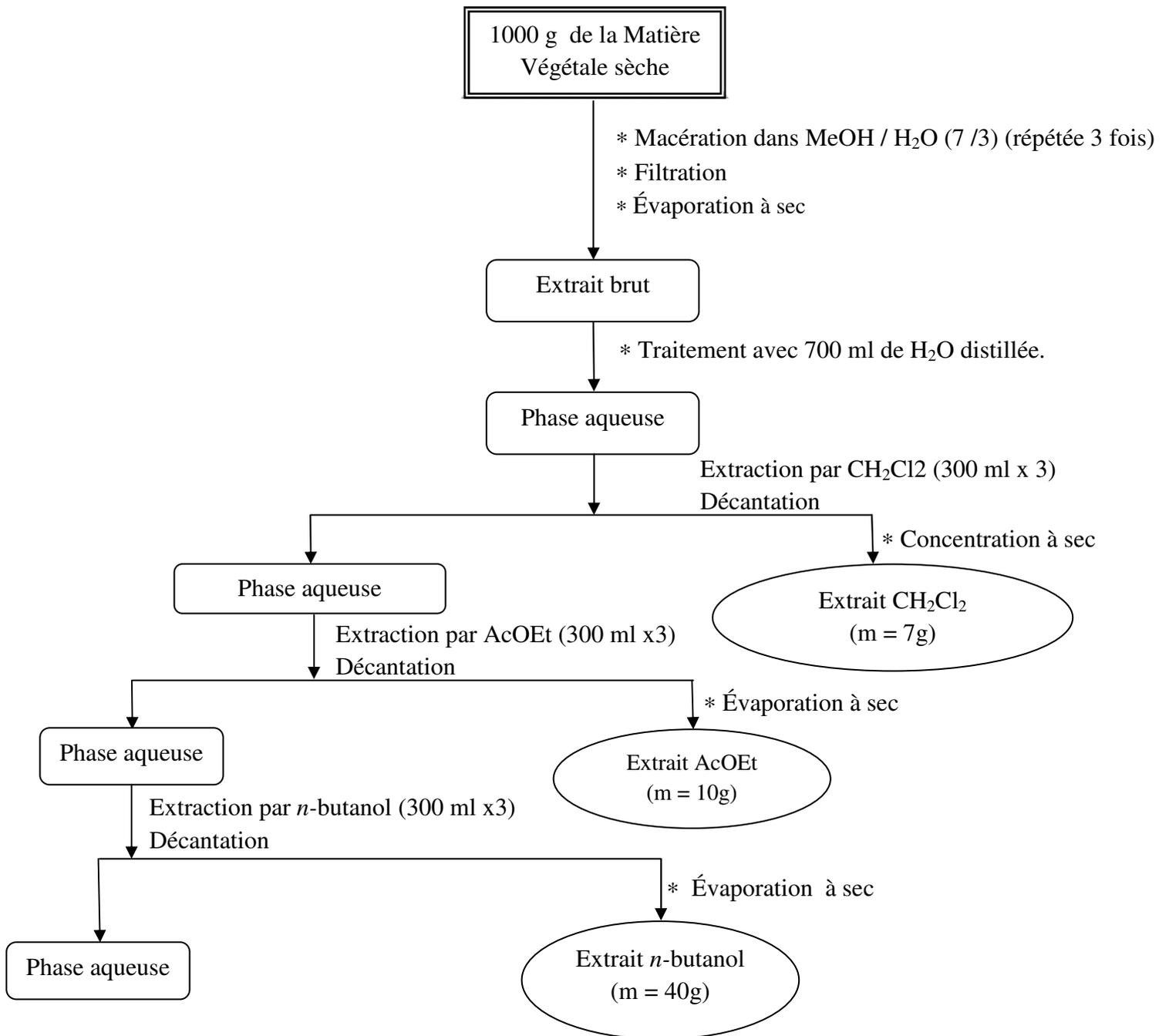
Pour la séparation et l'identification des flavonoïdes ; la plante a été récoltée de la région de Batna, au mois de Mai 2008. Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été coupées en petits morceaux et pesées (1000 gr).

## III. Méthodes d'extraction :

### Extraction de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. :

La quantité du matériel végétal obtenue (1000g) a subi une macération dans un mélange hydroalcoolique (Méthanol / eau : 70 / 30 : V / V).

Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant, pendant 24 heures. Après concentration sous vide, l'extrait méthanolique a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le n-hexane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Chaque extraction est répétée trois fois. Le protocole d'extraction est résumé dans la figure 19.



**Figure 19.** Protocole d'extraction des métabolites secondaires de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L.

## IV. Séparations chromatographiques :

### IV. 1. Tests préliminaires par CCM :

Nous disposons de deux extraits nommés EASR et EBSR et qui sont respectivement l'extrait acétate et extrait *n*-butanol de *Santolina rosmarinifolia* L. pour mieux connaître le contenu flavonique de ces extraits, des tests chromatographiques sur couche mince CCM préliminaires ont été menés sur les deux extraits pour avoir un aperçu de la nature des constituants que l'on peut rencontrer. Pour cela, une partie de chaque extrait a été solubilisée dans le méthanol et déposée sur plaques de CCM qui a ensuite été éluée dans le système de solvants (AcOEt, AcOH, H<sub>2</sub>O) (10 :1,5 :0,5) révélée avec les vapeurs de l'ammoniaque pour permettre une première orientation sur les classes de composés présents dans les extraits à analyser.

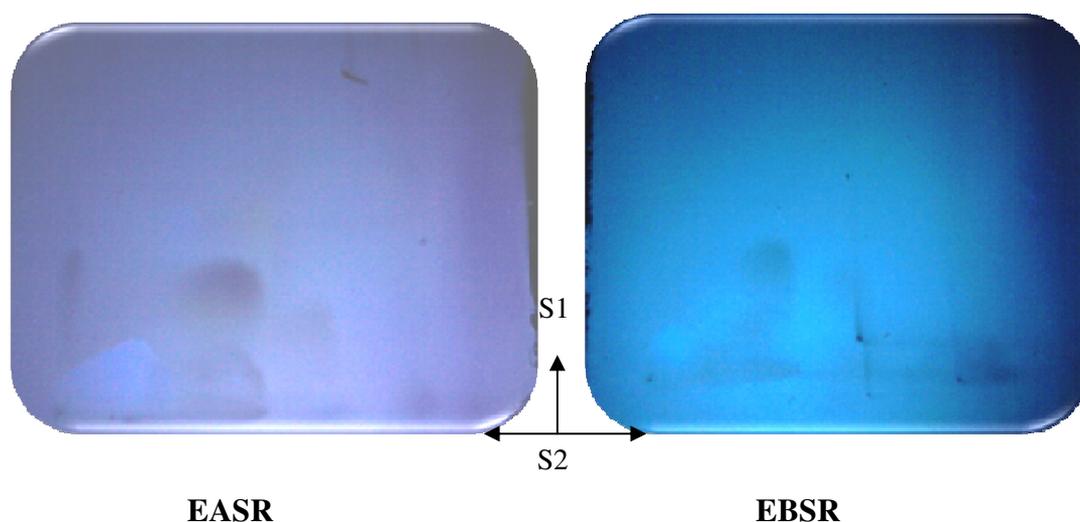
Cette étape a permis de mettre en évidence la présence de flavonoïdes détectés grâce au chromatogramme où certains spots sous lumière UV à 365 nm sont de couleur jaune et d'autres de couleur noire-violette.

Pour mieux voir la richesse de ces extraits en composés phénoliques, des cartes flavoniques à deux dimensions ont été réalisées sur CCM de polyamide DC6.

### IV. 2. Tests préliminaires sur polyamide :

Pour chaque extrait, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince à deux dimensions sur polyamide DC6 avec deux systèmes d'élutions, l'un est organique et l'autre est aqueux (figure 20).

- ✓ Système organique (4/3/3) (Toluène/méthyléthylcétone/méthanol)
- ✓ Système aqueux : (13/3/3/1) (Eau/méthanol/méthyléthylcétone/acétylacétone).



**Figure 20 :** Carte flavonique sur polyamide des extraits AcOEt et de n-Butanol de *Santolina rosmarinifolia* L.

Les observations ont permis de déduire que les 3 extraits sont différents et ne sont pas très riches et comportent des flavonoïdes à presque égale proportion ; ce qui nous a incités à étudier les 3 extraits.

#### IV. 3. Fractionnement de l'extrait dichlorométhane :

Un flash chromatographie sur colonne de gel de silice a été mené sur l'extrait dichlorométhane (7g) comme il est décrit dans le tableau 24.

**Tableau 24 :** Fractionnement sur colonne de gel de silice de l'extrait dichlorométhane.

Fraction	Système d'éluion	Observations
F1	Cyclohexane	Mélange complexe
F2	Dichlorométhane : Cyclohexane 1 : 1	Fraction de flavonoïdes probables, séparables
F3-F10	Dichlorométhane : Cyclohexane (proportions à gradient croissant de dichlorométhane, puis d'acétate d'éthyle)	Produits terpéniques

La fraction F2 a été chromatographiée sur colonne de gel de silice éluée avec le système Dichlorométhane : Méthanol, conduisant au produit **C1** (avec le gradient 8:2) et au produit **C2** (avec le gradient 5: 5).

#### IV. 4. Fractionnement de l'extrait acétate :

L'extrait acétate d'éthyle (10g) a été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant le système CHCl<sub>3</sub> /MeOH avec un gradient croissant de méthanol. L'évolution de la colonne est dressée dans le tableau 25.

**Tableau 25** : Fractionnement sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle.

N° de lot	Système d'élution		N° de lot	Système d'élution	
	CHCl <sub>3</sub> %	MeOH %		CHCl <sub>3</sub> %	MeOH %
1-7	100	0	59-60	50	50
8-11	95	5	61-62	45	55
12-14	93	7	63-65	40	60
15-18	90	10	66-67	35	65
19-34	85	15	68-69	30	70
35-41	80	20	70-71	25	75
42-44	75	25	72-74	20	80
45-49	70	30	75-78	15	85
50-52	65	35	79-80	10	90
53-55	60	40	81-83	5	95
56-58	55	45	82-87	0	100

Les fractions similaires ont été regroupées (Tableau 26) grâce à des analyses en CCM.

**Tableau 26** : Regroupement des fractions similaires.

N° des fractions	Nom de la fraction	Observations
1-10	F1	Graisses et cires
11-16	F2	Mélange complexe
17-22	F3	Mélange séparable
23-27	F4	Produit minoritaire
28-33	F5	Produit majoritaire
34-74	F6	Mélange séparable
75-87	F7	Mélange inséparable

**IV. 4. a) Etude de la fraction F3 :**

La fraction **F3** est chromatographiée sur une colonne de gel de silice, éluée avec le système isocratique (AcOEt, MeOH, H<sub>2</sub>O) (10: 1: 1), conduisant à deux produits solides qui présentent des similitudes avec les produits **C1** et **C2**, déjà isolés de l'extrait dichlorométhane.

**IV. 4. b) Etude de la fraction F5 :**

La fraction contient un produit majoritaire qui a précipité. Ce produit est purifié par lavage dans un mélange de chloroforme et d'acétone, conduisant à une poudre jaune (**C3**).

**IV. 4. c) Etude de la fraction F6 :**

La fraction F6 a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice, avec le système isocratique (AcOEt, AcOH, H<sub>2</sub>O) (10: 1.5: 1.5).

La sous fraction F6-3 a subi une purification sur colonne de gel de sephadex LH20 éluée au méthanol. La sous fraction F6-9 a subi une séparation sur colonne de gel de silice éluée avec le système isocratique (AcOEt, AcOH, H<sub>2</sub>O) (8: 1.5: 1.5), puis la sous fraction F6-9-6 a subi une séparation sur colonne de polyamide dans le système toluène/MeOH à gradient croissant, qui a donné des traces d'un flavonoïde pur (**C4**).

#### IV. 5. Fractionnement de l'extrait butanolique :

10 gr de l'extrait butanolique ont été chromatographiés sur une colonne de gel de silice, éluée avec le système isocratique Acétate d'éthyle / Eau / Acide acétique (10:0.5:1.5). Le suivi de la composition est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice. Les plaques sont visualisées sous lumière Wood (254 et 366 nm), puis révélées par l'acide acétique avec chauffage.

Les 6 fractions issues de cette colonne sont regroupées en 53 lots selon les résultats obtenus par les tests chromatographiques CCM avec le même éluant (Acétate d'éthyle/Eau/Acide acétique) (10: 0,5: 1,5) (Tableau 27).

**Tableau 27** : Séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait butanolique.

N° des fractions	Nom de la fraction	Observations
1-7	F1	Graisses et cires
8-25	F2	Mélange complexe
26-34	F3	Produit majoritaire
35-43	F4	Produit majoritaire
44-47	F5	Mélange séparable
48-53	F6	Mélange inséparable

##### IV. 5. a) Etude de la fraction F3 :

La fraction **F3** contient un produit majoritaire qui a précipité. Ce produit est purifié par lavage dans un mélange de chloroforme et d'acétone, conduisant à une poudre jaune (**C6**).

##### IV. 5. b) Etude de la fraction F5 :

La fraction **F5** a subi une séparation sur plaque de polyamide. La sous fraction **F5-1** a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice éluée par le système isocratique (AcOEt / AcOH / H<sub>2</sub>O) (10: 1.5: 0.5) conduisant au produit **C7**.

**V. Méthodes d'analyse :****V. 1. Analyses spectrophotomètre UV-Visible :**

Les produits C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub> et C<sub>7</sub> ont été dissous dans du méthanol puis introduits dans un spectrophotomètre à 517 nm. Ensuite une série d'enregistrements des absorptions, en présence de réactifs successifs : NaOH, AlCl<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub>/HCl, NaOAc, NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> à été effectuée.

**V. 2. Analyses spectrale en RMN :**

Les produits C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub> et C<sub>7</sub> ont été dissous dans des solvants deutérés respectifs : CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub>, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub>, CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub> et CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub> ; puis analysés dans un spectromètre de RMN-Burcker 250 MHz (Université Constantine 1), 300 MHz, 400 MHz (Université Florance, Italie), 500 MHz.

**V. 3. Hydrolyse acide :**

Elle concerne les flavonoides *O*-glycosylés, elle renseigne sur la nature du sucre pour cela on prend une quantité de glycoside dilué dans le minimum de méthanol, on y ajoute 2 ml d'HCl (2N), on met la solution dans un bain marie bouillant (100°C) pendant 120 à 160 minutes selon le cas.

**V. 3. a) Récupération des composés flavoniques :**

Elle se fait par extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle (répétée deux fois).

**V. 4. Analyse des sucres éventuels par CCM :****V. 4. a) Préparation des échantillons :**

La phase aqueuse résiduelle de l'hydrolyse est évaporée à sec sous pression réduite, reprise par de l'eau et évaporée à nouveau. On répète plusieurs fois cette opération jusqu'à la disparition totale de la réaction acide. Le résidu ainsi obtenu est lavé au méthanol avant d'être dissout dans l'eau pour analyse.

**V. 4. b) Préparation de la plaque :**

On vaporise la plaque (terre siliceuse) avec une solution de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0,2M). On la laisse sécher à l'air libre quelques minutes avant de l'activer à  $100^\circ\text{C}$  pendant 1 heure.

**V. 4. c) Conditions d'analyse :**

On fait deux éluions successives intercalées de séchage à l'air libre pendant 1 heure, le système d'éluion étant Acétone / Eau de proportion (9/1).

La révélation se fait par pulvérisation de la plaque avec le malonate d'aniline, ensuite on la sèche 5 min à  $100^\circ\text{C}$ . Les tâches apparaissent brunes à l'œil nu et jaune sous lumière de Wood.

Cette étape a permis de mettre en évidence la présence d'un sucre de type glucose. La révélation de la phase organique, récupérée après hydrolyse, sous lumière de Wood montre une fluorescence jaune ce qui impose la substitution de la position 7 du squelette flavonique par ce glucose par une jonction O-C.

## **CHAPITRE 2**

# Extraction et analyse des huiles essentielles

## I. Matériel végétal :

### I. 1. *Santolina rosmarinifolia* L.

Les parties fleuries aériennes de *Santolina rosmarinifolia* L. (Quezel et Santa, 1963) ont été récoltées en juin 2010, de Batna. Un spécimen (LOST.Sr.06.10) a été déposé à l'herbier du Laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), Faculté des Sciences exactes, université Constantine 1; pour l'étude de la composition et de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de cette espèce.



- Echantillon de *Santolina rosmarinifolia* L.
- Echantillon de *Mentha piperita* L.
- Echantillon d'*Artemisia herba-alba* Asso.
- Echantillon de *Ferula communis* L.
- Echantillon de *Ferula lutea* L.
- Echantillon de *Senecio giganteus* Desf.

**Figure 21** : Carte géographique des sources des échantillons.

## I. 2. *Mentha piperita* L. :

### I. 2. a) Le genre *Mentha* :

Les *Mentha* sont des herbes vivaces très odorantes. Inflorescences en épis en têtes ou en verticilles. Feuilles sessiles ou sub-sessiles. Calice tubuleux ou en cloche à 5 (4) dents subégales. Corolle infundibuliforme blanche rosée ou violet pâle à 4 lobes subégaux. Carpelles lisses. Fleurs en épis cylindriques terminaux non feuillés. Corolle non velue à la gorge. Feuilles sessiles ou presque sessiles. Fleurs en têtes sphériques, terminales ou en verticillastres à l'aisselle des feuilles. Corolle velue à la gorge. Feuilles distinctement pédonculées. Feuilles ovales obtuses moins de 2 fois plus longues que larges, ridées en réseau. Plante pubescente à épis florifères grêles et allongés (Quezel et Santa, 1963).

Selon Quezel et Santa, la classification de la menthe est la suivante :

Règne	:Plantae
Sous règne	:plantes vasculaires
Embranchement	:Spermaphytes
Sous embranchement	:Angiospermes
Classe	:Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous classe	:Dialypétales
Ordre	: <i>Lamiales (Labiales)</i>
Famille	: <i>Lamiaceae</i>
Tribu	: <i>Mentheae</i>
Genre	: <i>Mentha</i>

### I. 2. b) L'espèce *Mentha piperita* L.:

La menthe poivrée (*Mentha piperita* L.) est une plante herbacée qui serait issue d'un hybride entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata*).

*Mentha piperita* L. est une plante vivace par son rhizome qui se propage sous terre ; elle se propage également par stolons. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, elles sont ovales, vert foncé et se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre. Elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels

s'accumulent les substances volatiles odorantes. Ses tiges sont violacées de section carrée. Hauteur en cm c'est 10 à 14 cm.

Autres noms : mitcham, menthe anglaise, peppermint, menthe poivrée.

Taille : vivace atteignant 80 cm.



**Figure 22.** *Mentha piperita* L.

*Mentha piperita* L. a été récoltée en Mai 2009 d'Oum El Bouaghi. Un spécimen (LOST Mp/05/09) a été déposé dans l'herbier du Laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), Faculté des Sciences exactes, université Constantine 1.

### I. 3. *Artemisia herba-alba* Asso :

#### I. 3. a) Description botanique et classification du genre *Artemisia* :

*Artemisia* a des capitules pauciflores en général, homogames, à fleurs toutes hermaphrodites. Réceptacle nu. Corolle insérée très obliquement sur l'ovaire. Plante dressée, suffrutescente. Tiges nombreuses, tomenteuses, de 30-50 cm. Feuilles courtes, généralement pubescentes-argentées, pinnatipartites. Capitules sessiles ou subsessiles, généralement 2-5 flores (8-12 flores dans la var. *saharae* (Pomel) Q. et S.). Involucre hémisphérique, ovoïde ou oblong; à bractées imbriquées et disposées sur peu de rangs, scarieuses sur les bords. Réceptacle plan ou convexe, glabre ou velu, non paléacé. Akènes homomorphes, obovés, chauves et lisses. Bractées externes de l'involucre orbiculaires, opaques et pubescentes; les intérieures oblongues, brillantes et glanduleuses. Plante polymorphe (figure 23) Steppes argileuses, pâturages rocailloux (Quezel et Santa, 1963).

**Classification de Cronquist (1981)**

Règne	: Plantae,
Sous-règne	: Tracheobionta,
Division	: Magnoliophyta,
Classe	: Magnoliopsida,
Sous-classe	: Asteridae,
Ordre	: Asterales,
Famille	: Asteraceae,
Genre	: <i>Artemisia</i> ,



**Figure 23.** Type du genre *Artemisia*.

### I. 3. b) Description botanique et classification de l'espèce *Artemisia herba alba* :

*Artemisia herba-elba* est une plante steppique connue depuis des millénaires, elle a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV<sup>e</sup> siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie (Joannès, 2001). Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Asso y del Rio (IPNI). C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (Nabli, 1989).

*Artemisia herba-elba* est une plante ligneuse basse et toujours verte. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau (Ourcival,

1992). Grâce à son système racinaire très dense à la surface, l'armoise herbe blanche est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies (Le Floc'h, 1989). Cette espèce est également capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur (Floret et Pontannier, 1982) et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire (Ourcival, 1992).



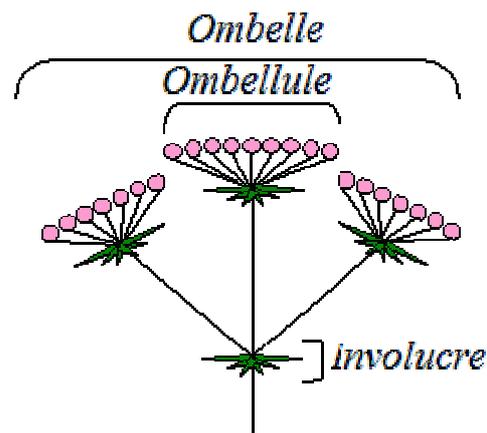
**Figure 24.** *Artemisia herba-alba*.

*Artemisia herba-alba* a été récoltée en Mai 2010 d'Ain Babbouche, province d'Oum El Bouaghi. Un spécimen (LOST Aha/05/10) a été déposé dans l'herbier du Laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), Faculté des Sciences exactes, université Constantine 1.

#### **I. 4. *Ferula communis* L. & *F. lutea* :**

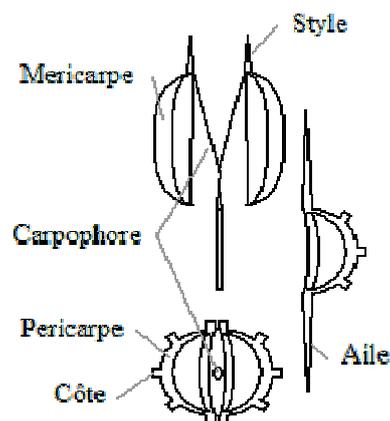
##### **I. 4. 1. Présentation botanique de la famille des Apiaceae :**

La famille des Apiacées est une famille de plantes appartenant à la classe des Magnoliopsidae (Dicotylédones). Elle est composée de près de 1400 espèces réparties en 300 genres environ, répandues sur presque tout le globe, mais surtout dans les régions tempérées de l'hémisphère boréal. C'est une famille relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle.



**Figure 25** : Fleurs des Apiaceae

Il s'agit de plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois arbustives. Les feuilles sont alternes, composées, rarement simples. Souvent, les pétioles sont élargis à leur base, engainant la tige. La tige est souvent creuse. Les fleurs sont réunies en ombelles simples ou composées, munies de bractées appelées involuclles à la base. Elles comptent 5 pétales et 5 étamines et un ovaire à deux loges. Les fruits sont formés de 2 méricarpes accolés à un axe central, le carpophore, se séparant à maturité. Chaque méricarpe présente deux faces: commissurale (plane) et dorsale (convexe). La face dorsale porte au moins 5 côtes séparées par 4 vallécules contenant des canaux sécréteurs courts (bandelettes) (Figure 26) (Coste *et al.*, 1998).



**Figure 26** : Fruit akène.

Les Apiacées contiennent des plantes alimentaires (la carotte, *Daucus carota*), des condiments (le cumin, *Cuminum cyminum*), des plantes médicinales (la khella, *Ammi visnaga* et le fenouil, *Foeniculum vulgare*) ainsi que des plantes toxiques (la grande ciguë, *Conium maculatum*) (Bruneton, 2009).

### I. 4. 2. Description botanique et classification :

#### I. 4. 2. a) Le genre *Ferula* L. :

Les plantes du genre *Ferula* croissent souvent dans les régions arides. Ce genre comporte environ 150 espèces présentes du bassin méditerranéen jusqu'à l'Asie centrale (Pimenov *et al.*, 1993).

Arbrisseau vivace pouvant atteindre deux mètres de haut, à croissance très rapide (quelques semaines). Tige érigée, cylindrique et creuse. Feuilles souples pennées et linéaires apparaissant après la floraison ; Longues feuilles engainantes au moment de la floraison.

Grandes ombelles de fleurs jaune d'or à étamines saillantes.

Plantes vivaces à tiges élevées, 1-3 m. Feuilles 3-pennatiséquées. Fleurs jaunes. Fruits grands, lisses. Méricarpes à côtes fortement épaissies, saillantes 2 × 1 cm. Feuilles à divisions fines et courtes, linéaires aiguës. Ombelles à 10-15 rayons (Quezel et Santa, 1963).

Position systématique du genre *Ferula* (la classification phylogénétique APG III 2009).

#### Classification APG III (2009)

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Clade	Campanulidées ou Euastéridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Ferula</i>

#### I. 4. 2. b) *Ferula communis* :

*Ferula communis* est une plante méditerranéenne, arbrisseau vivace pouvant atteindre deux mètres de haut, à croissance très rapide (quelques semaines). Plante ne dépassant guère 1 m. Feuilles plus petites à segments larges de 1-3 mm, longs de 1-2 cm. Méricarpes à 3 bandelettes par vallécule, Plante du Tell littoral. Fruits à pédicelles très courts (Quezel et Santa, 1963). Tige érigée, cylindrique et creuse. Feuilles souples

pennées et linéaires apparaissant après la floraison ; Longues feuilles engainantes au moment de la floraison. Grandes ombelles de fleurs jaune d'or à étamines saillantes. Son « latex » contient des composés toxiques pour les animaux herbivores. Elle fleurit en mai – juin.

La fêrule contient des composés toxiques. Les premiers identifiés ont été des Phénylpropanoïdes et plus précisément des coumarines prénylées) (Grazia Valle *et al.*, 1986). En plus des complexes sesquiterpène-coumarine déjà connus, d'autres composés ont été plus récemment identifiés dans les racines ; deux molécules cycliques de coumarines farnésylées et deux nouveaux dérivés cycliques de chromones farnésylée (Jakupovic et Miski, 1990). Les (sesquiterpènes) synthétisés par cette plante pourraient peut-être servir à produire des médicaments (Ex : anti-mycobactérien) (Mossa *et al.*, 2004), dont dans les rhizomes (Al-Yahya *et al.*, 1998), mais son ingestion peut poser des problèmes toxicologiques et écotoxicologiques.



**Figure 27** : L'espèce *Ferula communis*.

#### **I. 4. 2. c) *Ferula Lutea* :**

*Ferula Lutea* Poiret Maire, est une plantes herbacée, à feuilles très divisées (en folioles) et ont une base engainante et à limbe. Méricarpes à côtes filiformes non saillantes Pédicelles des fruits mûrs égalant environ 2 fois leur longueur (2-3 cm). Feuilles d'un vert cendré, scabres, courtement hispides, à divisions linéaires très courtes. Les fleurs comme toutes ombellifères, hermaphrodites et toujours très petites, sont généralement réunies au sommet en une inflorescence très caractéristique qui a donné son nom à toute la famille, l'«ombelle ». La fleur elle -même porte cinq sépales,

cinq pétales et cinq étamines, deux carpelles qui donnent à maturité un "diachaine ", ou fruit double, très reconnaissable (Quezel et Santa, 1963).



**Figure 28** : L'espèce *Ferula lutea*.

Les parties aériennes fraîches de *Ferula communis* L. ont été récoltées en Mai 2010 à Constantine. Un spécimen (LOST Fc/05/10) a été déposé à l'herbier du Laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), Faculté des Sciences exactes, université Constantine 1.

*Ferula lutea* a été récoltée en Mai 2010 à Bejaïa. Un spécimen (LOST Fl/05/10) a été déposé à l'herbier du Laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), Faculté des Sciences exactes, université Constantine 1.

### **I. 5. *Senecio giganteus* Desf. :**

#### **I. 5. a) Introduction :**

*Senecio* est un genre de plantes de la vaste famille des Asteraceae (Composées). C'est le genre des séneçons véritables.

