

Table des Matières

	Page
Introduction générale.....	1
PARTIE I: Etude Ethnobotanique de Quelques Plantes Aromatiques & Médicinales (PAM) du Hoggar.....	3
I-1 Etude ethnobotanique de quelques plantes du Sud algérien.....	4
I-2 Présentation du biotope des plantes étudiées (Hoggar).....	6
PARTIE II: Caractérisation Chimique & Activités Biologiques des Huiles Essentielles (HEs): Rappel Bibliographique.....	7
A) Etude des huiles essentielles (HEs).....	8
II-1 Définition de l'huile essentielle (HE).....	8
II-2 Les composants chimiques des HEs.....	9
II-3 Propriétés des HEs.....	11
II-3-1 Propriétés physiques des HEs.....	11
II-3-2 Propriétés chimiques des HEs.....	11
II-4 Les différentes méthodes d'extraction.....	12
II-4-1 Hydrodistillation.....	12
II-4-2 Entraînement à la vapeur d'eau.....	12
II-4-3 Extraction par méthode supercritique CO ₂	13
II-4-4 Extraction assistée par micro-onde.....	13
II-5 Identification des huiles essentielles.....	14
II-5-1 Chromatographie en Phase Gazeuse.....	14
II-5-2 Spectrométrie de masse.....	14
II-5-3 Détecteur à ionisation de flamme.....	16
B) Activités Biologique et Anticorrosion des HEs.....	18
II-1 Activités biologiques des HEs.....	18
II-1-1 Activité antimicrobienne.....	18
II-1-2 Activité anti-oxydante.....	19
II-1-3 Activité enzymatique.....	21
II-1-3-1 Activité inhibitrice de l'AChE.....	21
II-1-3-2 Activité inhibitrice de l' α -glucosidase.....	22
II-1-4 Activité anti-inflammatoire.....	23
II-2 Activités anticorrosion des HEs.....	25
PARTIE III: Études Chimique & Biologique de Quelques PAM du Sud Algérien.....	28
III-1 <i>Pulicaria incisa</i>	28
III-1-1 Description botanique.....	28
III-1-2 Répartition géographique et habitat.....	28
III-1-3 Travaux antérieurs.....	29
III-2 <i>Asteriscus graveolens</i>	31
III-2-1 Description botanique.....	31
III-2-2 Répartition géographique et habitats.....	31
III-2-3 Travaux antérieurs.....	32

III-3 <i>Aervajavanica</i>	33
III-3-1 Description botanique.....	33
III-3-2 Répartition géographique et habitats.....	33
III-3-3 Travaux antérieurs.....	34
PARTIE IV: Résultats & Discussions.....	37
A) Etude Ethnobotanique de Quelques PAM du Hoggar (Part. I).....	37
IV-1 Résultats.....	37
IV-1-1 Etude chimique.....	37
IV-1-1-1 Criblage phytochimique par CCM.....	37
IV-1-1-2 Polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins.....	37
IV-1-2 Etudes biologiques.....	37
IV-1-2-1 Activité anti-oxydante.....	37
- Activité anti-oxydante par bioautographie.....	37
- Activité anti-oxydante par dosage (Test DPPH).....	37
IV-1-2-2 Activité antimicrobienne.....	41
IV-2 Discussions.....	43
IV-3 Conclusion.....	45
B) Études Chimique & Biologique de Quelques PAM du Sud Algérien (Part. III).....	46
IV-1 Analyse chimique des HEs.....	46
<i>a-P. incisa</i>	46
<i>b-A. graveolens</i>	50
<i>c-A. javanica</i>	53
IV-2 Activités biologiques des HEs.....	55
IV-2-1 Activité antimicrobienne.....	55
IV-2-1-1 Aromatogramme.....	55
IV-2-1-2 Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	57
IV-2-2 Activité anti-oxydante.....	60
IV-2-2-1 Piégeage du radical libre stable DPPH.....	60
IV-2-2-2 Test de FRAP.....	64
IV-2-3 Activités enzymatiques.....	67
IV-2-3-1 Activité inhibitrice d'acétylcholinestérase (AChE).....	67
IV-2-3-2 Activité inhibitrice de l'α-glucosidase.....	70
IV-2-4 Activité anti-inflammatoire.....	74
IV-3 Activité anticorrosion.....	76
IV-3-1 Chronopotentiométrie.....	76
III-3-2 Polarisation potentiodynamique.....	77
III-3-3 Spectroscopie d'impédance électrochimique.....	79
PARTIE V: Matériels & Méthodes.....	83
A) Étude Ethnobotanique de Quelques PAM du Hoggar (Part. I).....	83
V-1 Matériel végétal.....	83
V-2 Extraction.....	83
V-3 Préparation des solutions.....	83
V-3-1 Tests phytochimiques par CCM.....	83
V-3-2 Dosage des polyphénols totaux.....	83
V-3-3 Dosage des flavonoïdes.....	84
V-3-4 Dosage des tanins.....	84
V-4 Activités biologiques.....	84

V-4-1 Evaluation de l'activité anti-radicalaire par bioautographie (CCM).....	84
V-4-2 Test DPPH par dosage spectrophotométrique.....	84
V-4-3 Evaluation de l'activité antimicrobienne	85
V-5 Analyses statistiques.....	85
B) Études Chimique & Biologique de Quelques PAM du Sud Algérien (Part. III)	86
V-1 Matériel végétal.....	86
V-2Extraction des HEs.....	86
V-3 AnalysesCPG et CPG/SM.....	87
V-4Activités biologiques.....	88
V-4-1 Activité antimicrobienne.....	88
V-4-1-1 Méthode de culture et microorganismes.....	89
V-4-1-2 Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme).....	89
V-4-1-3 Méthode de microdilution (CMI).....	89
V-4-2Activité anti-oxydante.....	90
V-4-2-1 Mesure de l'activité anti-oxydante par DPPH.....	90
V-4-2-2 Méthode de la réduction du fer (FRAP).....	91
V-4-3Activités enzymatiques.....	92
V-4-3-1 Dosage de l'activité inhibitrice d'Acétylcholinestérase (AChE) par microplaque	92 93
V-4-3-2 Evaluation de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase.....	93
V-4-4Activité anti-inflammatoire	94
V-4-4-1Activité inhibitrice NO.....	94
V-4-4-2Test de viabilité MTT.....	95
V-5Activité anticorrosion.....	96
V-5-1Principe des méthodes employées.....	96
V-5-1-1 Suivi du potentiel en circuit ouvert ou chronopotentiométrie	96
V-5-1-2 Tracé des courbes de polarisation.....	96
V-5-1-3Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE).....	97
V-5-2 Expérimentation.....	98
V-5-2-1 Inhibiteurs testés.....	99
V-5-2-2Préparation des échantillons.....	99
V-5-2-3Préparation du milieu corrosif.....	99
V-5-2-4 Mesures électrochimiques.....	100
V-6 Analyses statistique.....	100
Conclusion Générale.....	101
Références Bibliographiques.....	105
Annexe.....	124

Tableaux

Page

PARTIE I

Tableau 1: Plantes étudiées, leurs usages en médecine traditionnelle (Sahki, 1998; Sahki et al., 2004).....	5
--	---

PARTIE III

Tableau 2: Position taxonomique de <i>Pulicaria incisa</i>	29
Tableau 3: Position taxonomique d' <i>Asteriscus graveolens</i>	32
Tableau 4: Position taxonomique d' <i>Aerva javanica</i>	34

PARTIE IV

Tableau 5: Criblage phytochimique des différentes espèces étudiées.....	39
Tableau 6: Résultats des dosages des différents groupes chimiques.....	40
Tableau 7: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits végétaux actifs contre <i>B. subtilis</i> à la concentration de 5 mg/mL.....	41
Tableau 8: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits végétaux actifs contre <i>A. flavus</i> à la concentration de 5mg/mL.....	41
Tableau 9: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits végétaux actifs à la concentration de 10 mg/mL.....	42
Tableau 10 : Caractéristiques des HEs extraites des plantes du Hoggar.....	46
Tableau 11: Composition chimique de l'HE de la partie aérienne de <i>P. incisa</i>	49
Tableau 12: Composition chimique de l'HE de la partie aérienne d' <i>A. graveolens</i>	52
Tableau 13: Composition chimique de l'HE de la partie aérienne d' <i>A. javanica</i>	54
Tableau 14: Activité antimicrobienne des HEs de deux <i>Asteraceae</i> : <i>P. incisa</i> and <i>A. graveolens</i>	59
Tableau 15: Les valeurs IC ₅₀ de l'activité anti-oxydante par DPPH des HEs et du témoin positif..	60
Tableau 16: Les valeurs IC ₅₀ de l'activité AChE des HEs et du témoin positif.....	67
Tableau 17: Les valeurs IC ₅₀ de l'activité d' α -glucosidase des huiles et du témoin positif.....	71
Tableau 18: % d'inhibition du NO et de viabilité pour des HEs étudiées.....	75
Tableau 19: Efficacités inhibitrices et paramètres électrochimiques relatifs à la corrosion en milieu HCl 0.5 M de l'acier sans et avec addition des HEs de <i>P. incisa</i> , d' <i>A. graveolens</i> et d' <i>A. javanica</i> à différentes concentrations et à 25°C.....	78
Tableau 20: Efficacités inhibitrices et paramètres électrochimiques relatifs à la corrosion en milieu HCl 0.5 M de l'acier doux en l'absence et en présence de l'HE de <i>P. incisa</i> à différentes concentrations et à 25°C.....	80

Figures

	Page
PARTIE II	
Figure 1: Une unité d'isoprène.....	9
Figure 2: Unités d'isoprène dans certains terpénoïdes.....	9
Figure 3: Prénol.....	10
Figure 4: Exemples de quelques monoterpènes.....	10
Figure 5: Exemples de quelques sesquiterpènes.....	11
Figure 6: Exemples de composés aromatiques.....	11
Figure 7: Représentation schématique des différents modules d'un chromatographe CPG/SM.....	14
Figure 8: Représentation schématique de l'ionisation par impact électronique.....	15
Figure 9: Représentation schématique des différents composants d'un détecteur à ionisation de flamme.....	16
Figure 10: Mécanisme d'action des HEs sur la cellule bactérienne (Li et al., 2014).....	19
Figure 11: Schéma d'une synapse et mécanismes de neurotransmission cholinergique.....	21
Figure 12: Mécanisme d'action des inhibiteurs de l' α -glucosidase (Karam, 2007).....	23
Figure 13: Les différentes maladies causées par l'inflammation.....	24
Figure 14: Différentes corrosions de l'acier et du fer exposés à l'eau et l'air.....	26
PARTIE III	
Figure 15: <i>Pulicaria incisa</i> prise dans la région d'El-Hoggar, à gauche représentation des feuilles et fleurs, à droite vue d'ensemble de la plante.....	29
Figure 16: <i>Asteriscus graveolens</i> prise dans la région El-Hoggar, à gauche vue d'ensemble et à droite vue des fleurs et feuilles.....	31
Figure 17: <i>Aerva javanica</i> prise dans la région El-Hoggar, à gauche et au milieu vue d'ensemble, à droite vue des fleurs et des feuilles.....	34
PARTIE IV	
Figure 18: Composés majoritaires identifiés dans <i>P. incisa</i>	47
Figure 19: Composés majoritaires identifiés dans <i>A. graveolens</i>	51
Figure 20: % d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de <i>P. incisa</i> ...	61
Figure 21: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE d' <i>A. graveolens</i>	63
Figure 22: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE d' <i>A. javanica</i>	64
Figure 23: Absorbances en fonction des concentrations de l'HE de <i>P. incisa</i> , de l'AA et du BHT.....	65
Figure 24: Absorbances en fonction des concentrations de l'HE d' <i>A. graveolens</i> , de l'AA et du BHT.....	66
Figure 25: Absorbance en fonction des concentrations de l'HE d' <i>A. javanica</i> , de l'AA et du BHT.	67
Figure 26: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE de <i>P. incisa</i>	68
Figure 27: % d'inhibition en fonction des concentrations de l'HE d' <i>A. graveolens</i>	69
Figure 28: % d'inhibition de l'AChE en fonction des concentrations de l'HE d' <i>A. javanica</i>	70
Figure 29: % d'inhibition de l' α -glucosidase en fonction des concentrations de l'HE de <i>P. incisa</i> et de la quercétine.....	71
Figure 30: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE d' <i>A. graveolens</i> et de la	

quercétine.....	73
Figure 31: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE d' <i>A. javanica</i> et de la quercétine.....	74
Figure 32: Évolution temporelle du potentiel d'abandon de l'acier en l'absence et en présence de l'HE de <i>P. incisa</i> à différentes concentrations et à T = 25°C.....	77
Figure 33: Courbes de polarisation de l'acier doux dans HCl 0.5 M en l'absence et en présence de l'HE de <i>P. incisa</i> à différentes concentrations et à T = 25°C.....	78
Figure 34: Spectres d'impédances de l'acier doux dans HCl 0.5 M en l'absence et en présence de l'HE de <i>P. incisa</i> à de différentes concentrations et à T = 25°C.....	80
Figure 35: Circuit électrique équivalent de l'interface acier/milieu acide.....	81
Figure 36: Évolution du taux d'inhibition de la corrosion de l'acier doux en milieu HCl 0.5 M en fonction de la concentration de l'extrait de <i>P. incisa</i> par polarisation potentiodynamique et SIE à T = 25°C.....	82

PARTIE V

Figure 37: Localisation des plantes sélectionnées.....	86
Figure 38: Montage de type Clevenger.....	87
Figure 39: Structure du 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).....	90
Figure 40: Réaction du DPPH avec un antioxydant.....	90
Figure 41: Réaction colorimétrique d'Ellman.....	92
Figure 42: Dégradation du <i>p</i> -nitrophényl α -D-glucopyranoside (PNPG) par l' α -glucosidase...	93
Figure 43: Action de la succinate déshydrogénase sur le MTT conduisant au formazan (Heras et al., 2001).....	95
Figure 44: Courbe de polarisation et droites de Tafel d'un système redox à l'équilibre.....	97
Figure 45: Diagramme de Nyquist ou spectre d'impédance électrochimique.....	98

Rapport-Gratuit.com

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Les plantes médicinales sont utilisées comme ressource médicale presque dans toutes les cultures depuis des millénaires : de la civilisation mésopotamienne à nos jours en passant par les civilisations chinoises, indiennes, grecques et arabes, pour se soigner ou prévenir des maladies. Elle est devenue certainement un art (Hamburger et Hostettmann, 1991).

La pharmacologie profite de ce retour à la nature, trouvant dans l'étude des plantes médicinales une inspiration nouvelle, un réservoir inépuisable de matières premières et des modèles de structures moléculaires insoupçonnées jusque-là et pharmacologiquement actives (Bellakhadar, 2006).

Assurer la sécurité, la qualité et l'efficacité des plantes médicinales et des médicaments à base de plantes est devenu récemment un objectif clé dans les pays industrialisés et en développement. En normalisant et en évaluant l'efficacité des composés végétaux actifs, les médicaments à base de plantes peuvent contribuer à l'émergence d'une nouvelle ère du système de santé pour traiter les maladies humaines dans l'avenir. La valorisation des connaissances traditionnelles sur les plantes médicinales peut jouer un rôle important dans l'exploitation et la découverte des ressources végétales naturelles (Jamshidi-Kia *et al.*, 2018). En effet, des études récentes ont rapporté la détection de 385 spécimens de plantes (381 taxons) portant une utilisation médicale et des informations sur les noms populaires (Gras *et al.*, 2017).

Depuis deux décennies, de nombreuses études ont été menées sur l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles (HEs). Des applications récentes ont été développées dans le domaine de la conservation alimentaire, de l'industrie des parfums, des cosmétiques, de la pharmacie et de l'agroalimentaire (Bencheqroun *et al.*, 2012).

En Algérie, le créneau des plantes aromatiques et médicinales (PAM) prend de l'ampleur et des études sont de plus en plus poussées dans ce domaine. Dans le Sahara algérien en général et le Hoggar en particulier, la médecine traditionnelle occupe une place importante dans les cultures des autochtones. Elle est essentiellement basée sur l'utilisation des plantes médicinales locales (Ziani *et al.*, 2015).

Dans le cadre de cette thèse, un intérêt particulier est donné à l'étude de quelques PAM de la région du Hoggar. Cette étude est motivée par la diversité floristique de cette région et aussi par le peu d'études réservées aux plantes choisies.

Dans cette étude, la collecte de douze espèces botaniques, utilisées par les autochtones à des fins thérapeutiques, est réalisée dans la région du Hoggar. Ces espèces sont identifiées par Mme SAHKI et son équipe (Institut National de Recherche Forestière - Tamanrasset). Des investigations botaniques sont suivies d'études ethnobotanique, phytochimique et biologiques. Parmi toutes les plantes sélectionnées, trois d'entre elles, notamment, *Pulicaria incisa*, *Asteriscus graveolens* et *Aerva javanica*, ont attirés, particulièrement, notre attention pour leurs odeurs caractéristiques d'où l'intérêt porté à leurs huiles essentielles. Des extractions, identification par CPG et CPG/SM et des évaluations des activités biologiques sont réalisées.

Cette thèse est subdivisée en cinq parties :

1) La première partie a trait à l'étude ethnobotanique des PAM choisies et appartenant à neuf familles botaniques différentes.

2) La seconde partie est consacrée à un rappel bibliographique donnant succinctement les techniques d'extraction, les méthodes chromatographiques utilisées pour la caractérisation chimique des huiles essentielles ainsi que les méthodes employées pour l'évaluation de leurs activités biologiques et anticorrosive.

3) La troisième partie est réservée à l'identification botanique des plantes choisies du sud algérien pour leur huiles essentielles, notamment, *Aerva javanica*, *Asteriscus graveolens* (espèce très utilisée par les touaregs) et *Pulicaria incisa*. Cette dernière est considérée comme la femelle d'*Asteriscus graveolens*. En effet, ces deux espèces vivent en couple (*amyu-tamayu*). Quelques travaux antérieurs sur la chimie et la biologie de ces plantes sont résumés dans cette partie.

4) La quatrième partie résume l'ensemble des résultats et travaux réalisés et leurs interprétations.

5) La cinquième partie regroupe tous les modes opératoires décrivant le déroulement détaillé des opérations effectuées.

Enfin, une conclusion générale synthétise l'ensemble des résultats obtenus, mettant en exergue les perspectives futures de ce travail de recherche.

PARTIE I:
ETUDE ETHNOBOTANIQUE DE QUELQUES PLANTES
AROMATIQUES & MÉDICINALES (PAM) DU HOGGAR

PARTIE I: Etude Ethnobotanique de Quelques Plantes Aromatiques & Médicinales (PAM) du Hoggar

L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutiques, est rapportée dans les littératures antiques arabes. En Afrique, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique (Karou et al., 2003). Jusqu'à l'heure actuelle les deux médecines traditionnelle et moderne sont pratiquées, notamment dans le continent africain qui compte à l'exception de l'Afrique du Sud, que des pays en voie de développement. Pour parvenir à une meilleure connaissance de la médecine africaine, plusieurs investigations phytochimiques ont été réalisées, afin d'apporter une justification et une validation scientifique à l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales (Yemoa et al., 2008).

De nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part, seraient quasiment dépourvues de toxicité. Parmi ces plantes, *Terminalia sericea*, *Aloe nuntii*, *Aloe lateritia*, *Zanthoxylum chalybeum*, *Zanthoxylum deremense* et *Kigelia africana* qui ont été fréquemment mentionnées pour leur activité antifongique. L'étude de l'activité cytotoxique a révélé que la plupart des plantes testées étaient non toxiques avec $LC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$, ce qui implique que la plupart des composés de ces plantes sont sans danger pour une utilisation thérapeutique (Mbunde et al., 2017). Plusieurs travaux dans le monde ont été établis sur plusieurs activités biologiques par exemple l'activité anti-oxydante comme ceux de Huang et al. (2011) en Chine, de Kaison et al. (2011) en Thaïlande et l'activité antimicrobienne de Oliveira et al. (2011) qui traite des plantes du Brésil et de Al-Bayati (2009) d'Iraq.

L'Algérie possède un riche patrimoine de plantes utilisées en pharmacopée traditionnelle pour traiter plusieurs maladies, dont le diabète, les maladies cardiovasculaires et autres pathologies (Ziyyat et al., 1997; Eddouks et al., 2002; Bellakhadar, 2006). Plusieurs travaux ont été effectués en Algérie sur les plantes à intérêt médicinal. Ces plantes ont été évaluées pour leur richesse en polyphénols et pour leurs activités anti-oxydante, antimicrobienne et antidiabétique (Djeridane et al., 2006).

En 2010, Zaabat a fait une étude phytochimique sur *Marrubium desertii*. Il a pu ainsi isoler un diterpène original de type labdane, un flavonoïde et des phénylpropanoïdes glycosylés. Ces extraits ont fait l'objet d'une étude biologique comme antioxydants, antibactériens et anti-génotoxiques.

Des travaux effectués sur 56 espèces de plantes médicinales récoltées de diverses régions d'Algérie ont démontré une richesse en métabolites secondaires et des activités biologiques comme l'activité anti-radicalaire et l'activité acétylcholinestérase (Rached et al., 2010; Benamar et al., 2010).

Malgré ces nombreuses études sur les plantes prélevées en Algérie, il reste encore beaucoup de plantes non évaluées sur le plan de leurs activités biologiques. En effet, le Sahara central est un véritable réservoir d'espèces végétales qui subsistent aux conditions extrêmes d'aridité. Ces richesses naturelles montrent de nombreuses vertus alimentaires, cosmétiques et médicinales. Jusqu'à aujourd'hui, les tradipraticiens appartenant à des tribus de Touaregs utilisent ces plantes contre de nombreuses affections.

C'est dans ce cadre, qu'une étude ethnobotanique a porté sur quelques plantes du Hoggar, dont certaines sont utilisées en pharmacopée traditionnelle, afin de les valoriser en évaluant leurs activités anti-oxydante et antimicrobienne.

I-1 Etude ethnobotanique de quelques plantes du Sud algérien

La flore de l'Ahaggar se caractérise par des formations végétales notamment tropicales et saharo-sindiennes qui se concentrent principalement dans les lits d'oueds et les vallées sèches en moyennes et basses altitudes alors que les hautes altitudes, moins arides, se multiplient les microclimats ce qui permet le développement d'une flore en majorité méditerranéenne, endémique et endémique relique.

Les Touaregs (habitants de l'Ahaggar) se sont intéressés, aux vertus curatives des plantes et leur milieu naturel. Cette culture traditionnelle, transmise généralement par les femmes, est restée de vigueur à nos jours, principalement chez les nomades et les semi-sédentaires, malgré le progrès qu'a connu la science en général et la médecine en particulier.

Les enquêtes éthno-médicinales réalisées auprès des tradipraticien(ne)s de l'Ahaggar ont permis de noter que les parties de la plante (feuilles, racines, fruits, écorce, graines, fleurs, bois) sont utilisées directement à l'état frais ou bien en poudre, mélangées à d'autres plantes naturelles, au thé, au miel ou aux graisses animales. Les nombreuses préparations obtenues sont administrées en général sous forme de tisanes, de bains, de sirop ou d'extraits ajoutés aux aliments ou aux boissons (Sahki, 1998). Douze espèces appartenant à neuf familles ont été

répertoriées afin de faire une enquête ethnobotanique. Le tableau 1 présente leurs usages en thérapie traditionnelle et les parties utilisées.

