

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA
Faculté des Sciences de la nature et de la vie

THESE DE DOCTORAT

En Sciences Agronomiques

Spécialité : Amélioration des productions végétales

**VARIATION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE ET LA
BIOACTIVITE DES HUILES ESSENTIELLES ET DES
POLYPHENOLS D'ARTEMISIA HERBA ALBA ET D'ARTEMISIA
CAMPESTRIS DE LA REGION DE DJELFA**

Par

Souhila TOUIL

Devant le jury composé de

SA. SNOUSSI	Professeur, Univ Blida	Président
FZ. BENREBIHA	Professeur, Univ Blida	Promotrice
T. HADJ SADOK	Maître de conférences B, Univ Blida	Co-promoteur
H. MOHAND KACI	Maître de conférences A, Univ Boumerdes	Examinatrice
M. LAHRECH	Professeur, Univ Djelfa	Examineur
M. BELAHAMRA	Professeur, Univ Biskra	Examineur

Blida, 04 Juillet 2018

ملخص

من أجل الاسهام في اعطاء الاهمية للنباتات العطرية والطبية التي تنمو في سهوب الجزائر و المعروفة بخصائصها العلاجية، نحن مهتمون بدراسة نوعين للـ *Artemisia*. من أجل التحقق والتثبت من تأثير التغيرات الموسمية على التركيب الكيميائي والنشاط البيولوجي للنباتات الطبية والعطرية قمنا في هذا العمل بدراسة المركبات الفينولية والزيوت الأساسية لنباتي الشيح و التقفد.تظهر نتائج التحليل الكروماتوجرافي الغازي المقترن بمطياف الكتلة تبايناً موسمياً في التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية للشيح و التقفد.أظهرت نتائج التقدير الكمي لمجموع البوليفينول أن مستخلصات النباتات التي تم جمعها خلال فصل الصيف هي المستخلصات الأغنى بهذه المركبات مقارنة مع مستخلصات المواسم الأخرى. كانت مستويات البوليفينول تتراوح من 264.87 الى 514.5 ملغ معادل حمض التانيك/غ من المادة الجافة لنبته الشيح و من 278.91 الى 956.51 ملغ معادل حمض التانيك/غ من المادة الجافة لنبته التقفد. وبالإضافة إلى ذلك، فإن التحديد الكمي لمركبات الفلافونويد الكلي يكشف أن المستخلصات الميثانولية للنباتات التي تم حصادها في موسم الصيف هي أيضا الأغنى لهذه المركبات 75. و باستعمال التحليل الكروماتوجرافي تم التعرف على المركبات الفينولية الرئيسية. بالنسبة للمستخلصات الميثانولية لنبته الشيح تم التعرف على 26 مركب فينولي اما بالنسبة لمستخلصات نبتة التقفد، تم تحديد 15 مركب. تم إجراء التقييم النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات والزيوت الطيارة عن طريقة اختبار DPPH. إن المستخلص الميثانولي لنبته التقفد الصيفي لديه أفضل قدرة مضادة للأكسدة ($IC_{50} = 13.43$ ملغم / مل). في حين أن، الزيوت الطيارة للنبات الشيح التي تم جمعه في فصل الشتاء أظهر أعلى نشاط مضاد للأكسدة ($IC_{50} = 13.65$ ملغم / مل).

الكلمات المفاتيح:

التقفد، الشيح، الزيوت الطيارة ، البوليفينول ، الاختلاف الموسمي ، النشاط المضادة للأكسدة.

RESUME

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes aromatique et médicinales de la steppe algériennes réputées pour leurs vertus thérapeutiques, nous sommes intéressés à l'étude de deux espèces d'*Artemisia*. Dans le cadre de vérifier et valider l'effet de la variation saisonnière sur la composition chimique et l'activité biologique des plantes médicinales et aromatique nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des composés phénoliques et des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, et d'*Artemisia campestris*. Les résultats de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse montrent une variation saisonnière de la composition chimique des huiles essentielles d'*A. herba-alba* et d'*A. campestris*. Le rendement en polyphénols totaux a montré une variation saisonnière allant de 264,87 à 514,5 mg EAT/g MS pour l'*A. herba-alba* et de 278,91 à 956,51 mg EAT/g MS pour l'*A. campestris*. La détermination quantitative des flavonoïdes totaux révèle que les extraits méthanoliques des plantes récoltées à la saison d'été sont les plus riches en flavonoïdes. 26 composés phénoliques ont été identifiés dans les extraits méthanoliques d'*A. herba-alba* et 10 composés ont été identifiés pour les extraits d'*A. campestris*. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a été réalisée par la méthode du test DPPH. L'extrait méthanolique d'*A. campestris* récolté en été possède la meilleure capacité réductrice (IC₅₀ = 13,43 mg/ ml). Cependant c'est l'HE d'*A. herba-alba* collecté en hiver qui a montré la plus importante activité antioxydante (IC₅₀ = 13,65 mg/ ml).

Mots-clés : *Artemisia campestris*, *Artemisia herba-alba*, huile essentielle, polyphénols, variation saisonnière, activité antioxydante.

ABSTRACT

This work is part of the development of herbs and medicinal plants of the Algerian steppe renowned for their therapeutic virtues, we are interested in the study of two species of *Artemisia*. In order to verify and validate the effect of seasonal variation on the chemical composition and biological activity of medicinal and aromatic plants, we are interested in this work in the study of phenolic compounds and essential oils of *Artemisia herba-alba* and *Artemisia campestris*. The results of gas chromatography coupled with mass spectrometry show a seasonal variation in the chemical composition of the essential oils of *A. herba-alba* and *A. campestris*. Total polyphenol yield showed seasonal variation ranging from 264.87 to 514.5 mg EAT / g DM for *A. herba-alba* and 278.91 to 956.51 mg EAT / g DM for *A. campestris*. Moreover, the quantitative determination of total flavonoids reveals that the methanolic extracts of the plants harvested in the summer season are the richest. 26 phenolic compounds were identified in the methanolic extracts of *A. herba-alba* for *A. campestris* extracts 15 were identified. The evaluation of the antioxidant activity of the extracts was carried out by the DPPH test method. The methanolic extract of *A. campestris* harvested in summer has the best reducing capacity (IC₅₀ = 13.43 mg / ml). However, it was *A. herba-alba* HE collected in winter that showed the highest antioxidant activity (IC₅₀ = 13.65 mg / ml).

Keywords : *Artemisia campestris*, *Artemisia herba-alba*, essential oil, polyphenols, seasonal variation, antioxidant activity.

REMERCIEMENT

Tout d'abord je remercie « DIEU » le tout puissant qui nous a donné le courage et l'ambition pour réaliser ce travail modeste.

Je profite de l'occasion qui m'est ainsi donnée pour exprimer au Professeur Madame **BENREBIHA Fatma-Zohra** ma respectueuse gratitude. J'ai été très sensible à sa grande disponibilité et à la totale confiance qu'elle m'a accordée. Sa grande expérience, ses précieux conseils et ses encouragements ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail de thèse.

Je tiens tout aussi à remercier mon co-promoteur, monsieur le docteur **Hadj Sadok Tahar** d'avoir accepté d'encadrer ce travail, ainsi que pour sa gentillesse, sa disponibilité, ses conseils constructifs, son attention, son dévouement et sa disponibilité tout au long de ces années de travail.

Je veux exprimer ici, ma respectueuse gratitude à Mr **SNOUSSI Sid Ahmed**, Professeur à l'Université de Blida, d'avoir accepté de présider ce jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Mme **Mohand Kaci HAKIMA**, MCA à l'Université de Boumerdes, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner cette thèse.

J'exprime mes vifs remerciements également à Mr **LAHRECH Mokhtar**, Professeur à l'Université de Djelfa. C'est une grande joie de vous compter parmi les membres de mon jury de thèse. Je vous adresse mes plus chaleureux remerciements.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Mr **BELAHAMRA Mohamed**, Professeur à l'Université de Biskra, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de jury.

Je voudrais également adresser mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel.

DEDICACE

A la mémoire de mon père que dieu repose son âme en paix

A ma mère que dieu protège

En témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissant. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses

A mes frères, et à mes sœurs

TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

DEDICACE

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRIVIATIONS

INTRODUCTION

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES ET LES ARTEMISIA

1. 1. Plantes aromatiques et médicinales (PAM)	19
1.1.1 Aperçu historique des PAM	19
1.1.2. Le marché des PAM dans le monde	20
1.1.3 PAM dans l'Algérie	20
1.2. Armoises « genre Artemisia »	21
1.2.1 Activités pharmacologiques	21
1.2.2. Composition chimique des huiles essentielles	23
1.2.3. Les flavonoïdes d'Artemisia	26
1.2.4. <i>Artemisia herba alba</i>	26
1.2.5. <i>Artemisia campestris</i>	33

CHAPITRE 2 : SUBSTANCES ACTIVES DES PLANTES : HUILES ESSENTIELLES ET COMPOSES PHENOLIQUES

2.1. Généralité sur les métabolites secondaires	41
2.2. Les polyphénols	41
2.2.1. Définition	41
2.2.2. Classification	42
2.2.3. Propriétés biologique et intérêt des polyphénols	55
2.3. Les huiles essentielles	57
2.3.1. Introduction	57
2.3.2. Définition	57
2.3.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante	58
2.3.4. Rôle des huiles essentielles chez les plantes	59
2.3.5. Méthodes d'extraction	60
2.3.6. Facteurs de variabilité	61
2.3.7. Composition chimique	63

2.3.8. Biosynthèse des terpènes	65
2.3.9. Méthodes d'identification chimiques des huiles essentielles	66
2.3.10. Propriétés des huiles essentielles	66
2.3.11. Toxicité des huiles essentielles	70

CHAPITRE 3 : LE STRESS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANT

3.1. Différents types des radicaux libres	72
3.2. Principales sources des ERO	73
3.2.1. Sources exogènes des ERO	73
3.2.2. Sources endogènes des ERO	74
3.3. Les conséquences du stress oxydant	74
3.4. <i>Les antioxydants</i>	76
3.4.1. Antioxydants enzymatiques	77
3.4. 2. Antioxydants non enzymatiques	78
3.5. Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes	79

CHAPITRE 4 : MATERIEL ET METHODES

4.1. Matériel végétal	81
4.2. Extraction des fractions volatiles par hydrodistillation	81
4.2.1. Principe	81
4.2.2. Mode opératoire	82
4.2.3. Calcul du rendement	82
4.3. Extraction des composés phénoliques par Ultrason-aidée (EAU)	83
4.3.1. Principe	83
4.3.2. Mode d'opératiore	84
4.4. Analyses colorimétriquess par spectrophotométrie (UV-visible)	84
4.4.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux	84
4.4.1.1. Principe	84
4.4.1.2. Mode opératoire	84
4.4. 2. Dosage des flavonoïdes totaux	86
4.4.2.1. Principe	86
4.4. 2.2. Mode opératoire	86
4.5. Activité antioxydante	87
4.5.1. Principe	88
4.5.2. Mode opératoire	88
4.5.3. Calcul des IC50	89
4.6. Techniques analytiques	89
4.6.1. Chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC	89
4.6.1.1. Principe	89

4.6.1.2 .Mode opératoire	89
4.7. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG/ SM	90
4.7.1. Principe	90
4.7.2 . Mode opératoire	91

CHAPITRE 05 : RESULTATS ET DISCUSSION

5.1. Effet de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle	93
5.2. Analyses par chromatographie des HE	95
5.2.1 Analyses chromatographiques de l'HE d' <i>A.herba-alba</i>	95
5.2.2. Analyses chromatographiques de l'HE d' <i>A.campestris</i>	101
5.3. Les composés phénoliques	107
5.3.1. Les phénols totaux	107
5.3.1.1. Effet de la saison sur la teneur en polyphénols d' <i>A.herba-alba</i>	107
5.3.1.2. Effet de la saison sur le rendement en polyphénols d' <i>A.campestris</i>	109
5.3.2. Les flavonoïdes	111
5.3.2.1. Effet de la saison sur le rendement en flavonoides d' <i>A.campestris</i>	111
5.3.2.2. Effet de la saison sur le rendement en flavonoides d' <i>A.herba-alba</i>	112
5.4. Identification des composés phénoliques par HPLC	114
5.4.1. Identification des composés phénoliques d' <i>A.herba-alba</i>	114
5.4.2. Effet de la variation saisonnière sur la composition chimique des polyphénols d' <i>A.herba-alba</i>	118
5.4.3. Identification des composés phénoliques d' <i>A.campestris</i>	121
5.4.4. Effet de la variation saisonnière sur la composition chimique des polyphénols d' <i>A.campestris</i>	124
5.5. L'activité antioxydante	126
5.5.1. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques	126
5.5.1.1. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques d' <i>A.campestris</i>	126
5.5.1.2. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques d' <i>A.herba-alba</i>	127
5.5.2. L'activité antioxydante des huiles essentielles	129
5.5.2.1. L'activité antioxydante des huiles essentielles d' <i>A.campestris</i>	129
5.5.2.2. L'activité antioxydante des huiles essentielles d' <i>A.herba-alba</i>	131

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1	: Structure de base des stilbènes (tran ou cis) [13].	44
Figure 2.2	: Structure de xanthone [20].	46
Figure 2.3	: Structure de base des flavonoïdes [26]	47
Figure 2.4	: Les structures chimiques des principales familles des flavonoïdes [32].	49
Figure 2.5	: Structures des différentes sous-classes d'isoflavonoïdes [31]	50
Figure 2.6	: Structure de tanins hydrolysable [44].	52
Figure 2.7	: Structure de tanins condensés.	53
Figure 2.8	: Schéma récapitulatif de la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes [40]	54
Figure 2.9	: Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E.	64
Figure 2.10	: Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E.	65
Figure 3.1	: Les différentes sources des ERO [3].	73
Figure 3.2	: Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives [11].	75
Figure 3.3	: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants [13].	76
Figure 3.4	: Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène [14]	78
Figure 4.1	: Courbe de variation de la DO en fonction des concentrations de l'acide tannique	86
Figure 4.2	: Courbe de variation de la DO en fonction des concentrations de la quercétine	87
Figure 5.1	: Rendements en huile essentielle en fonction de la période de récolte d' <i>A.campestris</i> et d' <i>A.herba-alba</i> .	94

Figure 5.2	: Chromatogrammes obtenus par les HEs d' <i>A.herba-alba</i>	96
Figure 5.3	: Chromatogrammes obtenus par les HEs d' <i>A.campestris</i>	102
Figure 5.4	: Teneurs en polyphénols des extraits d' <i>A.herba-alba</i> en fonction de la période de récolte	108
Figure 5.5	: Teneurs en polyphénols des extraits d' <i>A.campestris</i> en fonction de la période de récolte	110
Figure 5.6	: Teneurs en flavonoides des extraits d' <i>A.campestris</i> en fonction de la période de récolte	111
Figure 5.7	: Teneurs en flavonoides des extraits d' <i>A.herba-alba</i> en fonction de la période de récolte	112
Figure 5.8	: Chromatogrammes UV ($\lambda=365$ nm) des extraits méthanoliques d' <i>A.herba-alba</i>	115
Figure 5.9	: Chromatogrammes UV ($\lambda=365$ nm) des extraits méthanoliques d' <i>A.campestris</i>	122
Figure 5.10	: l'activité antioxydante des extraits méthanoliques selon la date de récolte d' <i>A.campestris</i>	126
Figure 5.11	: L'activité antioxydante des extraits méthanoliques selon la période de récolte d' <i>A.herba-alba</i>	128
Figure 5.12	: L'activité antioxydante des huiles essentielles selon la période de récolte d' <i>A.campestris</i>	130
Figure 5.13	: L'activité antioxydante des huiles essentielles selon la période de récolte d' <i>A.herba-alba</i>	132

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	: Principaux composants de l'huile essentielle (> 10%) des espèces d' <i>Artemisia</i> .	24
Tableau 1.2	: Composition chimique des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba-alba</i> selon les pays.	29
Tableau 1.3	: Composition chimique des huiles essentielles d' <i>A.campestris</i> selon le pays d'origine	36
Tableau 2.1	: Principaux acides hydroxybenzoïques [14]	43
Tableau 2.2	: Principaux acides hydroxycinnamiques [14]	43
Tableau 2.3	: Principaux types de coumarines [1]	45
Tableau 2.4	: Différentes classes des flavonoïdes [39]	48
Tableau 4.1	: Variation de la DO en fonction des concentrations de l'acide tannique	85
Tableau 4.2	: Variation de la DO en fonction des concentrations de la quercétine	87
Tableau 5.1	: Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes d' <i>A. herba-alba</i> selon la date de récolte	98
Tableau 5.2	: Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes d' <i>A.campestris</i> selon la date de récolte	103
Tableau 5.3	: Composés phénoliques identifiés par HPLC / ESI-MS dans les extraits d' <i>Artemisia herba-alba</i> .	116
Tableau 5.4	: Composition phénolique des extraits méthanoliques d' <i>A.herba-alba</i> selon la période de récolte.	119
Tableau 5.5	: Composés phénoliques identifiés par HPLC-DAD / ESI-MS dans les extraits d' <i>Artemisia campestris</i> .	123
Tableau 5.6	: Composition phénolique des extraits méthanoliques d' <i>A.campestris</i> selon la période de récolte.	124

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

PAM	:	Plantes aromatiques et médicinales
ESI	:	Source d'ions électrospray
USD	:	Dollar des États-Unis
UF/kg MS	:	Unités Fourragères/ Kilogramme de matière sèche
ABTS	:	2,2'- azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic
DPPH	:	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
BHT	:	Butylated hydroxytoluene
IC50	:	Concentration inhibitrice à 50%
ERO	:	Espèces réactives de l'oxygène
DL50	:	Dose létale médiane
DNID	:	Diabète non insulino-dépendant
EAU	:	Extraction Assistée par Ultrasons
KHz	:	Kilohertz
MHz	:	Mégahertz
DO	:	densité optique
nm	:	Nanomètre
AlCl ₃	:	Trichlorure d'aluminium
HPLC	:	Chromatographie en phase liquide à haute performance
m/z	:	Masse/charge
CPG/SM	:	Chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse
Ev	:	électron-volts
V	:	Volt
EAT	:	Equivalent d'acide tannique
EAG	:	Equivalent d'acide gallique
MS	:	Matière sèche

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales « PAM » est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupées une place importante dans la vie quotidienne : préparations culinaires, médecine empirique puis médecine chimique, médecine curative et médecine de bien-être, parfums.

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phytogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre à plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3 150 espèces végétales que compte notre pays [1].

Le genre *Artemisia*, de la famille des Astéracées, font partie de la gamme variée des plantes médicinales et aromatiques spontanées caractérisant la flore Algérienne. Ce genre comprend quelques 400 espèces, réparties sur les cinq continents [1]. En Algérie, il est représenté par onze espèces [2]. L'*A. herba-alba* est très répandue sur les hauts plateaux et occupe environ trois millions d'hectares [3]. Elle se caractérise par une bonne valeur fourragère et par une composition en huiles essentielles ayant des propriétés antiseptiques, vermifuges et antispasmodiques [4]. Les différentes parties de l'*A. campestris* sont utilisées comme fébrifuge, vermifuge, anticancéreux, contre les troubles digestifs, l'ulcère gastrique et les douleurs menstruelles [5]. Ces diverses activités biologiques se manifestent par différents composés dont les composants principaux sont les huiles essentielles et les polyphénols.

Depuis quelques années, la valorisation des huiles essentielles est devenue un facteur de développement économique. De nombreux pays émergents, tentent de pénétrer ce secteur. Dans ce contexte, la tendance actuelle du marché international des huiles essentielles va dans le sens d'une production dont la qualité est constante et contrôlée. Il est donc indispensable

que le démarrage d'une activité industrielle de ce type se fasse sur des bases solides s'appuyant sur des données objectives [1].

Les polyphénols dont les flavonoïdes et les acides phénoliques ont une grande importance de par leurs nombreux effets bénéfiques pour la santé [6]. Ils permettraient à l'organisme de lutter contre les agressions de l'oxygène et ses pathologies associées, ce qui suscitent un intérêt grandissant pour la prévention et le traitement des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les cancers, les maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives [7].

Plusieurs travaux de recherche ont montré que la composition chimique des huiles essentielles ainsi que le contenu en polyphénols d'une plante médicinale sont très fluctuant. En particulier, les caractéristiques environnementales influencent fortement le développement et la capacité à synthétiser des métabolites secondaires dans les plantes médicinales [8].

La composition chimique d'un métabolite secondaire est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants de ces métabolites est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle.

Une caractérisation complète des composés phénoliques et terpéniques en utilisant des techniques avancées et puissantes semble cruciale. Pour cette raison, des méthodes appropriées doivent être établies.

La spectrométrie de masse est une technique analytique qui peut fournir des informations à la fois qualitative et quantitative. Au cours des dernières décennies, la source d'ions électrospray (ESI-MS) a émergé comme une importante technique. Il fournit un outil sensible, robuste et fiable pour détecter, caractériser et quantifier les composés présents dans les plantes médicinales. Elle permet de coupler avec la chromatographie liquide haute performance (HPLC) ou avec la chromatographie en phase gazeuse (CG). Ce couplage HPLC/ESI-MS est devenu un outil puissant pour l'identification rapide et facile des constituants chimiques dans les extraits de plantes. La haute sensibilité de la

MS en tant que détecteur LC facilite la découverte de nouveaux constituants mineurs, difficiles à obtenir par des moyens conventionnels [9].

Dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales de la steppe algérienne, nous nous sommes intéressés à l'étude de deux espèces réputées pour leur richesse en métabolites secondaires à activités biologiques potentielles.

Le but principal de cette étude était d'évaluer l'effet de la variation saisonnière sur la composition chimique des huiles essentielles, des composés phénoliques et par conséquent sur la capacité antioxydante de l'*Artemisia herba-alba* et de l'*Artemisia campestris*.

Dans une première partie, nous présentons une mise au point bibliographique décrivant les notions essentielles à la compréhension de notre travail (composition chimique et intérêt des huiles essentielles, classification et intérêt des composés phénoliques, description et travaux antérieurs des espèces étudiées, les oxydants et les antioxydants). La seconde décrit la partie expérimentale, avec une présentation des techniques d'extraction, des dosages spectrophotométriques, des tests d'activités antioxydante et des techniques d'analyse chromatographique, à savoir la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et la chromatographie en phase liquide à haute performance. La troisième partie consiste en une analyse des résultats obtenus et une discussion qui mettra l'accent sur leur signification par rapport aux données de la littérature. Enfin, le manuscrit se terminera par une conclusion générale qui permettra de tirer quelques perspectives de prolongement à ce travail.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES ET LES ARTEMISIA

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES ET LES ARTEMISIA

1.1. Plantes aromatiques et médicinales (PAM)

1.1.1 Aperçu historique des PAM

L'histoire montre que l'homme s'est toujours servi des plantes pour se nourrir, s'habiller, s'abriter, chasser et se soigner [10]. La connaissance des préparations médicinales et de leur potentiel toxique a été transmise au cours des générations par la tradition orale et parfois transcrite en littérature des remèdes en herbes.

Vers le XV^{ème} siècle, Christophe Colomb et Vasco De Gama, rapportent de leurs expéditions des plantes médicinales. On parle des "Plantes de la Découverte". Au XVI^{ème} siècle, Paracelse définit la notion de principe actif. Des recherches se font sur la morphologie des plantes pour expliquer leur activité thérapeutique. On parle de la "Théorie des signatures".

Depuis, l'homme n'a cessé de poursuivre sa quête vers la connaissance des plantes, leurs secrets et leurs vertus bénéfiques. Aujourd'hui, les progrès de la science sont tels que de nouveaux horizons s'ouvrent pour la phytothérapie : nouvelles méthodes scientifiques de pointe pour connaître les principes actifs des plantes, découverte de nouvelles propriétés, nouvelles formes d'utilisation plus pratiques, conçues pour s'adapter aux besoins de la vie actuelle. Désormais, les plantes sont devenues d'authentiques médicaments [11].

Les années 90 ont été marquées par une prise de conscience générale en faveur de la santé de l'homme et de la qualité de l'environnement. L'agriculture biologique, la phytothérapie et l'aromathérapie ont suscité un regain d'intérêt pour la culture des PAM pour leur utilisation (plante entière) ou encore sous forme d'huile essentielle ou d'extrait [1].

1.1.2. Le marché des PAM dans le monde

Le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments. Récemment, des chercheurs ont estimé qu'il existe environ 400 000 espèces de plantes dans le monde, dont environ le quart ou le tiers ont été utilisées par les sociétés à des fins médicinales [12].

Les statistiques des nations unies basées sur l'exportation et l'importation de 162 pays pour la période 1991 à 2000, rapportent 2924 produits d'origine de 1211 plantes médicinales ou aromatiques [13].

L'importance globale des PAM est énorme. Dans les années quatre-vingt-dix, son importation globale annuelle est rapportée à 400 000 tonnes avec une valeur de 1.224 trillion de dollar Américain (USD) [14].

Le Japon est le premier consommateur, suivi des Etats-Unis, de l'Allemagne et de la Corée du sud, et encore les quatre pays européens: la France, l'Italie, le Royaume-Uni et l'Espagne. Dans ces pays européens, la matière première des PAM est principalement traitée par l'industrie, puis vendue comme produits finis dans les marchés locaux ou exportée. Sur l'autre côté, la Chine est le premier fournisseur de la matière première des PAM, suivi de l'Inde en Asie. Dans l'Europe, la Bulgarie et l'Albanie sont les principaux pays de source des PAM, dans l'Amérique du Nord, le Mexique, et en Afrique, l'Egypte et le Maroc [13, 14].

1.1.3. PAM dans l'Algérie

Même pendant le colonialisme Français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces comme médicinales et un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie était publié en 1942 par Fourment et Roques. Ils ont mentionné 200 espèces décrites et étudiées pour la plupart d'elles dans le Nord d'Algérie et seulement 6 espèces du Sahara.

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle. Elles sont largement employées dans divers domaines de la santé. Dans les années dernières, la phytothérapie est très répandue pour traiter

plusieurs maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables [15].

Le secteur des PAM et de la production des huiles essentielles en Algérie est mal connue (manque d'informations et de statistiques), il reste l'œuvre d'initiatives personnelles (herboristes, distillateurs ambulants...). Mais depuis 2003, la politique agricole de l'Algérie encourage la culture et la valorisation des PAM par la mise en œuvre de projets de développement rural. Le secteur PAM en Algérie est aujourd'hui en pleine structuration et son expansion permettra d'atténuer l'exode rural en augmentant le revenu des cultivateurs et en générant des emplois pour les habitants de la région. Il doit permettre de résorber une forte demande d'emplois qualifiés [1].

1.2. Armoises « genre Artemisia »

Artemisia L. est un genre de petites herbes et arbustes trouvés dans les régions tempérées du nord. Il appartient à l'importante famille des Compositae (Asteraceae), l'un des groupements végétaux les plus nombreux, qui comprend environ 1 000 genres et plus de 20 000 espèces. *Artemisia* fait partie de la tribu Anthemideae et comprend plus de 500 espèces, principalement présentes en Asie, en Europe et en Amérique du Nord [16]

Plus d'une dizaine d'espèces ont été déterminées en Algérie ; certaines sont rares et disséminées en hautes montagnes, ou cantonnées dans certaines limites; d'autres sont au contraire particulièrement abondantes et répandues sur de grandes étendues, par exemple : *Artemisia herba alba* (chih), espèce typique du paysage steppique et saharien. Leur détermination n'est pas très délicate, d'autant qu'elles sont pour la plupart, vivaces et aromatiques [17].

1.2.1 Activités pharmacologiques

Le genre *Artemisia* comprend des plantes médicinales importantes qui font actuellement l'objet d'une attention phytochimique en raison de leur diversité biologique et chimique.

Des études phytochimiques ont prouvé que ce genre est riche en terpénoïdes, flavonoïdes, coumarines, acétylènes, acides caféoylquiniques et stéroïdes et il a été démontré qu'*Artemisia* possède de multiples bioactivités bénéfiques telles que antipaludiques, anti-virales, anti-tumorales, anti-pyrétiques, anti-activités hémorragiques, anticoagulantes, antiangiogènes, anti-oxydantes, anti-hépatites, anti-ulcérogènes, antispasmodiques [18]. Les plantes du genre *Artemisia* (famille des Asteraceae) ont été utilisées dans la médecine populaire par de nombreuses cultures depuis l'Antiquité. Les infusions à base de plantes de ces espèces ont été utilisées comme analgésiques, antibactériennes et hémostatiques [18, 19].

Les espèces d'*Artemisia* sont fréquemment utilisées pour le traitement de maladies telles que le paludisme, l'hépatite, le cancer, l'inflammation et les infections par des champignons, des bactéries et des virus [20].

- ❖ *Artemisia absinthium* L. est utilisée pour ses effets antiparasitaires et pour traiter l'anorexie et l'indigestion. Les parties aériennes sont présentes dans de nombreuses préparations à base de plantes gastriques, en complément alimentaires et des boissons alcoolisées [21].
- ❖ *Artemisia annua* L. la plante est cultivée en Afrique et utilisée comme thé pour le traitement du paludisme. L'artémisinine a été identifiée comme le principe antipaludique de la plante .,
- ❖ *Artemisia arborescens* L. Il est originaire des différents habitats de la région méditerranéenne. il est utilisé comme un remède anti-inflammatoire.,
- ❖ *Artemisia campestris* L. Les feuilles de cette plante sont largement utilisées en médecine traditionnelle comme décoction pour leurs propriétés antivenimeuses, anti-inflammatoires, anti-rhumatismales et antimicrobiennes.,
- ❖ *Artemisia herba-alba* Asso est utilisé dans la médecine traditionnelle sous la forme d'une décoction, contre la fièvre et les problèmes menstruels et nerveux.,

- ❖ *Artemisia judaica* L. est un anthelminthique très commun dans la plupart des pays d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient.,
- ❖ *Artemisia vulgaris* L est largement utilisée pour ces actions anti-hypertenseurs, anti -inflammatoires, antispasmodiques, carminatives et vermifuges [22].

1.2.2. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles du genre *Artemisia* a été largement étudiée chez plusieurs espèces partout dans le monde. L'odeur forte et aromatique de certaines espèces de ce genre est due principalement à la haute concentration des terpènes volatiles.

De nombreuses études ont montré que les espèces d'*Artemisia* présentent des variations intra-spécifiques significatives pour les constituants terpéniques des huiles essentielles (Tableau 1.1). Dans certains cas, la variation des composants volatils de ces plantes peut se produire pendant l'ontogénèse végétale ou la croissance à différentes altitudes.

La qualité et le rendement des huiles essentielles d'*Artemisia* sont influencés par la localisation géographique, la saison de récolte, les conditions de séchage, la méthode d'extraction, le chémotype ou la sous-espèce [22].

Ainsi, les huiles de *A. nilagirica*, une plante poussant à différentes altitudes en Inde, ont obtenu par hydrodistillation et analysées par chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse (GC / MS) [23]. Les constituants principaux ont montré une variation selon l'altitude. Aux altitudes inférieure, moyenne et supérieure, les principaux constituants étaient l'oxyde de caryophyllène (28,6%), le bornéol (35,8%) et le camphre (46,9%), respectivement. Les composés caractéristiques observés chez les plantes de basse altitude étaient le 2-hexène-1-ol, le β -thujone, le thuyanol, le myrténol et l'acétate de linalyle, tandis que les plantes d'altitude supérieure étaient caractérisées par la présence d' α -pinène, pinène, limonène, linalol, γ -gurijunène, germacrane D et farnésol [23].

Alors que PADALIA et al. [24] qui ont analysé et comparé la composition en huile essentielle des parties aériennes d'*A. annua* poussant à Uttarakhand, en Inde, à différents stades de développement. Les principaux constituants étaient le camphre (22,8-42,6%), le 1,8-cinéole (3,7-8,4%) , le linalol (0,1-11,9%), le β -caryophyllène (2-9,2%), (E) - β -farnèse (1,3-8,5%), germacrène D (0,5-7,3%) et 1-epi-cubenol (0,7-5,2%).

Par contre VIUDA-MARTOS et al. [25] qui étudié la composition chimique de cette espèce (*A. annua*) en Egypte. Montrant que les constituants principaux étaient le 1,8-cinéole (8,1%) et l'artémisia cétone (14%).

Tableau 1.1: Principaux composants de l'huile essentielle (> 10%) des espèces d'Artemisia.

PA: parties aériennes; F: fleurs; R: racines.

Espèce	Origine	Composé
A. dracunculus (PA)	Iran	trans-anethole
A. dracunculus (PA)	Turquie	
A. annua (PA)	Égypte	artemisiaketone
A. douglasiana (Feuille)	USA	
A. pontica (PA)	Turquie	
A. abrotanum (Feuille)	Turquie	borneol
A. argyi (F)	Chine	
A. frigida (Feuille)	Turquie	
A. incana (PA)	Turquie	
A. iwayomogi (PA)	Corée du Sud	
A. nilagirica(PA)	Inde	
A. argyi (F)	Chine	bornylacetate
A. frigida (Feuille)	Turkey	

Espèce	Origine	Composé
A. absinthium (PA)	Ethiopie	camphore
A. abyssinica (PA)	Ethiopie	
A. afra (Feuille)	Ethiopie	
A. annua(PA)	Lithuanie	
A. annua (Feuille)	Ethiopie	
A. cana (PA)	Canada	
A. douglasiana (Feuille)	USA	
A. fragans (R)	Iran	
A. frigida (L)	Turquie	
A. frigida (PA)	Canada	
A. gorgonum (PA)	Cap-Vert	
A. haussknechtii (PA)	Iran	
A. incana (PA)	Turquie	
A. iwayomogi (PA)	Corée du Sud	
A. judaica (PA)	Egypt	
A. longifolia (PA)	Canada	
A. ludoviciana (PA)	Canada	
A. rubripes (Feuille)	Chine	
A. santonicum (PA)	Turquie	
A. scoparia (PA)	Corée du Sud	
A. sieberi (PA)	Iran	
A. spicigera (PA)	Iran	
A. spicigera (PA)	Turquie	
A. campestris (PA)	Lithuanie	Caryophylleneoxide
A. nilagirica (PA)	Inde	
A. absinthium (PA)	Iran	β-thujone
A. absinthium (PA)	Canada	
A. arborescens (PA)	Italie	
A. frigida (Feuille)	Turquie	
A. fukudo (Feuille)	Corée	
A. kulbadica (PA)	Iran	
A. lavandulaefolia(PA)	Corée du Sud	
A. scoparia (PA)	Iran	
A. sieberi (PA)	Iran	
A. spicigera (PA)	Iran	
A. absinthium (PA)	Iran	β-pinene
A. scoparia (PA)	Tadjikistane	

Source : ABAD et al., [22]

1.2.3. Les flavonoïdes d'Artemisia

Parmi les polyphénols, les flavonoïdes sont les plus répandus dans les Anthemideae et leur évaluation s'est révélée être un outil précieux pour les études chimio-taxonomiques. Dans cette tribu, la lutéoline, l'apigénine et la quercétine sont les composés les plus communs.

Plus de 160 composés flavonoïdiques différents ont été isolés dans le genre *Artemisia* et environ un tiers d'entre eux sont des dérivés des ; flavones lutéoline et apigénine [26].

Les flavonoïdes dans ce genre peuvent exister à la fois en tant que O-glycosides et sous forme de flavones et de flavonols méthylés.

1.2.4. Artemisia herba alba

1.2.4.1. Description botanique

L'armoise blanche est une plante des climats arides et semi-arides qui pousse dans les hautes plaines steppiques, les déserts du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord. C'est une plante herbacée à tiges ligneuses, ramifiées et tomenteuses de 30 à 50 cm de long. Les feuilles sont courtes, sessiles, pubescentes et argentées. Les capitules sont groupés en panicules de petite taille de 1,5 à 3 mm allongés et étroits contenant de 3 à 6 des fleurs jaunâtres. Les bractées externes de l'involucre sont orbiculaires et pubescentes [2].

1.2.4.2. Systématique de la plante

Règne : Plantae

Embranchement: Spermaphytes

Sous- embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotyledones

Sous- classe: Asteridae

Ordre: Asterales

Famille: Aséracées

Tribu: Anthemideae

Sous- tribu: Aremisiinae

Genre: *Artemisia*

Espèce: *Artemisia herba alba* Asso [27]

1.2.4.2. Origine et distribution:

L'*Artemisia herba-alba* est ainsi largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, l'*Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord. Cependant, l'espèce se raréfie dans l'extrême sud [28]

1.2.4.3. Ecologie

Arbrisseau méditerranéen abonde au Moyen-Orient, dans le Sud sur des sables profonds [29].

Elle est rencontrée aussi dans tout le pourtour méditerranéen et se développe fréquemment dans les steppes argileuses, les pâturages rocailleux et terreux des plateaux des basses montagnes des régions sèches et généralement dans les zones à bioclimats aride et semi-aride à variantes chaude, tempérée et fraîche au niveau des étages de végétation thermoméditerranéen et mésoméditerranéen [30].

L'armoise blanche présente une vaste répartition géographique couvrant, en Algérie, environ 4 millions d'hectares et se développe dans les sols tassés relativement peu perméables. Elle se trouve sur les dayas, les dépressions et les secteurs plus ou moins humide. Elle constitue un moyen de lutte contre l'érosion et la désertification [31].

1.2.4.4. Utilisations

Depuis longtemps, l'*Artemisia herba-alba* a été reconnue par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins [32].