Chez les espèces d'Asteraceae, ce qu'on appelle improprement « fleur » est en fait un capitule lui-même formé de nombreuses fleurs, à l'intérieur de cette famille :

- Capitules hétérogames.
- Fleurons à lobes généralement courts, larges et jaunes.
- Anthères basifixes, c'est-à-dire fixées au filet par leur base.

- Bras stigmatiques généralement à deux surfaces stigmatiques.
- Canaux laticifères absents.

Le nom *Senecio* signifie en latin *vieillard*. Il évoque les aigrettes blanches surmontant les akènes, leur donnant ainsi l'air de petites têtes de vieillards.

Dix-huit espèces de *Senecio* sont distribuées en Algérie (Ozenda, 1958 ; Quezel et Santa, 1963).



**Figure 29.** Le genre *Senecio*.

#### **I. 5. b) Description botanique et classification du genre *Senecio* :**

Le genre *Senecio* a des capitules hétérogames ou homogames. Fleurs du rayon ligulées ou non, femelles, fertiles ou stériles; celles du disque hermaphrodites, toutes ou en majeure partie fertiles. Involucre cylindrique, campanulé ou subhémisphérique; à bractées unisériées ou parfois subbisériées, égales, souvent accompagnées à la base par de petites bractéoles (*calicule*) accessoires. Réceptacle plan ou plan-convexe, nu, alvéolé ou fimbrié. Akènes 5-10 costés, pourvus d'une aigrette (souvent caduque) de poils entiers, scabres ou plumeux (rarement akènes du rayon sans poils) (Quezel et Santa, 1963).

Ligules violacées, parfois très courtes, à peine radiantées (var. *eradiatus* Maire). Plante glabre. Feuilles charnues, à lanières linéaires. Capitules en corymbes lâches. Involucre cylindrique-campanulacé, à 12-15 bractées pourpres et linéaires. Akènes linéaires,

grands (4 mm env.) à poils cristallins. Aigrette aussi longue que l'akène, caduque-Rocailles.

Selon (Quezel et Santa, 1963), la classification de la menthe est la suivante :

Règne	: Plantae,
Sous-règne	: Tracheobionta,
Embranchement	: Spermaphytes,
Sous embranchement	: Angiospermes (plantes à fleurs),
Division	: Magnoliophyta,
Classe	: Magnoliopsida,
Sous classe	: Asteridae,
Ordre	: Astrales,
Famille	: Asteraceae,
Sous Famille	: Asteroideae,
Tribu	: Senecioneae,
Genre	: <i>Senecio</i> .



**Figure 30.** Description du genre *Senecio* (Daniel, 2011).

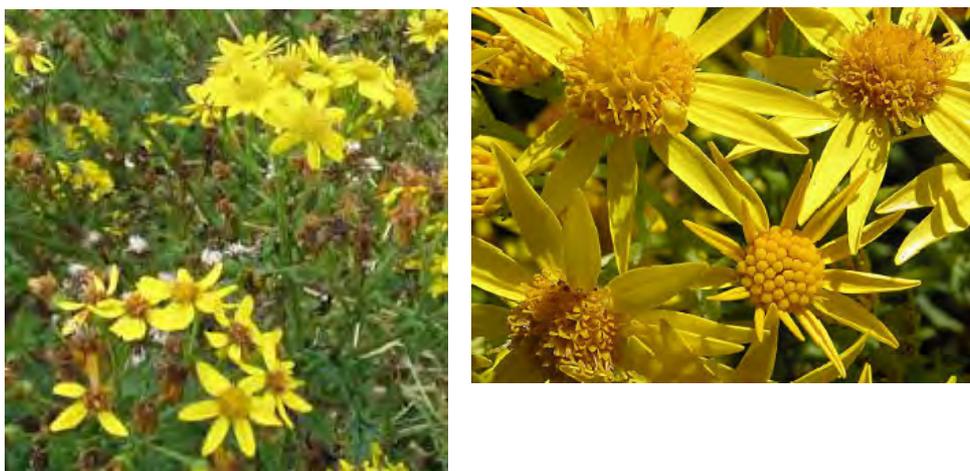
Le séneçon négligé (*Senecio squalidus*), est un hybride simple et fertile de deux espèces (*Senecio aethensis* et *Senecio chrysanthemifolius*) possédant le même nombre de chromosomes ( $2n=20$ ) ou de *Senecio cambrensis*, hybride triploïde ( $2n=60$ ) entre *Senecio squalidus* ( $2n=20$ ) et *Senecio vulgaris* ( $2n=40$ ) dans lequel l'hybridation est allopolyploïde (Daniel, 2011).

Des activités Antimicrobienne, antivirale et analgésique ont été rapportées pour l'huile de *Senecio* (Arancibia *et al.* 2010 ; El Hawary *et al.* 2008 ; El-Shazly, 1999 ; El-Shazly *et al.*, 1999 ; El Tantawy, 2000 ; He *et al.*, 2007 ; Mishra *et al.*, 2011 ; Perez *et al.*, 1999).

**I. 5. c) Description botanique et classification de l'espèce *Senecio giganteus* :**

*Senecio giganteus* Desf. est le synonyme de *Jacobaea gigantea* Desf., l'espèce *Senecio giganteus* a des tiges striées, ne dépassant pas 5-7 mm de diam. Plante de 0,50-1,20 m. Feuilles vert foncé; les inférieures profondément lyrées à lobe terminal très grand et arrondi; les supérieures irrégulièrement laciniées.

Capitules médiocres disposés en corymbes à rameaux divariqués-horizontaux. Calicule presque nul. Akènes extérieurs glabres; ceux du disque glabres ou finement pubescents (Quezel et Santa, 1963).



**Figure 31** : *Senecio giganteus*.

*Senecio giganteus* Desf. a été récoltée, pendant la floraison, en juillet 2009 à Constantine. Un spécimen (ZKLOST Sg07/09) a été déposé à l'herbier du Laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), Faculté des Sciences exactes, université Constantine 1.

**II. Méthodes d'extraction et d'analyses des huiles essentielles :**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales.

En général, le choix de la méthode d'extraction des huiles essentielles dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Hellal, 2010).

## II. 1. Méthodes d'extraction des huiles essentielles des espèces étudiées :

L'hydrodistillation des parties aériennes (fraîches ou sèches) (100 g) de la plante étudiée, durant 3 heures dans un Clevenger, a conduit à l'huile essentielle qui est ensuite stockée à + 04° C :

**II. 1. a) *Santolina rosmarinifolia* L. (fleurs fraîches) :** huile jaunâtre, rendement de 1.4% (m/m).

**II. 1. b) *Artemisia herba-alba* Asso (fleurs fraîches) :** huile jaunâtre, rendement de 1.0% (m/m).

**II. 1. c) *Ferula communis* L. (fleurs fraîches) :** huile jaunâtre, rendement de 1.0% (m/m).

**II. 1. d) *Ferula lutea* L. (fleurs fraîches) :** huile jaunâtre, rendement de 1.0% (m/m).

**II. 1. e) *Senecio giganteus* Desf. (Fleurs fraîches) :** huile jaunâtre, rendement de 0.8% (m/m).

## III. Analyses GC et GC/MS :

### III. 1. Analyses GC et GC/MS de l'huile essentielle de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* :

L'huile essentielle a été analysée en CPG (Hewlett-Packard 5890) et en CPG-masse (détecteur Hewlett-Packard 5871) dans les conditions suivantes :

- colonne DB5-MS (30m X 0.25mm; 0.25 µm).
- Programme : 50°C (5 min) jusqu'à 300°C à 5°C/min.
- Gaz vecteur : Hélium (1 ml/min).
- Injection : mode split (1:30).
- Température d'injecteur et détecteur : 250° à 280°C.
- Spectromètre de masse : en mode d'impact électronique à 70 e v.
- la température de la source d'ion : 180°C.

L'huile essentielle est diluée dans l'hexane (1/30).

### **III. 2. Analyse GC et GC/MS de l'huile essentielle de l'espèce *Artemisia herba-alba* Asso:**

L'huile essentielle a été analysée en CPG (Shimadzu GC17A) et en CPG-masse (détecteur Shimadzu QP5050) dans les conditions suivantes :

- colonne DB5 MS (40m × 0.18 mm; 0.18 µm).
- Programme : 60°C (5 min) jusqu'à 275°C à 5°C/min.
- Gaz vecteur : Hélium (1 ml/min).
- Injection : mode split (1:50).
- Température d'injecteur et détecteur : 250° à 280°C.
- Spectromètre de masse : en mode d'impact électronique à 70 e v.
- la température de la source d'ion : 200°C.

### **III. 3. Analyse GC et GC/MS des huiles essentielles des espèces *Ferula communis* L. et *F. lutea* :**

Les analyses GC et GC-MS ont été effectuées selon le mode expérimental indiqué précédemment dans l'espèce *Artemisia herba-alba*.

### **III. 4. Analyse GC et GC/MS de l'huile essentielle de l'espèce *Senecio giganteus* Desf. :**

L'huile essentielle a été analysée en CPG (Varian CP3800) et en CPG-masse (détecteur Varian CP3800) dans les conditions suivantes :

- colonne VF5 MS (30m X 0.25mm; 0.25 µm).
- Programme : 60°C (5 min) jusqu'à 275°C à 5°C/min.
- Gaz vecteur : Hélium (1 ml/min).
- Injection : mode split (1:50).
- Température d'injecteur et détecteur : 280°C.
- Spectromètre de masse : en mode d'impact électronique à 70 e v.
- la température de la source d'ion : 200°C.
- L'huile essentielle est diluée dans l'éther diéthylique (40%).

## CHAPITRE 3

Activité antioxydante des  
flavonoïdes de *Santolina*  
*rosmarinifolia* L.

### I. Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols sont des substances naturelles présentes dans les plantes, caractérisés par la présence d'une ou plusieurs fonctions phénols. Cette famille de composés compte plus de 8000 structures différentes dont les flavonoïdes et les coumarines (Bravo 1998). Les composés polyphénoliques présentent des propriétés antioxydantes et antimutagènes. Et des études ont montré que la consommation de polyphénols réduit les risques cardiovasculaires et diminue la probabilité d'avoir un cancer (german et walzem, 2000).

La détermination quantitative des phénols totaux dans un extrait est généralement réalisée selon la méthode basée sur le réactif de Folin-Ciocalteu (McDonald *et al.*, 2001).

#### Principe :

L'ensemble des composés phénoliques de l'extrait est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{40}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite de l'oxydation possède une absorption maximale à 760 nm.

Afin de déterminer la quantité de polyphénols totaux présents dans les extraits butanolique (EBSR) et acétate d'éthyle (EASR) de l'espèce *S. rosmarinifolia* L, nous avons utilisé la méthode de Folin-Ciocalteu (Kujala *et al.*, 2000 ; Sanchez-Moreno *et al.*, 2000).

Afin de déterminer le taux de polyphénols totaux, il faut, dans un premier temps, réaliser une dilution au 1/5 de la solution mère d'extrait de plante. Puis, 2 ml de cette solution sont prélevés et introduits dans une fiole. On ajoute à cette solution 1ml de réactif phosphomolybdotungstique (Folin-Ciocalteu) (Kujala *et al.*, 2000 ; Sanchez-Moreno *et al.*, 2000) et 10 ml d'eau distillée. Pour finir, on ajoute au mélange 12 ml d'une solution de carbonate de sodium à 290g/l réalisée dans l'eau distillée.

$$290 \text{ g} \longrightarrow 1\text{L}=1000 \text{ ml}$$

$$X \text{ g} \longrightarrow 50 \text{ ml}$$

Donc X=14.5 g de carbonate de sodium qu'on doit mettre dans 50 ml d'eau distillée. Après agitation, le mélange est laissé au repos à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.

Au bout de ces 30 minutes, l'absorbance (**ATX**) de la solution est mesurée à 760 nm au spectrophotomètre en utilisant l'eau comme liquide de compensation.

## II. Mesure de l'absorbance du témoin pyrogallol :

### 1<sup>ère</sup> étape :

Selon le mode opératoire, on a besoin de 12 ml de carbonate de sodium pour chaque mesure. Pour chaque échantillon (extrait brut) on a fait 2 mesures ; donc il faut 24ml pour chaque extrait. De préférence préparer 50 ml au lieu de 24 ml ; donc on va faire une règle de trois pour savoir la quantité en grammes de carbonate de sodium pour préparer une solution de 50 ml, la solution de carbonate de sodium (290g/l) est préparée en diluant 14.5g dans 50 ml d'eau distillée.

### 2<sup>ème</sup> étape :

Pour un seul extrait, on prépare 2 flacons numérotés. On met 4 mg d'extrait brut dans chaque flacon, on ajoute 2ml de méthanol à l'extrait, on met notre flacon dans un bain à ultra-son pour avoir une solubilisation totale de l'extrait puis on ajoute après 13 ml d'eau distillée pour avoir au total 15 ml (solution B).

### 3<sup>ème</sup> étape :

Une fois que la solution de carbonate et la solution B sont préparées on prend 2ml de la solution B, 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (Kujala *et al.*, 2000 ; Sanchez-Moreno *et al.*, 2000), 10 ml d'eau distillée, 12 ml de carbonate de sodium. Ce mélange est agité puis placé à l'obscurité pendant 30 mn. La D.O est mesurée à 760nm.

### 4<sup>ème</sup> étape :

On pèse 4 mg de pyrogallol qu'on dissout dans 16 ml d'eau pour obtenir une solution de 250 mg/l, on prend 1 ml de cette solution et on lui ajoute 9 ml d'eau distillée (dilution 1/10). On prend 2 ml de la solution précédemment préparée et on

ajoute 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu, 10 ml d'eau distillée, 12 ml de carbonate de sodium. Ce mélange est agité puis placé à l'obscurité pendant 30 mn. La D.O est mesurée à 760 nm.

### III. Mode de calcul :

Une formule prenant en compte la masse des extraits de plante utilisée ainsi que la masse et les caractéristiques physico-chimiques du pyrogallol va nous permettre de calculer directement le pourcentage de chacun des éléments recherchés.

Le pourcentage de polyphénols totaux présents dans un extrait exprimé en équivalent pyrogallol est calculé par la formule suivante :

$$\text{polyphénols totaux (\%)} = \frac{(62,5 \times A_{tx} \times m_2)}{A_p \times m_1}$$

$A_{tx}$  = absorbance des extraits.

$m_2$  = masse de pyrogallol.

$A_p$  = absorbance de pyrogallol.

$m_1$  = masse des extrait (4mg).

Dans cette formule les masses  $m_1$  et  $m_2$  sont exprimées en grammes.

### IV. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante de l'extrait *n*-butanolique a été testée par la méthode de Blois (Kujala *et al.*, 2000 ; Sanchez-Moreno *et al.*, 2000) radical libre DPPH instable possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle.

#### IV. 1. Préparation de la solution de DPPH :

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ,  $M=394.33$ ), est solubilisé dans le méthanol absolu pour en avoir une solution de 100  $\mu$ M.

#### IV. 2. Solution d'extrait :

Pour le test, les échantillons ont été préparés par dissolution dans le méthanol absolu. Pour les extraits EASR, EBSR on prépare une solution dans le méthanol absolu à raison de 5mg/ml, cette solution dite solution mère, subit ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations de l'ordre de microgramme par ml (Tableau 28).

**Tableau 28 :** Concentrations utilisées pour le test antioxydant.

Extrait	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>E.A.S.R</b> <b>E.B.S.R</b>	1
	10
	50
	100
	200
	500

#### IV. 3. Test du DPPH :

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 30  $\mu\text{l}$  de la solution à tester, on ajoute 3ml de la solution au DPPH, après agitation par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité, à la température ambiante pendant 30 minutes, pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 660 nm, spectrophotométrie UV-visible. Pour chaque dilution, on prépare un blanc constitué de 3 ml de la solution DPPH et 30  $\mu\text{l}$  de méthanol.

Le contrôle négatif est composé de 3 ml de la solution méthanolique au DPPH (100  $\mu\text{M}$ ) et 30  $\mu\text{l}$  de méthanol.

Le pourcentage de décoloration du DPPH, en solution dans le méthanol détermine l'activité antioxydante.

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures.

## CHAPITRE 4

# Activité antibactérienne des flavonoïdes de *Santolina rosmarinifolia* L.

### I. Revivification des souches :

- **Les souches bactériennes de référence (ATCC):** en premier lieu, on réalise des repiquages sur des milieux liquides (Bouillon nutritif ou Cœur-Cerveille) et on incube pendant 24 heures dans l'étuve à 37°C pour avoir des proliférations rapides des bactéries conservées, puis sur des milieux solides sélectifs (Chapman pour *Staphylococcus aureus*, Héктоen pour le reste des souches) en vue d'obtenir des souches jaunes.
- **Les souches bactériennes hospitalières :** issues des prélèvements des malades du CHU sont ensemencées sur milieux solides sélectifs à partir desquels on effectue des repiquages sur les mêmes milieux.

**NB :** Le repiquage des souches se fait après chaque semaine.

### II. Préparation des dilutions :

La solution mère a été préparée en solubilisant 20mg de l'huile essentielle de l'espèce *Mentha piperita* Asso dans une solution de 10ml d'éthanol dilué à 60%, à partir de la solution mère on réalise une série de dilutions (Tableau 29).

**Tableau 29 :** Les différentes dilutions de la solution mère de l'huile essentielle (Carbonelle *et al.*, 1987 ;Courvalin *et al.*, 1988).

Concentration initiale de l'huile essentielle en µg/ml	Volume de l'huile essentielle en ml	Volume du solvant en ml	Concentration finale de l'huile essentielle en µg/ml
2000	6.4	3.6	1280
1280	2	2	640
	1	3	320
	0.5	3.5	160
	0.5	7.5	80
80	2	2	40
	1	3	20
	0.5	3.5	10
	0.5	7.5	5

### III. L'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé (Méthode des disques)

#### Procédé :

La technique utilisée dans notre travail est la technique NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) (NCCLS, 1985 ; Comité OMS, 1977). Cette méthode diffère selon que la bactérie soit exigeante ou non, les conditions techniques suivantes doivent être respectées :

#### ❖ Milieu

- Le milieu standard utilisé est le Mueller-Hinton. L'épaisseur de la gélose doit être strictement de 4 mm répartie uniformément.
- Les boîtes sont pré-séchées avant l'emploi (Ericsson et Sherris, 1971 ; Le Minor et Veron, 1989).

#### ❖ Préparation des disques

Nous avons utilisé le papier Whatman N°3 coupé en disques de 6 mm. Ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer.

Les disques, une fois préparés, sont placés dans un tube à essai contenant 10ml d'eau distillée et autoclavé 20 min à 120°C (Le Minor et Veron, 1989).

#### ❖ Inoculum

- L'inoculum doit être de 2 à 3. 10<sup>6</sup> bactéries/ml pour obtenir des colonies confluentes.

Il est obtenu à partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement. Puis on racle cinq colonies bien isolées et parfaitement identiques.

- On décharge l'anse dans 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- On homogénéise la suspension bactérienne. Dont l'opacité doit être équivalente à 0,5 Mc μ Farland.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture s'il est trop dilué, ou bien de l'eau physiologique s'il est trop concentré.

- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum (Ericsson et Sherris, 1971).

#### ❖ **Ensemencement**

- On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- On l'essore en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées, répéter l'opération, deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de pétri, on recharge l'écouvillon à chaque fois.
- On numérote la base de chaque boîte de pétri avec des numérotations convenant au nombre de dilution ;
- On place les disques de papier Whatman aseptiquement (avec une pince stérilisée à chaque fois dans le bec bunsen) dans les boîtes de pétri ;
- A l'aide d'une micropipette, on prélève 20µl de chaque dilution de l'huile essentielle et mettre sur les disques de papier Whatman (Ericsson et Sherris, 1971).

#### ❖ **Pré-incubation**

Les boîtes sont laissées pendant 15 min à température ambiante (sur la paillasse) (Ericsson et Sherris, 1971).

#### ❖ **Incubation**

- L'incubation à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C (Ericsson et Sherris, 1971).

#### ❖ **La lecture**

- Pour chaque disque, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle
- Les diamètres ainsi mesuré sont comparés à des diagrammes de référence.

- On classe les bactéries dans l'une des catégories : sensibles, intermédiaires ou résistantes.

Une fois l'antibiogramme réalisé et les diamètres des zones d'inhibition mesurés avec précision, on passe à la deuxième étape de l'étude de l'activité antibactérienne ; il s'agit de la détermination de la CMI (Ericsson et Sherris, 1971).

#### **IV. Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) :**

##### **IV. 1. Définition :**

On peut définir la CMI par la concentration minimale inhibitrice ou bien la plus faible concentration d'un antibiotique capable d'inhiber dans un milieu (soit milieu liquide soit milieu solide), toute culture visible de la souche étudiée (Ferron, 1976 ; Le Minor et Veron, 1989).

##### **IV. 2. Procédé :**

- On prépare des dilutions similaires à celles de l'antibiogramme.
- On prépare une culture en phase exponentielle en milieu liquide (eau physiologique) de la bactérie à étudier.
- On repique 0,1 (bacille à Gram négatif), 0,3 ml (Staphylocoque, *P. aeruginosa*) de la culture de 18 heures dans 10ml de bouillon cœur cervelle.
- On met à l'étuve à 37°C pendant 3 à 5 heures, jusqu'à l'apparition d'une légère opalescence.
- On met 2ml de chaque dilution de l'huile déjà préparé dans une boîte de pétri, en allant de la concentration la plus forte vers la concentration la plus faible.
- On ajoute 18ml de la gélose M-H chauffé à 45°C, bien mélangée aux boîtes de pétri.
- On laisse les boîtes de pétri quelques minutes sur la paillasse pour que la gélose se solidifie.
- On sèche les boîtes pendant 30 minutes à l'étuve à 37°C.
- On ensemence chaque bactérie en strie, à l'aide d'une anse de platine ou à la pipette rodée, sur toutes les boîtes contenant l'huile essentielle sans oublier la boîte témoin.

- On incube les boîtes pendant 18 heures à 37°C (Carbonelle *et al.*, 1987 ; Courvalin *et al.*, 1988).

#### **IV. 3. Lecture**

On lit les concentrations minimales inhibitrices (CMI) : concentration pour laquelle il n'y a pas de culture bactérienne visible (Carbonelle *al.*, 1987 ; Courvalin *et al.*, 1988).

# Résultats et discussion

# CHAPITRE 1

Résultats d'étude phytochimique et  
d'évaluation de l'activité antioxydante  
de *Santolina rosmarinifolia* L.

## I. Récapitulation des résultats :

Les testes chromatographiques des extraits AcOEt et Butanolique ont montre que leurs profils flavonoïdique sont différentes et par très riche en flavonoïdes.

L'extrait dichlorométhane qui présente un profil différent dans les deux derniers a subi une colonne chromatographique sur gel de silice éluée au cyclohexane puis avec le (cyclohexane : DCM) à gradient polaire conduisant à 10 fractions. La fraction F<sub>1</sub> correspond à un mélange complexe, les fractions F<sub>9</sub> – F<sub>10</sub> présentent un profil terpénique. La fraction F<sub>2</sub> semble contenir des flavonoïdes séparables. Cette fraction a subi une colonne chromatographique de gel de silice éluée avec le système (DCM : MeOH) à gradient croissant ; les produits C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub> ont été isolés avec les rapports (8 :2) et (5 :5) respectueusement.

De la même manière, l'extrait acétate d'éthyle a été chromatographié sur colonne de gel de silice, une série d'autres séparations sur colonne chromatographique effectuées sur les fractions intéressantes F<sub>3</sub> - F<sub>6</sub> ont conduit à 4 produits dont C<sub>4</sub> et C<sub>2</sub>, précédemment isolés de l'extrait DCM. Le produit C<sub>3</sub> a précipité dans la fraction F<sub>5</sub>.

L'extrait Butanolique à été chromatographie sur colonne de gel de silice, le produit C<sub>6</sub> à précipite dans la fraction F<sub>3</sub>. Une série de séparations chromatographiques sur colonne effectuées sur la fraction F<sub>5</sub> a conduit au produit C<sub>7</sub>.

### I. 1. Elucidation de la structure du composé C1 :

#### 1. a) Propriétés physico-chimiques :

Le composé **C1** se présente sous forme des cristaux jaunes solubles dans l'acétate d'éthyle, de point de fusion entre 234-236°C.

#### 1. b) Les analyses spectroscopiques UV :

L'analyse en spectrophotométrie UV-visible de **C1**, en présence de plusieurs réactifs a permis de recueillir les indications suivantes, basées sur les travaux de Harborne et Markham (Harborne, 1989 ; Markham, 1982) (Tableau 30) :

- Le spectre enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption, une bande I à 340 nm et une bande II à 275 nm suggérant une structure flavonique de type flavone ou flavonol substitué en 3.

- Le déplacement bathochrome de la bande I de ( $\Delta\lambda_I = 22$  nm) enregistré dans le méthanol par rapport au spectre enregistré dans le méthanol additionné de  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ , indique l'oxygénation en position 3' et 4' avec la présence d'un groupe hydroxyle libre en position 5 et l'absence d'un système ortho dihydroxyle sur le cycle B.
- Le déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda_I = 39$  nm) provoqué par l'addition de NaOH par rapport au spectre enregistré dans MeOH indique la présence d'un groupe hydroxyle libre en position 7 et un groupement  $\text{OCH}_3$  en position 4'.
- L'addition de  $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$  montre un déplacement bathochrome de la bande I de ( $\Delta\lambda_I = +6$  nm) par rapport au spectre enregistré dans MeOH, indiquant l'absence d'un ortho di-OH sur le cycle B.

**Tableau 30** : Données de la série spectrale UV du produit **C1**.

Réactif	Bande I $\lambda_{\text{max}}$ (nm)	$\Delta \lambda$	Bande II $\lambda_{\text{max}}$ (nm)	Observations
MeOH	340	-	275	Flavone
+ NaOH	379	39	275	Nouvelle bande à 318 nm, OH libre en C <sub>7</sub> , diminution de l'intensité de la bande I,
+ NaOH après 5'	379	39	275	<b>OCH<sub>3</sub> libre en C<sub>4</sub></b>
+ AlCl <sub>3</sub>	368	28	286-260	3', 4' disubstitué Pas de système 3',4'-
+ AlCl <sub>3</sub> + HCl	362	22	288-259	orthodihydroxy <b>OH libre en C<sub>5</sub></b>
+ NaOAc	349	9	276	Pas de système 3',4'-
+ NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	346	6	275	orthodihydroxy

### I. 1. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup>H:

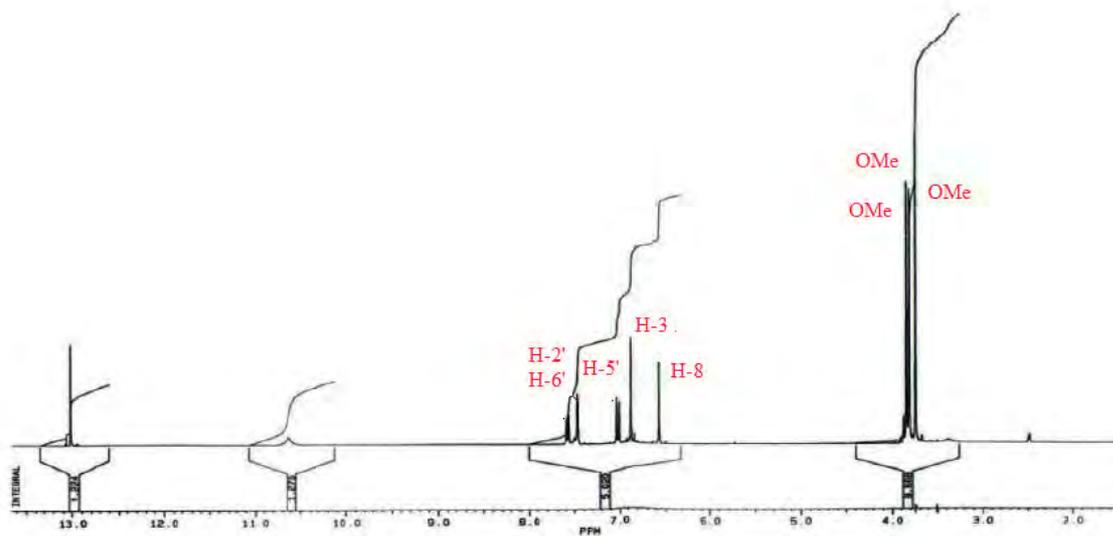
L'analyse du spectre RMN <sup>1</sup>H (figure 32) montre un signal singulet correspondant à un proton de groupement hydroxyle du carbone C5 d'un cycle aromatique substitué, à  $\delta = 13.00$  ppm.