Tableau 1: Plantes étudiées, leurs usages en médecine traditionnelle (Sahki, 1998; Sahki et al., 2004)

Espèces végétales	Parties utilisées	Indications thérapeutiques
<i>Solenostemma argel</i>	Feuilles, fruits et fleurs	Affections respiratoires, rhumatismes, angines, lumbagos, blennorragie et courbatures, fébrifuges. Le suc des tiges est un collyre qui aide à la cicatrisation des
<i>Aerva javanica</i>	Racines, feuilles fleurs, tiges feuillées fraîches	Morsures de vipère et piqûres de scorpion. Fabrication de Savon
<i>Deverra scoparia</i>	Feuilles, tiges, fleurs	Utilisés comme condiments, en infusion soulage les coliques néphrétiques, les rhumatismes, le rhume, la colopathie, Pour les rétentions urinaires, la plante pilée à l'état sec est mélangée à la coriandre et au sucre. Pour soigner les traumatismes, la plante est bouillie avec du jus de viande, la plante est mâchée pour atténuer la soif.
<i>Pentzia monodiana</i>	—	Plante broutée, non utilisée en médecine traditionnelle.
<i>Pulicaria incisa</i>	Feuilles	Utilisées en décoction contre les rhumes, la grippe et les tachycardies.
<i>Maerua crassifolia</i>	Feuilles et fruits	Fébrifuge, caries dentaires, vomissements et contre les piqures de scorpion. Les fruits, d'un goût agréable, sont consommés comme friandises.
<i>Anabasis articulata</i>		Plante fourragère. Ses tiges sont employées pour soigner les dermatoses des dromadaires. Écrasées, elles donnent du savon.
<i>Lavandula pubescens</i> subsp. <i>antinea</i>	Tiges feuillées et fleuries	Utilisée en infusion contre les rhumatismes, les spasmes. Elle est antiseptique des voies respiratoires et urinaires. Elle est utilisée comme condiment et aromate
<i>Marrubium desertii</i>	Feuilles bourgeons	Utilisée en décoction contre les ballonnements et les diarrhées, on lui reconnaît des vertus efficaces contre les tachycardies.
<i>Mentha longifolia</i>	Feuilles, fleurs et fruits.	Les feuilles fraîches en infusion sont digestives, stomachiques et calmantes. Les fleurs et fruits en infusion sont astringents. Les feuilles sont employées comme condiment.
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	Tiges feuillées et fleuries, racines	Utilisée en décoction, elle soulage les maux de reins, les troubles intestinaux et les intoxications alimentaires. Egalement la grippe, les douleurs rhumatismales, sinusite et elle est fébrifuge. En en cataplasme, elle soigne les blessures des dromadaires.
<i>Balanites aegyptiaca</i>	Fruits, écorces, racines, feuilles, huile extraite de l'amande	La décoction de l'écorce est employée pour soulager le mal de gorge. Les fruits soulagent les sinusites, les angines et amygdales et protègent le visage des atteintes de froid. Les feuilles sont laxatives, digestives, vermifuges, soulagent les douleurs rhumatismales, les nausées, les furoncles et les caries dentaires. La pâte huileuse extraite de l'amande du fruit est utilisée en cosmétologie et pour soigner la gale des dromadaires

I-2 Présentation du biotope des plantes étudiées (Hoggar)

L'Ahaggar (Hoggar), partie intégrante de la subdivision du Sahara central, est une chaîne montagneuse culminant à plus de 3000 m d'altitude. Il se situe à l'extrême Sud algérien et il est approximativement compris entre 21° - 25° de latitude nord et entre 3° - 6° de longitude est (Gast, 1968). Il couvre une superficie d'environ 554 000 Km² soit le un quart de la surface globale de l'Algérie (J.O.R.A.D.P., 1987 ; Ouzegane et al., 2001 ; Sahki, 2012). La flore en Ahaggar se caractérise par des formations végétales notamment tropicales. Les Touaregs (habitants de l'Ahaggar) se sont intéressés, jusqu'à nos jours aux vertus curatives des plantes de leur milieu naturel.

PARTIE II:
CARACTÉRISATION CHIMIQUE & ACTIVITÉS
BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES (HES):
RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE II:Caractérisation Chimique & Activités Biologiques des Huiles Essentielles (HEs): Rappel Bibliographique

Dans le monde, les extraits végétaux et les huiles essentielles (HEs) utilisés dans la médecine traditionnelle continuent de nous fournir une activité nouvelle et unique (Davis, 2013). Les huiles essentielles sont des produits végétaux naturels très intéressants et, parmi d'autres qualités, ils possèdent diverses propriétés biologiques. Le terme "biologique" comprend toutes les activités que ces mélanges de composés volatils (principalement monos et sesquiterpénoïdes, benzénoïdes, phénylpropanoïdes, etc.) exercent sur les êtres humains, les animaux et d'autres plantes (Hüsnü et Buchbauer, 2010).

Les HEs sont des métabolites secondaires synthétisés par tous les organes végétaux (les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les tiges, les graines, les fruits, les racines et l'écorce du bois) et, sont stockés dans les cellules sécrétrices, les cavités, les canaux, les cellules épidermiques et les trichomes glandulaires. Elles sont liquides, volatiles, limpides ou colorées, solubles dans les lipides et solvants organiques avec une densité généralement inférieure à celle de l'eau. Les HEs jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les attaques des animaux ; elles sont antimicrobiennes, antifongiques, antivirales et insecticides. Elles peuvent également attirer certains insectes pour favoriser la pollinisation. Elles sont extraites de diverses plantes aromatiques généralement localisées dans les climats tempérés à chauds tels que les pays méditerranéens et tropicaux où ils représentent une partie importante dans la pharmacopée traditionnelle (Saad et Said, 2011).

Les HEs sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire plusieurs centaines de composés, principalement terpéniques. Les terpènes, molécules construites à partir d'entités isopréniques, constituent une famille très diversifiée, tant au niveau structural qu'au niveau fonctionnel. Les HEs sont constituées, généralement, des mono et des sesquiterpènes (possédant respectivement 10 et 15 atomes de carbone) et plus rarement des diterpènes (20 atomes de carbone) ainsi que des composés linéaires non terpéniques et des phénylpropanoïdes (Paolini, 2005).

Les HEs sont reconnues, pendant des décennies, par leurs activités biologiques diverses incluant les propriétés antimicrobiennes, anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, etc.

A) Etude des huiles essentielles (HEs)

Depuis tout temps, les HEs ont occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme, qui les utilisait pour se parfumer, comme aromatisant de nourriture ou même pour se soigner. Toutes les plantes émettent des composés volatils, qu'il s'agisse d'oxygène, de gaz carbonique, de méthanol, d'isoprène ou de composés plus complexes issus du métabolisme carboné. Ces molécules interagissent avec leur environnement et peuvent, par exemple attirer des pollinisateurs (insectes), ou encore repousser ou intoxiquer des ravageurs : plus cette interaction est efficace et plus la plante a un avantage par rapport à sa voisine. Cette sélection naturelle a conduit à une énorme diversification des composés volatils et des structures cellulaires dans lesquelles se déroule la biosynthèse des composés. Les composés du métabolisme secondaire sont d'une variété qui semble illimitée. Actuellement, plus de 100 000 substances sont connues.

Plus de 30 000 terpènes sont connus dans le monde et probablement ce nombre est loin de ce qui existe réellement dans la nature. Cette diversification va de pair avec celles des structures spécialisées : glandes, poche, canaux et autres organes accumulant les composés organiques volatils (COV) pour mieux les relâcher sur un ravageur ou pour mieux guider un pollinisateur (Fernandez et al., 2012). Il est difficile d'obtenir des données exactes sur la production mondiale d'huiles essentielles, mais une estimation de 45 000 tonnes a été rapportée en 2004 (Lubbe et Verpoorte, 2011). Une estimation récente des 20 principales huiles essentielles est beaucoup plus élevée, avec 104 000 tonnes. Les huiles essentielles peuvent être classées en trois groupes : le premier groupe dépasse 100 tonnes/an, le deuxième groupe se situe entre 50 et 100 tonnes et celui du troisième groupe entre 1 et 50 tonnes (Lubbe et Verpoorte, 2011).

II-1 Définition de l'huile essentielle (HE)

L'HE ou essence végétale, se définit comme étant un liquide hydrophobe des composés odoriférants volatils sécrétés par une plante. Ce mélange complexe de diverses molécules (alcools, cétones, terpènes, etc.) est obtenu par distillation à la vapeur d'eau, expression ou distillation sèche (Fernandez et al., 2012). Elles sont le parfum des plantes. Lorsque nous humons une rose, que nous épluchons une orange ou que nous fripons une feuille de menthe entre les doigts, c'est l'HE qui se volatilise et qui nous fait éprouver cette sensation olfactive si agréable. Elles sont à la fois des parfums et des remèdes

.....
naturels(Heinrich et al., 1983). En 1998, la norme AFNORNF T 75-006 a donné la définition suivante d'une HE : « Produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par desprocédés mécaniques à partir de l'épicarpedes citrus, soit par distillation à sec. L'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Werner, 2002).

II-2Les composants chimiques des HEs

-Les terpénoïdes

Ce sont des molécules composées d'un nombre variable d'unités d'isoprène (2-méthylbutadiène)(Figure 1), comptant les monoterpènes, les sesquiterpènes et les diterpènes.Les terpénoïdes sont le groupe le plus important des huiles essentielles. Certains auteurs se réfèrent à eux comme des terpènes, mais ce terme est de nos jours restreint aux hydrocarbures monoterpénoïdes. Lafigure 2montre les structures de certains terpénoïdes, dans le cas du géraniol, une extrémité d'une unité isoprène est jointe à l'extrémité d'une autre en formant une structure linéaire. Dans le guaiol, il y a trois unités d'isoprène réunies pour former une molécule avec deux cycles. De même, deux unités d'isoprène ont été utilisées pour former la structure bicyclique de l' α -pinène(Charles Sell, 2010).

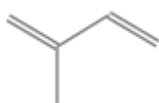
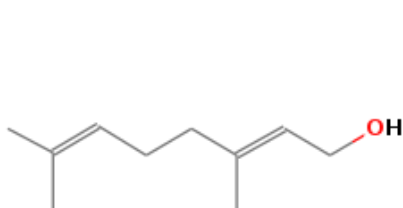
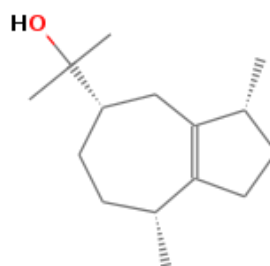


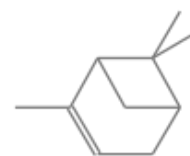
Figure 1:Une unité d'isoprène.



Géraniol



Guaiol



α -Pinène

Figure 2:Unités d'isoprène dans certains terpénoïdes.

Les premiers terpénoïdes étudiés contenaient dix atomes de carbone par molécule et ont été appelés monoterpénoïdes. Cette nomenclature est restée et donc ceux avec cinq atomes de carbone sont connus comme hémiterpénoïdes, ceux avec 15, sesquiterpénoïdes, et ceux avec 20, diterpénoïdes, et ainsi de suite. En général, seuls les hémiterpénoïdes, les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes sont suffisamment volatils pour être des composants des huiles essentielles(Sell, 2010).

- Les hémiterpènes

Plusieurs alcools, aldéhydes et esters, avec une structure de 2-méthylbutane, se présentent comme des composants mineurs dans les huiles essentielles. Vu de la biosynthèse, le modèle d'oxydation le plus commun est celui du préinol, c'est-à-dire le 3-méthylbut-2-ène-1-ol (Sell, 2010).

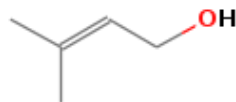


Figure 3:Préinol.

- Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%)(Padua et al.,1999). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage «tête-queue». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales(Figure 4).

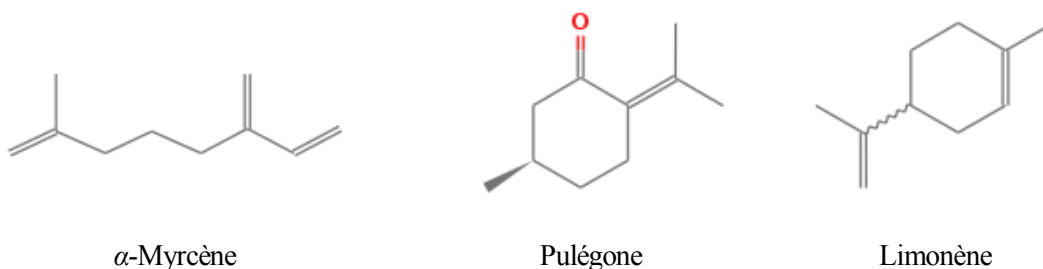


Figure 4:Exemples de quelques monoterpènes.

-Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Kurkin,2003)(Figure 5).



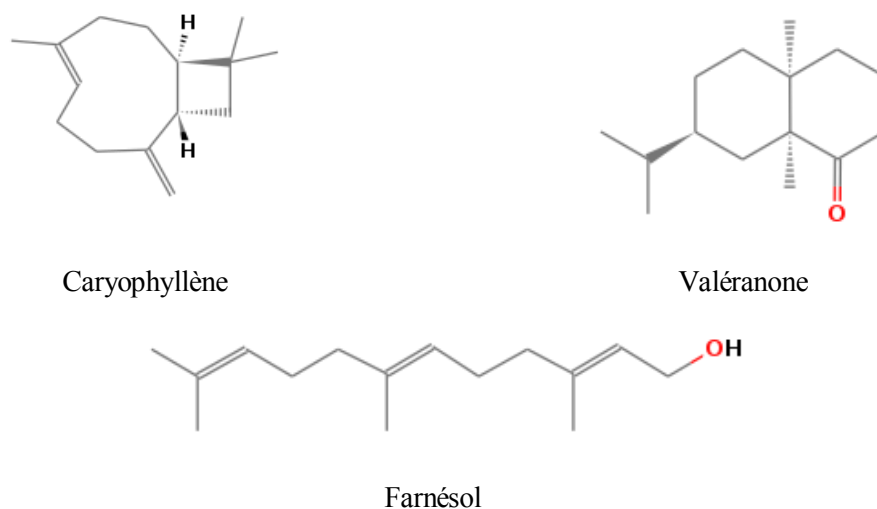


Figure 5:Exemples de quelques sesquiterpènes.

-Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane(Kurkin,2003). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentiellesdes Apiacées (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle,du basilic, de l'estragon, etc.(Bruneton,1993) (Figure 6).

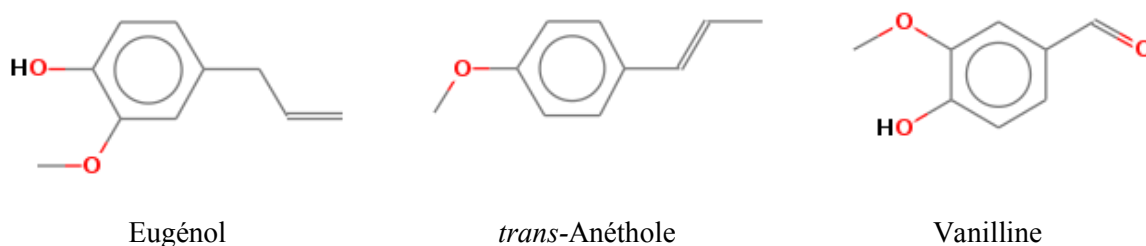


Figure 6:Exemples de composés aromatiques.

II-3 Propriétés des HEs

II-3-1Propriétés physiques des HEs

Généralement, les HEs incolores ou jaune pâle se présenteà l'état liquide à température ordinaire. Toutes les HEs sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules troisHEs officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HEs de cannelle, de girofle et de sassafras.

Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques(Rhayour, 2002).

II-3-2Propriétés chimiques des HEs

Elles sont neutres, mais acquièrent peu à peu une acidité. Elles s'oxydent à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps que leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente, leur solubilité diminue. Les HEs absorbent le chlore, le brome, l'iode avec dégagement de chaleur. Elles peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrates(Durrafourd et Lapraz, 2002).

II-4Les différentes méthodes d'extraction

II-4-1 Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) (Pavida et al.,1976).Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est, ensuite, porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe, généralement utilisée pour l'extraction des HEs, est le Clevenger. La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

II-4-2 Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette méthode, la vapeur est produite dans une chaudière séparée de l'alambic et soufflée à travers un tuyau dans le fond de l'alambic, où le matériel végétal repose sur un plateau perforé ou dans un panier pour un retrait rapide après extraction exhaustive. La distillation à la vapeur d'eau à haute pression est le plus souvent appliquée dans des alambics de champ et la température accrue appliquée réduit significativement la distillation temporelle. La distillation à haute pression de type vapeur est souvent appliquée pour la menthe poivrée, la menthe verte, le lavandin et similaires. Le distillat condensé, constitué d'un mélange d'eau et d'huile, est généralement séparé dans un flacon dit florentin, un bocal en verre, ou plus récemment dans un récipient en acier inoxydable avec une sortie près de la base et une autre

vers le haut. Là, le distillat se sépare en deux couches à partir desquelles l'huile et l'eau peuvent être retirées séparément.

Généralement, le procédé de l'entraînement à la vapeur est la méthode la plus largement acceptée pour la production d'HEs à grande échelle (Can Başer et Buchba, 2010).

II-4-3 Extraction par méthode supercritique CO₂

L'extraction de composés volatils avec du CO₂ condensé est possible dans tous les cas car la solubilité des HEs dans le dioxyde de carbone supercritique est très élevée, offrant un avantage particulier au produit final, notamment dans la conservation de la caractéristique organoleptique du matériel végétal du départ. Cependant, le CO₂ supercritique a une sélectivité élevée vis-à-vis d'autres composés lipophiles situés à la surface ou dans les parties intérieures des tissus des plantes comme des huiles grasses et les cires. La capacité de dissolution du CO₂ supercritique est associée à une augmentation de sa densité à haute pression et à haute température (Chatzopoulou, 2002).

L'utilisation d'un gaz inerte, non toxique, insipide et inodore tel que le CO₂ permet une extraction à température ambiante (30°C), à l'abri de l'oxygène, minimisant les risques de dégradations thermiques et les risques d'oxydation. De plus, le fluide est recyclé à l'état gazeux en fin d'extraction, ce qui permet de concevoir des processus respectueux de l'environnement. À titre d'exemple, ce procédé a été utilisé dans l'industrie agroalimentaire pour extraire les arômes de pommes, de poires, d'oranges et de café (Venturini, 2012).

II-4-4 Extraction assistée par micro-onde

Récemment, les procédures d'hydrodistillation assistées par micro-ondes (MAHD) pour isoler les HEs sont devenues attrayantes pour une utilisation dans les laboratoires et l'industrie en raison de son chauffage efficace, transfert d'énergie rapide et également une technique d'extraction respectueuse de l'environnement. Son acceptation en tant qu'alternative potentielle et puissante pour les techniques d'extraction conventionnelles a été prouvée par plusieurs recherches (Ranitha et al., 2014). Les principes fondamentaux du procédé d'extraction par micro-ondes (MAE) sont différents de ceux des méthodes classiques (solide-liquide ou simplement extraction) car l'extraction se produit à la suite de changements dans la structure cellulaire provoquée par les ondes électromagnétiques. L'effet des paramètres opérationnels tels que le temps d'extraction et le rapport eau/matière première sont nécessaires afin d'identifier les conditions optimales d'extraction (Priscilla et al., 2012).

II-5 Identification des huiles essentielles

Une fois l'extrait obtenu, l'analyse permet d'identifier et de quantifier les produits qui le composent. Les progrès des méthodes analytiques permettent d'identifier rapidement un très grand nombre de constituants. Les différentes méthodes sont citées et détaillées selon INSA(2015).

II-5-1 Chromatographie en Phase Gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) permet de séparer des mélanges de composés volatils ou susceptibles d'être vaporisés par suite d'équilibres entre une phase gazeuse mobile et une phase stationnaire. Un chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois parties principales :

- L'injecteur: l'échantillon est introduit avec une micro seringue, à travers un septum en élastomère, dans la chambre de vaporisation. L'injecteur a une double fonction. Il porte l'échantillon à l'état de vapeur, puis il l'amène dans le flux gazeux en tête de colonne.
- La colonne: elle est placée dans une enceinte à température régulée. Elle se présente sous la forme d'un tube de silice, enroulée sur lui-même et de longueur allant de 1 à plus de 60 m. Entraînés par un gaz vecteur inerte, les analytes étudiés sont séparés en fonction de leur capacité d'interaction avec la phase stationnaire.
- Le détecteur: il s'agit du module qui va permettre de détecter voire d'identifier les composés en sortie de colonne(Figure 7).

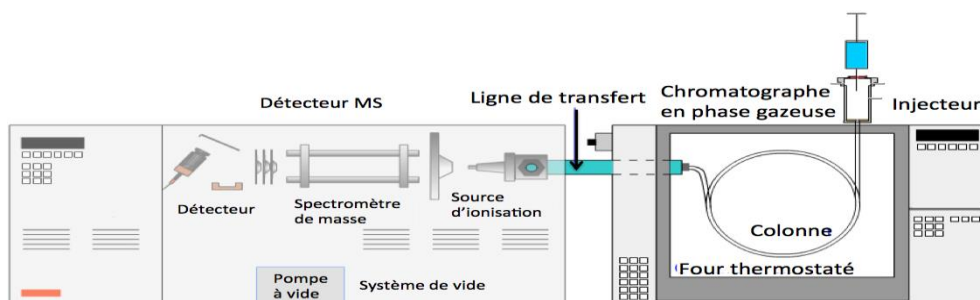


Figure 7: Représentation schématique des différents modules d'un chromatographe CPG/SM.

II-5-2 Spectrométrie de masse

Le chromatographe SaturnCPG/SM utilisé crée le spectre de masse grâce à un analyseur à trappe à ions. Ce type d'analyseur diffère des analyseurs de transport de faisceau comme les barres magnétiques, les quadripôles, et les instruments de temps de vol où les ions sont séparés à travers une séquence de champs magnétiques fixes. Au contraire, la trappe à ions confine les ions à l'intérieur d'une région dans laquelle ils sont soumis à des champs magnétiques variables dans le temps.

L'analyse d'un échantillon avec un analyseur à trappe à ions peut être découpée selon plusieurs étapes:

-Introduction de l'échantillon: En sortie de colonne, les composés sont introduits depuis la ligne de transfert vers l'analyseur à trappe à ions à travers le couplage direct avec la colonne capillaire.

- Ionisation de l'échantillon: Le composé est ionisé par impact électronique (EI) dans le spectromètre de masse par déstabilisation de sa structure moléculaire, causant l'éjection d'un électron de la molécule. Le mode d'ionisation est l'impact électronique (Figure 8).

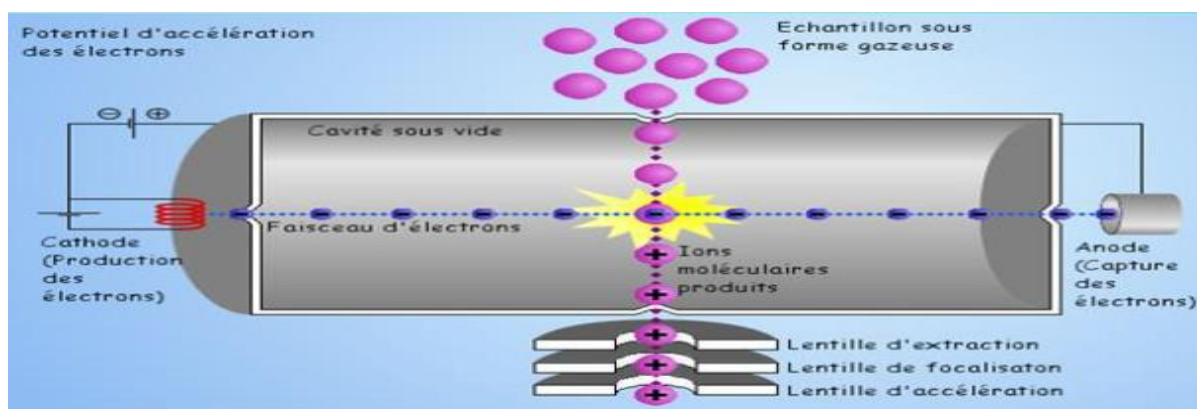


Figure 8: Représentation schématique de l'ionisation par impact électronique.

- Fragmentation de l'échantillon: En fonction de la structure initiale du composé et de l'excès déstabilisant l'énergie interne présente dans cette structure, le composé ionisé (ion moléculaire) se disloque (fragmentation). Ce procédé forme des fragments d'ions et des fragments neutres.

- Stockage des ions: Les ions (moléculaires et les fragments d'ions) produits sont stockés et stabilisés dans la cavité de la trappe à ions, où ils voyagent selon différentes orbites. Le gaz vecteur d'hélium est aussi présent dans cette cavité. Il permet de concentrer les ions dans des orbites plus compactes ce qui produit des pics de masse plus fins lors de leurs analyses. L'hélium est utilisé car il ne s'ionise pas aussi rapidement que les molécules à analyser. Comme les ions d'hélium sont les espèces les plus prédominantes dans la trappe, ils ne sont pas stockés et sont éjectés lors de leur formation.

- Analyse des ions: Les ions sont analysés par application d'une tension de radio fréquence 1.1 MHz sur l'électrode annulaire encerclant la cavité de la trappe. Au fur et à mesure que la tension augmente sur l'anneau de l'électrode, les ions sont éjectés consécutivement de la trappe en fonction de leur ratio masse-charge (m/z) croissant.

- Détecteur: Le détecteur recueille alors ces ions séparés par l'analyseur en fonction de leur rapport m/z . Puis, un micro-ordinateur va assurer le traitement des données et fournir un

.....
spectre de masse. L'EI est un procédé reproductible qui permet des comparaisons spectrales à l'aide de plusieurs bibliothèques de spectres.

II-5-3 Détecteur à ionisation de flamme

Le Détecteur à Ionisation de Flamme (FID) est le plus courant des détecteurs en CPG grâce à sa sensibilité. Il est considéré comme un détecteur non spécifique car il peut détecter pratiquement tous les composés combustibles, c'est-à-dire, les composés organiques.