Artemisia herba-alba est également utilisé dans la médecine traditionnelle de la région de Badia au nord de la Jordanie, sous la forme d'une décoction contre la fièvre, les problèmes menstruels et nerveux [22]. L'*Artemisia herba-alba* a été également signalé comme remède traditionnel contre l'entérite et diverses

perturbations intestinales chez les bédouins du désert du Néguev. L'huile essentielle de cette espèce était connue pour ses vertus thérapeutiques désinfectantes, anthelminthiques et antispasmodiques. En effet, l'huile essentielle a montré une activité antibactérienne ainsi qu'une activité antispasmodique sur les lapins [33].

En Irak également, l'armoise préparée avec le thé constitue l'une des formes d'automédication contre le diabète non insulino-dépendant (DNID).

En Tunisie, l'armoise est utilisée pour le traitement de la toux, les rhumes, les troubles intestinaux et les maladies neurologiques ainsi comme antidiabétiques [34].

Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent leshmanicide, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, antimalarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique [35].

Par ailleurs, au Maghreb, l'*Artemisia herba-alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant.

1.2.4.5. Composition

La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute. Le taux de β -carotène varie entre 1,3 et 7mg/kg selon les saisons [36]. La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS) [37].

1.2.4.6 .Les huiles essentielles

L'*A. herba-alba* est une espèce riche en huile essentielle qui a été isolée et étudiée pour sa composition chimique. Des études ont révélé un polymorphisme chimique élevé selon l'origine et ont conduit à la définition de plusieurs chémotypes tels que le thujone provenant de l'huile de Jordanie et le camphre provenant de l'huile palestinienne et marocaine. De plus, plusieurs chémotypes peuvent être rencontrés même dans la même origine; quatre

chénotypes incluant p-cymène, camphre, 1,8-cinéole, chrysanthénone ont été trouvés chez l'*A. herba-alba* de l'Espagne et trois différents ont été décrits en Algérie (Tableau1.2). En Tunisie, l'huile essentielle obtenue à partir de l'*A. herba-alba* récoltées dans les régions sud a montré un polymorphisme chimique élevé, étant dominée par des monoterpènes ou des sesquiterpènes ou des pourcentages égaux entre les deux classes [34].

Dans l'huile algérienne, le camphre, α - β -thujones, le 1,8-cinéole et les dérivés de chrysanthenyl étaient les principaux composants. Dans une autre étude, c'est le camphène (3%), le bornéol (3,6%), l'éther davana (8,8%), davanone (36,1%) qui sont les principaux composants.

De plus, L'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes de *A. herba-alba* dans la région de M'sila-Algérie, est principalement composée par le camphre (19,4%), le trans-pinocarveol (16,9%), le chrysanthenone (15,8%) [19].

Tableau1.2: composition chimique des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* selon les pays.

Pays / Partie de la plante	Principaux composants ($\geq 5\%$)
Algérie	
Partie aérienne	Chrysanthenone 5–55, α -thujone t-26, β -thujone 6–16, camphor 6–16, bornyl acetate t-8, 1,8-cineole t-6
Feuilles et tiges	Camphor 19, trans-pinocarveol 17, chrysanthenone 16, β -thujone 15
Partie aérienne	β -Thujone 32–41, camphor 16–25, cineol 0.1–10
Partie aérienne	Chrysanthenone 31–54, camphor 11–27, filifolone 5–9, 1,8-cineole 2–9
Parties aériennes en floraison	Camphor 49, 1,8-cineole 13, borneol 7, pinocarvone 6, camphene 5

Pays / Partie de la plante	Principaux composants ($\geq 5\%$)
Sommités fleuries	cis-Chrysanthenyl acetate 25, α -thujone 8, 2E, 3Z-2-ethyliden-6-methyl-3,5-heptadienal 8, verbenone 7, myrtenyl acetate 7, chrysanthenone 5
Jordanie	
Feuilles, tiges et fleurs	α -Thujone 16, santolina alcohol 13, artemisia ketone 12, β -thujone 9, trans-sabinyl acetate 5, germacrene-D 5, caryophyllene acetate 5
Maroc	
Parties aériennes	Chrysanthenone 31, camphor 24, camphene 5
Parties aériennes en floraison	α -Thujonen.d.74, chrysanthenonen.d. 53, camphor 9–46, β -thujonen.d. 16, borneol t-10, 1,8-cineole 0.3–8, camphene 0.2–8
Espagne	
Feuilles	Camphor 15, 1,8-cineole 13, α -terpineol 6, borneol 5, chrysanthenone 5,
Parties aériennes en floraison	Davanone 18, p-cymene 14, 1,8-cineole 10, chrysanthenone 7, cis-hrysanthenyl acetate 6, γ -terpinene 6, myrcene 5
Tunisie	
Feuilles et fleurs	β -Thujone 18–25, α -thujone 13–23, camphor 9–13, chrysanthenone 7–11, 1,8-cineole 7–9, trans-sabinyl acetate 4–7, terpinen-4-ol 3–5
Feuilles et fleurs	cis-Chrysanthenyl acetate 11, α -thujone, 9, sabinyl acetate 9, davana ether 6, chrysanthenone 5

t : trace (<0.05%).

Source : BELHATTAB., [38]

1.2.4.7. Les composés phénoliques

1.2.4.7.1. Flavonoïdes

Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'*Artemisia herba-alba* sont l'hispiduline, la cirsimarine [39]. Des flavones glycosides comme la 3-rutinoside-quercétine et l'isovitexine ont été mis en évidence chez des chémotypes du Sinaï [40].

Les flavonoïdes détectés dans l'*Artemisia herba-alba* montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et favonols) jusqu'à les flavonoïdes méthylés qui sont très rares. Les flavonoïdes glycosides comprennent des O-glycosides tels que quercitrine-3-glucoside, mais aussi des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia* [39, 40].

Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'*Artemisia herba-alba* sont l'hispiduline, la cirsimarine [39]. Des études menés sur l'*A. herba-alba* recueillies du Sinaï, montrent un total de huit flavonoïdes O- et C-glycosides ont été isolés et identifié. Des flavones glycosides comme la 3-rutinoside-quercétine et l'isovitexine ont été mis en évidence [41, 39]. L'examen des parties aériennes d'*A. herba-alba* recueillies au Liban, ont conduit à l'isolement des deux flavonoïdes; hispiduline et cirsilineol [19]. Une nouvelle flavone, 5,4'- dihydroxy-6,7,3 ' 6,7,3'trimethoxyflavone, a été isolé à partir de l'extrait non glycosidique des parties aériennes de *A. herba –alba* [19].

1.2.4.7.2. Les acides phénoliques :

Les acides chlorogéniques ont été observée chez *A. herba-alba*. Ces acides chlorogéniques inclus, 4,5-O-acide dicaféoylquinique, l'acide 4-O-D-glucopyranosyl-caféique [19].

1.2.4.8. Capacité antioxydante:

Les plantes contiennent souvent une grande variété de molécules antioxydantes, telles que les acides phénoliques, les flavonoïdes et d'autres

antioxydants naturels. L'action antioxydante de l'*A. herba alba* peut expliquer par propriétés médicinales traditionnelles.

L'évaluation de la capacité antioxydante des composés phénoliques par DJERIDANE et al. [42] pour certaines plantes médicinales algériennes, y compris *A. herba-alba*. Ces dernières ont montré une forte activité antioxydante et une teneur en composés phénoliques plus importante que les plantes alimentaires courantes. Il a été également noté dans cette étude que ces plantes algériennes sont de forts piègeurs de radicaux libres et peuvent être considérés comme une bonne source d'antioxydants naturels à des fins médicinales et commerciale.

L'activité antioxydante se retrouve également pour l'huile essentielle d'*A. herba-alba*. Elle est évalué par MIGHRI et ses collaborateurs [43] par trois méthodes différentes : inhibition de l'oxydation du couplée de l'acide linoléique/ β -carotène, le teste du ABTS (2,2'- azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic) et le DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Les résultats ont montré que cette huile présente une faible capacité antioxydants pour la prévention de l'oxydation de l'acide linoléique mais une capacité antioxydante remarquable pour réduire les radicaux DPPH et aussi pour ABTS [43].

Dans une autre étude, l'extrait méthanolique de trois plantes dont l'*Artemisia herba-alba* Asso, ont été testées par deux méthodes (DPPH et ABTS). Cette espèce a donné les meilleurs résultats par rapport à d'autres plantes [44].

1.2.4.9. Toxicité

L'armoise blanche a un effet purgatif en particulier sur les moutons, et peut causer la mort en cas d'excès des jeunes agneaux [45].

La toxicité de certaines populations de l'armoise serait liée à la concentration élevée en thuyone. A forte dose, l'armoise blanche est abortive, neurotoxique et hémorragique [46].

1.2.5. Artemisia campestris

1.2.5.1. Description botanique

A.campestris L. est un sous-arbrisseau vivace pouvant atteindre 30-150 cm de tiges ramifiées et ascendantes qui forment une forme de panicule; il est habituellement brun-rouge et glabre, et acquiert une forme lignifiée dans la partie inférieure et une forme pubescente au sommet [47][2]. Cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux, ne contient que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge, et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre. Les feuilles d'*Artemisia campestris* sont glabres de couleur verte foncée, les inférieures dipinnatiséquées, les supérieures pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée [2].

1.2.5.2. Systématique de la plante

La plante *Artemisia campestris* est classée dans:

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Embranchement: Spermatophyta

Sous embranchement: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous classe: Asteridae

Ordre: Asterales

Famille: Asteraceae

Sous famille: Asteroideae

Tribu: Anthemideae

Sous Tribu: Artemisiinae

Genre: Artemisia

Espèce: *Artemisia campestris* [48]

1.2.5.3 Origine et distribution.

L'*Artemisia campestris* est originaire d'Asie et maintenant est distribué en Amérique du Nord et dans de vastes régions d'Asie et d'Afrique du Nord [48].

Cette plante est une espèce avec une large distribution dans l'hémisphère nord; il présente une large répartition en Eurasie et prédomine les régions arides d'Afrique du Nord [49].

Géographiquement, *A. campestris* L. prédomine dans les régions arides des pays d'Afrique du Nord comme le Maroc, l'Algérie, la Tunisie et en Libye. Il pousse dans des prairies sèches de l'Europe centrale et méridionale ; cette plante est considérée comme une plante rudérale, dans les terres sèches et perturbées du sud de l'Espagne. Elle accompagne la végétation dominante dans les prairies xérophiles de la République tchèque et pousse sur les sols graveleux près des rivières Tammaro et Caloreen Italie, tandis qu'au Japon, elle pousse spontanément dans le littoral des îles Ryukyu [49].

1.2.5.4. Ecologie

Sur le plan écologique, l'*A. campestris* L. est capable de prospérer dans une très large gamme d'habitats écologiques, des broussailles thermo-méditerranéennes aux zones montagneuses et des zones sahariennes aux zones humides [50]; il a également été rapporté que cette espèce peut être trouvée dans l'étage bioclimatique supra-méditerranéen [51]. Il préfère les habitats ouverts comme les prairies, les clairières forestières et les lisières de forêt, et il pousse principalement sur des sols secs [52].

1.2.5.5. Utilisations :

Artemisia campestris est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies.

L'*A.campestris* L. est couramment utilisé comme anthelminthique et comme traitement pour les problèmes cutanés, respiratoires et digestifs dans de nombreux pays comme le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, le Libye, l'Espagne, la Turquie, l'Italie, la Serbie, l'Inde, l'Argentine, Canada et les États-Unis.

Il est utilisé comme antidiabétique et antihypertenseur, anti-inflammatoires, anti-venin, fébrifuge, analeptique. Également il est utilisé pour traiter les troubles urinaires, rénaux et hépatiques et il est recommandé dans le traitement des maladies oculaires. Aussi, Il est largement utilisé comme emménagogue en particulier en soins post-partum [49].

En plus de leurs utilisations traditionnelles, l'*Artemisia campestris* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes : activité antimicrobienne, antioxydante, cytotoxique, insecticides [48].

1.2.5.6. Composition

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols dont les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines et les huiles essentielles [53, 54].

1.2.5.6.1. Les huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles d'*A. campestris* est très variable selon la zone de récolte. Ainsi, Il existe plusieurs chémotypes (Tableau1.3).

En Algérie, les principaux composants de l'HE d' *A. campestris* L. qui ont été identifiés sont : le β -pinène (25,6%), l' α -terpényle acétate (18,8%), l' α -pinène (18,4%), le sabinène (17%), (Z, E) -farnesol (10,3%), camphre (9,2%), camphène (7,7%), limonène (6,6%), cédrol (5,4%), bornéol (5,2%), p-cymène (4,1%) et verbénone (3,8%) [59] [60] [61].

Tableau1.3 : la composition chimique des huiles essentielles d'*A.campestris* selon le pays d'origine

Pays	Composants majoritaires	Référence
Tunisie	β -pinène (24-49,8%), p-cymène (2,3-22,3%), α -pinène (4,1-12,5%), camphre (10,3%), spathuléol (1,2-10%), γ -muurolène (0,5- 9,6%), limonène (4,9-9,3%), germacrène D (7,3%), (ar) -curcumène (6,9%), α -cubébène (6,6%), γ -terpinène (2,2-6,5%), β -eudesmol (1-6,4%), myrcène ou β -myrcène (1,4-6%), (Z) - β -ocimène (1,8-5,5%), acétate de géranyle (5%), (E) - β -ocimène (4,3%) et (Z) - β -farnésène (2,9- 4,2%)	[62] [63] [64] [65] [66]
Tunisie	β -pinène (41.1%), p-cymene (9.9%), α -terpinene (7.9%), (Z)- β -ocimene (6.7%), limonène (6.5%) et myrcene (4.1%)	[67]
Portugal	β -pinène (17,8%) et cadin-4-ène-7-ol (16,4%), γ -terpinène (8,7%), cis- β -ocimène (7,4%), aromadendrène (6,7%), δ -cadinène(5,1%) et le limonène (4,2%)	[68] [69]
France	γ -terpinène (20,8-46,5%), capillène (8,9-33,1%), 1-phényl-2,4-pentadiyne (16,2-29,7%), spathuléol (11,3%), O-méthyleugénol (4,5-6,6%), 1-phényl-2,4-pentadiynone (6%) et p-cymène (4,5%).	[53]
France	capillène (49,1%), le γ -terpinène (23%) et le 1-phénylpenta-2,4-diyne (18,1%)	[70]
Italie	β -pinène (6,9-57,2%), germacrène D (5,9-28,6%), bicyclogermacrène (3,9- 14,5%), myrcène (3,8-11,2%), α -pinène (5,3-9,2%), α -bisabolol (3,2%) -7%), le méthyleugénol (3,7-6,9%), le limonène (4-6,7%), le spathuléol (4,1-6,6%), le viridiflorol (4,1-6,6%), le (E, E) - α -farnésène (5- 5,9%), le (E) - β -ocimène (4,9-5,4%) et l' α -humulène (4,8%)	[71]
Pologne	(Z) -falcarinol (19-38,8%), D (9,7-28%) , γ -humulène (4-8,2%), (E) - β -caryophyllène (4,1-6,5%), Germacra-4 (15), 5,10 (14) -triène-1 α -ol (4,2 -5,5%).	[72]

Pays	Composants majoritaires	Référence
Lituanie	oxyde de caryophyllène (3,7-38,8%), germacrène D (3,8-31,2%), γ -curcumène (4-14,8%), β -pinène (3,9-13,8%), α -pinène (4-11,4%), époxyde d'humulène II (3,7-11,7%), β -silène (6,5-10,8%), β -caryophyllène (3,8-10%), spathuléol (4-9,7%), (E, E) - α -farnésène (5,7-9,4%) , β -ylangene (3,7-8,3%), β -elemene (3,8-7,6%), eudesma-4 (15), 7-dien-1 β -ol (0,1-7,1%), junenol (4,6-6,1%) , cis-pinane (6%), (Z) - β -farnésène (3,8-5,6%), α -cadinol (4,1-7,4%), germacra-4 (15), 5 (10), 14-triène-1 α -ol (4-6,3%), α -humulène (5%), limonène (5%), (E) - β -ocimène (4,5%), sabinène (4,2%), épi- α -muurolol (4,1%) ; δ -cadinène (0,2-3,8%)	[73] [74]
Iran	le spathuléol (15,8-29,2%), l' α -pinène (23-29,2%), le β -pinène (4,5-12,6%), bicyclogermacrène (9,1-12%), (Z) - β -ocimène (3,2-6,8%), germacrène D (5,3-6,6%), limonène (3,4-6,3), p-cymène (4,8%) et (E) - β -ocimène (3,9%)	[75]
Turquie	trémétone (15,83%), capilline (10,38%), spathuléol (6,47%), β -pinène (6,31%), méthyl-eugénol (5,49%), α -thujone (4,78%) et p-cymène (3,75%)	[76]

1.2.5.6.2. Composition phénolique

Parmi les polyphénols, les flavonoïdes sont généralement les plus répondu chez les plantes.

1.2.5.6.2.1 Flavonoïdes.

L'*A. campestris* L. contient une grande quantité de flavones, tels que: chryssine, apigénine, hispiduline, cirsimaritrine, ficine, isoficine, lutéoline, eupafoline, cirsilol, cirsilineol, eupatorine. D'autre part, les flavonols est principalement représentée par le kaempférol et ses dérivés (7-O-méthyl-kaempférol, 3,7-O-diméthyl-kaempférol, 3,7,4'-O-triméthyl-kaempférol, 3-rhamnoside kaempférol, 3-rutinoside kaempférol), par la quercétine et ses dérivés (quercétagétine, isorhamnétine, rhamnétine, tamarixétine) et par myricétine et ses dérivés (laricitrin, mearnsetin) [55] [42][56][9][57] .

1.2.5.6.2.2. Acides phénoliques

RIEDEL et al. [58] ont découvert que les cellules en culture issues de la germination des graines d'*A. campestris* L. sont riches en acides phénoliques tels que l'acide chlorogénique, l'acide transérulicique, l'acide 4-méthoxycinnamique,

l'acide vanillique et les acides isochlorogéniques A, B et C. D'autres études menées, en Algérie et en Tunisie, sur les extraits alcooliques et aqueux d'*A.campestris* ont montré que ces préparations contiennent des acides caféiques et des acides isochlorogéniques A, B et C [9] [57] [42].

1.2.5.7. Activité antioxydante

La partie aérienne d'*Artemisia campestris* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique [76].

En Algérie, l'huile essentielle et les extraits phénoliques obtenus à partir des feuilles d'*A. campestris* L. ont montré une activité piègeuse importante contre le radical DPPH; cette activité semble être plus efficace si l'on se réfère au BHT standard [78]. De même, l'extrait d'acétate d'éthyle de la partie aérienne a montré une activité de piégeage des radicaux élevée ; cependant, cet effet est inférieur à celui de la rutine standard [79].

Dans une étude faite par ANIYA et al [80] l'activité antioxydante d'*Artemisia campestris* a montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante élevée.

KARABEGOVIC et al [56] qui ont étudiés l'effet antioxydant de trois extraits méthanoliques obtenus par différentes techniques d'extraction à partir des parties aériennes d'*A. campestris* en Bulgarie confirment que les extraits ont relativement le même potentiel de piégeage vers le radical DPPH avec une CI50 allant de 19,8 à 23 µg / ml.

Alors que AKROUT et al [66] qui ont étudié l'activité antioxydante d'*Artemisia campestris* (huile essentielle, extrait aqueux, extrait éthanolique 50%) en comparant trois méthodes d'analyses: la méthode de DPPH, la technique de décoloration du β-carotène et la méthode d'ABTS, ils ont mis en évidence que l'huile d'*Artemisia campestris* possède une faible activité antioxydante, alors que

les extraits aqueux et organique montrent une activité antioxydante plus élevée en comparaison à celle de l'huile essentielle.

1.2.5.8. Toxicité

Des tests de toxicité aiguë de l'extrait aqueux de feuilles d'*A. campestris* L., collectés en Tunisie, ont été évalués sur des souris. 24 heures après l'administration intrapéritonéale de l'extrait, une dépression générale et une constriction abdominale ont été observées et la valeur moyenne de la dose létale médiane (DL50) a été équivalente à 2,5 g / kg de poids corporel [81].

D'autre part, des signes marqués d'intoxication, comme l'irritation des voies digestives et la diarrhée, outre une protéinurie et une hématurie, ont été observés lorsque de grandes quantités de jeunes pousses d'*A. campestris* L. ont été ingérées par des dromadaires et des chèvres en Tunisie [82].

CHAPITRE 2

SUBSTANCES ACTIVES DES PLANTES : HUILES ESSENTIELLES ET COMPOSES PHENOLIQUES

CHAPITRE 2 : SUBSTANCES ACTIVES DES PLANTES : HUILES ESSENTIELLES ET COMPOSES PHENOLIQUES

2.1. Généralité sur les métabolites secondaires

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leurs capacités à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils s'accablent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire [83].

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes qui ne sont pas impliqués dans les processus biochimique de la croissance et de la reproduction des plantes [84]. Ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, la concurrence entre les plantes et le stress abiotique comme dessiccation et radiation UV [85]. Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées [86].

2.2. Les polyphénols

2.2.1. Définition

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues [87].

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel il est directement lié au moins à un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside [77]. Ce sont des pigments généralement

responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruit (jaune, orange, rouge). Ils sont présent partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Par ailleurs, les polyphénols font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale. Les principales sources alimentaires sont les fruits, légumes et les céréales...etc [88].

2.2.2. Classification

Selon CHIRA [89] les polyphénols peuvent être répartis en deux classes majeures : les flavonoïdes et les non flavonoïdes.

2.2.2.1. Les non flavonoïdes

Cette classe contient plusieurs composés chimiques, parmi lesquels : les acides phénoliques, les stilbenes hydroxylés, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones.

2.2.2.1.1. Les acides phénoliques

Sont les principaux polyphénols alimentaires [90], ils sont présents dans tous les fruits et les légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale de l'alimentation en polyphénols [91].

Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés organiques naturels avec un large spectre d'activités pharmacologiques, ils possèdent des propriétés non seulement antioxydantes, mais également des propriétés antivirales et antibactériennes. L'activité antioxydante est généralement combinée avec des groupes hydroxyles trouvés dans leurs molécules [92].

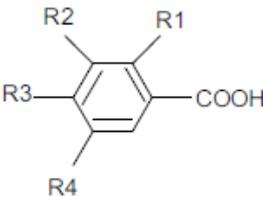
Les acides phénoliques existent sous deux formes: dérivés de l'acide benzoïque et dérivés de l'acide cinnamique [90].

2.2.2.1.1.1. Les acides hydroxybenzoïques C6-C1

Les acides hydroxybenzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type (C6-C1) [1]. Les variations dans les structures de l'acide hydroxybenzoïque individuel se trouvent dans l'hydroxylation et la

méthylation du cycle aromatique [93] (Tableau 2.1). Sept acides benzoïques sont connus: acide p-hydroxy benzoïque, acide protocatéchique, vanillique, gallique, syringique, salicylique et gentisique [94].

Tableau 2.1 : Principaux acides hydroxybenzoïques [95]

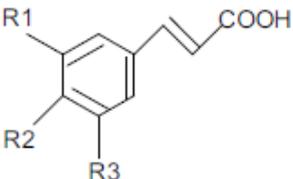
Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

2.2.2.1.1.2. Les acides hydroxycinnamique C6-C3

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante des polyphénols, dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique : L'acide p-coumarique, caféique, férulique, et l'acide sinapique [83] (Tableau 2.2).

Le composé le plus courant est l'acide caféique qui représente à lui seul 75 à 100% des acides hydroxycinnamiques totaux de la plupart des fruits [96]. Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique, et son éventuelle modification par des réactions secondaires, sont des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules [83].

Tableau 2.2 : Principaux acides hydroxycinnamiques [95]

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

2.2.2.1.2. Les lignines

Les lignines sont des polymères principaux composants du bois avec la cellulose et l'hémicellulose, leurs principales fonctions sont d'apporter de la rigidité, une imperméabilité à l'eau et une grande résistance à la décomposition [97]. Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane et entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, fortement plus concentrés dans les graines de lins [98].

2.2.2.1.3. Les stilbènes C6-C2-C6

Les stilbènes font partie d'un groupe très vaste des polyphénols, celui des dérivés de l'acide cinnamique (phénylpropanoïdes). Ils sont présents dans toutes les sources végétales [99]. La structure chimique de base des stilbènes est composée de deux cycles aromatiques joints par un pont méthylène (C6-C2-C6). Les deux formes isomères des stilbènes (cis et trans) ont des propriétés chimiques et biologiques différentes [94] (Figure 2.1).

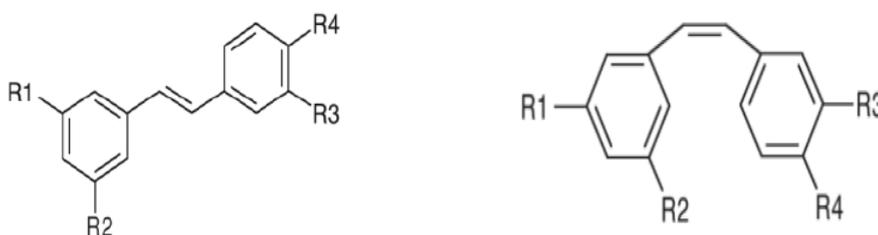


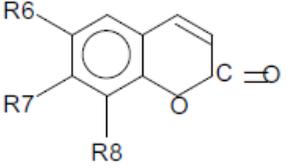
Figure 2.1 : structure de base des stilbènes (tran ou cis) [94].

2.2.2.1.4. Les coumarines C6-C3

Les coumarines ont une structure de base (C6-C3) dérivant des acides orthohydrocinnamiques [94]. Différents dérivés coumariniques ont été isolés, habituellement, les substituants sont dans les positions C5, C6, C7 et C8 (par ex : l'ombelliférone, L'hierniarine, l'aesculétine, la scopolétine, l'osthenol, l'osthol...) [92] (Tableau 2.3).

Les coumarines sont des composés aromatiques naturels, largement distribués dans le règne végétal, ils inhibent la croissance et la sporulation des champignons et autres microorganismes qui sont pathogènes pour les plantes [100].

Tableau 2.3 : Principaux types de coumarines [83]

Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

2.2.2.1.5. Les xanthones C6-C1-C6

La structure chimique d'un xanthone est constituée d'un système cyclique conjugué composé de carbone 1-4 (cycle aromatique A) et de carbone 5-8 (cycle aromatique B) [101] (Figure 2.2), et d'un système à trois anneaux qui contient plusieurs groupes fonctionnels comprenant l'isoprène, le groupe méthoxy et les groupes phényles, ainsi que des protons aromatiques, des groupes hydroxyle phénoliques, des protons hydroxyle, et les anneaux dihydrofuranne [102].

Les xanthones peuvent être brièvement classés en cinq groupes dont xanthone simple oxygéné, prénylé, glycosides xanthone, xanthonolignoids et divers xanthones [103], la diversité structurale et les propriétés chimiques des xanthones peuvent jouer un rôle majeur dans la prévention, y compris les activités anti-inflammatoires, antioxydantes, et anticancéreuses [102].

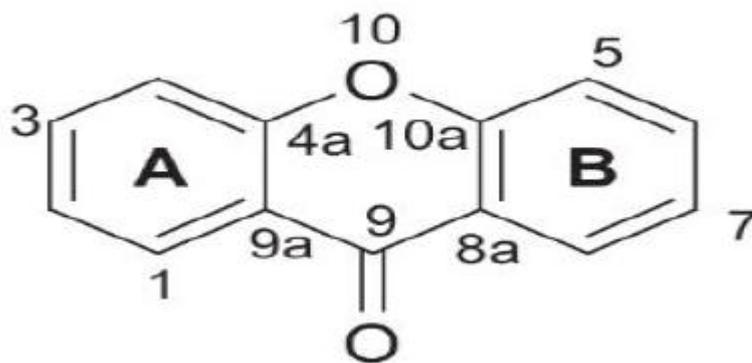


Figure 2.2 : Structure de xanthone [101].

2.2.2.2. Flavonoïdes

2.2.2.2.1. Définition

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents [104] et distribués de manière générale, dans toutes les plantes vasculaires.

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes [105].

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc. Aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal [106].

2.2.2.3. Distribution

Dans la plupart des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosidique dans les vacuoles des fleurs, des feuilles, des tiges ou des racines. Les flavonoïdes aglycones, notamment les flavonoïdes simples et polyméthylés,

sont plutôt présents sous forme de cires dans les feuilles, les écorces, les bourgeons floraux [112].

2.2.2.4. Structure

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) [107] (Figure 2.3).

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 [27] en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule [109, 110]

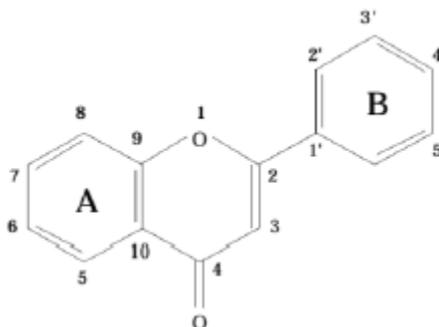


Figure 2.3 : Structure de base des flavonoïdes [107]

2.2.2.5. Classification

Les Principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes, ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle [111].

Les principaux groupes de flavonoïdes (Tableau 2.4, Figure 2.4) peuvent être définis et différenciés comme suit:

2.2.2.2.4.1. Les flavanones

Les flavanones sont caractérisés par la présence d'un hétérocycle saturé à trois carbones en chaîne et un atome d'oxygène dans la C4. Ils sont généralement glycosylé par un disaccharide en C7. Les flavanones sont présents en haute dans les agrumes, mais ils sont également trouvé dans les tomates et certaines plantes aromatiques tels que la menthe [114].

Environ 350 flavanones aglycones et une centaine de flavanones glycosylées sont décrites dans de nombreuses familles, en particulier les Asteraceae, les Leguminoaseae et les Rutaceae. Beaucoup de flavanones aglycones sont retrouvées à l'état libre dans les écorces, les racines, les écorces de racine, en particulier chez les Leguminoaseae. La majorité des flavanones glycosylés sont des Oglycosides [112].

2.2.2.2.4.2. Les Flavonols

Appartiennent à la sous famille des flavonoïdes, dans lesquels le cycle c'est un hétérocycle saturé avec un groupe hydroxyle en position 4. Ils peuvent avoir un groupe OH ou OCH₃ en haut à trois positions dans le noyau B [115].

Tableau 2.4 : Différentes classes des flavonoides [119]

Flavonoïdes	3	5	6	7	8	2'	3'	4'	5'	6'
<u>Flavones</u>										
Apigénine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Diosmétine	H	OH	H	OH	H	H	OH	OMe	H	H
Lutéoline	H	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>Flavonols</u>										
Fisétine	OH	H	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
Kaempférol	OH	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Morine	OH	OH	H	OH	OH	H	OH	OH	H	H
Myricétine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	OH	H
Quercétine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>Isoflavones</u>										
Dadzéine	H	H	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Genstéine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Orobol	H	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<u>Flavanones</u>										
Hespérétine	H	OH	H	OH	H	H	OH	OMe	H	H
Liquiritgénine	H	H	H	OH	H	H	H	OH	H	H
Naringénine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H

<u>Flavanonols</u>											
Taxifoline	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H	
<u>Anthocyanidines</u>											
Cyanidine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H	
Delphinidine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	OH	H	
Malvidine	OH	OH	H	OH	H	H	OMe	OMe	OMe	H	
Pelargonidine	OH	OH	H	OH	H	H	H	H	H	H	
<u>Chalcones</u>											
Buteine	OH	H	H	H	H	OH	H	OH	H	H	
Okonine	OH	H	H	H	H	OH	OH	OH	H	H	
<u>Aurones</u>											
Maritimetine	H	H	OH	OH	H	H	OH	OH	H	H	
Leptosidine	H	H	OH	OMe	H	H	OH	OH	H	H	
<u>Biflavonoïdes</u>											
Amentoflavone	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H	
	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H	
<u>Hétérosides flavoniques</u>											
Lecontine	O-glu	H	H	OH	H	H	H	OH	H	H	
Cytisotide	H	OH	H	OH	C-glu	H	H	OMe	H	H	

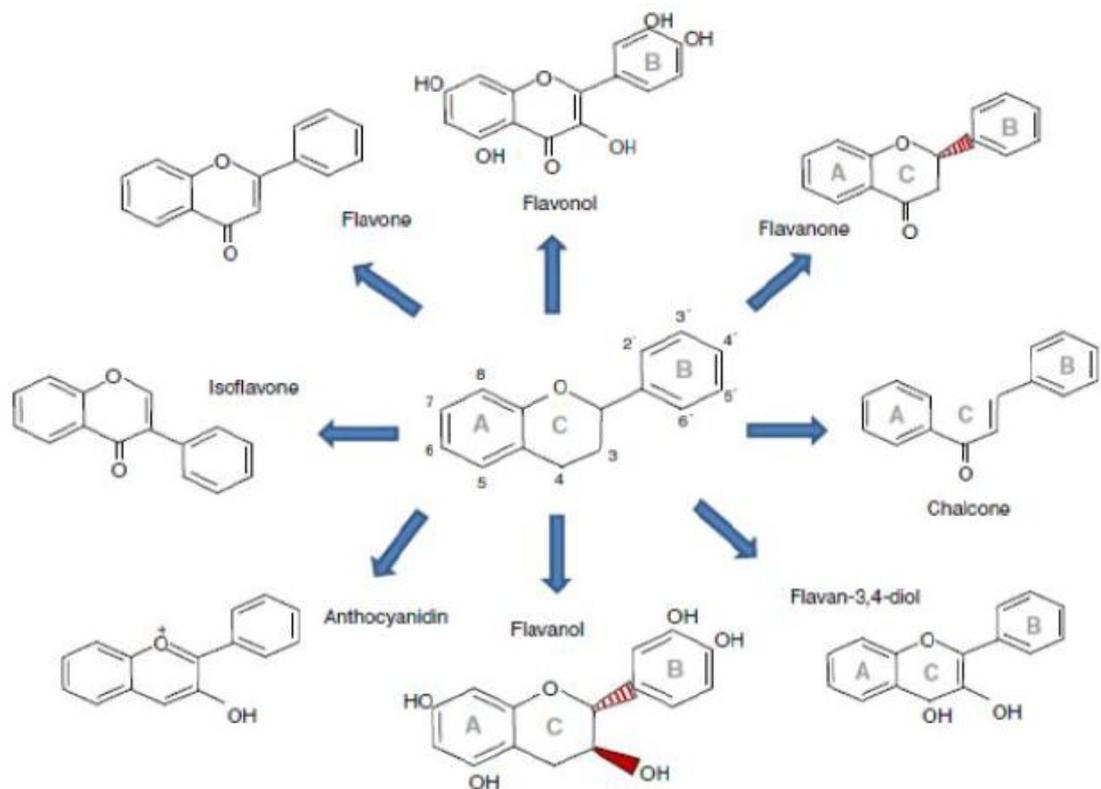


Figure 2.4 : Les structures chimiques des principales familles des flavonoïdes [113].

2.2.2.2.4.3. Les flavones

Les flavones sont structurellement très proches des flavonols, la différence provenant de l'absence de l'hydroxyle en C3. Il existe aussi de très nombreuses substitutions des flavones, telles que l'hydroxylation, la méthylation, les O- et C- alkylation et glycosylation. Les flavones étant principalement trouvés sous forme de glucosides [89].

2.2.2.2.4.4. Les isoflavonoïdes

Les isoflavonoïdes diffèrent des autres flavonoïdes par la position du cycle B, qui dans le cas des isoflavonoïdes est attaché en position 3 (en 2 pour les autres flavonoïdes), formant un squelette de base 1,2-diphénylpropane. Il existe de nombreuses sous-classes d'isoflavonoïdes (Figure 2.5), classés notamment en fonction du degré d'oxydation, l'existence ou non d'hétérocycles supplémentaires, les plus communs étant les isoflavones, alors que les isoflavanols et les coumaranochromones sont peu rencontrés [112]. Les dérivés glycosylés sont très communs chez les isoflavones, alors qu'ils sont très rares dans les autres sous-classes d'isoflavonoïdes. Les C-glycosides sont essentiellement présents dans le genre *Dalbergia* (Leguminosae) [112].

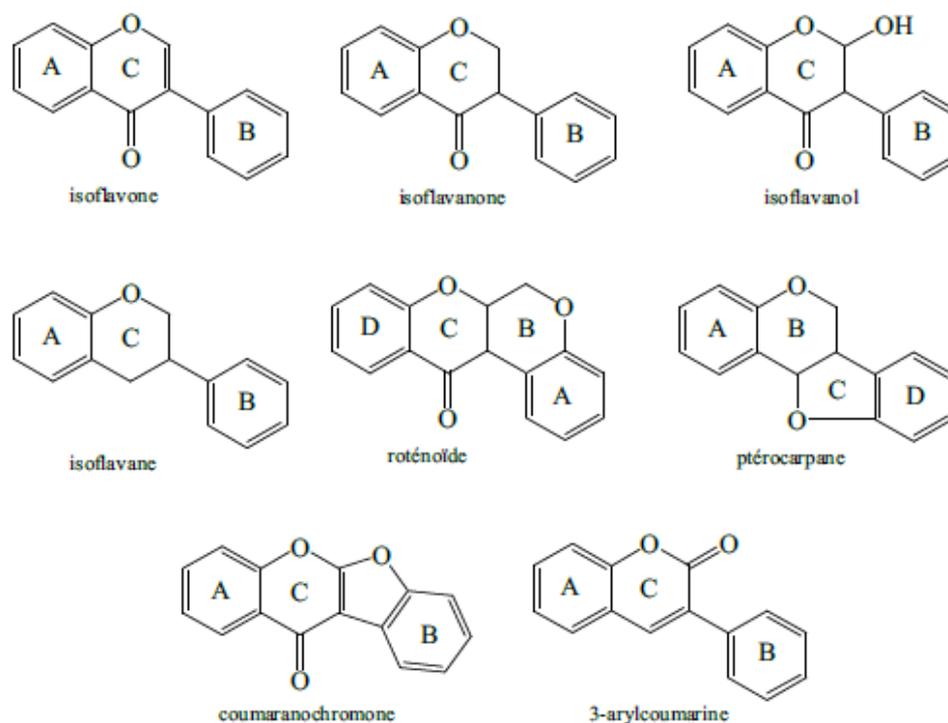


Figure 2.5 : Structures des différentes sous-classes d'isoflavonoïdes [112]

2.2.2.2.4.5. Les anthocyanes

Les anthocyanes (en grec anthos fleur et cyan bleu) [116] sont des métabolites secondaires de la famille des flavonoïdes, produits par les angiospermes. Ce sont des pigments colorés responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des grains [117], mais aussi jouent un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes dans la dispersion des grains [118].