- un doublet de doublet d'intégration 1 H à  $\delta = 7.57$  ppm ( $J = 2.0$  et  $8.0$  Hz) correspondant à couplage *ortho* et *meta* attribué au proton H-6'.

- Un doublet d'intégration 1 H à  $\delta = 7.47$  ppm ( $J = 2.0$  Hz) correspondant au proton H-2' qui couple en *meta* avec proton H-6'.
- Un doublet d'intégration 1 H à  $\delta = 7.02$  ppm ( $J = 8.0$  Hz) indicateur d'un couplage *ortho* correspondant au proton H-5'. Ce spectre montre également un singulet d'intégration 1H à  $\delta = 6.87$  ppm correspondant à la résonance du proton H-3 et un autre à  $\delta = 6.57$  ppm attribuable au proton H-8. Les trois singulets d'intégration 3H résonant à  $\delta = 3.85$ ,  $\delta = 3.82$  et  $\delta = 3.75$  ppm correspondent à 3 groupements méthoxyle positionnés en C-6, C-3' et en C-4'. Le tableau 31 regroupe ces données.

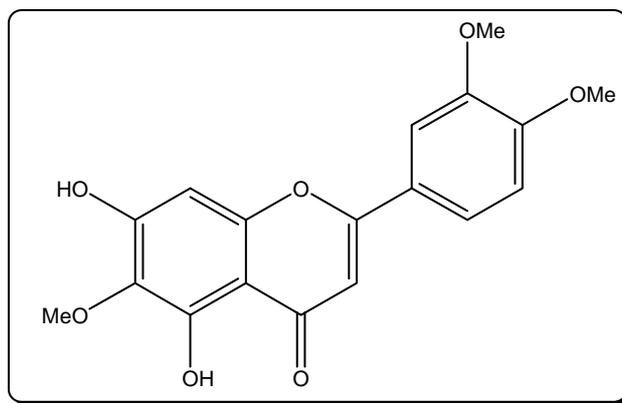
**Tableau 31** : Données RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du produit C1.

interprétation	$\delta$ (ppm), m, J (Hz)	Intégration
OH	13, s	1H
OH	10.6, s	1H
H-6'	7.57, dd, 2.0; 8.0	1H
H-2'	7.47, d, 2.0	1H
H-5'	7.02, d, 8.0	1H
H-3	6.87, s	1H
H-8	6.57, s	1H
OCH <sub>3</sub>	3.85, s	3H
OCH <sub>3</sub>	3.82, s	3H
OCH <sub>3</sub>	3.75, s	3H



**Figure 32.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du produit **C1**.

L'ensemble de ces données mène à la structure suivante :



3',4', 6-triméthoxy-5,7-dihydroxyflavone (**Eupatiline**).

## I. 2. Elucidation de la structure du composé **C2** :

### I. 2. a) Propriétés physico-chimiques :

Le composé **C2** se présente sous forme de poudre jaune en aiguilles soluble dans l'acétate d'éthyle (AcOEt), de point de fusion entre 227-229°C.

### I. 2. b) Analyses spectroscopiques UV :

Le produit **C2** a été analysé en spectrophotométrie UV-visible en présence de plusieurs réactifs ; les données de la série spectrale UV ont permis de d'avoir les indications suivantes (Harborne, 1989 ; Markham, 1982).

- Le spectre enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption, une bande I à 346 nm et une bande II à 274 nm orientant vers une structure flavonique de type flavone ou flavonol substitué en 3.
- Le déplacement bathochrome de la bande I de ( $\Delta\lambda_I = 18$  nm) enregistré dans le méthanol par rapport au spectre enregistré dans le méthanol additionné de  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ , indique l'oxygénation en position 3' et 4' avec la présence d'un groupe hydroxyle libre en position 5 et l'absence d'un système ortho dihydroxyle sur le cycle B.
- Le déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda_I = 51$  nm) provoqué par l'addition de  $\text{NaOH}$  par rapport au spectre enregistré dans  $\text{MeOH}$  indique la présence d'un groupe hydroxyle libre en position 7 et un groupement  $\text{OCH}_3$  en position 4'.
- L'addition de  $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$  montre un déplacement bathochrome de la bande I de ( $\Delta\lambda_I = +2$  nm) par rapport au spectre enregistré dans  $\text{MeOH}$ , indiquant l'absence d'un ortho di-OH sur le cycle B.

**Tableau 32 :** Données de la série spectrale UV du produit **C2**.

Réactif	Bande I $\lambda_{\text{max}}$ (nm)	$\Delta \lambda$	Bande II $\lambda_{\text{max}}$ (nm)	Observations
$\text{MeOH}$	346	-	274	-
+ $\text{NaOH}$	397	51	269	Nouvelle bande à 326 nm, OH libre en $\text{C}_7$ légère augmentation de l'intensité de la bande I, <b>OH libre en <math>\text{C}_4</math></b>
+ $\text{NaOH}$ après 5'	397	51	269	
+ $\text{AlCl}_3$	364	18	280	3', 4' disubstitué
+ $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$	364	18	287, 259	Pas de système 3',4'-orthodihydroxy <b>OH libre en <math>\text{C}_5</math></b>
+ $\text{NaOAc}$	370	24	275	Pas de système 3',4'-orthodihydroxy
+ $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$	348	2	275	

**I. 2. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup>H:**

L'analyse du spectre RMN <sup>1</sup>H (figure 33) montre un doublet de doublet d'intégration 1 H à  $\delta = 7.45$  ppm ( $J = 2.0$  Hz et  $8.0$  Hz) indicateur d'un couplage *ortho* et *meta* correspondant au proton H-6' du cycle aromatique C.

- un doublet d'intégration 1 H à  $\delta = 7.29$  ppm ( $J = 2.0$  Hz) correspondant à un couplage *meta* attribuable au proton H-2' du cycle aromatique C.
- un doublet d'intégration 1 H à  $\delta = 7.05$  ppm ( $J = 8.0$  Hz) indicateur d'un couplage *ortho* correspondant du proton H-5' du cycle aromatique C. Ce spectre montre également un singulet d'intégration 1H à  $\delta = 6.60$  ppm correspondant du proton H-3 du cycle aromatique A et un autre à  $\delta = 6.55$  ppm correspondant à la résonance du proton H-8 du même cycle; ainsi que deux singulets d'intégration 6H à  $\delta = 3.92$  et  $\delta = 3.80$  ppm, attribuables aux protons de méthoxyles en C-6 et C-3'.

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau 33.

**Tableau 33 :** Données RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du produit C2.

interprétation	$\delta$ (ppm), m, J (Hz)	Intégration
H 6'	7.45, dd, 2.0; 8.0	1H
H 2'	7.29, d, 2.0	1H
H 5'	7.05, d, 8.0	1H
H-3	6.60, s	1H
H-8	6.55, s	1H
OCH <sub>3</sub>	3.92, s	3H
OCH <sub>3</sub>	3.80, s	3H

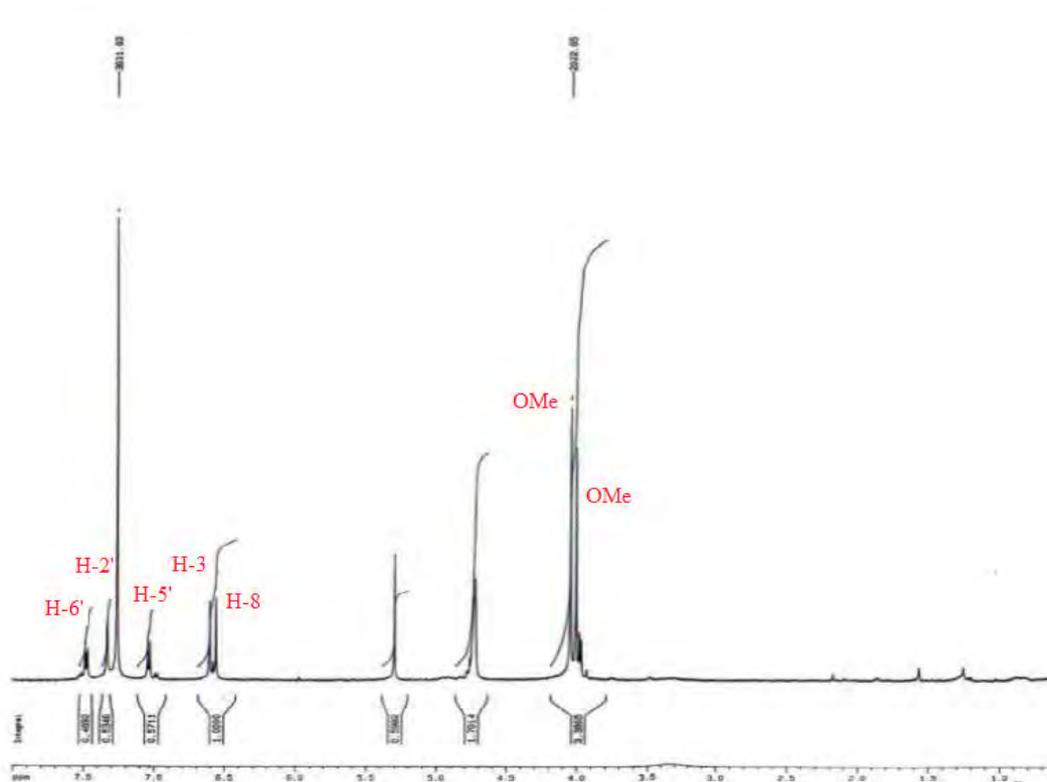
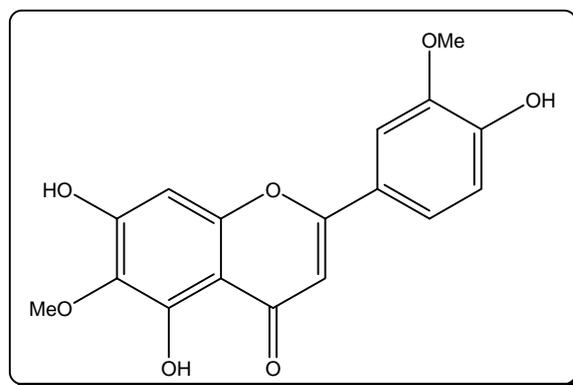


Figure 33. Spectre RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du produit **C2**.

L'ensemble de ces données mène à la structure suivante :



3',6-diméthoxy-4',5,7-trihydroxyflavone (**Jacéosidine**).

### I. 3. Elucidation de la structure du composé **C3** :

#### I. 3. a) Propriétés physico-chimiques :

Le composé **C3** se présente sous forme de cristaux jaunes en aiguilles soluble dans le méthanol ( $\text{MeOH}$ ), de point de fusion entre  $190\text{-}192^\circ\text{C}$ .

### I. 3. b) Analyses spectroscopiques UV :

Le produit **C3** a été analysé en spectrophotométrie UV-visible en présence de plusieurs réactifs ; les données de la série spectrale UV ont permis de tirer les indications suivantes (Harborne, 1989 ; Markham, 1982) :

- Le spectre enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption, une bande I à 330 nm et une bande II à 277 nm orientant vers une structure flavonique de type flavone.
- Le déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda_I = 50$  nm) provoqué par l'addition de NaOH par rapport au spectre enregistré dans MeOH indique la présence d'un groupement hydroxyle non libre en position C-7, et en position C-4'.
- Le déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda_I = 22$  nm) du spectre enregistré dans le MeOH par rapport au spectre enregistré dans  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ , indique la présence d'un groupement hydroxyle libre en position C-5 et l'absence d'un système *ortho*-dihydroxyle sur le cycle B.
- L'addition de NaOAc +  $\text{H}_3\text{BO}_3$  montre un déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda_I = +2$  nm) par rapport au spectre enregistré dans MeOH, indiquant la présence d'un groupement hydroxyle non libre en position C-7 et l'absence d'un *ortho* di-OH sur le cycle B.

**Tableau 34** : Données de la série spectrale UV du produit **C3**.

Réactif	Bande I $\lambda_{\text{max}}$ (nm)	$\Delta \lambda$	Bande II $\lambda_{\text{max}}$ (nm)	Observations
MeOH	330	-	277	Flavone
+ NaOH	380	50	297	Diminution de l'intensité de I et absence de nouvelle bande <b>OR (R # H) en C<sub>4</sub> et C<sub>7</sub></b>
+ NaOH après 5'	380	50	297	
+ $\text{AlCl}_3$	375	27	300	Pas de système 3',4'-orthodihydroxy <b>OH libre en C<sub>5</sub></b>
+ $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$	352	22	300	
+ NaOAc	332		278	Pas de système 3',4'-orthodihydroxy <b>OR (R # H) en C<sub>7</sub></b>
+ NaOAc + $\text{H}_3\text{BO}_3$	332	-	277	

### I. 3. c) Données spectroscopiques RMN $^1\text{H}$ :

L'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure 34) montre un doublet de doublet d'intégration 2H à  $\delta = 7.85$  ppm ( $J = 9.0$  Hz), indicateur d'un couplage *ortho* correspondant aux protons H-2' et H-6' du cycle aromatique C.

- un doublet d'intégration 2H à  $\delta = 7.02$  ppm ( $J = 9.0$  Hz) d'un couplage *ortho* attribuable aux protons équivalents H-3' et H-5' du même cycle.

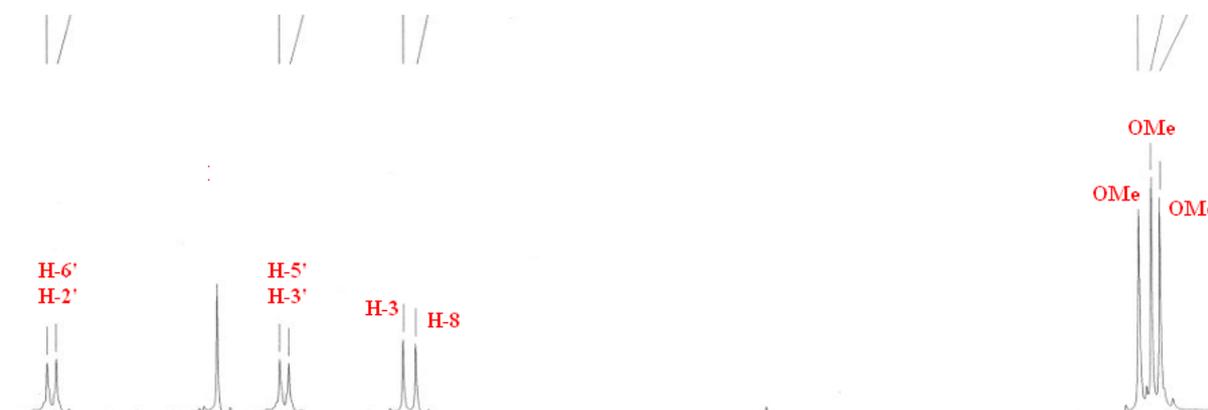
- un singulet d'intégration 1H à  $\delta = 6.60$  ppm correspondant au proton H-8, et un autre à  $\delta = 6.55$  ppm correspondant du proton H-3.

Ce spectre montre également trois singulets d'intégration 3H résonant respectivement à  $\delta = 3.98$ ,  $\delta = 3.93$  et  $\delta = 3.90$  ppm, attribuables aux protons de 3 groupements méthoxyles positionnés en C-6 et C-7 et au C-4' (figure 34).

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau 35.

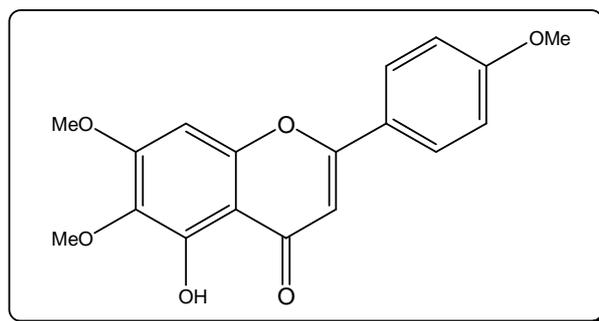
**Tableau 35 :** Données RMN $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du produit C3.

interprétation	$\delta$ (ppm), m, J (Hz)	Intégration
H-2' ; H-6'	7.85, d, 9.0	2H
H-3' ; H-5'	7.02, d, 9.0	2H
H-8	6.60, s	1H
H-3	6.55, s	1H
$\text{OCH}_3$	3.98, s	3H
$\text{OCH}_3$	3.93, s	3H
$\text{OCH}_3$	3.90, s	3H



**Figure 34.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du produit C3.

L'ensemble de ces données mène à la structure suivante :



5-Hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone (**Salvigénine**).

#### I. 4. Elucidation de la structure du composé C4 :

Le produit **C4** a donné une fluorescence violette sous lampe de wood.

##### I. 4. a) Les analyses spectroscopiques UV :

Le produit **C4** a été analysé en spectrophotométrie UV-visible en présence de plusieurs réactifs ; les données de la série spectrale UV ont permis d'obtenir les indications suivantes :

- Le spectre UV effectué dans le méthanol (Tableau 36) permet d'observer deux bandes d'absorption, l'une à  $\lambda_{\text{max}} = 256 \text{ nm}$  et l'autre à  $\lambda_{\text{max}} = 346 \text{ nm}$  indiquant un squelette de flavone.
- L'addition de NaOH induit un effet bathochrome ( $\Delta\lambda = 54 \text{ nm}$ ) indiquant la présence d'un OH en 4'. L'apparition d'une nouvelle bande à  $\lambda_{\text{max}} = 325 \text{ nm}$  suggère la présence d'un OH libre en 7.
- L'effet hypsochrome ( $\Delta\lambda = -36 \text{ nm}$ ) observé après addition de HCl au système MeOH +  $\text{AlCl}_3$  suggère la présence d'un système 3',4'-dihydroxy sur le cycle B.
- Ceci est confirmé par l'effet bathochrome ( $\Delta\lambda = 29 \text{ nm}$ ) du spectre obtenu après addition de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  au système MeOH + AcONa. L'effet bathochrome ( $\Delta\lambda = 38 \text{ nm}$ ), observé après addition de  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$  à la solution méthanolique indique la présence d'un OH libre en 5 (Tableau 32, figure 35).

**Tableau 36** : Données de la série spectrale UV du produit **C4**.

Réactifs	$\lambda_{\max}$ (nm)		
	Bande I	Autres bandes	Bande II
MeOH	346		256
NaOH	400	325	269
AlCl <sub>3</sub>	420		271
AlCl <sub>3</sub> +HCl	384		273
NaOAc	402		269
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	375		260

**I. 4. b) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup>H:**

Le spectre RMN <sup>1</sup>H enregistré dans CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> à 400 MHz (figure 35 et 36) montre la présence de 3 doublets s'intégrant pour 3 protons, respectivement à 7.38, 6.39, 6.12 ppm ( $J = 2.0$  Hz), caractéristiques des protons en couplage méta (H-2', H-8 et H-6), un doublet à 6.87 ppm ( $J = 8.2$  Hz), attribué à H-5' et un doublet de doublet à 7.35 ppm ( $J = 8.2$  et 2.0 Hz), caractéristique du proton H-6' (Tableau 37).

**Tableau 37** : Données RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) du produit **C4**.

$\delta$ (ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de couplage $J$ (Hz)	Attribution
6.12	1H	d	2.0	H-6
6.39	1H	d	2.0	H-8
6.45	1H	s	-	H-3
6.87	1H	d	8.2	H-5'
7.35	H	dd	8.2 et 2.0	H-6'
7.38	H	d	2.0	H-2'

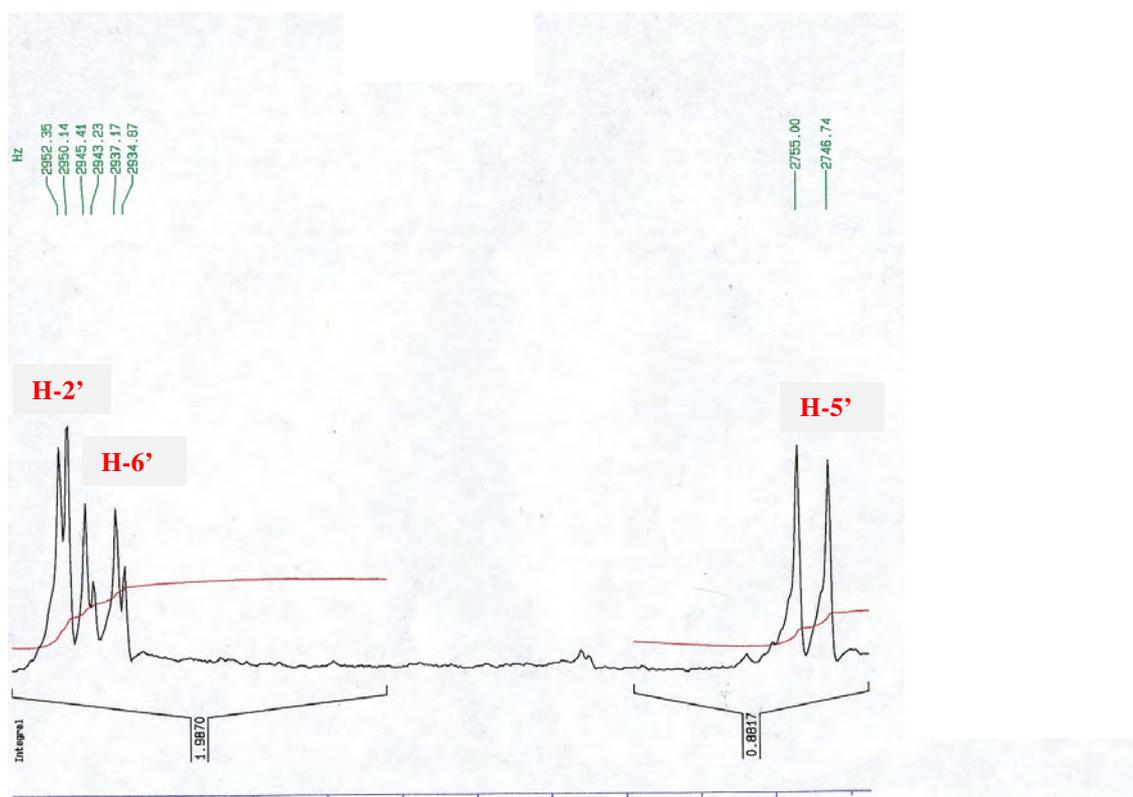
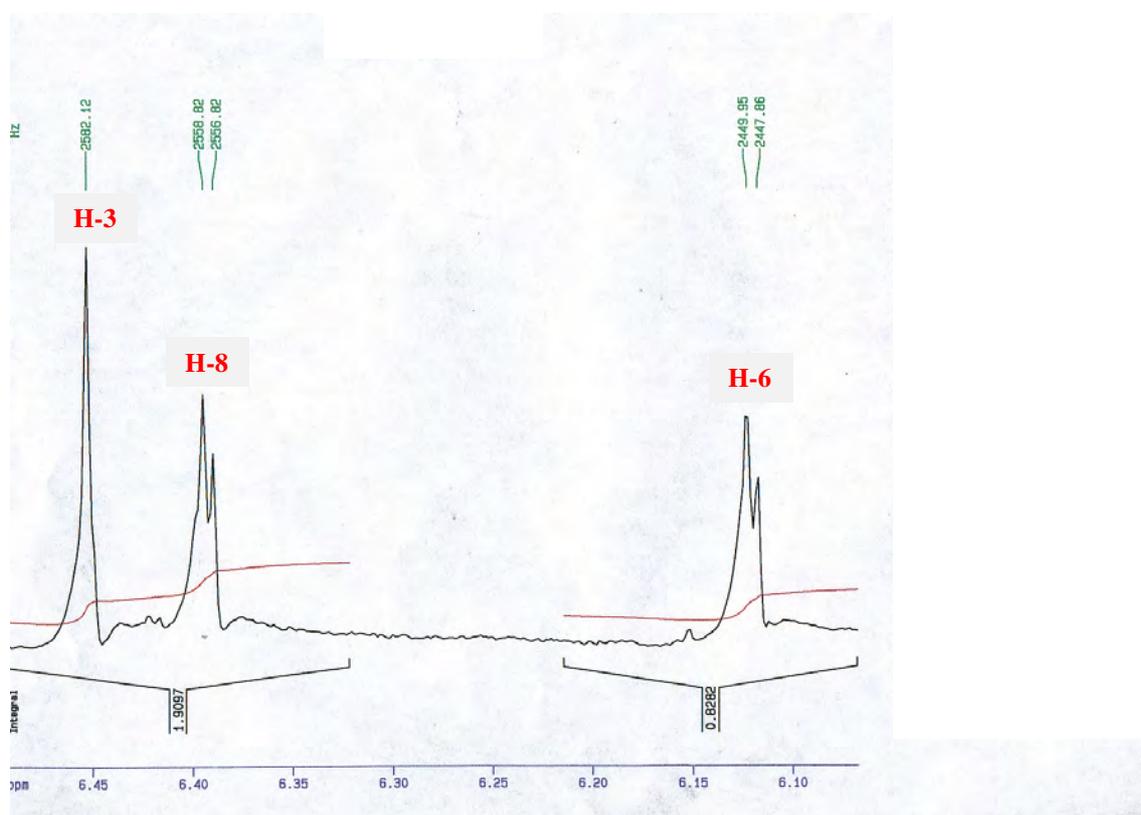
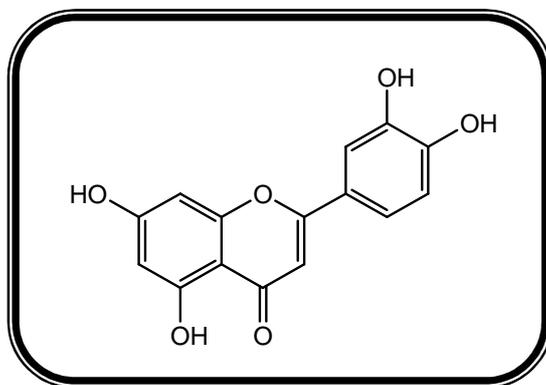


Figure 35. Spectre RMN  $^1\text{H}$  étalé (6.5 à 7.1 ppm) du composé C4.



**Figure 36.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  étalé (6.1 à 6.5 ppm) du composé C4.

Les données spectroscopiques (UV, RMN, masse) permettent d'identifier la structure de la 5,7,3',4'-trihydroxyflavone (ou lutéoline) du produit C4:



**Lutéoline**

### I. 5. Elucidation de la structure du composé C5 :

#### I. 5. a) Propriétés physico-chimiques :

Le produit C5 se présente sous forme d'une poudre jaune insoluble dans le méthanol, Fluorescence sous lampe Wood : jaune, caractéristique aux flavonols libres en 3, la révélation en CCM : Réactif de Neu (jaune fluorescent sous lampe UV).

La valeur du  $R_f$  en CCM (0.20) dans le système toluène/MEC/MeOH (4:3:3) et de (0.09) dans le système  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{MEC}/\text{acétylacétone}$  (13:3:3:1).

#### I. 5. b) Les analyses spectroscopiques UV :

Les observations et interprétations qui vont suivre ont été faites sur la base des travaux de Markham (Markham, 1982) et Mabry (Mabry *et al.*, 1970).

- La fluorescence jaune sous lampe de Wood indique un squelette flavonol confirmé par le spectre UV effectué dans le méthanol permettant d'observer deux bandes d'absorption, l'une à  $\lambda_{\text{max}} = 374 \text{ nm}$  et l'autre à  $\lambda_{\text{max}} = 256 \text{ nm}$ .
- L'addition de NaOH induit un effet bathochrome ( $\Delta\lambda = + 50 \text{ nm}$ ) indiquant la présence d'un OH libre en position 4'.
- La présence d'une nouvelle bande entre 320 et 335 nm montre la présence d'un OH libre en 7, ceci est confirmé par le déplacement bathochrome de la bande II ( $\Delta\lambda = + 17 \text{ nm}$ ) après addition de AcONa.

- Le déplacement bathochrome de ( $\Delta\lambda = + 53$  nm) de la bande I observé dans le spectre UV enregistré dans le chlorure d'aluminium acidifié ( $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ ), indique la présence d'un groupement hydroxyle en position 5 ou de deux groupements OH en position 3 et en 5.
- La présence du groupement hydroxyle en position 3 est confirmée par le déplacement bathochrome de ( $\Delta\lambda = + 77$  nm), de la bande I observé dans le spectre UV de ce composé enregistré après addition du chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à la solution méthanolique.

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau 38.