Principe: Le courant gazeux sortant de la colonne arrive dans une flamme d'hydrogène et d'air ($T = 2100\text{ }^{\circ}\text{C}$). La plupart des composés organiques sont détruits par combustion et produisent des ions capables de conduire l'électricité à travers la flamme. Une différence de potentiel de 100 à 300 V est appliquée entre deux électrodes : une électrode de polarisation (brûleur) et une électrode collectrice, électrode annulaire disposée au sommet de la flamme qui collecte le courant ionique très faible (10-12 A). Le signal est transformé et amplifié en une tension mesurable. Il est donc sensible au débit massique de l'échantillon et non à sa concentration molaire. L'aire du pic reflète donc la masse de composé élué. Ce détecteur présente également une large gamme de linéarité et détecte des quantités de substance de l'ordre de 20 à 100 pg. Comme pour le catharomètre, l'hélium et l'hydrogène peuvent être utilisés comme gaz vecteur. Il n'est pas sensible aux molécules minérales présentant un potentiel d'ionisation élevé comme l'eau, CO, CO₂, SO₂, N₂ et les NO_x, ce qui présente un avantage lorsque l'on veut analyser des solutions aqueuses ou des composants de l'atmosphère (Figure 9).

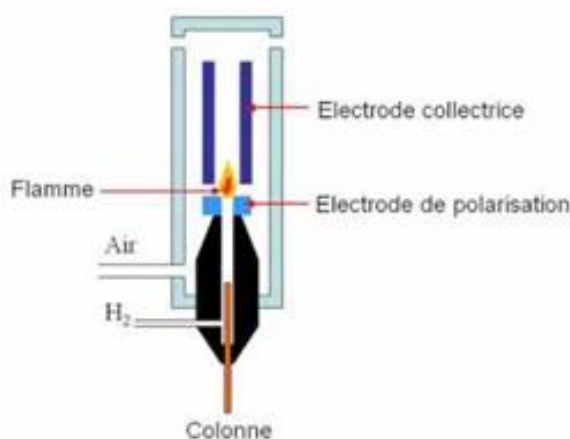


Figure 9: Représentation schématique des différents composants d'un détecteur à ionisation de flamme.

Avantages :Le détecteur à ionisation de flamme présente une sensibilité élevée. Cette sensibilité évolue selon les molécules, elle est maximale pour les molécules possédant des atomes de carbones liés à d'autres atomes de carbone ou des atomes d'hydrogène. La sensibilité diminue si le composé possède des groupements fonctionnels tels que: carbonyles, alcool, halogène et amine. Il présente un domaine étendu de réponse linéaire. Il est robuste et simple d'utilisation.

Inconvénient: Il détruit l'échantillon lors de sa détection.

B) Activités Biologique et Anticorrosion des HEs

II-1 Activités biologiques des HEs

II-1-1 Activité antimicrobienne

L'énorme diversité des structures des composés naturels d'origine végétale permet d'obtenir des agents antimicrobiens efficaces. Les activités biologiques des HEs sont largement étudiées, certaines d'entre elles sont scientifiquement confirmées. Elles représentent un modèle idéal pour l'étude et l'utilisation dans la prévention et le traitement des maladies humaines causées par les pathogènes les plus courants (Nikolić, 2016).

Bien que les HEs présentent, généralement, sous la forme de mélanges complexes, leur activité peut généralement être prise en compte en termes de leurs principaux composants monoterpénoïdes. Les recherches sur les actions antimicrobiennes des monoterpènes suggèrent que ces derniers diffusent et endommagent les structures des membranes cellulaires (Cox et al., 2001). Sikkema et al. (1995) ont montré que les monoterpènes provoquent une dilatation de la membrane, une augmentation de la fluidité ou un désordre de la structure membranaire ainsi que l'inhibition des enzymes membranaires. Une caractéristique importante des HEs est leur hydrophobicité, ce qui leur permet de se répartir dans les lipides de la membrane cellulaire bactérienne et des mitochondries, de perturber les structures et de les rendre plus perméables.

Mécanisme d'action des HEs

Dans un premier temps, les HEs qui se propagent dans la paroi cellulaire d'une bactérie augmentent la perméabilité de la membrane, ce qui entraîne une perte subséquente de composants cellulaires. Ensuite, une acidification à l'intérieur de la cellule bloque la production d'énergie cellulaire (ATP) en raison de la perte d'ions, de l'effondrement des pompes à protons et de la réduction du potentiel membranaire (Figure 10). En dernier point, la destruction du matériel génétique qui entraîne la mort des bactéries. En outre, certaines études ont rapporté que les HEs peuvent également coaguler le cytoplasme et endommager les lipides, les protéines, les parois cellulaires et les membranes, ce qui peut conduire à la fuite des macromolécules et à la lyse cellulaire (Burt, 2004 ; Li et al., 2014).

L'efficacité des différentes HEs est moins évidente que la sensibilité variée des microorganismes aux extraits de plantes. Cette variabilité peut s'expliquer principalement par différents facteurs environnementaux, la croissance des plantes, les sources géographiques, les saisons de récolte, géotypes, climats, procédures de séchage, organes végétaux étudiés, méthodes d'extraction et d'analyse des activités biologiques.

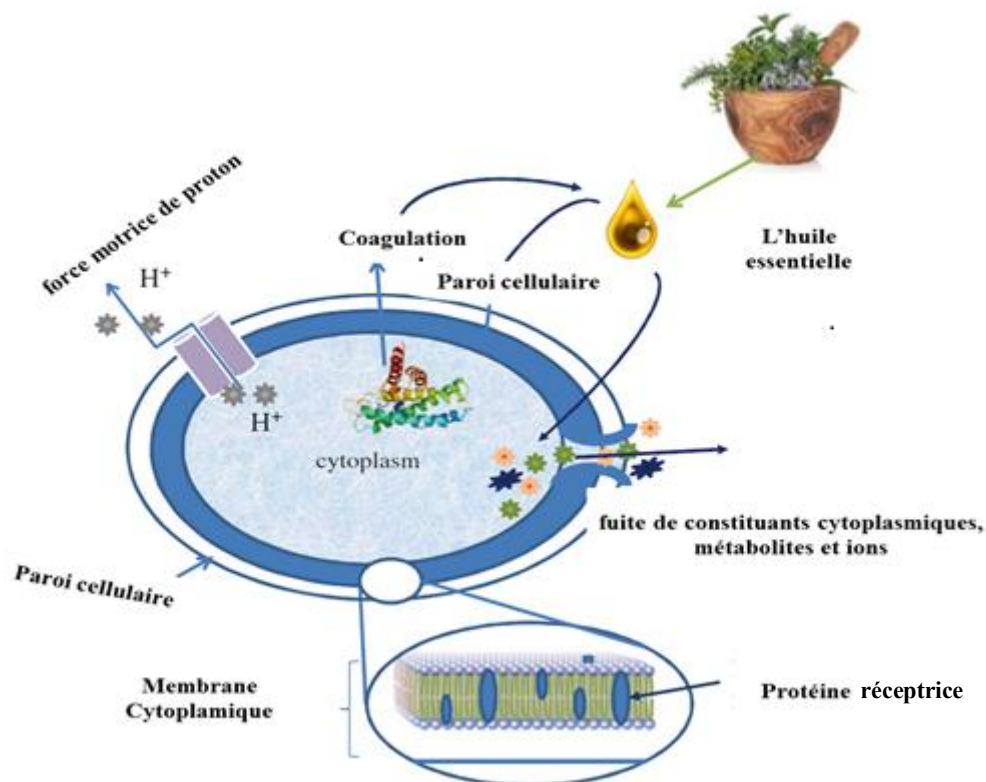


Figure 10: Mécanisme d'action des HEs sur la cellule bactérienne (Liet al., 2014).

Tous les paramètres susmentionnés affectent la composition chimique et la concentration relative de chaque composant actif dans les HEs, qui jouent un rôle important dans leurs activités antimicrobiennes. En outre, l'interaction synergique et antagoniste entre les composants chimiques des HEs doit également être prise en compte du fait que des composants mineurs peuvent avoir une influence significative sur les activités antimicrobiennes des HEs (Li et al., 2014).

II-1-2 Activité anti-oxydante

Les radicaux libres ainsi que d'autres espèces oxygénées produisent une oxydation des protéines, des acides aminés, des lipides insaturés et de l'ADN. Les espèces oxygénées produisent des altérations moléculaires (Properz et al., 2013). Parmi ces maladies, les maladies cardiovasculaires, les troubles neurologiques, la maladie d'Alzheimer, les troubles cognitifs légers, la maladie de Parkinson, l'hépatopathie alcoolique, la colite ulcéreuse, le vieillissement et l'athérosclérose (Nur Alam et al., 2013).

Les radicaux libres sont des atomes ou des composés agressifs, instables et hautement réactifs à cause de leur seul électron. Ils attaquent d'autres molécules pour atteindre un stade stable, changeant ainsi leurs propriétés et les rendent en désordres. Les radicaux libres résultent de produits provenant de différentes activités métaboliques. Un grand nombre se produisent à cause des polluants, des oxydes d'azote, de l'ozone de la fumée de cigarette et des métaux

lourds toxiques. De même, les produits chimiques tels que les solvants organiques, les hydrocarbures halogénés, les pesticides et les médicaments cytostatiques provoquent un nombre élevé de radicaux libres. La protection contre les radicaux libres peut être renforcée par un apport suffisant d'antioxydants alimentaires (Can Bas et Buchbauer, 2010 ; Nur Alam et al., 2013). Par conséquent, l'intérêt pour les agents antioxydants dérivés des plantes médicinales et leur utilisation dans la prévention et le traitement de ces maladies ont récemment augmenté (Saad et Said, 2011).

Diverses méthodes sont utilisées pour étudier la propriété antioxydante des échantillons. Actuellement, dix-neuf méthodes *in vitro* et dix *in vivo* sont utilisées à des fins d'évaluation des antioxydants. La méthode DPPH est la méthode la plus fréquemment utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*. Cette technique est facile, efficace et rapide pour étudier les profils des extraits de plantes. Le pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon peut être connu (Badarinarath et al., 2010 ; Nur Alam et al., 2013). De nos jours, de plus en plus les HE sont qualifiées d'antioxydants naturels et proposées comme substituts potentiels aux antioxydants synthétiques dans des applications pratiques. Un certain nombre d'études ont déjà été menées pour prouver que certaines HEs de plantes naturelles peuvent non seulement jouer un rôle clé dans la limitation de l'oxydation lipidique de la viande et d'autres aliments gras mais aussi contribuer au développement d'une odeur agréable et d'un goût favorable.

Aussi, les HEs peuvent conserver les aliments des effets toxiques des oxydants. En outre, elles jouent un rôle important dans la prévention de certaines maladies telles que le dysfonctionnement cérébral, le cancer, les maladies cardiaques etc. Des preuves de plus en plus nombreuses ont suggéré que ces maladies pourraient résulter des dommages cellulaires causés par les radicaux libres (Miguel et al., 2010).

Il a été montré que les HEs, qui contiennent des sesquiterpènes oxygénés et/ou des monoterpènes possèdent des potentiels antioxydants importants (Tepe et al., 2004). D'autre part, cette activité n'est pas due uniquement aux composés majoritaires mais aussi à la présence d'autres constituants en petites quantités et à la synergie entre eux (Merghache et al., 2014).

Il est clair que les HEs peuvent être considérées comme des potentiels antioxydants naturels et pourraient peut-être être formulées dans le cadre de suppléments quotidiens ou d'additifs pour prévenir le stress oxydatif qui contribue à de nombreuses maladies dégénératives (Edris, 2007).



II-1-3-1 Activité inhibitrice de l'AChE

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme présente dans le tissu neuronal qui permet la régulation de l'influx nerveux. La dégradation de l'acétylcholine résiduelle issue d'une neurotransmission libère la fente synaptique en vue d'une éventuelle nouvelle transmission, permettant ainsi le passage des informations.

Mécanisme d'action des inhibiteurs de l'AChE

Chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, le taux d'acétylcholine est particulièrement bas, ce qui explique les troubles cognitifs observés. En inhibant l'action de l'AChE, le taux d'acétylcholine augmente au niveau synaptique ce qui explique la diminution de sa dégradation en utilisant la solution d'un inhibiteur (Figure 11). C'est sur la base de cette hypothèse que sont apparus sur le marché les inhibiteurs de l'AChE. Ils permettent une augmentation du niveau d'acétylcholine dans la zone synaptique neuronale. Cette dernière est considérée comme jouant un rôle vital dans les troubles de la mémoire des patients. En plus de son rôle dans la dégradation cholinergique, l'enzyme accélère la formation des plaques amyloïdes, ceci renforce l'intérêt de chercher de nouveaux inhibiteurs de l'AChE (Urbain, 2007).

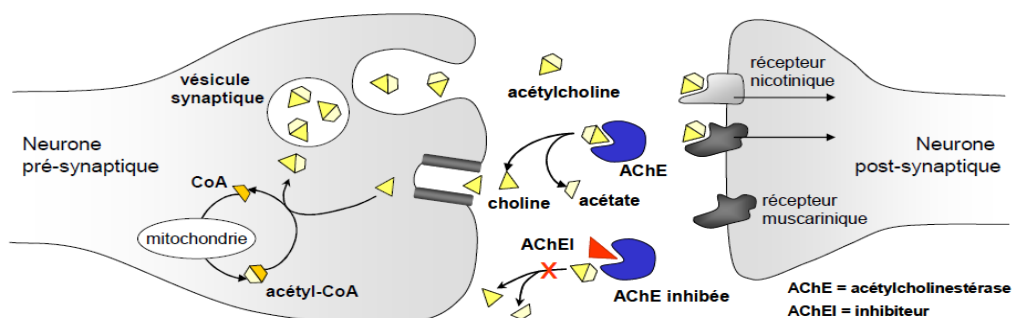


Figure 11: Schéma d'une synapse et mécanismes de neurotransmission cholinergique.

Les inhibiteurs du cholinestérase servent de stratégie pour le traitement des maladies d'Alzheimer, un trouble neuro-dégénératif qui est l'une des causes les plus fréquentes de détérioration cognitive de la population humaine (plus de 65 ans). Plusieurs inhibiteurs de la cholinestérase (galatamine, tacrine ou donépézil) sont synthétiquement développés dans l'industrie pharmaceutique. Cependant, les médicaments de synthèse ont des limites dues aux courtes vies et aux effets secondaires tels que l'hépatotoxicité et les troubles gastro-intestinaux. Dans ce sens, la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'AChE à partir de ressources naturelles est nécessaire. En effet, l'effet d'inhibition des HEs sur l'activité de la cholinestérase (AChE ou BChE) a été étudié et publié dans plusieurs journaux scientifiques. En effet, l'HE

d'Origanum peut être recommandée comme aliment fonctionnel et ingrédient pharmacologique pour promouvoir la santé, en particulier pour les maladies chroniques (maladie d'Alzheimer et diabète sucré) associées au stress oxydatif et aux maladies infectieuses (Sarikurkcu et al., 2015).

De plus, Smailet al. (2011) ont rapporté des potentiels inhibiteurs de l'ACHé des huiles commerciales de *Citrus aurantium* L., *Cupressus sempervirens* L. et *Eucalyptus globulus* Labill., *Foeniculum vulgare* Mill. et *Thymus vulgaris* du Maroc. Politeo et al. (2011) ont également rapporté une forte activité d'inhibition de l'ACHé de l'HE de *Pinus nigra* Arnold ssp. *dalmatica* (Vis.) avec β -pinène, germacrène-D et β -caryophyllène comme composés bioactifs prédominants (Owokotom et al., 2015). D'autres plantes riches en constituants monoterpéniques sont aussi reconnues pour leurs effets inhibiteurs de l'activité AChE (López et Pascual-Villalobos, 2010 ; Stefano Bedini et al., 2017).

II-1-3-2 Activité inhibitrice de l' α -glucosidase

L' α -glucosidase est l'une des clés de la digestion des aliments chez l'homme. Il hydrolyse les hydrates de carbone, libère le glucose et provoque l'augmentation du glucose sanguin postprandial. L'inhibition de cette enzyme peut effectivement diminuer le taux de glucose postprandial. Ceci est bénéfique pour les patients diabétiques particulièrement.

Mécanisme d'action des inhibiteurs de l' α -glucosidase

L' α -glucosidase est une enzyme vitale essentielle au clivage du maltose en glucose pour l'absorption, la circulation sanguine et l'intestin grêle. Par conséquent, les inhibiteurs de l' α -glucosidase pourraient réguler des niveaux anormalement élevés de glucose plasmatique après ingestion de glucides (Ryu et al., 2011). Les inhibiteurs de l' α -glucosidase inhibent de façon compétitive les enzymes de type α -glucosidase localisés dans la bordure du petit intestin. Ils diminuent la dégradation du sucrose et des carbohydrates complexes (amidon), et réduisent l'absorption des carbohydrates de l'intestin.

Il existe de nombreux médicaments synthétiques disponibles pour prévenir ou traiter le diabète tels que l'acarbose, voglibose et miglitol (Figure 12). Cependant, ces médicaments peuvent causer des troubles hépatiques et d'autres symptômes gastro-intestinaux tels que les diarrhées (Murai et al., 2002). Aujourd'hui, les produits à base de plantes sont en demande pour le traitement du diabète, en particulier, le diabète de type 2. Il existe divers remèdes pour réduire les complications causées par le diabète. Plusieurs études ont été menées pour introduire des formulations à base de plantes, en raison d'effets secondaires mineurs et de faibles coûts (Ehsan et al., 2013). En conséquence, de nombreux scientifiques se sont intéressés aux inhibiteurs naturels de l' α -glucosidase. Ces derniers sont utilisés, actuellement, pour

développer des aliments fonctionnels et des nutraceutiques pour diabétiques (Vongsaket al., 2015).

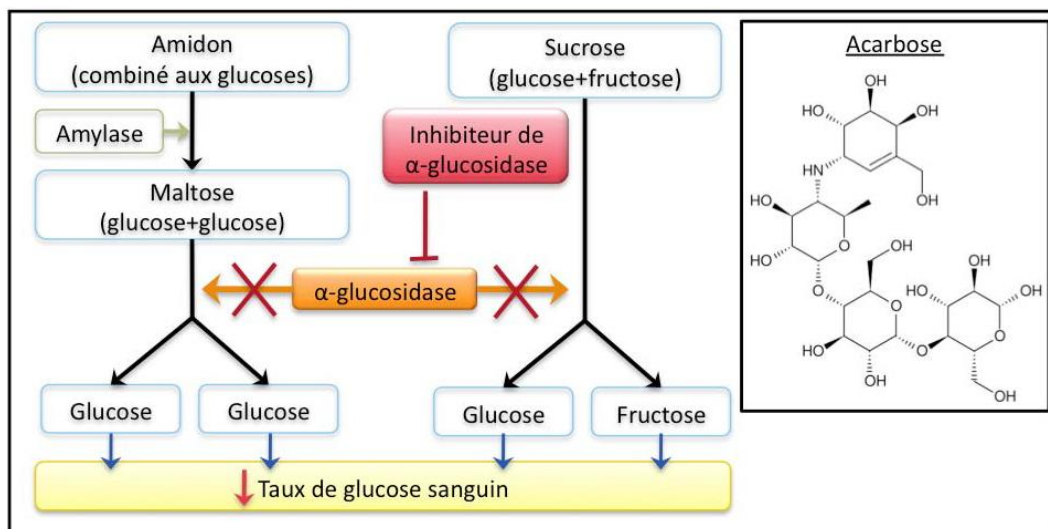


Figure 12: Mécanisme d'action des inhibiteurs de l'α-glucosidase (Karam, 2007).

L'utilisation répandue des plantes dans le traitement de diverses maladies a montré que les plantes pouvaient servir de sources et un bon marché pour de nouveaux médicaments hypoglycémisants (Allaliet al., 2008). De ce point de vue, de nombreuses plantes aromatiques sont devenues attrayantes pour les scientifiques en tant que sources d'agents naturels qui pourraient être plus efficaces que les sources synthétiques. Talpur et al. (2005) ont indiqué qu'une administration orale d'une combinaison d'HEs comme la cannelle, le cumin, le fenouil, l'origan et le myrte pouvait améliorer la sensibilité à l'insuline dans le diabète de type 2, en plus de réduire le glucose circulant.

L'HE de *Saturejakhuzestanicaa* entraîné une diminution significative de la glycémie à jeun chez les rats diabétiques (Abdollahi et al., 2003). Plus de recherches sont nécessaires pour confirmer la véracité de l'activité hypoglycémisante des autres HEs et pour élucider leur mécanisme d'action.

II-1-4 Activité anti-inflammatoire

L'inflammation dérégulée est un mécanisme commun menant aux symptômes ou à la pathologie de plusieurs maladies, telles que le cancer, l'athérosclérose, les désordres cardiovasculaires et pulmonaires, le diabète, les allergies, l'asthme, la maladie d'Alzheimer, l'ostéoporose, l'arthrite et plusieurs formes d'auto-immunités (Figure 13) (Simon et al., 2017).

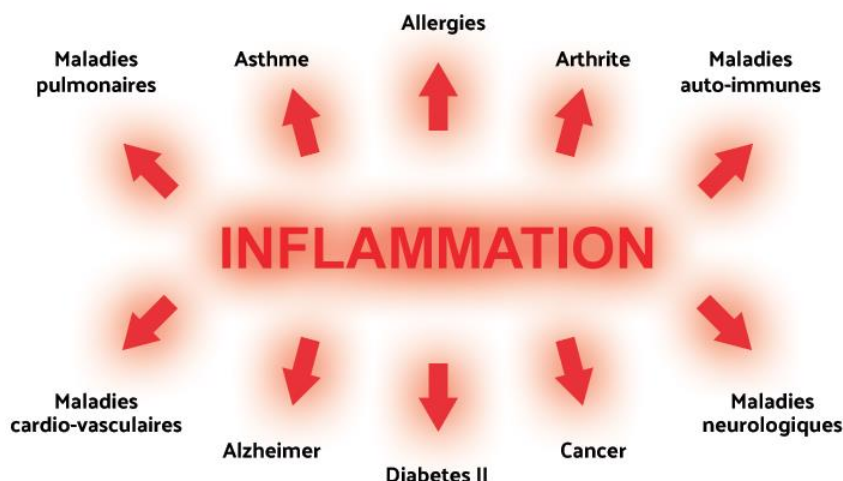


Figure 13: Les différentes maladies causées par l'inflammation.

L'inflammation provoque la synthèse des cytokines, les eicosanoïdes, les oxydants et les enzymes lytiques sécrétés par les macrophages et les neutrophiles. L'oxyde nitrique, initie une large gamme de réactions oxydatives toxiques provoquant des lésions tissulaires. En outre, l'inflammation est également incitée par deux enzymes principales: la cyclooxygénase (COX) et la lipoxygénase (LO). La COX catalyse la formation de prostaglandines (PGE) et de thromboxane, tandis que la LO catalyse la formation de leucotriènes (LT). Les deux PGE et LT fonctionnent comme les principaux médiateurs des allergies et de l'inflammation (Leong et al., 2014).

Au cours des processus inflammatoires, les macrophages peuvent augmenter leur production de NO et d'anion superoxyde qui réagissent spontanément pour donner l'anion peroxynitrite, une source supplémentaire de dommages pour plusieurs cibles endocellulaires, comme les lipides membranaires, les acides nucléiques et les enzymes COX avec une libération massive de prostaglandines (Genovese et al., 2017).

L'inflammation pathologique est traitée avec des médicaments à petites molécules, mais cette stratégie ne fait qu'éliminer les principaux symptômes de diverses maladies. Cependant, les médicaments anti-inflammatoires guérissent rarement ces processus et les traitements à long terme sont souvent limités par le coût et la toxicité des médicaments. De nombreux composés phytochimiques largement distribués dans l'alimentation humaine et les plantes médicinales ont des propriétés anti-inflammatoires (Arts et Hollman, 2005 ; Haines et al., 2010).

Le potentiel anti-inflammatoire des HEs de thuya de Berbérie est évalué par la méthode enzymatique de la 5-lipoxygénase (5-LO). La plante montre une activité anti-inflammatoire

considérable. Ces résultats pourraient s'expliquer par la différence de teneur de ces organes en sesquiterpènes et en diterpènes. En effet, ces deux groupes de composés sont connus pour leurs activités anti-inflammatoires élevées (M'barek et al., 2010). Les travaux réalisés sur l'HE d'*Agelicasinensis* ont montré qu'elle inhibait significativement la libération de prostaglandine E2, d'histamine, de 5-hydroxytryptamine et de facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- α). De plus, *A. sinensis* a montré un effet anti-inflammatoire contre le modèle du rat inflammatoire induit par les lipopolysaccharides (LPS) en régulant le cycle de Krebs, en augmentant la teneur en glucose et en rétablissant le métabolisme des acides gras (Sowndhararajan et al., 2017).