Les anthocyanes possèdent une structure de base, le 2-phényl-1benzopyriliium (cation flavylium) constituée de trois cycles aromatiques, responsable du pouvoir absorbant (chromophore). Cette structure porte plusieurs fonctions hydroxyles dont l'une est glycosylée par des différents oses (glucose, galactose, arabinose), omigosides ou hétérosides [117]

2.2.2.2.4.6. Les lignanes

Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane. Bien qu'ils entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, ils sont environ 1000 fois plus concentrés dans les graines de lins [98].

2.2.2.2.4.7. Chalcones et aurones

Les chalcones ont leur noyau pyranique central ouvert et sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tri carbonée, cétonique et insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes. Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumarone [77].

2.2.2.2.4.8. Les tannins

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour «tanner» les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir [121].

Les tanins sont des composés polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 [122]. Ce sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux [123].

Des études ont montré que des nombreux tannins présentent des propriétés antioxydants. Ces composés présentent une grande capacité de piégeage des radicaux libres et aussi dans l'inactivation des ions prooxydants [77].

Selon leurs structures biochimiques, on distingue deux classes de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

2.2.2.2.4.8.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol (Figure 2.6). Le sucre est très généralement le glucose. L'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques. Soit l'acide hexahydroxy diphénolique, dans le cas des tanins classiquement dénommés tanins ellagiques [77].

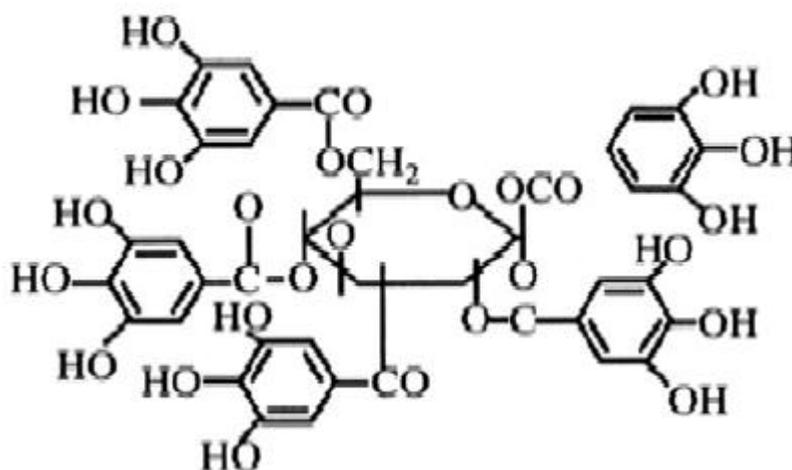


Figure 2.6 : Structure de tanins hydrolysable [124].

2.2.2.2.4.8.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés (Tannins vrais ou tannoïdes) résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leucoanthocyanidines) (Figure 2.7). Les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables. Les tannins condensés sont également appelés proanthocyanidines ; en effet leurs oxydation en milieu alcool-acide à chaud entraîne la formation de pigments anthocyanique tels que cyanidine et delphinidine. Ce type de molécules dotées de propriétés remarquables chez les plantes qui en sont pourvues [125].

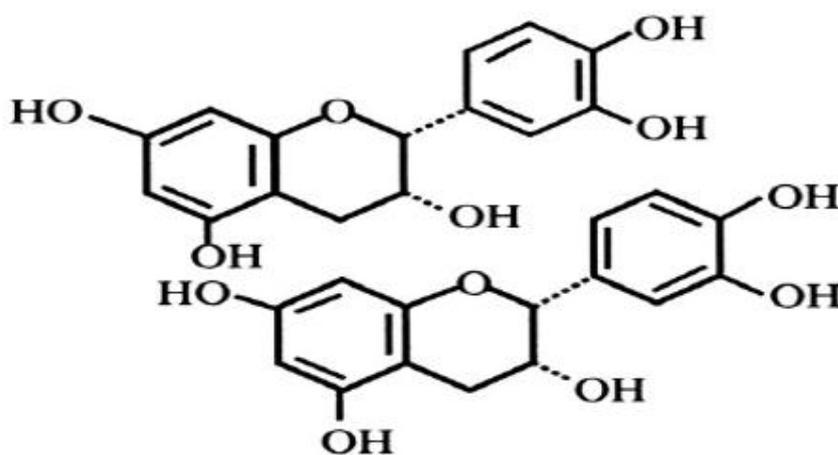


Figure 2.7 : Structure de tanins condensés.

2.2.2.2.5. Biosynthèse des flavonoïdes

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun qui est la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Le passage de chalcone en flavonoïde se fait par plusieurs étapes comme la méthylation, la glycosylation et l'acylation (Figure 2.8). L'enzyme clé de la biosynthèse c'est la chalcone synthase (CHS) qui catalyse la condensation de trois unités acétate à partir de malonyl-COA avec la 4-coumaroyl-COA. L'isomérisation des chalcones par la chalcone isomérase (CHI) conduit à la formation des flavanones. Ces derniers vont subir soit une oxydation par la flavone synthase (FS) et donnent les flavones, soit une réduction par la flavanone réductase (FNR) et donnent des flavanols. Tandis que l'hydroxylation des flavanones par la flavanone-3-

hydroxylase (F3H) donne des dihydroflavonols qui peuvent s'oxyder en flavonols par la flavonol synthase (FLS) [120].

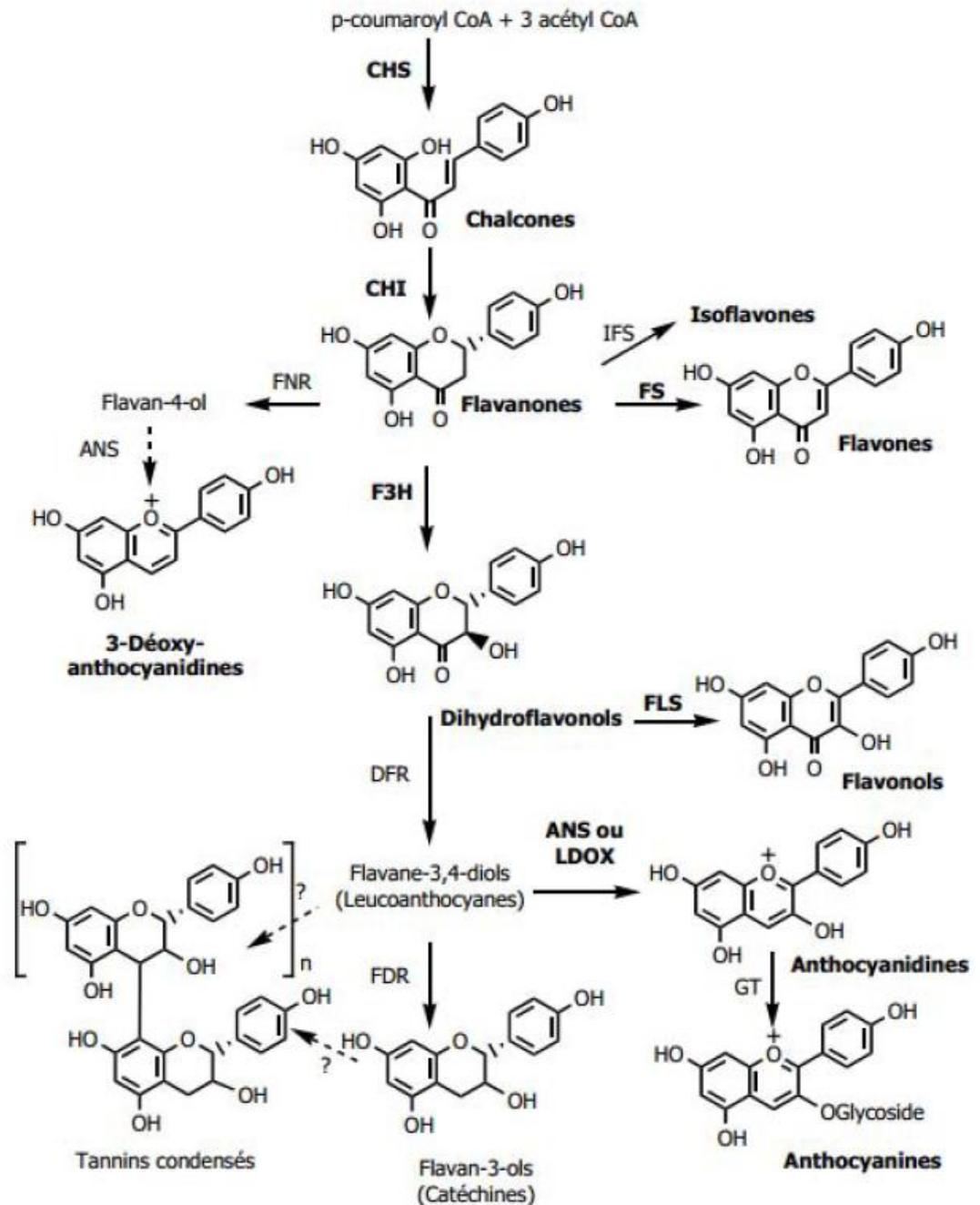


Figure 2.8 : Schéma récapitulatif de la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes [120]

CHS: chalcone synthase; CHI: chalcone isomérase; FS: flavone synthase; IFS: isoflavone synthase; FNR: flavanone réductase; F3H: flavanone-3-hydroxylase;

FLS: flavonol synthase; DFR: dihydroflavonol réductase; ANS: anthocyanidine synthase; GT: glucosyl transférase.

2.2.2.2.6. Répartition des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois, Certains flavonoïdes sont spécifiques de certains tissus, leur fonction principale est la pigmentation des plantes. Les anthocyanes localisés dans les parties externes des fruits, des fleurs et des feuilles, sont les seules molécules du règne végétal, capables de produire une vaste gamme de couleurs susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge.

Quant aux chalcones, elles se trouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Les flavones, les aurones et les chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beige voire blanche et participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes [126].

2.2.3. Propriétés biologique et intérêt des polyphénols

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs propriétés et ces effets bénéfiques sur la santé des êtres humains ou chez les végétaux.

2.2.3.1. Chez les végétaux

Le rôle des flavonoïdes dans le monde végétal s'inscrit dans un contexte très large de relations entre une plante et son environnement assurées par des métabolites secondaires. Leur rôle attractif ou répulsif des pollinisateurs est attribué à la couleur, la forme, l'odeur et le goût des fleurs. Les flavonoïdes sont avec les chlorophylles et les caroténoïdes les principaux facteurs de la coloration des plantes car ils agissent comme co-pigments [119].

Ils jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en particulier contre les radiations UV, le stress oxydatif, les

attaques microbiennes [127]. Ils sont impliqués aussi dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits [128].

2.2.3.2. Chez l'être humain

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension. Cela peut-être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies [129].

Les polyphénols montrent des activités anticancéreuses, antivirales, antibactériennes [129], antiallergique, antiathérogène, antioxydant, anti-inflammatoire, antithrombotiques, cardioprotecteur et les effets vasodilatateurs [130].

Les flavonoïdes sont des composés biologiquement actifs, possédant une activité chimio-préventive potentielle contre une large variété de maladies chroniques. Citons par exemple l'apigénine qui est un flavonoïde diététique présent de façon abondante dans les fruits et les légumes et possédant une prévention thérapeutique contre plusieurs maladies cardiovasculaires ainsi que le cancer. D'autres flavonoïdes comme l'Eriodictyol, le Kaempférol, la Lutéoline, la rutine et la Taxifoline sont bénéfiques pour les cellules des neurones contre le stress oxydatif [119].

2.2.3.3. Activité antioxydante

HALLIWELL [131] confirme que les polyphénols sont connus par leurs activités antioxydantes. L'activité antioxydante des polyphénols peut se faire par piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces polyphénols peuvent agir aussi par deux autres mécanismes d'actions : un premier consiste à l'inhibition des enzymes pro-oxydantes et la chélation des ions métalliques et un deuxième consiste à la protection des systèmes biologiques de défenses antioxydantes. L'étude de HALLIWELL a montré que l'activité antioxydante des polyphénols est déterminée par leurs structures, en particulier la position des

groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques et la capacité des composés aromatiques à supporter une délocalisation électronique.

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes (O_2^-) et radicaux peroxylipidiques.

Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$). En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales [132]

2.3. Les huiles essentielles

2.3.1. Introduction

Les plantes de façon générale et aromatiques en particulier, se caractérisent par deux types de métabolismes : primaire fournit les constituants de base en quantité élevée. Les plus importants sont les sucres et leurs dérivés, les lipides et les protéines. Le métabolisme secondaire produit des métabolites en faible quantité, mais dont les applications dans différents domaines, en particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance. Les huiles essentielles ou essences, font partie de ce groupe de métabolite avec les alcaloïdes et les phénols.

2.3.2. Définition

Une huile essentielle est définie comme le produit obtenu d'une plante ou certaines parties de celle-ci par hydrodistillation, distillation à la vapeur ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage [133]. Les huiles essentielles peuvent être synthétisés par tout organe végétal (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines) et stockés dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des

trichomes glandulaires [134, 135]. Elles ne représentent qu'une petite fraction de la composition de la plante néanmoins, elles confèrent les caractéristiques par lequel les plantes aromatiques sont utilisées dans l'alimentation, le domaine de la cosmétologie et les industries pharmaceutiques [136].

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante.

Les HE doivent répondre à des critères physiques imposés par les normes. En effet, elles sont liquides à température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité est inférieure à celle de l'eau, volatiles, insolubles dans l'eau, rarement colorées, et solubles dans les huiles végétales, dans l'alcool [137].

2.3.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les H.Es n'existent quasiment, que dans les végétaux, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques. [138], [77], [140,141].

- Fleurs : oranger, rose, lavande, le bouton floral (girofle)....
- Feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge....
- Fruits : fenouil, anis, épicarpes des Citrus...
- Tiges : citronnelles,...
- Rhizomes et racines : gingembre, vétiver, iris,...
- Graines : noix de muscade, coriandre,....
- Bois et écorces : cannelle, santal, bois de rose

Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule.

Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace

intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air [142][77].

2.3.4. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Auparavant, les huiles essentielles étaient considérées comme étant des résidus du processus du métabolisme de la plante [143]. Mais en utilisant la technique du marquage radioactif du dioxyde de carbone «CO₂», de l'acide mévalonique et des terpènes, les chercheurs ont montré que l'huile essentielle peut fournir un groupe métabolique pour la synthèse des composés indispensables de la plante tels que : les pigments, le sucre, les aminoacides et même certaines coenzymes de la respiration [144].

Les travaux réalisés sur la menthe poivrée et la sauge montrent que les monoterpènes se transforment en composés pouvant être utilisés dans la biosynthèse des lipides pour le développement des racines et du rhizome ou encore oxydés durant la production de l'énergie [145]. La résistance au froid des jeunes plantes de différentes espèces d'eucalyptus poussant en Floride (USA) est associée à l'augmentation de la teneur en α -phéllandre et en p-cymène dans le feuillage [146].

Il est évident que les H.Es possèdent un rôle écologique. Par leur odeur, elles interviennent dans la pollinisation. Ainsi, elles jouent un rôle attractif ou répulsif vis-à-vis des prédateurs (herbivores, insectes...) [147]. Elles peuvent paralyser les muscles masticateurs des agresseurs par les propriétés toxiques et inappétentes des substances qu'elles contiennent [148].

Elles protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et des champignons. Elles empêchent la dessiccation de la plante (perte d'eau) par évaporation excessive et protègent la plante contre la lumière soit par diminution ou concentration.

Par ailleurs leurs composés interviennent dans les réactions d'oxydo-réduction, comme donneurs d'hydrogène. Par exemple l'isoprène réagit rapidement avec l'ozone et les radicaux hydroxyles. Aussi, elles émettent l'excès de carbone et d'énergie

2.3.5. Méthodes d'extraction

Il existe différentes techniques d'exploitation des plantes aromatiques, les plus connus sont la distillation à la vapeur d'eau, l'expression à froid, l'extraction par les solvants et par les graisses [149] et l'extraction au CO₂ en phase supercritique [150]. Le choix du procédé d'extraction influe directement sur la qualité des produits et sur le rendement de l'extraction. À l'échelle industrielle, le procédé le plus employé reste la distillation à la vapeur d'eau.

2.3.5.1. La distillation

C'est le procédé le plus ancien et le mieux adapté pour extraire les essences des végétaux aromatiques. La méthode est basée sur la distillation des composés volatils et de l'eau simultanément à une température inférieure à 100°C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures. Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'hydrodistillation, l'hydro diffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau [151].

2.3.5.2. L'expression

Cette technique s'adresse essentiellement aux agrumes (citron, pamplemousse, oranger,...). Elle consiste à presser mécaniquement les zestes de ces agrumes pour extraire des poches sécrétrices une substance appelée : essence. L'expression des citrons, par exemple, s'effectue à froid : les zestes sont râpés sous jet d'eau, l'émulsion eau et essence est séparée par

centrifugation ; on parle ainsi d'essence de citron et non d'huile essentielle de citron car les agrumes ne peuvent être distillés. La conservation de cette essence s'effectue au frais, car la chaleur déstabiliserait celle-ci [152].

2.3.6. Facteurs de variabilité

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine.

Des travaux de recherche ont montré que la composition chimique des huiles essentielles est très fluctuante. En effet, elle dépend d'un grand nombre de facteurs d'ordre naturel (génétique, localisation, maturité, sol, climat, etc...) ou technologiques (mode de culture ou d'extraction d'huile essentielle de la plante) [137].

2.3.6.1. Diversité selon la localisation

La proportion des différents constituants de l'huile essentielle d'une espèce donnée varie en fonction des zones de récolte.

En Tunisie, RIAHI et al., [154] ont étudié la variation de la composition chimique des huiles essentielles d'*Artemisia absinthium* L. recueillies dans quatre zones bioclimatiques différentes. Les plantes récoltées dans la région bioclimatique inférieure aride ont montrées le chamazulène, le β -thujone et le camphre comme composants majoritaires. Cependant, pour les régions bioclimatiques arides supérieures et semi-arides, le camphre et le chamazulène sont les constituants dominants. La zone bioclimatique humide a présenté un chémotype différent avec le camphre, l'hydratation (Z) -sabinène et le 1-terpinène-4-ol comme principaux composés.

2.3.6.2. Diversité selon l'organe végétal

Chez une même espèce, il arrive que la composition chimique de l'huile essentielle diffère d'un organe à un autre. C'est par exemple le cas de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) dont les feuilles donnent une huile riche en

eugénoL, les écorces fournissent un extrait où l'aldéhyde cinnamique est majoritaire, tandis que le camphre prédomine dans l'essence des racines [153].

Les travaux de MAFFEI et SACCO [155], ont montré des différences de composition des huiles essentielles pour les organes différents (feuilles et fleurs) et selon les sous-espèces.

2.3.6.3. Influence de la période de récolte, du climat et du sol

La proportion des différents constituants de l'huile essentielle d'une espèce donnée peut varier au cours de son développement. Par exemple, Une menthe poivrée récoltée en début de floraison a une huile essentielle riche en néomenthol et en menthone tandis qu'en fin de floraison cette huile est riche en menthol [155].

DJERRARI [156] montre que le 1,8-cinéole est produit dans la verveine du Maroc entre le mois d'avril et le mois de mai ce qui correspond à la période de floraison.

La différence de composition constatée sur les huiles essentielles investiguées est vraisemblablement à mettre en rapport avec des facteurs abiotiques tels que le climat des régions de provenance des échantillons, les facteurs géographiques comme l'altitude et la nature du sol.

D'autres travaux portant sur les huiles essentielles de géranium confirment l'impact des effets macroscopique et microscopique sur la composition de l'huile. La composition chimique des huiles essentielles a été affectée par le climat, les températures maximales et minimales, les périodes (estivale ou hivernale), la durée d'ensoleillement et le pic des radiations solaires, la pluviométrie, l'altitude, la nature du sol et son pH [157].

Le climat et le sol ont une influence plus importante pour les espèces végétales dont l'organe sécréteur d'huile essentielle se situe au niveau des poils glandulaires (Lamiaceae, Verbenaceae, Geraniaceae, Rutaceae) que pour celles dont l'huile est produite dans les formations schizogènes des feuilles, calices ou tiges (Lauraceae, Asteraceae) [158].

2.3.6.4. Influence des différents paramètres sur la qualité des huiles essentielles

La qualité des essences obtenues dépend dans une large mesure de l'état de fraîcheur du végétal et du temps écoulé entre la récolte et la transformation industrielle. Un stockage de la plante pendant 24 heures suffit pour induire des changements sensibles de composition, lesquels peuvent d'ailleurs être souhaités. Ainsi, au cours du stockage, la perte des composés les plus volatils peut être importante : TUCAROV [159] note la disparition de 15% de produits volatils dans le végétal après 3 mois de stockage et de 80% après neuf années.

2.3.6.5. Existence de variétés chimiques ou chémotypes

Au sein d'une même espèce la composition chimique de l'huile essentielle peut être différente : on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Il s'agit d'un polymorphisme chimique : une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire des huiles essentielles de compositions différentes. Le cas des thyms avec ses 7 chémotypes est sans doute le plus connu, on peut aussi citer le cas de *Ocimum gratissimum* L., qui peut présenter 5 chémotypes : eugénol, méthyl-eugénol, linalol-caryophyllène, et géraniol [158].

CHARCHARI [160] a démontré que le rendement en huile essentielle et la teneur en principaux constituants de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso récoltée en Algérie diffèrent selon le lieu de végétation de la plante. Il observe 2 chémotypes suivant la région de récolte : le type à α -thuyone caractérisant l'huile essentielle de la plante provenant de Ghardaïa et celui à β -thuyone-camphre et chrysanthénone caractérisant celle de la plante récoltée à Biskra, à Bordj Bou Arreridj et à Laghouat.

2.3.7. Composition chimique

Le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle est variable [161]. A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces [162]. Les HE sont des mélanges complexes et variés, constitués de composés organiques de structures et de fonctions chimiques très diverses. Généralement, on classe ces composés en deux

groupes : les hydrocarbures terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

2.3.7.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes (C₁₀H₁₆), les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes (C₁₅H₂₄), les diterpènes, formés de quatre isoprènes (C₂₀H₃₂). Les tetraterpènes sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. Les polyterpènes ont pour formule générale : (C₅H₈)_n ou n peut être de 9 à 30. Les térpénoides sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide) [135].

2.3.7.1.1. Les monoterpènes

Sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des H.E, parfois plus de 90% [77]. Ce sont des hydrocarbures aliphatiques, saturés ou insaturés. Ils peuvent être acycliques comme le myrcènes, ocymène..., ou cycliques comme le pinène, camphène..., et même aromatiques comme le p-cymène, aussi, ils peuvent contenir des atomes d'oxygènes (Figure 2.9).

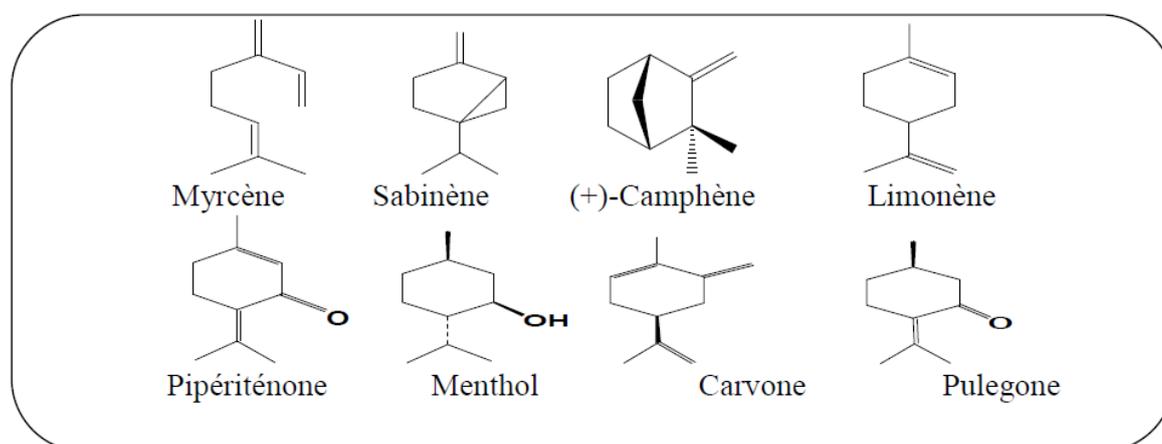


Figure 2.9 : Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E.

2.3.7.1.2. Les sesquiterpènes :

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple : β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α -bisabolol, farnesol [77]. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent carbures, alcools, cétones étant les plus fréquents.

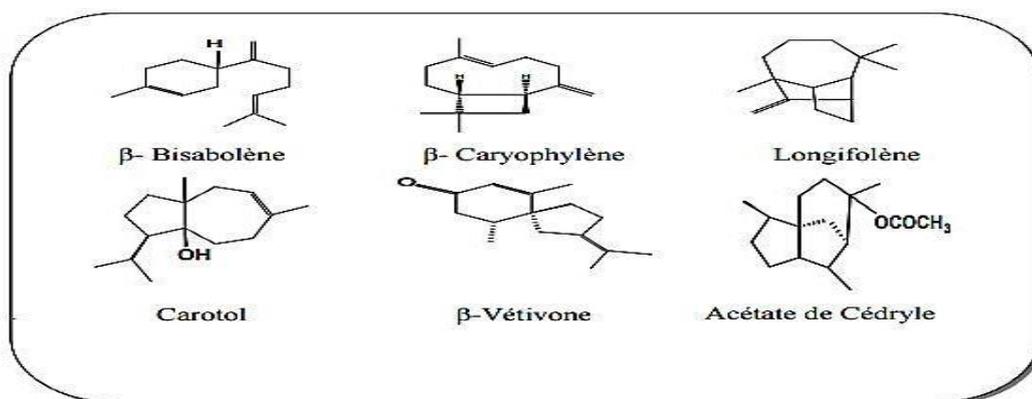


Figure 2.9 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E.

2.3.8. Biosynthèse des terpènes

Biogénétiquement, le précurseur universel de tous les terpènes est l'acide mévalonique, obtenu après condensation enzymatique de trois molécules d'acides acétique. Sa phosphorylation suivie d'une décarboxylation aboutit à l'unité isoprénique de base : le pyrophosphate d'isopentène-3-yle (PPI-3) qui en s'isomérisant donne pyrophosphate d'isopentène-2-yle (PPI-2). Sa propriété d'être un agent d'alkylant électrophile lui permet de fixer des unités (PPI-3) donnant une combinaison qu'est à l'origine selon le nombre d'unités

isopréniques fixées des intermédiaires biosynthétiques suivant : [164]

- Géranylpyrophosphate (C-10) : donne naissance aux monoterpènes
- Farnésylpyrophosphate (C-15) : aboutit aux sesquiterpènes
- Géranylgéranylpyrophosphate (C-20) conduit aux diterpènes

2.3.9. Méthodes d'identification chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des matières premières pour les secteurs de l'industrie pharmaceutique, de l'agroalimentaire et de la cosmétique. La connaissance parfaite de la composition chimique de ces substances permettrait aux professionnels des secteurs précités de pouvoir contrôler leur qualité et de les valorisées. L'identification des composants d'une HE reste une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques qui sont dans certains cas complémentaires [165].

La technique incontournable pour individualiser les constituants d'un mélange reste la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Son couplage à un détecteur à ionisation de flamme (DIF) permet la quantification des constituants et le calcul de leurs indices de rétention. La CPG est souvent combinée avec une technique d'identification spectrale, généralement la spectrométrie de masse (SM) ou la Spectrométrie Infrarouge par Transformée de Fourier (IRTF). Une nouvelle voie d'analyse est le recours à la RMN du carbone-13 décrite par FORMACEK et KUBECZKA et développée par CASANOVA et coll [166]. Elle permet d'identifier les constituants d'un mélange complexe sans individualisation et sans séparation préalable.

Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons une molécule qui sera fragmentée; les différents fragments obtenus, chargés positivement, constituent le spectre de masse de cette molécule [167].

2.3.10. Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont employées depuis les temps les plus reculés pour leurs effets thérapeutiques les plus diversifiés. La diversité moléculaire des composants qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés. En effet, les hydrocarbures monoterpéniques présentent des propriétés antalgiques en usage percutané, vermifuge, emménagogue, antiseptique atmosphérique, antiparasitaire, ... Les hydrocarbures sesquiterpéniques présentent des effets anti-inflammatoires, calmants, hypotenseurs. Les pouvoirs offerts par les H.Es sont innombrables et variés. Il

serait impossible de les mentionner tous. La mise en évidence de leur activité biologique a fait l'objet de nombreuses études [170].

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antivirales, antifongiques et antimicrobiennes. Plusieurs travaux de recherche ont prouvé leurs propriétés antitoxiques, antivenimeuses, anti-oxydantes. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses [171]

De nombreuses études ont montré que l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires [172] et les effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant [173].

2.3.10.1. Propriétés médicinales

Les HE sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries [183]. La listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les micro-organismes de la salive et de la plaque dentaire.

La Menthe poivrée (*Mentha piperita*) occupe une place privilégiée dans la phytothérapie digestive grâce à l'HE que renferment ses feuilles, et qui lui confère un grand pouvoir calmant des spasmes intestinaux.

Des études très récentes ont montré que le géraniol a une action sur les cellules cancéreuses du colon [184], en plus de l'activité anti-inflammatoire, récemment mise en évidence [185].

JUVEN et coll. [186] ont obtenu une diminution importante des cellules vivantes de *Salmonella thyphimirum* en la traitant par l'huile de thym et ses constituants actifs.

Une étude *in vitro* a montré l'effet antiviral de l'HE d'origan et du girofle sur le virus Type 1 de l'herpès simplex ainsi que sur le virus de la maladie de Newcastle [187].

2.3.10.2. Propriétés biologiques

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont capables de s'attaquer aux microbes les plus puissants, comme le staphylocoque, le bacille de koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde). Le spectre d'action des H.Es est très étendu, car elles agissent vis-à-vis d'un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques.

Les huiles essentielles ont une double action contre les microbes : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatique).

De nombreuses HE ont été testées *in vitro* sur différentes souches de levures ; la majorité a présenté une action antifongique à des concentrations facilement utilisables en clinique, de 0,002% pour l'HE d'*Origanum vulgare* sur des dermatophytes [175] jusqu'à 8% pour l'HE de *Melaleuca alternifolia* sur *Aspergillus niger* [176]. Comme pour les bactéries, il semblerait que ce soit les phenols (thymol, carvacrol, ainsi que le cinnamaldehyde) qui conduisent aux résultats les plus intéressants [177]. Plusieurs études [178, 179] prouvent l'action des HE sur les virus, même sur ceux ayant développé une résistance aux antiviraux [180]. Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les huiles essentielles, ce qui confère à ces dernières la capacité de combattre certaines pathologies virales. Les huiles essentielles arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus tout en stimulant le système immunitaire.

Actuellement, l'utilisation de produits synthétiques pour lutter contre les insectes et les arthropodes soulève plusieurs préoccupations liées à l'environnement et à la santé humaine. Les huiles essentielles présentent une alternative, de produits naturels [181] qui possèdent une bonne efficacité et sont respectueux de l'environnement. Elles ont été largement testées et leurs activités répulsives ont été démontrées [182].

2.3.10.3. Propriétés antioxydantes

Ces dernières années, les chercheurs se sont intéressés aux propriétés antioxydantes que possèdent les huiles essentielles [188]. Ces propriétés sont notamment attribuées, à la présence dans la composition de ces huiles essentielles de composés phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, mais aussi à la présence des monoterpènes oxygénés tels que le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol, le néral, le citronellal, l'isomenthone et la menthone. Et enfin à la présence de quelques monoterpènes hydrocarbonés tels que l' α -terpinène, γ -terpinène et l' α -terpinolène.

L'activité antioxydante de ces composés est exploitée dans la prévention et la lutte contre les maladies comme l'Alzheimer [189], l'artériosclérose et le cancer [190], par des apports supplémentaires dans l'alimentation de ces composés antioxydants, car ces maladies surviennent lors du déséquilibre entre la production de radicaux libres et les enzymes antioxydants. Ces composés semblent agir en jouant un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres et dans la décomposition des peroxydes grâce à leurs propriétés oxydo-réductrices [191].

Les huiles essentielles et leurs composants sont connus pour posséder des activités antioxydantes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaire, ou approuvés comme additifs alimentaires [192].

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation [193]. En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène [194].

Des études ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) ou l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation [192].

2.3.11. Toxicité des huiles essentielles

Dans le monde actuel des produits naturels, il convient de ne pas utiliser ces substances de façon abusive. Les huiles essentielles doivent être prises à bon escient et à doses adaptées afin d'éviter les effets secondaires, parce que l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de dose [195].

L'utilisation des huiles essentielles n'est pas à prendre à la légère. Les effets toxiques sont très variables d'une huile essentielle à l'autre et dépendent beaucoup de la sensibilité des consommateurs. La toxicité provient de la présence de certaines molécules aromatiques pour lesquelles des risques ont été identifiés suite à des tests [196].

Une famille biochimique particulière, celle des cétones, est ici particulièrement visée : elle présente une neurotoxicité et un risque abortif. D'autres familles de composés s'avèrent être également toxiques. Les aldéhydes et quelques esters. Les conséquences sur notre santé vont de la photosensibilisation et aux risques d'avortement, dans les cas les plus graves [197].

Une autre famille, celle des phénols, sa causticité sera particulièrement tournée vers la peau (dermocausticité) et le foie (hépatotoxicité). Ces huiles essentielles à phénols ne s'utiliseront donc pas ni par voie cutanée ni par voie rectale, seule la prise orale sera possible. Pour éviter tout risque hépatotoxique, en cas de traitement long,

Une autre toxicité provient des HE contenant des furocoumarines et pyrocoumarines. Leur application cutanée, ou même leur prise par voie orale, peut provoquer, sous l'effet prolongé du soleil, des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogénèse et l'accélération de la mélanogénèse [195].

CHAPITRE 3

LE STRESS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANT

CHAPITRE 3 : LE STRESS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANT

Les radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Les ERO deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction des ERO au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant [7].

Le stress oxydant est responsable des dommages cellulaires liés à plusieurs maladies tel que le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'influenza, le syndrome de Down, les hépatites, l'arthrite rhumatoïdes, les désordres du système nerveux, l'ulcère, la pneumonie ainsi que le vieillissement [198].

3.1. Différents types des radicaux libres :

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe.

Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les **radicaux primaires** à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) et le radical alkoxyde (RO^{\cdot}). Les autres radicaux libres, dits **radicaux secondaires** telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [199]

3.2. Principales sources des ERO

Les ERO sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes (Figure 3.1). On parle donc de sources endogènes et de sources exogènes.

3.2.1. Sources exogènes des ERO

Les radiations X ou gamma peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant la molécule d'eau en deux radicaux. Les rayonnements UV sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation des photosensibilisants. Une large variété de xenobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ROS qui se forment comme un des produits de leur métabolisme [200]

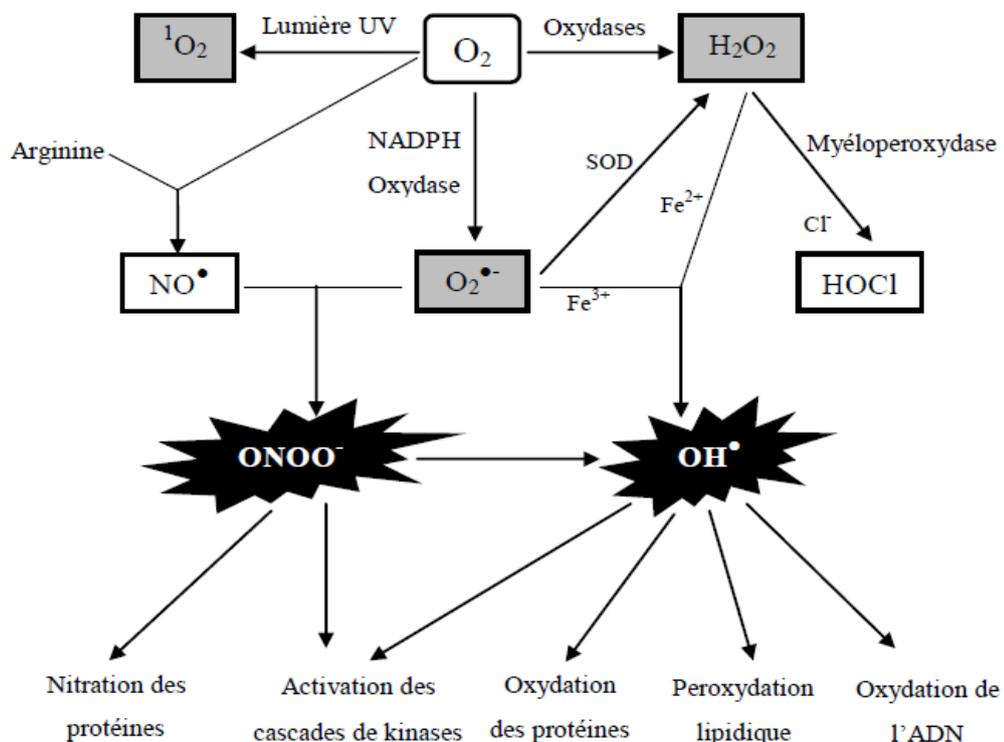


Figure 3.1 : Les différentes sources des ERO [199].