**Tableau 38** : Données spectroscopiques UV-visible du produit **C5**.

Réactif de déplacement	$\lambda_{\text{max}}$ (nm)				
	Bande I	Autres bandes	Bande II	Déplacement	Interprétation
MeOH	374	-	256	-	Flavonol substitué ou non en 3.
NaOH (base forte)	424	325	279	+ 50	OH libre en 4' OH libre en 7
$\text{AlCl}_3$	451	-	271	+ 77	OH libre en 5 OH libre en 3
$\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$	427	-	266	+ 53	Existence de 3',4'-di-OH sur le cycle B
AcONa (base faible)	407	-	273	+17 bande II +33	OH libre en 7.
AcONa / $\text{H}_3\text{BO}_3$	389	-	262	+ 21	3',4'-di-OH sur le cycle B

### I. 5. c) Données spectroscopiques RMN $^1\text{H}$ :

Le spectre RMN du proton enregistré dans le DMSO- $d_6$  (figure 42 et 43) confirme le squelette flavonique disubstitué en 3', 4' qu'on peut identifier par :

- Un doublet d'intégration 1H ( $J = 2.1$  Hz), indicateur d'un couplage méta à  $\delta = 7.81$  ppm attribuable à H-2'.

- Un doublet de doublet d'intégration ( $J = 8.6$  Hz,  $J = 2.1$  Hz), indicateur d'un couplage méta et d'un couplage ortho à  $\delta = 7.70$  ppm attribuable à H-6'.
- Un doublet d'intégration 1H à  $\delta = 6.99$  ppm ( $J = 8.6$  Hz), indicateur d'un couplage ortho attribuable à H-5'.
- Deux doublet d'intégration 1H chacun, le premier à  $\delta = 6.53$  ppm et le second à  $\delta = 6.27$  ppm avec une constante de couplage  $J = 2.0$  Hz (couplage *meta*) attribuables à H-8 et H-6 respectivement (figure 42 et 43).

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau 39.

**Tableau 39** : Données RMN<sup>1</sup>H (250 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) du produit C5.

interprétation	$\delta$ (ppm), m, J (Hz)	Intégration
H-2'	7.81, d, 2.1	1H
H-6'	7.70, dd, 8.6 et 2.1	1H
H-5'	6.99, d, 8.6	1H
H-8	6.53, d, 2.0	1H
H-6	6.27, d, 2.0	1H

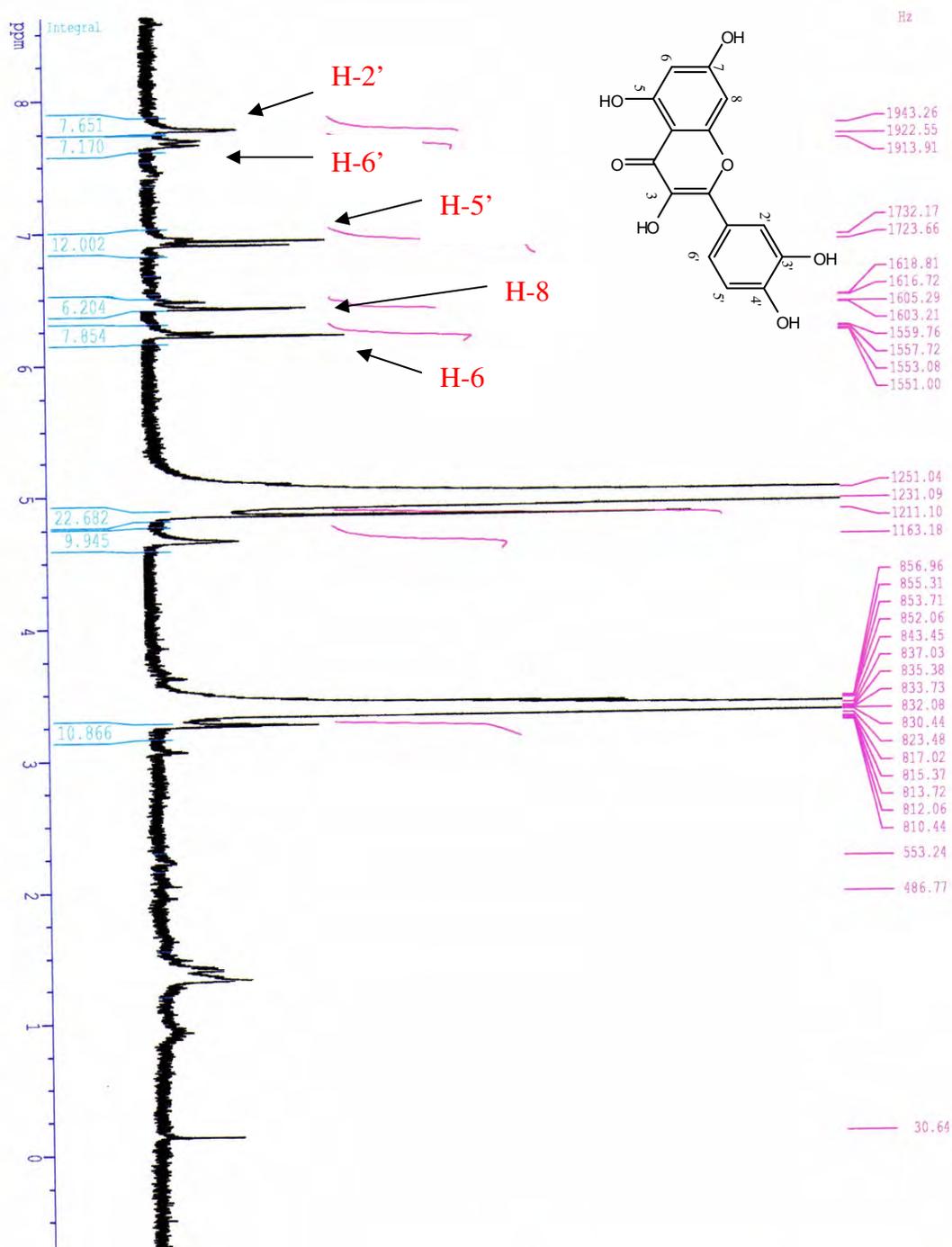


Figure 37. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé C5.

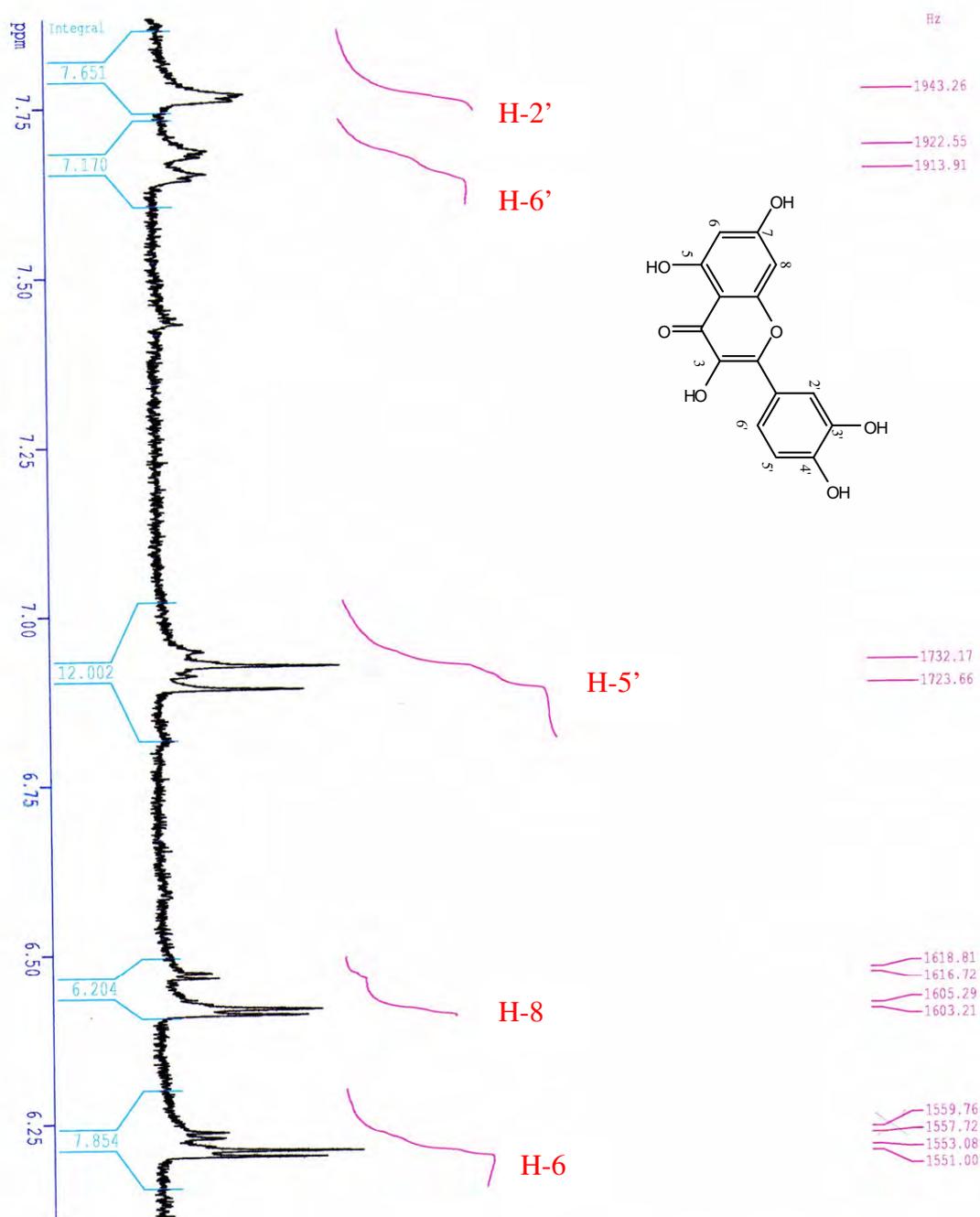
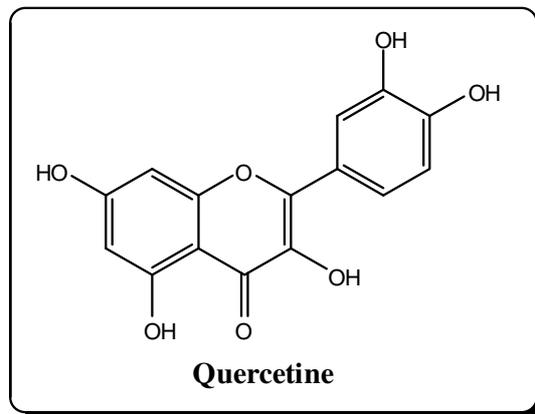


Figure 38. Spectre RMN  $^1\text{H}$  étalé (6 à 8 ppm) du composé C5.

Les données spectroscopiques (RMN  $^1\text{H}$  et UV) permettent d'identifier la structure de la **quercétine** au produit **C5**.



3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone (quercétine)

## I. 6. Elucidation de la structure du composé C6 :

### I. 6. a) Propriétés physico-chimiques :

Le produit **C6** se présente sous forme d'une poudre jaune insoluble dans le méthanol. Ce composé présente une fluorescence brune violette sous la lumière de Wood (365nm), la valeur du  $R_f$  en CCM de gel de polyamide égale à 0.29, dans le système Toluène/ Méthanol/ Methyléthylcétone (4:3:3) et de (0.027) dans le système  $\text{H}_2\text{O}$  / MeOH / Methyléthylcétone / Acétylacétone (13:3:3:1), indique une structure hétérosidique.

### I. 6. b) Les analyses spectroscopiques UV :

Le produit **C6** a été analysé en spectrophotométrie UV-visible en présence de plusieurs réactifs, les données peuvent être interprétées comme suit (tableau 40).

- ✓ Le spectre enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption une bande II à 257 nm et une bande I à 346 nm suggérant une structure de type flavone.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda=+37$  nm), avec augmentation de l'intensité provoquée par l'addition de NaOH, comparativement au spectre enregistré dans MeOH, suggère la présence d'un OH libre en 4'.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda= + 66$  nm), enregistré dans le milieu ( $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ ), comparativement à celui enregistré dans le méthanol, indique la présence d'un OH libre en 5.

- ✓ L'absence du déplacement bathochrome de la bande II, après ajout de la base faible NaOAc à la solution méthanolique indique la présence d'un OR en 7.
- ✓ Le déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda = + 24$  nm), observé en comparant le spectre enregistré dans MeOH avec celui enregistré dans NaOAc + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, révèle la présence d'un système *ortho* di hydroxylé sur le cycle B.

**Tableau 40** : Données de la série spectrale UV du produit C6.

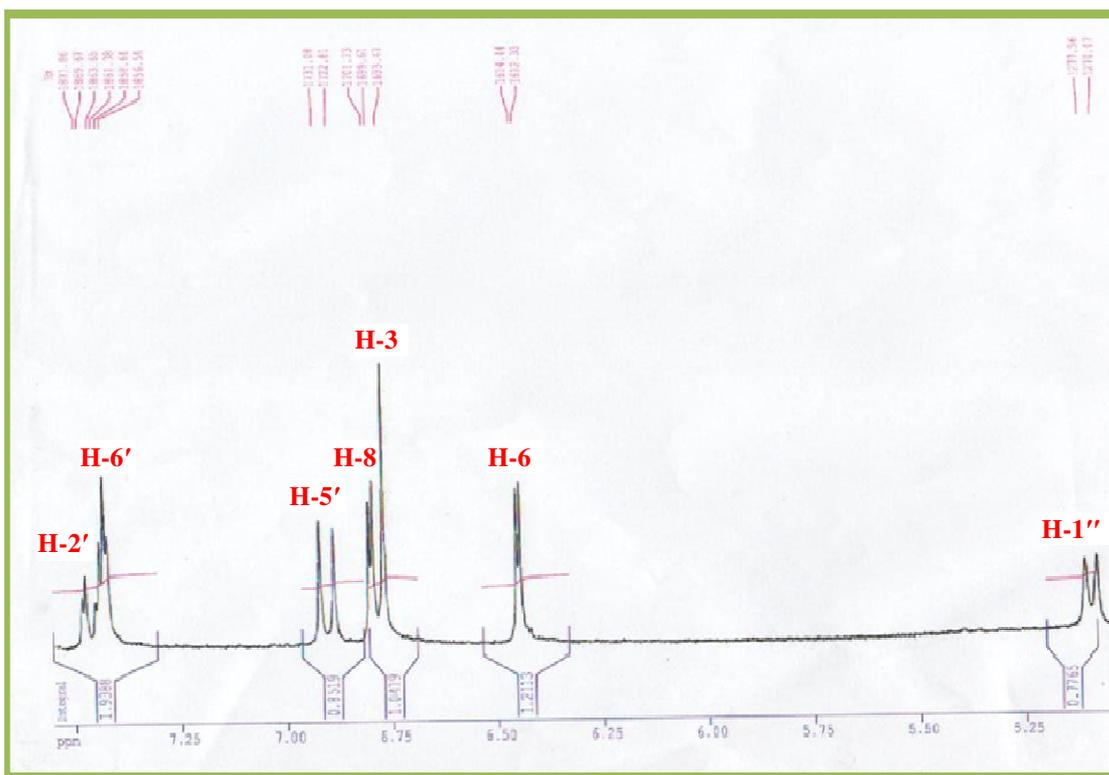
Réactifs	Bande I	Bande II	Observation
MeOH	346	257	Flavones
+NaOH	383	267	4'-OH
+ NaOAc	367	257	OR en 7
+NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	370	261	3'-4' Ortho di-OH sur le cycle B.
+ AlCl <sub>3</sub>	427	274	Ortho di-OH sur le cycle B
+ AlCl <sub>3</sub> /HCl	412	275	5-OH
Spectre stable avec NaOH après 5 mn			

### I. 6. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup>H:

L'analyse du spectre RMN<sup>1</sup>H, enregistré dans le DMSO-D<sub>6</sub> à 500 MHz (figure 44 et 45) montre la présence des signaux caractéristiques d'un squelette flavonique reconnaissable par :

- ✚ Un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à  $\delta = 6.75$  ppm attribuable à H-3, ce signal qui confirme la structure d'une flavone.
- ✚ Un doublet d'intégration 1H à  $\delta = 6.40$  ppm ( $J = 2.0$  Hz) attribuable à H-6 du cycle A, indiquant un couplage *mé*ta avec un autre proton qui doit être H-8.
- ✚ Un deuxième doublet d'intégration 1H à  $\delta = 6.80$  ppm de même constante de couplage ( $J = 2.0$  Hz) attribuable à H-8 du cycle A. Ces deux signaux confirment la disubstitution du cycle A en position 5 et 7.
- ✚ Un autre doublet d'intégration 1H à  $\delta = 6.90$  ppm ( $J = 9.0$  Hz) indiquant un couplage *ortho* attribuable à H-5'.
- ✚ Un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à  $\delta = 7.40$  ppm ( $J = 2.0$  Hz) attribuable à H-2'.





**Figure 40.** Spectre RMN<sup>1</sup>H étalé du composé C6 (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 500 MHz).

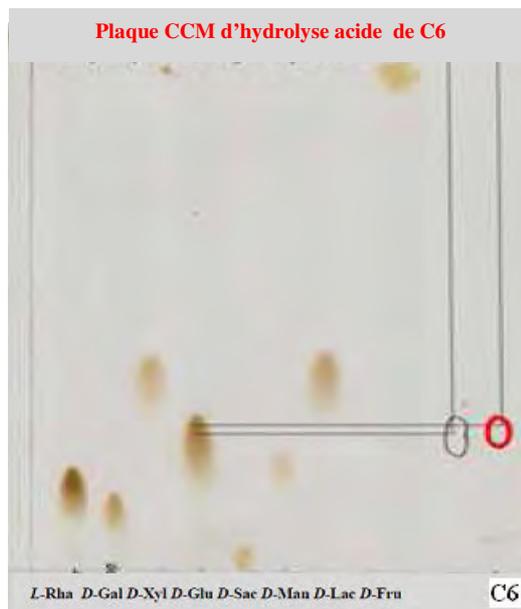
L'ensemble des données relatives à la RMN<sup>1</sup>H de ce composé est reproduit dans le Tableau 41.

**Tableau 41 :** Données RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) du composé C6.

Déplacement Chimique $\delta$ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attributions
7.45	1H	dd (9.0, 2.0)	H-6'
7.40	1H	d (2.0)	H-2'
6.90	1H	d (9.0)	H-5'
6.80	1H	d (2.0)	H-8
6.75	1H	s	H-3
6.40	1H	d (2.0)	H-6
5.08	1H	d (6.7)	H-1 (glucose ou galactose)
3-4.20	-	-	Protons osidiques

## I. 6. d) Hydrolyse acide du composé C6:

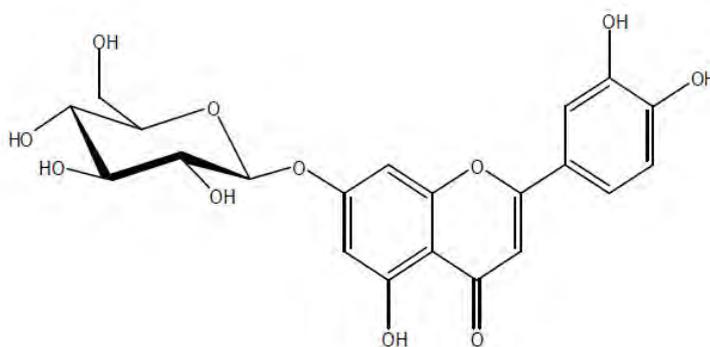
**L-Rha:** L- Rhamnose  
**D-Gal:** D-Galactose  
**D-Xyl :** D-Xylose  
**D-Glu:** D-Glucose  
**D-Sac:** D-Saccharose  
**D-Man:** D-Manose  
**D-Lac:** D-Lactose  
**D-Fru:** D-Fructose



**Figure 41.** Co-chromatographie avec des échantillons authentiques de sucres, de la phase aqueuse du composé C6.

Après hydrolyse acide, le sucre libéré a été identifié au glucose en présence de sucres témoins, ceci nous permet de proposer la structure suivante du produit C6 :

5,3',4'-trihydroxy- 7-O-glucopyranosyl flavone ou lutéoline 7-O- $\beta$ -D-glucoside.



**Lutéoline 7-O- $\beta$ -D-glucoside**

**I. 7. Elucidation de la structure du composé C7 :****I. 7. a) Propriétés physico-chimiques :**

Le produit **C7** se présente sous forme d'une huile jaune. Fluorescence sous lampe Wood : noire violette, caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3, la révélation en CCM : Réactif de Neu (jaune fluorescent sous lampe UV).

La valeur du  $R_f$  en CCM (0.20) dans le système toluène/MEC/MeOH (4:3:3) et de (0.31) dans le système H<sub>2</sub>O/ MeOH/ MEC/ acétylacétone (13:3:3:1) indique qu'il s'agit d'un hétéroside.

**I. 7. b) Les analyses spectroscopiques UV :**

Ce produit se présente sous forme d'une huile jaune et son spectre UV est caractéristique d'une flavone ou d'un flavonol substitué en 3 avec des maxima à 353 nm et 269 nm.

Comme une structure de type flavonoïde est suggérée, une analyse par spectrophotométrie UV à l'aide de réactifs de déplacements a été menée (Poobrasert et Sothanaphun, 2002).

- ❖ L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda = + 49$  nm), avec augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre enregistré dans le méthanol, révèle la présence d'un OH libre en position 4', sur le même spectre, l'apparition d'une nouvelle bande à 324 nm est révélatrice de la présence d'un OH libre en position 7.
- ❖ Le déplacement bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu AlCl<sub>3</sub> comparativement à celui enregistré dans le méthanol ( $\Delta\lambda = +54$  nm) indique la présence d'un OH libre en 5.
- ❖ Le déplacement hypsochrome de la bande I ( $\Delta\lambda = - 30$  nm) enregistré en comparant les spectres AlCl<sub>3</sub> et AlCl<sub>3</sub> + HCl, montre l'existence d'un système ortho dihydroxyle sur le cycle B, Le tableau 42 présente les résultats obtenus sur le composé C7.

**Tableau 42** : Données spectroscopiques UV-visible du produit **C7**.

Réactif de déplacement	$\lambda_{\max}$ (nm)				
	Bande I	Autres bandes	Bande II	Déplacement	Interprétation
MeOH	353	-	269	-	Flavone ou flavonol substitué en 3.
NaOH (base forte)	402	324	267	+ 48	OH libre en 4' OH libre en 7
NaOH après 5 min	400	-	267	+ 47	Pas de dégradation
AlCl <sub>3</sub>	407	-	273	+ 54	OH libre en 5 Pas de OH libre en 3
AlCl <sub>3</sub> + HCl	377	-	274	- 30	Existence d'ortho di-OH sur le cycle B

### I. 7. c) Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup>H:

L'examen du spectre RMN <sup>1</sup>H (figure 47) montre :

- un doublet d'intégration 1 H à  $\delta = 7.64$  ppm ( $J = 2.0$  Hz) attribuable à H-2'.
- un doublet de doublé d'intégration 1H à  $\delta = 7.56$  ppm ( $J = 8.4$  et  $2.0$  Hz) attribuable à H-6'.
- un doublet d'intégration 1H à  $\delta = 6.78$  ppm ( $J = 8.4$  Hz) attribuable à H-5' ; L'ensemble de ces trois signaux confirme la disubstitution du noyau B.
- deux signaux sous forme de deux doublet d'intégration 1H chacun, le premier à  $\delta = 6.45$  ppm ( $J = 2.0$  Hz) et le second à  $\delta = 6.26$  ppm ( $J = 2.0$  Hz) attribuables à H-8 et H-6 respectivement.
- enfin, un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1 H à  $\delta = 5.08$  ppm ( $J = 7.3$  Hz) attribuable au proton anomérique du sucre H-1'' et dans l'intervalle 3.66-3.22 ppm se trouvent les autres protons du sucre.

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau 43.

**Tableau 43** : Données RMN<sup>1</sup>H (250 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) du produit **C7**.

<b>Interprétation</b>	<b>δ (ppm), m, J (Hz)</b>	<b>Intégration</b>
H-2'	7.64, d, 2.0	1H
H-6'	7.56, dd, 8.4 et 2.0	1H
H-5'	6.78, d, 8.4	1H
H-8	6.45, d, 2.0	1H
H-6	6.26, d, 2.0	1H
H-1''	5.08, d, 7.3	1H
Protons Glu	3.22 - 3.66, m	6H

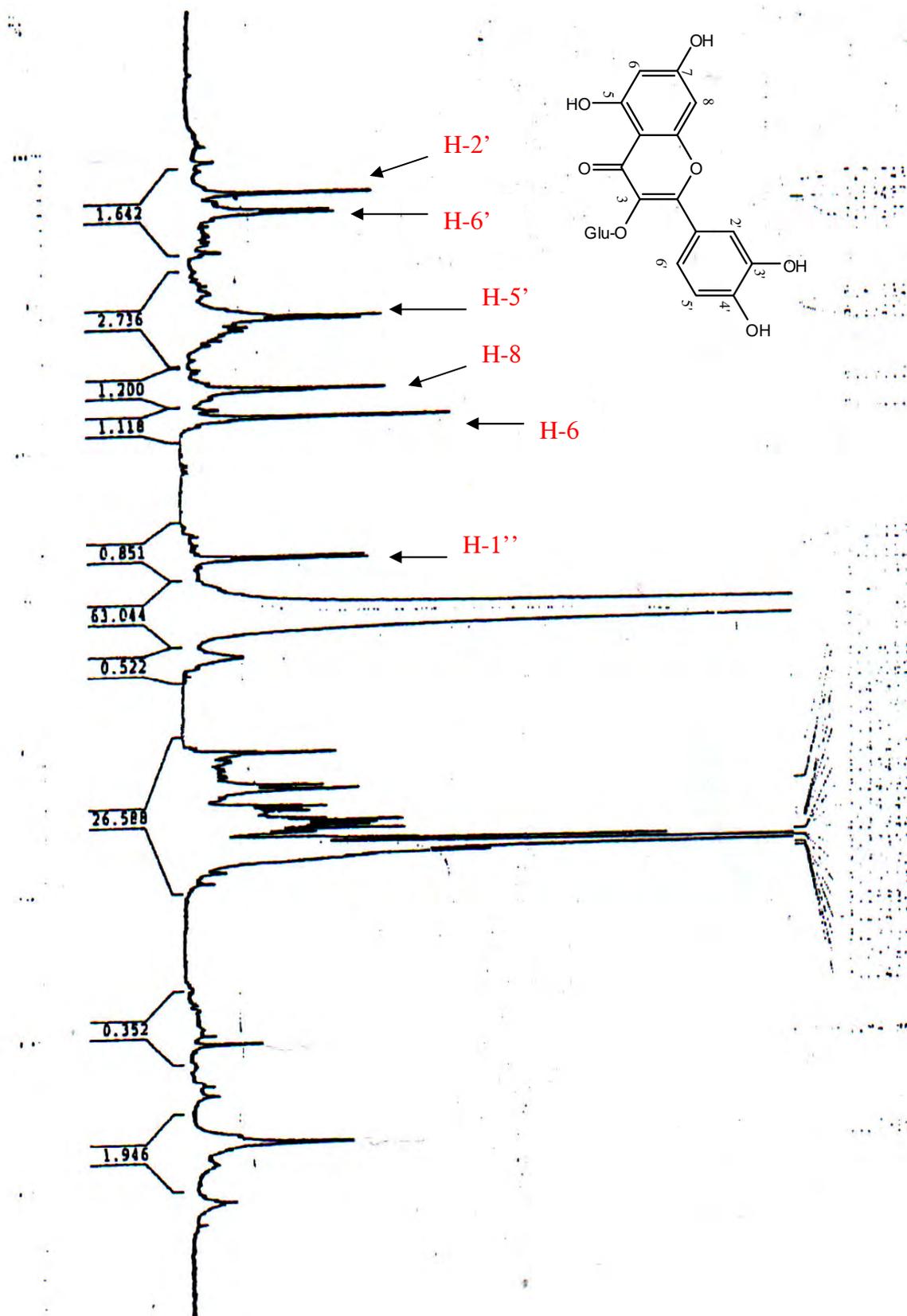


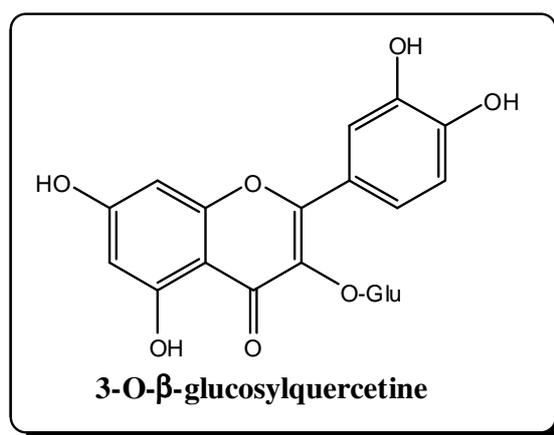
Figure 42. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé C7.