D'autres investigations réalisées sur l'HE d'*A. sinensis* en étudiant l'inflammation aiguë induite par les LPS chez le rat. L'HE d'*A. sinensis* présente des effets anti-inflammatoires et protège le foie en inhibant la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , interleukine- 1β et interleukine-6), les médiateurs inflammatoires (histamine, 5-hydroxytryptamine, prostaglandine E2, et l'oxyde nitrique), les enzymes liées à l'inflammation (COX-2 et l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS)), ainsi que la production des cytokines anti-inflammatoires interleukine-10. D'autres auteurs ont rapporté que l'HE d'*A. dahurica* (100 mg/kg) présente une activité anti-inflammatoire contre le gonflement des oreilles induit par le xylène et l'œdème de la patte induit par la carragénine chez les souris. En outre, l'HE atténue significativement l'arthrite induite par un adjuvant complet de Freund chez le rat en améliorant le gonflement des pattes arrières et en réduisant les taux sériques d'oxyde nitrique, de TNF- α , de prostaglandine E2 et d'oxyde nitrique synthase sérique (Sowndhararajan et al., 2017).

Les composés volatils *Tropaeolum majus* L. (Garden Nasturtium) ont également été testés contre l'inhibition de la 5-LO et de la 12-LO. Ces composants semblent être plus actifs contre 5-LO que 12-LO. L'isothiocyanate de benzyle, le principal composant identifié, est seul un puissant inhibiteur de 5-LO. Les résultats obtenus indiquent la possibilité d'exploiter les HEs de *T. majus* comme nouvelle source d'anti-inflammatoire d'origine naturelle (Benyelles et al., 2016).

Des études ont montré que les triterpénoïdes présents dans l'écorce de la pomme pourraient être impliqués dans les propriétés anti-inflammatoires, suggérant que ces substances pourraient être utiles dans le traitement de la maladie inflammatoire de l'intestin (Zhu et al., 2016).

II-2 Activités anticorrosion des HEs

La corrosion est définie comme « l'interaction physico-chimique entre un métal et son milieu environnant entraînant des modifications dans les propriétés du métal et souvent une dégradation fonctionnelle du métal lui-même, de son environnement ou du système technique

.....
dont il fait partie » (ISO,1999).Ce phénomène affecte la plupart des secteurs industriels et peut coûter des milliards de dollars chaque année (Benmessaoud, 2013).

Selon l'environnement, la rouille peut se développer en quelques minutes. Quand le fer ou l'acier sont exposés à l'air et à l'eau, la rouille se forme en peu de temps, montrant la couleur familière de l'oxyde de fer rouge-brun(Figure 14).



Figure 14: Différentes corruptions de l'acier et du fer exposés à l'eau et l'air.

L'utilisation des inhibiteurs de corrosion fait partie des méthodes les plus pratiques pour protéger les métaux de la corrosion en milieu acide. Ces inhibiteurs sont définis comme étant des substances qui, lorsqu'elles sont ajoutées à de faibles concentrations dans le milieu corrosif, diminuent ou empêchent la réaction du métal avec son environnement. La majorité des inhibiteurs utilisés en milieu acide sont des composés organiques contenant des hétéroatomes tels que l'azote, le soufre et l'oxygène. Ces composés synthétiques présentent une bonne action anticorrosion, mais la plupart d'entre eux sont hautement toxiques pour les êtres humains et l'environnement. Ils peuvent, en effet, endommager d'une manière temporaire ou permanente les organes humains ou animaux comme le foie ou les reins ou encore déstabiliser le système enzymatique (Benmessaoud, 2013).

L'utilisation d'extraits de plantes comme inhibiteurs de corrosion est une thématique de recherche en développement comme en témoigne le nombre annuel croissant de publications dans les revues internationales sur ce sujet. L'efficacité inhibitrice de l'extrait méthanolique d'*Euphorbiafalcata*L. atteint 96%(El bribri et al., 2011). Les valeurs de l'efficacité d'inhibition de l'extrait aqueux des feuilles et des tiges d'*Anacycluspyrethrum*L. augmentent avec le temps d'immersion et conduisent à la formation d'un film protecteur qui croît avec le temps d'exposition(Selles et al., 2012). Les effets de l'huile naturelle de *Jatropha curcas* sur la corrosion de l'acier dans une solution d'HCl 1M ont été étudiés par Mokhtari et al. (2014). Les résultats révèlent que l'huile réduit le taux de corrosion. En ce qui concerne le pouvoir anticorrosion de l'acier, les essais ont mis en évidence une efficacité inhibitrice de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) de

45% en présence des ions chlorure (Khoudaliet al., 2014). L'étude de l'effet anticorrosion de l'extrait des écorces de l'orange Maltaise et de ses composés antioxydants majoritaires (néohespéridine, naringine et acide ascorbique) a révélé des efficacités d'inhibition significatives de 95%, 92%, 87% et 56% dans le cas de l'extrait de l'écorce, l'acide ascorbique, la néohespéridine et la naringine, respectivement (M'hiri, 2015).

L'huile de *Cyperus esculentus* L. agit comme un inhibiteur de corrosion efficace pour l'alliage Al-Si-Mg dans l'eau de mer (Mohammed et al., 2013). Les effets des extraits aqueux de deux variétés du *Phoenix dactylifera* (Gummara et Lactuca) sur l'inhibition de la corrosion de l'acier doux dans une solution d'HCl 1M ont été étudiés. Les auteurs soulignent que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des inhibiteurs et diminue avec l'augmentation de la température. A une concentration de 2 g/L, les pourcentages d'inhibition atteignent 93.82% et 95.81%, respectivement (Sultan et al., 2014). L'huile naturelle d'*Arachis hypogaea* s'est révélée être un bon inhibiteur de corrosion de l'acier doux dans une solution de H₂SO₄ (Abdulwahabet al., 2012). Il a été montré que les alcaloïdes majoritaires des extraits d'*Aspidosperma album* et *Geissospermum laevis* sont responsables de l'inhibition (Faustin, 2013).

Une synthèse bibliographique sur les inhibiteurs verts a été effectuée par Vadivuet al., (2016). Au cours de cette étude, 90 extraits de plantes différentes ont été sélectionnés pour leur effet inhibiteur de la corrosion de l'acier doux en milieu acide chlorhydrique. Ces extraits naturels contiennent, en effet, de nombreuses familles de composés organiques naturels (flavonoïdes, alcaloïdes, tannins, etc.) écologiques, aisément disponibles, renouvelables et pouvant offrir des propriétés inhibitrices de la corrosion pour de nombreux alliages métalliques.

PARTIE III:
ÉTUDES CHIMIQUE & BIOLOGIQUE DE QUELQUES
PAM DU SUD ALGÉRIEN

PARTIE III: Études Chimique & Biologique de Quelques PAM du Sud Algérien

Dans le Hoggar, plus 300 espèces de plantes médicinales et aromatiques (PAM) sont recensées, dont plus d'un quart ont un usage médicinal traditionnel. Elles se trouvent en un état précaire suite aux effets de sécheresse excessive accentuée par l'activité mal raisonnée de l'homme. Parmi ces PAM, cette étude s'est intéressée de près à trois espèces dont deux appartiennent à la famille des Asteraceae et la troisième à la famille des Amaranthaceae. Il s'agit de *Pulicaria incisa*, *Asteriscus graveolens* et *Aerva javanica*.

III-1 *Pulicaria incisa*

III-1-1 Description botanique

Pulicaria (les pulicaires), est un genre de plantes à fleurs de la famille des Astéracées (composées). Certaines de ces espèces sont appelées « Herbe Saint-Roch ». Le genre *Pulicaria* est une plante à capitules hétérogames, nombreux en grappe ramifiée, les akènes portent deux aigrettes (aigrette double : différence avec *Inula*) de poils, l'une extérieure formée de poils courts soudés par leur base en une cupule, l'autre intérieure formée de 8-15 poils plus longs (3 à 4 fois la longueur de l'achaine), denticulés ou plumeux. Chez une partie des espèces, les deux aigrettes sont soudées ensemble (Quézel et Santa, 1963; Ozenda, 2004).

P. incisa est une plante vivace en touffe. Elle peut atteindre jusqu'à 50 cm de hauteur, tiges rameuses et très feuillées, feuilles d'un vert vif. Elle est très odorante, très velue, laineuse et glanduleuse. Elle est très utilisée dans la médecine populaire. L'espèce est connue aussi par *undulata* (L.) DC. ; *desertorum* DC. ; *prostrata* (Gilib.) Aschers. (Benhouhou, 2005) (Figure 15).

III-1-2 Répartition géographique et habitat

P. incisa est une plante annuelle, qui pousse dans les lits pierreux et sablonneux des oueds, près des points d'eau exceptionnellement. Le genre *Pulicaria* regroupe 134 espèces (compris sous espèces et variétés) répartis en Afrique tropicale, Afrique australe et en Afrique du nord (CJB, 2012). C'est une espèce saharo-sindienne, qui aime la chaleur. Elle est fréquente dans le Hoggar du Sahara algérien et se retrouve aussi au Sahara central, en Egypte, en Arabie Saoudite, en Mauritanie et au Sénégal (Benhouhou, 2005).

Noms vernaculaires:

Arabe: Shay Guebli (Benhouhou, 2005)

Targui: Ameyu (Sahki, 2004)

Anglais: Wild tea (Benhouhou, 2005)

Français: Pulicaire ondulée (Benhouhou, 2005)



Figure 15: *Pulicaria incisa* prise dans la région d'El-Hoggar, à gauche représentation des feuilles et fleurs, à droite vue d'ensemble de la plante.

Classification :

Tableau 2: Position taxonomique de *Pulicaria incisa*.

Taxonomie	Description
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Asteridae
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Pulicaria</i>
Espèce	<i>incisa</i>

III-1-3 Travaux antérieurs

Plusieurs travaux ont été effectués sur le genre *Pulicaria*. En 2010, Lin et al. ont fait une étude de synthèse bibliographique générale sur le genre *Pulicaria*. Ils ont conclu que les constituants chimiques des espèces de *Pulicaria* présentent une variété dans la structure du squelette carboné et de nombreux composés se sont révélés bioactifs. Environ 21 espèces du genre *Pulicaria* ont été étudiées entre 1968-2008, 230 composés ont été isolés et 346 caractérisés (66 références). Cependant, même parmi ces espèces, seules quelques-unes ont été intensivement étudiées. En 2009, Ramdan et al. ont étudié le profil biochimique des acides gras, des stérols et des tocophérols de *P. incisa* cultivée en Egypte. Les principaux acides gras caractérisés sont l'acide linoléique, l'acide palmitique et l'acide oléique. Les stérols sont le campesterol, le stigmastérine et le β -sitostérol. Les tocophérols sont également estimés à des niveaux élevés dont

le δ -tocophérol est le principal. La même étude montre que les extraits méthanoliques de la même espèce présentent un potentiel anti radicalaire très élevé contre le radical DPPH.

Pour la première fois, un travail tente de contribuer à la connaissance des propriétés nutritionnelles et alimentaire de cette plante. Le spectrophotomètre UV-visible d'absorption atomique a été utilisé pour la détermination des éléments : Ca, Mg, K, Fe, Cr, Mn et P. Selon les résultats, les teneurs en éléments minéraux les plus élevés correspondent aux Ca et K (Ravandeh et al., 2011).

L'analyse de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *P. incisa* a conduit à un rendement estimé à 0.44% en lipides totaux. Douze acides gras représentent 77% du total des lipides extraits (Abd El-Gleel et al., 2012). L'étude chimique de l'extrait méthanolique de *P. incisa* révèle la présence de δ -tocophérol avec un pourcentage 99.9% du total des analyses et le reste étant un mélange de α et γ -tocophérol. *P. incisa* est caractérisée par une quantité relativement élevée d'insaponifiables avec 77 g/kg. Le marqueur de stérol le plus élevé est le campestérol (38.2%), le reste étant un mélange de stigmastérol et de β -sitostérol (Abd El-Gleel et al., 2012).

L'HE de *P. mauritanica* exerce un effet antifongique contre quelques champignons testés. Les résultats suggèrent que cette huile peut être considérée en tant que conservateurs fongicides afin de contrôler les maladies post-récolte de la pomme (Znini et al., 2013).

Les extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques de *P. gnaphalodes* possèdent une activité anti-radicalaire dans les huiles comestibles. L'effet protecteur de ces extraits est comparable à celui du BHT (Kamkar et al., 2013).

L'étude menée sur le potentiel antioxydant et cytotoxique des flavonoïdes et des terpénoïdes isolés à partir de la partie aérienne de *P. undulata* a été évalué et les résultats ont montré que certaines fractions isolées pouvaient participer au développement de la conception futur d'agents antioxydants et cytotoxiques (Hussien et al., 2016). En 2017, Shahat et al. ont isolé des HEs des feuilles et des fleurs de *P. incisa* sub. *candollenea* E. Gamal-Eldin récoltées en Egypte. L'analyse par CPG et CPG/SM a permis l'identification de 49 et 68 composés. Ces huiles ont été caractérisées par des teneurs élevées en carvotanacétone et chrysanthénone. Les activités cytotoxiques et antimicrobiennes de ces deux huiles ont été testées.

Une autre étude a rapporté, pour la première fois, les propriétés anti-leishmanienne de l'extrait aqueux-méthanolique préparé à partir de *P. inuloïde* d'Algérie (Fadel et al., 2018).

III-2 *Asteriscus graveolens*

III-2-1 Description botanique

Nauplius est un genre principalement macaronésien et nord-africain appartenant au groupe *Inula* des Asteraceae-Inuleae. Huit espèces et cinq sous-espèces sont reconnues et la clé de tous les taxons est incluse. La morphologie, la phylogénie et la phytogéographie du genre sont également décrites (Wiklund, 1987). C'est un sous-arbrisseau vivace touffu à tiges dressées. Les rameaux sont étalés et se divisent en dessous des fleurs. De grands capitules sont de couleur jaune d'or entourés par les feuilles supérieures. A maturité akènes devienne un peu arqués. Ce genre est très répandu dans le Sahara, en particulier, dans le creux argileux et sablonneux (Ozenda, 1991).

En Algérie, ce genre comprend cinq espèces: *N. graveolens* (Forssk.) DC., *N. aquaticus* Less., *N. maritimus* (L.) Less., *N. pygmaeus* Coss. et Kral et *N. spinosus* G.G. (Quézel et Santa, 1963). *Asteriscus graveolens* (Forssk.) Less. (Syn. *Bubonium graveolens*, *Odontospermum graveolens* ou *Nauplius graveolens*) est une espèce endémique des régions du Sahara du nord d'Afrique.

III-2-2 Répartition géographique et habitats

C'est une plante saharienne-sindienne diffusée dans tout le nord-africain, le Sahara central et septentrional, en Egypte et dans le désert des régions asiatiques. Très commune dans le Sahara algérien, dans le Hoggar, situé dans la province de Tamanrasset (sud de l'Algérie), l'espèce est fréquente dans les savanes du désert, les wadis de sable, de pierre et roches (Sahki, 2004 ; Benhouhou, 2005) (Figure 16).

Noms vernaculaires:

Arabe: tafssa, robd (Benhouhou, 2005) ; negued (Sahki, 2004)

Targui: tamayu (Sahki, 5004) ; hasnem (Benhouhou, 2005)

Anglais: fragrant oxeye

Français: Astérolide du désert



Figure 16: *Asteriscus graveolens* prise dans la région El-Hoggar, à gauche vue d'ensemble et à droite vue des fleurs et feuilles.

Classification :

Tableau 3: Position taxonomique d'*Asteriscus graveolens*.

Taxonomie	Description
Règne	Plantea
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Asteral
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Asteriscus</i>
Espèce	<i>graveolens</i>

III-2-3 Travaux antérieurs

Très peu de travaux ont été effectués sur le genre *Asteriscus*. Une lactone sesquiterpénique, nommé naupliolide, a été isolée de la partie aérienne de *Nauplius graveolens* subsp. *odorus*. La caractéristique de ce composé est la présence d'une nouvelle structure tétracyclique possédant un cycle cyclopropane (Akssira et al., 2006). De plus cinquante composés ont été identifiés dans les HEs d'*A. graveolens*, représentant 98.2, 93.0 et 94.2% de l'huile totale provenant des feuilles, des tiges et des fleurs, respectivement. Les huiles des feuilles et des tiges sont caractérisées par une teneur élevée en sesquiterpènes oxygénés, notamment, le 6-oxocyclonéolidol et le 6-hydroxycyclonéolidol représentant les principaux constituants. D'autre part, l'HE des fleurs est dominée par un nouveau composé monoterpénique, l'acétate de cis-8-acétoxychrysanthényle (Cristofar et al., 2012).

Des travaux sur *A. graveolens*, provenant d'Arabie Saoudite, ont révélé la présence des quelques minéraux avec des différences significatives dans les concentrations de Mg, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Cu et Zn. Les éléments Ca et Mg sont les plus présents (Daur, 2013).

Une étude faite sur *A. graveolens* subsp. *odorus* poussant au sud du Maroc a montré la grande richesse de la plante en métabolites secondaires, notamment en polyphénols. Le screening phytochimique a révélé la présence des alcaloïdes, des coumarines, des tanins, des terpènes et des composés cyanogénétiques. En outre, les saponines et les quinones libres sont présentes dans les fleurs et totalement absents dans les feuilles (Allilou et al., 2014).

L'activité antifongique a été testée en utilisant deux types d'extraits de quatre espèces végétales récoltées au Maroc: extraits organiques et extraits aqueux. Elle a montré que les deux extraits d'*A. imbricatus* réduisent significativement la croissance du mycélium de *Botrytis cinerea* (Senhadji et al., 2014).

La teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique d'*A. graveolens* est de 27.74 ± 0.15 mg EAG/g de matière sèche, celle des tanins condensés est de 12.93 ± 0.05 mg EAC/g matière sèche.

Concernant les flavonoïdes, elle est de 7.82 ± 0.11 mg EC/g MS. L'activité anti-oxydante par les deux méthodes FRAP et DPPH est plus importante que le BHT avec un $IC_{50} = 26.97 \mu\text{g/mL}$ (Haddouchi et al., 2016).

L'étude phytochimique des fleurs d'*A. maritimus* (L.) Less. a conduit à l'isolement d'un dérivé glycosidique de la patulétine accompagné de β -sitostérol, de l'acide chlorogénique, de *p*-hydroxyméthylbenzoate, de la lutéoline et de l'acide protocatéchique. L'extrait éthanolique des parties aériennes en fleurs de *A. maritimus* a révélé une activité anti-oxydante et anti-inflammatoire significative et ceci en accord avec sa forte teneur en phénols (107.36 ± 0.051 mg GAE/g d'extrait) (Ezzat et al., 2016). L'évaluation de l'activité antifongique d'extraits de plantes provenant du Sud du Maroc (*A. imbricatus* (Cav.) DC., *A. graveolens* subsp. *odorus* (Schousb.) Greuter, *Cladanthus arabicus* (L.) Cass. et *Kleinia anteuophorbium* (L.)) a été effectuée. Cette activité varie significativement en fonction de la nature des extraits et aussi l'espèce considérée. Une spécificité plante-extrait-champignon a été notée lors de cette étude (Allilou et al., 2016). D'autre part, des tests d'activités anti-oxydantes, antibactériennes et anti-leishmanienne ont été rapportés pour la première fois utilisant un extrait riche en composés phénoliques d'*A. graveolens* récoltée à Tamanrasset (Algérie). La fraction d'acétate d'éthyle, riche en acide flavonoïque et phénolique, est la fraction la plus active (Ramdane et al., 2017).

III-3 *Aerva javanica*

III-3-1 Description botanique

Aerva est une herbacée vivace qui peut atteindre une hauteur de 50 cm. Elle est recouverte en totalité par des poils fins et denses. Les fleurs blanches sans odeur sont regroupées en épis composés au sommet des tiges. La plante fleurit pendant toute l'année et surtout en été et en automne. Les tiges raides sont recouvertes par un duvet de poils. Les feuilles sont larges de 1.5 à 5 cm de long avec une couleur vert gris. Les fruits recouverts par la laine contiennent un petit germe noir ou marron brillant (Quézel et Santa, 1962 ; Ozenda, 2004) (Figure 17).

III-3-2 Répartition géographique et habitats

Townsend et al. (1993) ont reconnu 10 espèces. Selon les flores modernes, environ 12 espèces d'*Aerva* sont largement acceptées et répandues dans l'Afrique et dans le Sud et le Sud-Est d'Asie (Thiv et al., 2006 ; Hammer et al., 2017). La plante vit dans les zones du sable, de la boue, dans les allées et les plaines inondables. Elle est, également, rencontrée en Afrique tropicale, en Egypte, en Arabie, en Iran et en Inde (Sahki, 2004).

Noms vernaculaires:

Arabe: Raa, Ghil, Aroua-tarf, yarra, Ara, Kotnat jablais

Targui: Tamkerzit, Tamakerzist (Sahki, 2004)

Anglais: Javanese Wool Plant, desert cotton (Khare, 2007)

Français: Envahissante (Sahki, 2004)



Figure 17: *Aerva javanica* prise dans la région El-Hoggar, à gauche et au milieu vue d'ensemble, à droite vue des fleurs et des feuilles.

Classification:

Tableau 4: Position taxonomique d'*Aerva javanica*.

Taxonomie	Description
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Monochlamydeá
Ordre	Caryophyllales
Famille	Amaranthacées
Genre	<i>Aerva</i>
Espèce	<i>javanica</i>

III-3-3 Travaux antérieurs

Il existe environ 28 espèces du genre *Aerva*, mais seules quelques espèces sont des plantes médicinales dont *A. persica*, *A. lanata* et *A. javanica*. Certains flavonol glycosides (exemples: Aervanone, kaempférol-3-galactoside, isorhamnétine-3-O- β -D-glucoside) ont été identifié dans *A. persica* comme composés majoritaires accompagnés des β -cyanines (glycine bétaine et trigonélline), des stérols et des glucides, en quantité minoritaire. Cette plante est utilisée par les phytothérapeutes comme diurétique, émollient, purgative et émétique. Le genre d'*Aerva* est utilisé pour traiter l'ulcère, la lithiase, les infections cutanées, l'affection oculaire, les maux de dents, les maux d'estomac et les inflammations des organes internes. Les racines et les fleurs possèdent des propriétés hypoglycémiques, anti-oxydantes, anthelminthiques, analgésiques, antipaludiques et antivénéneuses (Chawla et al., 2012).

A. lanata est l'une des plantes médicinales les plus importantes utilisées pour de nombreux troubles et maladies. La présence des composés phytochimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et les minéraux (Na, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn...) jouent un rôle thérapeutique dans diverses pathologies. Ces composés présentent des activités diurétique, anti-inflammatoire, anti-hyperglycémiant, urolithique et anti-hyperlipidémique, etc. (Adepu et al., 2013).

Plusieurs travaux ont été effectués sur les extraits phénoliques du genre *Aerva*. L'activité anti-hyperglycémiant a été testée sur des souris rendues diabétiques par l'alloxane. Les extraits alcooliques des feuilles *A. lanata* ont montré une baisse significative du taux de glucose sérique à 400 mg/kg comparé autres concentrations testées (Tushar et al., 2008). D'autres travaux réalisés par Krishnan et al. (2009) ont confirmé ce résultat en utilisant toute la partie aérienne d'*A. lanata*.

La littérature révèle aussi que les flavonoïdes sont la principale classe des composés isolés d'*A. javanica*. En effet, six composés ont été isolés de l'extrait méthanolique de la plante entière provenant du Pakistan. Les composés identifiés sont: isoquercétrine, 5-méthylmelléine, 2-hydroxy-3-O- β -primevéroside naphthalène-1,4-dione, Apigénine 7-O-glucuronide, Kaempférol-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1--2)- α -L-rhamnopyranoside-7-O- α -L-rhamnopyranoside, 7-(1-hydroxyéthyl)-2-(2-hydroxyéthyl)-3,4-dihydrobenzopyrane. Cette étude montre que ces composés présentent une activité antimicrobienne modérée à faible (Sharif et al., 2011). De plus, l'extrait aqueux d'*A. javanica* et de trois autres espèces appartenant à des genres différents ont été testés pour leur activité hémolytique vis-à-vis des érythrocytes humains. Les résultats de cette étude révèlent que ces extraits présentent une faible activité hémolytique (Kumar et al., 2011). En 2012, Khan et al. ont montré que la plante entière d'*A. javanica* possède une activité anti-ulcère significative.