3.2.2. Sources endogènes des ERO

Le métabolisme aérobie de chaque cellule produit d'une façon permanente des ERO. Ils sont principalement des sous-produits de la chaîne respiratoire mitochondriale, qui constitue la source endogène majeure de cette production [201].

Les ERO, notamment l'anion superoxyde et le radical hydroxyle, sont aussi produites au cours des différentes réactions enzymatiques catalysées par le NADH oxydases, xanthine oxydase, cytochrome P450 et les peroxydases (Figure 3.1) [6]. En présence des métaux de transition (ions du fer et de cuivre), les peroxydes d'hydrogène sont convertis en radicaux hydroxyles très réactives par la réaction de Fenton.

3.3. Les conséquences du stress oxydant

A des concentrations élevées, les ERO peuvent être d'importants médiateurs de dommages aux structures cellulaires, lipides, protéines et acides nucléiques (Figure 3.2) [200].

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est une cible majeure des ERO. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Le dommage oxydatif aux acides nucléiques inclut l'addition des bases et des groupes de sucres, cassures au niveau de la simple et double hélice ainsi que la formation des liaisons croisées avec d'autres molécules [203].

Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques [7].

La toxicité des ERO s'exerce également sur les protéines. Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines. Les structures (primaire, secondaire et tertiaire) et les fonctions des protéines sont aussi altérées par les ERO. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées [204].

Le dommage oxydatif des protéines peut affecter la fonction des récepteurs, des enzymes et des protéines de transport, etc., et peut même générer de nouveaux antigènes qui provoquent des réponses immunitaires [205, 199].

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information [7].

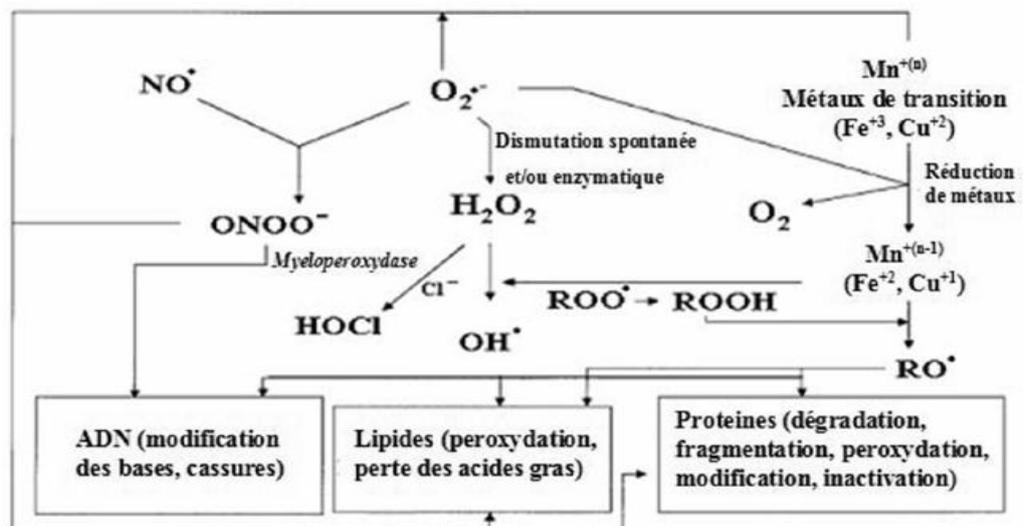


Figure 3.2 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives [207].

Parmi les cibles les plus susceptibles à l'action des ERO sont les acides gras polyinsaturés comme l'acide linoléique et l'acide arachidonique [204]. Ces radicaux peuvent déclencher une chaîne de réactions de peroxydation au niveau des acides gras des phospholipides membranaires, conduisant à l'altération de la membrane et la perte de l'organisation de sa structure de bicouche lipidique qui est nécessaire à la fonction des enzymes liées et des récepteurs [206].

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens

faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des foetus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression [199].

3.4. Les antioxydants

On désigne par antioxydant toute substance, qui lorsqu'elle est présente en faible concentration dans la cellule, est capable de retarder, de neutraliser ou de réduire l'oxydation et les dommages causés par les radicaux libres sur les composés cellulaires [208].

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses antioxydantes (Figure 3.3) très efficaces contre la surproduction des ERO. Ces systèmes peuvent être exogènes ou endogènes et sont réagis en synergie afin de protéger les cellules *vis-à-vis* aux ERO.

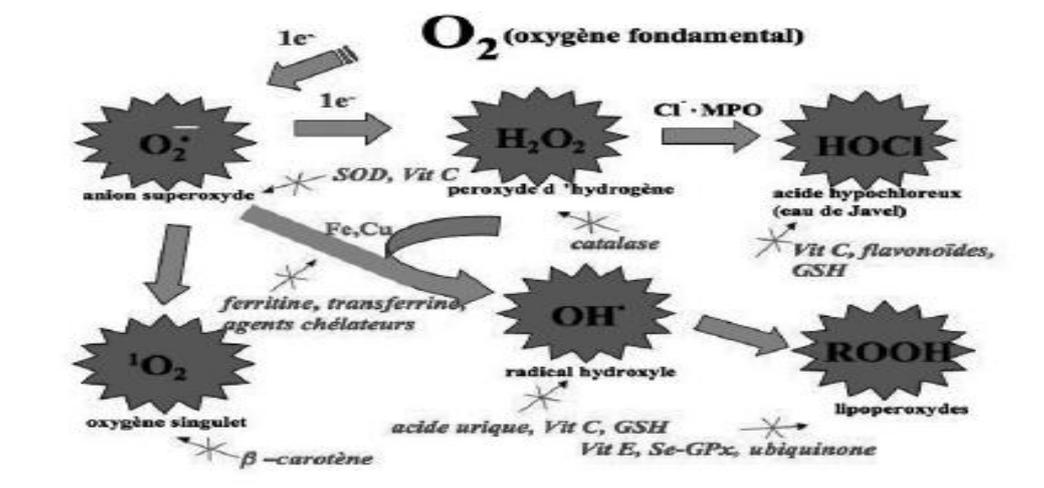


Figure 3.3 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants [209].

La production physiologique des ERO est contrôlée au sein des cellules par les systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques.

3.4.1. Antioxydants enzymatiques: [210]

Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en oeuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène comme illustre la Figure 3.4.

Le superoxyde dismutase (SOD) [accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, Il existe plusieurs isoenzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD)],

La catalase (CAT) [Présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire]

La glutathion peroxydase (GPx) [La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme (Se-GPx) joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydroperoxyde résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH). **La glutathion réductase (GR)**, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur.

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\bullet-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire.

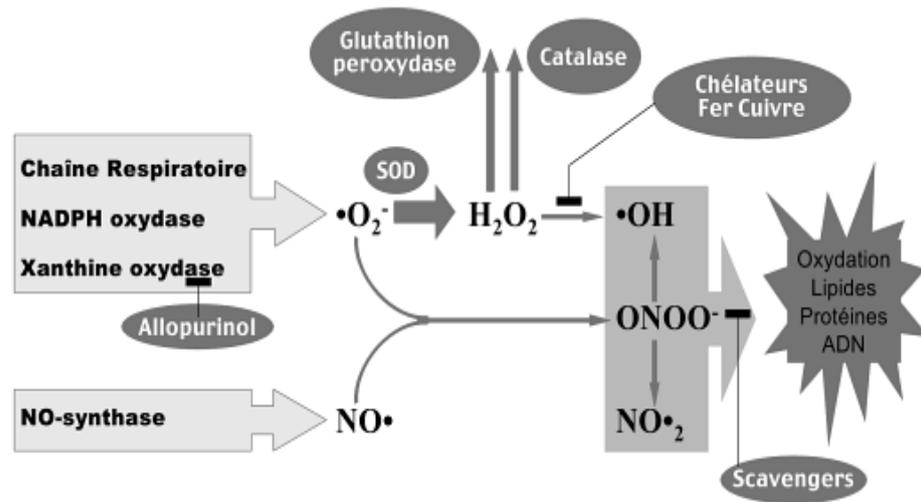


Figure 3.4 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène [210]

3.4.2. Antioxydants non enzymatiques

L'action protectrice enzymatique est renforcée par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique. Ces composés antioxydants sont produits dans les cellules de l'organisme et parmi lesquels on peut citer le glutathion, l'acide lipoïque, L-arginine, Ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, la transferrine etc. [198]. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion qui protège, non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote [199].

Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ou $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton [211].

D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. La vitamine piègeuse

devient à son tour un radical qui sera détruit ou régénéré par un autre système. Des composés comme les alcaloïdes, les polyphénols et les phytates, huiles essentielles Flavonoïdes apportés également par l'alimentation, jouent un rôle similaire de piègeurs de radicaux libres [77].

3.5. Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques [212]. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron [213].

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation [214].

Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), de l'acide hypochloreux ($HOCl$), de l'hydroxyle ($OH\bullet$), des anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), du peroxyde ($ROO\bullet$) et de l'oxyde nitrique ($NO\bullet$) [215].

Parmi ces techniques, nous citons :

- *La méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) [216]*
- *La méthode d'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate) ou TEAC (Capacité antioxydante équivalente de Trolox) [217]*
- *La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) [218]*
- *La méthode du radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) [219]*

CHAPITRE 4

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE 4 : MATERIEL ET METHODES

4.1. Matériel végétal

Les parties aériennes d'*Artamisia herba-alba* et d'*Artemisia campestris* qui ont été utilisées dans cette étude ont été récoltées en hiver en pleine floraison (décembre 2013), en printemps au stade végétatif précoce (mai 2014) et en été au stade végétatif tardif (juillet 2014), dans la steppe de sud algérois plus exactement dans la région sud de la wilaya de Djelfa, commune de Moudjbara (lieu de récolte de l'*A.herba-alba*) et commune de Ain El Ibel (communauté de Amra : lieu de récolte de l'*A.campestris*).

Leur identification botanique a été faite par le Docteur Dahia Mustapha de la faculté de la science de nature et de vie à l'Université Ziane Achour, Djelfa,

Les échantillons de plantes ont été débarrassés de tout élément étranger, placés dans des sachets en papier puis transportés au laboratoire dans les 24 heures qui ont suivi la récolte. La matière végétale est ensuite, déposée dans un endroit sombre, sec et aéré pendant 2 à 3 semaines afin de la sécher. En suite elle est conservée dans des flacons jusqu'à son utilisation.

4.2. Extraction des fractions volatiles par hydrodistillation

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger, et ce à partir des parties aériennes des deux Armoises. L'extraction est effectuée durant quatre heures, durée nécessaire à l'épuisement de la matière première (environ 90%) en huile essentielle [220].

4.2.1. Principe

Elle est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition de la fraction volatile et de l'eau. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau [221].

La matière végétale est immergée dans un bain d'eau, et l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. La fraction volatile se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. Les vapeurs hétérogènes ont été condensées dans un réfrigérant et récupérées dans un flacon. La fraction volatile est séparée de l'hydrolat par une extraction liquide-liquide.

4.2.2. Mode opératoire

Les parties aériennes des espèces végétales utilisées sont broyées pour faciliter leur introduction dans un ballon en verre de 2 L, rempli d'eau jusqu'aux 2/3 de sa capacité. L'eau chauffée jusqu'à ébullition, ce qui entraîne les constituants volatiles. Ces vapeurs passent dans le réfrigérant. elles se condensent constituant le distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huiles essentielle + eau) qui seront séparées par extraction liquide-liquide (décantation), par solvant organique (de l'éther diéthylique dans notre cas). L'huile essentielle récupérée est mélangée à l'éther diéthylique (phase organique). Pour éliminer toute trace d'eau, la phase organique est séchée sur une surface de sulfate de sodium anhydre. Après évaporation de l'éther, l'huile obtenue est conservée dans des flacons en verre opaque à une température de 4°C. Dans l'attente de leur analyse.

4.2.3. Calcul du rendement

Le rendement est la quantité maximale d'huile essentielle que fournit une masse donnée de végétal pendant une période donnée. Le calcul du rendement (R) de chaque essence est effectué selon la relation suivante :

$$R (\%) = (m \text{ HE} / m \text{ MVS}) \times 100$$

R (%) : Rendement en huile essentielle.

m HE : masse d'huile essentielle.

m MVS : masse de matière végétale sèche.

4.3. Extraction des composés phénoliques par Ultrason-aidée (EAU)

La matière végétale sèche a été broyée en poudre fine dans un broyeur mécanique et extraite par extraction par ultrasons (sonication). L'extraction assistée par ultrasons (EAU) est l'une des techniques importantes d'extraction de composés bioactifs à partir de matières végétales. Récemment, cette extraction a été utilisée comme une technique d'extraction alternative soit à l'échelle de laboratoire ou à l'échelle industrielle, ce qui montre qu'elle est efficace et économique [222] [223] [224].

Les avantages des EAU sont de réduire d'une manière significative le temps et la température et d'augmenter le rendement d'extraction. L'EAU est une technique peu onéreuse, utilisable avec n'importe quel type de solvant et simple à mettre en place. En effet, l'extraction peut être réalisée de manière très simple en utilisant un bain à ultra-sons [225].

4.3.1. Principe

Les ultrasons sont des ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. Elles sont principalement caractérisées par leur fréquence (15 kHz-500 MHz) [226]. À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent se propager dans une matière [227]. Dans un milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) [228]. Les séries de ces cycles de compressions et de raréfactions créent une pression acoustique. Au cours du cycle de basse pression, les ondes ultrasonores créent des petites bulles de cavitation dans le liquide [229]. Ces bulles vont croître pendant les phases de raréfaction et diminuer pendant les phases de compression. La répétition de ces cycles va conduire à l'implosion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité d'énergie [230].

Lorsque les bulles de cavitation sont formées à proximité d'une surface solide elles deviennent asymétriques, et l'implosion qui en résulte produit des jets de liquide projetés à très grande vitesse vers la surface du solide, ainsi qu'une augmentation locale de la température et de la pression. Dans le cas d'une

matrice végétale, ces jets de liquides vont percer les parois végétales et permettre ainsi la libération des molécules dans le milieu liquide [228].

4.3.2. Mode d'opérateur

Le matériel végétal (1 g) a été extrait avec 20 ml de méthanol dans un bain à ultrasons pendant 30 minutes et centrifugé à 3500 tr / min pendant 15 min. L'extraction a été répétée deux fois. Les surnageants ont été recueillis, évaporés et reconstitués dans 1 ml de méthanol. Les extraits finaux ont été filtrés avec le papier filtre Whatman no. 4 et maintenu à 4 ° C avant l'analyse.

4.4. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)

4.4.1. Détermination de la teneur en composés phénoliques

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, des flavonoïdes des différents extraits/fractions sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage et exprimées en mg équivalent par g de la matière végétale sèche. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribués..

4.4.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La quantification de la teneur phénolique totale de l'extrait méthanolique a été déterminée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, décrite par ADEDAPO et al.[231]

4.4.1.1. Principe

Le dosage des phénols totaux est un test colorimétrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui se réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) qui absorbe fortement à une longueur d'onde de 765 nm [232]. Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide tannique.

4.4.1.2. Mode opératoire

L'extrait méthanolique d'une gramme de matière sèche (0.5 mL) est incubé avec 2.5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, on ajoute 7.5 mL d'une solution saturée de Na₂CO₃ puis on complète le volume, jusqu'au trait de jauge, par de l'eau distillée. Le mélange réactionnel est gardé à l'obscurité pendant 16-18 h. Un essai à blanc est préparé dans les mêmes conditions, en absence d'extrait. Ensuite, les densités optiques (DO) sont déterminées à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Secomam UVI Lumière XT5. En se référant à une gamme étalon d'acide tannique, la quantité de polyphénols présents dans l'extrait est déterminée et exprimée en mg d'équivalent d'acide tannique (AT) par g de MS. Pour une meilleure détermination du taux des phénols totaux de chaque extrait, trois répétitions ont été appliquées.

Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (Figure 4.1), ayant l'équation: $Y = 0,0039 x - 0,0008$ $R^2 = 0,9962$

Les résultats obtenus (Tableau 4.1) sont illustrés ci-dessous :

Tableau 4.1 : Variation de la DO en fonction des concentrations de l'acide tannique

Concentration acide tannique mg/l	4,773	9,546	23,925	47,850	71,957	95,700
Densité optique	0,013	0,032	0,109	0,197	0,277	0,378

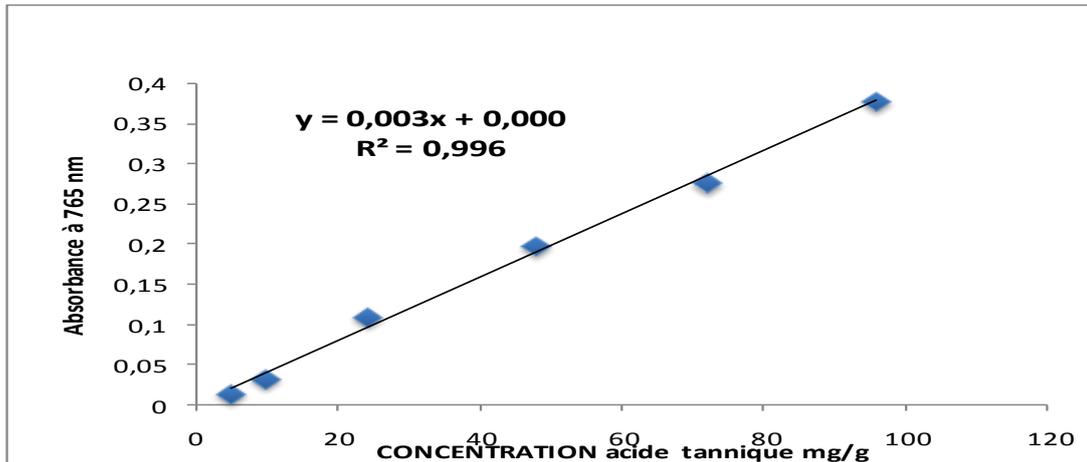


Figure 4.1 : Courbe de variation de la DO en fonction des concentrations de l'acide tannique

4.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

4.4.2.1. Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par ADEDAPO et al.[231] avec le trichlorure d'aluminium. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 420 nm. Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la quercétine.

4.4.2.2. Mode opératoire

Pour chaque mesure, 0.5 mL d'extrait est mélangé avec 0.5 mL de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 1 h d'incubation à température ambiante, on mesure la DO des mélanges à 420 nm avec un spectrophotomètre. Un essai à blanc est préparé dans les mêmes conditions, en absence d'extrait. La teneur totale en flavonoïdes est déterminée en utilisant une courbe standard préparée avec la quercétine et exprimée en mg d'équivalent de quercétine par g de MS.

Le taux en flavonoïdes a été déterminé en utilisant une courbe standard $\text{DO} = f(C)$ est préparée avec la quercétine (Figure 4.2), et il est exprimé en mg équivalent de quercétine/g MS (mg Q/g MS).

Les résultats obtenus (Tableau 4.2) sont présentés ci-dessous :

Tableau 4.2 : Variation de la DO en fonction des concentrations de la quercétine

Concentration quercétine mg/l	0,500	1,000	2,001	4,003	8,006	12,010
Densité optique (DO)	0,009	0,025	0,036	0,11	0,246	0,374

Les résultats de la courbe d'étalonnage de la quercétine sont représentés dans la Figure 4.2.

Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation: $Y = 0,0322 x + 0,0146$ $R^2 = 0,9969$

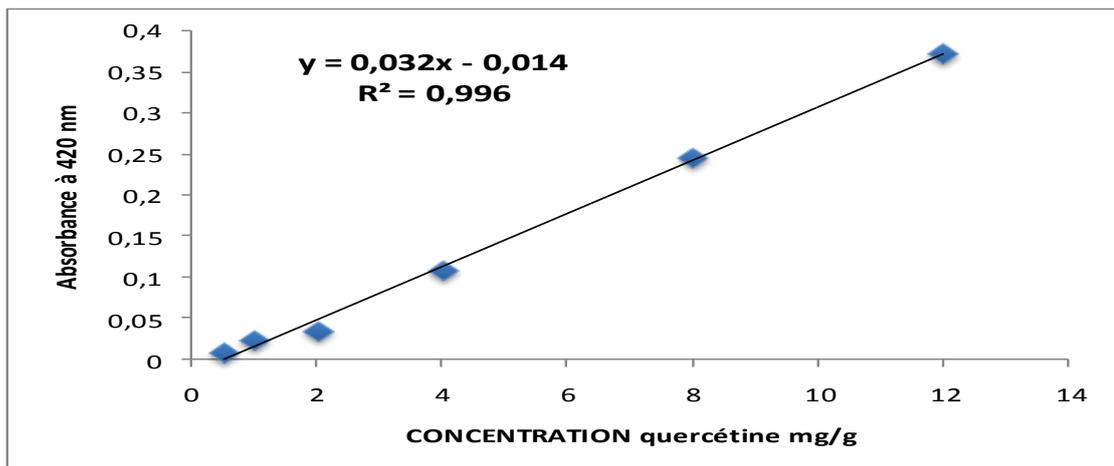


Figure 4.2 : Courbe de variation de la DO en fonction des concentrations de la quercétine

4.5. Activité antioxydante

Pour étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits méthanoliques, nous avons retenu la méthode qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre, selon le protocole décrit par LIYANA-PATHIRANAN and SHAHIDI et ADEDAPO et al.[233] [231].

Pour cette évaluation, deux approches sont appliquées : d'une part, la détermination du pourcentage d'inhibition et d'une autre part la détermination de la réduction relative du radical DPPH à un temps de référence où la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH.

4.5.1. Principe

Cette méthode est basée sur la réduction d'un radical libre très stable : le 2,2'- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) en présence d'un antioxydant donneur. Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

La réduction du radical libre (DPPH) par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence d'un donneur d'hydrogène [234].

Le DPPH est initialement violet, il se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie.

Cette décoloration renseigne sur la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet d'évaluer le pouvoir antioxydant direct de différentes substances phénoliques de nos extraits [235].

4.5.2. Mode opératoire

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg dans 100 ml de méthanol. 2 ml de chaque extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 2 ml de solution DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517 nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. Les essais sont repris trois fois.

L'évaluation de l'activité antioxydant en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{DO témoin} - \text{DO extrait} / \text{DO témoin}) \times 100$$

Avec:

DO témoin: absorbance du témoin

DO extrait: absorbance de l'extrait

4.5.3. Calcul des IC50

L'IC50 (concentration inhibitrice de 50 %) appelée aussi IC50 (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testées [235]. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte activité antioxydante.

4.6. Techniques analytiques

Les analyses chromatographiques ont été effectuées au Centres scientifiques et technologiques (techniques séparatives et synthèse peptidique) de l'Université de Barcelone.

4.6.1. Chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC

4.6.1.1. Principe

HPLC est une technique de séparation analytique basée sur l'hydrophobicité des molécules d'un mélange de composés. L'échantillon à analyser est poussé par un éluant liquide phase mobile dans une colonne remplie d'une phase stationnaire composée de grains solides très fins. Le débit d'éluant est assuré par une pompe à haute pression. Dans la colonne, les divers composés de l'échantillon sont séparés l'un de l'autre en raison de leurs diverses affinités à l'égard des deux phases – stationnaire et mobile-. A la sortie de la colonne les composés sont détectés à l'aide d'un détecteur [236].

4.6.1.2 .Mode opératoire

La séparation des composés phénoliques sélectionnés a été réalisée en utilisant un système HPLC (Agilent 1200 RR) équipé d'une colonne analytique de

C18 de 2,5 mm x 50 mm et une taille de particules de 2,6 μm (Kinetex XB-C18). La température d'injection est 10° C et la température du four a été maintenue à 40 ° C. Le volume d'injection pour chaque échantillon était de 2 μl et le débit d'entrée était maintenu à 0,4 ml / min. La phase mobile A était en 1% (v / v) d'acide formique dans l'eau et la phase mobile B était de 0,1% d'acétonitrile et d'acide formique (10 / 90).

Le programme du gradient était le suivant : 0 min, 6% B; 14 min, 16,5% de B; 16 min, 17% B; 18 min, 17,5% de B; 20 min, 17,5% de B; 22 min, 18,5% de B, 24 min, 18,5% de B, 27 min, 20% de B, 46 min, 100% de B, 48 min, 100% de B, 48,1 min, 6% de B, 54 min, 6% de B.

Ce système HPLC a été connecté à un spectromètre de masse à temps de vol, QSTAR, mode Elite, équipé d'une interface électrospray, utilisant les conditions suivantes: tension capillaire - 4200 V; pression du nébuliseur 30 psig; gaz de séchage 8 L /min; température du gaz 400°C; tension du fragmenteur: - 190 V; tension du skimmer : - 60 V; octopole RF: 750 V.

Des spectres de masse précis LC / MS ont été enregistrés dans l'intervalle 70-800 m / z. Les spectres d'absorption UV ont été enregistrés en ligne pendant l'analyse HPLC. Le détecteur DAD a été réglé sur une plage de balayage de 365 nm. Les analyses CL / TOF-MS ont été effectuées en mode ions négatifs et ces molécules secondaires ont été identifiées principalement par leurs spectres UV et spectres ESI-MS et par comparaison avec des données publiées.

4.7. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG/ SM

4.7.1. Principe

Cette technique repose sur la différence de répartition des constituants d'un mélange complexe entre la phase mobile (gaz vecteur) et la phase stationnaire de la colonne. Dans la source d'ionisation les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, est ensuite détecté et transformé en un signal utilisable [237].

Les données enregistrées provenant du spectromètre de masse sont converti en valeurs des masses et des intensités des pics et en courant ionique total. Il permet l'examen des données enregistrées et leur traitement : spectres de masse. Les spectres de masse ainsi obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles, commerciales.

4.7.2 . Mode opératoire

La composition chimique des huiles essentielles a été déterminée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type Trace GC Ultra avec le spectromètre de masse ITQ 900. Les analyses ont été réalisées en mode ionisation par impact électronique (EI) avec une énergie d'ionisation de 70 eV en utilisant l'acquisition en mode SCAN. La colonne utilisée est de type TRB-5 ms de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. Les injections ont été faites en mode SPLIT. L'hélium a été employé comme gaz vecteur à un débit de 1ml/min. Les températures de l'injecteur et de la ligne de transfert sont de 280°C. La température du four a été programmée comme suit : la température initiale de la colonne est de 40°C maintenue en isotherme pendant 1 min puis augmentée à raison de 5°C/min pour atteindre 220°C. Le volume injecté de l'huile essentielle diluée dans acétate d'éthyle est de 50 µl. Les composés des huiles correspondants aux pics majeurs de chaque chromatogramme ont été identifiés, par comparaison de leurs spectres de masses avec ceux des composés chimiques répertoriés dans une banque de données informatisées ESO 2000, de la bibliothèque NIST 05 (National Institute for Standard Technology).

CHAPITRE 5

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 05 : RESULATS ET DISCUSSION

5.1. Effet de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle

La qualité et le rendement des huiles essentielles des espèces d'*Artemisia* sont influencés par la saison de récolte [22]. Les conditions climatiques et la disponibilité de l'eau dans le sol ont un effet sur le métabolisme secondaire végétal et, par conséquent, modifient la composition des huiles essentielles, à travers les saisons de l'année [238].

Les rendements moyens en HE ont été exprimés en gramme par rapport à 100 g de matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

Le meilleur rendement en HE (g/100 g MS) a été obtenu à partir des échantillons de l'armoise blanche récoltés au mois de mai (stade végétatif précoce) avec un taux de 0,54% par rapport à ceux obtenus au cours des collectes des mois de novembre (floraison) et juillet (stade végétatif tardif) qui sont respectivement de 0,23 et 0,16 % (Figure 5.1). La diminution du rendement en huile pour le stade des feuilles mûres s'explique peut-être par le fait que les feuilles deviennent vieilles et plus sèches. En effet, la teneur en HE obtenue au cours du mois de mai pour l'armoise blanche de Djelfa est plus élevée que celle de l'*Artemisia arborescens* et de l'*Artemisia judaica* qui est respectivement de 0,3 et 0,4 % [239]. Cependant, la teneur obtenue reste relativement faible par rapport à celle d'autres espèces d'*Artemisia*, telles que l'*Artemisia haussknechtii* (2,1 %) [240] et l'*Artemisia sieberi* (1,7 %) [241]. Ces résultats indiquent clairement que le temps de récolte doit être soigneusement sélectionné pour assurer un rendement maximal de l'HE. Dans le cas de l'*A. herba-alba*, la saison printanière (stade végétatif des jeunes feuilles) pourrait être favorisée.

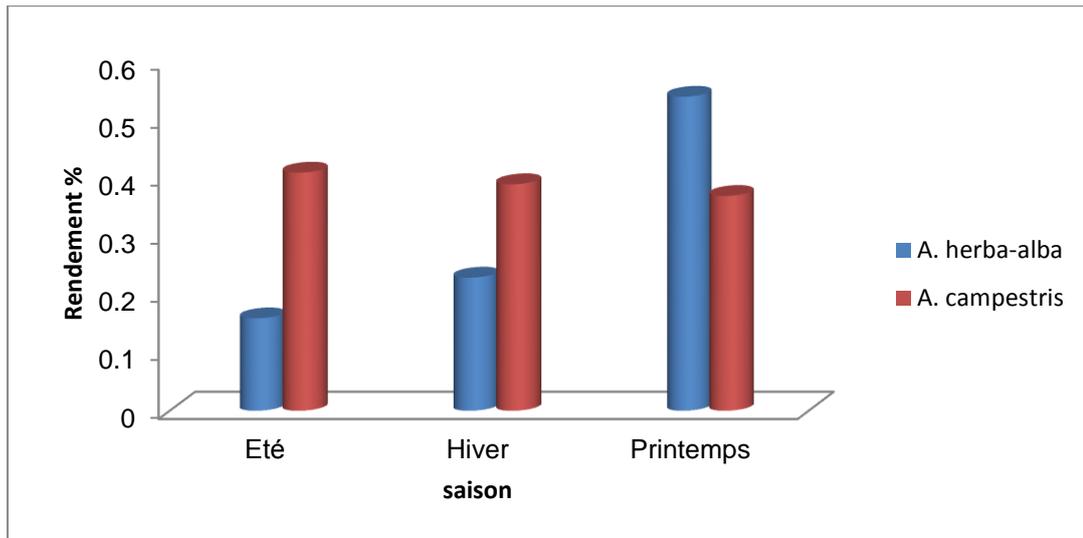


Figure 5.1 : Rendements en huile essentielle en fonction de la période de récolte d'*A.campestris* et d'*A.herba-alba*.

Par contre, le rendement en huile essentielle d'*A.campestris* diminue de l'été au printemps. En effet, le rendement le plus bas de l'huile essentielle est enregistré pour les échantillons prélevés au printemps (0,37%) tandis que le niveau le plus élevé est observé pour des échantillons prélevés en été avec une valeur de 0,41%. Peu des travaux ont été publiés dans le cadre de ce sujet, bien qu'il existe une certaine controverse concernant l'HE produit par différentes espèces d'*Artemisia* à différents stades phénologiques.

Selon nos résultats, les feuilles matures d'*A.campestris* (été) ont produit plus d'huile essentielle que les jeunes feuilles (printemps). Des résultats similaires ont été rapportés par SINGH et al. [242] chez l'*Artemisia scoparia*. Aussi, GHANMI et al. [30] ont indiqué que le contenu d'HE dans *Artemisia herba alba* était plus élevé au mois de juin (été). Par contre selon VERDIAN-RIZI [243], les rendements d'HE à différents stades de croissance d'*Artemisia annua* étaient dans l'ordre de pré-floraison < post-floraison < pleine floraison. MALLAVARAPU et al. [244] ont indiqué que le contenu de l'HE était plus élevé lors de l'émergence complète de fleurs de *Davana (Artemisia pallens Wall)*.

Cependant le rendement en HE de nos échantillons est comparable à celui des cinq espèces d'*Artemisia* : *A.absinthium*, *A.biennis*, *A.dracunculus*,

A.longifolia et *A.ludoviciana* qui ont fait l'étude de travaux de BENCHEQROUN et al [245] dont les rendements en HE sont compris entre (0.3 % et 0.5 %).

Cette différence en rendement entre les armoises peut expliquer par la nature de l'espèce, l'effet du stade végétatif de la plante et les conditions édaphiques de la région.

Ces rendement peuvent être considéré comme intéressent, lorsque les compare à des espèces de la famille des Asteraceae citées par RAAL et al [246] qui variaient de traces jusqu'à 0.2%.

Et parmi les espèces exploitées à l'échelle industrielle pour produire les huiles essentielles :

- Le géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) qui produit des HE de l'ordre de 0.08% à 0.25% [158]
- La menthe poivrée (*Mentha piperita*) dont les rendements varient de 0.5-1 % [245]

5.2. Analyses par chromatographie des HE :

Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle [248].

Malgré les progrès considérables réalisés ces dernières années dans le domaine de la chimie analytique, la caractérisation des huiles essentielles demeure un challenge. En effet, l'identification des constituants d'une huile essentielle est une opération délicate nécessitant l'utilisation et l'adaptation des techniques d'analyses performantes, et une méthodologie d'analyse rigoureuse.

5.2.1 Analyses chromatographiques de l'HE d'*A.herba-alba* :

Les résultats obtenus des analyses chromatographiques par CG-SM réalisées sur les trois échantillons d'huiles sont reportés dans le Tableau 5.1 et sur la figure 5.2.

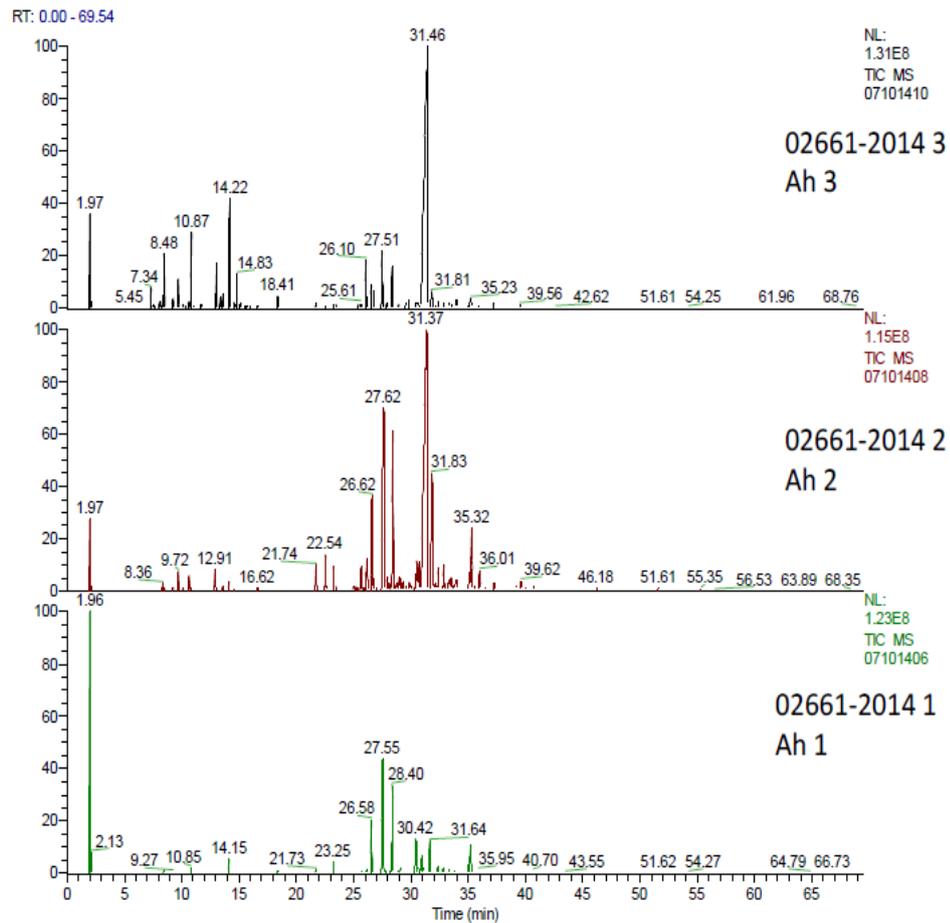


Figure 5.2 : Chromatogrammes obtenus par les HEs d’*A.herba-alba*

Ah1 : Plantes récoltées à l’été, Ah 2 : Plantes récoltées à l’hiver, Ah 3 : Plantes récoltées au printemps

Les analyses chromatographiques des HE de l’*Artemisia herba-alba* de la région de Djelfa ont révélé la présence de 33 composés pour la collecte du mois de juillet contre 36 et 38 constituants pour celles récoltées respectivement aux mois de novembre et de mai (Tableau 5.1). Ces constituants représentent environ 99,70, 99,23 et 99,09 % de la totalité des HE des plantes récoltés respectivement au cours des mois de juillet, novembre et mai.