**I. 7. d) Hydrolyse acide du composé C7:**

L'hydrolyse acide de ce composé libère le glucose comme sucre identifié par chromatographie avec un échantillon authentique.

L'aglycone obtenue donne une fluorescence jaune sous UV (365 nm) indiquant l'obtention d'un flavonol, ce qui confirme une jonction sucre aglycone en position 3.

Au vu des différentes données spectrales discutées, le composé **C7** a pu être identifié comme étant la **3-O- $\beta$ -D-glucosylquercétine** (Isoquercétrine).



**Conclusion :**

Les flavonoïdes isolés dans la littérature sont 14 molécules pour toutes les espèces de *Santolina rosmarinifolia* L., parmi ces molécules, on trouve 9 molécules qui ont des groupements méthoxylés, et on a trouvé également 6 molécules qui portent un seule groupe méthoxyle et les 3 autres molécules portent deux méthoxyles.

En comparant les molécules isolées de *S. rosmarinifolia* avec ceux des espèces du genre *Santolina*, on trouve les mêmes positions des substituants pour les espèces suivantes :

- *S. chamaceypaissus* et *S. rosmarinifolia* (Jacéosidine).
- *S. chamaceypaissus*, *S. rosmarinifolia*, *S. pinnata* et *S. insularis* (Lutéoline).
- *S. pinnata* et *S. insularis* (Lutéoline7-O-β-D-glucoside).

L'espèce	Le composé	La position du méthoxyle				L'espèce étudiée
		6	7	3'	4'	
<i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i> <i>S. insularis</i> <i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. pinnata</i>	6-méthoxylutéoline	×				
<i>S. chamaceypaissus</i>	7-méthoxylutéoline		×			
<i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. insularis</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	5,4'-dihydroxy-6,7-Diméthoxyflavone	×	×			
<i>S. chamaceypaissus</i>	pectolinarigenine	×			×	
<i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	Jacéosidine	×		×		×
<i>S. insularis</i> <i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	Hispiduline	×				
<i>S. insularis</i>	Rhamnocitrine		×			
<i>S. rosmarinifolia</i>	Isorhamnétine			×		
<i>S. chamaceypaissus</i>	Patulétine	×				

A l'issue de cette synthèse, il apparait que seules les espèces *S. chamaecypaissus* et *S. rosmarinifolia* ssp. *Rosmariniolia* ressemblent à l'espèce étudiée *S. rosmarinifolia* dans leur contenu en Jacéosidine.

## La distribution des groupes méthoxylés :

L'espèce	Le composé	La position d'hydroxyle					L'espèce étudiée
		5	6	7	3'	4'	
<i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. pinnata</i>	Apigénine			×		×	
<i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i> <i>S. pinnata</i> <i>S. insularis</i>	Lutéoline			×	×	×	×
<i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i> <i>S. insularis</i> <i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. pinnata</i>	6-méthoxylutéoline			×	×	×	
<i>S. chamaceypaissus</i>	7-méthoxylutéoline				×	×	
<i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. insularis</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	5,4'-dihydroxy-6,7-Diméthoxyflavone					×	
<i>S. chamaceypaissus</i>	pectolinarinéine			×			
<i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	jacéosidine			×		×	×
<i>S. insularis</i> <i>S. chamaceypaissus</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	hispiduline			×		×	
<i>S. pinnata</i> <i>S. rosmarinifolia</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i>	Kaempférol			×		×	
<i>S. insularis</i>	Rhamnocitrine					×	
<i>S. rosmarinifolia</i>	Isorhamnétine			×		×	
<i>S. chamaceypaissus</i>	patulétine			×	×	×	
<i>S. chamaceypaissus</i>	Apigénine 7-O-β-D-glucoside	×				×	
<i>S. insularis</i> <i>S. pinnata</i>	Lutéoline 7-O-β-D-glucoside	×			×	×	×

## II. Résultats de l'Activité antioxydante de l'espèce *S. rosmarinifolia* L. :

### II. 1. Résultats et discussion :

Les taux de polyphénols existant dans les extraits acétate d'éthyle (EASR) et butanolique (EBSR) calculés sont présentés dans le tableau 44 ainsi que ce de la référence (picnogénol)

**Tableau 44.** Taux de polyphénols existant dans les extraits EASR et EBSR.

Echantillon dosé	Taux de polyphénols (g/100g équiv. pyrogallol)
EASR	13.64±0.87
EBSR	8.01±0.17
Picnogénol*	30.70

\* Référence standard

Il apparait que l'EASR est plus riche que l'EBSR en polyphénols. Comparativement au picnogénol, nous pouvons conclure que l'EBSR est moyennement riche alors que l'EASR est assez riche en polyphénols.

### II. 2. Résultat de l'activité antioxydante testée par la méthode du DPPH :

Dans la détermination de l'activité antioxydante, on effectue un test de l'activité antioxydante (inhibition du radical DPPH), ce dernier consiste à mesurer la capacité de l'extrait à inhiber le radical stable DPPH.

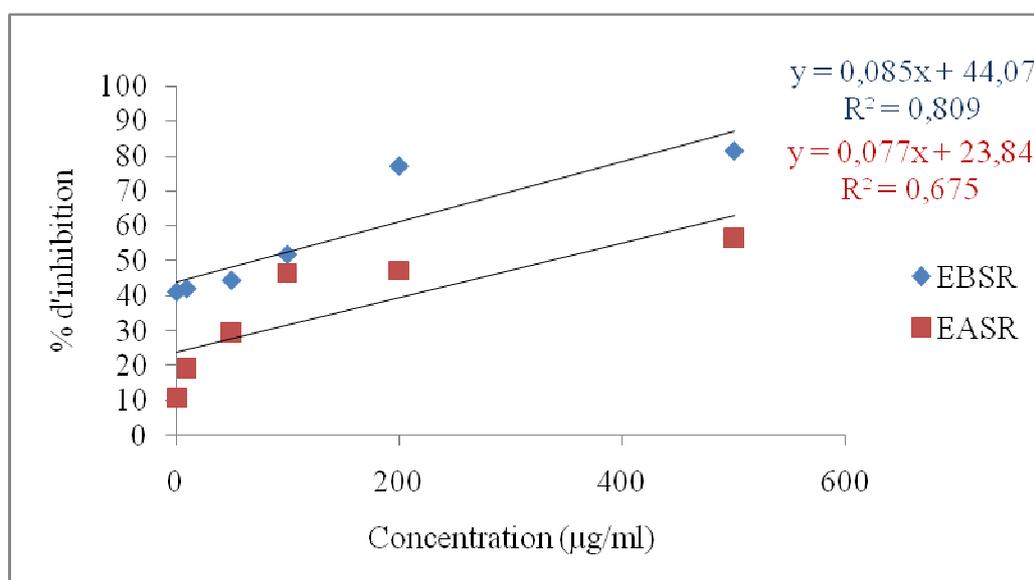
En effet, il permet de mesurer le pouvoir réducteur des extraits. Les résultats sont exprimés en termes de  $CI_{50}$  (concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH).

Les pourcentages d'inhibition obtenus pour les différentes concentrations préparées après ajout de la solution du DPPH, sont présentés dans le tableau 45. La concentration  $CI_{50}$  est déduite de la droite représentant le taux d'inhibition en fonction de la concentration des extraits EASR et EBSR (Figure 48).

Les valeurs des  $CI_{50}$  des extraits étudiés, de la quercétine et de la vitamine E considérées comme de puissants antioxydants sont indiquées dans le tableau 46.

**Tableau 45 :** Les taux d'inhibition du DPPH aux différentes concentrations des extraits EASR et EBSR.

Concentration (µg/ml)	1	10	50	100	200	500
% d'inhibition EBSR	41.20	42.12	44.49	51.83	77.03	81.36
% d'inhibition EASR	10.90	19.30	29.52	46.52	47.25	56.66



**Figure 48:** Effet inhibiteur des extraits EASR et EBSR sur le DPPH.

**Tableau 46 :**  $CI_{50}$  des extraits EASR et EBSR et des références pour l'inhibition du DPPH.

	$CI_{50}$ (µg/ml)
EBSR	69.07
EASR	339.74
Quercétine	12
Vitamine E	25

Ces résultats montrent un meilleur effet antioxydant de l'EBSR à une concentration de 500 mg/ml car environ 81.36 % du DPPH sont inhibés. Comparativement à la vitamine E et à la quercétine, la valeur de la  $CI_{50}$  de l'EBSR (69.07  $\mu$ g/ml) permet de conclure que cet extrait possède une assez bonne activité antioxydante. Si on compare, les valeurs des polyphénols totaux des extraits EASR et EBSR, il apparaît que celui qui est plus riche en polyphénols est le moins antioxydant. Ceci peut être expliqué par la présence d'autres métabolites dans l'extrait EBSR qui augmentent son activité antioxydante.

### III. Conclusion :

Dans ce travail, nous avons réalisé l'étude phytochimique de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* appartenant à la famille des Asteraceae. Les travaux ont été orientés vers l'extraction, la séparation et l'identification des flavonoïdes. Grâce à des séparations chromatographiques sur colonne et sur CCM, nous avons pu isoler 7 flavonoïdes qui ont été identifiés grâce à la RMN et à l'UV:

- 5,7-dihydroxy-6,3',4'-triméthoxyflavone (eupatiline).
- 5,7,4'-trihydroxy-6,3'-diméthoxyflavone (jacéosidine).
- 5-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone (salvigénine).
- 5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone (lutéoline).
- 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone (quercétine).
- luteolin 7-O- $\beta$ -D-glucoside .
- quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucoside.

L'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et n-butanolique a été effectuée par la méthode du DPPH qui a montré une meilleure inhibition (86.36 %).

## CHAPITRE 2

Résultats d'analyses GC et GC/MS  
d'huiles essentielles de *Santolina  
rosmarinifolia* L., *Mentha piperitha*,  
*Artemisia herba alba*, *Ferula  
communis* L. & *F. lutea* et *Senecio  
giganteus* Desf.

## I. *Santolina rosmarinifolia* L. :

### I. 1. Résultats GC et GC/MS de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. :

31 composés ont été déterminés dans l'analyse GC et GC/MS de l'huile essentielle de *Santolina rosmarinifolia*, représentent 93.40% du contenu de l'huile. Les composants majoritaires sont le germacrène D (30.20%), le  $\beta$ -myrcène (12.00%), le tricosane (10.60%), l' $\alpha$ -pinène (10.10%), le sabinène (7.00%) et le pentacosane (6.70%) (Tableau 47).

C'est la première fois que le germacrène D, le tricosane et le pentacosane sont trouvés comme composants majoritaires d'une huile du genre *Santolina*. Néanmoins, le germacrène D a été trouvé sous forme de traces dans *Santolina rosmarinifolia* récoltée en Espagne (Pala-Paul, *et al.* 2001). Le Sabinène (8.20%) a été trouvé comme un composant majoritaire dans l'huile essentielle de l'espèce Espagnole *S. rosmarinifolia* (Pala-Paul, *et al.* 2001), également caractérisée par la présence de  $\beta$ -Phellandrène (26.70%).

Les autres composés majoritaires, tels que le  $\beta$ -pinène (26.60%) et le  $\beta$ -myrcène (34.60%, 14.40%) ont été rapportés d'huiles essentielles de *S. corsica*, *S. rosmarinifolia*, respectivement (Liu *et al.*, 2007 ; Pala-Paul *et al.* 2001).

**Tableau 47** : Composition de l'huile essentielle de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L.:

N°	IR <sup>a</sup>	Composant	Pourcentage (%)
01	909	Santolina triène	0.20
02	939	$\alpha$ -Pinène	0.70
03	975	Sabinène	<b>7.10</b>
04	979	$\beta$ -Pinène	<b>10.10</b>
05	991	$\beta$ -Myrcène	<b>12.00</b>
06	1029	Limonène	0.10
07	1031	1,8-Cinéole	4.60
08	1070	<i>cis</i> -Sabinène hydrate	0.10
09	1141	<i>p-trans</i> -menth-2-èn-1-ol	0.20
10	1146	Camphre	0.10
11	1164	<i>cis</i> -Chrysanthenol	0.90

12	1169	Bornéol	0.30
13	1177	Terpinen-4-ol	0.10
14	1189	$\alpha$ -Terpinéol	0.30
15	1377	$\alpha$ -Copaène	0.10
16	1391	$\beta$ -Elémène	2.90
17	1419	<i>trans</i> -Caryophyllène	0.30
18	1477	$\alpha$ -Gurjunène	0.10
19	1483	$\gamma$ -Curcumène	1.20
20	1485	Germacrène -D	<b>30.20</b>
21	1496	Valencene	0.20
22	1500	Bicyclogermacrene	0.40
23	1523	$\beta$ -Cadinène	0.20
24	1531	$\gamma$ - <i>E</i> -Bisabolene	1.70
25	1550	Germacrène -B	0.20
26	1561	Elemol	0.30
27	1578	Spathuléol	0.20
28	1654	$\beta$ -Eudesmol	0.90
29	1686	$\alpha$ -Bisabolol	0.40
30	2300	Tricosane	<b>10.60</b>
31	2500	Pentacosane	<b>6.70</b>
<b>Composés identifiés</b>			<b>93.40</b>

<sup>a</sup>: Indice de rétention calculé sur colonne DB-5MS en série homologue de *n*-alcane (C<sub>7</sub>-C<sub>18</sub>).

## I. 2. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Santolina rosmarinifolia* L. :

### Protocole et souches utilisés :

Nous avons réalisé l'étude en adoptant la méthode de diffusion sur disque. Les souches de référence proviennent de l'institut Pasteur tandis que les souches hospitalières proviennent des

malades du CHU-Benbadis-Constantine : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*.

Le tableau 48 montre que l'huile essentielle de *S. rosmarinifolia* L. a inhibé plus fortement la croissance des souches d'*Escherichia coli* ATCC, *Escherichia coli* (SH) et *Enterobacter aerogenes* (SH) avec des zones d'inhibition de 25, 20, 20 mm, respectivement. Les valeurs de CMI correspondantes (16 µg/ml) confirment cette activité bactéricide plus forte vis-à-vis de ces souches (tableau 49).

**Tableau 48 :** Activité antibactérienne (zones d'inhibition) de l'huile essentielle d'espèces *Santolina rosmarinifolia* L. et d'antibiotiques vis-à-vis de quelques souches bactériennes.

Souche testées	Zone d'inhibition (mm), Solution mère (20µl/disque), antibiotique	
	Huile essentielle (128 µg/ml)	Ampicilline (10 µg/ml)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	25	18
<i>Escherichia coli</i> (SH)	20	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	10	30
<i>Staphylococcus aureus</i> (SH)	8	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	18	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (SH)	15	
<i>Enterobacter aerogenes</i> (SH)	20	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (SH)	18	14
<i>Morganella morganii</i> (SH)	16	-

(SH) : Souche Hospitalière

**Tableau 49:** Concentrations minimales inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle d'espèces *Santolina rosmarinifolia* L. vis-à-vis les souches bactériennes.

souches bactériennes	CMI (µg/ml)	
	<i>S. rosmarinifolia</i> (128 µg/ml)	Ampicilline (10 µg/ml)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	16	10
<i>Escherichia coli</i>	16	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	64	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	64	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	32	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	16	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32	32
<i>Morganella morganii</i>	32	-

## II. *Mentha piperita* L.:

Nos travaux ont concerné l'étude comparative des compositions et de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des parties aériennes sèches et fraîches.

### II. 1. Composition de l'huile essentielle des parties aériennes sèches de *Mentha piperita* L.:

L'hydrodistillation des parties aériennes sèches de *Mentha piperita*, récoltée à Constantine a fourni 1.0 % d'une huile essentielle jaunâtre. 16 composants, représentant 97.25 % de l'huile essentielle du *Mentha piperita* sèche, ont été identifiés, avec le thymol (62.7 %), carvacrol (20.4%) et le tert-butylbenzene (6.1%) comme composants majoritaires (Tableau 50). La prédominance de composés phénoliques n'est pas en accord avec les compositions d'huiles de *M. piperita* rapportées dans les tableaux 12-16.

**Tableau 50 :** Composition de l'huile essentielle des parties aériennes sèches de l'espèce *Mentha piperita* :

N°	IR <sup>a</sup>	Composant	Pourcentage (%)
01	924	$\alpha$ -Thujène	0,1
02	932	$\alpha$ -Pinène	0,77
03	974	$\beta$ -Pinène	0,33
04	1014	$\alpha$ -Terpinène	0,49
05	1017	Tert-butylbenzene	<b>6,09</b>
06	1054	$\gamma$ -Terpinène	2,41
07	1095	Linalool	1,09
08	1098	<i>trans</i> -Sabinène hydrate	0,19
09	1165	Bornéol	0,15
10	1174	Terpinen-4-ol	0,47
11	1298	Carvacrol	<b>20,39</b>
12	1289	Thymol	<b>62,74</b>
13	1522	$\delta$ -Cadinene	0,28
14	1577	Spathuléol	0,50
15	1638	epi- $\alpha$ -Cadinol	0,89
16	1652	$\alpha$ -Cadinol	0,36
<b>Composés identifiés</b>			<b>97.25</b>

<sup>a</sup> : Indice de rétention calculé sur colonne DB-5MS en série homologue de *n*-alcanes (C<sub>7</sub>-C<sub>18</sub>).

## II. 2. Composition de l'huile essentielle des parties aériennes fraîches de *Mentha piperita* L.:

32 composants, représentant 91.32% de l'huile essentielle ont été identifiés, avec une prédominance de l'oxide de Piperitenone (64.5 %) (Tableau 51). Le composant prédominant a

également été trouvé comme composant majoritaire de l'huile essentielle de *M. piperita* récoltée à Teheran (Iran) (19.30%) (Yadegarinia *et al.*, 2006).

**Tableau 51 :** Composition de l'huile essentielle des parties aériennes fraîches de l'espèce *Mentha piperita* :

N°	IR <sup>a</sup>	Composant	Pourcentage (%)
01	932	$\alpha$ -Pinène	1.00
02	946	Camphène	0.12
03	1025	$\beta$ - Phellandrène	0.48
04	974	$\beta$ -Pinène	2.50
05	1024	Limonène	3.11
06	1032	(Z)- $\beta$ -Ocimene	0.40
07	1110	acetate de 3-yle-1-octen	0.74
08	1165	Lavandulol	0.25
09	1165	Bornéol	0.48
10	1189	Fenchol	0.37
11	1234	Levomenthol	0.11
12	1243	Carvone	0.74
13	1366	(Z)-oxyde de piperitenone	<b>64.51</b>
14	1392	(Z)-Jasmone	0.66
15	nd	(Z)-2-(2-butenyl)-4-hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one	0.12
16	nd	-1,2,3-triol- <i>p</i> -Menthane	3.74
17	1417	(E)-Caryophyllene	1.58
18	1533	$\alpha$ -Cadinene	0.48
19	1454	(E)- $\beta$ -Farnesene	0.25
20	1452	$\alpha$ -Humulene	0.20
21	1493	(E)-Muurolo-4(14),5-diene	2.45
22	1484	Germacrene D	2.47
23	1500	Bicyclogermacrene	0.26

24	1513	$\gamma$ -Cadinene	0.27
25	1528	(Z)-Calamenene	0.82
26	1537	$\alpha$ -Cadinene	0.40
27	1573	4 $\beta$ -Hydroxygermacra-1(10),5-diene	0.12
28	1592	Viridiflorol	0.20
29	1618	1,10-di-epi-Cubenol	1.17
30	1590	$\beta$ -Copaen-4 $\alpha$ -ol	0.26
31	1651	$\alpha$ -Cadinol	0.80
32	1679	Khusinol	0.26
<b>Composés identifiés</b>			<b>91.32</b>

<sup>a</sup> : Indice de rétention calculé sur colonne DB-5MS en série homologue de *n*-alcanes (C<sub>7</sub>-C<sub>18</sub>).

### II. 3. Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Mentha piperita* L.:

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des parties aériennes sèches de *Mentha piperita* par la méthode de diffusion sur disque est réalisée par l'incubation des boîtes de pétri à 37°C pendant 24h suivie par la mesure des diamètres des zones d'inhibition des bactéries (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Proteus mirabilis* et *Streptococcus sp*). Enfin, les résultats obtenus sont dressés dans les tableaux 52 et 53. Ceux-ci montrent que l'huile essentielle de l'espèce *M. piperita* sèche a exercé une activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les bactéries testées dans notre étude. Cependant, l'intensité de celle-ci varie selon la nature de la souche (tableau 52).

Il est à signaler que la boîte témoin contenant l'éthanol dilué à 60% (sans huile essentielle) ne présente aucune zone d'inhibition.

Les bactéries à Gram (+) sont généralement sensibles aux huiles essentielles des Lamiaceae. Parmi les bactéries testées, la souche *E.coli* de référence est la plus sensible en présence de l'huile essentielle de *M.piperita* avec une zone d'inhibition de 20.5 mm.

La méthode de dilution d'agar qui est plus précise pour l'évaluation de l'activité antibactérienne a été expérimentée sur l'huile essentielle de *Mentha piperita*. Les résultats

exprimés par les concentrations minimales inhibitrices (CMI : définie comme étant la plus faible concentration capable d’inhiber dans un milieu toute culture visible de la souche étudiée). Cependant elles confirment les résultats précédents puisque on peut constater que les zones d’inhibitions de diamètres élevés correspondent aux CMI les plus faibles.

**Tableau 52 :** Activité antibactérienne des parties aériennes sèches de l’huile essentielle de *Mentha piperita* et d'antibiotiques vis-à-vis de quelques souches bactériennes.

Souche testées	Zone d’inhibition (mm), Solution mère (20µl/disque), antibiotiques					
	Huile essentielle	Fosfomycine	Ciprofloxacine	Imipeneme	Chloramphenicol	Pristinamycine
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20.5					
<i>Escherichia coli</i> (SH)	18	30				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	17.5					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (SH)	15.5		30			
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300)	11					
<i>Staphylococcus aureus</i> (SH)	16	32				
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (SH)	19			28		
<i>Enterobacter sp</i> (SH)	15.5				28	
<i>Proteus mirabilis</i> (SH)	17		30			
<i>Streptococcus sp</i> (SH)	20					28

Le tableau 52 montre que l’huile essentielle des parties aériennes sèches de *M. piperita* a plus fortement inhibé la croissance des souches bactérienne d’*Escherichia coli* (ATCC), de

*Streptococcus sp* (SH) et de *Klebsiella pneumoniae* (SH) avec des zones d'inhibition de 20.5, 20, 19 mm, respectivement.

Les valeurs respectives de la CMI (20, 20, 40 µg/ml) confirment l'activité antibactérienne plus grande observée vis-à-vis de ces souches.

**Tableau 53:** Concentration minimale d'inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de l'espèce *Mentha piperita* sèche vis-à-vis des souches bactériennes testées.

	CMI (µg/ml)
souches bactériennes	Huile essentielle de <i>Mentha piperita</i> sèche
<i>Escherichia coli</i> (ATCC)	20
<i>Escherichia coli</i> (SH)	80
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC)	40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (SH)	80
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC)	80
<i>Staphylococcus aureus</i> (SH)	80
<i>Enterobacter sp.</i> (SH)	80
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (SH)	40
<i>Proteus mirabilis</i> (SH)	40
<i>Streptococcus sp.</i> (SH)	20

### III. *Artemisia herba-alba* :

40 composants, représentant 91.09 % de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*, ont été identifiés. Cette huile est majoritairement composée de chrysanthène (16.23 %), de camphre (15.62 %), d' $\alpha$ -thujone (9.09 %), de  $\beta$ -thujone (14.23 %), de 1,8-cinéole (8.88%) et de piperiténone (7.57 %) (Tableau 54).

La composition de la présente huile est légèrement similaire à celle d'*Artémisia herba alba* de Biskra (Bezza, *et al.* 2010) majoritairement composée d' $\alpha$ -thujone (7.85%) et de chrysanthenone (4.98%) et de M'sila (Dob et Benabdelkader, 2006) dont les composants majoritaires sont le  $\beta$ -Thujone (15.00%), le chrysanthenone (15.80%) et le camphre (19.40%), et celle du Maroc (Errachidia) (Boutkhil, *et al.* 2009), caractérisée par la présence de 1,8-cinéole (4.98%),  $\alpha$ -,  $\beta$ -thujone (17.27, 9.91%), chrysanthenone (6.37%) et camphre (17.79%), et de Machraa (Paolini, *et al.* 2010) largement représentée par le chrysanthenone (25.80%) et le camphre (31.90%) et de Valentina du sud de l'Espagne (Salido, *et al.* 2001) principalement composées de 1,8-cinéole (10.2%) et de chrysanthenone (6.7%).

**Tableau 54:** composants de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Poiret.

N°	IR <sup>a</sup>	Composant	Pourcentage (%)
01	927	2,3,3-triméthyl-2-oxiranyl-méthanol	1.00
02	932	$\alpha$ -Pinène	0.42
03	946	Camphène	2.80
04	953	Thuja-2,4(10)-diène	0.26
05	969	1,3,5- Triméthylbenzène	0.81
06	974	$\beta$ -Pinène	0.13
07	996	$\delta$ -2-Carène	0.41
08	1020	1,2,3-Triméthylbenzène	0.27
09	1025	$\beta$ -Phellandrène	0.23
10	1026	1,8-Cinéole	<b>8.88</b>
11	1054	$\gamma$ -Terpinène	0.10
12	1086	Terpinolène	0.12
13	1087	Filifolone	2.01
14	1112	$\beta$ -Thujone	<b>14.23</b>
15	1101	$\alpha$ -Thujone	<b>9.09</b>
16	1124	Chrysanthénone	<b>16.23</b>
17	1135	<i>trans</i> -Pinocarveol	1.27

18	1141	Camphre	<b>15.62</b>
19	1146	Eucarvone	0.27
20	1160	Pinocarvone	2.00
21	1165	Bornéol	1.63
22	1174	Terpinen-4-ol	0.55
23	1194	Myrténol	0.37
24	1196	Safranal	0.11
25	1198	Shisofurane	0.22
26	1204	Verbénone	1.57
27	1234	Ascaridole	0.13
28	1235	(E)-Ocimenone	0.48
29	1235	<i>trans</i> -Chrysanthenyl acetate	1.84
30	1240	Isopiperitenone	0.57
31	1284	Acétate de Bornyle	0.38
32	1340	Piperitenone	<b>7.57</b>
33	1366	Oxyde de pipériténone	1.27
34	1484	Germacrene D	0.12
35	1577	Spathuléol	0.10
36	1590	$\beta$ -Copaen-4 $\alpha$ -ol	0.10
37	1590	Globulol	0.10
38	1592	Viridiflorol	0.24
39	1600	$\alpha$ -Cedrol	0.12
40	1706	<i>trans</i> - $\gamma$ -Atlantone	0.10
<b>Composés identifiés</b>			<b>91.09</b>

<sup>a</sup>: Indice de rétention calculé sur colonne DB-5MS sur une série homologue de *n*-alcanes (C<sub>7</sub>-C<sub>18</sub>).

#### IV. *Ferula communis* & *F. lutea* :

##### IV. 1. Composition de l'huile essentielle de *Ferula communis* :

19 composés, représentent 93.3 % de l'huile essentielle, ont été identifiés. Le tableau 55 montre la prédominance du myrcène (52.5%), comme dans *F. oopoda* (Karim et al. 1979), ce dernier est aussi un composant majoritaire de l'huile essentielle des graines mûres (30.30%), des graines immatures (34.40%) et de feuilles (31.5 %), et dans l'huile essentielle des fleurs de *F. communis* ssp *glauca* (13.6 %) (Maggi et al. 2009). La présente huile essentielle est aussi caractérisée par la présence de l' $\alpha$ -pinène (20.9 %) comme autre composant qui se trouve en majorité dans les huiles essentielles de *F. communis* ssp *glauca* (feuilles et fleurs respectivement) (Maggi et al. 2009), *F. lycia* (Kose et al. 2010), *F. badrakema* (Asili et al. 2009), *F. szovitsiana* (Dehghane et al. 2009), *F. ovina* (Ghannadi et al. 2002), *F. gummosa* (galbanum et latex) (Ghannadi et al. 2002), *F. gummosa* (fruits) (Sayyah et al. 2001), *F. flabelliloba* (Rustaiyan, et al. 2001a) *F. stenocarpa* (Rustaiyan, et al. 2001b), *F. jaesekheana* (récoltée en Mai) (Kapahi et al. 1985), *F. jaesekheana* (récoltée en juillet) (Kapahi et al. 1985), et *F. penninervis* (Goryaev et al. 1968) dans les pourcentages respectifs (11.7, 24.2, 59.9, 10.9, 8.0, 8.2, 5.7, 18.3, 10.0, 48.8, 9.5, 30.0, 4.7%).