La composition chimique et l'activité anti-oxydante d'extraits bruts obtenus à partir de différentes parties d'*A. javanica* en utilisant trois solvants de polarités différentes l'hexane, le méthanol et l'eau, ont été déterminées. Le criblage phytochimique a confirmé la présence de flavonoïdes, de glycosides cardiotoniques, de saponines, de tanins et d'acide ascorbique dans chaque fraction. L'extrait aqueux des feuilles et des tiges s'est avéré relativement riche en substances phytochimiques qui ont un effet anti-oxydant, ce qui suggère l'utilisation préférable de solvants polaires pour l'extraction de ces substances actives (Nawaz et al., 2015). L'extrait éthanolique d'*A. javanica* a révélé son potentiel antioxydant et hépatoprotecteur prometteur contre les lésions hépatiques induites chimiquement *in vivo*. Cela a été soutenu par l'analyse phytochimique *in vitro* et l'identification de la rutine, un flavonoïde antioxydant bien connu. Cette

découverte suggère donc la potentialité thérapeutique d'*A. javanica* dans diverses maladies du foie. Cependant, les isollements des principes actifs, leurs mécanismes d'action et d'autres contributions thérapeutiques restent à traiter (Arbab et al., 2016). L'effet cytotoxique a été déterminé par le test MTT sur les lignées cellulaire cancéreuses HepG-2, à partir de l'extrait des fleurs d'*A. lanata*. Ce dernier a révélé une inhibition de croissance des cellules cancéreuses pour des concentrations élevées (Abdulmutalib et Shah, 2017).

PARTIE IV:
RÉSULTATS & DISCUSSIONS

PARTIE IV: Résultats et Discussions

A) Etude Ethnobotanique de Quelques PAM du Hoggar (Part. I)

IV-1 Résultats

IV-1-1 Etude chimique

IV-1-1-1 Criblage phytochimique par CCM

Les résultats du criblage phytochimique des extraits de végétaux étudiés sont indiqués dans le tableau 5. Les taches orange, jaune, bleu et verte, observées sur le chromatogramme sous UV à 365 nm, correspondent à plusieurs classes de métabolites secondaires. Les chromatogrammes ont montré une richesse en métabolites pour certains extraits. Une comparaison est faite en parallèle entre l'étude phytochimique par CCM et l'étude bioautographie par DPPH afin de cibler les phytoconstituants actifs.

IV-1-1-2 Polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins

La teneur en polyphénols des extraits étudiés est estimée à 230.003 ± 8.423 mg/mL pour *Lavandula antinea* (feuilles) et 33.635 ± 0.477 mg/mL pour *Balanites aegyptiaca* (partie aérienne) exprimée en équivalent d'acide gallique par gramme de matière lyophilisée. La teneur en flavonoïdes est de 94.483 ± 4.137 mg/mL et 9.537 ± 0.657 mg/mL d'équivalent de catéchine par gramme de matière lyophilisée de *Lavandula antinea* (tiges) et *Balanites aegyptiaca* (partie aérienne), respectivement. D'autre part, les tanins sont présents avec des valeurs de 21.36 ± 0.33 mg/mL pour *Solenostemma argel* (feuilles) et 3.3 ± 0.92 mg/mL pour *Mentha longifolia* (tiges) exprimées en équivalent de catéchine par gramme de matière lyophilisée.

IV-1-2 Etudes biologiques

IV-1-2-1 Activité anti-oxydante

- **Activité anti-oxydante par bioautographie:** L'activité sur les radicaux libres est recherchée pour quinze extraits aqueux préparés à partir des espèces étudiées. Les résultats ont montré que treize extraits d'entre eux réagissent avec le DPPH par l'apparition de bandes jaunes sur un fond violet. Certains de ces produits apparaissent instantanément par contre d'autres se révèlent après 30 minutes (Tableau 6).

- **Activité anti-oxydante par dosage (Test DPPH):** La mesure de l'absorbance (ou densité optique, DO) est effectuée par spectrophotométrie à 514 nm. A partir des valeurs obtenues, les pourcentages d'inhibition sont calculés en utilisant la formule donnée dans la partie (cf. V-4-2).

Le tableau 6 représente les valeurs IC_{50} des extraits et qui représentent les activités anti-oxydantes. L'extrait aqueux de *Lavandula antinea* (feuilles) a donné une valeur IC_{50} de 10.36 ± 0.32 mg/mL, déterminée par rapport à la valeur IC_{50} de référence BHA estimée à 4.457 ± 0.07 mg/mL.

Tableau 5: Criblage phytochimique des différentes espèces étudiées.

Familles Genres Espèces	Organe utilisé	Groupe chimique					
		Sesquiterpènes lactones	Flavonoïdes	Terpénoides	Saponines	Glycosides cardiotoniques	DPPH Bioautographie
Asclépiadacées <i>Solenostemmaargel</i>	Feuilles	-	+++	-	+++	-	+
Amaranthacées <i>Aervajavanica</i>	Partie aérienne	-	+	-	+++	-	+
Apiacées <i>Deverrascoparia</i>	Partie aérienne	-	+++	-	++	-	+
Astéracées <i>Pentziamonodiana</i> <i>Pulicaria incisa</i>	Partie aérienne	-	-	+++	++	-	+
	Tiges et feuilles	-	-	-	+++	-	+
Cappariadacées <i>Maeruacrassifolia</i>	Feuilles	-	+	-	-	-	+
Chénopodiacees <i>Anabasisarticulata</i>	Partie aérienne	-	-	-	-	-	-
Lamiacées <i>Lavandulaantinea</i> <i>Lavandulaantinea</i> <i>Marrubiumdesertii</i> <i>Marrubiumdesertii</i> <i>Menthalongifolia</i> <i>Menthalongifolia</i>	Feuilles	+	+++	+	+	+	+
	Tiges	-	-	+	+++	+	+
	Feuilles	-	-	-	+	-	+
	Tiges	-	-	-	-	-	-
	Feuilles	-	+++	-	-	+	+
	Tiges	-	+++	-	-	+	+
Poacées <i>Cymbopogonschoenanthus</i>	Partie aérienne	-	+	-	-	-	+
Zygophyllacées <i>Balanites aegyptiaca</i>	Partie aérienne	+	+	++	-	+	+

Tableau 6: Résultats des dosages des différents groupes chimiques.

Familles	Organe utilisé	Teneur en polyphénols	Groupe chimique Teneur en flavonoïdes	Teneur en tanins	DPPH IC ₅₀
Genres et espèces					
Asclépiadacées					
<i>Solenostemma argel</i>	Feuilles	97.710±1.109	17.834±2.235	21.36±0.33	100.627±6.454
Amaranthacées					
<i>Aerva javanica</i>	Partie aérienne	80.899±1.995	23.263±3.529	11.7±0.26	57.59±0.799
Apiacées					
<i>Deverra scoparia</i>	Partie aérienne	68.946±6.397	9.640±1.477	8.42±0.49	97.399±2.535
Astéracées					
<i>Pentzia monodiana</i>	Partie aérienne	72.311±1.312	30.797±1.010	11.58±0.54	56.873±0.583
<i>Pulicaria incisa</i>	Tiges et feuilles	63.164±2.910	27.537±2.024	7.1±0.43	51.163±0.358
Cappariadacées					
<i>Maerua crassifolia</i>	Feuilles	35.129±2.291	15.720±1.046	10.2±0.34	122.893±2.852
Chénopodiacées					
<i>Anabasis articulata</i>	Partie aérienne	ND	ND	ND	ND
Lamiacées					
<i>Lavandula antinea</i>	Feuilles	230.003±8.423	90.740±1.184	10.36±0.32	13.834±0.336
<i>Lavandula antinea</i>	Tiges	126.997±2.735	94.483±4.137	9.06±0.48	10.352±0.388
<i>Marrubium desertii</i>	Feuilles	44.033±1.599	28.040±3.071	11.58±0.79	73.149±2.662
<i>Marrubium desertii</i>	Tiges	ND	ND	ND	ND
<i>Mentha longifolia</i>	Feuilles	131.066±4.314	94.406±7.537	6.12±0.44	17.262±0.552
<i>Mentha longifolia</i>	Tiges	103.310±4.036	93.469±10.734	3.3±0.92	19.6±0.822
Poacées					
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	Partie aérienne	64.962±1.142	19.354±1.841	11.86±0.55	102,717±2,056
Zygophyllacées					
<i>Balanites aegyptiaca</i>	Partie aérienne	33.635±0.477	9.537±0.657	5.82±0.27	147.419±2.73
BHA					4.457±0.07
Quercétine					1.119±0.064

IV-1-2-2 Activité antimicrobienne

Les activités antibactérienne et antifongique des différents extraits sont évaluées après 12 h et 24 h d'incubation à une température adéquate de 30°C, pour deux concentrations 5 mg/mL et 10 mg/mL.

a- Diamètre de la zone d'inhibition : 5 mg/mL (25 µL)

Après 24 h d'incubation, les résultats révèlent que les zones d'inhibition ont des diamètres de 12 mm seulement pour quatre extraits contre la bactérie Gram positif *B. subtilis*. Après 48 h, les résultats enregistrés sont significatifs pour *A. flavus* (Tableaux 7 et 8).

Tableau 7: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits végétaux actifs contre *B. subtilis* à la concentration de 5 mg/mL.

Extraits Souche	<i>B. aegyptiaca</i> (oued tounine)	<i>B. aegyptiaca</i> (tin tahounek)	<i>L.</i> <i>antinea</i> (feuilles)	<i>L.</i> <i>antinea</i> (tiges)	<i>P. monodiana</i> (partie aérienne)	<i>P. incisa</i> (ouedtaharart 1130M)
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	11	10	12	12	12	12

Tableau 8: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits végétaux actifs contre *A. flavus* à la concentration de 5mg/mL.

Extraits Souche	<i>C. schoenanthus</i> (Partie aérienne)	<i>M.</i> <i>longifolia</i> (feuilles)	<i>A. javanica</i> (Partie aérienne)	<i>S. argel</i> (feuilles)	<i>P. incisa</i> (feuilles et tiges)
<i>A. flavus</i>	11	13	13	11	11

b- Diamètre de la zone d'inhibition: 10 mg/mL

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent que *B. subtilis* est sensible vis-à-vis des extraits de *P. monodiana*, *L. antinea* et *P. incisa*. Ces derniers ne développent aucune zone d'inhibition contre les bactéries Gram négatifs, les levures et les champignons. D'autre part, les extraits de *M. longifolia* et d'*A. javanica*, à une concentration de 5 mg/mL, montrent une inhibition significative sur l'*A. flavus* avec un diamètre de 13 mm. Pour des concentrations de 50 µL en extraits, les résultats ne sont pas significatifs pour tous les microorganismes. L'extrait de *B. aegyptiaca* représente la zone la plus importante d'inhibition contre *B. subtilis*. Il est à noter aussi que pour l'*E. coli* E195 et *S. aureus*, les résultats sont négatifs pour tous les extraits testés (Tableau 9).

IV-2 Discussions

Sur la base de l'intensité et du nombre des spots, les extraits qui ont montré des activités anti-oxydantes sont ceux de *L. antinea* (tiges et feuilles), *M. longifolia* (feuilles), *P. monodiana* et *D. scoparia*. Ces résultats s'expliquent par la présence des tanins et des flavonoïdes (Bruneton, 1993; Cavin, 1999). En effet les flavonoïdes et les tanins sont des piègeurs de radicaux libres.

Parmi les extraits aqueux des plantes étudiées, l'extrait de *M. crassifolia* montre une faible activité anti-oxydante ce qui est en accord avec les travaux publiés par Diallo (2005). Aussi, le macéré aqueux des feuilles de *M. crassifolia* révèle une très faible activité anti-radicalaire comparée aux autres extraits apolaires.

La réduction du DPPH par dosage spectrophotométrique montre que les extraits de *L. antinea* (tiges et feuilles) présentent une plus grande capacité anti-radicalaire, comparée à BHA pris comme témoin. Ceci s'expliquent par leur richesse en composés phénoliques. D'autre part, l'activité la moins significative par rapport au BHA est celle obtenue pour *B. aegyptiaca*.

La recherche bibliographique révèle aussi que l'extrait aqueux des feuilles de *T. vulgaris* possède une bonne activité anti-oxydante (Kulšić et al., 2006). Dans cet extrait, la mise en évidence des polyphénols, essentiellement les flavonoïdes, de l'acide rosmarinique, l'acide caféique et la vitamine E peuvent expliquer l'activité révélée (Guillén et Manzanos 1998; Thuille et al., 2003; Kulišić et al., 2006).

Il est à noter aussi que pour une même plante, l'activité anti-oxydante est très variable d'un organe à un autre (Wagner et Bladt, 1996). Les espèces de Lamiacées ne représentent pas cette variabilité qui n'est constatée que pour *M. desertii* dont les feuilles révèlent une faible activité alors que les racines ont activité nulle. Aussi, il est démontré que les diterpènes, isolés de la partie aérienne de cette espèce endémique algérienne, présentent une activité anti-radicalaire, antibactérienne et anti-génotoxique (Zaabat et al., 2010).

L'étude phytochimique révèle une richesse en certains composés et le déficit ou même l'absence pour d'autres composés. Certaines espèces marquent la présence des saponosides et des glycosides cardiotoniques. Les flavonoïdes sont les métabolites les plus répandus dans toutes les espèces étudiées. Des travaux ont montré que les anthocyanidine-3-glycosides donnent des taches oranges, rouges et mauves ; les flavonols se décèlent sous forme de taches jaunes et vertes ; les flavones, les flavones méthylées, isoflavones, flavanones et les chalcones apparaissent sous forme

de taches bleues. Les flavanols et les aurones se caractérisent par l'apparition des taches vertes (Markham, 1982).

Une étude comparative faite entre l'étude phytochimique et l'activité anti-oxydante par DPPH a montré que certaines taches représentent le même R_f pour certaines espèces, ce qui explique que les flavonoïdes, saponines ou glycosides cardiotoniques représentent une activité anti-oxydante. Les flavonoïdes sont des antioxydants reconnus (Torel et al., 1986; Rafat et al., 1987; Shahidi et Wanasundara, 1992; Harborne et Williams, 2000; D'Abrosca et al., 2007). Une bonne corrélation existe entre les teneurs en flavonoïdes et l'activité anti-oxydante des espèces étudiées avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.883$. Cette corrélation est inexistante dans le cas des tanins ($R^2 = 0.030$). De même, une faible corrélation existe entre les polyphénols et l'activité anti-oxydante avec $R^2 = 0.626$.

L'activité antimicrobienne est significative à une concentration de 10 mg/mL. Dans le cas de *B. subtilis*, une sensibilité est obtenue pour la plupart des extraits étudiés. Ceci s'explique par le fait que les bactéries Gram positif sont plus sensibles que les bactéries Gram négatif (Tableau 9). Des auteurs suggèrent que cette différence de sensibilité est causée par la répulsion entre les polyphénols et les parois lipopolysaccharidiques des bactéries Gram négatif. En règle générale, la sensibilité des bactéries à l'égard des polyphénols dépend de l'espèce bactérienne et de la structure des polyphénols (Ikigai et al., 1998).

Comparativement, les activités antifongiques des extraits aqueux des feuilles *M. longifolia* sont plus importantes que celles des tiges. Les extraits de ces dernières ont des activités nulles contre des levures. Il est à noter que ces résultats sont beaucoup moins intéressants que ceux obtenus par l'action de l'huile essentielle de *M. longifolia* testée sur sept pathogènes à différentes concentrations révélant une bonne activité antifongique contre *C. albicans* (18.5 mm) (Al-Bayati, 2009).

La richesse de l'extrait de *L. antinea* en polyphénols et en flavonoïdes n'explique pas les activités antimicrobiennes modestes obtenues. Généralement, toutes les plantes de la famille Lamiaceae, connues pour leur composés phénoliques, sont actives contre une grande variété de microorganismes (Gortzi et al., 2007). *A. javanica* semble être une plante intéressante. En effet, elle montre une activité antifongique contre les levures et aussi le champignon *C. albicans* avec des zones d'inhibitions considérables.

Tous ces résultats montrent que les extraits aqueux ont une faible activité antimicrobienne comparée à celle des extraits alcooliques. En effet, les extraits alcooliques de *C. alata*, *L. camara* et *M. scaber* ont produit des zones d'inhibition plus importante que les extraits aqueux et ceci pour une concentration de 500 mg/mL (Ali-Emmanuel et al., 2002).

IV-3 Conclusion

Ce travail a permis de constater la richesse de la flore médicinale de l'extrême sud algérien en plantes utilisées traditionnellement dans le traitement de plusieurs maladies. Nos investigations phytochimiques et biologiques ont porté sur les parties aériennes, les feuilles et les tiges ; les parties les plus citées lors de l'étude ethnobotanique. L'analyse phytochimique a mis en évidence plusieurs métabolites secondaires parmi lesquels les saponosides, les glycosides cardiotoniques et les flavonoïdes. Certains extraits testés ont montré une bonne capacité de piégeage des radicaux libres. Enfin, des activités antibactériennes, antifongiques, anti-oxydantes sont démontrées pour certaines plantes.

B) Études Chimique & Biologique de Quelques PAM du Sud Algérien (Part. III)

Le matériel végétal (*P. incisa*, *A. graveolens* et *A. javanica*) est collecté dans le Hoggar (Tamanrasset, Algérie) en 2013, puis identifié par Mme Rabéa Sahki et ses collaborateurs. L'extraction des HEs, par hydrodistillation, et suivie d'analyses CPG-FID et CPG/SM. Des tests d'activités biologique et anticorrosion sont, ensuite, réalisés.

IV-1 Analyse chimique des HEs

Les rendements des extractions des HEs des plantes cueillies dans le sud d'Algérie varient de 0.1 à 0.5%. Elles ont des odeurs fortes et parfumées et sont de couleur jaune avec des nuances, sur le cercle chromatique, de l'orange et parfois du vert (Tableau 10):

Tableau 10: Caractéristiques des HEs extraites des plantes du Hoggar.

	<i>P. incisa</i>	<i>A. graveolens</i>	<i>A. javanica</i>
Rendement (%)	0.5	0.3	0.108
Couleur	Jaune clair	Jaune-vert	Jaune-orange
Odeur	Parfumée et forte	Parfumée	Piquante

Les chromatographies en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) et CPG/SM révèlent des profils chimiques différents pour chaque espèce étudiée. Les composés identifiés, leurs indices de rétention et leurs pourcentages d'abondance sont donnés dans les tableaux 11, 12 et 13. Ils sont classés selon leur ordre d'élution sur une colonne DB-5.

a-P. incisa

L'analyse chimique de l'HE de la partie aérienne de *P. incisa* a révélé la présence de quarante-deux composés représentant 97.3% de l'huile totale. Les composés identifiés et caractérisés dans l'huile et leur pourcentage d'abondance sont listés dans le tableau 11. L'huile est principalement composée de monoterpénoïdes, de sesquiterpénoïdes et de composés aromatiques. Elle se compose principalement de composés oxygénés (91.1%). Il est à noter aussi que la teneur en terpénoïdes est élevée (80.2%). Treize monoterpènes oxygénés (55.2%) constituent la majeure partie de l'huile, ainsi qu'une faible quantité de dérivés d'hydrocarbures (1.4%). Douze sesquiterpènes oxygénés (18.8%), six hydrocarbures sesquiterpéniques (4.8%) et cinq composés aromatiques (16.4%) ont également été identifiés dans l'huile. L'alcool aromatique et la cétone détectés sont l'alcool *p*-méthylbenzylique et la 2,4-diméthylacétophénone, et représentent les composants minoritaires de l'huile des parties aériennes.

Les composés quantitativement significatifs sont la chrysanthénone (45.3%), le 2,6-diméthylphénol (12.6%), l' α -cadinol (5.6%), l'eudema-4(15),7-diène-1-ol (3.5%) et le T-cadinol (3.6%) (Figure 18). La teneur élevée en composés oxygénés peut expliquer l'odeur caractéristique et parfumée de l'huile.

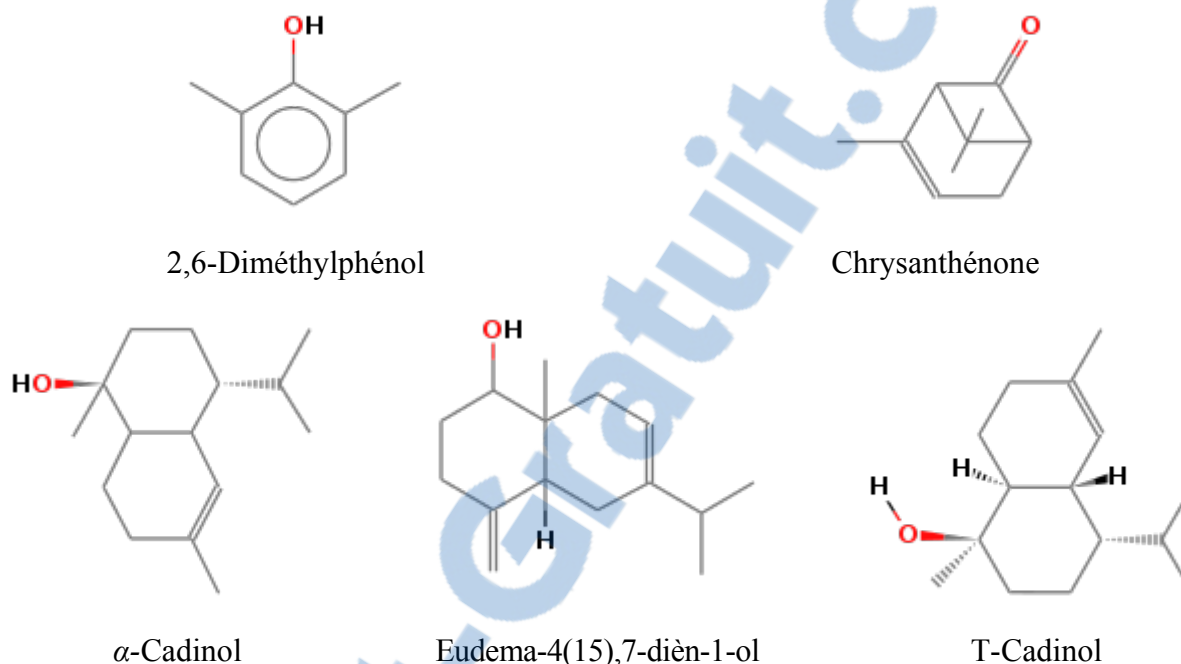


Figure 18: Composés majoritaires identifiés dans *P. incisa*.

La composition chimique des HEs d'autres espèces appartenant au genre *Pulicaria* a été largement étudiée (Gherib et al., 2016 ; Shahat et al., 2017). La comparaison des résultats obtenus dans l'étude de l'HE de *P. incisa* avec ceux rapportés dans la littérature ont permis de souligner quelques remarques intéressantes. La composition de l'huile de *P. incisa* montre un profil complètement différent et particulier par rapport à toutes les autres espèces appartenant à ce genre, à l'exception de *P. incisa* sub. *candollena* sauvage poussant en Egypte (Shahat et al., 2017). En effet, la chrysanthénone et le 2,6-diméthylphénol, les principaux composés identifiés dans l'huile de *P. incisa* du Hoggar, ne sont pratiquement pas détectés ou se trouvent en faible quantité dans les huiles des autres espèces et sous-espèces. En revanche, la carvotanacétone, composé principal des huiles de *P. undulata* du Yémen (Ali et al., 2012) et du Soudan (EL-kamali et al., 2009), de *P. jaubertii* (Algabr et al., 2012 ; Fawzy et al., 2013) et de *P. mauritanica*, (Znini et al., 2013) a été trouvé en très faible quantité (0.6%) dans l'huile de *P. incisa*.

Vingt-huit composés représentant 91.6% de la composition totale de l'huile de *P. undulata* d'Iran sont caractérisés. L'huile se compose de monoterpènes (88.5%) comprenant l' α -pinène (45.7%), 1,8-cinéole (27%) comme composés majoritaires (Ravandeh et al., 2011). Aussi, une autre étude en Iran révèle que les HEs de la partie aérienne de l'espèce *P. undulata* syn. *P. crispa* (Forssk.) contiennent, d'une part, des monoterpènes, dont les principaux composés sont le 4-terpinéol (20.12%) , l' α -terpinène (4.02%), le γ -terpinène (7%), le *cis*-sabinène hydrate (8.29%), le linalol (5.6%), et d'autre part, les sesquiterpènes dont le junipène (8.66%) et le *cis*-calaménène (13.37%) (Nematollahi et al., 2006). Dans le cas de *P. undulata*, espèce poussant au Soudan, 68.28% de monoterpènes oxygénés sont identifiés dont 55.87% représenté par le (+)-carvotanacétone comme composé majoritaire (EL-kamali et al., 2009). Au Yémen, les HEs des feuilles de *P. undulata* Gamal Ed Din (Syn. *P. orientalis* sensu schwatz) sont analysées par CPG et CPG/SM. Les principaux composés caractérisés sont les monoterpènes oxygénés, notamment, la carvotanacétone (91.4%) et le 2,5-diméthoxy-*p*-cymène (2.6%) (Ali et al., 2012).