Les HE de ces trois périodes de collecte montrent une grande différence. En effet, les collectes de juillet sont caractérisées par la présence de davana éther comme principal constituant (65, 51%) suivi du spathulenol (13,59% %) et de 2-Propenal, le 3- (2,6,6-triméthyl-1-cyclohexen-1-yl) - (7 , 22%).Par contre, les échantillons récoltés au mois de novembre se distinguent par la présence du

corymbolone comme composé majoritaire suivi de davana éther avec des taux respectifs de 40,99 et 29,44 %. Ils sont accompagnés d'autres constituants dont les teneurs sont relativement importantes : benzène, du 1,3-bis (1,1-Diméthyléthyl) -2-méthoxy-5-méthyl- (6,63%), 2-Propenal, 3- (2,6,6-triméthyl-1-cyclohexen-1-yl) - (4,1%). Cependant, un seul constituant, la davanone C, est majoritaire dans l'huile essentielle de mai avec un pourcentage de 67,65%. D'autres composés sont également présents dans cette essence, mais à des teneurs relativement moins importantes : le davana éther (8,69%), l' α - campholénale (5,11%).

Les écarts observés entre les échantillons d'huile peuvent être attribués à la fluctuation de certains facteurs climatiques, principalement de la précipitation, de l'ensoleillement et de la température, puisqu'ils poussent dans les mêmes conditions. Il faut signaler que la production et la composition de l'HE dépendent de la composante génétique des plantes et des facteurs écologiques de la zone [249], ce qui explique une grande partie de la controverse entre les résultats obtenus par différents chercheurs.

Selon nos résultats, il semble que la composition chimique de l'HE d'*A.herba-alba* varie considérablement avec la date de récolte de la plante. Les HE d'*A.herba-alba* pourraient être divisés en trois chémotypes selon les principaux constituants:

1. Chémotype davana éther caractérisant la saison d'été (phase végétative tardive).
2. Chémotype corymbolone caractérisant la saison d'hiver (phase de floraison).
3. Chémotype davanone caractérisant la saison de printemps (stade végétatif précoce).

Tableau 5.1 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes d'*A. herba-alba* selon la date de récolte

Composés	tr (min)	(%)		
		Eté	Hiver	Printemps
Santolinatriene	7,34	0,09	0,63	0,50
Cyclohexanol, 1-acetyl-2-ethylidene-	7,38	0,02	0,02	0,04
Ketone, 1,5-dimethyl bicyclo[2.1.0]pent-5-yl methyl	7,53	0,02	0,02	0,10
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (±)-	7,72	0,01	0,00	0,06
3,3-Dimethyl-hepta-4,5-dien-2-ol	8,36	0,28	0,31	0,58
3-Carene	8,46	0,41	0,11	1,55
γ-terpinen	9,19	0,03	0,02	0,21
1S-à-Pinene	9,72	0,18	0,63	1,37
2-Propenal, 2-methyl-, diethylhydrazone	9,97	0,01	0,00	0,03
o-cymene	10,71	0,07	0,44	0,23
2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-	10,87	0,56	0,06	2,44
2,3-dimethyl-1,3-Pentadiene	11,01	0,00	0,00	0,06
2(3H)-Furanone, 5-ethenyldihydro-5-methyl-	11,05	0,00	0,03	0,00
Bicyclo[3.1.1]heptan-endo-6-ol, syn-7-bromo-	12	0,00	0,02	0,00
6-Hepten-2-ol, 4-methylene	12,02	0,00	0,00	0,07
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol, 6,6-dimethyl-	12,97	0,00	0,00	0,25
1,5-Cyclooctadiene, 1,3-dimethyl-	13,02	0,06	0,09	0,00
2,4-Hexadiene, 2,3-dimethyl-	13,37	0,01	0,00	1,66
Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1à,2à,5à)-	13,52	0,04	0,00	0,16
α-Campholenal	14,15	1,38	0,25	5,11
Thujol	14,55	0,00	0,09	0,20
3-Caren-10-al	14,69	0,09	0,00	0,00
α-Santoline alcohol	14,79	0,19	0,00	1,18
Cyclopentane, 2-methyl-1-methylene-3-(1-methylethenyl)-	14,95	0,05	0,00	0,00
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-carboxaldehyde, 6,6-dimethyl-	15,66	0,06	0,00	0,18
Isothujol	16,61	0,15	0,11	0,11
Bicyclo[3.1.1]hept-2-en-6-ol, 2,7,7-trimethyl-, acetate, [1S-(1à,5à,6à)]-	17,61	0,04	0,00	0,04
3-Ethenyl-1,2-dimethyl-1,4-cyclohexadiene	18,05	0,19	0,00	0,07
2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2,4-pentadienyl)-, (Z)-	18,2	0,00	0,00	0,07
Aceticacid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester	18,41	0,38	0,00	0,41
à-Cubebene	21,73	0,63	0,86	0,23

(%)				
Composés	tr (min)	Eté	Hiver	Printemps
2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2-pentenyl)-, (Z)-	22,54	0,00	1,77	0,13
(1,2,3-Trimethyl-cyclopent-2-enyl)-methanol	23,24	2,15	0,89	0,00
Caryophyllene	23,46	0,16	0,15	0,17
7-Octylidenebicyclo[4.1.0]heptane	25,61	0,89	0,00	0,42
Spiro-1-(cyclohex-2-ene)-2'-(5'-oxabicyclo[2.1.0]pentane), 1',4'	25,69	0,00	1,28	0,00
ç-Muurolene	26,07	0,00	0,70	0,00
Isoledene	26,1	0,00	0,00	2,65
1-[3-(2,6,6-Trimethyl-cyclohex-2-enyl)-4,5-dihydro-3H-pyrazol-4-yl]-ethanone	26,19	0,00	1,28	0,00
Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1à,4aà,8aà)-	26,76	0,00	0,54	0,95
Davana ether	27,51	65,51	29,44	8,69
2,3,4,5-Tetramethylcyclopent-2-en-1-ol	27,89	0,00	0,00	0,38
2(1H)-Naphthalenone,4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-6-[1-(hydroxymethyl)ethenyl]-4,8a-dimethyl-, [4ar-(4aà,6à,8aá)]-	28,98	0,00	0,51	0,19
1-Oxetan-2-one, 4,4-diethyl-3-methylene-	29,11	0,00	0,47	0,00
Desconegut	29,82	0,00	0,00	0,47
Spathulenol	30,42	13,59	0,00	0,00
Caryophyllene oxide	30,69	0,00	1,41	0,00
Perhydrocyclopropa[e]azulene-4,5,6-triol, 1,1,4,6-tetramethyl	30,91	3,66	0,00	0,00
Davanone C	31,46	0,00	0,00	67,65
Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-2-methoxy-5-methyl-	31,83	0,00	6,63	0,00
4,6,6-Trimethyl-2-(3-methylbuta-1,3-dienyl)-3-oxatricyclo[5.1.0.0(2,4)]octane	32,89	0,00	1,05	0,00
3-(2,6,6-Trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2-propenal	35,04	7,22	4,10	0,00
2,6-dimethyl-3,5-Heptadien-2-ol	13.58	0,15	0,14	0,48
1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol,decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1ar-(1aà,4aà,7á,7aá,7bà)]-	30.49	0,00	2,18	0,00
Corymbolone	31.37	0,00	40,99	0,00
Cyclobutanecarboxyli cacid, 2-methyloct-5-yn-4-yl ester	32.29	1,42	0,98	0,00
3-Chloropropionic acid, tridec-2-ynyl ester	36.01	0,00	1,03	0,00
Totale (%)		99,70	99,23	99,09

En étudiant l'huile essentielle d'*A. herba-alba* poussant dans quatre régions à l'Algérie (Benifouda; Bougaa; Boussaada and Boutaleb), BELHATTAB et al. [38] ont montré qu'elle est dominée par le camphre (17–33%), α -thujone (7–28%) et chrysanthène (4–19%), ce qui est différent des huiles essentielles d'*A. herba-alba* de Djelfa. Aussi la composition chimique des HE de l'armoise blanche de Djelfa est différente de façon significative de celle de l'HE de la région de M'sila qui est dominée par le camphre (19,4 %), le trans-pinocarveol (16,9 %), la chrysanthène (15,8 %) et la β -thujone (15 %) [250].

Quant à l'HE de l'armoise blanche de Matmata (Tunisie), elle est constituée principalement par l' α -thujone (43,85 %), le trans-acétate de sabinyle (17,46 %) et la β -thujone (10,10 %) accompagné du 1,8-cinéole (3,30 %), du chrysanthène (2,32 %) et de l'acétate de chrysanthényle (3,93 %) [251].

La présence de la davanone comme constituant majeur a été déjà mentionnée dans certaines populations d'*A. herba-alba* au Maroc [252] [253][254]. Une autre étude réalisée en Espagne sur six populations a montré que trois populations d'*Artemisia herba-alba*, ont un pourcentage (%) relativement élevé de la davanone (39,1% - 51,2%). Par contre, les trois populations restantes ont un pourcentage plus ou moins faible (18.1% - 29.1%) [256]. Egalement, la davanone a été décrite dans certaines populations d'*Artemisia pedemontana* de l'Espagne avec un pourcentage de 28.4% [255].

La composition majoritaire de notre HE des échantillons récoltés au mois de novembre caractérisée par la corymbolone, de davana de l'éther a confié à *A. herba alba* de l'hiver un chemotype au corymbolone, cette composé est identifiée, à notre connaissance, pour la première fois dans la composition chimique de cette plante. La corymbolone a été rapportée comme composé principale de l'huile d'*Artemisia alba* Tura récolté à la Serbie [259].

Toutefois, l'examen du chromatogramme regroupé aussi a permis de déterminer la présence d'éther de davana comme deuxième composant, en quantités appréciables, à la saison d'hiver (en pleine floraison) (29,44%) et à la saison de printemps (stade végétatif précoce) (8,69%).

Ainsi, le moment de la récolte de cette plante a des effets majeurs sur la composition chimique de l'HE. L'ontogenèse ou le stade de croissance de la plante a une relation très étroite avec l'accumulation de métabolites et le métabolisme secondaire et son orientation, et a une influence significative sur le rendement en huile et sa composition, qui varie d'une zone à l'autre et d'une plante à l'autre [260].

L'éther de davana a été trouvé à des concentrations élevées dans les HEs de novembre et de mai et constituait le composant principal dans l'HE de juillet avec le pourcentage le plus élevé (65,51 %). Cette composante n'a pas été trouvée dans d'autre huile essentielle algérienne d'*A. herba-alba* à de telles concentrations sauf dans l'HE originaire de Djelfa (8,80%) [261]. En Espagne et en Tunisie, L'éther de davana a été trouvé mais à des quantités moins importantes à celles trouvées dans cette étude [247] [256]. En Tunisie, trois isomères ont été trouvés [247], tandis qu'en Espagne deux isomères ont été identifiés [256], et au Maroc, quatre isomères ont été décrits dans l'huile d'*A. herba-alba* [262].

Les dissemblances notées sur la composition chimique de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* dans notre travail avec celles dans la littérature, que cela soit au niveau qualitatif ou bien quantitatif, peuvent être confirmées l'extraordinaire polymorphisme chimique de l'*Artemisia herba-alba*.

Il paraît évident que l'espèce *A. herba-alba* se caractérise par une variabilité intra-spécifique importante dans le profil chimique de ses huiles essentielles, ce polymorphisme intra-spécifique peut être d'origine géographique, génétique [257] [258], saisonnière [30] ou même écologique (sol, humidité, etc..).

5.2.2. Analyses chromatographiques de l'HE d'*A. campestris* :

La composition de l'huile essentielle d'*A. campestris*, ainsi que les indices de rétention et les données quantitatives figurent dans le tableau 5.2 et sur la figure 5.3.

Au total, 39 composés, qui couvrent plus de 96% de la surface totale intégrée du pic GC, ont été identifiés.

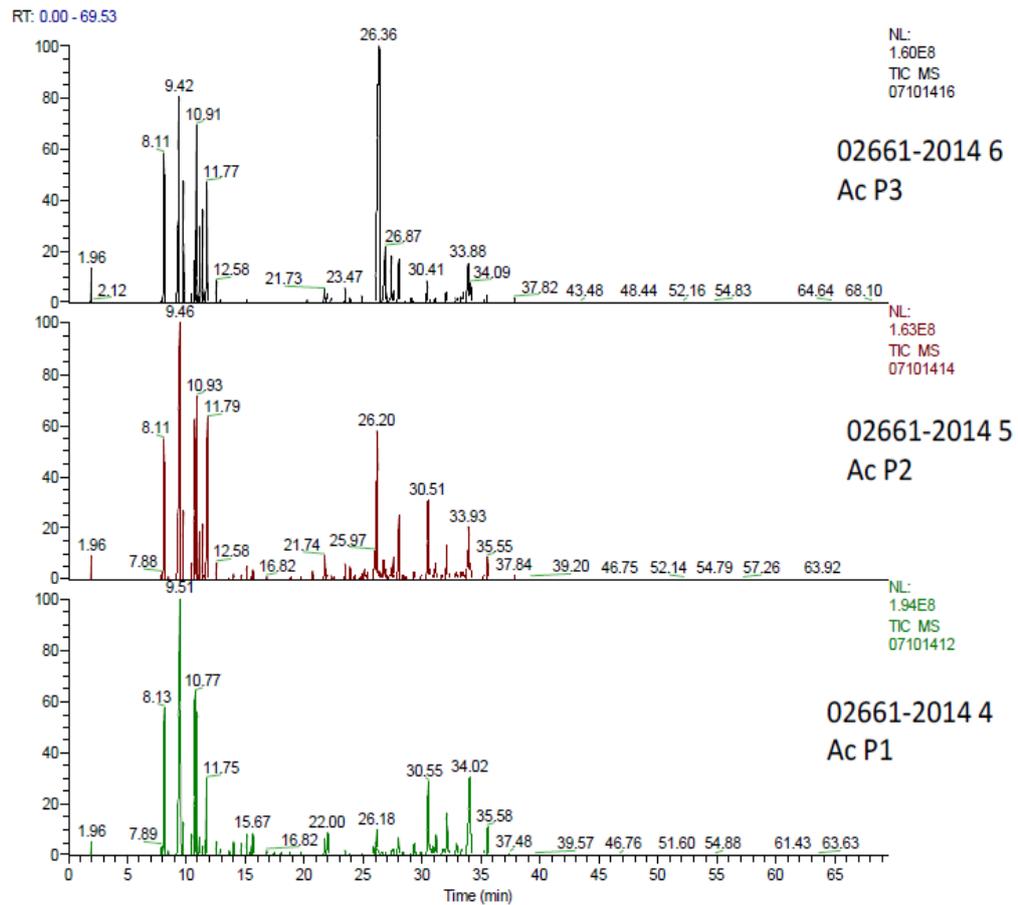


Figure 5.3 : Chromatogrammes obtenus par les HEs d'*A.campestris*

Ac P1 : Plantes récoltées à l'été, Ac P2 : Plantes récoltées à l'hiver, Ac P3 : Plantes récoltées au printemps

La comparaison des données analytiques a révélé des différences quantitatives et qualitatives notables entre les échantillons d'huile. Trente-cinq composantes représentant 96,95% de la composition totale ont été identifiées en été (stade végétatif tardif). Les principaux constituants de cette huile étaient l' α -Pinène (39,71%), l'Eudesmol (10,94%), le o-Cymène (10,2%), le Santolinatriène (7,36%), (-) - Spathulenol (6,98%), cis-Lanceol (3,69%), τ -Terpinène (2,63%). Pour les échantillons recueillis en hiver (stade de floraison), 34 composés ont été identifiés, les représentent 99,12% des composants totaux avec α -Pinène (29,55%), τ -Muurolene (9,54%), santolinatriène (9,26%), T-Gurjunene (8,67%), o-Cymene (8,38%), τ -Terpinène (6,3%), (-) - Spathulenol (5,74%), (-) - Isoledène

(4,1%), 3-Carène (3,93%), α -Eudesmol (3,51%), cis-Lanceol (2,65%) ont été identifiés. Au printemps (stade végétatif précoce), 32 composés représentant 99,48% des composants totaux ont été identifiés, dont τ -Muurolene (37,12%), α -Pinene (23,95%), 3-Carène (8,8 %), Santolinatriene (8,55%), τ -Gurjunene (3,23%), α -Farnesene (2,61%), α -Eudesmol (2,45%), β -Cadinène (2,26%).

Tableau 5.2 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes d'*A.campestris* selon la date de récolte

(%)				
Composés	tr (min)	Eté	Hiver	Printemps
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-, (\pm)-	7,72	0,02	0,01	0,01
Camphene	8,47	0,07	0,15	0,04
α -Pinene	9,51	39,71	29,55	23,95
α -Phellandrene	10,11	0,42	0,23	0,11
Terpinolen	10,47	0,67	0,44	0,23
o-Cymene	10,77	10,2	8,38	1,51
Santolinatriene	10,92	7,36	9,26	8,55
3-Carene	11,42	1,33	3,93	8,8
τ -Terpinen	11,75	2,63	6,3	4
Cyclohexene, 4-methyl-3-(1-methylethylidene)-	12,58	0,50	0,49	0,6
1,7,7-Trimethylbicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-ol	13,64	0,14	0,05	0,01
(-)-cis-Sabinol	14,04	0,43	0,14	0,01
Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1 \grave{a} ,2 \grave{a} ,5 \grave{a})-	15,17	0,98	0,49	0,09
p-Mentha-2,4(8)-diene	15,54	0,3	0,09	0,03
Myrtenal \pm	15,67	0,71	0,25	0,02
Myrtenol	15,71	0,33	0,03	0
1,4-Pentadiene, 3-methyl-	16,82	0,15	0,08	0,06
3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 1,3,4-trimethyl-	18,04	0,14	0,05	0,01
2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	18,87	0,15	0,07	0,02
1,5-Decadiyne	19,76	0,15	0,07	0,03
τ -Muurolene	21,74	1,62	9,54	37,12

(%)				
Composés	tr (min)	Eté	Hiver	Printemps
(+)-Camphene	22	1,22	0,21	0,4
α -Cubebene	23,85	0,17	0,84	0,24
α -Gurjunene	24,87	0,13	0,47	0,31
(-)-Isoledene	26,10	0,73	4,1	0
(+)-Cuparene	26,18	1,22	0	0
τ -Himachalene	26,27	0,25	0,35	0
τ -Gurjunene	26,87	0	0	3,23
α -Muurolene	26,93	0,12	8,67	0,29
α -Farnesene	27,42	0	0	2,61
β -Cadinene	28,03	0	0	2,26
Davanaether	28,32	0,26	1,03	0
Tricyclo[5.2.2.0(1,6)]undecan-3-ol, 2-methylene-6,8,8-trimethyl-	29,36 0	0,78	0,37	0
Elemene	29,93	0,31	0,28	0
(-)-Spathulenol	30,55	6,98	5,74	1,23
cis-Lanceol	32,08	3,69	2,65	0,6
α -Eudesmol	34,02	10,94	3,51	2,45
6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2-ol	35,58	2,14	1,3	0,41
5-Methoxy-2,2,6-trimethyl-1-(3-methyl-buta-1,3-dienyl)-7-oxabicyclo[4.1.0]heptanes	37,82	0	0	0,25
Totale (%)		96,95	99,12	99,48

Selon nos résultats, il semble que la composition chimique de l'HE d'*A.campestris* varie de façon significative avec le stade physiologique de la plante. Les HE d'*A.campestris* pourraient être divisés en trois groupes selon les principaux constituants:

[1] α -Pinene> α -Eudesmol> o-Cymene>Santolinatriene> (-) - Spathulenol> cis-Lanceol> τ -Terpinène.

[2] α -Pinene> τ -Muurolene>santolinatriene> τ -Gurjunene> o-Cymene> τ -Terpinène> (-) - Spathulenol> (-) - Isoledène> 3-Carène> α -Eudesmol> cis-Lanceol

[3] τ -Muurolene> α -Pinene> 3-Carène>Santolinatriene> τ -Gurjunene> α -Farnesene> α -Eudesmol> β -Cadinene

L' α -Pinène était le composant le plus abondant pour les échantillons prélevés en été et en hiver (39,71%, 29,55% respectivement). Plusieurs auteurs ont signalé la présence d' α -pinène comme constituant majeur des huiles d'*A. campestris* [47] [53][61] [62][263].

Dans cette étude, il a été constaté que le τ -Muuroolene constitue le composé majoritaire de l'HE des plantes prélevées au printemps. L'apparition de τ -Muuroolene avec une quantité importante dans notre étude (37,12%) a différencié *A. campestris* du Djelfa de celles poussant dans d'autres régions de l'Algérie.

La comparaison de la composition chimique de l'huile essentielle d'*A. campestris* du printemps aux études antérieures nous permet de conclure qu'il existe un nouveau chemotype algérien d'*A. campestris* (chemotype de τ -Muuroolene).

BELHATTAB et al [59] ont analysé aussi l'huile essentielle d'*A. campestris* mais de la région de Boussaada durant la phase de la floraison. Ils ont identifié 58 composants dont les principaux étaient l'acétate d' α -terpenyl (19%) et l' α -pinène (18%), le camphre (9%), le camphène (8%), le limonène (5%) et le borneol (5%). La comparaison de nos résultats à ceux de BELHATTAB et al [59], nous permet de noter une grande dissemblance sur la composition chimique de l'huile essentielle d'*A. campestris* de la région de Djelfa et celle de Boussaada, que cela soit au niveau qualitatif ou bien quantitatif.

Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par AKROUT et al., [63] qui ont analysé la composition chimique des huiles essentielles d'*A. campestris* L collectées dans différentes régions de la Tunisie, à différentes périodes de végétation. Ils ont trouvé 48 constituants avec une prédominance de β -pinene (24.0-49.8%), α -pinene (5.9-12.5%), p-cymene (3.4-9.4%), limonene (4.9-9.3%), (Z)- β -ocimene (0.2-5.5%) and γ -terpinene (2.0-6.5%) avec une dominance des composants monoterpéniques et la présence des hydrocarbures sesquiterpéniques et ses dérivés oxygénés.

JUTEAU et al. [53] ont étudié les variations chimiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* var. *La glutinosa* récolté en France à différents stades phénologiques. Ils ont identifié 51 composants dont les principaux étaient le γ -terpinène, le capillène, le 1-phényl-2,4-pentadiène, le spathulenol, le méthyléugénol, le p-cymène et le β -pinène.

BELLOMARIA et al., [71] ont analysé la composition de l'HE d'*A. campestris* L. subsp. récolté dans différentes régions d'Italie, ils ont révélé l'existence des composants suivants: β -pinène (6,9-57,2%), germacrène D (5,9-28,6%), bicyclogermacrène (3,9 à 14,5%), myrcène (3,8 à 11,2%) et α -pinène (5,3-9,2%).

En Iran, les huiles extraites des parties aériennes d'*A. campestris* ont été prédominées par le spathulenol (15,8-29,2%), l' α -pinène (23-29,2%), le β -pinène (4,5 -12,6%) et bicyclogermacrène (9,1-12%) [75].

Les huiles essentielles d'*A. campestris* L. subsp. *campestris* recueillies dans de nombreuses régions de la Lituanie au stade de la floraison ont été caractérisées par: l'oxyde de caryophyllène (3,7-38,8%), le germacrène D (3,8-31,2%), le γ -curcumène (4-14,8%), le β -pinène (3,9-13,8%), l' α -pinène (4-11,4%) et l'époxyde d'humulène II (3,7-11,7%) [74][264].

L'huile essentielle d'*A. campestris* L. subsp. *campestris* de Pologne est principalement dominée par (Z)-falcariol (19-38,8%), germacrène D (9,7-28%) et γ -humulène (4-8,2%) [256][72].

D'après ces résultats, on remarque que la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *A. campestris* récoltée à Djelfa est différente de celles rapportées par divers travaux sur la même espèce dans différentes régions du monde, avec une prédominance des composés monoterpéniques dans la plupart des cas, mais à des proportions différentes. Cette différence de composition est due probablement à diverses conditions notamment stade phénologique, de la partie de la plante, de la localisation géographique, du chemotype ou de la sous-espèce. Par conséquent, l'huile essentielle d'*A. campestris* présentait divers chemotypes, principalement corrélés à l'origine géographique de la plante et aux sous-espèces étudiées.

5.3. Les composés phénoliques

L'analyse quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des extraits phénoliques a été réalisée par la procédure décrite précédemment, en se référant à des étalons tels que l'acide tannique (phénols totaux) et la quercétine (flavonoïdes). La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligrammes d'équivalence d'acide tannique et ou de quercétine par grammes d'extrait.

5.3.1. Les phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux contenus dans les différents extraits ont été déterminées en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide tannique (mg EAT/g MS).

Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux et flavonoïdes totale montrent que les extraits des trois saisons (été, hiver et printemps) des deux espèces d'*Artemisia* renferment des quantités appréciables de phénols et de flavonoïdes dans des proportions différentes.

5.3.2.1. Effet de la saison sur la teneur en polyphénols d'*A. herba-alba*

Les résultats de l'estimation quantitative des phénols dans les parties aériennes d'*A. herba-alba* pour les différentes dates de récolte sont donnés au niveau de la figure 5.4. La teneur en composés phénoliques varie de manière significative avec la période de récolte.



Figure 5.4 : Teneurs en polyphénols des extraits d'*A.herba- alba* en fonction de la période de récolte

La quantification des phénols totaux, laisse apparaître que la plus grande teneur d'*A.herba-alba* en (PhT) est enregistrée pour la saison d'été ($514,5 \pm 141,95$ mg / g MS) alors que la teneur la plus basse a été détectée chez les échantillons d'*A.herba alba* collectés en hiver ($264,87 \pm 47,74$ mg / g MS). Une diminution significative des quantités de phénols a été observée durant la saison de printemps (au stade végétatif précoce) avec $257,10 \pm 87,30$ mg / g de MS. SELLAMI et al.[58] ont rapporté que la plus forte accumulation de composés phénoliques a été enregistrée au stade végétatif tardif d'*Origanum majorana*. Ces résultats suggèrent que la phase végétative tardive (collecte d'été) pourrait être caractérisée par la période de croissance maximale de cette plante. En fait, lors de la phase végétative tardive, la plante accumulera des composés phénoliques pour se préparer au processus de lignification afin de ralentir sa croissance. D'autre part, le pic opposé de l'accumulation d'HE et de phénoliques au stade végétatif tardive peut être dû au fait qu'au cours de cette étape, la protection des plantes est principalement assurée par des composés phénoliques fortement accumulés au cours de cette étape [266].

Alors que dans d'autres études dont les variations saisonnières des composés phénoliques ont été étudiées chez plusieurs espèces telles que *Boerhavia diffusa*, *Sida cordifolia* [267], *Hypericum pruinatum* [268], *Thymra spicata* et *Satureja thymra* [269], ces chercheurs ont trouvé que la production

maximale de composés phénoliques a enregistrée durant la phase de la floraison.

En ce qui concerne ces variations dans l'accumulation de métabolites secondaires des plantes d'*A.herba-alba*, on peut conclure que la saison de collecte a un effet significatif sur ces composés.

LAQUINI et al.,[270] qui ont étudiés l'influence de type du solvant d'extraction sur le contenu phénolique de l'*Artemisia herba-alba* d'El Oued. Ils ont montrés une différence de rendement: Ethyle acétate (92.29), Butanol (75.64), eau (61.55), chloroforme (52.94). Il est à noter que l'*A.herba-alba* de Djelfa est significativement plus riche en polyphénols que d'*A.herba-alba* d'El Oued.

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par KHLIFI et al. [44], DJERIDANE et al.,[42], DJERIDANE et al., [5]. Ces auteurs ont montrés que la teneur de l'extrait méthanolique d'*A.herba-alba* en (PhT) est de 123.95 g/kg, 13.06 mg/g, 35.8 mg/g respectivement. Alors que l'analyse de nos extraits méthanoliques fait apparaitre que l'*A.herba-alba* de la région de Djelfa est significativement plus riche en (PhT).

On observe ainsi des différences importantes dans le contenu polyphénoliques de l'espèce d'*A.herba-alba* citée dans la littérature avec nos échantillons d'*A. herba-alba*.

La concentration en PhT de l'*A.herba-alba* de Djelfa pour les trois périodes de collecte est plus élevée que l'*A.herba-alba* de Laghouat [42][5], d'El-oued [270] et de la Tunisie [44].

5.3.1.2. Effet de la saison sur le rendement en polyphénols d'*A.campestris*

Les résultats de la quantification des polyphénols totaux des parties aériennes d'*A. campestris* durant les trois périodes de collecte sont présentés dans la Figure 5.5.

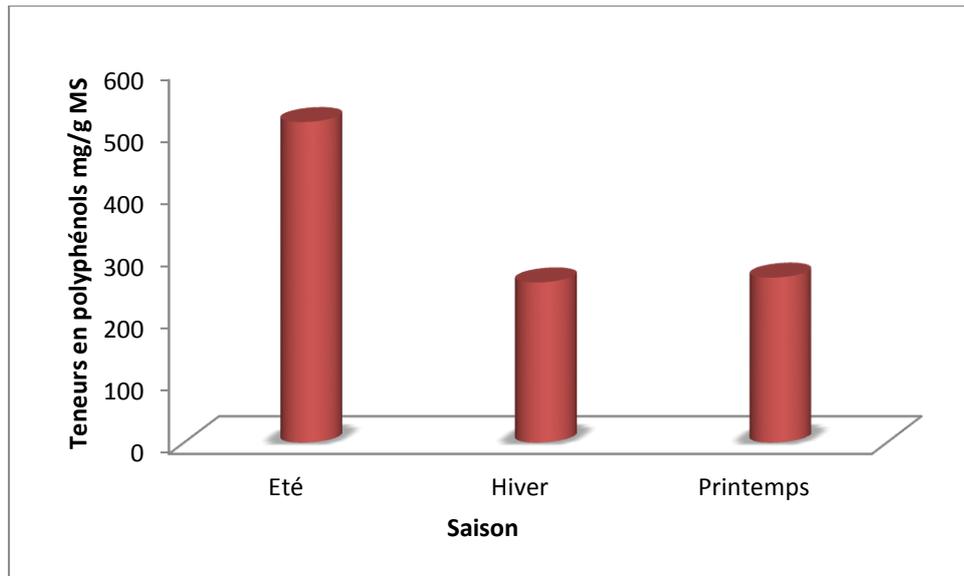


Figure 5.5 : Teneurs en polyphénols des extraits d'*A. campestris* en fonction de la période de récolte

La concentration en polyphénols varie de 278,91 à 956,51 mg EAT/g MS. Parmi les extraits méthanoliques d'*A. campestris*, ceux d'été contenaient la teneur en polyphénols totaux la plus élevée ; elle est 3 fois plus importante que celle de printemps.

Le taux des polyphénols le plus élevée a été obtenu pour les échantillons de l'armoise champêtre récoltés au mois de juillet (l'Eté) (956,51mg EAT/g MS) par rapport à ceux obtenus au cours des collectes des mois de novembre et mai qui sont respectivement de 470,41 et 278,91 EAT/g MS. La valeur des phénols totaux pour l'extrait de mois de juillet est importante. Elle est plus élevée que les celles mis en évidence par BAKCHICHE et al., [271], (53,84 $\mu\text{g}/\text{mg}$) et par DJERIDANE et al [42]., (38 mg/g) qui ont fait l'estimation des phénols d'*A. campestris* originaire de Laghouat. Les taux des polyphénols de tous les extraits méthanoliques de notre plante sont beaucoup plus élevée que celle trouvée par MEGDICHE-KSOURI et al.,[9] avec 158.75 mg GAE/g pour l'*A. campestris* de Tunisie.

Les valeurs que nous avons obtenues sont plus élevées que ceux d'*Artemisia vulgaris* [272], d'*Artemisia herba-alba* et d'*Artemisia arborescens* [5]

qui est respectivement de 135, 35.8, 16.7 (mg EAG/g). Cette différence en polyphénols entre les armoises peut être expliquée par l'espèce et l'effet du stade végétatif de la plante et les conditions climatiques et édaphiques de la région.

Le contenu des extraits testés dans cette étude témoigne bien sur la richesse de l'*A.campestris* en composés phénoliques.

5.3.2. Les flavonoïdes

5.3.2.1. Effet de la saison sur le rendement en flavonoïdes d'*A.campestris*

L'extrait des échantillons récoltés durant l'été (juillet) possède la plus haute teneur en flavonoïdes (15,26 mg/g), suivi par les extraits de l'hiver (10,55 mg/g). L'extrait des parties aériennes de l'*A.campestris* recueillies pendant le printemps a montré la plus faible teneur en flavonoïdes (7,49 mg/g) (Figure 5.6).

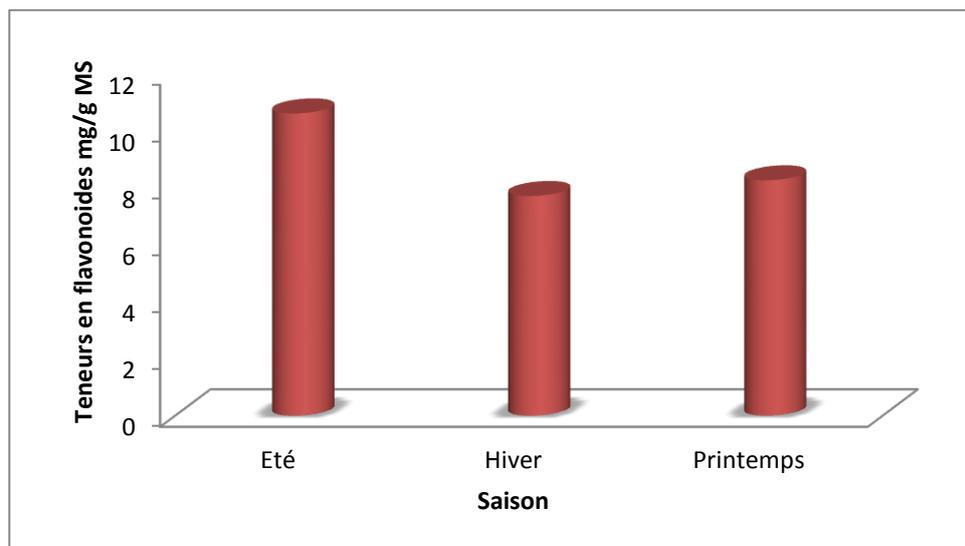


Figure 5.6 : Teneurs en flavonoïdes des extraits d'*A.campestris* en fonction de la période de récolte

Le taux en flavonoïdes dans les trois extraits est plus élevé que ceux trouvés par DJERIDANE et al.,[42] qui ont trouvé que les teneurs en flavonoïdes de l'*A.campestris*, *A. arboresens*, *A.herba alba* sont de l'ordre de 5, 3, 6 mg/g MS respectivement. Aussi, par comparaison de nos résultats à ceux trouvés par

DJERIDANE et al., [5], on note que tous les extraits d'*A.campestris* (été, hiver , printemps) de Djelfa sont plus riches en flavonoïdes que ceux d'*A.campestris* de Laghouat (7.46 mg/g).

Cependant nos valeurs sont inférieures aux teneurs enregistrées par AKROUT et al.,[272] (56.3 µg/mg) et par MEGDICHE-KSOURI et al.,[9] (175.23 mg/g) dans l'extrait méthanolique de l'*A.campestris* de Tunisie.

A partir de ces données, on peut déduire que les flavonoïdes ne représentent pas la fraction majoritaire des polyphénols totaux dans les trois extraits.

5.3.2.2. Effet de la saison sur le rendement en flavonoides d'*A.herba-alba*

L'extrait d'*A.herba-alba* collecté durant l'été est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de 10,61 mg/g et suivi par l'extrait méthanolique de printemps avec 8,27 mg/g. l'extrait de l'hiver contient la plus faible teneur en flavonoïdes (7,72 mg/g) (Figure 5.7).

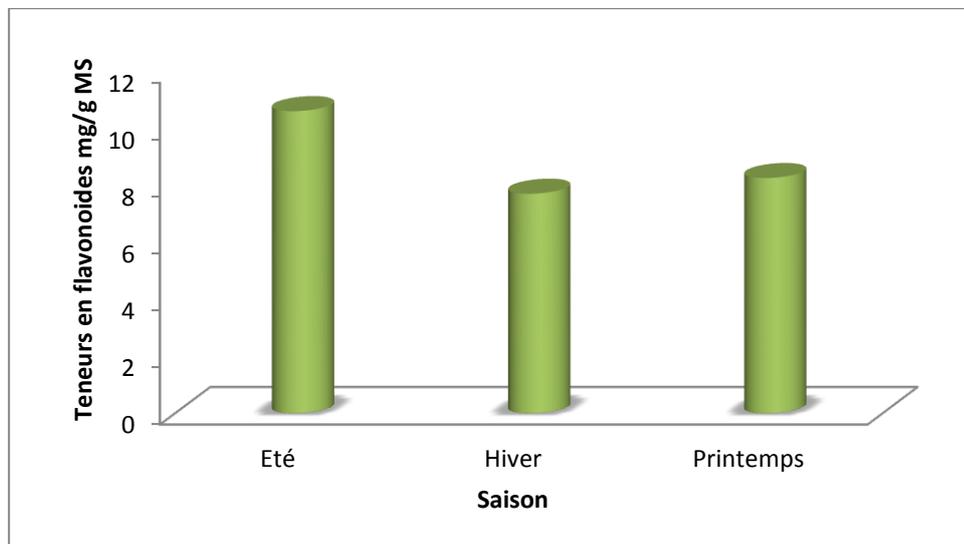


Figure 5.7 : Teneurs en flavonoides des extraits d'*A.herba-alba* en fonction de la période de récolte

Les travaux sur *A.herba-alba* de DJERIDANE et al., [42][5] sont proches de nos résultats avec 11.31 ± 0.51 mg/g, 6 mg/g.