Il faut signaler que la composition de notre huile essentielle est semblable à celle de *F. communis* ssp. *glauca* (Maggi et al. 2009), récoltée en Italie, caractérisée par la présence de l' $\alpha$ -pinène (20.9, 11.7-24.2%), du myrcène (52.5, 4.2-13.6%) et du germacrène D (4.2, 5.7-14.2%) mais le  $\beta$ -Phellandrène (7.7%), paraît être exclusif à notre huile essentielle, comme un composant majoritaire.

**Tableau 55** : Composants de l'huile essentielle de *Ferula communis* L.

N°	IR <sup>a</sup>	Composant	Pourcentage (%)
01	930	$\alpha$ -Thujène	0.80
02	939	$\alpha$ -Pinène	<b>20.90</b>
03	954	Camphène	0.10
04	979	$\beta$ -Pinène	0.10
05	991	Myrcène	<b>52.50</b>
06	1025	<i>p</i> -Cymène	0.10
07	1029	Limonène	1.40

08	1030	$\beta$ -Phellandrène	<b>7.70</b>
09	1087	Fenchone	0.10
10	1097	Linalool	0.40
11	1141	Verbénol	0.10
12	1377	Copaene	0.20
13	1419	<i>trans</i> -Caryophyllene	0.20
14	1485	Germacrene D	4.20
15	1503	$\beta$ -Guaiene	0.20
16	1523	$\delta$ -Cadinène	0.20
17	1569	Lédol	0.10
18	1654	$\alpha$ -Cadinol	0.20
19	2223	Diméthoxystilbene	4.10
<b>Composés identifiés</b>			<b>93.30</b>

<sup>a</sup>: Indice de rétention calculé sur colonne DB-5MS en série homologue de *n*-alcanes (C<sub>7</sub>-C<sub>18</sub>).

#### IV. 2. Composition de l'huile essentielle de *Ferula lutea* :

21 composés, représentent 84.90 % de l'huile essentielle, ont été identifiés. Comme le montre le tableau 56, l'huile essentielle est caractérisée par la présence du 2,3,6-triméthylbenzaldehyde (25.00 %), du *cis*-chrysanthenol (20.8%), de l' $\alpha$ -pinène (10.9%) et du thymol (10.2%), comme composants majoritaires.

Il apparaît que l' $\alpha$ -pinène est un marqueur du genre *Ferula* puisqu'il est trouvé en quantité majoritaire dans un très grand nombre d'espèces citées dans l'aperçu bibliographique précédemment décrit.

La présente huile essentielle est caractérisée par la présence exclusive du 2,3,6-triméthylbenzene (25.0%), du *cis*-chrysanthenol (20.8%) et du thymol (10.2%). le *cis*-chrysanthenol a été trouvé comme un composant mineur dans plusieurs huiles essentielles d'espèce Apiaceae et comme un composant majoritaire d'huile essentielle d'*Anthriscus caucalis* (jusqu'à 16%) (Chizzola, 2011).

**Tableau 56** : composants de l'huile essentielle de *Ferula lutea* L.

N°	IR <sup>a</sup>	Composant	Pourcentage (%)
01	930	$\alpha$ -Thujène	1.70
02	939	$\alpha$ -Pinène	<b>10.90</b>
03	1017	$\alpha$ -Terpinène	2.00
04	1025	<i>p</i> -Cymène	0.60
05	1030	$\beta$ -Phellandrène	0.30
06	1097	Linalool	0.10
07	1128	Chrysanthénone	2.00
08	1137	<i>cis</i> -Limonène oxide	0.80
09	1143	<i>cis</i> -Sabinol	0.20
10	1164	<i>cis</i> -Chrysanthénol	<b>20.80</b>
11	1183	<i>p</i> -Cymèn-8-ol	0.10
12	1191	Myrténol	1.20
13	1205	Verbénone	2.00
14	1265	Acétate de <i>cis</i> -chrysanthényle	2.50
15	1290	Thymol	<b>10.20</b>
16	1355	2,3,6-Triméthylbenzaldehyde	<b>25.00</b>
17	1441	Aromadendrène	0.50
18	1539	Kessane	1.60
19	1578	Spathulenol	0.10
20	1583	Oxyde de caryophyllène	1.80
21	1763	Aristolone	0.50
<b>Composés identifiés</b>			<b>84.90</b>

<sup>a</sup> : Indice de rétention calculé sur colonne DB-5MS en série homologue de *n*-alcanes (C<sub>7</sub>-C<sub>18</sub>).

L'étude comparative des compositions des huiles essentielles de *F. communis* et *F. lutea* permet de conclure que l' $\alpha$ -pinène qui semble être un marqueur du genre, y est aussi en grand pourcentage, les autres composants majoritaires de chaque huile ne sont pas communs. Par conséquent, les compositions des deux huiles peuvent être considérées comme différentes.

#### V. *Senecio giganteus* Desf. :

18 composants ont été caractérisés, représentant 82.8% de l'huile essentielle avec l' $\alpha$ -Pinène (19.4 %), le 6,10,14-triméthyl-2-pentadécane (19.1 %), le pentacosane (16.9 %), et le tricosane (11.9 %), comme composants majoritaires (Tableau 57).

L' $\alpha$ -Pinène a été rapporté comme un composant majoritaire des huiles essentielles de *S. mikanioides* Otto. (22.9 %) (El Tantawy, 2000), *S. cannabinifolium* Less. (9.2 %) (He *et al.*, 2007), *S. ambavilla* (14.0 %) (Vera *et al.*, 1994), *S. filaginoides* DC. (20.0 %) (Balzaretto *et al.*, 2000), *S. squalidus* L. (14.0 %) (Chalchat *et al.*, 2004) et *S. farfarifolius* Boiss. & Kotschy (48.3 %) (Baser et Demirci, 2004), mais les autres composants sont rapportés pour la première fois, dans la présente huile comme produits majoritaires d'une huile essentielle du genre *Senecio*.

**Tableau 57** : Composants de l'huile essentielle de *Senecio giganteus*.

N°	IR <sup>a</sup>	Composant	Pourcentage (%)
01	939	$\alpha$ -Pinène	<b>19.40</b>
02	1126	$\alpha$ -Campholénal	0.40
03	1128	Fenchol	0.30
04	1292	Tridecène	1.70
05	1377	$\alpha$ -Copaène	0.10
06	1389	Tetradécène	0.50
07	1395	10-(acétylméthyl)-(+)-3-Carene,	0.30
08	1523	$\delta$ -Cadinène	0.90
09	1533	Nérolidol	1.10
10	1569	Lécol	0.90
11	1608	Neoclovenoxid	1.20

12	1840	3-Eicosyne	1.00
13	1847	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	<b>19.10</b>
14	1985	2-Pentylfurane	0.60
15	2000	Eicosane	4.00
16	2100	Heneicosane	2.50
17	2300	Tricosane	<b>11.90</b>
18	2500	Pentacosane	<b>16.90</b>
<b>Composés identifiés</b>			<b>82.80</b>

<sup>a</sup> : Indice de rétention calculé sur colonne DB-5MS en série homologue de *n*-alcanes (C<sub>7</sub>-C<sub>18</sub>).

## Conclusion

Les huiles essentielles, obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de *Santolina rosmarinifolia*, *Mentha* (fraîche), *Mentha* (sèche), *Ferula communis*, *F. lutea* et *Senecio giganteus* ont été analysées en GC et GC/MS, permettant d'obtenir les résultats suivants :

- *Santolina rosmarinifolia* L. : 6 composants majoritaires ont été identifiés : le germacrene D (30.20%), le  $\beta$ -myrcène (12.00%), le tricosane (10.60%), l' $\alpha$ -pinène (10.10%), le sabinène (7.00%) et le pentacosane (6.70%).
- *Mentha piperita* sèche : 3 composants majoritaires caractérisent cette huile : le thymol (62.7 %), le carvacrol (20.4%) et le tert-butylbenzene (6.1%).
- *Mentha piperita* fraîche : prédominance de l'oxyde de Pipériténone (64.5 %).
- *Artemisia herba-alba* : 6 composants majoritaires ont été identifiés : le chrysanthénone (16.23 %), le camphre (15.62 %), l' $\alpha$ -,  $\beta$ -thujone (9.09 %, 14.23 %), le 1,8-cinéole (8.88 %) et le pipériténone (7.57 %).
- *Ferula communis* : 3 composants majoritaires : le myrcène (52.5%), l' $\alpha$ -pinène (20.90%), et le  $\beta$ -phellandrène (7.70 %).
- *F. lutea* : 4 composants majoritaires ont été identifiés : le 2,3,6-triméthylbenzaldehyde (25.00 %), le *cis*-chrysanthénol (20.80%), le thymol (10.20) et l' $\alpha$ -pinène (10.90 %).
- *Senecio giganteus* : 4 composants majoritaires ont été caractérisés : l' $\alpha$ -Pinène (19.40%), le 6,10,14-triméthyl-2-pentadécane (19.10 %), pentacosane (16.90%) et le tricosane (11.90 %).

L'huile essentielle de *Santolina rosmarinifolia* L. a manifesté une bonne activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli* ATCC, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus* ATCC, *staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC avec des zones d'inhibition respectives de 25, 20, 18, 10, 8, 18, 20, 16, 18 mm.

Alors que l'huile essentielle de *Mentha piperita* sèche a montré un pouvoir bactéricide vis-à-vis d'*Escherichia coli* ATCC, *Streptococcus sp* et de *Klebsiella pneumoniae* avec des zones d'inhibition de 20.5, 20, 19 mm respectivement.

## Conclusion générale

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles ; près de 6500 flavonoïdes repartis en 12 classes sont connus, ils ont trouvé une large application comme antioxydants, anti-inflammatoires, antitumoraux, etc...

Par ailleurs, les huiles essentielles et les arômes extraits de plantes aromatiques et d'épices sont le résultat d'un mélange complexe de substances volatiles. Elles sont largement appliquées en agro-alimentaire et en phytothérapie.

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales algériennes, nous avons réalisé une étude phytochimique de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. (Asteraceae) récoltée à Batna. Les travaux ont été orientés vers l'extraction, la séparation et l'identification des flavonoïdes. Grâce à des séparations chromatographiques sur colonne et sur CCM, nous avons pu isoler 7 flavonoïdes qui ont été identifiés grâce à la RMN et à l'UV :

- ✓ 5,7-dihydroxy-6,3',4'-triméthoxyflavone (eupatiline).
- ✓ 5,7,4'-trihydroxy-6,3'-diméthoxyflavone (jacéosidine).
- ✓ 5-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone (salvigénine).
- ✓ 5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone (lutéoline).
- ✓ 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone (quercétine).
- ✓ luteolin 7-O- $\beta$ -D-glucoside.
- ✓ quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucoside.

L'extrait butanolique de *Santolina rosmarinifolia* L. a manifesté une excellente activité antioxydante, par la méthode du DPPH qui a montré une forte inhibition (86.36 %) par rapport à l'extrait acétate d'éthyle (65.66 %).

D'autre part, les huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation des parties aériennes de *Santolina rosmarinifolia*, *Mentha* (fraîche), *Mentha* (sèche), *Artemisia*

*herba alba*, *Feula communis*, *F. lutea* et *Senecio giganteus* ont été analysées en GC et GC/MS, permettant d'obtenir les résultats suivants :

- *Santolina rosmarinifolia* L. : 6 composants majoritaires ont été identifiés : le germacrène D (30.20%), le  $\beta$ -myrcène (12.00%), le tricosane (10.60%), l' $\alpha$ -pinène (10.10%), le sabinène (7.00%) et le pentacosane (6.70%).
- *Mentha piperita* sèche : 3 composants majoritaires caractérisent cette huile : le thymol (62.7 %), le carvacrol (20.4%) et le tert-butylbenzene (6.1%).
- *Mentha piperita* fraîche : prédominance de l'oxyde de pipériténone (64.5 %).
- *Artemisia herba-alba* : 6 composants majoritaires ont été identifiés : le chrysanthénone (16.23 %), le camphre (15.62 %), l' $\alpha$ -,  $\beta$ -thujone (9.09 %, 14.23 %), le 1,8-cinéole (8.88 %) et la pipériténone (7.57 %).
- *Ferula communis* : 3 composants majoritaires : le myrcène (52.5%), l' $\alpha$ -pinène (20.90%) et le  $\beta$ -phellandrène (7.70 %).
- *F. lutea* : 4 composants majoritaires ont été identifiés : le 2,3,6-triméthylbenzaldehyde (25.00 %), le *cis*-chrysanthénol (20.80%), le thymol (10.20) et l' $\alpha$ -pinène (10.90 %).
- *Senecio giganteus* : 4 composants majoritaires ont été caractérisés : l' $\alpha$ -Pinène (19.40%), le 6,10,14-triméthyl-2-pentadécane (19.10 %), le pentacosane (16.90 %) et le tricosane (11.90 %).

L'huile essentielle de *Santolina rosmarinifolia* L. a manifesté une meilleure activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli* ATCC, d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter sp.* alors que l'huile essentielle de *Mentha piperita* sèche a montré un meilleur pouvoir bactéricide vis-à-vis d'*Escherichia coli* ATCC et de *Streptococcus sp.*

En perspectives, nous envisageons d'étudier les autres fractions des colonnes des extraits butanolique et acétate d'éthyle et une colonne de l'extrait chloroformique riche en sesquiterpènes lactones, afin d'en isoler d'autres métabolites secondaires qui caractérisent ce genre.

L'étude d'autres activités biologiques (anti-inflammatoire, hépatoprotectrice, cytotoxicité et toxicité, etc...), et de la chemotaxonomie sont aussi envisagées.

## Références bibliographiques

### A

Abd El-Razek, M.H., Ohta, S., Ahmed, A.A., Hirata, T. Sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula assa-foetida*. *Phytochemistry*, 2001, 58, 1289-1295.

Abedi, D., Jalali, M., Asghari, G., Sadeghi, N. Composition and antimicrobial activity of oleogumresin of *Ferula gummosa* Bioss. Essential oil using Alamar Blue. *Res. Pharm. Sci.*, 2008, 3(1), 41-45.

Abou El-Hassan, M. A. I., Touw, D. J., Wilhelm, A. J., Bast, A., Van Der Vijgh, W. J. F. Stability of monoHER in an aqueous formulation for i.v. administration. *Inter. J. Pharm.*, 2000, 211 (1-2), 51-56.

Adams, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th Ed. *Allured Publishing Co.* 2005, Carol Stream, Illinois.

AFNOR, Huiles essentielles, Tome 1- Echantillonnage et méthode d'analyse, Tome 2-Vol.1 et 2, Monographies relatives aux huiles essentielles, 6<sup>ème</sup> édition. Afnor, Paris, 2000, France.

Aghaei, M., Alizadeh, M., Sharifian, I. Chemical composition of essential oil of *Artemisia herba-alba* from West Azerbaijan, Iran. *E-J. Env. Agric. & Food Chem.*, 2011, 10(6), 2413-2416.

Agrawal, P. K. *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Elsevier Science, Amsterdam-Oxford-New York, 1989.

Akhgar, M. R., Moradalizadeh, M., Faghihi-Zarandi, A. Chemical composition of the essential oils of two *Ferula* species from Iran. *Chem. Nat. Comp.*, 2011, 47, 4, 639-640.

Alcaraz, L., Blanco, S., Puig, O., Tomas, F. Ferretti, F. Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J. Theo. Biol.*, 2000, 205, 231-240.

Aliaga, C., Lissi A. E. Comparison of the free radical scavenger activities of quercetin and rutin -An experimental and theoretical study. *Can. J. Chem.*, 2004, 82, 1668-1673.

Al-Ja'fari, A. H., Vila, R., Freixa, B., Tomi, F., Casanova, J., Costa, J., Cañigüeral, S. Composition and antifungal activity of the essential oil from the rhizome and roots of *Ferula hermonis*. *Phytochemistry*, 2011, 72, 1406-1413.

Allegrini, J., Simmeon de Buochberg, M., Billot, A. Emulsions d'huiles essentielles, fabrication et application en microbiologie. Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier, 1973, 33, 73-86.

Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S. Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 2002, 127, 183-198.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. Karademir, S. E. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52, 7970-7981.

Arakawa, T., Shibata, M., Hosomi, K., Watanabe, T., Honma, Y., Kawasumi, K., Takeuchi, Y. Anti-allergic effects of peppermint oil, chicle and jelutong. *J. Food Hygienic Soc. Jpn.*, 1992, 33, 569-575.

Arancibia, A., Marchiaro, A., Arce, M., Balzaretto, V. *Senecio filaginoides* var. *Lobulatus* essential oil. *Biol. Res. Sust. Use*, 1999, 127-128.

Arancibia, L., Naspi, C., Pucci, G., Arce, M. Aromatic plants from Patagonia: chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Senecio mustersii* and *S. subpanduratus*. *Bol. Latinoamer. Caribe de Plantas Med. Arom.*, 2010, 9(2), 123-126.

Arnao, M. B., Cano, A., Acosta, M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem.*, 2001, 73, 239-244.

Arockia Babu, M., Shakya, N., Prathipati, P., Kaskhedikar, S. G. Saxena, A. K. Development of 3D-QSAR models for 5-Lipoxygenase antagonists: chalcones. *Bioorg. & Med. Chem.*, 2002, 10 (12), 4035-4041.

Arora, D.S., Kaur, J. Antimicrobial activity of spices. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 1999, 12, 257-262.

Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A. et Witier P. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris, 1995, France.

Asili, J., Sahebkar, A., Fazly Bazzaz, B.S., Sharifi, S., Iranshahi, M. Identification of essential oil components of *Ferula badrakema* fruits by GC-MS and <sup>13</sup>C-NMR methods and evaluation of its antimicrobial activity. *J. Essent. Oil Bearing Plants*, 2009, 12, 7-15.

Azarnivand, H., Alikhah-Asl, M., Jafari, M., Arzani, H., Amin, G., Mousavi, S. S. Comparison of Essential Oils from *Ferula ovina* (Boiss.) Aerial Parts in Fresh and Dry Stages. *J. Essent. Oil Bearing Plants*, 2011, 14 (2), 250-254.

Aziz, M., Karim, A., El Ouariachi, El M., Bouyanzer, A., Amrani, S., Mekhfi, H., Ziyyat, A., Melhaoui, A., Bnouham, M., Legssyer, A. Relaxant effect of essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso. on rodent jejunal contractions. *Sci. Pharm.*, 2012, 80(2), 457-467.

## B

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. Idaomar, M. Biological effects. *J. Essent. oils, Food & Chem. Toxicol.*, 2008, 46, 446-475.

Baldwin, I. T. "Volatile Signaling in Plant-Plant Interactions: "Talking Trees" in the Genomics Era." *Science*, 2006, 311, 812-815.

Balogh-Hergovich, E., Speier, G. Kinetics and Mechanism of the Base-Catalyzed Oxygenation of Flavonol in DMSO-H<sub>2</sub>O Solution. *J. Org. Chem.*, 2001, 66 (24), 7974-7978.

Balunas, M.J., Kinghorn, A.D. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci.*, 2005, 78, 431-441.

Bamoniri, A., Mazoochi, A. Determination of bioactive and fragrant molecules from leaves and fruits of *Ferula assa-foetida* l. growing in central iran by nano scale injection. *Digest J. Nanomat. Biostruct.*, 2009, 4, 2, p. 323-328.

Banquour, N. Etude de l'effet de thym (décoction) et de son huile essentielle sur l'évolution de la flore microbienne et quelques paramètres chimiques du Smen, au cours de son élaboration. Thèse de doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle en microbiologie, Université Cadi Ayad, faculté des Sciences, Marrakech, Maroc, 2000.

Balzaretti, V. T., Arancibia, A., Marchiaro, A., Arce, M. E., Feijoo, M.S. Variation in the composition of the essential oil of *Senecio filaginoides* DC. *Molecules*, 2000, 5(3), 459-461.

Barhacs, L., Kaizer, J. Speier, G. Kinetics and Mechanism of the oxygenation of potassium flavonolate. Evidence for an Electron Transfer Mechanism. *J. Org. Chem.*, 2000, 65 (11), 3449-3452.

Barreda, V.D., Palazzesi, L., Tellería M. C. Eocene Patagonia fossils of the daisy family, *Science*, 2010, 329, 1621-1622.

Bartosz, G. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicol.*, 2003, 9, 5-21.

Baser, K. H. C., Demirci, B. The essential oil of *Senecio farfarifolius* Boiss. et Kotschy growing in Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 2004, 16(6), 558-559.

Basile, A., Giordano, S., Lopez Saez, J.A. Cobianchi, B.C. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry*, 1999, 2 (8), 1419-1482.

Beesley, A., Hardcastle, J., Hardcastle, P.T., Taylor, C.J. Influence of peppermint oil on absorptive and secretory processes in rat small intestine. *Gut*, 1996, 39, 214–219.

Beghidja, N., Bouslimani, F., Benayache, S., Chalchat, J. C. Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria, *Chem. Nat. Comp.*, 2007, 4, 394-395.

Benavente-García, O., Castillo, J., Del Baño, M. J., Lorente, J. Improved water solubility of neohesperidin dihydrochalcone in Sweetener Blends. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49 (1), 189 - 191.

Benavente-García, O, Castillo J., Lorente, J. Antioxidant activity of phenolics extracted from *olea europaea* L leaves. *Food Chem.*, 2000, 68, 457-462.

Benayad, N. Utilisation des huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines comme insecticides pour lutter contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées (blé, maïs, riz...). Rapport d'activité, Faculté des Sciences- Rabat, Maroc, 2008.

Benjlali, B., Tantaoui-Elaraki, A., Ismaili-Alaoui, M. Ayadi, A. Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes Méd. Phytothér.* 1986, 20(2), 155-167.

Benyoussef, E., Yahiaoui, N., Nacer-Bey N., Khelfaoui, A., Belhadj, M. Essential oil of *Mentha spicata* L. from Algeria. *Riv. Ital. EPPOS*, 2004, 37, 31-35.

Beraoud, L., Bessière, J.M. Tantaoui Elaraki, A. Chemical composition of the essential oils of selected plant materials used in Moroccan cuisine. *Al-Birunya Rev. Mar. Pharm.*, 1991, 7: 49-69.

Beylier–Maurel, MF. Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie. *Riv. Ital.*, 1976, 58, 283-286.

Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K., Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F., Kaloustian, J. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* from Biskra (Algeria). *Phytother.*, 2010, 8(5), 277-281.

Blamey, M., Grey-wilson, C. La flore d'Europe occidentale; plus de 2400 plantes décrites et illustrées en couleurs. Edition Flammarion, 2003, Paris, France.

Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 1958, 181, 1199-1200.

Bok, S.-H., Jeong, T.-S., Lee, S.-K., Kim, J.-R., Moon, S.-S., Choi, M.-S., Hyun, B.- H., Lee, C.-H., Choi, Y.-K. Flavanone derivatives and composition for preventing or treating blood lipid level-related diseases comprising same. US 20010006978A1, 2001.

Bonina, F., Lanza, M., Montenegro, L., Puglisi, C., Tomaino, A., Trombetta, D., Castelli, F., Saija, A. Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. *Int. J. Pharm.*, 1996, 145 (1-2), 87-94.

Borris, R.P. Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *J. Ethnopharmacol.*, 1996, 51, 29-38.

Bouchikhi Tani, Z., Bendahou1, M., Khelil, M.A. Lutte contre la bruche *acanthoscelides obtectus* et la mite *tineola bisselliella* par les huiles essentielles extraites de deux plantes aromatiques d'algerie. *Lebanese Sci. J.*, 2010, 11, 1, 55-68.

Boullard, B. Dictionnaire: Plantes et champignons. 2ème édition, Estem, 1997, Paris, France. p. 202.

Bourkhis B., Ouhssine M., Hnach M., Bourkhiss M., Satrani B. Farah A. Composition chimique et bioactivité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2007, 146, 75-84.

Boutkhil, S., El Idrissi, M., Amechrouq, A., Lakhlifi, T., Chakir, S. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba Alba* (Asso) populations. *Phys. & Chem. News*, 2009, 47, 133-137.

Bowen, I.H., Cubbin, I.J. *Mentha piperita* and *Mentha spicata*. In: *Adverse Effects of Herbal Drugs*, De Smet, P.A.G.M., Keller, K., Hänsel, R., and Chandler, R.F., Eds., Adverse effects of herbal drugs 1. Springer-Verlag, Berlin, 1992, pp. 171–178.

Briggs, C.J. Peppermint: Medicinal herb and flavoring agent. *Canad. Pharm. J.*, 1993, 126, 89–92.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel–Wissenschaft & Technol.*, 1995, 28, 25-30.

Bravo L. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutr. Rev.*, 1998, 56, 317-333.

Brian, M.L. The isolation of aromatic materials from plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem (USA), 1995, 57-148.

Bruce, A.B., Told, F.S. Flavonoids of the sunflower Family (Asteraceas), Springer, Verlag, Vienne, 2001, p. 176.

Bruneton, J. Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 3e édition. Ed. Tec et doc. 1999, Paris, France.

Buchbauer, G., Jäger, W., Jirovetz, L., Ilmberger, J., Dietrich, H. Therapeutic properties of essential oils and fragrances. In: Bioactive Volatile Compounds from Plants, (R. Teramishu, R. G. Buttery and H. Sugisawa, eds). ACS Symposium Series 525 Washington DC: *Amer. Chem. Soc.*, 1993, 159-165.

Burda, S., Oleszek, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49 (6), 2774-2779.

Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, 94, 223-253.

## C

Calias, P., Galanopoulos, T., Maxwell, M., Khayat, A., Graves, D., Antoniadis, H., d'Alarcao, M. Synthesis of inositol 2-phosphate-quercetin conjugates. *Carbohydrate Res.*, 1996, 292, 83-90.

Calvarano, I., Sacco, T., Codignola, A. Chemical research on *Mentha longifolia* var. mollissima gathered from Stara Di Demonte Valley in the Calabre region. *Essenze Deriv. Agrum.*, 1969, 44, 236–240.

Cao, G. H., Alessio, H. M., Cutler, R. G. *Free Radical Biol. Med.*, 1993, 14, 303-311.

Cao, G., Prior, R. L. *Methods Enzymol.*, 1999, 299, 50-62.

Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., Varguas, R. Bactériologies médicales : techniques usuelles. Edition SIMEP (2ème tirage), 1987, France.

Carnesecchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J., Duranton, B., Gosse, F., Seiler, N. Raul, F. Geraniol, a Component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *J. Phamacol. Exp. Ther.*, 2001, 298 (1), 197-200.

Carson, C. F., Mee, B. J., Riley, T. V. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents & Chemother.*, 2002, 46, 1914-1920.

Casado, J.P., Navarro, M.C. Utrilla, M.P. Martínez, A., Jiménez, J. Micropropagation of *Santolina canescens* Lagasca and in vitro volatiles production by shoot explants. *Plant Cell, Tiss. & Org. Culture*, 2002, 69, 147-153.

Caurvalin, P., Flandrois, J.P., Goldstein, F., Philippon, A., Sirot, J. L'antibiogramme automatisé mpc-vigt, 1988, Paris.

Cavazza, C. Antioxidant composition comprising propionyl L-carnitine and a flavonoid against throm-bosis and atherosclerosis. US2003206895, 2003.

Chalchat J. C., Gorunovic M. S., Maksi,ovic, Z. A., Petrovic S. D. Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. *J. Essent. Oil. Res.*, 2000, 12(5), 598-600.

Chalchat, J. C., Maksimovic, Z. A., Petrovic, S. D., Gorunovic, M. S. Essential oil of

*Senecio squalidus* L., Compositae. *J. Essent. Oil Res.*, 2004, 16(3), 227-228.

Charabot, E., Dupont, J., Pillet, L. Les huiles essentielles et leurs principaux constituants. C. Beranger, 1899, Paris, France.

Charlton, A. J., Baxter, N. J., Khan, M. L., Moir, A. J. G., Haslam, E., Davies, A. P., Williamson, M. P. Polyphenol/Peptide Binding and Precipitation. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50 (6), 1593-1601.

Chauhan, R. S., Kaul, M. K., Shahi, A. K., Kumar, A., Ram G., Tawa, A. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. *Ind. Crops & Prod.*, 2009, 29(2-3), 654-656.

Chemat F. Essential oils and aromas: Green extractions and Applications. HKB Publishers, Dehradun, 311 pages. ISBN : 978-81-905771-3-7, 2009.

Chi, Y. S., Jong, H. G., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S., Kim, H. P. Effects of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: Cyclooxygenases and lipoxygenases. *Biochem. Pharmacol.*, 2001, 62 (9), 1185-1191.