Dans le Sahara algérien et plus particulièrement dans la région de Djanet (Tassili), l'HE des parties aériennes de *P. undulata* est obtenue par entraînement à la vapeur. Trente et un composés sont déterminés et font partie des terpénoïdes oxygénés (74.3%), tandis que la fraction non oxygénée représente 22.7% de l'huile totale. Les principaux composés sont la carvotanacétone (14.8%), le δ -cadinène (8.2%), l' α -cadinol (4.7%) et le thuyanol (4.7%) (Boumaraf et al., 2016). Au Maroc, vingt-sept composés sont identifiés dans l'huile volatile de la racine de *P. odora* L. Les constituants dominants sont le thymol (47.83%) et son dérivé isobutyrate (30.05%) (Hanbali et al., 2005).

De même, les HEs de *P. gnaphalodes* d'Iran sont analysées et cinquante-huit composés représentant 90.7% de l'huile totale sont caractérisés. Le composé majoritaire est l' α -pinène (30.2%). Les autres composés sont 1,8-cinéole (12.1%), le β -citronellol (9.6%), le merténol (6.6%), l' α -terpinéol (6.1%) et le 4-terpinéol (5.9%) et la chrysanthénone (2.9%) (Shariatifar et al., 2014).

Enfin, la carvotanacétone présente avec un faible pourcentage dans l'huile *P. incisa* poussant dans le Hoggar, est fortement dominante dans l'huile *P. jaubertii* d'Arabie Saoudite (98.59%) (Fawzy et al., 2013), dans la même espèce du Yémen (63.95%) (Algabr et al., 2012) et dans les parties aériennes de l'espèce *P. mauritanica* du Maroc (87.3%) (Znini et al., 2013).

Tableau 11: Composition chimique de l'HE de la partie aérienne de *P. incisa*.

No. ^a	Composés	IR ^b	HE (%) ^c <i>P. incisa</i>	Identification ^d
1	<i>α</i> -Pinène	941	0.2	IR, SM
2	Sabinène	977	0.2	IR, SM
3	<i>p</i> -Cymène	1028	0.3	IR, SM
4	Limonène	1032	0.3	IR, SM
5	<i>cis</i> -Oxyde de linalool (furanoïde)	1076	0.5	IR, SM
6	Terpinolène	1090	0.4	IR, SM
7	2,6-Diméthylphénol	1105	12.6	IR, SM
8	<i>p</i> -Méthyl-1-hydroxyméthylbenzène	1107	2.3	IR, SM
9	Chrysanthénone	1126	45.3	IR, SM
10	2-Ethylphénol	1141	0.6	IR, SM
11	<i>cis</i> -Verbénol	1145	0.3	IR, SM
12	<i>cis</i> -Chrysanthénol	1163	2.3	IR, SM
13	Bornéol	1167	1.5	IR, SM
14	4-Terpinéol	1179	0.9	IR, SM
15	<i>α</i> -Terpinéol	1191	0.2	IR, SM
16	Verbénone	1206	0.6	IR, SM
17	2,4-Diméthylacétophénone	1220	0.4	IR, SM
18	Carvotanacétone	1247	0.6	IR, SM
19	Acétate de <i>cis</i> -Chrysanthényle	1263	0.4	IR, SM
20	Isopiperiténone	1271	1.8	IR, SM
21	4-Vinylguaïacol	1316	0.5	IR, SM
22	Acétate de myrtényle	1327	0.5	IR, SM
23	(<i>Z</i>)-Jasmone	1395	0.7	IR, SM
24	<i>β</i> -Caryophyllène	1419	0.8	IR, SM
25	2,5-Diméthoxy- <i>p</i> -cymène	1424	0.3	IR, SM
26	<i>β</i> -Selinène	1487	0.8	IR, SM
27	<i>trans</i> -Muurolo-4(14),5-diène	1492	0.2	IR, SM
28	<i>épi</i> -Cubébol	1495	0.4	IR, SM
29	<i>α</i> -Muuroloène	1499	0.5	IR, SM
30	<i>trans</i> - <i>γ</i> -Cadinène	1514	0.4	IR, SM
31	<i>δ</i> -Cadinène	1524	2.1	IR, SM
32	<i>cis</i> -Cadinène éther	1553	0.4	IR, SM
33	Germacrène D-4-ol	1575	1.2	IR, SM
34	Oxyde de caryophyllène	1582	0.9	IR, SM
35	<i>β</i> -Oplopénone	1607	0.5	IR, SM
36	1- <i>épi</i> -Cubénol	1629	0.7	IR, SM
37	T-Cadinol	1641	3.6	IR, SM
38	<i>α</i> -Muurolol	1646	0.7	IR, SM
39	<i>β</i> -Eudesmol	1650	0.4	IR, SM
40	<i>α</i> -Cadinol	1652	5.6	IR, SM
41	14-Hydroxy-9- <i>épi</i> -(<i>E</i>)-caryophyllène	1667	0.9	IR, SM
42	Eudesma-4(15),7-diène-1-ol	1688	3.5	IR, SM
% Identification			97.3	
Rendement % (m/m)			0.50	
Monoterpènes hydrocarbonés			1.4	
Monoterpènes oxygénés			55.2	
Sesquiterpènes hydrocarbonés			4.8	
Sesquiterpènes oxygénés			18.8	
Autres dérivés			17.1	

Les composés majoritaires sont indiqués en gras. ^a L'ordre d'élution est donné sur une colonne capillaire apolaire DB-5. ^b Les indices de rétention (IR) sont déterminés relativement au temps de rétention d'une série de *n*-alcanes. ^c Pourcentage relatif calculé par CPG-FID sur une colonne capillaire apolaire DB-5. ^d IR : Indices de rétention ; SM : Spectre de Masse ; HE : Huile essentielle.

b-A. graveolens

Dans l'huile d'*A. graveolens*, un total de trente et un composés sont identifiés, représentant 97.0% de l'huile totale des parties aériennes. Elle se compose exclusivement de terpénoïdes, principalement, huit monoterpènes oxygénés (53.9%) et treize sesquiterpènes oxygénés (35.2%). Seulement six hydrocarbures monoterpéniques (5.7%) et quatre hydrocarbures sesquiterpéniques (2.2%) sont présents dans l'huile volatile des parties aériennes. Les constituants majoritaires de cette huile sont l'acétate de *cis*-chrysanthényle (31.1%), l'acétate de myrtényle (15.1%), le kessane (11.5%), le liguloxyle (7.4%), le *cis*-chrysanthénol (5.3%), le T-cadinol (4.5%) et le valérianol (3.8%) (Figure 19 ; Tableau 12).

Des études antérieures portant sur les espèces et les sous-espèces d'*Asteriscus* révèlent la prépondérance de 1,8-cinéole (21.5%), δ -cadinol (19.1%), δ -cadinène (12.4%) et l'humulène époxyde II (6.2%) dans l'huile des feuilles d'*A. gravesolens* subsp. *stenophyllus* (Cheriti et al., 2007) ; le 6-oxocyclonérolidol (30.72%), T-cadinol (14.50%), α -pinène (4.22%), α -bisabolone oxyde (3.56%), humulène époxyde II (3.5%) et bisabolone (3.5%) dans les parties aériennes d'*A. graveolens* subsp. *odorus* (Alilou et al., 2014) ; 6-oxocyclonérolidol (66.7%), 6-hydroxycyclonérolidol (8.8%) et intermédéol (4.3%) dans les parties aériennes de *A. graveolens* (Znini et al., 2011); l'acétate de *cis*-8-acétoxychrysanthényle (48.5%), l'acétate de *cis*-chrysanthényle (13.4%), T-cadinol (11.4%), 6-oxocyclonérolidol (7.8%), α -oxobisabolène (5.7%) dans les fleurs d'*A. graveolens* (Forssk.) Less. poussant au Maroc (Cristofari et al., 2012); 1,5-dihydroxy-6,7-diméthyl-octa-3,5-diène (8.62%), carvéol (6.07%), α -pinène (3.83%), cédrénol (3.10%), α -phellandréne (2.12 %), et l' α -himachalène (1.89%) dans les fleurs de *Nauplius graveolens* du Sinaï (Fahmy, 2003).

L'analyse des composés volatils, des parties aériennes d'*A. maritimus* (L.) Less. de Tunisie, montre quarante-cinq constituants représentant 99.32% de l'huile totale, dont 97.53% sont des terpénoïdes. Les sesquiterpènes oxygénés et dérivés sont représentés avec les pourcentages 57.82 %, 46.39% et 14.76% dans les fleurs, les feuilles et les tiges, respectivement (Sined et al., 2012). En comparant ces résultats avec ceux d'*A. maritimus* (L.) Less. poussant en Espagne, l'analyse chimique révèle que la fraction des monoterpènes hydrogénés est la plus dominante dans les tiges et feuilles (54.6%) et les fleurs (38.65%), alors que, la fraction des sesquiterpènes oxygénés n'est élevée que dans l'huile des fleurs (34.9%). L' α -pinène (27.5%) et le *p*-cymène (10%) sont les composés majoritaires des tiges et des feuilles (Palà-Paül et al., 2013).

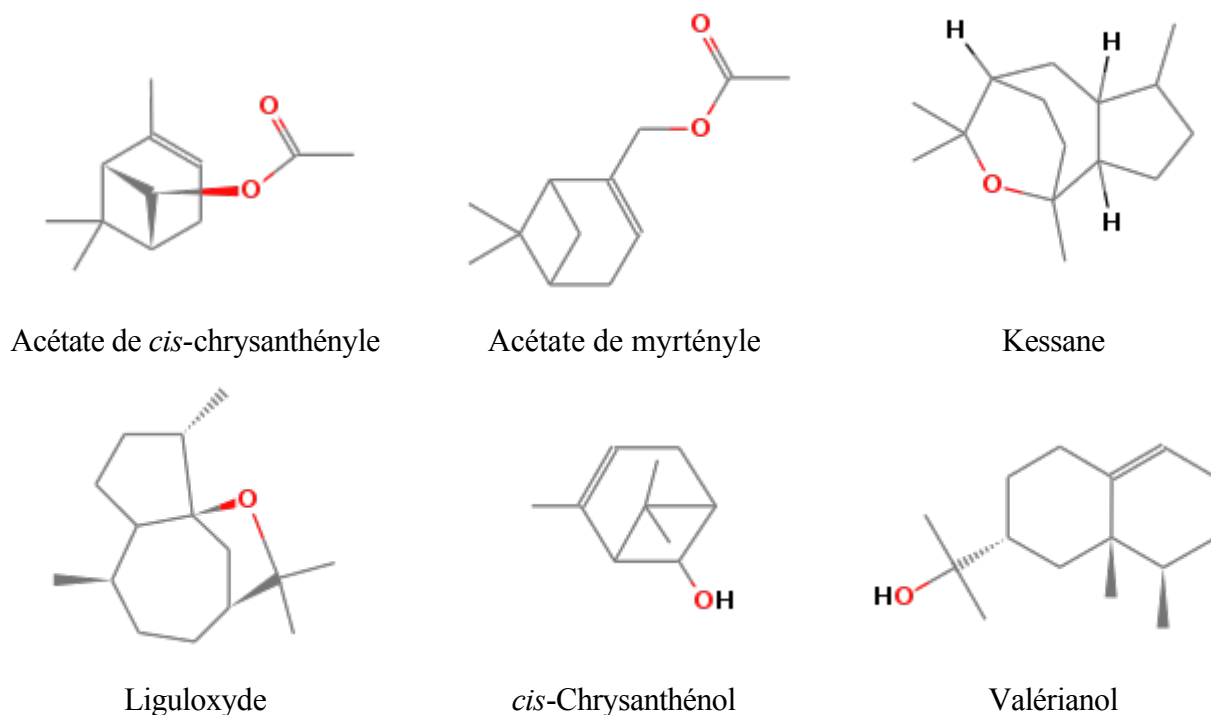


Figure 19: Composés majoritaires identifiés dans *A. graveolens*.

Enfin, les études antérieures montrent que les principaux constituants de l'HE des espèces d'*Asteriscus* tels que le 1,8-cinéole, le β -phellandrène, le *m*-cymène, l'*exo*-2-hydroxycinéole, l'acétate de *trans*-chrysanthényle, l'acétate de menthyle, l'acétate du 2,6-diméthyl-1,6-heptadiène-4-yl, le 6-oxocyclonérolidol, le δ -cadinène et le phytol ne sont pas identifiés dans l'huile des parties aériennes d'*A. graveolens* étudiée. Cette variation observée dans le profil chimique peut être attribuée à la composition du sol, à l'organe de la plante, à la phase du cycle végétatif et au climat.

Tableau 12: Composition chimique de l'HE de la partie aérienne d'*A. graveolens*.

No. ^a	Composés	IR ^b	HE (%) ^c <i>A. graveolens</i>	Identification ^d
1	<i>α</i> -Pinène	941	2.6	IR, SM
2	Sabinène	977	0.2	IR, SM
3	Myrcène	993	2.2	IR, SM
4	<i>α</i> -Phellandrène	1006	0.3	IR, SM
5	<i>p</i> -Cymène	1028	0.1	IR, SM
6	Limonène	1032	0.3	IR, SM
7	Linalool	1101	0.2	IR, SM
8	<i>cis</i> -Chrysanthénol	1163	5.3	IR, SM
9	4-Terpinéol	1179	0.2	IR, SM
10	Myrténol	1195	1.6	IR, SM
11	Acétate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1263	31.1	IR, SM
12	Acétate de bornyle	1287	0.2	IR, SM
13	Acétate de myrtényle	1327	15.1	IR, SM
14	<i>α</i> -Humulène	1455	0.7	IR, SM
15	Germacrène D	1482	0.8	IR, SM
16	<i>β</i> -Selinène	1487	0.4	IR, SM
17	Bicyclogermacrène	1496	0.3	IR, SM
18	Kessane	1528	11.5	IR, SM
19	Liguloxide	1530	7.4	IR, SM
20	Spathuléol	1577	0.3	IR, SM
21	Oxyde de caryophyllène	1582	0.3	IR, SM
22	Isovalérate de néryle	1584	0.2	IR, SM
23	Rosifoliol	1601	0.4	IR, SM
24	Humulène époxyde II	1607	1.6	IR, SM
25	1,10-di- <i>épi</i> -Cubénol	1615	0.8	IR, SM
26	T-Cadinol	1641	4.5	IR, SM
27	<i>β</i> -Eudesmol	1650	0.8	IR, SM
28	Valérianol	1656	3.8	IR, SM
29	Bulnésol	1667	1.1	IR, SM
30	<i>épi-α</i> -Bisabolol	1686	0.4	IR, SM
31	Bisabolone	1749	2.3	IR, SM
% Identification			97.0	
Rendement % (m/m)			0.30	
Monoterpènes hydrocarbonés			5.7	
Monoterpènes oxygénés			53.9	
Sesquiterpènes hydrocarbonés			2.2	
Sesquiterpènes oxygénés			35.2	

Les composés majoritaires sont indiqués en gras. ^a L'ordre d'élution est donné sur une colonne capillaire apolaire DB-5. ^b Les indices de rétention (IR) sont déterminés relativement au temps de rétention d'une série de *n*-alcanes. ^c Pourcentage relatif calculé par CPG-FID sur une colonne capillaire apolaire DB-5. ^d IR : Indices de rétention ; SM : Spectre de Masse ; HE : Huile essentielle.

c- *A. javanica*

L'HE d'*A. javanica* obtenue par hydrodistillation est analysée par CPG-FID et CPG/SM. La composition de l'huile volatile est indiquée dans le tableau 13. Vingt-huit composés sont identifiés, représentant 94.2% de l'huile totale. Les pourcentages les plus élevés correspondent aux sesquiterpènes oxygénés (45.6%) suivis des monoterpènes oxygénés (32.4%), des apocarotènes (10.4%) et autres dérivés (4.3%). Le pourcentage le plus faible de composés est enregistré pour les sesquiterpènes hydrogénés (0.4%) et les monoterpènes hydrogénés (1.1%). Les principaux composés de l'HE d'*A. javanica* sont le kessane (15.5%), l'acétate de *cis*-chrysanthényle (14.8%), liguloxide (11.4%), l'acétate de myrtényle (8.3%), le linalool (7.4%) et le (E)-nérolidol (6.5%).

Très peu d'études sont citées dans la littérature portant sur l'étude chimique de l'HE d'*A. javanica*. Parmi les plus citées et celles réalisées sur les HEs des feuilles et des tiges d'*A. javanica* du Pakistan obtenues par entraînement à la vapeur et par hydrodistillation. Cette étude révèle la caractérisation de dix-neuf composés représentant 82.96%, 78.92% et 90.5% des feuilles, des tiges et des graines, respectivement. La majorité des composés appartiennent à la famille des hydrocarbures (78.59%) (Samejo et al., 2012). Une autre étude est réalisée par les mêmes auteurs sur les graines. Après comparaison, ces auteurs rapportent que le pourcentage de caractérisation est plus élevé pour les graines extraites par la méthode de l'entraînement à la vapeur (95.6%) que par la méthode d'hydrodistillation (90.5%) (Samejo et al., 2013). Cette variation des compositions chimiques d'HEs entre les écotypes algérien et pakistanais est peut être due aux conditions de croissance, aux facteurs environnementaux, aux organes utilisés lors de l'extraction, à la méthode d'extraction et aux conditions d'analyse.

Enfin, des différences remarquables sont trouvées entre nos résultats et ceux publiés antérieurement. Les composés majoritaires trouvés dans nos échantillons sont absents ou détectés en petites quantités dans les espèces citées dans la littérature. Cette différence peut être expliquée par les caractéristiques du sol, les conditions climatiques des différents écotypes malgré la même technique d'extraction et la même partie de la plante qui sont été utilisés dans notre travail.

Tableau 13: Composition chimique de l'HE de la partie aérienne d'*A. javanica*.

No. ^a	Composés	IR ^b	HE (%) ^c <i>A. javanica</i>	Identification ^d
1	<i>α</i> -Pinène	941	0.4	IR, SM
2	Myrcène	993	0.7	IR, SM
3	Linalool	1101	7.4	IR, SM
4	Chrysanthénone	1126	0.4	IR, SM
5	<i>α</i> -Terpinéol	1191	1.5	IR, SM
6	Décanal	1205	0.5	IR, SM
7	Acétate de <i>cis</i>-Chrysanthényle	1263	14.8	IR, SM
8	Acétate de myrtényle	1327	8.3	IR, SM
9	(E)- <i>β</i> -Damascénone	1382	1.9	IR, SM
10	7,8-Dihydro-3,4-déhydro- <i>β</i> -ionone	1423	1.6	IR, SM
11	(E)-Géranyl acétone	1456	3.9	IR, SM
12	<i>γ</i> -Muuroène	1479	0.4	IR, SM
13	(E)- <i>β</i> -Ionone	1487	2.1	IR, SM
14	Kessane	1528	15.5	IR, SM
15	Liguloxide	1530	11.4	IR, SM
16	(E)-Nérolidol	1564	6.5	IR, SM
17	(E,E)-Pseudoionone	1587	0.9	IR, SM
18	Humulène époxyde II	1607	1.6	IR, SM
19	Tétradécanal	1614	1.2	IR, SM
20	Benzophénone	1627	1.2	IR, SM
21	T-Cadinol	1641	3.0	IR, SM
22	<i>β</i> -Eudesmol	1650	1.1	IR, SM
23	<i>α</i> -Bisabolol oxyde B	1654	1.8	IR, SM
24	Valérianol	1656	3.3	IR, SM
25	Bulnésol	1667	0.7	IR, SM
26	<i>épi-α</i> -Bisabolol	1686	0.7	IR, SM
27	<i>n</i> -Heptadécane	1700	0.4	IR, SM
28	Pentadécanal	1716	1.0	IR, SM
% Identification			94.2	
Rendement % (m/m)			0.11	
Monoterpènes hydrocarbonés			1.1	
Monoterpènes oxygénés			32.4	
Sesquiterpènes hydrocarbonés			0.4	
Sesquiterpènes oxygénés			45.6	
Apocarotènes			10.4	
Autres dérivés			4.3	

Les composés majoritaires sont indiqués en gras. ^a L'ordre d'élution est donné sur une colonne capillaire apolaire DB-5. ^b Les indices de rétention (IR) sont déterminés relativement au temps de rétention d'une série de *n*-alcanes. ^c Pourcentage relatif calculé par CPG-FID sur une colonne capillaire apolaire DB-5. ^d IR : Indices de rétention ; SM : Spectre de Masse ; HE : Huile essentielle.

IV-2 Activités biologiques des HEs

IV-2-1 Activité antimicrobienne

Les HEs des parties aériennes d'*A. graveolens* et de *P. incisa* présentent un large spectre d'activité antimicrobienne, contrairement à l'HE de la partie aérienne d'*A. javanica* qui ne montre aucune zone d'inhibition vis-à-vis de tous les microorganismes testés (diamètres d'inhibition varient entre 6 et 7 mm).

IV-2-1-1 Aromatogramme

En général, les huiles de *P. incisa* et d'*A. graveolens* sont très actives contre toutes les bactéries et levures testées (Tableau 14). L'étude statistique révèle des différences significatives des huiles testées sur les bactéries Gram-négatives, particulièrement, pour *P. incisa*. Par rapport aux antibiotiques, l'huile de *P. incisa* à 10 μ L (20.33 ± 0.577 mm) a le même effet que la streptomycine (22.33 ± 0.577 mm) sur la souche de référence *Klebsiella pneumoniae* mais qui reste néanmoins nettement inférieur à celui du chloramphénicol (36.33 ± 0.57 mm). D'autre part, *K. pneumoniae* clinique montre une résistance aux deux HEs à différentes concentrations. Néanmoins, cette souche représente une sensibilité au chloramphénicol (36 ± 0.00 mm). Les diamètres d'inhibition de l'huile de *P. incisa*, 30 ± 0.00 mm et 37.5 ± 3.54 mm respectifs aux deux concentrations 5 μ L et 10 μ L, sur *E. coli* sont comparables au résultat obtenu avec le chloramphénicol (32 ± 20 mm). Ceci montre la sensibilité de cette souche de référence à l'huile de *P. incisa*. Par ailleurs, *E. coli* clinique est sensible à l'huile de *P. incisa* à 10 μ L (20 ± 1.73 mm) puisque les zones d'inhibition sont identiques à celles de la streptomycine et de l'érythromycine. Cependant, la différence est significativement inférieure dans le cas du chloramphénicol (34.33 ± 0.58 mm).

L'huile de *P. incisa* est active contre la souche de référence *Acinetobacter baumannii*. Les diamètres d'inhibition sont compris entre 21.66 ± 2.89 mm et 26.66 ± 2.89 mm, résultats similaires à ceux obtenus avec l'érythromycine et la streptomycine. L'effet du chloramphénicol est significatif vis-à-vis de cette souche dont l'inhibition est complète. En revanche, *A. baumannii* clinique est très résistante aux huiles de *P. incisa* et d'*A. graveolens*. Par contre, elle est très sensible à l'érythromycine et à la streptomycine. *Proteus mirabilis* 25933 est très sensible aux concentrations 5 μ L et 10 μ L des deux huiles avec des diamètres des zones d'inhibitions qui varient entre 21.66 ± 2.89 mm et 26.66 ± 5.77 mm pour *P. incisa* et 15.33 ± 2.52 mm à 24.66 ± 1.50 mm pour *A. graveolens*. Elle est également sensible à tous les antibiotiques testés. Parmi les bactéries Gram-négatives, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 est la plus résistante aux HEs et aux antibiotiques testés.

A la lumière de ces résultats l'HE de *A. graveolens* montre des zones d'inhibition modérées à insignifiantes par rapport aux antibiotiques pour toutes les bactéries Gram-négatives. Les diamètres d'inhibition enregistrés pour les deux concentrations oscillent entre 14.33 ± 0.577 mm et 50 ± 00 mm pour *P. incisa* et entre 15 ± 00 et 30.33 ± 2.31 pour *A. graveolens*. Les bactéries Gram-positives sont plus sensibles à l'action de l'HE que les bactéries Gram-négatives.

L'HE de *P. inuloides* du Yémen a montré une activité antibactérienne intéressante contre les bactéries. L'étude révèle que les bactéries Gram-positives (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* et *Bacillus subtilis*) sont plus sensibles à cette huile que la bactérie Gram-négative (*E. coli*.) (Qaid et al., 2014). *Bacillus cereus* ATCC 11778 montre une sensibilité à l'huile de *P. incisa* à $10 \mu\text{L}$, le diamètre de la zone d'inhibition étant de 23.33 ± 1.52 mm. Ce diamètre est similaire à celui de l'érythromycine. L'HE d'*A. graveolens* est active à $10 \mu\text{L}$. En effet, son effet est statistiquement identique à celui de l'érythromycine. La streptomycine montre une différence significative par rapport aux autres antibiotiques et aux huiles à différentes concentrations.