Par contre, les taux de flavonoïdes de nos l'extraits d'*A. herba-alba* sont plus faibles par rapport à ce qui a été obtenu par KHLIFI et al.,[44].

LAOUINI et al.,[270] ont trouvé un taux de flavonoïde important dans les extraits d'*A. herba-alba*, soit six fois plus que ce que nous avons obtenu.

Ces différences peuvent être attribuables aux différences dans les conditions climatiques (température, exposition au soleil, sécheresse, saison de croissance) entre notre zone de prélèvement et les autres régions.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une espèce à une autre. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs dont nous citons les facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc ; le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante.

Il a été prouvé que leurs teneurs et celles des flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre [273].

La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux.

Le dosage de composés phénoliques totaux des deux plantes a révélé une teneur importante en polyphénols. On note que les phénols sont abondants dans les extraits des feuilles d'*A.campestris* plus que chez celles d'*A.herba-alba*. En outre, le taux des flavonoïdes des deux plantes reste minime par rapport au taux total de polyphénols.

Comme on peut constater que les extraits de l'été, que ce soit pour l'*A.campestris* ou pour l'*A.herba-alba* représentent le taux le plus élevé en polyphénols et la quantité la plus importante en flavonoïdes. Donc, la saison de l'été doit être favorisée si notre objectif est les polyphénols.

5.4. Identification des composés phénoliques par HPLC

5.4.1. Identification des composés phénoliques d'*A.herba-alba*

L'identification a été effectuée sur la base de leur temps de rétention, de leur absorption au UV-vis et de leurs spectres de masse à la sortie de la colonne et en tenant compte des bases de données et de la littérature.

Les composés contenus dans les plantes récoltées sont identifiés par comparaison des temps de retentions des standards avec les composés des différents chromatogrammes. L'ensemble des résultats sont représentés dans le tableau 5.3 et la figure 5.8.

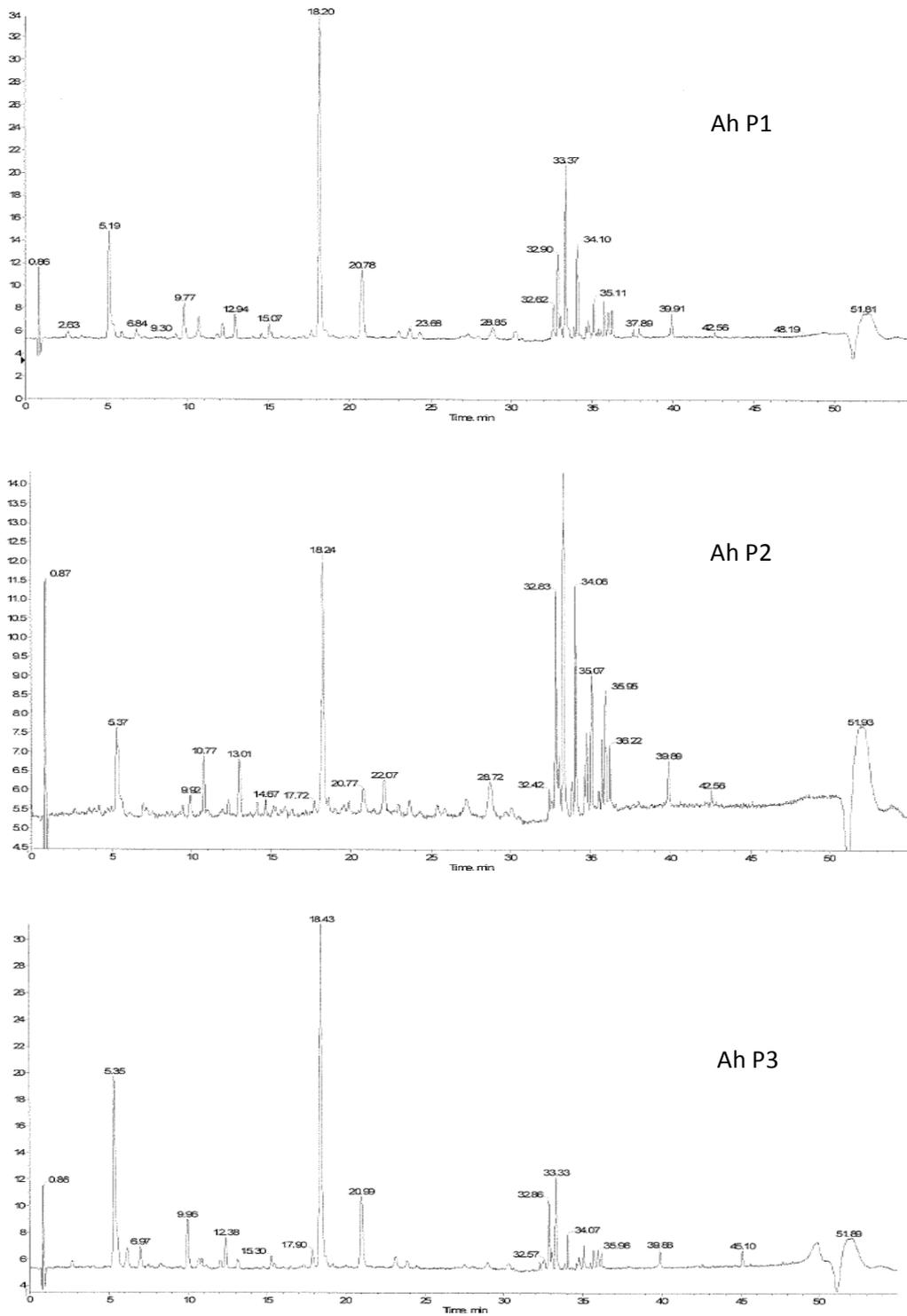


Figure 5.8 : Chromatogrammes UV ($\lambda=365$ nm) des extraits méthanoliques d'*A. herba-alba*

Ah P1 : Plantes récoltées à l'été, Ah P2 : Plantes récoltées à l'hiver, Ah P3 : Plantes récoltées au printemps

Tableau 5.3 : Composés phénoliques identifiés par HPLC / ESI-MS dans les extraits d'*Artemisia herba-alba*.

RT (min)	m/z	SM	Désignation	Références
5,19	353	191,173	Acide 3-caffeoylquinique	Std
6,14	353	191, 179, 173, 135	Acide 4-caféoylquinique	Std
6,96	429		ND	
9,78	367	193, 191, 173, 134,93	Acide féruloylquinique 1	[299]
12,1	367	193,191, 173	Acide féruloylquinique 2	[299]
12,38	355	193, 149, 134	Feruloyl glucoside	Std
10,67	593	473, 383,353	vicenin-2	[298]
12,94	563	545, 503, 473, 443, 443, 383	Isoschaftoside	[298]
15,07	431	341, 311, 283	Vitexin	[298]
18,2	515	353, 191, 179, 173,135	Acide dicaféoylquinique 2	Std
20,77	515	353, 191, 179, 173, 135	Acide dicaféoylquinique 3	Std
28,72	315	300	5,3'-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavanone	[301]
28,85	315		ND	
30,3	345	330, 315, 287, 259	Tomentin	[299]
32,83	299	284, 228, 136	Chrysoeriol	[300]
32,62	677	515, 353,173	Acide 3, 4,5-tricaffeoylquinique	[298]
32,89	299	284, 137	Tectorigénine	[301]
33,07	299	284	ND	
33,32	329	314, 299, 285, 271	Cirsiliol	[301]
33,37	329	314, 299, 285, 271	Iristectorigénine A	[301]
33,9	329	314, 299, 285, 271, 268, 243	Iristectorigénine B	[301]

RT (min)	m/z	SM	Désignation	Références
34,11	359	344, 329, 314, 301	Irigenin	[301]
34,75	313	298, 283, 269, 255	Cirsimaritin	[297]
34,8	313	298, 283, 269, 255	ND	
35,07	343	328, 313, 298, 270	Cirsilineol	[301]
35,11	343	328, 313, 299, 285	Skullcapflavon I	[298]
35,54	343	328, 313, 299, 285	5,7-dihydroxy-3',4',5'-trimethoxyflavone	[297]
35,77	373	358, 343, 328, 315	skullcapflavon II	[298]
36	283	268, 239	Acacétin	[296]
36,25	313	298, 283, 270, 255	Crysoeriol-méthyl-ether	[295]
39,92	417		ND	

Un total de 26 composés phénoliques ont été identifiés dans les extraits méthanoliques d'*A.herba-alba*, dont 12 (Vitexin, Tomentin, 5,3'-dihydroxy-7,4'-diméthoxyflavanone, Chrysoeriol, Tectorigenin, Iristectorigenin A, Iristectorigenin B, Irigenin, Skullcapflavon I, Skullcapflavon II, Cirsiliol, Crysoeriol-méthyléther) ont été identifiés pour la première fois pour cette plante. Les substances étaient 8 acides phénoliques, 12 flavone, 4 isoflavones, 1 flavonol et 1 flavanone.

Dans une étude précédente, vicenin-2, isoschaftoside, cirsilineol, Cirsimaritin, Acacétin ont été identifiés dans des extraits de l'*A.herba-alba* recueillis dans le Sinaï [39][41].

L'acide ferulique a été identifié dans l'*A.herba-alba* et dans d'autres espèces d'*Artemisia* [5].

3, 5; 5-tricaffeoylquinique acide, 3; 5-dicaffeoylquinique acide, 3-caffeoylquinique acide ont été détectés précédemment chez l'*A.herba-alba* dans l'étude de DAHMANI-HAMZAOUI et al., [274]. Les acides caffeoylquiniques ont été identifiés pour plusieurs espèces d'*Artemisia* [9].

Le chrysoeriol a été signalé la première fois pour cette espèce. Ce composé a été détecté chez l'*Artemisia frigidu* [41].

Le cirsiliol a été étudié chez l'*Artemisia annua* et chez l'*Artemisia campestris* [9] et, il a été décrit pour la première fois chez cette espèce.

5.4.2. Effet de la variation saisonnière sur la composition chimique des polyphénols d'*A.herba-alba*

La variation qualitative et quantitative des composés phénoliques enregistrée au cours des trois périodes de récolte est donnée dans le tableau 5.4.

Les résultats ont montré que pendant toutes les périodes de récolte l'acide dicaffeoylquinine et dérivés sont prédominants dans tous les extraits d'*A.herba-alba*. Ces résultats sont en accord avec ceux de CARVALHO et al. [275] qui ont rapporté que les acides hydroxycinnamiques à laquelle ils appartiennent les acides caféoylquinique étaient les acides les plus dominants dans les feuilles de six espèces d'*Artemisia* : *A. annua*, *A. arborescens*, *A. ludoviciana*, *A. oleandica*, *A. princeps* et *A. stelleriana*.

La teneur en acides caféoylquinique a montré une sévère diminution de 12 600 µg / g de MS enregistrée à la saison d'été (stade végétatif tardif) pour obtenir une valeur de 3 000 µg / g de MS à la saison de l'hiver (la floraison), puis elle a augmenté pour atteindre la quantité de 13 100 µg / g de MS à la saison de printemps (le stade végétatif précoce).

Les concentrations des acides hydroxycinnamiques dans l'*A. herba-alba* enregistrées au cours les trois dates de prélèvement étaient beaucoup plus élevées que celles rapportées par CARVALHO et al.[275] chez les six espèces d'*Artémisia*.

SELLAMI et al.[266] ont signalé des quantités élevées de dimère d'acide caféique au stade végétatif tardif de *O. majorana*.

Nos résultats montrent que la phase de floraison a été caractérisée par les plus hauts niveaux de flavonoïdes (8300 µg / g de MS) et les plus faibles teneurs en acides phénoliques (3000 µg / g de MS), tandis que le stade végétatif précoce a été caractérisé par le plus faible contenu des flavonoïdes (4 900 µg / g de MS) et les plus hauts niveaux d'acides phénoliques (14 200 µg / g MS). Ces résultats sont en accord avec ceux de PAPAGEORGIU et al. [276] et SELLAMI et

al.[266] qui ont signalé que les flavonoïdes étaient prédominants lors de la floraison d'*O. majorana*.

SKRZYPCZAK-PIETRASZEK et al. [277], ont été étudié l'effet de la variation saisonnière de la teneur en acide phénolique du *Melittis melissophyllum* L. ont signalé que la quantité des flavonoïdes la plus basse caractérise le début de la période végétative et augmente pendant la saison d'été pour atteindre la quantité la plus élevée à la fin du cycle phénologique. Nos résultats pour les flavonoïdes d'*A.herba-alba* sont proches.

D'autre part, TAN et al., [278] qui ont étudié l'espèce asiatique -*Artemisia scoparia* – ils ont obtenus des résultats opposés: le plus bas contenu des acides phénoliques et le plus haut niveau de flavonoïdes ont été enregistrés à la fin de la période végétative.

Tableau 5.4 : Composition phénolique des extraits méthanoliques d'*A.herba-alba* selon la période de récolte.

N°	Composés	Eté	Hiver	Printemps
		µg / g de MS		
	Acides phénoliques			
1	Acide 3-cafféoylquinique	2800	800	4400
2	L'acide 4-caféoylquinique	0	0	500
4	Acide féruloylquinique 1	800	0	900
5	Acide Feruloylquinique 2	0	0	200
6	Feruloyle glucoside	0	0	600
7	Acide dicaféoylquinique 2	7200	1900	8200
8	Acide dicaféoylquinique 3	1800	300	0
9	Acide 3,4,5-tricaféoylquinique	800	0	0
	Flavones C-glycosyl			
10	vicenin-2	400	400	0
11	Isoschaftoside	700	500	300
12	Vitexin	400	0	300
	Flavonol aglycone			
13	Tomentin	0	0	300
	Flavanone aglycone			
14	5,3'-dihydroxy-7,4'-diméthoxyflavanone	0	500	0
15	Chrysoeriol	0	1100	900

N°	Composés	Eté	Hiver	Printemps
		µg / g de MS		
	Isoflavones aglycone			
16	Tectorigenin	1300	400	300
17	Iristectorigenin A	200	0	1200
18	Iristectorigenin B	200	0	0
19	Irigenin	1300	1000	400
	Flavone aglycone			
20	Cirsiliol	0	1800	0
21	Cirsimaritin	0	400	0
22	Skullcapflavone I	600	0	300
23	5,7-dihydroxy-3',4',5'-trimethoxyflavone	200	0	0
24	Cirsilineol	0	800	0
25	skullcapflavone II	200	400	300
26	Acacetin	400	600	300
27	Crysoeriol-methyl-ether	400	400	300
	Acides phénoliques	13 400	3 000	14 200
	Flavones C-glycosyl	1 500	900	600
	Flavones aglycone	1 800	4 400	1 200
	Isoflavones aglycone	3 000	1 400	1 900
	Flavonol aglycone	0	0	300
	Flavanone aglycone	0	500	0
	Flavonoides aglycone	4 800	7 400	4 300
	Flavonoides C-glycosyl	1 500	900	600
	Flavonoïdes totale	6 300	8 300	4 900

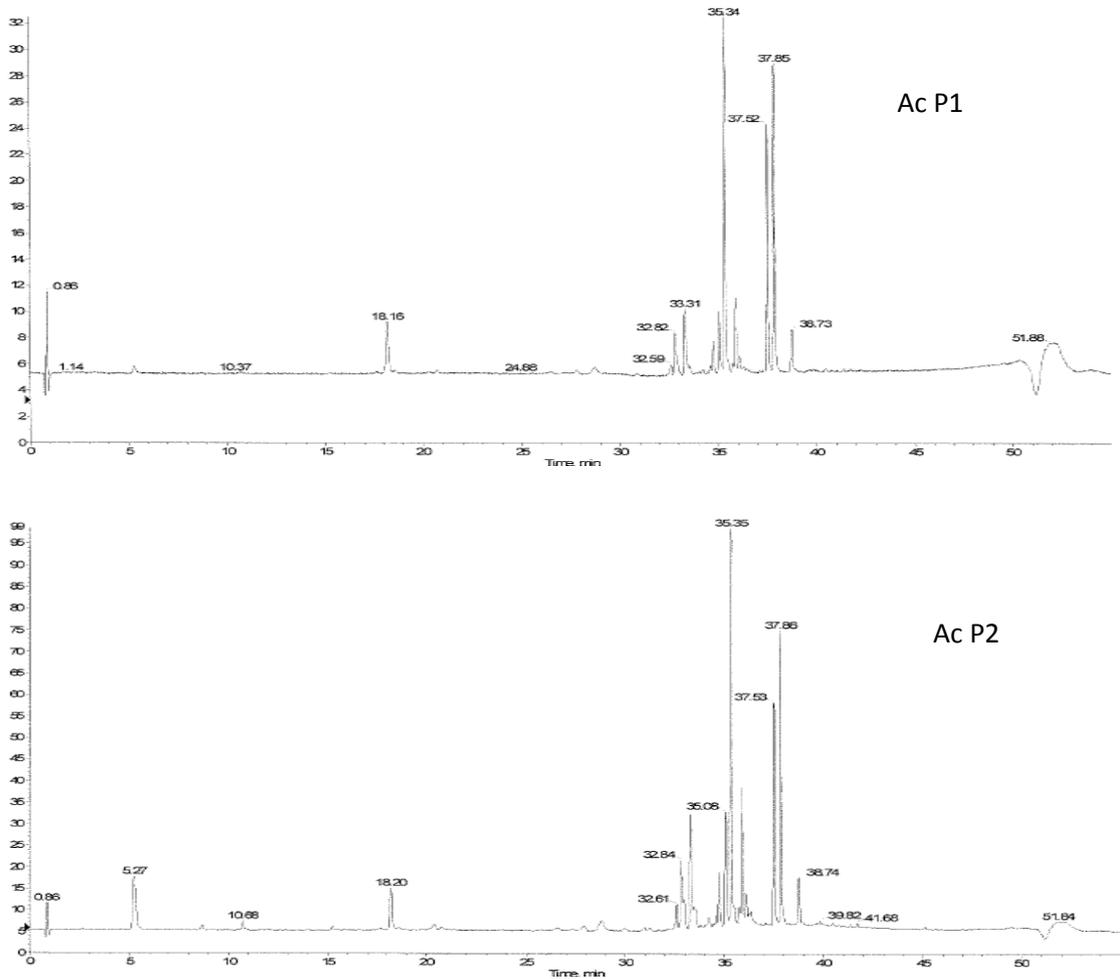
La composition phénolique d'*A.herba-alba* varie significativement avec la date de récolte. Durant le printemps (au stade végétatif précoce) et durant l'été (au stade végétatif tardif), les acides phénoliques ont été le principal composé (14200 µg/g de MS, 13400 µg / g de MS respectivement) suivis de flavone (2700 µg/g de MS, 3300 µg / g de MS respectivement), l'isoflavone (1900 µg / g de MS, 3000 µg / g de MS respectivement), le flavonol (300 µg / g de MS, 00 µg / g de MS respectivement).

Alors que, à la saison d'hiver (floraison), les flavones est devenue la classe majoritaire (6400 µg / g de MS), suivie d'acides phénoliques (3000 µg / g de MS), d'isoflavones (1400 µg / g de MS), de flavanone (500 µg / g de MS).

Ceux-ci sont en accord avec les résultats obtenus par SARTOR et al. [279] qui ont prouvé que les niveaux d'acide caféique de *Baccharis dentata* (Asteraceae) sont plus élevés au printemps et en été.

5.4.3. Identification des composés phénoliques d'*A.campestris*

Le chromatogramme de l'extrait méthanolique d'*A. campestris* a montré dans la figure 5.9. Les caractéristiques des composés détectés ont été résumées dans le tableau 5.5.



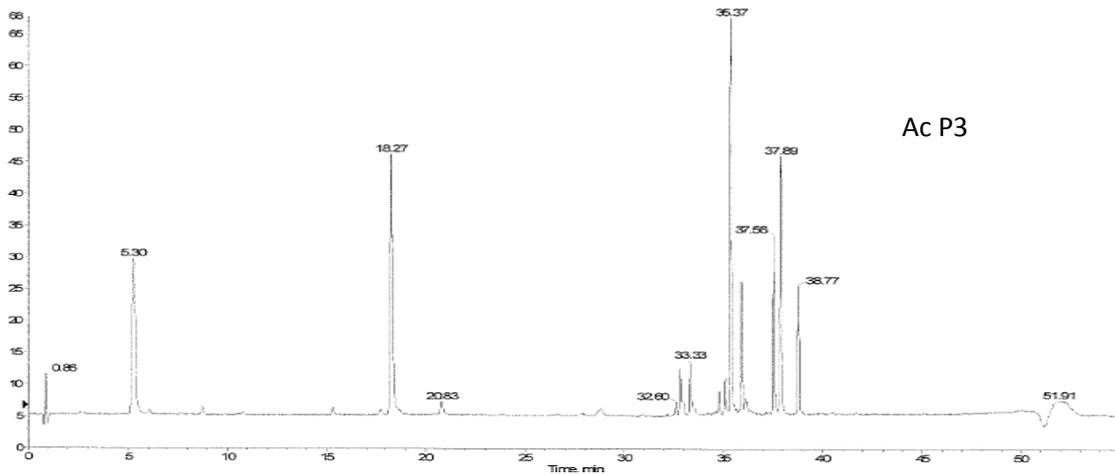


Figure 5.9 : Chromatogrammes UV ($\lambda=365$ nm) des extraits méthanoliques d'*A. campestris*

Ac P1 : Plantes récoltées à l'été, Ac P2 : Plantes récoltées à l'hiver, Ac P3 : Plantes récoltées au printemps

Parmi les 15 composés détectés, 10 ont été identifiés. Les composés identifiés représentaient respectivement 89,7%, 87,3%, 92,5% de la surface totale intégrée de l'échantillon d'été, d'hiver et de printemps respectivement.

Les dix composés polyphénoliques d'*Artemisia campestris* étaient trois dérivés de l'acide quinique (acide 3-caffeoylquinique, acide de dicaffeoylquinine 2, acide de dicaffeoylquinine 3), deux isoflavones aglycones (Tectorigenin, Iristectorigenin A), deux flavonols aglycones (Isorhamnetin α , Rhamnetin) et trois flavones aglycones (5,2'-dihydroxy-6,7,8-triméthoxyflavone, Crysoeriol-méthyl-éther, 5-hydroxy-3', 4', 6,7-tétraméthoxyflavone).

Les deux isoflavones aglycones (Tectorigenin, Iristectorigenin A) et les deux flavones aglycones (5,2'-dihydroxy-6,7,8-triméthoxyflavone, Crysoeriol-méthyl-éther) ont été identifiées pour la première fois pour cette espèce.

Dans une étude antérieure, Isorhamnetin α , 5-Hydroxy-3', 4', 6,7-tétraméthoxyflavone et Rhamnetin ont été identifiés dans des extraits d'*A. campestris* recueillis en Tunisie [9]. L'acide caféique identifié dans la présente étude a déjà été signalé dans l'extrait brut méthanolique, dans la fraction d'acétate d'éthyle et dans la fraction d'eau d'*A. campestris* [9] et pour plusieurs

espèces d'*Artemisia*: *A. annua* L., *A. arborescen* ssp., *A. ludoviciana* Nutt., *A. oleandica* Bess., *A. princeps* Pamp. et *A. stelleriana* Bess [275].

Tableau 5.5 : Composés phénoliques identifiés par HPLC-DAD / ESI-MS dans les extraits d'*Artemisia campestris*.

N°	TR (min)	m/z	SM	Désignation	Références
1	5,27	353	191	Acide 3-cafféoylquinique	[301]
2	18,16	515	353, 191, 179	Acide dicaféoylquinique 2	[301]
3	20,83	515	353, 191, 179, 173, 161, 155, 135	Acide dicaféoylquinique 3	[301]
4	28,71	685	675, 639, 519	ND	
5	32,61	285	217, 192, 177, 151, 133	ND	
6	32,82	299	248, 137	Tectorigenin	[301]
7	33,31	329	314, 299, 285, 271	Iristectorigenin A	[301]
8	33,5	329	314, 299	ND	
9	34,75	313	298, 283	ND	
10	35,06	343	328, 313, 298, 285	Skullcapflavon I	[298]
11	35,34	315	297, 285, 271, 253, 241, 198, 186	Isorhamnetin α or β -artemether	[9]
12	35,9	315	297, 285, 271, 253, 241, 198, 186	Rhamnetin	[9]
13	36,08	313	289, 283, 255	Crysoeriol-methyl-ether	[295]
14	37,52	357	297, 253, 198	5-Hydroxy-3',4',6,7-tetramethoxyflavone or 5-Hydroxy-3,4,6,7-tetramethoxyflavone	[9]
15	38,73	299	255	ND	

5.4.4. Effet de la variation saisonnière sur la composition chimique des polyphénols d'*A.campestris*

Les variations saisonnières des teneurs en flavonoïdes et en acides phénoliques ont été observées chez plusieurs plantes, *Arnica chamissonis* [280], *Rosmarinus officinalis* et *Salvia fruticosa* [276], *Bellis perennis* [281], *Ficus cariaca* [282], *Ginkgo biloba* [283], *Origanum vulgare* [284].

Ce travail montre pour la première fois les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques d'*A.campestris* durant trois saisons soit à trois stades de croissance (Tableau 5.6).

Tableau 5.6 : Composition phénolique des extraits méthanoliques d'*A.campestris* selon la période de récolte.

N°	Composés	Eté	Hiver	Printemps
		µg / g de MS		
	Acides Phénoliques			
1	Acide 3-cafféoylquinique	0	3 500	6 700
2	Acide dicaféoylquinique 2	10 200	2 700	10 100
3	Acide dicaféoylquinique 3	0	0	700
	Isoflavones aglycones	0	0	0
4	Tectorigenin	7 900	3 800	1 600
5	Iristectorigenin A	10 600	4 400	1 400
	Flavonols aglycones			
6	Isorhamnetin α or β-artemether	35 400	13 200	8 200
7	Rhamnetin	7 900	4 400	2 800
	Flavones aglycones			
8	Skullcapflavon I	7 500	4 300	1 000
9	Crysoeriol-methyl-ether	0	1 600	0
10	5-Hydroxy-3',4',6,7-tetramethoxyflavone or 5-Hydroxy-3,4 ,6,7-tetramethoxyflavone	56 000	17 100	9 300
	Isoflavones aglycones	18 500	8 200	3 000
	Flavonols aglycones	43 300	17 600	11 000
	Flavones aglycones	63 500	23 000	10 300
	Acides Phénoliques	10 200	6 200	17 500
	Flavonoïdes aglycone	125 300	48 800	24 300

L'analyse du tableau 5.6 nous a permis de détecter les changements de la composition chimique des polyphénols d'*A.campestris* sur le plan quantitative et qualitative au cours les trois saisons de collecte.

L'abondance relative de chaque métabolite dépendre fortement de la saison de collecte. Isorhamnetin α et 5-Hydroxy-3', 4', 6,7-tétraméthoxyflavone est principalement produit pendant la saison d'été et d'hiver. Cependant, l'acide caféique a été trouvé comme composés phénoliques majeurs dans les échantillons prélevés au printemps.

On peut constater que durant les trois saisons, tous les extraits d'*A.campestris* étudiés ont montré une concentration de flavonoïdes aglycones plus élevée que les acides phénoliques. La teneur en flavonoïdes aglycones des plantes récoltées durant la saison d'été est de 125 300 $\mu\text{g} / \text{g}$ de MS, ces composés subissent une diminution avec la progression du cycle phénologique pour atteindre le niveau le plus bas au printemps au stade végétatif précoce (24 300 $\mu\text{g} / \text{g}$ MS). Cependant, les acides caféiques apparaissent une diminution plus important passant de 10 200 $\mu\text{g} / \text{g}$ de MS en été au début du stade végétatif tardif à 6 200 $\mu\text{g} / \text{g}$ de MS en hiver au stade de floraison mais ont augmenté pour atteindre le plus haut niveau 17 500 $\mu\text{g} / \text{g}$ de MS au printemps au stade végétatif tardif. De même, SELLAMI et al.,[266] ont révélé l'accumulation la plus élevée du dimère d'acide caféique au stade végétatif tardif dans les extraits d'*Origanum majorana*. Aussi, TAN et al. [278] étudiant l'espèce asiatique - *A. scoparia* - ont montré des résultats similaires: le plus bas contenu des acides phénoliques et les plus hauts niveaux de flavonoïdes à la fin de la période végétative.

Selon les résultats obtenus, nous notons que tous les extraits alcooliques d'*A. campestris* de toutes les saisons contiennent des flavones significativement plus élevées que les flavonols et les flavonols supérieurs aux Isoflavones. Ces résultats sont confirmés par les travaux antérieurs qui montrent la prévalence des flavonols et des flavones et de leurs dérivés dans l'extrait d'*A. campestris* [271][57]

Selon nos résultats, il semble que les parties aériennes d'*A. campestris* recueillies en été à la fin de la phase végétative étaient les plus riches en flavone aglycone, flavonol aglycone, isoflavones aglycone.

5.5. L'activité antioxydante

5.5.1. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques

5.5.1.1. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques d'*A.campestris*

Tous les extraits testés d'*A. campestris* ont montré une forte activité antioxydante. Cependant, il convient de noter que l'activité antioxydante des extraits est relativement proche à celle des normes (CI50 = 10,5 mg / ml).

L'extrait de méthanol du mois de juillet avait une activité la plus élevée que celle des autres saisons (hiver et le printemps). A une concentration de 20 mg / ml, l'activité de piégeage de l'extrait méthanolique des parties aériennes du mois de juillet atteint 75,48 % (CI50 = 13,43 mg / ml), tandis qu'à la même concentration, l'activité antiradicalaire du mois de novembre et du mois de mai sont 73,66 % (CI50 = 13,76 mg / ml) et 70,54% (CI50 = 14,34 mg / ml) respectivement (Figure 5.10).

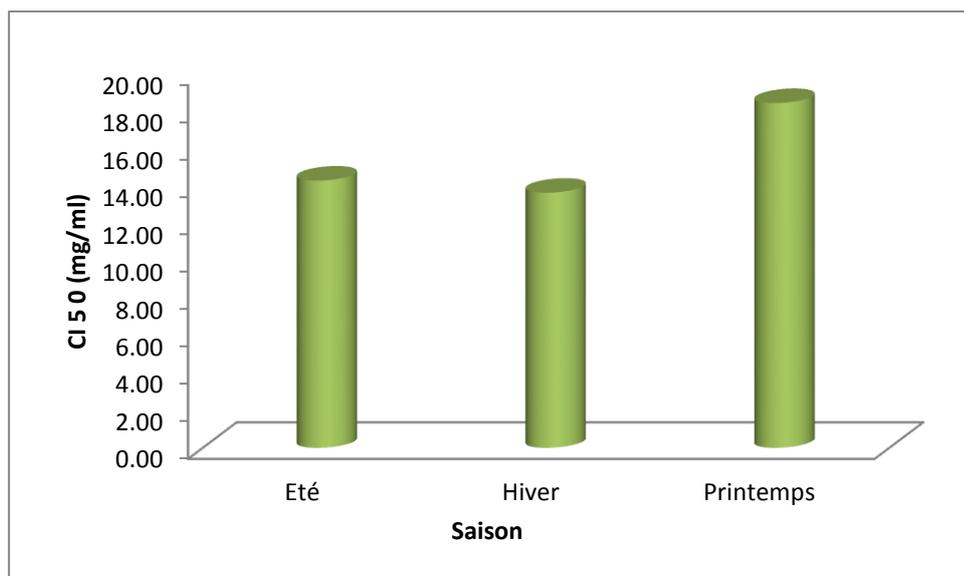


Figure 5.10 : l'activité antioxydante des extraits méthanoliques selon la date de récolte d'*A.campestris*

Selon les résultats trouvés, tous les extraits méthanoliques (l'été, l'hiver et le printemps) sont dotés d'un pouvoir antioxydant important, à une concentration de 20 mg / ml, leurs capacités antioxydantes sont toujours supérieures à 70 % ce qui est très proche à celle de l'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 19,69 mg/ml.

BAKCHICHE et GHERIB [271] ont signalé que les extraits phénoliques obtenus à partir des feuilles d'*A. campestris* L. de Laghouat présentaient une importante activité de balayage contre le radical DPPH avec $IC_{50} = 39 \mu\text{g} / \text{ml}$, cette activité semble être plus importante en se référant effectivement à la norme BHT ($IC_{50} = 89 \mu\text{g} / \text{ml}$). L'extrait d'acétate d'éthyle d'*A. campestris* de Biskra a montré une activité de balayage radical estimée par $IC_{50} = 58 \mu\text{g} / \text{ml}$; Pourtant, cet effet est inférieur par rapport à la rutine standard [279].

En Tunisie, les études ont révélé que l'effet antioxydant de l'extrait méthanolique d'*A. campestris* est estimé par $IC_{50} = 730 \mu\text{g} / \text{ml}$ [286]; Un autre rapport a révélé que la fraction d'acétate d'éthyle exprimait une activité antioxydante correspondant à $IC_{50} : 10 \mu\text{g} / \text{ml}$ [9].

KARABEGOVIC et al. [57] ont testé l'effet antioxydant de trois extraits méthanoliques récupérés par différentes techniques d'extraction des parties aériennes d'*A. campestris* L. collectées en Bulgarie. Ils ont affirmé que les extraits ont relativement le même potentiel de balayage vis-à-vis du radical DPPH, avec un IC_{50} allant de 19,8 à 23 $\mu\text{g} / \text{ml}$.

Nos extraits ont montré un effet antioxydant très faible lorsqu'on les compare à ceux d'*A. campestris* de Laghouat, de Biskra, de la Tunisie et de la Bulgarie.

5.5.1.2. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques d'*A. herba-alba*

Nos résultats ont révélé que les extraits méthanoliques de l'*A. herba-alba* présentaient une activité antioxydante élevée. Les plus élevées ont également observées pour l'extrait de l'été ($IC_{50} = 12,03 \mu\text{g} / \text{ml}$) et de l'hiver ($IC_{50} = 12,19 \mu\text{g} / \text{ml}$). Ces activités sont très proches de celles de l'antioxydant synthétique (acide ascorbique) utilisé comme contrôle positif ($IC_{50} = 11,02 \mu\text{g} / \text{ml}$). L'extrait

de plantes récolté au printemps présente la plus faible activité antioxydante ($IC_{50} = 15,12 \pm 0,81 \mu\text{g} / \text{ml}$) (Figure 5. 11).

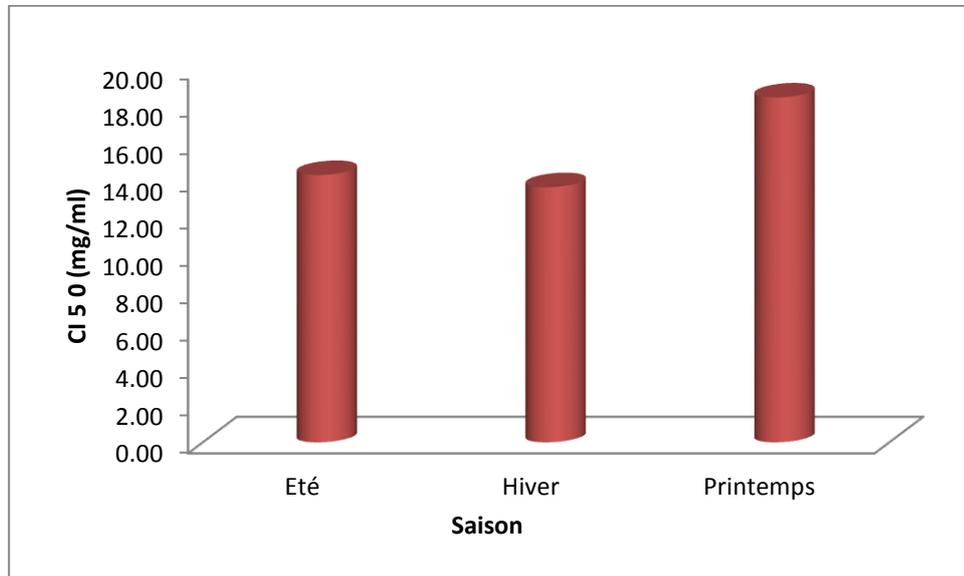


Figure 5.11 : L'activité antioxydante des extraits méthanoliques selon la période de récolte d'*A.herba-alba*

Les valeurs de IC_{50} obtenues sont significativement supérieures à celles rapportées pour l'*A.herba-alba* récoltée dans la région El-oued ($IC_{50} = 36,85 \mu\text{g} / \text{ml}$) [270], Setif ($IC_{50} = 32,9 \mu\text{g} / \text{ml}$) et d'*A.herba-alba* de Tunisie ($IC_{50} = 20,64 \mu\text{g} / \text{ml}$) [44].

La comparaison des taux des polyphénols totaux et de la concentration IC_{50} (concentration requise pour provoquer une inhibition de la DPPH à 50%) dans les extraits d'*A.campestris* et d'*A.herba-alba* nous a permis de conclure que l'activité antioxydante ne dépend pas de la teneur en phénols totaux. En fait, l'analyse de nos résultats a montré qu'il n'y avait aucune corrélation entre IC_{50} et les quantités phénoliques totales. Ainsi, l'extrait de l'*A.campestris* du printemps qui contient la plus faible quantité de phénols totale ($278,91 \pm 50,27 \text{ mg}$ d'acide tannique / g MS), l'activité de balayage des radicaux était importante ($14,34 \pm 0,17 \text{ mg} / \text{ml}$). Cependant, en été, où une forte teneur en phénols totale a été détectée ($956,51 \pm 138,63 \text{ mg TAE} / \text{g MS}$), la capacité antioxydante n'a pas changé et elle est restée presque constante ($13,43 \pm 0,16 \text{ mg} / \text{ml}$)

Les extraits d'*A.herba-alba* de l'été ont montré un niveau phénolique plus élevé quasiment le double de ceux obtenus durant l'hiver, bien que l'activité antioxydante IC50 soit très proche.