Chizzola, R. Composition of the essential oils from *Anthriscus cerefolium* var. *trichocarpa* and *A. caucalis* growing wild in the urban area of Vienna (Austria), *Nat. Prod. Commun.*, 2011, 6(8), 1147-1150.

Chopra, M. M., Vashist, V. N., Handa, K. L. Essential oil of *Mentha pulegium* from Jammu and Kashmir. *Indian Oil & Soap J.*, 1964, 30(2), 41-5.

Chowdhury, J.U., Nandi, N. C., Uddin, M., Rahman, M., Chemical constituents of essential oils from two types of spearmint (*Mentha spicata* L. and *M. cardiaca* L.) introduced in Bangladesh. *Bangladesh J. Sci. & Ind. Res.*, 2007, 42(1), 79-82.

Conner, D.E., Beuchat, L.M. Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *J. Food. Sci.*, 1984, 49, 429-434.

Cornara, L., La Rocca, A., Marsili, S., Mariotti, M. G. Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). *J. Ethnopharmacol.*, 2009, 125, 16-30.

Cornard, J. P., Merlin, J. C., Complexes of aluminium(III) with isoquercitrin: spectroscopic characterization and quantum chemical calculations. *Polyhedron*, 2002a, 21 (27-28), 2801.

Cornard, J. P., Merlin, J. C., Spectroscopic and structural study of complexes of quercetin with Al(III). *J. Inorg. Biochem.*, 2002b, 92, (1), 19.

Cornet, F. L'aromatogramme. *Phytomedecine*, 1981 (1-2), 109-117.

Costa, A. Fernandes, Do Vale, J. Cardoso. Essential oil of *Mentha pulegium*. *Noticias Farm.*, 1952, 18, 106-12.

Coste, H., Flahault, C. H. Flore Description et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Tombe II (Librairie scientifique et technique), Paris. 1998.

Cottiglia, F., Casu, L., Bonsignore, L., Casu, M., Floris, C., Sosa, S., Altinier, G., Della, L.R. Topical anti-inflammatory activity of flavonoids and a new xanthone from *Santolina insularis*. *Z. Naturforsch.*, 2005, 60c, 63-66.

## D

Dabena, H. Infectiologie de A à Z. Ed. Arnette, France, 1997, 500-502.

Daniel, M. Article sous licence : Creative Commons, Tela Botanica ; Brève relative à L'évolution par fusion, 02/02/2011.

Dahmani-Hamzani, N., Baaliouamer, A. Chemical composition of the Algerian essential oil of *Artemisia herba-alba* native to Dejelfa. *Riv. Ital. EPPOS*, 2005, 40, 7-13.

Dahmani-Hamzani, N., Baaliouamer, A. Chemical composition of Algerian *Artemisia herba-alba* essential oils isolated by microwave and hydrodistillation, *J. Essent. Oil. Res.*, 2010, 22(6), 514-517.

Dayal, B., Purohit, R.M. Screening of some Indian essential oils for their antifungal activity. *The flavor industry*, 1971, 2, 484-485.

Debbab, A., Mosaddak, B., Aly, A. H., Hakiki, A., Mosaddak M. Chemical characterization and toxicological evaluation of the essential oil of *Mentha piperita* L. growing in Morocco. *Studii si Cercetari Stiintifice: Chimie si Inginerie Chimica, Biotech., Ind. Alim.*, 2007, 8(3), 281-288.

Debuigue, G. *Dictionnaire des plantes qui guérissent*, Paris, Larousse, 1972, p.256.

De Hoffmann, E., Charette J., Stroobant, V. *Spectrométrie de Masse*, 2e édition, Librairie Dunod, 1999, Paris, France.

De Logu, A., Loy, G., Pellerano, M.L., Bonsignore, L., Schivo, M. L. Inactivation of HSV-1 and HSV-2 and prevention of cell-to-cell virus spread by *Santolina insularis* essential oil. *Antiviral Res.*, 2000, 48, 177-185.

De Pascual-T, J., Vicente, S., Gonzalez, M. S., Bellido, I. S. nerolidol & oxides from the essential oil of *santolina oblongifolia*. *Phytochemistry*, 1983, 22 (10), 2235-2238.

Decker, E. A., Shantha, N. C. A., Kennedy, S. M. Rapid, sensitive, ion-based spectrophotometric method for determination of peroxide values of food lipids. *J. AOAC Int.*, 1990, 77, 421-424.

Dehghan, G., Solaimanian, R., Shahverdi, A. R., Amin, G., Abdollahi, M., Shafiee, A. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ferula szovitsiana*. *Flav. & Fragr. J.*, 2007, 22 (3), 224-227.

Derwich E., Benziane Z., Boukir A. Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *Mentha retundifolia* from Morocco. *EJEAFChe, E-J. Envir., Agric. & Food Chem.*, 2010, 9(1), 19-28.

Derwich E., Chabir R., Taouil R., Senhaji O., (2011). In-vitro antioxidant activity and GC/MS studies on the leaves of *Mentha piperita* (Lamiaceae) from Morocco. *I. J. Pharm. Sci. & Drug Res.*, 2011, 3(2), 130-136.

Dewick, P. M. The biosynthesis of shikimate metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 1995, 12, 579-607.

Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., Capasso, F. Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.*, 1999, 65 (4), 337-353.

Dob, T., Benabdelkader, T., Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. *J. Essent. Oil Res.*, 2006, 18(6), 685-690.

Dorman, H.J.D. Deans, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Applied Microbiol.*, 2000, 88, 308-316.

Drugeon, H., Legallou, F., Caillon, J. *Méthodes d'étude de l'activité bactéricide*. Aspects théoriques et thérapeutiques. Edité par : Courvalin P, Drugeon H, Flandrois J.P et Goldstein F. Maloine, 1991, Paris, France.

Duan, H., Takaishi, Y., Tori, M., Takaoka, S., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K., Kodzhimatov, K., Ashurmetov, O. Polysulfide derivatives from *Ferula foetida*. *J. Nat. Prod.*, 2002, 65, 1667-1669.

Dudareva, N., Krzyzanowska, J., Oleszek, W., Pistelli, L. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. *Critical Rev. Plant Sci.*, 2006, 25 (5), 417-440.

Dupont, F., Guignard, J. L. Botanique systématique moléculaire. 14<sup>ème</sup> édition, Masson, 2007, Paris, France, p. 248.

Duraffourd, C., Lapraz, J.C. Examen de Laboratoire. In « Traité de phytothérapie clinique ». 2002, Edition Masson pp. 120-123.

Durville, J.P. Fabrication des essences et des parfums : Extraction des essences et des parfums par distillation, par expression et par les dissolvants. J. Fritsch, 1893, Paris, France.

Durville, J.P. Fabrication des essences et des parfums : Chimie des parfums. Desforges, Girardrot et Cie, 1930, Paris, France.

## E

El-Ghonemy, A.A. *Encyclopedia of Medicinal Plants of the United Arab Emirates*, First Edition, University of United Arab Emirates, 1993, 51-62.

El-Ghorab, Ahmed H. The chemical composition of the *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *J. Essent. Oil. Res.*, 2006, 9(2), 183-195.

El Hawary, S. S., Galal, A. E., Yousif, M. F., Kirillos, F. N. GC-MS and bioactivity of the essential oil of *Senecio rowleyanus* Jacobs. *Pharmacog Magazine*, 2008, 4(16), 273-277.

El-Sahhar, K.F., Nassar, D. M., Farag, H. M. Morphological and anatomical studies of *Santolina chamaecyparissus* L. (Asteraceae) II. Anatomical characteristics and volatile oil. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 2011, 7(6), 413-422.

El-Sayed, Z. I. A., Omar, N. A., Romeh, A. A. Chemical constituents and biocidal activity of the essential oil of *Mentha spicata* L. grown in Zagazig region, Egypt. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 2009, 5(6), 1089-1097.

El-Shazly, A. M. Essential oil composition of *Senecio desfontainei* Druce (Compositae). Zagazig. *J. Pharm. Sci.*, 1999, 8(1), 1-8.

El-Shazly, A. M., Dora, G., Wink, M. Chemical composition and biological activity of the essential oils of *Senecio aegyptius* var. *discoideus* Boiss. *Z. Naturforsch.* 2002, 57c, 434-439.

El Tantawy, M.E. Chemical composition and biological activity of the essential oil of

*Senecio mikanioides* Otto. cultivated in Egypt. *Al-Azhar. J. Pharm. Sci.*, 2000, 26, 294-306.

Ericsson, H. M., Sherris, J. C. Antimicrobial susceptibility testing-Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Sect. B. Suppl., 1971, 217, 1-90.

Esmaeili, A., Rustaiyan, A., Masoudi, S., Nadji, K. Composition of the essential oils of *Mentha aquatica* L. and *Nepeta meyeri* Benth. from Iran. *J. Essential. Oil. Res.*, 2006, 18, 263-265.

## F

Fan, J.J., Chen, J.H. Inhibition of aflatoxin-producing fungi by welsh onion extracts. *J. Food protection*, 1999, 62, 414-417.

Fargeix, D. Etude des mécanismes d'oxydation des flavonoides en relation avec leur activité antioxydante. Effets anti- et pro-oxydants dans l'inhibition de la peroxydation lipidique par les flavonoides. Université Claude Bernard- Lyon 1, Lyon, 2000, France.

Fdil, R., Lmachraa, I., Fdil, N., Ezoubeiri, A., Gadhi, C. A., huile essentielle des parties aeriennes de *santolina africana*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2011, 150(1-4), 47-60.

Ferrari, B., Tomi, F., Casanova, J. Terpenes and acetylenes derivatives from the roots of *Santolina corsica* (Asreraceae). *Biochem. Syst & Ecol.*, 2000, 33, 445- 449.

Ferrari, B., Tomi, F., Casanova, J. Composition and chemical variability of *Ferula communis* essential oil from Corsica. *Flav. & Frag. J.*, 2005, 20, 180-185.

Ferron, A. Bactériologie médical à l'usage des étudiants en médecine. 8ème édition. Ed. Groun et Roques, 1976, France.

Ficarra, R., Tommasini, S., Raneri, D., Calabro, M. L., Di Bella, M. R., Rustichelli, C., Gamberini, M. C., Ficarra, P., Study of flavonoids/[beta]-cyclodextrins inclusion complexes by NMR, FT-IR, DSC, X-ray investigation. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2002, 29 (6), 1005-1014.

Fleeger, J. L. Flipse II. Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 1964, 47 (5), 535-538.

Floret, Ch., Pontannier, R. L'aridité en Tunisie présaharienne, climat, sol, végétation et aménagement. Trav. Docum., 1982, ORSTOM n° 155, 544 p.

Florin, J. M. Les astéracées, une famille solaire. *Biodyn.*, 2008, 64.

Ford, R.A., Domeyer, B., Easterday, D., Maier, K., Middleton, J. Criteria for development of a database for safety evaluation of fragrance ingredients. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.*, 2008, 31, 166–181.

Formica, J. V., Regelson, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food & Chem. Toxicol.*, 1995, 33 (12), 1061-1080.

Forster, H.B., Niklas, H., Lutz, S. Antispasmodic effects of some medicinal plants. *Planta Med.*, 1980, 40, 309–319.

Friedman, M., Jurgens, H. S., Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48 (6), 2101-2110.

## G

Galvez, J., Crespo, J., Jimenez, J., Suarez, A., Zarzuelo, A. Antidiarrhoeic activity of quercitin in mice and rats. *J. Pharmacol.*, 1993 a, 45, 157-159.

Galvez, J., Zarzuelo, A., Crespo, J., Lorente, M. D., Acete, M. A., Jimenez, J. Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent. *Planta Med.*, 1993 b, 59, 333-336.

Garnero, J. Les huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur, K 345, 1996, Paris, France.

Gardner, J. A. Herbs in bloom: a guide to growing herbs as ornamental plants, 2005, pp. 296-298.

Garg, S. N., Misra, L. N., Agarwal, S. K. Essential oil from rhizomes of *ferula jaeschkeana*. *Phytochemistry*. 1989, 28, 2, 634-636.

Geppert, B., Drozd, B., Kielezewki, M., Holub, M. *Acta. Soc. Bot. Pol.*, 1983, 52, 23.

German, J. B., Walzem, R. L. The health benefits of wine *Annu. Rev. Nutr.*, 2000, 20, 561-593.

Ghannadi, A., Sajjadi, S. E., Beigihasan, A. Composition of the essential oil of *ferula ovina* (boiss.) boiss. from iran. *J. tums.ac.Ir.*, 2013, *in press*.

Giner, R.M., Rios, J.L., Villar, A. CNS depressant effects, antiinflammatory activity and anti-cholinergic actions of *Santolina chamaecyparissus* extracts. *Phytother. Res.*, 1988, 12, 37-41.

Giner Pons, R. M., Rios Canavate, *Santolina chamaecyparissus*, especie mediterránea con potenciales aplicaciones en procesos inflamatorios y trastornos digestivos. *Revis. Fitoterapia*, 2000, 1 (1) 27-34.

Göbel, H., Schmidt, G., Soyka, D. Effect of peppermint and eucalyptus oil preparations on neurophysiological and experimental algometric headache parameters. *Cephalagia*, 1995, 14, 228–234.

Goodarzi, M. T., Zal, F., Malakooti, M., Safari, M. R., Sadeghian, S. Inhibitory activity of flavonoids on the lens aldose reductase of healthy and diabetic rats. *Acta Med. Iran*, 2006, 44(1), 41-5.

Goryaev, M. I., Sharipova, F. S., Tikhonova, L. K., El'chibekova, L. A. Components of essential oils. XXXI. Essential oil of *Ferula penninervis* (stalks). *Zh. Prikl. Khim.*, 1968, 41, 2745-2750.

Grazia Valle, M., Appending, G. Nano, G. M. Picci, V. Prenylated coumarins and sesquiterpenoids from *Ferula communis*. *Phytochemistry*, 1986, 26, 1, 253–256.

## H

Halliwell, B. Antioxydants : The basics – What they are and how to evaluate them. *Adv. Pharmacol.*, 1997, 38, 3-20.

Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl Microbiol.*, 1999, 86(6): 985-990.

Harborne, J. *Methods in Plant Biochemistry*. Academic Press: 1989; Vol. 1 Plant Phenolics.

Harborne, J. B., Williams, C. A., Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 2000, 55 (6), 481-504.

Harratz, F. M., Kassem, F. F., El-shaer, A. *J. Pharm. Sci.*, 1994, 8(3), 219.

Haslam, E. Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* 1994, 11, 41-66.

Havsteen, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. & Ther.*, 2002, 96 (2-3), 67-202.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J. *J. Nutri. Biochem.*, 2002, 13 (10) 572-584.

Hellal, Z. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). *Thèse de Magister*, 2010, UMM. Tizi-ouzou, Algérie.

He, Z. M., Meng, X. Y., Bao, Y. L., Wu, Y., Zhu, H.Y., Li, Y.X. Antivirus effect of volatile oil from *Senecio cannabifolius* Less. and its constituents analysis. *Fenxi Huaxue*, 2007, 35(10), 1513-1516.

Heywood, V.H. *The biology and chemistry of the Umbelliferae*. Academic Press, London. 1971.

Hilan, C., Sfeir, R., El Hage, R., Jawich, D., Frem, M. E., Jawhar, K. Evaluation of the antibacterial activities of *Ferula hermonis* (boiss.). *Leban. Sci. J.*, 2007, 8, 2, 135-151.

Hitokoto, H., Morozomi, S., Wauke, T., Sakai, S., Ueno, I. Inhibition effects of condiments and herbal drugs on growth and toxin production of toxinogenic fungi. *Mycopathol.*, 1978, 66, 161-167.

Hitokoto, H., Morozomi, S., Wauke, T., Sakai, S., Kurata, H. Inhibitory effects of spices on growth and growth and toxin production of toxinogenic fungi. *App. Env. Microbiol.*, 1980, 39: 818-822.

Hudaib, M. M., Aburjai, T. A. Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan. *J. Essent. Oil. Res.*, 2006, 18(3), 301-304.

## I

Iranshahi, M., Hosseini, S.T., Shahverdi, A.R., Molazade, K., Khan, S.S., Ahmad V.U. Diversolides A-G, guaianolides from the roots of *Ferula diversivittata*. *Phytochemistry*, 2008, 69, 2753-2757.

Iriti, M., Agullo, G., Demigne, C., Remesy, C. "Histo-cytochemistry and scanning electron microscopy of lavender glandular trichomes following conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils: a comparative study. *Flav. & Frag. J.*, 2006, 21 (4), 704-712.

ISO. Norme ISO 9235 : Matières premières d'origine naturelle - Vocabulaire, 1997, 2p.

## J

Jakupovic, J., Miski, M. Cyclic farnesyl-coumarin and farnesyl-chromone derivatives from *Ferula communis* subsp. *communis*. *Phytochemistry*, 1990, 29, 6, 1995-1998.

Jalali, H. T., Petronilhob, S., Villaverdec, J. J., Coimbrab, M. A., Dominguesb, M. R. M., Ebrahimiand, Z. J., Silvestre, A. J. D., Rochab, S. M. Deeper insight into the monoterpene composition of *Ferula gummosa* oleo-gum-resin from Iran. *Ind. Crops & Prod.*, 2012, 36, 500-507.

Janzen, E. G., Stronks, H. J., Dobosse, C. M., Poyer, J. L., McCay, P. B. Chemistry and biology of spin-trapping radicals associated with holocarbon metabolism *in-vitro* and *in-vivo*. *Environ. Health. Persp.*, 1985, 64, 151-170.

Joannès, F. Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. *Ed Robert Laffont*, 2001, Paris, France.

Jost, P.C., Griffith, O.H. The spin-labeling technique. *Method. Enzymol.*, 1984, 105, 369-418.

Juergens, U. R., Stöber, M., Vetter, H. The anti-inflammatory activity of L-menthol compared to mint oil in human monocytes *in vitro*: a novel perspective for its therapeutic use in inflammatory diseases. *Eur. J. Med. Res.*, 1998, 3, 539–545.

## K

Kabissi, I. Dictionnaire des herbes et plantes médicinales. 3ème édition, 1998, p.279.

Kadri, A., Ben Chobba, I., Zarai, Z., Bekir, A., Gharsallah, N., Damak, M., Gdoura, R. Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from aerial parts of *Artemisia herba-alba* grown in Tunisian semi-arid region. *African J. Biotech.*, 2011, 10(15), 2923-2929.

Kahrman, N., Tosun, G., Terzioglu, S., Karaoglu, S. A. Yaylı, N. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the flower, leaf, and stem of *Senecio Pandurifolius*. *Rec. Nat. Prod.*, 2011, 5, 2, 82-91.

Kameli, Z., Alizadeh, A., Aboutalebi, A. Bitter and Sweet *Ferula assa-foetida* L. essential oil composition from Iran and its comparison with *Ferula assa-foetida* L. used in India. *Intl. Res. J. Appl. Basic. Sci.*, 2012, 3 (5), 919-923.

Kapahi, B. K., Thappa, R. K., Aggarwal, S. G., Sarin, Y. K. Essential oil of *Ferula jaesekheana*, *Vatke PAFAI Journal*, 1985, 7(1), 23-24.

Karasawa, D., Shatar, S., Erdenechimeg, A., Okamoto, Y., Tateba, H., Shimizu, S. A study on Mongolian mints. A new chemotype from *Mentha asiatica* Borriss and constituents of *M. arvensis* L. and *M. piperita* L. *J. Essent. Oil. Res.*, 1995, 7, 255-260.

Karim, A., Ashraf, M., Bhatti, M. K. Studies on the essential oils of the Pakistani species of the family Umbelliferae. Part XXVI. *Ferula oopoda*, Boiss Buhse (Chir) oil from the seeds, stalks and roots. *Pakistan J. Sci. Ind. Res.*, 1979, 22, 198-201.

Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen A. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem.*, 2007, 100, 584-589.

Kato, T., Lijima, H., Ishihara, K., Kanek, T., Hirai, K., Naito, Y., Okuda, K. Antibacterial effect of listerine on oral bacteria. *Bull. Tokyo. Dent. Coll.*, 1990, 31(4), 301-307.

Kaufmann, M., Wink, M. Molecular systematics of the Nepetoideae (Family Labiatae): phylogenetic implications from rbcL gene sequences, *Z. Naturforsch.*, 1994, 49c, 635-645.

Kavoosi, G., Purfard, A. M., Aram, F., Radical scavenging properties of essential oils from *Zataria multiflora* and *Ferula assafoetida*. *Asian. Pac. J. Trop. BioMed.*, 2012, S1351-S1356.

Kavoosi, G., Rowshan, V. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil, obtained from *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin: Effect of collection time. *Food Chem.*, 2013, 138, 2180-2187.

Kening, Y., Vincenzo, D. L., Normand, B. Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell.*, 1995, 7, 1787-1799.

Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F., irmoradei, M. R. Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chem.*, 2005, 91, 639-644.

Kisiel, W., Dawid-Pa c, R., Grabarczyk, H., Nowak, G. Germacrane derivatives from *Santolina pinnata* subs. *neapolitana*. *Z. Naturforsch.*, 2003, 58c, 793-796.

Kose, E. O., Aktaş, O., Deniz, I. G., Sarikürkçü, C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of endemic *Ferula lycia* Boiss. *J. Med. Plant. Res.*, 2010, 4(17), pp. 1698-1703.

Kouyakhi, E. T. Naghavi, M. R., Alayhs, M., Study of the essential oil variation of *ferula gummosa* samples from Iran. *Chem. Nat. Comp.*, 2008, 44, 1.

Kováts, E. Gas Chromatographic characterization of organic substances in the retention index system, in *Adv. Chromato.*, 1965, 229-247.

Kujala, T.S., Loponen, J.M., Klika, K.D., Pihlaja, K. Phenolic and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48, 5338-5342.

## L

Lachowicz, K.J., Jones, G.P., Briggs, D.R., Bievenu, F.E., Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.J. The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) against acid-tolerant food microflora. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1998, 26, 209-214.

Lahlou, M. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother. Res.*, 2004, 18, 435-448.

Lamarti, A., Badoc, A., Carde, J. P. Etude chromatographique de l'huile essentielle de la plantule de fenouil amer (*Foeniculum vulgare* Mill.) ; caractéristiques spectrales (UV, IR, SM) de ses constituants. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1993, 132, 73-89.

Lange, B.M. Croteau, R. Genetic engineering of essential oil production in mint. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 1999, 2, 139-144.

Lee, C., Chiang, L., Cheng, L., Liaw, C. Abd El-Razek, M. H. Chang F., Wu, Y. Influenza A H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> antiviral and cytotoxic agents from *Ferula assa-foetida*. *J. Nat. Prod.*, 2009, 72, 1568-1572.

Le Floc'h, E. Biologie et écologie des principaux taxons dans " Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne: I. Eléments de botanique et de phyto-écologie", 1989, p. 193.

Le minor, L., Veron, M. Bactériologie médicale. 2ème édition. Ed. Flammarion. 1989, Paris.

Le Nest, G., Caille, O., Woudstra, M., Roche, S., Guerlesquin, F., Lexa, D. Zn polyphenol chelation: complexes with quercetin, (+)-catechin, and derivatives: I optical and NMR studies. *Inorg. Chim. Acta*, 2004, 357 (3), 775-784.

Lien, E. J., Ren, S., Bui, H. H., Wang, R. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 26, 285-294.

Lis-Balchin, M., Buchbauer, G., Hirtenlehner, T., Resch, M. Antimicrobial Activity of *Pelargonium* essential oils added to a quiche filling as a model food system. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1998, 27 (4), 207-210.

Liu, K., Rossi, P. G., Ferrari, B., Berti, L., Casanova, J., Tomi, F. Composition, irregular terpenoids, chemical variability and antibacterial activity of the essential oil from *Santolina corsica* Jordan et Fourr. *Phytochemistry*, 2007, 68 (12), 1698-1705.

Liu, Y., Wang, M.-W. Botanical drugs: Challenges and opportunities - Contribution to Linnaeus memorial symposium 2007. *Life Sci.*, 2008, 82, 445-449.

Loannou, E., Poiata, A., Hancianu, M., Tzakou, O. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oils of flowers heads and leaves of *Santolina rosmarinifolia* L. from Romania. *J. Nat. Prod. Res.*, 2007, 21 (1), 18-23.

Lograda, T., Ramdani, M., Chalard, P., Gharzouli, R., Feguirodo, G., Chachat, J. C. Essential oil and antibacterial activity of *Senecio perralderianus*. *Int. J. Med. Arom. Plants.*, 2012, 2, 4, pp. 632-637.

Lopez, V., Akerreta, S., Casanova, E., GarcaMina, J. M., Cavero, R.Y., Calvo, M.I. Lipophilisation de composés phénoliques par voie enzymatique et propriétés antioxydantes des molécules lipophilisées. *Pharm. Biol.*, 2008, 46, 602–609.

Lopes-Lutz D., Alviano D.S., Alviano C.S., Kolodziejczyk P.P. "Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils". *Phytochemistry*, 2008, 69 (8), 1732-1738.

Loupy, A. *Microwaves in Organic Synthesis*, 2<sup>ème</sup> édition, Tome I et II. Wiley-VCH, Weinheim, 2006.

Lucchesi, M. E. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. *Thèse de Doctorat* en Sciences, 2005, discipline: Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies, France.

## M

Mabry, T. J., Markham, K. R., Thomas, M. B. *the Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, 1970.

Maggi, F., Lucarini, D., Tirillini, B., Sagratini, G., Papa, F., Vittori, S. Chemical analysis of the essential oil of *Ferula glauca* L. (Apiaceae) growing in Marche (central Italy), *Biochem. Syst. Ecol.*, 2009a, 37, 432–441.

Maggi, F., Cecchini, C., Cresci, A., Coman, M. M., Tirillini, B., Sagratini, G., Papa, F., Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Ferula glauca* L. (*F. communis* L. subsp. *glauca*) growing in Marche (central Italy). *Fitoterapia*, 2009b, 80, 68-72.

Makris, D. P., Rossiter, J. T. An investigation on structural aspects influencing product formation in enzymic and chemical oxidation of quercetin and related flavonols. *Food Chem.*, 2002, 77 (2), 177-185.

Manach, C., Regeat, F., Texier, O., Agullo, G., Demigne, C., Remesy, C. Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. *Nutr. Res.*, 1996, 16 (3), 517-544.

Manolakou, S., Tzakou, O., Yannitsaros, A., Volatile constituents of *Ferula communis* L. subsp. *communis*, growing spontaneously in Greece. *Rec. Nat. Prod.*, 2013, 7(1), 54-58.

Mantas, A., Deretey, E., Ferretti, F. H., Estrada, M. R., Csizmadia, I. G. Structural analysis of flavonoids with anti-HIV activity. *J. Molec. Struct., Theochem*, 2000, 504 (1-3), 171.

Maqua, M.P., Vines, A.C.G., Caballero, E., Grande, M.C., Medarde, M., Bellido, I. S. Components from *Santolina rosmarinifolia* subspecies *rosmarinifolia* and *canescens*, *Phytochemistry*, 1988, 27(11), 3664-3667.

Markham, K.R., Marbry, T.J. *Ultra Violet Visible and proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoids*, Chapman and Hall, 1976, pp. 45-77.

Markham, K. R. *Techniques of flavonoids identification*, Academic press, 1982, London, UK.

Marriott, P. J., Shellie, R., Cornwell, C. Review: Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *J. Chrom. A*, 2001, 936, 1-22.

Martinez Nadal, G., Montalvo, A. E., Seda, M. Antimicrobial properties of bay and other phenolic essential oils. *Cosm. & perfum.*, 1973, 88, 37-38.

Martini, A., Katerere, D. R., Eloff, J. N. Seven flavonoids with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *J. Ethnopharmacol.*, 2004, 93 (2-3), 207-212.

Maruzzella, J. C. The germicidal properties of perfume oils perfumery chemicals. *Am. Perfum. Cosmet.*, 1962, 77 (1), 67-72.

Matsubara, K., Ishihara, K., Mizushina, Y., Mori, M., Nakajima, N., Anti-angiogenic activity of quercetin and its derivatives. *Lett. Drug Design & Discov.*, 2004, 1, 329-333.

McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., Robards, K. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Olive Extracts, *Food Chemistry*, 2001, 73: 73-84.

McKay, D.L., Blumberg, J.B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytother. Res.*, 2006, 20, 619-633.

McLafferty, F. W. Michnowicz, J. A. State-of-the-art GC-MS., *Chemtech.*, 1992, 22, 182-189.

McLafferty, F. W., Tureček, F. Interpretation of mass spectra, Fourth edition, University Science Books, Sausalito, California, 1993, USA.