Listeria monocytogenes ATCC 19115 est la bactérie à Gram-positif la plus résistante aux HEs et à l'érythromycine mais reste sensible au chloramphénicol. Les souches de *Staphylococcus* sont vulnérables aux huiles de *P. incisa* et d'*A. graveolens*. Une différence significative pour ces huiles dont les diamètres d'inhibition varient entre 16.33 ± 2.31 mm et 40 ± 00 mm à $5 \mu\text{L}$ et 28.66 ± 0.58 mm et 50 ± 00 mm à $10 \mu\text{L}$ pour *P. incisa*. Au Yémen, l'étude sur l'activité antimicrobienne de l'HE de *P. undulata* montre que *S. aureus* est le microorganisme le plus sensible, avec la zone d'inhibition la plus importante (32 mm) (Ali et al., 2012).

Le diamètre de la zone d'inhibition de l'huile *A. graveolens* est de l'ordre de 11 ± 1.41 mm et 22.66 ± 2.89 mm à $5 \mu\text{L}$ et 19 ± 1.41 mm et 30.33 ± 2.31 mm à $10 \mu\text{L}$. L'HE de *P. incisa* à $10 \mu\text{L}$ est plus active comparée aux antibiotiques et à l'huile de *A. graveolens* contre *S. aureus* ATCC 43300. Cette importante activité antimicrobienne peut être expliquée par la présence des monoterpènes oxygénés qui peuvent être responsables de cette activité. La souche clinique de *S. aureus* est sensible aux huiles de *P. incisa* et d'*A. graveolens*. Les diamètres des zones d'inhibition sont 19.33 ± 2.31 mm et 23.33 ± 2.89 mm pour les concentrations considérées de *P. incisa*. Ils sont de 20 ± 0.00 mm et 25 ± 5.0 mm pour *A. graveolens*.

Les résultats sur l'HE de *P. jaubertii* montrent des zones d'inhibition variables contre les souches Gram-positives et *Candida albicans*. Cependant, aucune activité n'a été démontrée contre les bactéries Gram-négatives (Fawzi et al., 2013).

Enfin et dans le cas des levures, l'HE de *P. incisa* est plus active que l'amphotéricine B et la nystatine contre *C. albicans* ATCC 26790, à la concentration de 10 μ L. Ezoubeiri et al. (2005) montrent que l'HE de *P. odora* du Maroc, exerce une activité inhibitrice contre les bactéries *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et contre les souches fongiques *C. albicans* HITM22 *in vitro*, en utilisant les méthodes de diffusion et de dilution. L'huile d'*A. graveolens* est moins active que les agents antifongiques testés. Les diamètres d'inhibition sont de 15.66 \pm 0.58 mm à 17.33 \pm 0.58 mm aux concentrations respectives 5 μ L et 10 μ L pour l'huile, 26.00 \pm 6.56 mm pour l'amphotéricine B et 25.00 \pm 1.00 mm pour la nystatine. L'effet antifongique de l'HE des feuilles d'*A. graveolens* est évalué *in vitro* contre trois champignons phytopathogènes de pommes. Les résultats suggèrent que cette huile a un effet fongicide (Znini et al., 2011).

IV-2-1-2 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les valeurs de CMI des HEs contre les souches microbiennes étudiées sont présentées dans le tableau 14. Elles varient entre 19 et 1250 μ g/mL. En général, l'effet est plus important sur les bactéries Gram-positives que sur les bactéries Gram-négatives, à l'exception d'*A. baumannii* ATCC 19606 et *P. mirabilis* ATCC 25933 pour l'HE de *P. incisa*. Qaid et al. (2016) rapportent une différence dans l'effet des HEs de deux espèces du genre *Pulicaria*. L'huile de *P. inuloïdes* est active sur *L. monocytogenes*, *E. coli* et *S. aureus*, par contre, celle de *P. crispa* montre une inhibition plus faible.

De nos jours, il est bien connu que les HEs peuvent être utilisées pour lutter contre les infections nosocomiales ainsi que les bactéries épidermiques multi-résistantes comme *S. aureus* résistante à la méthiciline (SARM) (Warnke et al., 2009). De nombreuses HEs (Eucalyptus, thym blanc, lavande, cannelle clous de girofle, etc.) se sont révélées efficaces contre plusieurs souches SARM, *Streptococcus* et *Candida* (Warnke et al., 2009). Cette activité peut être due soit aux composés majoritaires, soit à l'effet synergique entre eux et quelques composés minoritaires (Langeveld et al., 2014 ; Aelenei et al., 2016). Les HEs riches en terpènes oxygénés présentent, généralement, une activité antimicrobienne supérieure par rapport aux huiles riches en hydrocarbonés (Knobloch et al., 1987).

Plusieurs travaux confirment l'activité antimicrobienne de composés oxygénés comme la chrysanthénone, l' α -cadinol et l'eudesma-4(15),7-diène-1-ol (Abad et al., 2012; Su et al., 2015). Ces composés sont abondants dans l'huile de *P. incisa* mais ils n'ont pas été identifiés dans l'huile d'*A. graveolens*. Cependant, l' α -pinène, le *cis*-chrysanthénol et le T-cadinol sont présent dans les deux

HEs. Par conséquent, le profil chimique de l'HE des parties aériennes de *P. incisa* peut avoir influencé cet effet antimicrobien remarquable contre les bactéries Gram-positives, en raison de l'épaisseur relativement moins rigide de leurs parois cellulaires (Dhifi et al., 2016 ; Swamy et al., 2016).

Cette étude souligne aussi la bonne activité inhibitrice de l'huile de *P. incisa* contre les bactéries Gram-négatives malgré leurs barrières membranaires externes restrictives très résistantes même aux drogues synthétiques (Yap et al., 2014). Les valeurs de CMI varient entre 625 $\mu\text{g/mL}$ et 19 $\mu\text{g/mL}$ pour *P. incisa*. Cette HE montre une activité plus élevée contre *C. albicans* ATCC 26790 avec une CMI de 312 $\mu\text{g/mL}$. Cependant, l'action inhibitrice la plus importante de l'HE d'*A. graveolens* est observée pour *P. mirabilis* ATCC 25933 avec une CMI de 39 $\mu\text{g/mL}$. Il est à noter que les normes internationales de la microbiologie mentionnent qu'une bonne efficacité contre les souches microbiennes correspond à une CMI $\leq 100 \mu\text{g/mL}$.

Tableau 14: Activité antimicrobienne des HEs de deux Asteraceae: *P. incisa* and *A. graveolens*.

Microorganismes	Huiles Essentielles						Antibiotiques ⁵		
	<i>P. incisa</i>			<i>A. graveolens</i>					
	DZI ¹			DZI					
	5 µL	10 µL	CMI ² (µg/mL)	5 µL	10 µL	CMI (µg/mL)	C ⁵ (30 µg)	E ⁵ (15 µg)	S ⁵ (10 µg)
Gram-négatif									
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC7060	15.67±0.577 ^{ac}	20.33±0.577 ^{ad}	≤312	- ³	-	-	36.33±0.57 ^b	8.66 ±0.577 ^c	22.33±0.577 ^d
<i>Klebsiella pneumoniae</i> clinique	-	10.67±1.15 ^a	-	-	-	-	36±0.0 ^c	22.67±1.53 ^b	22.67±2.52 ^b
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	30±00 ^a	37.5±3.54 ^b	≤156	10.67±1.15 ^c	14±1.00 ^c	≤312	32 ± 2 ^e	20.33±0.58 ^f	25±3.46 ^g
<i>Escherichia coli</i> clinique	20±00 ^a	20±1.73 ^{ac}	≤625	-	8±0.00 ^b	-	34.33±0.58 ^c	24±1.73 ^d	27.33±0.58 ^e
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	21.66±2.89 ^a	26.66±2.89 ^a	≤19	12.66±2.31 ^b	12±3.46 ^b	≤312	C.I. ⁴	22.67±2.31 ^a	23.33±2.89 ^a
<i>Acinetobacter baumannii</i> clinique	-	7.66±1.53 ^a	-	-	-	-	30±0.00 ^b	12.33±0.58 ^a	30±0.58 ^b
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	-	-	-	-	-	10±2.65 ^a	13.33±2.08 ^a	13.66±2.65 ^a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	20±00 ^a	30±00 ^b	≤78	15.33±2.52 ^c	24.66±1.5 ^d	≤39	33±0.00 ^e	20±0.00 ^a	20.33±1.15 ^a
Gram-positif									
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	14.33 ±0.577 ^a	23.33 ±1.52 ^b	≤312	15±00 ^a	19±1.00 ^c	≤1250	28.33±0.57 ^d	21.66±0.57 ^b	33.33±1.52 ^e
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	-	-	-	-	-	-	27.33±0.577 ^a	-	17.66±5.50 ^c
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	27.66±0.58 ^a	28.66±0.58 ^{ad}	≤625	15±0.00 ^b	17±00 ^c	≤1250	29.33±0.58 ^d	20.66±0.5 ^e	17.33±0.58 ^f
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	16.33 ±2.31 ^a	38±00 ^b	≤78	22.66±2.89 ^{ce}	30.33±2.31 ^d	≤625	25.33 ^e	26.33±0.58 ^e	21.33±0.58 ^c
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	40±00 ^a	50±00 ^b	≤39	11±1.41 ^c	19±1.41 ^d	≤1250	27±1.0 ^d	26±1.00 ^d	21.6±0.58 ^d
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	19.33±2.31 ^a	23.33±2.89 ^a	≤312	20±0.00 ^a	25±5.00 ^a	≤39	20±0.00 ^a	25.33±0.58 ^a	26.66±0.58 ^a
Levures							AMB⁵ (20 µg)		NYS⁵ (20.59 µg)
<i>Candida albicans</i> ATCC444	7.66±1.15 ^a	8.33±2.30 ^a	-	7.33±0.0 ^a	7.66±0.0 ^a	-	7.00 ^a	-	7.00 ^a
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	21.66±2.89 ^a	36.66±2.89 ^b	≤625	15.66±0.58 ^c	17.33±0.58 ^c	≤2500	26.00±6.56 ^d	-	25.00±1 ^e

¹ DZI: Diamètre de la zone d'inhibition en mm incluant le disque de diamètre (6 mm); ² CMI: Concentration Minimale d'Inhibition exprimée en µg/mL; ³ -: Pas de zone d'inhibition; ⁴ I.C: Inhibition complète; ⁵ Antibiotiques: C: Chloramphénicol; E: Erythromycine; S: Streptomycine; AMB: Amphotéricine B; NYS: Nystatine. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n=3); Les valeurs notées sur la même ligne avec différentes lettres en minuscule (a-e) sont significativement différentes à $p < 0.05$ selon le test Duncan; ATCC: American Type Culture Collection.

IV-2-2 Activité antioxydante

Actuellement, une grande diversité des méthodes analytiques est disponible pour la détermination du potentiel antioxydant des extraits de plantes. Dans cette étude, le potentiel des HEs est évalué par deux méthodes: le test de réduction du radical libre DPPH et le test de réduction du Fer (FRAP).

IV-2-2-1 Piégeage du radical libre stable DPPH

Une solution éthanolique de DPPH(2-2-diphényl-1-picrylhydrazyle) présente une coloration violette sombre, en présence d'un antioxydant. La forme réduite de DPPH-H confère à la solution une coloration jaune, ce qui exprime la diminution de l'absorbance (Haj-Hamdoet al., 2014). Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui libère un hydrogène. Quand l'antioxydant atteint une certaine concentration, il va réagir complètement avec le radical. La forme non radicalaire DPPH-H est formée. Ceci s'explique par une saturation des couches électroniques du radical. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition et par la valeur IC_{50} .

Tableau 15: Les valeurs IC_{50} de l'activité anti-oxydante par DPPH des HEs et du témoin positif.

	<i>P. incisa</i>	<i>A. graveolens</i>	<i>A. javanica</i>	BHT
IC_{50} (mg/mL)	3.37±0.12	25.33±4.36	23.29±0.50	0.21±0.018

a- *P. incisa*

Les résultats montrent un pouvoir antioxydant important de l'HE de cette espèce. En termes de concentration, l'étude statistique démontre, que *P. incisa* à 10mg/mL, possède le pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport aux autres espèces. En effet, il atteint 83.83±1.02% à cette concentration, alors qu'il n'est qu'à 32±1.02% à la concentration 2mg/mL. Les résultats sont indiqués sur la figure 20.

La littérature révèle que, le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit de l'acide ascorbique (AA), soit de l'HE de *P. arabica*. Dans ce cas précis, le pourcentage d'inhibition du radical libre de l'huile est très faible voire presque nul par rapport à l'AA pour toutes les concentrations utilisées. La faible activité antioxydante de l'huile de *P. arabica* s'explique par son profil chimique pauvre en composés phénoliques (Djermane et al., 2016). Les capacités de piégeage à 50% du radical DPPH (IC_{50}) de l'HE de *P. incisa* et de la référence BHT enregistrées sont 3.37±0.12mg/mL et 0.21±0.018mg/mL, respectivement. La comparaison des

valeurs n'est pas prise en grande considération car les concentrations utilisées du BHT sont quatre fois moins importantes que la concentration minimale de l'échantillon.

Dans les travaux de Al-Fatimi (2015), l'HE de *P.jaubertii* montre une activité antioxydante modérée par rapport à l'AA. L'auteur rapporte que des monoterpènes oxygénés comme la carvotanacétone et le bornéol sont à l'origine du potentiel antioxydant de l'huile. D'autre part, Hussein et al. (2017) montrent que les HEs de deux écotypes de *P.jaubertii* du Yémen sont actives comparées à l'AA à des concentrations variant entre 10 à 100 µg/mL. Ces résultats sont corrélés à la présence considérable de la cétone terpénique, la carvotanacétone. Dans l'HE de *P. incisa*, ce composé est présent en quantité minoritaire (0.6%). Le potentiel antioxydant de cette huile s'explique par la présence des composés majoritaires et minoritaires et la synergie entre eux.

En Iran, Shariatifaret al. (2014) montrent que les HEs de *P.gnaphalodes* présentent une faible capacité de piégeage de DPPH ($IC_{50}=147\pm1.50\mu\text{g/mL}$), comparée à celle du témoin synthétique BHT ($IC_{50}=4.9\pm0.25\mu\text{g/mL}$) pour des concentrations allant de 200 à 800 ppm. Il est à noter qu'une différence remarquable est obtenue pour IC_{50} du BHT dans l'étude Shariatifaret al. (2014) et la présente étude. D'autres travaux de la littérature révèlent que l'HE de *P.inuloides* présente une activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition de $90.77\pm0.21\%$. Ces résultats n'ont pas été comparés avec un témoin positif (Al-Hajj et al., 2014). Ces différences s'expliquent par l'origine géographique de l'espèce, son cycle végétatif, le climat et la saison de sa récolte ainsi que les méthodes d'extraction employées.

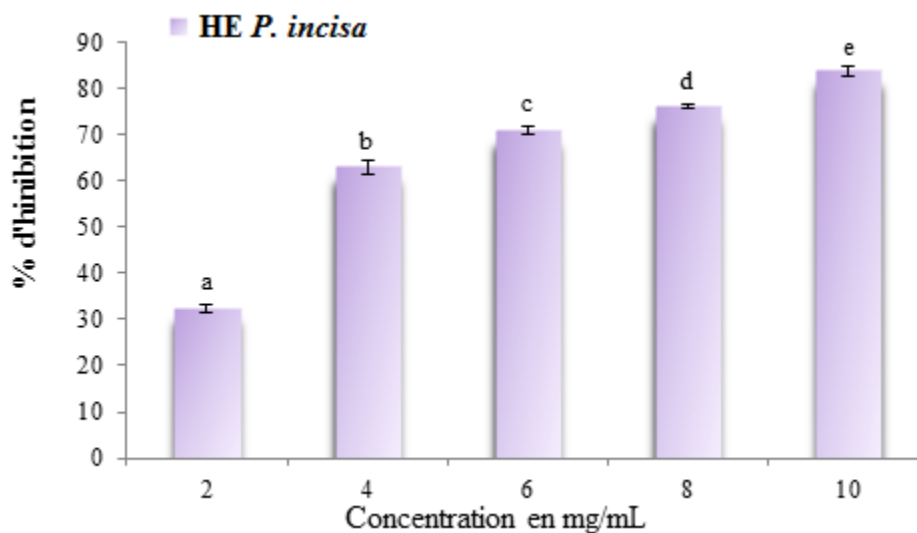


Figure 20: % d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de *P. incisa*.

b-A.graveolens

Les résultats de l'activité antioxydante de l'HE d'*A. graveolens* montrent de faibles pourcentages d'inhibitions. Ils varient entre $9.73 \pm 3.52\%$ et $30 \pm 3.65\%$ pour les concentrations 5 mg/mL et 15 mg/mL, respectivement (Figure 21). Aux concentrations 13 et 15 mg/mL, les pourcentages d'inhibition sont presque identiques. Ces dernières sont significatives comparées aux autres concentrations.

Une seule étude sur l'activité antioxydante des HEs d'*A. graveolens* ssp. *odoruse* est effectuée par Alilouet al. (2014). Elle montre que le pourcentage d'inhibition de DPPH augmente en fonction de l'augmentation de concentration de l'HE ou BHT. Cette étude révèle que le pourcentage d'inhibition de l'huile est légèrement inférieur à celui du BHT aux concentrations utilisées. Les valeurs des IC_{50} sont de 0.248 mg/mL et de 0.1714 mg/mL, respectivement pour l'huile et le BHT. Cette activité est due aux composés majoritaires, le 6-oxocyclonérolidol et l'épi- α -cadinol, seuls ou avec d'autres composés minoritaires qui pourraient agir en synergie.

Dans le cas de cette étude, l'HE de l'*A. graveolens* ($IC_{50} = 25.33 \pm 4.36$ mg/mL) ne montre pas un potentiel antioxydant important comparé à celui du BHT ($IC_{50} = 0.21 \pm 0.018$ mg/mL) pris comme référence. Contrairement au résultat obtenu avec l'huile, les extraits polyphénoliques, de la même espèce récoltée à Tamanrasset, montrent des activités importantes ($IC_{50} = 26.97 \pm 1.04$ μ g/mL), celle du BHT étant égale à $IC_{50} = 90.57 \pm 2.12$ μ g/mL (Hadouchiet al., 2016). Une autre étude réalisée par Ramdane et al. (2017) portant sur les extraits organique et aqueux de l'espèce *A. graveolens* du Hoggar montre que la fraction butanolique (*n*-Bu-OH) a une activité antioxydante considérable ($IC_{50} = 32.30 \pm 0.59$ μ g/mL) par rapport à la fraction aqueuse et aux autres fractions organiques. Elle reste, cependant, moins importante par rapport au témoin, l'AA dont le IC_{50} est estimé à 5.86 ± 0.02 μ g/mL.

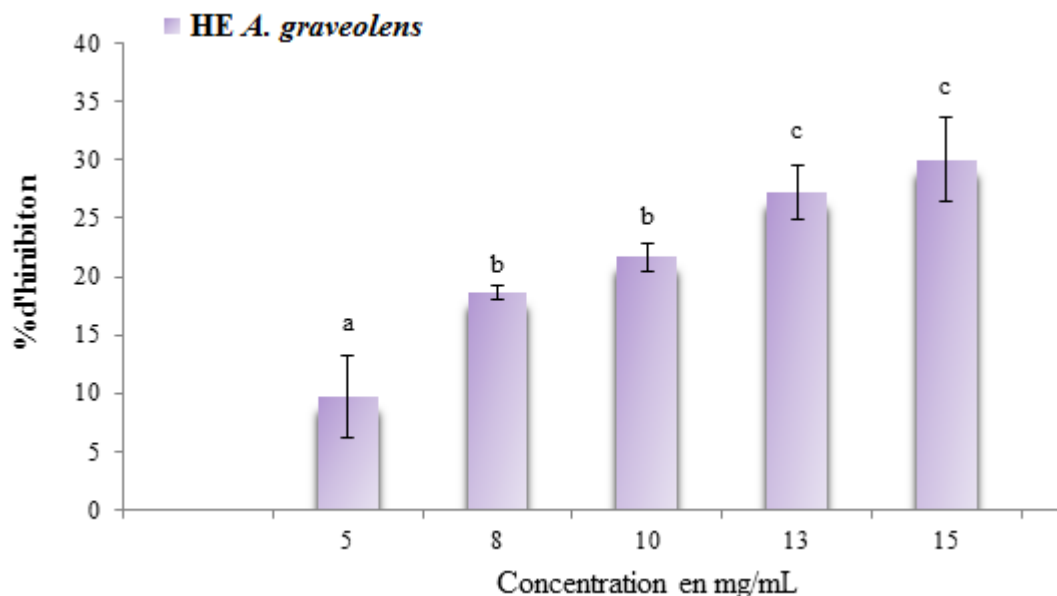


Figure 21: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE d'*A. graveolens*.

c-A.javanica

Pour l'huile d'*A.javanica*, les résultats montrent une faible activité inhibitrice du radical DPPH. Plusieurs travaux ont, essentiellement, porté sur les activités biologiques des extraits aqueux et organiques du genre *Aerva*. Le potentiel antioxydant de l'extrait aqueux de la tige l'*A.lanata* est testé par piégeage du radical DPPH. L'extrait montre une forte activité antioxydante. Le changement de la concentration affecte le degré de cette activité au cours de l'expérience; la valeur $IC_{50}=110.74\mu g/mL$ pour des concentrations allant de 10 à $100\mu g/mL$ (Gaurav et al., 2013). D'autre part, l'extrait éthanolique et sa fraction chloroformique et hexanique, des feuilles de la même espèce, présentent une activité anti-radicalaire aussi dépendante de la concentration. En effet, les valeurs IC_{50} sont de $168.13\mu g/mL$, $293.13\mu g/mL$ et $525.46\mu g/mL$, respectivement pour l'extrait éthanolique et ses fractions chloroformique et hexanique de l'*A. lanata*. La valeur moyenne d' IC_{50} de l'AA est de $74.58\mu g/mL$ (Battu et al., 2012). De plus, l'extrait méthanolique des fleurs d'*A.lanata* est comparé aux extraits d'acétate d'éthyle et de l'hexane. Les résultats montrent une bonne activité antiradicalaire estimée à $IC_{50}=187.51\mu g/mL$, donnant à cet extrait la plus haute activité (Abdulmutalib et al., 2017).

L'extrait méthanolique d'*A.javanica* n'a pas montré une bonne activité inhibitrice, comparé aux extraits des autres espèces étudiées du Yémen. Dans ce cas, les pourcentages d'inhibition sont de 26.4% et 92.62% pour les concentrations respectives $100\mu g/mL$ et $1000\mu g/mL$. Ces résultats révèlent que cette activité antioxydante n'est pas considérable en comparaison avec les autres écotypes.

étudiés aux mêmes concentrations (Al-Fatimiet al., 2007). À la dose de 500mg/mL, les activités antioxydantes par DPPH des extraits hydroalcooliques des parties aériennes d'*A. javanica* de l'Arabie Saoudite sont comparables à celui du témoin positif, l'AA (Arbab et al., 2016).

À l'heure actuelle, l'activité de l'HE d'*A. javanica* a fait l'objet d'aucune étude. À la concentration 10mg/mL, le pourcentage d'inhibition est 24.13%. Ce pourcentage est insignifiant statistiquement, il est resté presque constant jusqu'à la concentration de 4mg/mL. À la concentration 2mg/mL, le pourcentage est significativement différent comparé aux autres concentrations, sa valeur est de 10.02% (Figure 22). Les IC_{50} de l'huile d'*A. javanica* et de BHT sont 23.29 ± 0.50 mg/mL et 0.21 ± 0.018 mg/mL, respectivement.

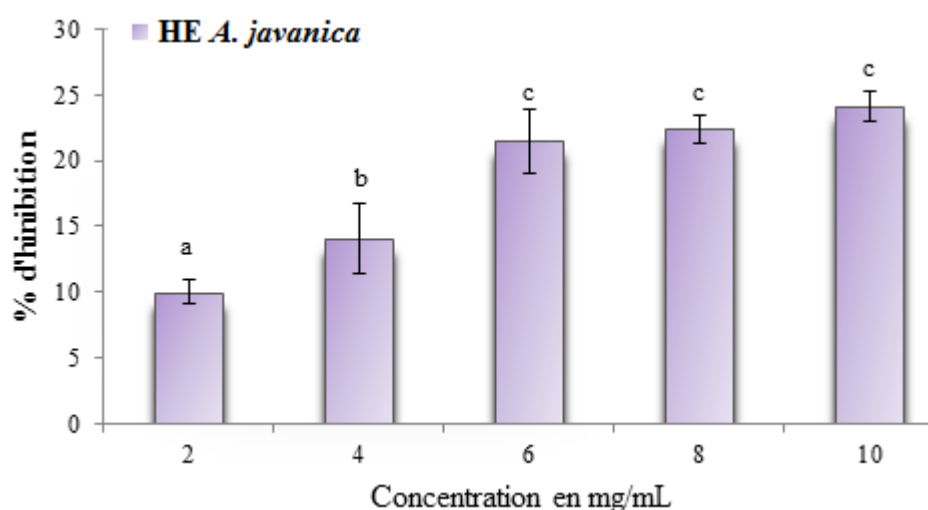


Figure 22: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE d'*A. javanica*.