Ces résultats indiquent que les phénols ne sont pas les seuls composés phytochimiques responsables de l'activité antioxydante chez l'*A.herba-alba* et chez l'*A.campestris*.

Néanmoins, il faut noter que la quantité de composés flavonoïdes dans les extraits est en corrélation avec leur activité antioxydante, ce qui confirme que ces composés sont susceptibles de contribuer à l'activité de balayage radical de ces extraits de plantes.

Par conséquent, il semble que l'activité antioxydante peut être liée au contenu des flavonoïdes et pas nécessairement à la nature de ces composés.

Des résultats similaires ont été trouvés par ARGOTI et al. [287], où les taux en phénols totaux n'étaient pas toujours proportionnels à l'IC50. Cela s'explique par la diversité et les propriétés des composés phénoliques, qui présentent des effets antioxydants plus marqués. Le potentiel antioxydant des composés phénoliques dépend du nombre et des dispositions des groupes hydroxyles ainsi que de la présence de donneurs d'électrons [288].

D'après tous les résultats qu'on a obtenus, on peut conclure que la saisonnalité modifie de manière significative le profil des polyphénols (qualitativement et quantitativement), mais elle ne peut pas influencer l'activité antioxydante de ceux-ci. Ce qui est en accord avec un rapport précédent qui a montré que l'activité antioxydante pourrait être liée à la nature des composés et pas nécessairement aux teneurs en polyphénols [289].

5.5.2. L'activité antioxydante des huiles essentielles

5.5.2.1. L'activité antioxydante des huiles essentielles d'*A.campestris*

Les résultats de notre étude ont montré que toutes les huiles essentielles testées présentaient une activité antioxydante intéressante. Cependant, aucune différence importante n'a été observée lorsque les échantillons d'huile ont été

comparés selon la saison de collecte. Les huiles essentielles extraites des échantillons prélevés en été se sont avérées les plus actives dans tous les essais avec des valeurs IC50 de 21,33 mg / ml. L'activité antioxydante la plus faible a été observée pour les huiles obtenues à partir de plantes recueillies en hiver au stade de floraison avec une valeur de IC50 de 29,87 mg / mL. L'huile obtenue à partir des feuilles collectées au printemps au stade végétatif précoce a montré une activité antioxydante intermédiaire $25,19 \pm 2,00$ mg / ml (Figure 5.12).



Figure 5.12 : l'activité antioxydante des huiles essentielles selon la période de récolte d'*A.campestris*

Nos résultats sont confirmés par plusieurs auteurs qui ont attesté l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*A. campestris*. BAYKAN EREL et al.[290] ont étudié six taxons d'*Artemisia* en Turquie (*A. absinthium* L., *A. arborescens* L., *A. campestris* L., *A. scoparia* Waldst, *A. santonicum* L., et *A. vulgaris* L.). Les huiles essentielles des espèces d'*Artemisia* ont une activité antioxydante de 39,05 % à 80,08 %. Ces auteurs ont trouvés que l'activité antioxydante pour l'*A. campestris* était de l'ordre de 39,05 %.

Aussi, Des résultats comparables sont obtenus par AKROUT et al. [65] qui ont montré que l'activité antiradicale de l'huile essentielle d'*A. campestris* originaire de la Tunisie a une $IC_{50} = 94,5 \text{ mg / ml}$.

La comparaison de nos résultats obtenus de l'activité antioxydante avec ceux cités en dessus montrent que les HEs d'*A.campestris* récolté à la région de Djelfa se sont de puissants antioxydants.

Selon WANG et al.[291], il est difficile d'attribuer l'effet antioxydant d'une huile essentielle à un ou à quelques composés actifs. Les composés mineurs et principaux devraient contribuer de manière significative.

Cependant, malgré la différence de composition chimique des huiles extraites, l'activité antioxydante de trois saisons était comparable et très proche. Cette convergence observée pour l'activité antioxydante des huiles essentielles extraites d'*A.campestris* à différents stades de croissance pourrait être attribuée à des composés autres que les plus importants. Ces résultats confirment que l'activité antioxydante est une conséquence d'effets additifs ou synergiques de divers composants d'huile essentielle.

5.5.2.2. L'activité antioxydante des huiles essentielles d'*A.herba-alba*

Parmi les HEs extraites, l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* récolté à l'hiver est le plus actif dont IC_{50} égale à $13,65 \mu\text{g/ml}$, suivi par l'huile de la saison de l'été avec une valeur de $14,30 \mu\text{g/ml}$ et finalement HE d'*A.herba-alba* collecté au printemps qui semble être la moins performante avec un IC_{50} de $18,45 \mu\text{g/ml}$ (Figure 5.13).

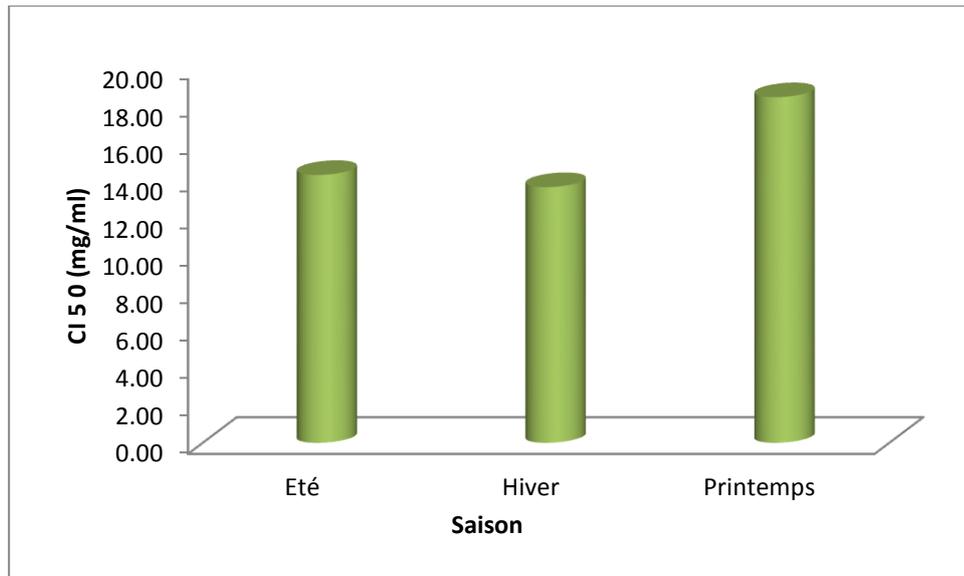


Figure 5.13 : l'activité antioxydante des huiles essentielles selon la période de récolte d'*A.herba-alba*

D'après les résultats, toutes les HEs testées de l'*Artemisia herba-alba* présentent une activité antioxydante intéressante. Mais Il semble que la vitamine C (l'acide ascorbique) est l'antioxydant le plus efficace que les huiles essentielles étudiée avec une valeur de $10.5 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$.

Ces résultats sont proches de ceux donnés pour les auteurs. Dans une étude réalisée sur certaines plantes médicinales algériennes y compris *Artemisia herba-alba*, il a été noté que ces plantes peuvent être considérées comme une bonne source d'antioxydant naturel à des fins médicinales et commerciales [292].

D'autres études conduites pour la même espèce confirment leur pouvoir antioxydant. C'est le cas de l'étude réalisée sur HE d'*A.herba-alba* récolté à Saida par BOUZIDI [293] et dans laquelle l'IC50 maximal a atteint les 20.64 $\mu\text{g/ml}$. Ces valeurs comparées aux nôtres paraissent moins efficaces.

GOUDJIL [19] a testé l'activité antioxydante de l'HE d'*A.herba alba* originaire de Djelfa, a observé une IC50 = 17,73 $\mu\text{g/ml}$. En effet, nos huiles paraissent toujours plus actives.

MIGHRI et al.[43] ont étudié l'activité antioxydante de quatre types d'huiles essentielles d'*A.herba-alba* récolté au sud de la tunisie, ils ont trouvé que L'huile de type I qui est caractérisée par une teneur élevée en β -thujone le IC50 = 8,552 $\mu\text{g/ml}$, L'huile de type II qui est à dominance de α -thujone le IC50 = 17,961 $\mu\text{g/ml}$, L'huile de type III dont les composés majoritaires sont α -thujone, β -thujone le IC50 = 8,236 $\mu\text{g/ml}$, L'huile de type IV où les principaux éléments sont le 1,8-cinéole / camphre / α -thujone / β -thujone le IC50 = 18,036 $\mu\text{g/ml}$. En se référant à ces résultats, on constate que nos huiles d'*A.herba-alba* testées sont plus puissant que l'huile de type II et IV mais moins efficace que l'huile de type I et III.

L'effet antiradicalaire est aussi remarqué dans les travaux de KHLIFI et al. [44] qui ont rapporté que l'extrait d'*Artemisia herba-alba* a une forte activité antioxydante mais avec une IC50 beaucoup plus élevée que la nôtre qui est de 20.64 $\mu\text{g/ml}$.

En comparant l'activité antioxydante des extraits alcooliques et de celle des huiles essentielles nous pouvons remarquer que les extraits méthanoliques présentent des activités antioxydantes supérieures aux huiles essentielles durant les trois saisons d'étude.

Ces résultats confirment d'une part les résultats précédents de AKROUT et al. [272] montrant une activité antioxydante plus élevée des extraits méthanolique par apport aux huiles essentielles pour l'*A. campestris* L. d'autre part, les résultats de RIAHI et al.,[153] confirmant que l'activité antioxydante des huiles essentielles était faible par rapport à celle des extraits méthanoliques d'*Artemisia absinthium* L.

L'activité antioxydante est généralement attribuée beaucoup plus aux composés phénoliques dont les flavonoïdes dans les extraits végétaux [294].

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et biologique de deux espèces médicinales et aromatiques poussant à l'état spontané dans la steppe algérienne : l'*Artemisia herba-alba* et l'*Artemisia campestris* en vue d'entrerons les possibilités d'utilisation non seulement en pharmacopée traditionnelle mais à une échelle plus large.

La connaissance des effets saisonniers sur les propriétés chimiques et biologiques d'*A. herba-alba* et d'*A. campestris* contribuera à la caractérisation et à la normalisation de ces produits naturels et elle pourrait être importante pour une application pratique de ces deux plantes médicinales dans les industries cosmétique, pharmaceutique et alimentaire.

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle.

D'après les résultats d'analyses des HE de l'*A. herba-alba* de la région de Djelfa, les HE *A. herba-alba* pourraient être divisés en trois chemotypes complètement différents selon la saison. Chemotype davana éther caractérisant la saison d'été, chemotype corymbolone caractérisant la saison d'hiver et chemotype davanone caractérisant la saison de printemps

Ce travail a permis l'identification d'un nouveau chémotype d'*A. herba-alba* croissant dans la steppe algérienne. Le corymbolone a été décrit pour la première fois dans l'huile essentielle d'*A. herba-alba*.

Quant à l'*A. campestris*, les HE de cette plante pourraient être divisées en trois groupes selon les quantités les composés majeurs:

1. α -Pinene> α -Eudesmol> o -Cymene> Santolina triene> (-) - Spathulenol> cis-Lanceol> τ -Terpinen. C'est le chemotype identifié pour la saison d'été.

2. α -Pinene> τ -Muurolene> santolina triene> τ -Gurjunene> o -Cymene> τ -Terpinen> (-) - Spathulenol> (-) - Isoledène> 3-Carène> α -Eudesmol> cis-Lanceol. C'est le chemotype identifié pour la saison de l'hiver

3. τ -Muurolene> α -Pinene> 3-Carène> Santolina triene> τ -Gurjunene> α -Farnesene> α -Eudesmol> β -Cadinene. C'est le chemotype identifié pour la saison de printemps

L'apparition de τ -Muurolene avec une quantité importante dans notre travail (37,12%) a différencié l'*A.campestris* de Djelfa de celles poussant dans d'autres régions de l'Algérie. Cette composition caractéristique peut confier à l'*A.campestris* un nouveau chemotype (à τ -Muurolene et α -pinene) qui n'a pas été mentionné auparavant.

La comparaison de la composition chimique des huiles essentielles d'*A.herba-alba* et d'*A.campestris* durant les trois saisons montre qu'il existe des différences significatives dans la composition et les principaux composants. En effet, la période de la récolte de ces deux plantes a des effets majeurs sur le rendement et la composition chimique de l'HE.

L'analyse du profil phénolique de l'*A.herba-alba* et d'*A.campestris* par HPLC a permis d'identifier un total de 26 composés phénoliques dans l'*A.herba-alba*, dont 12 (Vitexin, Tomentin, 5,3'-dihydroxy-7,4'-diméthoxyflavanone, Chrysoeriol, Tectorigenin, Iristectorigenin A, Iristectorigenin B, Irigenin, Skullcapflavon I, Skullcapflavon II, Cirsiliol, Crysoeriol-méthyl-éther) ont été identifiés pour la première fois pour cette plante. Les résultats ont montré aussi que pendant toutes les périodes de récolte l'acide dicaffeoylquinine et leurs dérivés étaient prédominants.

Ce travail montre pour la première fois les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques d'*A.campestris* durant trois saisons.

Parmi les 15 composés détectés, 10 ont été identifiés. Les dix composés étaient trois dérivés de l'acide quinique, deux d'isoflavones aglycones, deux flavonols aglycones et trois flavones aglycones.

Les deux isoflavones aglycones (Tectorigenin, Iristectorigenin A) et les deux flavones aglycones (5,2'-dihydroxy-6,7,8-triméthoxyflavone, Crysoeriol-méthyl-éther) ont été identifiées pour la première fois dans cette espèce.

A l'inverse d'*A.herba-alba*, durant les trois saisons, on peut constater que tous les extraits d'*A.campestris* étudiés ont montré une concentration de flavonoïdes aglycones plus élevée que les acides phénoliques.

L'analyse quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des extraits méthanoliques a été réalisée. Ces travaux montrent que l'*A.herba -alba* et l'*A.campestris* sont des sources de composés phénoliques. Leur composition dont les flavonoïdes varie significativement selon la saison de collecte. Cependant la plus grande teneur en phénols totaux et en flavonoïdes sont enregistrée pendant la saison d'été.

Concernant les HEs et polyphénols, les tests montrent un pouvoir antioxydant intéressant des huiles essentielles et des extraits de l'*A.herba-alba* et *A.campestris*.

On comparant l'activité antioxydante des extraits alcooliques et de celle des huiles essentielles nous pouvons remarquer que les extraits méthanoliques des deux armoises présentent des activités antioxydantes supérieures aux huiles essentielles durant les trois saisons d'étude.

Ainsi, la saison a eu des effets significatifs sur l'abondance relative des principaux constituants chimiques d'*A.campestris* et d'*A.herba-alba*. Mais la capacité antioxydante des extraits n'était pas liée à cette variation. La capacité de piégeage radicalaire des extraits peut être liée aux effets synergiques de la diversité des constituants majeurs et mineurs.

Enfin, la richesse d'*A.herba-alba* et d'*A.campestris* en composés actifs volatils et phénoliques connus pour leurs activités antioxydantes, antimicrobiennes et insecticides pourrait favoriser l'utilisation de ces deux plantes dans un large domaine d'application notamment cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire et biologique.

Ainsi, les résultats montrent qu'il n'est pas possibles de recommander le meilleur moment pour la collecte de l'*A. campestris* ou de l'*A.herba-alba* parce que le profil chimique de ces deux plantes médicinales a été grandement affecté par la saison. Donc selon l'objectif recherché il faudrait choisir la période de récolte.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BIBLIOGRAPHIE

1. Djabou, N., "Caractérisation et variabilité des plantes à parfum aromatiques et médicinales de Corse et de l'Ouest algérien", Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, (2012), 7p.
2. Quezel, P. et Santa, S., "Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Tome I", Ed. du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, (1962), 565 p.
3. Djebaili, S., " Rapport phyto-écologique et pastoral (Wilaya de Djelfa), ", Unité de recherche sur les ressources biologique terrestres, , (1987), 159 p.
4. Houmani, M. Zahia, H. et Melpomeni, Skoulae, "Interet de Artemisia herba alba Asso dans l' alimentation du betail des steppes algeriennes", Acta Bot. Gallica, V. 151, n° 2, (2004), 165-172.
5. Djeridane, A. Yousfi, M. Nadjemi, B. Vidal, N. Lesgards, J.F. et Stocker, P., "Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity", Eur. Food. Res. Technol., V. 224, (2007), 801–809.
6. Hadjadj, S., "Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien..", Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah- Ouargla, (2017), P5.
7. Koechlin-Ramonatxo, C., "Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires", Nutrition clinique et métabolisme, V. 20, n° 4, (2006), 165-177.
8. Pacifico, S. Galasso, S. Piccolella, S. Kretschmer, N. Pan, S. Marciano, S. Bauer, R. et Monaco, P., "Seasonal variation in phenolic composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of Calamintha nepeta (L.) Savi ", Food Research International, V. 69, (2015), 121–132.
9. Megdiche-Ksouri, W. Trabelsi, N. Mkadmini, K. Bourguou, S. Noumi, A. Snoussi, M. et al, "Artemisia campestris phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity", Industrial Crops and Products, V. 63, (2015), 104-113.
10. Cock, I. E., "Medicinal And Aromatic Plant –Australia. ", Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). Sydney: Australia. , (2011), 25p.
11. Walsh, G., "Biopharmaceuticals: Biochemistry and Biotechnology, 3rd. ", Chinchester, Wiley, England., (2003) .
12. Oyedeji O., " Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of crude extracts from the leaves of Ludwigia abyssinica A. Rich. and Ludwigia decurrens Walter," , Journal of Medicinal Plants Research, V. 5, n° 7, (2011), 1192-1199.

13. Lange, D., "Medicinal and Aromatic Plants: Trade, Production, and Management of Botanicals Ressources. Dans L. E. Cracker, Future for Medicinal and Aromatic Plants", USA: Acta. Hort . , Publication supported by Can. Int. Dev. Agency (CIDA), (2004), 177-197.
14. Lange, D., "Trade figures for botanical drugs world-wide", Medicinal Plant Conservation, V. 3, (1997), 16-17.
15. Belkhodja, H., "Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique", Thèse de doctorat, Université De Mustapha Stambouli –Mascara, (2016), p 27.
16. Bora, K.S. et Sharma, A., "The genus Artemisia: A comprehensive review", Pharm. Biol., V. 49, (2011), 101–109.
17. Baba Aissa, F., "Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb.Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident", Ed. librairie moderne, Rouiba, (2000) .
18. Tilaoui, M. Mouse, HA. Jaafari, A. Aboufatima, R. Chait, A. et Zyad, A., "Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from aerial parts of a medicinal herb Artemisia herba-alba", Rev Bras Farmacogn, V. 21, n° 4, (2011), 781-785.
19. Abou El-Hamd H, Mohamed Magdi, A. El-Sayed Mohamed, E Hegazy Soleiman, E. Helaly Abee,r M. Esmail et Naglaa, S. Mohamed, "Chemical Constituents and Biological Activities of Artemisia herba-alba", Rec. Nat. Prod., V. 4, n° 1, (2010), 1 - 25.
20. Willcox, M., "Artemisia species: From traditional medicines to modern antimalarial and back again", J. Altern. Complem. Med., V. 15, (2009), 101–109.
21. Lachenmeier, D.W., "Wormwood (*Artemisia absinthium* L.): A curious plant with both neurotoxic and neuroprotective properties?", J. Ethnopharmacol., V. 131, (2010), 224–227.
22. Abad, M.J. Bedoya, L.M. Apaza, L. et Bermejo, P., "The Artemisia L. genus: a review of bioactive essential oils", Molecules, V. 17, n° 3, (2012), 2542-2566.
23. Haider, F. Kumar, N. Naqui, A.A. et Bagchi, G.D., "Oil constituents of Artemisia nilagirica var.septentrionalis growing at different altitudes", Nat. Prod. Commun., V. 5, (2010), 1959–1960.
24. Padalia, R.C. Verma, R.S. Chauhan, A. et Yadov, A., " Variation in the volatile constituents of Artemisia annua var. CIM-Arogya during plant ontogeny", Nat. Prod. Commun., V. , (2011), 239–242.
25. Viuda-Martos, M. El Gendy, A.E. Sendra, E. Fernández-López, J. Abd El Razik, K.A. Omer, E.A. et Pérez-Alvarez, J.A., "Chemical composition and antioxidant and anti-listeria activities of essential oils from some Egyptian plants", J. Agric. Food Chem., V. 58, (2010), 9063–9070.

26. Belenovskaja, L., "Artemisia: the flavonoids and their systematic value", In D.J.N. Hind and H.J. Beentje (Ed.), *Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference*, Royal Botanic Gardens, (1996), Kew, vol. I, chapter 18, pp. 253-259.
27. Guignard, J.L., "Abrégés botanique", Ed. Masson, (1998), Pp.49-205.
28. Nabli, M. A., "Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I", Ed.MAB (Faculté des sciences de Tunis) , (1989), 186-188 p.
29. Boullard, B., "Plantes médicinales du monde. Réalités et roiyances.Dictionnaire", Ed. ESTEM. Pp., (2001), 129-131.
30. Ghanmi, M. Satrani, B. Aafi, A. Isamili, M.R. Houti, H. El Monfalouti, H. Bencheqroun, K.H. et al, "Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif (Maroc oriental)", *Phytothérapie*, V. 8, (2010), 295 – 301.
31. Ayad, N. Djennane, A. Ayache, H. et Hellal, B., "Contribution à l'étude de l'implantation de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba* Asso» dans la steppe du sud de Tlemcen", *Revue Ecologie- Environnement*, V. 9, (2013), 1-5.
32. Messai, L., "Etude Phytochimique D'une Plante Medicinale De L'est Algerien (*artemisia Herba Alba*)", These De Doctorat, Universite Mentouri Constantine, (2011), P49-50.
33. Jaouadi, I. Ayse Tansu, Koparal Rakibe Beklem, Bostancioğlu Mbarka Tej, Yakoubi et Mohamed, El Gazzah, "The anti-angiogenic activity of *Artemisia herba-alba*'s essential oil and its relation with the harvest period", *AJCS*, V. 8, n° 10, (2014), 1395-1401, ISSN:1835-2707.
34. Bourgou, S. Sonia, Tammar Nidhal, Salem Khawla, Mkadmini et Kamel, Msaada, "Phenolic Composition, Essential Oil and Antioxidant Activity in the Aerial Part of *Artemisia herba-alba* From Several Provenances: A Comparative Study", *International Journal of Food Properties*, V. 19, n° 3, (2015), 549-563.
35. Boudjelal, A., "Extraction, Identification Et Détermination Des Activités Biologiques De Quelques Extraits Actifs De Plantes Spontanées (*ajuga Iva*, *Artemisia Herba Alba* Et *Marrubium Vulgare*) De La Région De M'sila, Algérie", Thèse De Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, (2013).
36. Fenardji, F. Klur, M. Furlon, C. et Ferrando, R., "White *Artemisia* (*Artemisia herba-alba* L.)", *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, V. 27, n° 2, (1974), 203-6.
37. Aidoud, A., "Les écosystèmes Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso). II: Phytomasse et productivité primaire", *Biocénoses*, V. 1 - 2, (1989), 70-90.

38. Belhattab, R. Loubna, Amor Jose´ G, Barroso Luis G, Pedro et Cristina Figueiredo, A., "Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey", *Arabian Journal of Chemistry*, V. 7, (2014), 243–251.
39. Saleh N. A. M. El-Negoumy S. I. et Abou-Zaid M. M., "Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba*", *Phytochemistry*, V. 26, n° 11, (1987), 3059-3064.
40. Salah, S.M. et Jager, A.K., "Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities", *J Ethnopharmacol*, V. 97, (2005), 145–149.
41. Saleh, N. A. M. El-Negoumy, S. I. Abd-Alla, M. F. Abou-Zaid, M. M. Dellamonica, G. et Chopin, J., "Flavonoid glycosides of *Artemisia monosperma* and *A. herba alba*", *Phytochemistry*, V. 24, n° 1, (1985), 201-203.
42. Djeridane, A. Yousfi, M. Nadjemi, B. Boutassouna, D. Stocker, P. et Vidal, N., "Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds", *Food Chemistry*, V. 97, (2006), 654-660.
43. Mighri, H. Hajlaoui, H. Akrouf, A. Najjaa, H. et Neffati, M., "Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone", *Comptes Rendus Chimie*, V. 13, n° 3, (2010), p. 380-386.
44. Khelifi, D. Sghaier, R.M. Amouri, S. Laouini, M. Hamdi, M. et Bouajila, J., "Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L.", *Food and Chemical Toxicology*, V. 55, (2013), 202-208.
45. Ghrabi, Z. et Al-Rowaily, S.L.R., "A guide to medicinal plants in North Africa", Produced by: International Union for conservation of Nature and Natural Resources, (2005), Pp: 43-44.
46. Lahsissen, H. Kahouadji, A. Tijane, A. et Hseini, S., "Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaïr (Maroc occidental). *Lejeunia*", *Revue de botanique* n° 186, Belgique, (2009).
47. Chalchat J.C. Cabassu, P. Petrovic, S.D. Maksimovic, Z.A. et Gorunovic, M.S., "Composition of essential oil of *Artemisia campestris* L. From Serbia", *J. Essent. Oil Res.*, V. 15, (2003), 251-253.
48. Ali Esmail, Al-Snafi, "The Pharmacological Importance Of *Artemisia Campestris*", *Asian J. Pharm. Res.*, V. 5, n° 2, (2015), 88-92.
49. Dib, I. Angenot, L. Mihamou, A. Ziyyat, A. et Tits, M., "*Artemisia campestris* L.: Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review", *Journal of Herbal Medicine*, V. 7, (2017), 1-10.
50. Subally, D. et Quézel, P., "Glacial or interglacial: *Artemisia*, a plant indicator with dual responses", *Rev Palaeobot Palynol*, V. 120, (2002), 123-130.

51. Cariñanos, P. de la Guardia, CD. Algarra, JA. De Linares, C. et Irurita, JM., "The pollen counts as bioindicator of meteorological trends and tool for assessing the status of endangered species: the case of *Artemisia* in Sierra Nevada (Spain)", *Clim Change*, V. 119, (2013), 799-813.
52. Nobis, M. Ebel, AL. Nowak, A. Turginov, OT. Kupriyanov, AN. Nobis, A. et al, "Contribution to the flora of Asian and European countries: new national and regional vascular plant records", *Acta Bot Gall*, V. 161, (2014), 209-221.
53. Juteau, F. Masotti, V. Bessière, J.M. et Viano, J., "Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var", *Glutinosa. Biochem. Syst. Ecol.*, V. 30, n° 11, (2002), 1065–1070.
54. Naili, MB. Alghazeer, RO. Saleh, NA. et Al-Najjar, AY., "Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae)", *Arabian Journal of Chemistry*, V. 3, (2010), 79-84.
55. Akkari, H. Rtibi, K. B'chir, F. Rekik, M. Darghouth, MA. et Gharbi, M., "In vitro evidence that the pastoral *Artemisia campestris* species exerts an anthelmintic effect on *Haemonchus contortus* from sheep", *Vet Res Commun*, V. 38, (2014), 249-255.
56. Karabegović, I. Nikolova, M. Veličković, D. Stojičević, S. Veljković, V. et Lazić, M., "Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia* sp. recovered by different extraction techniques", *Chin. J. Chem. Eng.*, V. 19, (2011), 504-511.
57. Sebai, H. Jabri, M-A. Souli, A. Hosni, K. Selmi, S. Tounsi, H. et al, "Protective effect of *Artemisia campestris* extract against aspirin-induced gastric lesions and oxidative stress in rat", *RSC Adv*, V. 4, (2014), 49831-49841.
58. Riedel, H. Cai, Z. et Smetanska, I., "Obtaining phenolic acids from cell cultures of various *Artemisia* species", *Afr J Biotechnol*, V. 9, (2010), 8805-8809.
59. Belhattab, R. Boudjouref, M. Barroso, J.G. Pedro, L.P. et Figueirido, A.C., "Essential oil composition from *Artemisia campestris* grow in Algeria", *Advances in Environmental Biology*, V. 5, n° 2, (2011), 429-432.
60. Boulanouar, B, Abdelaziz, G. Aazza, S. Gago, C. et Miguel, MG., "Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils", *Industrial Crops and Products*, V. 46, (2013), 85-96.
61. Dob, T. Dahamane, D. Beramdane, T. et Chelghoum, C., "Chemical composition of the essential oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria", *Pharm. Biol.*, V. 43, n° 6, (2005), 512–514.
62. Akrouf, A. Chemli, R. Chreïf, I. et Hammami, M., "Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L", *Flavour and Fragrance J.*, V. 16, (2001), 337-339.

63. Akrouf, A. Chemli, R. Simmonds, M. Kite, G. Hammami, M. et Chreif, I., "Seasonal Variation of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L", *J. Essent. Oil. Res.*, V. 15, (2003), 333-336.
64. Akrouf, A. Neffati, M. Chemli, R. Aouni, M. Jerraya, R. Dammak, M. et al, "Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L", *Revue des Régions Arides*, V. 1, (2007), 231-240.
65. Akrouf, A. El Jani, H. Amouri, S. et Neffati, M., "Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba Alba* Asso, and *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. Growing wild in the southern of Tunisia", *Recent Res. Sci. Technol.* , V. 2, n° 1, (2010), 29–39.
66. Akrouf, A. Gonzalez, LA. El Jani, H. et Madrid, PC. , "Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia", *Food and Chemical Toxicology.*, V. 49, (2011), 342-347.
67. Aicha, N. Ines, S. Mohamed, BS. Ines, B. Soumaya, K. Kamel, G. et al, "Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*", *J Essent Oil Res*, V. 20, (2008), 471-477.
68. Silva, A. Seca, A. Vasconcelos, J. Cavaleiro, J. Silvestre, A. Domingues, F. et al, "Chemical composition of *Artemisia campestris* and *Hibiscus cannabinus*.", *Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application* , V. , (2002), 47-57.
69. Silvestre, A. Silva, A. Almeida, L. Pereira, C. et Cavaleiro, J., "The essential oil of *Artemisia campestris* L. subsp. *maritima* Arcangelis", *Acta Horti*, V. 500, (1999), 93-96.
70. Masotti, V. De Jong, L. Moreau, X. Rabier, J. Laffont-Schwob, I. et Thiéry, A., "arvicidal activity of extracts from *Artemisia* species against *Culex pipiens* L. mosquito: Comparing endemic versus ubiquitous species for effectiveness", *C. R. Biologies*, V. 335, (2012), 19-25.
71. Bellomaria, B. Valentini, G. et Biondi, E., "Chemotaxonomy of *Artemisia variabilis* Ten. And *A. campestris* L. ssp. *glutinosa* (Ten.) Briq. et Cavill.(Asteraceae) from Italy", *J. Essent.Oil. Res.*, V. 13, (2001), 90-94.
72. Lis, A. et Kowal, M., "Constituents of the essential oils from different organs of *Artemisia campestris* L. subsp. *Campestris*", *J. Essent. Oil. Res.*, V. 27, n° 6, (2015), 545-550.
73. Judzentiene, A. et Budiene, J., "Variability of *Artemisia campestris* L. essential oils from Lithuania", *J Essent Oil Res*, V. 26, (2014), 328-333.
74. Judzentiene, A. Budiene, J. Butkiene, R. Kupcinskiene, E. Laffont-Schwob, I. et Masotti, V., "Caryophyllene oxide-rich essential oils of Lithuanian *Artemisia campestris* ssp. *campestris* and their toxicity", *Nat. Prod. Commun.* , V. 5, (2010), 1981-1984.

75. Kazemi, M. Tabatabaei-Anaraki, M. Rustaiyan, A. Motevalizadeh, A. et Masoudi, S., "Chemical composition of the essential oils obtained from the flower, leaf and stem of *Artemisia campestris* L. from Iran", *J. Essent. Oil. Res.*, V. 21, (2009), 197-199.
76. Baykan Erel, Ş. Reznicek, G. Şenol, SG. Karabay Yavaşoğlu, NÜ. Konyalıoğlu, S. et Zeybek, AU., "Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia", *Turk J Biol*, V. 36, (2012), 75-84.
77. Bruneton, j., "Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition", Techniques et documentations, Paris, (2009), 1288.
78. Bakchiche, B. et Gherib, A., "Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie [Antioxidant activities of polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia]", *Int J Innov Appl Stud*, V. 9, (2014), 167-172.
79. Djidel, S. et Khenouf, S., "Radical scavenging, reducing power, lipid peroxidation inhibition and chelating properties of extracts from *Artemisia campestris* L. Aerial parts", *Annu res rev biol*, V. 4, (2014), 1691-1702.
80. Aniya, Y. Shimabukuro, M. Shimoji, M. Kohatsu, M. Gyamfi, M.A. et Miyagi, C., "Antioxidant and hepatoprotective actions of the medicinal herb *Artemisia campestris* from the Okinawa Islands", *J. Biol. Pharm. Bull.*, V. 23, n° 3, (2000), 309–312.
81. Sefi, M. Troudi, A. Hamida, F. Soudani, N. Boudawara, T. et Zeghal, N., "Protective effects of *Artemisia campestris* upon fenthion-induced nephrotoxicity in adult rats and their progeny", *Gen. Physiol. Biophys.*, V. 32, (2013), 577-588.
82. El Bahri, L. Belguith, J. Djegham, M. et Bellil, H., "*Artemisia campestris* L: A poisonous plant of North Africa", *Veterinary and Human Toxicology*, V. 39, (1997), 311-312.
83. Macheix, J.J. Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C., "Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaire d'importance économique", Ed. Presses Polytechniques & Universitaires Romandes, , (2005), p Vii, 2, 3.
84. Amlan, K. et Jyotisna, P.S., "A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen", *Phytochemistry*, V. 71, (2010), 1198 – 1222.
85. Greathead, H., "Plants and plant extracts for improving animal productivity", *Proceedings of The Nutrition Society*, V. 62, (2003), 279 – 290.
86. Hartmann, T., "From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism", *Phytochemistry*, V. 68, (2007), 2831 – 2846.
87. Martin, S. et Andriantsitohaina, R., "Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium", *Annales de Cardiologie*, V. 51, (2002), 304 – 315.

88. Edeas, M., "Les polyphenols et les polyphenols de thé", *Phytothérapie*, V. 5, (2007), 264 – 270.
89. Chira, K. Suh, J.H. Saucier, C. et Teissède, P.L., "Les polyphénols du raisin, article de synthèse", *Phytothérapie*, V. 6, n° 2, (2008), 75–82.
90. Waston, R.R. Preedy, V.R. et Zibadi, S., "Polyphenol in Human Health and Disease", Ed. Academic Press is an Imprint of Elsevier, , (2013), P 643.
91. Sharma, S. Sheehy, T. Kolahtooz, F. et Barasi, M., "Nutrition at a Glance, Second Edition", Wiley Backwell, , (2015), P 162.
92. Cazes, J., "Encyclopedia of Chromatography (Print)", Edi. Marcel Dekker, , (2001), p 206.
93. Shankar, S. et Srivastava, R.K., "Nutrition, diet and cancer", Ed. springer DordrechtHeidelberg London New York London, (2012), P 213.
94. Collin, S. et Crouzet, J. , "Polyphénols et procédés", Ed. Lavoisier TEC & DOC , (2011), P 5,13, 16 , 235.
95. Sarni-Manchado, P. et Cheyner, V., "Les polyphénols en agroalimentaire", Ed. Lavoisier, , (2006), P2- 10.
96. D'Archivio, M. Filesi, C. Di Benedetto, R. Gargiulo, R. Giovannini, C. et Masella, R., "Polyphenols, dietary sources and bioavailability", *Ann. Ist. Super Sanità*, V. 43, n° 4, (2007), 348 –361.
97. Martone, P. Estevez, J. Lu, F. Ruel, K. Denny, M. Somerville, C. et Ralph, J., "Discovery of Lignin", *Current biology*, V. 19, n° 2, (2009), 169–75.
98. El Gharras, H., "Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review", *International Journal of Food Science and Technology*, V. 44, n° 12, (2009), 2512–2518.
99. Leray, C., "Les lipides dans le monde vivant", Ed. Lavoisier TEC & DOC, , (2010), p 5.
100. Edardes, J.P., "Coumarin Anticoagulant Research Progress", Ed. Nova Biomedical Books, (2008), p 100.
101. Kuete, V., "Medicinal plant research in Africa: Pharmacology and chemistry, 1ère édition ", Ed. Elsevier Insights, , (2013), P 393 , 394.
102. Gongbo, L. Stacey, T. et Jeremy, J.J., "Polyphenols from the mangosteen (*Garcinia mangostana*) fruit for breast and prostate cancer", *Frontiers in pharmacologie*, V. 4, n° 80, (2013), 1 – 4.
103. Tiwari, B. K. Brunton, N.P. et Brennan, C.S., "Hand book of plant food phytochemicals, 1ère édition", Ed. John Wiley & Sons, (2013), p 2000.