Merghem, R. *Elements de biochimie végétale*. Edition Bahaeddine ISBN: 978-9961-948-71-2 Algérie, 2009.

Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.*, 1996, 384, 240-242.

Miller, N. J., Rice-Evans, C. A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food. Chem.*, 1997, 60, 331-337.

Mirzaei, H. H., Hasanloo, T., Chemical Compositions of the Essential Oils of *Ferula assafoetida* Seeds from Two Iranian Ecotypes. *J. Essent. Oil Bearing Plants*, 2012, 15 (1), pp 84-88.

Mishra, D., Joshi, S., Sah, S. P., Dev. A., Bisht, G. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Senecio rufinervis* DC. (Asteraceae). *Indian. J. Nat. Prod. Resources.*, 2011, 2 (1), pp. 44-47.

Miski, M., Ulubelen, A., Mabry, T.J. Six sesquiterpene alcohol esters from *Ferula elaeochytris*. *Phytochemistry*, 1983, 22, 2231-2233.

Miski, M., Mabry, T.J., Saya, Ö. New Daucane and Germacrane Esters from *Ferula orientalis* var. *orientalis*. *J. Nat. Prod.*, 1987, 50, 829-834.

Miyazawa, M., Shimamura, H., Nakamura, S. I., Kameoka, H. Antimutagenic activity of (+)- $\beta$ -eudesmol and paeonol from *Dioscorea japonica*. *J. Agric & Food Chem.*, 1996, 44, 1647-1650.

Mkaddem, M., Bouajila, J., Ennaïar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., Romdhane, M. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha (longifolia L. and viridis)* essential oils. *J. Food Sci.*, 2009, 74 (7), M358-M363.

Mochizuki, M., Yamazaki, S.-i., Kano, K., Ikeda, T. Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) - General Subjects*, 2002, 1569, (1-3), 35-44.

Mohamed, A. E. H., El-Sayed, M. A., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., Mohamed, N. S. Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Rec. Nat. Prod.*, 2010, 4(1), 1-25.

Molyneux, P. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn. J. Sci. Technol.*, 2004, 26 (2), 211-219.

Mompon, B. Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction : CO<sub>2</sub>, Micro-ondes, ultrasons, nouveaux solvants, 4<sup>ème</sup> rencontre internationale de Nyons, 1994, 149-166.

Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., Surbled, M. In *Extraction des polyphénols: du laboratoire à la production industrielle*, Polyphenols, Bordeaux, 15-18 juillet 1996, Bordeaux, France.

## N

Nabli, M. A. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis), 1989, p. 186-188.

Nagatsu, A., Isaka, K., Kojima, K., Ondognii, P., Zevgeegin, O., Gombosurengyin, P., Davgiin, K., Irfan, B., Iqbal, C.M., Ogihara, Y. New sesquiterpenes from *Ferula ferulaeoides*

(Steud.) Korovin. VI. Isolation and identification of three new dihydrofuro[2,3-b]chromones. *Chem. Pharm. Bull.*, 2002, 50, 675-677.

NCCLS Standard for antimicrobial susceptibility testing by diffusion methods NCCLS. 1985. Documents, 5(4).

Newman, D. J., Cragg, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod.*, 2007, 70, 461-477.

Novais, M. H., Santos, I., Mendes, S., Pinto-Gomes, C. Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *J. Ethnopharmacol.*, 2004, 93, 183-195.

## O

Ouali, K., Trea, F., Toumi, L., Bairi, A., Maurel, D., Guellati, M. A. L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations foetales au cours du diabète gestationnel expérimental. *Phytother.*, 2007, 5 (4), 204-209.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Prior, R. L. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49, 4619-4626.

Ourcival, J. M. Réponse de deux chamaephytes de la Tunisie présaharienne à différentes contraintes et perturbations. Thèse Doc. USTL, 1992, Montpellier, 167 p.

Ozenda, P. Flore du Sahara Septentrional et Central. 1958, C.N.R.S., Paris, France.

## P

Palá-Paul, J., Pérez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Palá-Paul, R., Sanz, J., Conejero, F. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *rosmarinifolia*. *Biochem. Syst. & Ecol.*, 2001, 29 (7), 663-672.

Paolini, J., Ouariachi, E. M., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Desjobert, J.-M., Costa, J., Muselli, A. Chemical variability of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from East Morocco. *Chem. Papers*, 2010, 64(5), 550-556.

Pavlović, I., Petrović, S., Radenković, M., Milenković, M., Couladis, M., Branković, S., Drobac, M. P., Niketić, M. Composition, antimicrobial, antiradical and spasmolytic activity of *Ferula heuffelii* Griseb. ex Heuffel (Apiaceae) essential oil. *Food Chem.*, 2012, 130, 310-315.

Pérez-Alonso, M. J., Velasco-Negueruela, A. Essential oil components of *Santolina chamaecyparissus* L. *Flav. & Fragr. J.* 1992, 7, 1, 37-41.

Pérez, C., Agnese, A.M., Cabrera, J.L., The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): chemical composition and antimicrobial activity tests. *J. Ethnopharmacol.*, 1999, 66, 91-96.

Pimenov, M. G., Leonov, M. V. The genera of the Umbelliferae: a nomenclator. (Royal Botanical Garden, Kew. 1993).

Pino, J. A., Rosado, A., Fuentes, V. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Cuba. *J. Essent. Oil. Res.*, 1996, 8(3), 295-296.

Pino, J., Borges, P., Martinez, M., Vargas, M., Flores, H., Estarron, M., Fuentes V., Essential oil of *Mentha spicata* L. from Jalisco. *J. Essent. Oil. Res.*, 2001, 13 (6), 409-410.

Poli, F., Bonsignore, L., Loy, G., Sacchetti, G., Ballero, M. Comparison between the essential oils of *Santolina insularis* (Genn. ex Fiori) Arrigoni and *Santolina corsica* Jord. et Fourr. from the island of Sardinia (Italy). *J. Ethnopharmacol.*, 1997, 56, 201-208.

Pulley, G. Solubility of naringin in water. *Ind. & Engin. Chem.*, 1936, 8 (5), 360.

## Q

Quentin-Leclerc, J. Le voyage insolite de la plante au médicament. *J. Pharm. Belg.*, 2002, 57, 11-20.

Quezel, P., Santa, S. Nouvelle flore de l'Algérie et des Régions Désertiques et Méridionales, Tome I et II, Editions CNRS, Paris, 1963.

## R

Ramos-Tejada, M. M., Duran, J. D. G., Ontiveros-Ortega, A., Espinosa-Jimenez, M., Perea-Carpio, R., Chibowski, E. Investigation of alumina/(+)-catechin system properties. Part I: a study of the system by FTIR-UV-Vis spectroscopy. *Colloids & Surfaces B: Biointerfaces* 2002, 24 (3-4), 297-308.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 26, 1231-1237.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., Pridham, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic. Res.*, 1995, 22, 375-383.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free. Radic. Biol. Med.*, 1996, 20 (7), 933-956.

Richter, G. *Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie*. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes, 1993, 322-323.

Rimbach, G., Höhler, D., Fischer, A., Roy, S., Virgili, F., Pallauf, J., Packer, L. Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Arch. Anim. Nutr.*, 1999, 52, 203-222.

Robert, G. Les Sens du Parfum. *Osman Eroylles Multimedia*. 2000, Paris. p. 224, France.

Robert, R. V., Sylviane, J. L., Daniel, J. F., Chemical Composition of the Essential Oil of *Senecio ambavilla* (Bory) Pers. from Réunion Island, *Publishing models and article dates explained*, 2011, pp 21-25.

Ronniger, K., *Die britischen Arten und Formen. Feddes Repert*, 1924, 20, 321.

Rossi, P. G., Panighi, J., Luciani, A., de Rocca, Serra, D., Maury, J., Gonny, M., Muselli, A., Bolla, J. M., Berti, L. Antibacterial action of essential oils from Corsica. *J. Essent. Oil. Res.*, 2007, 19, 176-182.

Roulier, G. " Les huiles essentielles pour votre santé ". Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Edt. Dangles. France, 1992.

Roux, D. *Conseils en aromathérapie*. 2<sup>ème</sup> édition, 2008, Pro-Officina, p.187.

Rubiolo, P., Matteodo, M., Riccio, G., Ballero, M., Christen, P., Fleury-Souverain, S., Veuthey, J. L., Bicchi, C. J. Analytical discrimination of poisonous and nonpoisonous chemotypes of giant fennel (*Ferula communis* L.) through their biologically active and volatile fractions. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54, 7556-7563.

Rustaiyan, A., Monfared, A., Masoudi, S. The essential oil of *Ferula flabelliloba* Rech. F. et Aell. *J. Essent. Oil Res.*, 2001a, 13, 403-404.

Rustaiyan, A., Assadian, F., Monfared, A., Masoudi, S., Yari, M. Composition of the volatile oil of *Ferula stenocarpa* Boiss. & Hausskn. *J. Essent. Oil Res.*, 2001b, 13, 181-182.

## S

Sadik, C. D., Sies, H., Schewe, T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action. *Biochem. Pharm.*, 2003, 65 (5), 773-781.

Sadraei, H., Asghari, G. R., Hajhashemi, V., Kolagar, A., Ebrahimi, M. Spasmolytic activity of essential oil and various extracts of *Ferula gummosa* Boiss. on ileum contractions. *Phytomedicine*, 2001, 8(5), pp. 370-376.

Saidman, E., Yurquina, A., Rudyk, R., Molina, M. A. A., Ferretti, F. H. A theoretical and experimental study on the solubility, dissolution rate, structure and dipolar moment of flavone in ethanol. *J. Molec. Struct. Theochem.*, 2002, 585 (1-3), 1-13.

Saija, A., Tomaino, A., Trombetta, D., Luisa Pellegrino, M., Tita, B., Messina, C., Bonina, F. P., Rocco, C., Nicolosi, G., Castelli, F. 'In vitro' antioxidant and photoprotective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. *Eur. J. Pharm. & Biopharm.*, 2003, 56 (2), 167-174.

Sala, A., Recio, M.C., Giner, R.M., Manez, S., Rios, J. L. Antiphospholipase A2 and anti-inflammatory activity of *Santolina chamaecyparissus*. *Life Sci.*, 2000, 66, 35-40.

Salido, S., Altarejos, J., Nogueras, M., Sanchez, A. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso ssp. *valentina* (Lam.) Marcl. *J. Essent. Oil. Res.*, 2001, 13(4), 221-224.

Saliou, C., Kitazawa, M., McLaughlin, L., Yang, J.-P., Lodge, J. K., Tetsuka, T., Iwasaki, K., Cillard, J., Okamoto, T., Packer, L., Antioxidants modulate acute solar ultraviolet radiation-induced NF-kappa-B activation in a human keratinocyte cell line. *Free Radic. Biol. & Med.*, 1999, 26 (1-2), 174-183.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri Jose, A., Saura-Calixto, F. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *J. Sci. Food & Agric.*, 1998, 76 (2), 270-276.

Sanchez-Moreno, C., Satué-Garcia, M.T., Frankel, E.N. Antioxidant activity of selected spanish wines in corn oil emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 5581-5587.

Sarer, E., Toprak, S. Yagmur Otlu, B., Durmaz, R. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Mentha spicata* L. subsp. *spicata*. *J. Essent. Oil. Res.*, 2011, 23(1), 105-108.

Sayyah, M. Kamalinejad, M. Bahrami, Hidage, R. B., Rustaiyan, A. Antiepileptic Potential and Composition of the Fruit Essential Oil of *Ferula Gummosa* boiss. *Iranian Biomed. J.*, 2001, 5 (2 & 3), 69-72.

Scherer R., Godoy H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl

method. *Food Chem.*, 2009, 112, 654-658.

Schilcher, H. « Effets and side effets of essential oils » in « essential oils and aromatic plants». 217-231. Baerheim, A. Schefer J. J. C. (Eds). 1985, Dordrecht, Holland.

Schwartz, R., Davis, R., Hilton, T.J. Effect of temporary cements on the bond strength of resin cement. *Am. J. Dent.* 1992, 5 (3): 147-150.

Sefidkon, F., Askari, F., Mirza, M. Essential oil composition of *Ferula assa-foetida* L. from Iran. *J. Essent. Oil. Res.*, 1998, 10, 687-689.

Sell, C.S. *The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer*. 2nd edition. The Royal Society of Chemistry. 2006, Cambridge. p. 329.

Senatore, F., De Feo, F. Composition of the essential oil of *santolina neapolitana* Jordan et Four. *Flav. & Fragr. J.*, 1994, 9, 2, 77-79.

Senatore, F., Reverchon, E., Arnold, N. A., Piozzi, F. Ambruosi, A. Isolation of peppermint oil using supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *Flav. Fragr. J.*, 2005, 9, 12-23.

Shatar, S. Essential oil of *Ferula ferulaoides*, from Western Mongolia. *Chem. Nat. Comp.*, 2005, 41, 5.

Shimizu, S., Udo, S., Sacco, T. Cytotaxonomical and chemical studies on *Mentha viridis* cv *Lavanduliodora*. *Allionia*, 1967, 13, 215-19.

Shin, T.-Y., Kim, D.-K. Antiallergic activity of menthae herba. *Kor. J. Pharmacogn.*, 1998, 29, 248-253.

Siegenthaler, W., Luthy, R. *Current chemotherapy*. Proceeding 10th international congress of chemotherapy. II. Washington DC. *Am. Soc. Microbiol.*, 1978.

Sikkema, J., de Bont, J. A. M., Poolman, B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 8022-8028.

Silván, A. M., Abad, M. J., Bermejo, P., Sollhuber, M., Villar, A. (1996) a. Antiinflammatory activity of coumarines from *Santolina oblongifolia*. *J. Nat. Prod.*, 59 (12), 1183-1185.

Silvan, A.M., Abad, M.J., Bermejo, P., Villar, A., Sollhuber, M. Antiinflammatory activity of three flavonoids from *Santolina oblongifolia*. *Phytother. Res.*, 1996b, 10, 65.

Simmonds, M.S.J. Novel drugs from botanical sources. *Drug Discov. Today*, 2003, 8, 721-722.

Smith, G., Thomsen, S., Markham, K., Andary, C., Cardon, D. The photostabilities of naturally occurring 5-hydroxyflavones, flavonols, their glycosides and their aluminium complexes. *J. Photochem. & photobiol A: Chemistry*, 2000, 136, 87-91.

Sourai, P.G. Antimicrobial action of dental materials used in operative dentistry: a review *Odontostomatol. Proodos.*, 1989, 43 (5), 399-408.

Spichiger, R. E., Savolainen, V. V., Figeat, M. Jeanmonod, D. Botanique Systématique des plantes à fleurs. 3ème édition, Presses Polytechniques Universitaires Romandes, 2004, Lausanne, suisse. pp. 348-349.

Spurgeon et Porter, *Biosynthesis of isoprenoid compound*, 1981, 1-46.

Stoyanova A., Georgiev E., Kula J., Majda T. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Bulgaria. *J. Essent. Oil. Res.*, 2005, 17(5), 475-476.

*Sunset Western Garden Book*, 1995, 606–607.

Suresh, B., Srirama, S., Dhanaraja, S.A., Elango, K., Chinnaswamy, K. Anticandidal activity of *Santolina chamaecyparissus* volatile oil. *J. Ethnopharmacol.*, 1997, 55(2), 151-159.

Suzuki, K., Okasaka, M., Kashiwada, Y., Takaishi, Y., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K., Ashurmetov, O., Sekiya, M., Ikeshiro Y. Sesquiterpene lactones from the roots of *Ferula varia* and their cytotoxic activity. *J. Nat. Prod.*, 2007, 70, 1915-1918.

Syuichi, F., Kazutaka, T., Shigeharu, M. Antioxidant material, anti-deterioration agent and food or beverage. WO2006070810, 2006.

## T

Tamemoto, K. Takaishi Y., Kawazoe K., Honda G., Ito M., Kiuchi F. Takeda Y., Kodzhimatov O. K., Ashurmetov O., Shimizu K., Nagasawa H., Uto Y., Hori H. O., An unusual sesquiterpene derivative from *Ferula kuhistanica*. *J. Nat. Prod.* 65, 2002, 1323-1324.

Tanker, M., Aki, O., Mener, B., Soner, O. Orta Anadolu'da yetiytirilen bazi *Mentha* türleri üzerinde bir araştırma. *Ankara Ecz. Fak. Mec.*, 1976, 6, 126-136.

Tantaoui- Elaraki, A., Beraoud, L. Inhibition of growth and aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* by essential oils of selected plant materials. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 1994, 13, 67-72.

Tharib, S. M., Gnan, S.O., Veitch, G.B.A. Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. *J. Food. Prot.*, 1983, 46, 681-685.

Tommasini, S., Raneri, D., Ficarra, R., Calabro, M. L., Stancanelli, R., Ficarra, P. Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with [beta]-cyclodextrin. *J. Pharm. & Biomed. Analysis*, 2004, 35 (2), 379-387.

Treki A. 2002. Effets biologiques de polyphénols extraits de plantes médicinales *Ranunculus repens* et *Thymus hirtus* sur l'activité de microorganismes responsables de certaines pathologies. Thèse de magistère de l'université de Constantine.

## U

Ultée A. Kets E. P. W., Smid, E. J-. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *J. Appl. Microbiol.*, 1999, 65 (10), 4606-4610.

Ungar, Y., Osundahunsi, O. F., Shimoni, E., Thermal stability of genistein and daidzein and its effect on their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51 (15), 4394-4399.

Unsicker, S. B., Kunert, G., Gershenzon, J. Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2009, 12(4), 479-485.

Ushakov, V. A., Murav'eva, D. A., Bakina, L. A. Monoterpene compounds of the essential oils of plants of the genus *Santolina*. *Chem. Nat. Comp.*, 1975, 12, 597-598.

Utrecht, Y. T., Suzette, E., Bennekom, S.R., Haaksbergen, T. S. Série Le Jardin (Arbustes), 1995, p. 63.

## V

Valkonen, M., Kuusi, T. *J. Lipid Res.*, 1997, 38, 823-833.

Van Acker, S. A. B. E., Van Den Berg, D. j., Tromp, M. N. J. L., Griffioen D. H., Van Bennekom, W. P., Van Der Vijgh, W. J. F., Bast, A. 7-Monohydroxyethylrutoside protects against chronic doxorubicin-induced cardiotoxicity when administered only once per week, *Free Radic. Biol. Med.*, 1996, 20 (3), 331-342.

Van Den Dool, H., Kratz, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.*, 1963, 11, 463-471.

Vashist, V.N., Nath, Y., Nazir, B. N., Handa, K.L. The essential oils of the species of genus *Mentha*. *Perfum. Essent. Oil. Rec.*, 1963, 55, 323-329.

Vargas, I., Sanz, I., Prima-Yufer, E., 1999. Antimicrobial and Antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed range essential oil. *J. Food Prot.*, 1999, 62(8), 929-932.

Vera, R.R., Laurent, S. J., Fraisse, D.J. Chemical composition of the essential oil of *Senecio ambavilla* (Bory) Pers. from Reunion Island. *J. Essent. Oil Res.*, 1994, 6(1), 21-5.

Voirin, B. UV spectral differentiation of 5-hydroxy- and 5-hydroxy-3-methoxyflavones with mono-(4'), di-(3',4') or tri-(3',4',5')-substituted B rings. *Phytochemistry*, 1983, 22 (10), 2107-2145.

## W

Walle, T., Vincent, T. S., Walle, U. K., Evidence of covalent binding of the dietary flavonoid quercetin to DNA and protein in human intestinal and hepatic cells. *Biochem. Pharm.*, 2003, 65 (10), 1603-1610.

Walle, T. Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Radic. Biol. & Med.*, 2004, 36 (7), 829-837.

Watanabe, K., Niimura, K., Miyagawa, J. *Esculetin derivatives and method for manufacture thereof, use thereof, and pharmaceutical composition*. EP 0654479A2, 1993.

Watanabe, K., Niimura, K., Esculetin, K., U. *Derivatives and pharmaceutical composition*. EP 0 614 896 A1, 1994a.

Watanabe, K., Niimura, K., Yamazaki, T. Maruoka. *Esculetin derivatives, method for manufacture thereof, and pharmaceutical composition*. EP 0 719 770 A1, 1994b.

Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U., Locke, S. *FEBS Lett.*, 1985, 187, 33-37.

White, D.A., Bell, G.D., Middleton, B. *Effects of terpenes and terpene analogues on cholesterol metabolism*. In: *Pharmacological Control of Hyperlipidaemia*, Miller, N., Prous, J.R., Eds., Rome, 1986, 389-399.

Wollgast, J., Anklam, E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res. Inter.*, 2000, 33, 423-447.

## Y

Yadegarinia, D., Gachkar, L., Bagher Rezaei, M., Taghizadeh, M., Alipoor Astaneh, S., Rasooli, I., 2006, Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 2006, 67, 1249–1255.

Yang, J., An, Z., Li, Z., Jing, S. & Qina, H. Sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula sinkiangensis* and *Ferula teterrima*. *Chem. Pharm. Bull.*, 2006, 54, 1595-1598.

Younis Younis, M. H., Beshir Shadia, M., Carvone-rich essential oils from *Mentha longifolia* L. Huds. ssp. *schimperi* Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. *J. Essent. Oil. Res.*, 2004, 16(6), 539-541.

## Z

Zellagui, A. Gherraf, N. Rhouati, S. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Ferula vesceritensis* Coss et Dur. leaves, endemic in Algeria. *Org. Med. Chem. Lett.*, 2012, 2, 31.

Zhai, H., Maibach, H. Skin antioxidants. *Cosmetics & Toiletries*, 2002, 117, 28-32.

Zhang, K., Yang, E.-B., Tang, W.-Y., Wong, K. P., Mack, P., Inhibition of glutathione reductase by plant polyphenols. *Biochem. Pharm.*, 1997, 54 (9), 1047-1053.

Zhu, Z., Li, C., Li, N.-Q., Electrochemical studies of quercetin interacting with DNA. *Microchem. J.*, 2002, 71 (1), 57-63.

Zsila, F., Bikadi, Z., Simonyi, M. Probing the binding of the flavonoid, quercetin to human serum albumin by circular dichroism, electronic absorption spectroscopy and molecular modelling methods. *Biochem. Pharm.*, 2003, 65 (3), 447-456.

## RESUME

La famille des Asteraceae est riche en flavonoïdes, particulièrement aglycones et méthoxylés. En accord avec cette caractéristique, nos travaux d'extraction et d'isolement des flavonoïdes de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. (Asteraceae), récoltée à Batna, ont permis d'obtenir et d'identifier 3 flavones aglycones méthoxylées : l'eupatiline, la jacéosidine et la salvigénine, en plus de la lutéoline et d'un flavonol, la quercétine et des dérivés 7-O-glucosylés de ces deux dernières.

L'extrait butanolique a montré une excellente activité antioxydante, par la méthode du DPPH.

Par ailleurs, les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des espèces *Santolina rosmarinifolia*, *Mentha piperita*, *Artemisia herba-alba*, *Ferula communis*, *F. lutea* et *Senecio giganteus* ont été analysées par GC et GC/MS.

L'huile essentielle de *Santolina rosmarinifolia* L. a manifesté une meilleure activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli* ATCC, d'*Escherichia coli* SH et d'*Enterobacter sp.*

L'huile essentielle de *Mentha piperita* sèche a plus fortement inhibé la croissance des souches bactériennes d'*Escherichia coli* ATCC et de *Streptococcus sp.*

Mots clés : Asteraceae, flavonoïdes, *Santolina rosmarinifolia* L., antioxydant, antibactérien, *Mentha*, *Artemisia*, *Ferula*, *Senecio*.

## Abstract

The Asteraceae family is rich of flavonoids, particularly aglycones and methoxylated. In agreement with this characteristic, our works of extraction and isolation of flavonoids of *Santolina rosmarinifolia* L. specie (Asteraceae), collected from Batna, led to 3 methoxylated aglycone flavones, eupatilin, jaceosidin and salvigenin together with luteolin and a flavonol, quercetin and 7-O-glucoside derivatives of the latters.

The butanolic extract showed an excellent antioxidant activity by the use of the DPPH.

In another hand, the essential oils obtained by hydrodistillation of *Santolina rosmarinifolia* L., *Mentha piperita*, *Artemisia herba-alba*, *Ferula communis*, *F. lutea* and *Senecio giganteus* species have been analyzed by GC and GC/MS.

The essential oil of *Santolina rosmarinifolia* L. showed the best antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC, *Escherichia coli* HS, and *Enterobacter sp.* strains.

The essential oil of dry aerial part of *Mentha piperita* inhibited more strongly the growth of *Escherichia coli* ATCC and *Streptococcus sp.* strains.

Keywords: Asteraceae, flavonoids, *Santolina rosmarinifolia* L., antioxidant, antibacterial, *Mentha*, *Artemisia*, *Ferula*, *Senecio*.

## ملخص

عائلة Asteraceae هي غنية بالفلافونويدات وخاصة الأليكونونية و الميتوكسيلية. وفقا لهذه الخاصية، سمحت لنا أعمالنا الخاصة باستخلاص و عزل الفلافونويدات الخاصة بالنوع *Santolina rosmarinifolia* L. (Asteraceae)، التي تم جمعها من ولاية باتنة، بعزل و تحديد 3 فلافونات أليكونونية ميتوكسيلية و هي: eupatiline، jacéosidine و salvigénine ، إضافة إلى lutéoline و فلافونول هو : quercétine ، و مشتقين لهذين الأخيرين 7-O-glucosylés.

أظهر المستخلص البيوتانولي فعالية ممتازة ضد الأكسدة باستعمال طريقة DPPH. من جانب آخر، حصلنا على الزيوت الأساسية للأنواع التالية، بواسطة الاستخلاص المائي (Hydrodistillation):

*Santolina rosmarinifolia*, *Mentha piperita*, *Artemisia herba-alba*, *Ferula communis*, *F. lutea* و *Senecio giganteus*. كما تم تحليل هذه الزيوت عن طريق كروماتوغرافيا الغاز و كروماتوغرافيا الغاز المتزوج مع مطيافية الكتلة. أثبت الزيت الأساسي للجزء الهوائي من نبتة *Santolina rosmarinifolia* L. أكبر فعالية ضد مجموعة من البكتيريا التالية :

*Escherichia coli* SH, *Enterobacter* sp. و *Escherichia coli* ATCC, كما أظهر الزيت الأساسي للجزء الهوائي من نبتة جافة و هي *Mentha piperita* أكبر فعالية ضد البكتيرية التالية: *Streptococcus* sp. و *Escherichia coli* ATCC.

الكلمات مفتاح :

Asteraceae, flavonoïdes, *Santolina rosmarinifolia* L., *Mentha*, *Artemisia*, *Ferula*, *Senecio*.  
ضد الأكسدة، ضد البكتيريا.

Nom : CHIBANI

Date de soutenance :

Prénom : Salih

26 /9/ 2013

Titre : Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'est Algérien

## **RESUME**

La famille des Asteraceae est riche en flavonoïdes, particulièrement aglycones et méthoxylés. En accord avec cette caractéristique, nos travaux d'extraction et d'isolement des flavonoïdes de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. (Asteraceae), récoltée à Batna, ont permis d'obtenir et d'identifier 3 flavones aglycones méthoxylées : l'eupatiline, la jacéosidine et la salvigénine, en plus de la lutéoline et d'un flavonol, la quercétine et des dérivés 7-O-glucosylés de ces deux dernières.

L'extrait butanolique a montré une excellente activité antioxydante, par la méthode du DPPH.

Par ailleurs, les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des espèces *Santolina rosmarinifolia*, *Mentha piperita*, *Artemisia herba-alba*, *Ferula communis*, *F. lutea* et *Senecio giganteus* ont été analysées par GC et GC/MS.

L'huile essentielle de *Santolina rosmarinifolia* L. a manifesté une meilleure activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli* ATCC, d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter sp*

L'huile essentielle de *Mentha piperita* sèche a plus fortement inhibé la croissance des souches bactériennes d'*Escherichia coli* ATCC et de *Streptococcus sp*.

**Mots clés** : Asteraceae, flavonoïdes, *Santolina rosmarinifolia* L., antioxydant, antibactérien, *Mentha*, *Artemisia*, *Ferula*, *Senecio*.

Président : Mr. M. Baka

Prof. Université Constantine 1

Rapporteur : Mme Z. Kabouche

Prof. Université Constantine 1

Examineurs: Mr. L. Arrar

Prof. Université Ferhat-Abbas, Sétif

Mr. R. Merghem

Prof. Université Constantine 1

Mr. A. Yahia

Prof. Centre Universitaire de Mila

Mr. A. Baghiani

Prof. Université Ferhat-Abbas, Sétif