104. Hernández, I. Alegre, L Van Breusegem, F. et Munné-Bosch, S., "How relevant are flavonoids as antioxidants in plants?", *Trends in Plant Science*, V. 14, n° 3, (2009), 125–132.
105. Guignard, J.L., "Abrégé de biochimie végétale", Ed. Masson, Paris, (1996), P 160.
106. Fritch, H. et Griesbach, H., "Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*", *Phytochem*, V. 14, (1975), 2437-42.
107. W –Erdman, J. Balentine, J. D. Arab, L. Beecher, G. Dwyer, J.T. Folts, J. et al, "Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop", Washington. *Journal of Nutrition*, V. 137, (2005), (3 supp 1) : 718 s-737 s.
108. Emerenciano, V.P. Barbosa, K.O. Scotti, M.T. et Ferriro, M. J. P., "Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tribes using flavonoid data", *Journal of brazilian chemical society*, V. 18, n° 5, (2007), 891-899.
109. Narayana, K.R. Reddy, M.S. Chaluvadi, M.R. et Krishna, D.R., "Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential", *Indian journal of pharmacology*, V. 33, (2001), 2 - 16.
110. Malešev, D. et Kuntić, V., "Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions", *Journal of the Serbian chemical society*, V. 72, n° 10, (2007), 921-939.
111. Mabry, T. Markham, K. et Thomas, M.B., "The Systematic Identification of Flavonoids", Edition. Springer-Verlag, New-York, (1970), pp 12-279.
112. Iwashina, T., "The structure and distribution of the flavonoids in plants", *Journal of Plant Research*, V. 113, (2000), 287-299.
113. Fraga, C.G., "Plant polyphenols: How to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions", *IUBMB Life*, V. 59, n° 4 - 5, (2007), 308 – 315.
114. Tapas, A.R. Sakarkar, D.M. et Kakde, R.B., "Flavonoids as nutraceuticals: A Review", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, V. 7, n° 3, (2008), 1089 – 1099.
115. Fraga, C.G. et Oteiza, P.I, "Dietary flavonoids: role of (-)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling Free Radic", *Biol. Med*, V. 51, (2011), 813-823.
116. Valls, J. Millan, S. Marti, M.P. Borrás, E. et Arola, L., "Advanced separation methods of food anthocanins, isoflavones and flavanols", *Journale of Chromatography A*, V. 1216, n° 43, (2009), 7143 – 7172.
117. Samouelian, F. Gaudin, V. et Boccara, M., "Génétique moléculaire des plantes", Ed. Quae, P 21, 22.

118. Shipp, J. et Abdel-Aal, E.S.M., "Food applications and physiological effects of anthocyanins as functional food ingredients", *The Open Food Science Journal*, V. 44, (2010), 7 – 22.
119. Bouheroum, M., "Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes", Thèse de Doctorat, Université Mentouri de Constantine, (2007).
120. Ghnimi, W., "Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase", Thèse de Doctorat, Université De Lorraine (France) Et Université De Carthage (Tunisie), (2015).
121. Hopkins, W.G., "Physiologie végétale, 2ème édition", Ed. de Boeck Université, (2003), P 268,280.
122. Gazengel, J.M. et Orecchioni, A.M., "Le préparateur en pharmacie, Guide théorique et pratique, 2ème édition", Ed. Lavoisier TEC & DOC, Paris, (2013), P 1174.
123. Alkurd, A. Hamed, T.R. et Al-Sayyed, H., "Tannin contents of selected plants used in Jordan", *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, V. 4, (2008), 265 – 274.
124. Cowan, N.M., "Plant products as anti microbial agents", *Clinical microbiology Reviews*, V. 12, n° 4, (1999), 564-582.
125. Merghem, R., "Eléments de biochimie végétale", Ed. Bahaeddine Algérie, , (2009), P 111, 123.
126. Bouhadjera, Keltoum , "Contribution A L'étude Chimique Et Biologique De Deux Plantes Médicinales Sahariennes oudneya Africana R.br. Et Aristida Pungens L", Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, (2005).
127. Boizot, N. et Charpentier, J.P., "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier", *Le cahier des techniques de l'Inra*, (2006), 79 – 82.
128. Moneb, A. Ibrahim, R.K. Roy, R. et Sarhan, F., "Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation", *Phytochemistry*, V. 72, (2011), 2294 – 2307.
129. Babar, M.A. Hahn, E.J. et Paek, K.Y., "Methyl jasmonate and salicylic acide induced oxidative stress and accumulation of phenolics in panax ginseng bioreactor root suspension cultures", *Molecules*, V. 12, (2007), 607 – 621.
130. Falleh, H. Ksouri, R. Chaieb, K. Bouraoui, N. K. Trabelsi, N. Boulaaba, M. et Abdelly, C., "Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. orgns, and their biological avtivities", *C. R. Biologies*, V. 331, (2008), 372 – 379.
131. Halliwell, B., "Free radicals and antioxidants: a personal view", *Nutr. Rev*, V. 52, n° 8, (1994), 253-265.

132. Ghedira, K., "Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique", *Phytothérapie*, V. 4, (2005), 162-169.
133. Rubiolo, P. Sgorbini, B. Liberto, E. Cordero, C. et Bicchi, C., "Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis", *Flavour and Fragrance J.*, V. 25, (2010), 282-290.
134. Burt, S., "Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in Foods", *J. Food. Microbiol.*, V. 94, (2004), 223-253.
135. Bakkali, F. Averbeck, S. Averbeck, D. et Idaomar, M., "Biological effects of essential oils –a review", *Food and Chemical Toxicology*, V. 46, (2008), 446–475.
136. Pourmortazavi, S.M. et Hajimirsadeghi, S.S., "Super critical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis", *Journal of Chromatography A*, V. 1163, (2007), 02-24.
137. Durvelle, J.P., "Fabrication des essences et des parfums : Chimie des parfums", Desforges, Girardot et Cie, Paris, (1930).
138. Festy, D., "100 Réflexes AROMATHERAPIE: Je me soigne avec les huiles essentielles, Pratiques Efficaces et Faciles", Ed. Leduc, (2008), 6-20.
139. Scimeca, D., "Les plantes du bonheur", Ed. Alpen, (2007), 12-17.
140. Franz, C. et Novak, J., "Sources of essential oils. In: Bas, Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications", CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, (2010), 39–82.
141. Teixeira, B. Marques, A. et Ramos, C., "Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils", *Industrial Crops and Products*, V. 43, (2013), 587– 595.
142. Anton, R et Lobstein, A, "Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles", Ed. Tec. & Doc., Paris, (2005), 522P.
143. Penfold, A.R. et Willis, J.L., "The formation of essential oils in the plants", *Australasian Journal of Pharmacy*, V. 36, n° 40, (1955), 992-995.
144. Erman, W.F., "Chemistry of the monoterpenes in: P.G. Gassman (Ed) Studies in Organic Chemistry. Vol II A and B", Marcel Dekker, New York, (1985), 101.
145. Croteau, R., "Catabolism of monoterpenes in essential oil plants. In: B.M . Lawrance , B.D. Mookherjee and B.J .Willis(Eds) Flavour and Fragrance: A World perspective", Elsevier Science Publishers, Amsterdam, V. , (1988), 65-84.
146. Shimizu, J.Y., "Variation in frost resistance and monoterpene composition in eucalyptus species", Unpublished Sc. Thesis, Univ. of Florida, (1974).
147. Guignard, J.L., "Biochimie végétale", Ed. Masson, Paris, (2000), P 166.

148. Capo, M. Couilleau, V. et Valnette, C., "chimie des couleurs et des odeurs", cultures et techniques, , (1990), p 204.
149. Robert, G., "Les sens du parfum : un demi-siècle de parfumerie ou l'ode aux nez légendaires et à leurs accords sublimes", Osman Eyrolles Santé et Société, Paris, (2000), 224P.
150. Pellerin, P., "Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavour and perfume industry", *Perfum. Flavor*, V. 16, n° 4, (1991), 37-39.
151. Piochon, M., "Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse", Université de Québec, (2008).
152. Zahalka, J.P. , "Les huiles essentielles (230 huiles essentielles, 170 maux traités)", Ed.Dauphin, (2010), 12-39.
153. Riahi, Leila Ghazghazi, Hanene Ayari, Bisma Aouadhi, Chedia Klay, men Chograni, Hnya Cherif, Ameer et Zoghlami, Nejia, "Effect of environmental conditions on chemical polymorphism and biological activities among *Artemisia absinthium* L. essential oil provenances grown in Tunisia", *Industrial Crops and Products*, V. 66, (2015), 96–102.
154. Guignard, J.L., "Abrégé de botanique, 5ème édition", Masson, Paris, (1983), 259P.
155. Maffei et Sacco, "Perfumer and flavorist", *Flavour and Fragrance J.*, V. 13, (1997), 61.
156. Djerrari, A. Benjilali, B. et Crouzet, J., "Éffet de la période de coupe sur la composition de la fraction volatile de la verveine de Maroc", *Rivista Italiana EPPOS*, V. 11, (1992), 611-614.
157. Boukhatem, M.N. Hamaidi, M.S. Saidi, F. et Hakim, Y., "Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du *Géranium Rosat* (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie)", *Revue Nature et Technologie*, V. 3, (2010), 37-45.
158. Figueredo, Gilles, "Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne", Thèse de Doctorat, UNIVERSITÉ BLAISE PASCAL., - Clermont-Ferrand II, (2007).
159. Tucarov, J., "Influence des facteurs exogènes sur le rendement et la qualité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L", *La France et ses parfums*, V. 7, n° 40, (1964), 277-283.
160. Charchari, S. et Boutekedjret, C., "Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso provenant de différentes régions d'Algérie", *Rivista Italiana EPPOS*, V. 13, (1994), 631-633.
161. Belaiche, P., "L'aromatogramme. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1", M.S.A.Editeur, Paris, (1979), 204P.

162. Pibiri, M.C., "Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles", Thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, (2006), 177P.
163. Gerhard, R., "Métabolisme de végétaux, physiologie et biochimie", Tec et Doc, Press polytechnique et universitaire romandes, France, 291- 292.
164. Abderrahim, El haib, "Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques", Thèse de Doctorat, Université Toulouse III -Paul Sabatier, (2011).
165. Joulain, D., "Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture: use and abuse", *Perfumer & Flavorist*, V. 19, (1994), 5 - 17.
166. Julien, Paolini, "Caractérisation des Huiles Essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(IE et IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux *Asteraceae* endémiques de Corse : *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *Doronicum corsicum*", Thèse de doctorat, Université de Corse, (2005).
167. Adams, R.P., "Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, 4th ed", Allured Publ.Corp., Carol stream, IL, (2001), 445P.
168. Lianga, Y.Z. Xieb, P. et Chan, K., "Quality control of herbal medicines", *J. Chromatogr.*, V. B, n° 812, 53-70.
169. Senatore, F. Arnold, N.A. et Piozzi, F., "Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. var. *simplicifolia* Boiss. growing wild in Lebanon", *J. Chromatogr. A.*, V. 1052, 237-240.
170. Ouis, N., "Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de fenouil et de persil ", Thèse de Doctorat, université Oran1, (2015), 17-20.
171. Bouziane, Mebarka, "Extraction et analyse de la composition chimique de plantes sahariennes d'intérêt médicinaux", Thèse de Doctorat, UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA, (2015).
172. Lahlou, M., "Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils", *Phytotherapy Research*, V. 18, (2004), 435-448.
173. Pibiri, M.C., "Assainissement de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles", Thèse de Doctorat, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, (2006), 28-52.
174. Chao, S.C. Young, D.G. et Oberg, G.J., "Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses", *J. Essent. Oil Res.*, V. 12, (Sep/Oct 2000), 639-649.

175. Adam, K. Sivropoulou, A. Kokkini, S. et al, "Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi", *J Agric Food Chem*, V. 46, n° 5, (1998), 1739-1745.
176. Hammer, K.A. Carson, C.F. et Riley, T.V., "In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against dermatophytes and other filamentous fungi", *J Antimicrob Chemother*, V. 50, n° 2, (2002), 195-199.
177. Mueller-riebau, F. Berger, B. et Yegen, O., "Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey", *J Agric Food Chem*, V. 43, n° 8, (1995), 2262-2266.
178. Hammer, K.A. Carson, C.F. et Riley, T.V., "Melaleuca alternifolia (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties", *Clin. Microbiol. Rev.*, V. 19, n° 1, (2006), 50-62.
179. Koch, C. Reichling, J. Schneele, J. et al, "Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2", *Phytomedicine*, V. 15, n° 1-2, (2008), 71-78.
180. Schnitzler, P. Koch, C. et Reichling, J., "Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood", *Antimicrob Agents Chemother*, V. 51, n° 5, (2007), 1859-1862.
181. Katz, T.M. Miller, J.H. et Hebert, A.A., "Insect repellents: historical perspectives and new developments", *J Am Acad Dermatol*, V. 58, (2008), 865-71.
182. Adorjan, B. et Buchbauer, G., "Biological properties of essential oils: an updated review", *Flavour and Fragrance J.*, V. 25, (2010), 407-426.
183. Kato, T. Lijima, H. Ishihara, K. Kanek, T. Hirai, K. Naito, Y. et Okuda, K., "Antibacterial effect of listerine on oral bacteria", *Bull. Tokyo. Dent. Coll*, V. 31, n° 4, (1990), 301-307.
184. Carnesecchi, S. Schneider, Y. Ceraline, J. Durantou, B. Gosse, F. Seiler, N. et Raul, F., "Geraniol, a Component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells", *J. Pharmacol. Exp. Ther*, V. 298, n° 1, (2001), 197-200.
185. Siani, A.C. Ramos, M.F.S. Menezes-de-Lima, Jr. Ribeiro-dos-Santos, R. Fernandez Ferreira, E. Soares, R.O.A. et al, "Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*", *J. of Ethnopharmacology*, V. 66, n° 1, (1999), 57- 69.
186. Juven, B. Kanner, J. Schved, F. et Weisslowiez, H., "Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents", *J. Appl. Bacteriol*, V. 76, n° 22, (1994), 626-631.
187. Siddiqui, Y.M. Ettayebi, M. Haddad, A.M. et Al-Ahdal, M.N., "Effect of essential oils on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and clove oils on herpes simplex virus type 1 and Newcastle disease virus", *Med. Sci.Res*, V. 24, (1996), 185-186.

188. Edris, A.E., "Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review", *Phytother. Res.*, V. 21, (2007), 308-323.
189. Butterfield, D. et Lauderback, C., "Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide associated free radical oxidative stress", *Free Radical Biol. Med.*, V. 32, (2002), 1050-1060.
190. Gardner, P., "Superoxide-driven aconitase FE-S center cycling", *Bioscience Rep.*, V. 17, (1997), 33-42.
191. Braga, P.C. Dal Sasso, M. Culici, M. Asastri, L. Marceca, MX. et Guffanti, E.E., "Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems", *Pharmacology*, V. 76, (2006), 61-68.
192. Caillet, S. et Lacroix, M., "Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire", INRS -Institut Armand-Frappier, (RESALA), (2007), P 1 - 8.
193. Multon, JL. Richard-Molard, D. et Roquebert, MF., "Moisissures des aliment peu hydrates", Lavoisier Tec&Doc, France, (1998).
194. Madhavi, DL. Deshpande, SS. et Salunkhe, DK., "Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives", Marcel Dekker, Inc. , New York, (1996), P: 65.
195. Nadia, Fekih, "Proprietes Chimiques Et Biologiques Des Huiles Essentielles De Trois Especies Du Genre Pinus Poussant En Algerie", Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, (2015), P18-19.
196. Labiod, Ryma, "Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide", Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-annaba, (2016), pp 22.
197. Cazzola, C. et Doublet, C., "Mise au point d'une technique de séparation et de quantification des composés présents dans une huile essentielle", Rapport PE huiles essentielles, projet de l'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen (INSA), (2015), P 13-14.
198. Pham-Huy, LA. He, H. et Pham-Huy, C., "Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health", *International Journal of Biomedical Medicine*, V. 4, (2008), 89-96.
199. Favier, A., "Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique", *L'actualité chimique*, (2003), 108-115.
200. Valko, M. Rhodes, CJ. Moncol, J. Izakovic, M. et Mazur, M., "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer", *Chem. Biol. Interact.*, V. 160, (2006), 1-40.

201. Wu, D. et Cederbaum, A., "Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage", *Alcohol Research and Health*, V. 27, (2003), 277-284.
202. Drögue, W., "Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function", *Physiological Reviews*, V. 82, (2002), 47-95.
203. Beckman, K.B. et Ames, B.N., "The Free radical theory of aging matures", *Physiological Reviews*, V. 78, n° 2, (1998), 547-581.
204. Ahsan, H. Ali, A. et Ali, R., "Oxygen free radicals and systemic autoimmunity", *Clinical and Experimental Immunology*, V. 131, (2003), 398-404.
205. Aruoma, O.I., "Free radicals, antioxidants and international nutrition", *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, V. 8, n° 1, (1999), 53-63.
206. Evans, W. J., "Vitamin E, vitamin C and exercise", *American Journal of Clinical Nutrition*, V. 72, (2000), 647-652.
207. Kohen, R. et Nyska, A., "Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants redox reactions and methods for their quantification", *Toxicologic Pathology*, V. 30, (2002), 620-650.
208. Rahman, K., "Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors", *Clinical Interventions in Aging*, V. 2, (2007), 219-236.
209. Milbury, P.E. et Richer, A.C., "Understanding the Antioxidant Controversy", Ed. Praeger, (2008), p: 81-100.
210. Piquet, M.A. et Hébuterne, X., "Nutrition en pathologie digestive", Ed. Doin, (2007), p: 16-20.
211. Trivalle, C., "Gérontologie préventive: élément de prévention du vieillissement pathologique", Ed. Masson, Paris, (2002), p: 104-106.
212. Scherer, R. et Godoy, H.T., "Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method", *Food and Chemical Toxicology*, V. 112, (2009), 654-658.
213. Huang, D. Ou, B. et Prior, R.I., "The chemistry behind antioxidant capacity assays", *J.Agric. Food Chem*, V. 53, (2005), 1841-1856.
214. Sanchez-Moreno, C. et Larrauri, J. A., "Main methods used in lipid oxidation determination", *Food Sci. Technol. Int.*, V. , (1998), 391-399.
215. Sanchez-Moreno, C., "Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems", *Food Science and Technology International*, V. 8, n° 3, (2002), 121-137.
216. Cao, G.H. Alessio, H.M. et Cutler, R.G., "Oxygen-Radical Absorbency Capacity Assay for antioxidants", *Free Radical Biol. Med.*, V. 14, (1993), 303-311.

217. Miller, N. J. Rice-Evans, C. Davies, M. J. Gopinathan, V. et Milner, A., "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates", *Clin. Sci.*, V. 84, (1993), 407–412.
218. Benzie, I.F. et Strain, J., "The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay", *Analytical Biochemistry*, V. 239, (1996), 70-76.
219. Brand-Williams, W. Cuvelier, M. et Berset, C., "Use of free radical method to evaluate antioxidant activity", *LWT-Food Science and Technology*, V. 28, n° 1, (1995), 25-30.
220. Velasco-negueruela, A. et Perez-alonso M. J., "The Volatiles of six Teucrium species from the Iberian Peninsula and the Balearic islands", *Phytochemistry*, V. 29, n° 4, (1990), 1165 -1169.
221. Franchomme, P. et Pénéol, D., "L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles", Roger Jallois éditeur. Limoges, , (1990), 445 p.
222. Jinchao, S. et Xueguang, S., "A comparison of accelerated solvent extraction, Soxhlet extraction, and ultrasonic-assisted extraction for analysis of terpenoids and sterols in tobacco", *Anal. Bioanal. Chem.*, V. 383, (2005), 1003–1008.
223. Ya-qin, M. Xing-qian, Y. Zhong-xiang, F. Jian-chu, C. Gui-hua, X. et Dong-hong, L., "Phenolic Compounds and Antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Peels", *J. Agric. Food Chem.*, V. 56, n° 14, (2008), 5682-5690.
224. Arceusz, A. Wesolowski, M. et Konieczynski, P., "Methods for Extraction and Determination of Phenolic Acids in Medicinal Plants", *Natural Product Communications*, V. 8, n° 12, (2013), 1821-1829.
225. Michel, T., "Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*)", Thèse de doctorat, Université Orléans, (2011).
226. Santos, H.m. Lodeiro, C. et Capelo-martinez, J.I., "The Power of Ultrasound. Ultrasound in chemistry : Analytical Applications", Edited by José-Luis Capelo-Martinez, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.Germany, (2009), 32 p.
227. Benamor, B., "Maîtrise de l'Aptitude Technologique de la Matière Végétale dans les Opérations d'Extraction de Principes Actifs; Texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC", Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, France, (2008), 186p.
228. Wang, L. et Weller, C.L., "Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants", *Trends in Food Science & Technology*, V. 17, n° 6, (2006), 300-312.
229. Suslick, K.s., "Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.4ème édition", Ed. J. Wiley & Sons, New York. USA, (1998), Pp 517-541.

230. Petrier, C. Gondrexon, N. et Boldo, P., "Ultrasons et sonochimie", Techniques de l'ingénieur, V. AF6310, (2008), 1 - 14.
231. Adedapo, A.A. Jimoh, F.O. Afolayan, A.J. et Masika, P.J., "Antioxidant Properties of the Methanol Extracts of the Leaves and Stems of *Celtis africana*", Rec. Nat. Prod., V. 3, n° 1, (2009), 23-31.
232. Ribéreau-Gayon, P., "Les composés phénoliques des végétaux", Ed. Dunod, Paris, (1968), 254 p.
233. Liyana-Pathirana, C.M. et Shahidi, F., "Antioxidant activity of soft commercial soft and hard wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by gastric pH conditions", J. Agric. Food Chem. , V. 53, (2005), 2433–2440.
234. Burits M. et Bucar F., "Antioxydant activity of *Nigella sativa* essential oil", Phytotherapy Research, V. 14, (2000), 323-328.
235. Molyneux, P., "The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity", Songklanakarin Journal of Science and Technology, V. 26, n° 2, (2004), 211- 219.
236. Petko Ivanov, Penchev, "Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions", Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, (2010), p 56-57.
237. Cavalli, J.F., "Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar", Thèse de doctorat, université de Corse Pascal Paoli, (2002) .
238. Freire, C.S.R. Silvestre, A.J.D. Neto, C.P. et Evtuguin, D.V., "Effect of oxygen, ozone and hydrogen peroxide bleaching stages on the contents and composition of extractives of *Eucalyptus globulus* kraft pulps", Bioresource Technol, V. 97, (2006), 420–428.
239. Abdelgaleil, SAM. Abbassy, MA. Belal, AH. et al, "Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemisia judaica* L", Bioresource Technol, V. 99, n° 13, (2007), 5947–50.
240. Jalali, HM. et Sereshti, H., "Determination of essential oil components of *Artemisia haussknechtii* Boiss. Using simultaneous hydro-distillation-static headspace liquid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry", J Chromatogr A, V. 1160, n° 1 et 2, (2007), 81–9.
241. Ghasemi, E. Yamini, Y. Bahramifar, N. et al, "Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Artemisia sieberi*", J Food Eng, V. 79, n° 1, (2006), 306–11.
242. Singh, H.P. Kaur, S. Mittal, S. Batish, D.R. et Kohli, R.K., "In vitro screening of essential oil from young and mature leaves of *Artemisia scoparia* compared to its major constituents for free radical scavenging activity", Food and Chemical Toxicology., V. 48, (2010), 1040–1044.

243. Verdian-Rizi, et M., "Variation in the essential oil composition of *Artemisia annual*L. of different growth stages cultivated in Iran", *Afr. J. Plant Sci.*, V. 2, (2008), 16–18.
244. Mallavarapu, G.R. Kulkarni, R.N. Baskaran, K. Rao, L. et Ramesh, S., "Influence of plant growth stage on the essential oil content and composition in *davana* (*Artemisia pallens*Wall.)", *J. Agric. Food Chem.*, V. 47, (1999), 254–258.
245. Hassania, K. bencheqroun, Mohamed, ghanmi Badr, satrani Abderrahman, aafi et Abdelaziz, chaouch, "Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc", *Bulletin de la société Royale des sciences de Liège*, V. 81, (2012), 4-21.
246. Raa, I A. Kaur, H. Orav, A. Arak, E. Kailas, T. et Muurisepp, M., "Content and composition of essential oils in some Asteraceae species", *Proc. Est. Acad. Sci.*, V. 60, (2011), 55-63.
247. Haouari, M. et Ferchichi, A., "Essential oil composition of *Artemisia herba-alba* from Southern Tunisia", *Molecules*, V. 14, (2009), 1585–1594.
248. Françoise, Couic-marinier, "Composition chimique des huiles Essentielles", *Actualités pharmaceutiques*, V. 52, n° 525, (2013), 22-25.
249. Dutta, A. Batra, J. et Pandey-Rai, S., "Expression of terpenoid indole alkaloid biosynthetic pathway genes corresponds to accumulation of related alkaloids in *Catharanthus roseus*", *Planta*, V. 83, (2005), 220–376.
250. Charchari, S. Dahoun, A. Bachi, F. et al, "In vitro antimicrobial of essential oils of *Artemisia herba-alba* and *Artemisia judacia* from Algeria", *Rivista-Italiana-EPPOS*, V. 18, (1996), 3–6.
251. Akrou, A., "Étude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie)", *Cah. Options Med.*, V. 62, (2004), 289.
252. Benjilali, B. Sarris, J. et Richard, H., "Nouveaux chémotypes d' *Artemisia herba-alba*", *Sci. Aliment.*, V. 2, (1982), 515–527.
253. Salido, S. Altarejos, J. Nogueras, M. et Sánchez, A., "Chemical composition of essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso. ssp. *valentina* (Lam.)", *Marc. J. Essent. Oil Res.*, V. 12, (2001), 221-224.
254. Fleisher, Z Fleisher, A. et Nachbar, R.B., "Chemovariation of *Artemisia herba-alba* Asso. aromatic plants of the Holy Land and the Sinai. Part XVI.", *J. Essent. Oil Res*, V. 14, (2002), 156-160.

255. Perez-Alonso, M.J. Velasco-Negueruela, A. Palá-Paúl, J. et Sanz, J., "Variations in the essential oil composition of *Artemisia pedemontana* gathered in Spain: chemotypes camphor-1,8-cineole and chemotype davanone", *Biochem. Syst. Ecol.*, V. 31, (2003), 77-84.
256. Salido, S. Valenzuela, L.R. Altarejos, J. et al, "Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain", *Biochemical Systematics and Ecology*, V.32, n° 3, (2004), 265–77.
257. Karousou, R. Koureas, D.N. et Kokkini, S., "Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra*", *Phytochem*, V. 66, (2005), 2668-2673.
258. El Ajjouri, M. Satrani, B. Ghanmi, M. Aafi, A. Farah, A. Rahouti, M. Amarti, F. et Aberchane, M., "Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre", *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, V. 12, n° 4, (2008), 345-351.
259. Đorđević, S. Stanisavljević, D. Ristić, M. Milenković, M Veličković, D Stojičević, S et Zlatković, B, "Chemical, antioxidant and antimicrobial analysis of the essential oil and extract of *Artemisia alba*", *tura. Dig. J. Nanomate. Biostru.*, V. 8, n° 4, (2013), 1377 – 1388.
260. Ozcan, M.M. et Chalchat, J.C., "Effect of collection time on chemical composition of the essential oil of *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* growing wild in Turkey", *Eur. Food Res. Technol.*, V. 224, (2006), 279–281.
261. Dahmani-Hamzani, N. et Baaliouamer, A., "Chemical composition of the Algerian essential oil of *Artemisia herba-alba* native to Dejelfa", *Riv. Ital. EPPOS*, V. 40, (2005), 7 - 13.
262. Lamiri, A. Belanger, A. Berrada, M. Zrira, S. et Benjlali, B., "Chemical polymorphism of *Artemisia herba-alba* Asso from Morocco (in French)", Rabat, Morocco, (1997), pp. 69-79.
263. Güven, C., "investigations with *Artemisia* species. II. *Artemisia campestris*", *Folia Farmac.*, V. 5, (1963), 585-591.
264. Judzentiene, A. et Budiene, J., "Variability of *Artemisia campestris* L. essential oils from Lithuania", *J. Essent. Oil. Res.*, V. 26, (2014), 328-333.
265. Lis, A. Kowal, M. et Kończak, J., "Chemical Composition Variability of the Herb Essential Oil in the Ontogenesis of *Artemisia campestris* subsp", *campestris. Nat. Prod. Commun.*, V. 10, n° 10, (2015), 1763-1766.
266. Sellami, I.H. Maamouri, E. Chahed, T. Wannes, A.W. Kchouk, E.M. et Marzouk, B., "Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.)", *Industrial Crops and Products*, V. 30, (2009), 395–402.

267. Verma, V. et Kasera, P. K., "Variations in secondary metabolites in some arid zone medicinal plants in relation to season and plant growth", *Indian. J.Plant. Phy.*, V. 12, (2007), 203-206.
268. Ayan, A. K. Yanar, P. Cirak, C. et Bilgener, M., "Morphogenetic and diurnal variation of total phenols in some *Hypericum* species from Turkey during their phenological cycles", *Bangladesh J. Botany.*, V. 36, (2007), 39-46.
269. Müller-Riebau, F. J. Berger, B. M. Yegen, O. et Cakir, C., "Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey", *J.Agr.Food. Chem.*, V. 45, (1997), 4821-4825.
270. Laouini, S. Eddine Ouahrani, M. Redha et Segni, Ladjel, "Influence of solvent extraction on phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory activities of aerial parts extract from Algerian *Artemisia Herba-alba*", *Journal of Pharmacy Research*, V. 10, n° 1, (2016), 58-64.
271. Bakchiche, B. Gherib, A. Smail, A. et Custodia, G., "Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils.", *Industrial Crops and Products*, V. 46, (2013), 85– 96.
272. Akrou, A. Alarcon Gonzalez, L. El Jani, H. et Campra Madrid, P., "Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia", *Food and Chemical Toxicology.*, V. 49, (2011), 342–347.
273. Apak, R. Güçlü, K. Demirata, B. Özyürek, M. Esin Çelik, S. Bektaşoğlu, B. Berker, K.i. et Özyurt, D., "Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay", *Molecules*, V. 12, (2007), 1496-1547.
274. Dahmani-hamzaoui, N. alido, S. Linares-palomino, P-j. Baaliouamer, A. et Altarejos, J., "On-Line Radical Scavenging Detection and Characterization of anti-oxidants from *Artemisia herba alba*, *Helvetica ChimicaActa*", , V. 95, (2012), 564-576.
275. Carvalho, I.S. Cavaco, T. et Brodelius, M., "Phenolic composition and antioxidant capacity of six *artemisia* species", *nd. Crops Prod.*, V. 33, (2011), 382–388.
276. Papageorgiou, V. Gardeli, C. Mallouchos, A. Papaioannou, M. et Komaitis, K., "Variation of the chemical profile and antioxidant behavior of *Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Miller grown in Greece", *J. Agric. Food Chem.*, V. 56, (2008), 7254–7264.
277. Skrzypczak-Pietraszeka, E. et Pietraszekb, J., "Chemical profile and seasonal variation of phenolic acid content in bastard balm (*Melittis melissophyllum* L., *Lamiaceae*)", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, V. 66, (2012), 154– 161.
278. Tan, X. Li, Q. Chen, X. Wang, Z. Shi, Z. Bi, K. et Jia, Y., "Simultaneous determination of 13 bioactive compounds in *Herba Artemisiae Scopariae* (Yin Chen) from different harvest seasons by HPLC-DAD", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, V. 47, (2008), 847–853.

279. Sartora, T. Xavierb, V.B. Falcãob, M.A. Mondinc, C.A. Santosd, M.A. dos Casselb, E. Astaritaa, L.V. et Santaréma, E.R., “Seasonal changes in phenolic compounds and in the biological activities of *Baccharis dentata* (Vell.)”, *Industrial Crops and Products*, V. 51, (2013), 355–359.
280. Roki, N. Menkovic, N. Savikin-Fodulovic, K. Krivokuca-Dokic, C. Ristic, M. et Grubisic, D., “Flavonoids and essential oil in flower heads of introduced *Arnica chamissonis*”, *J. Herbs Spices Med. Plants*, V. 4, (2001), 19–27.
281. Siatka, T. et Kašparova, M., “Seasonal variation in total phenolic and flavonoid contents and DPPH scavenging activity of *Bellis perennis* L. flowers”, *Molecules*, V. 15, (2010), 9450–9461.
282. Veberic, R. Colaric, M. et Stampar, F., “Phenolic acids and flavonoids of fig fruit (*Ficus carica* L.) in the northern Mediterranean region”, *Food and Chemical Toxicology*, V. 106, (2008), 153–157.
283. Ellnain-Wojtaszek, M. Kruczyn´ ski, Z. et Kasprzak, J., “Analysis of the content of flavonoids, phenolic acids as well as free radicals from *Ginkgo biloba* L. leaves during the vegetative cycle”, *Acta Pol. Pharm.*, V. 58, (2001), 205–209.
284. Zgorka, G. Lutostan´ ska, E. et Głowniak, K., “easonal variations of phenolic acids in *Origanum vulgare* leaves”, *Pharm. Pharmacol. Lett.*, V. 7, (1997), 187–190.
285. Djidel, S. Khennouf, S. Baghiani, A. Harzallah, D. et Arrar, L., “Medicinal plants used traditionally in the Algerian folk medicine for gastrointestinal disorders and hypertension: total polyphenols, flavonoids and antioxidant activity”, *Acta Hortic*, V. 854, (2009), 59–65.
286. Tlili, N. Elfalleh, W. Hannachi, H. Yahia, Y. Khaldi, A. Ferchichi, A. et al, “Screening of natural antioxidants from selected medicinal plants”, *Int. J. Food Prop.*, V. 16, (2013), 1117–1126.
287. Argoti, J.C. Salido, S. Linares-Palomino, P.J. Ramírez, B. Insuastya, B. et Altarejos, J., “Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of a selection of wild-growing Colombian plants”, *J. Sci. Food Agric.*, V. 91, (2011), 2399–2406.
288. Lapornik, B. Prosek, M. et Wondra, A.G., “Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time”, *J. Food Eng.*, V. 72, n° 2, (2005), 214–222.
289. Mhamdi, B. AidiWannes, W. Sriti, J. Jellali, I. Ksouri, R. et Marzouk, B., “Effect of harvesting time on phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Borago officinalis* seed extracts”, *Industrial Crops and Products*, V. 31, (2010), e1–e4.
290. Şūra Baykan, Erel Gottfried, Reznicek Serdar Gökhan, Şenol nefi Se Ülkü Karabay, Yavaşoğulu Sibel, Konyalioğlu et Ahmet, Ulvi Zeybek, “Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia”, *Turk J. Biol.*, V. 36, (2012), 75–84.

291. Wang, S.Y. Chen, C.T. Sciarappa, W. Wang, C.Y. et Camp, M.J., "Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries.", *J. Agric. Food Chem.*, V. 56, (2008), 5788–5794.
292. Goudjil, M,B, "Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques", Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah – Ouargla, (2016) .
293. Bouzidi, Nebia, "Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba* Asso»", Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli De Mascara, (2016).
294. Zhang, H.B. Wen, J.K. Zhang, J. Miao, S.B. Ma, GY. Wang, YY. Han, M. et Zheng, B., " Effect of three flavonoids isolated from Japanese Polygonum species on superoxide generation in human neutrophils", *Pharm Biol*, V. 49, (2011), 815–820..
295. Falcão, S.I Vale, N Gomes, P Domingues, M.R Freire, C. Cardoso, S.M. et Vilas-Boas, M., "Phenolic profiling of Portuguese propolis by LC-MS spectrometry: un common propolis rich in flavonoid glycosides", *Phytochem Anal*, V. 24, n° 4, (2013), 309-318.
296. Justesen , "collision-induced fragmentation of deprotonated methoxylated flavonoids, obtained by electrospray ionization mass spectrometry", *journal of mass spectrometry*, V. 36, (2001), 169-178.
297. Ferreira, J.F.S Devanand, L.L et Tomikazu S.A.H, "Flavonoids from *Artemisia annua* L. as Antioxidants and their Potential Synergism with Artemisinin against Malaria and Cancer", *Molecules* , V. 15, n° 5, (2010), 3135–3170.
298. Jian, H. Min, Y. Xue, Q. Man, X. Baorong, W. et Dean, G., "Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry", *J. Pharmaceut. Biomed. Anal*, V. 47, n° 3, (2008), 516–525.
299. Parejo, I. Jauregui, O. Sanchez-Rabaneda, F. Viladomat, F. Bastida, J. et Codina, C., "Separation and Characterization of phenolic compounds in fennel (*Foeniculum vulgare*) using liquid chromatography–negative electrospray ionization tandem spectrometry.", *J. Agric. Food Chem*, V. 52, (2004), 3679–3687.
300. Sanchez-Rabaneda, F. Jauregui, O. Sanchez-Rabaneda, F. Lamuela-Raveentos, R. M. Viladomat, F. Bastida, J. et Codina, C., "Qualitative analysis of phenolic compounds in apple pomace using liquid chromatography coupled to mass spectrometry in tandem mode.", *Mass Spect*, V. 18, (2004), 553–563.
301. Shu, P. Hong, J.L. Wu, G. Yu, B.Y. et Qin, M.J., " Analysis of Flavonoids and Phenolic Acids in *Iris tectorum* by HPLC-DAD-ESI-MS", *Chinese. J. Nat.Med*, V. 8, n° 3, (2010), 0202–0207.
302. Sumei, Y. et Weixia, Q., " 5,30-Dihydroxy-7,40-dimethoxyflavanone from *Artemisia sphaerocephala* Kraschen. . ", *Acta Crystallographica Section E*, , (2008), Structure Reports Online ISSN 1600-5368/08009355/hb 2716 supo.html.