IV-2-2-2 Test de FRAP

Le test de FRAP permet de mesurer le potentiel antioxydant. Il est basé sur l'effet des antioxydants sur la réaction de transfert d'électron sens unique. À l'origine, ce test est développé par Benzi et Strain (1996) pour mesurer le pouvoir réducteur du plasma. Il est basé sur la capacité des antioxydants à réduire le complexe ferrique de 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (Fe^{3+} TPTZ) au complexe ferreux coloré Fe^{2+} TPTZ à pH 3.6. Le complexe coloré est formé en ajoutant du $FeCl_3$. La réduction peut être déterminée en mesurant la formation du bleu de Prusse. L'interprétation des résultats est basée sur l'hypothèse que la capacité des antioxydants, solubles dans l'eau, à réduire les ions ferriques, reflète leur capacité à réduire les ROS (espèces réactives de l'oxygène). Les avantages de ce test sont la simplicité, la rapidité et un prix peu coûteux ne nécessitant pas d'équipement spécialisé.

(Badarinath et al., 2010). Son inconvénient, c'est qu'il ne prend pas en considération quelques antioxydants importants en particulier ceux des groupes SH tels que les thiols, le glutathion et l'albumine et les protéines (Badarinath et al., 2010 ; Pinchuk et al., 2012).

a-P. incisa

Les résultats montrent que la capacité de réduction du Fe^{2+} est proportionnelle à la concentration de l'extrait (Figure 23). Des valeurs faibles d'absorbance sont obtenues pour *P. incisa*. A 5000 $\mu\text{g/mL}$, l'absorbance est de 0.48. L'HE de *P. incisa* montre une faible activité antioxydante par comparaison aux témoins positifs.

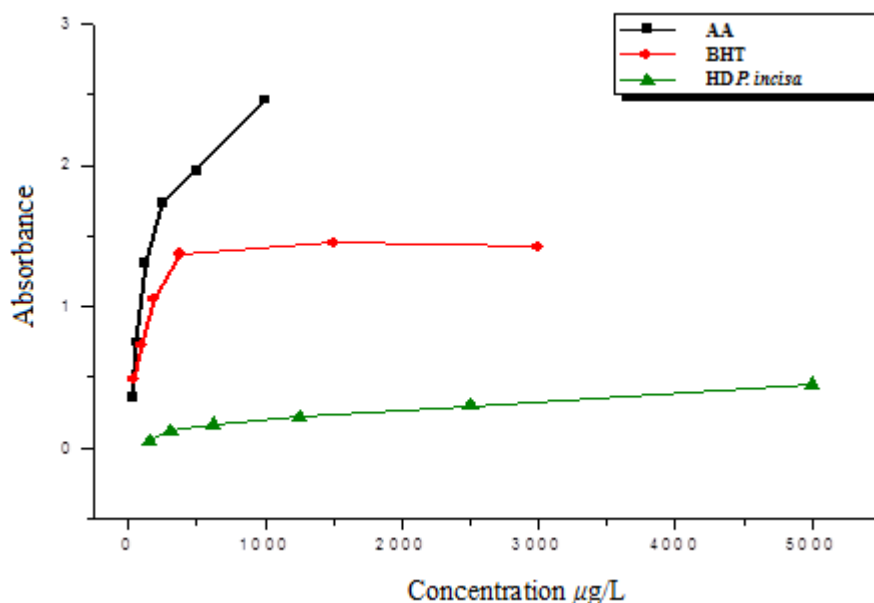


Figure 23: Absorbances en fonction des concentrations de l'HE de *P. incisa*, de l'AA et du BHT.

b-A. graveolens

Le test de FRAP révèle une grande différence entre le potentiel antioxydant de l'HE d'*A. graveolens* et celui des témoins positifs (BHT et AA). Une augmentation de l'absorbance indique une augmentation de la capacité de réduction. Elle atteint 0.48 à la concentration 5 mg/mL, valeur identique à celle obtenue pour *P. incisa* (Figure 24). La littérature souligne une activité plus intéressante de l'extrait méthanolique d'*A. graveolens*, comparée à celle du BHT pris comme référence (Hadouche et al., 2016).

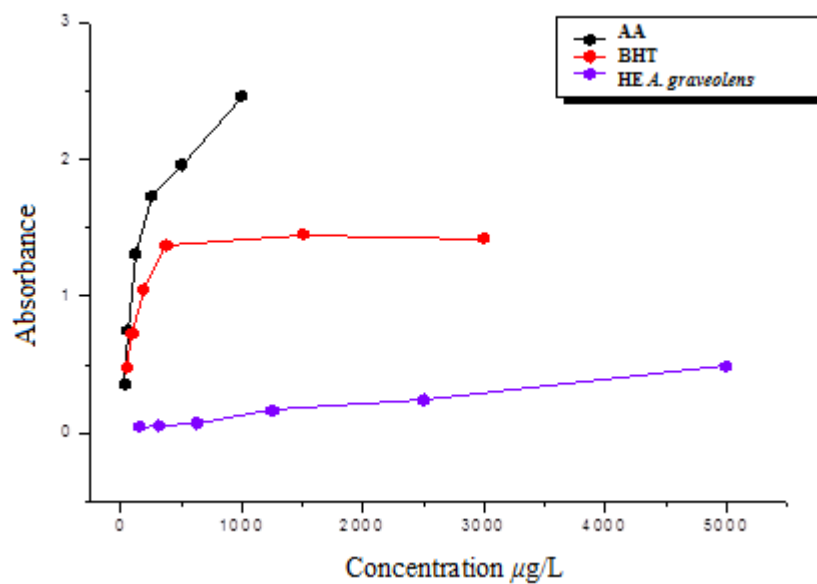


Figure 24: Absorbances en fonction des concentrations de l'HE d'*A. graveolens*, de l'AA et du BHT.

c- A.javanica

La figure 25 montre que le pouvoir réducteur du fer dépend de la dose de l'HE d'*A.javanica*. L'huile d'*A.javanica* présente un bon potentiel réducteur aux concentrations allant de 1250 à 5000 µg/mL. En effet, ce pouvoir passe aux concentrations considérées de 0.11 (1250 µg/mL) à 0.72 (5000 µg/mL). A ces concentrations, l'huile montre une capacité à réduire les ions Fe^{3+} . Toutefois, cette capacité de réduction reste moins importante que celle du BHA et l'AA. Aussi, il est à noter que les absorbances correspondantes aux différentes concentrations de l'huile d'*A. javanica* sont plus importantes que celles obtenues avec les huiles précédentes.

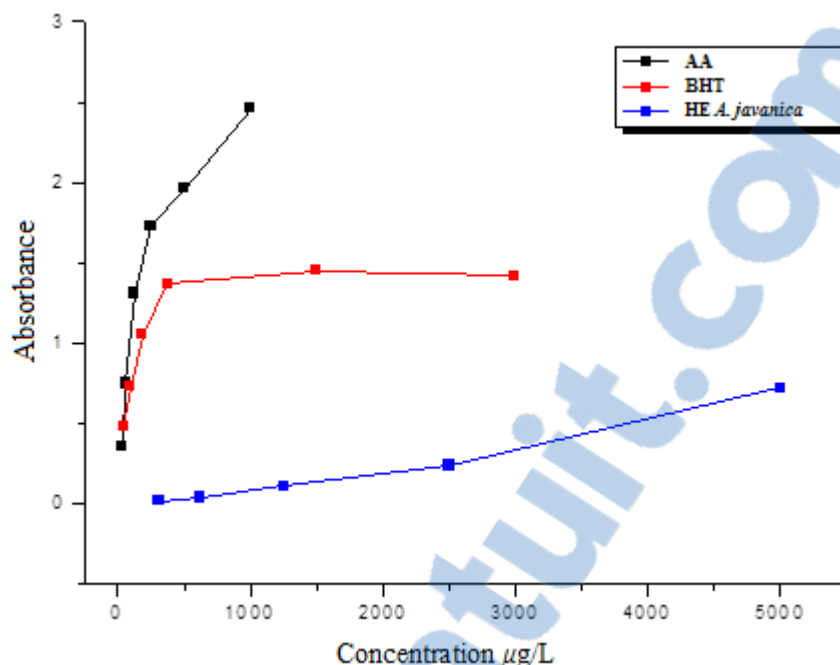


Figure 25: Absorbance en fonction des concentrations de l'HE d'*A. javanica*, de l'AA et du BHT.

IV-2-3 Activités enzymatiques

IV-2-3-1 Activité inhibitrice d'acétylcholinestérase (AChE)

L'AChE est une enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine (ACh). Cette substance est un neurotransmetteur contenu dans les vésicules synaptiques et transmet l'information d'un neurone à un autre (Penpanet al., 2007). L'activité enzymatique est déterminée par la couleur jaune formée après réaction de la thiocholine avec l'ion dithiobisnitrobenzoate (Ellman et al., 1961). La couleur jaune indique la capacité de l'échantillon testé à devenir un inhibiteur de l'acétylcholinestérase.

L'activité inhibitrice de l'AChE des HEs des parties aériennes des espèces étudiées n'a fait l'objet d'aucune étude auparavant. Les résultats sont exprimés en pourcentage représentés par des histogrammes et en IC_{50} mentionnées dans le tableau 16 ci-dessous :

Tableau 16: Les valeurs IC_{50} de l'activité AChE des HEs et du témoin positif.

	<i>P. incisa</i>	<i>A. graveolens</i>	<i>A. javanica</i>	Tacrine
IC_{50} (µg/mL)	818±106	3437.94±100	4290.55±216	18 10^{-3}

a-P. incisa

La mesure de l'activité inhibitrice de l'HE de *P. incisa* révèle une inhibition atteignant $56.45 \pm 5.33\%$ à la concentration $1000 \mu\text{g/mL}$. Cette inhibition est seulement de $20.27 \pm 0.56\%$ à la concentration $31.25 \mu\text{g/mL}$ (Figure 26). Une étude antérieure réalisée par Ali et al. (2012) portant sur l'HE de l'espèce *P. stephanocarpade* Socotra (Yémen) révèle une activité inhibitrice d'AChE de 47% à la concentration $200 \mu\text{g/mL}$, en utilisant la méthode d'Ellman. La capacité de l'échantillon à inhiber l'enzyme AChE est dépendante de la concentration des échantillons (Philip et al., 2015). L'étude statistique montre une différence significative à la concentration $1000 \mu\text{g/mL}$ et aux autres concentrations. Aux concentrations 125, 62.25, $31.5 \mu\text{g/mL}$, les résultats sont statistiquement identiques avec des pouvoirs inhibiteurs similaires.

La littérature mentionne que l'huile des tiges de *Crassocephalum cepidioides*, une Asteraceae poussant au Niger, est considérée comme le plus puissant inhibiteur d'AChE avec une capacité d'inhibition d'environ 80%, similaire à celle de la galantamine (inhibiteur de référence). Cette activité est due à la richesse de cette huile en thymol (43.93%) (Owokotomo et al., 2015). D'autres monoterpènes tels que 1,8-cinéole, camphre, β -pinène, bornéol, linalol, menthone, carvone, anéol, anisole sont connus pour leur activité anti-cholinestérasique (Savelevet et al., 2004; Picollo et al., 2008). Aucun de ces monoterpènes ne figure dans le profil chimique de *P. incisa*. Ce qui suggère que l'inhibition de l'huile de la *P. incisa*, à la concentration de $1000 \mu\text{g/mL}$, peut s'expliquer soit par la prépondérance de la chrysanténone soit par la synergie entre tous les composants bioactifs identifiés.

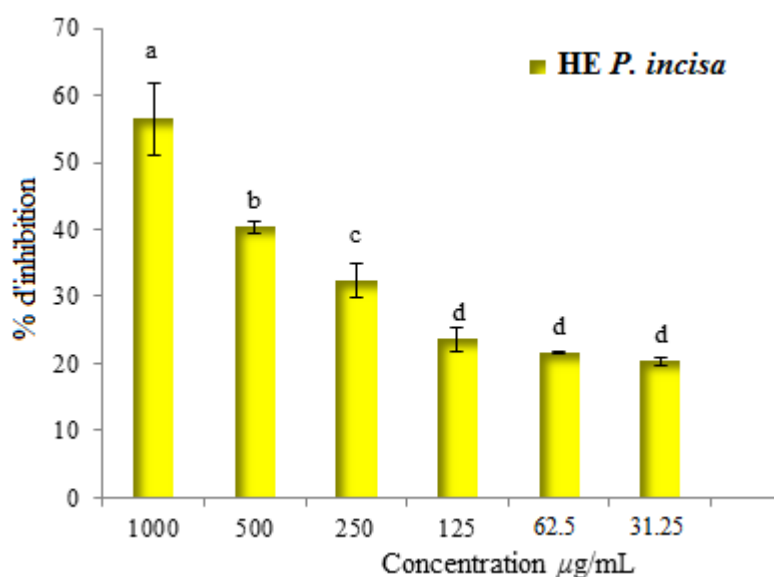


Figure 26: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE de *P. incisa*.

b-A.graveolens

Les tests réalisés révèlent qu'il n'y a pas une différence significative aux concentrations de l'HE d'*A.graveolens* utilisées. Les pourcentages d'inhibitions varient entre $28.88 \pm 4.14\%$ et $17.31 \pm 2.91\%$. Ils sont insignifiants comparés à la tacrine ($99 \pm 0.72\%$). Les mêmes tests réalisés avec l'huile des fleurs d'*A. maritimus* de Tunisie montre une $IC_{50} = 95 \pm 0.25 \mu\text{g/mL}$ (Figure 27). En revanche, des résultats plus intéressants sont obtenus avec les fractions volatiles des feuilles et des tiges avec des IC_{50} de $11 \pm 0.68 \mu\text{g/mL}$ et $13 \pm 0.75 \mu\text{g/mL}$, respectivement (Medimaghet al., 2012). Ces résultats sont de loin plus meilleurs que celui obtenu avec l'HE d'*A.graveolens*, dont la valeur IC_{50} enregistrée est de $2851.81 \mu\text{g/mL}$. Dans cette étude, l'inhibiteur de référence, la tacrine a une IC_{50} de $18 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/mL}$, valeur confirmant le faible pouvoir inhibiteur de l'huile étudiée.

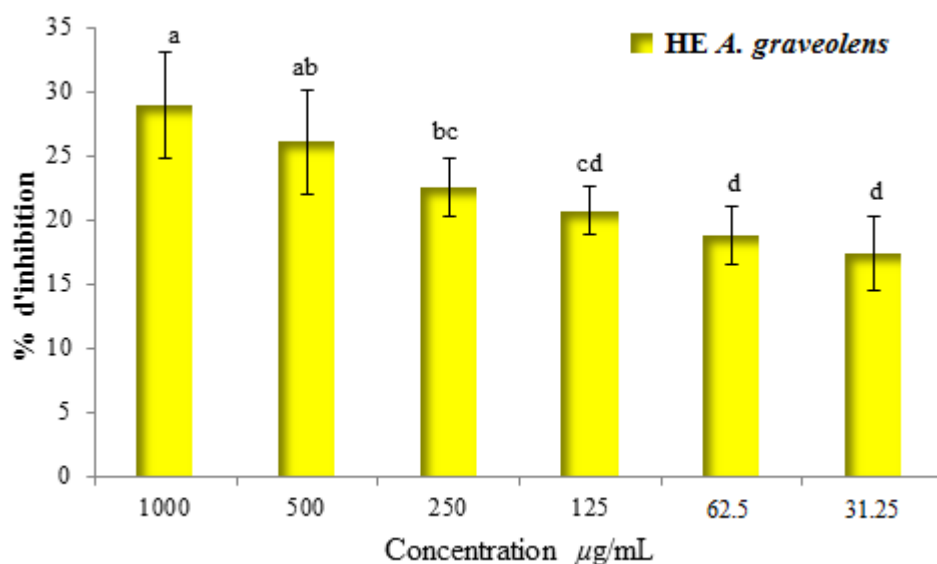


Figure 27: % d'inhibition en fonction des concentrations de l'HE d'*A. graveolens*.

c- A. javanica

L'HE d'*A. javanica* montre une activité inhibitrice de l'AChE très faible aux différentes concentrations. Une différence significative est notée aux concentrations prises avec des pourcentages d'inhibition de $16.94 \pm 6.62\%$ ($1000 \mu\text{g/mL}$) et $3.95 \pm 2.13\%$ ($31.25 \mu\text{g/mL}$) (Figure 28). Ces valeurs sont de loin comparables avec celle du témoin positif dont le pourcentage d'inhibition est de 99% à la concentration de $0.1 \mu\text{g/mL}$. La littérature mentionne que l'extrait méthanolique d'*A. javanica*, poussant au Pakistan, montre une action anti-cholinestérase faible ($IC_{50} = 275.2 \mu\text{g/mL}$) par rapport à la

galantamine utilisée comme contrôle positif ($IC_{50}=1.47 \mu\text{g/mL}$)(Murtaza et al., 2013). La purification chromatographique de la fraction soluble dans l'acétate d'éthyle de l'extrait méthanolique des fleurs d'*A. javanica* du Pakistan a permis la purification d'une nouvelle flavone glycoside possédant une bonne activité inhibitrice de l'AChE (Mussadiq et al., 2013).

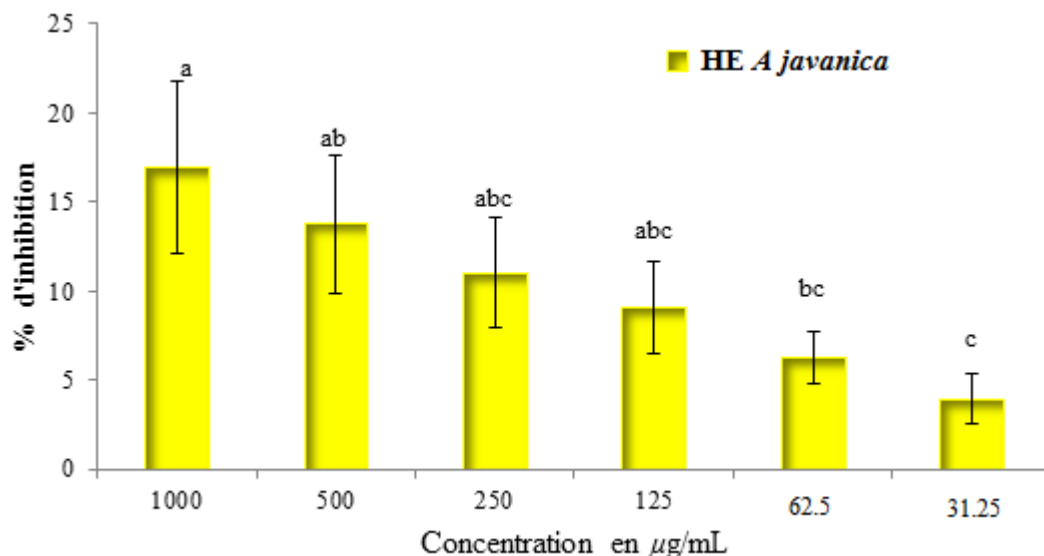


Figure 28: % d'inhibition de l'AChE en fonction des concentrations de l'HE d'*A. javanica*.

Malgré les multiples études portant sur l'emploi des HEs et plus spécialement les monoterpénoïdes comme inhibiteur de l'AChE, leur aspect et leur activité restent jusqu'ici inaperçus. Il est conseillé la prudence lors de l'utilisation des HEs comme agents anti-acétylcholinestérase pour atténuer la progression des maladies neurodégénératives (López et al., 2015).

IV-2-3-2 Activité inhibitrice de l' α -glucosidase

L'une des méthodes adoptées pour soigner le diabète sucré consiste à inhiber les enzymes digérant les hydrates de carbone. L'enzyme engagée lors de l'absorption du glucose gastro-intestinal est l' α -glucosidase. Elle permet par son action enzymatique d'abaisser le niveau de glucose postprandial (Kazeem, 2013). Les inhibiteurs de source naturelle de l' α -glucosidase sont préférables pour prévenir le traitement du diabète (Lee et al., 2014).

Dans cette étude l'évaluation de l'effet inhibiteur de l' α -glucosidase est réalisée selon la méthode développée par Kim et al. (2000) en utilisant *p*-nitrophényl-*p*-D-glucopyranosidase comme substrat et la quercétine comme contrôle positif. À notre connaissance, aucune activité inhibitrice de l' α -glucosidase n'a été rapportée sur les HEs des espèces étudiées, qui pourraient être une nouvelle source d'inhibiteurs pour le traitement du diabète sucré. Les résultats de l'évaluation de l'activité

inhibitrice de l' α -glucosidase, des extraits huileux des plantes sélectionnées, sont présentés dans le tableau 17.

Tableau 17: Les valeurs IC₅₀ de l'activité d' α -glucosidase des huiles et du témoin positif.

	<i>P. incisa</i>	<i>A. graveolens</i>	<i>A. javanica</i>	Quercétine
IC ₅₀ (μ g/mL)	218.32 \pm 4.91	200.97 \pm 6.85	930.23 \pm 26.47	64.47

a-P. incisa

Les résultats montrent une inhibition de l' α -glucosidase. Des différences significatives aux différentes concentrations de l'huile et la quercétine sont notées. Le pourcentage d'inhibition atteint 98.56 \pm 0.27% à la concentration 1000 μ g/mL. Il est presque similaire à celui de la quercétine à la concentration de 500 μ g/mL. A 250 μ g/mL, le pourcentage est 66.71 \pm 2.11%. Ce dernier est très faible à la concentration minimale 15.62 μ g/mL (Figure 29).

Des travaux antérieurs, *invitro*, montrent que l'HE des feuilles de la *P. inuloides* a une activité inhibitrice de l' α -glucosidase. À 250 μ g/mL, l'inhibition est maximale (86.52%). Cependant, elle n'est que de 33.89% à la concentration 50 μ g/mL, avec une valeur d'IC₅₀ de 128.33 \pm 0.12 (Qaidet al., 2016). Ces résultats soulignent l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase de l'HE de *P. incisa*.

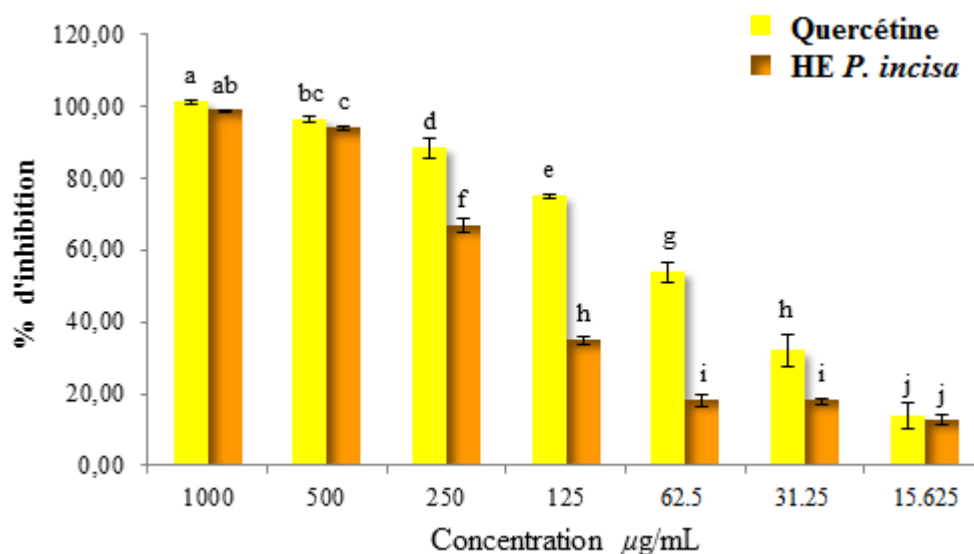


Figure 29: % d'inhibition de l' α -glucosidase en fonction des concentrations de l'HE de *P. incisa*

et de la quercétine.

b-Agraveolens

L'HE d'*A.graveolens* présente le potentiel inhibiteur de l' α -glucosidase le plus élevé comparé aux potentiels des huiles de *P. incisa* et *A. javanica*. Les concentrations sont significativement différentes ($p < 0.05$). Les pourcentages d'inhibition varient entre 97.86% et 40.50% aux concentrations 1000 $\mu\text{g/mL}$ et 125 $\mu\text{g/mL}$, respectivement. À la concentration 15.62 $\mu\text{g/mL}$, ce pourcentage atteint 12.22%. D'après les résultats illustrés sur la figure 30, il n'y a pas une différence significative entre l'HE d'*A. graveolens* et la quercétine aux concentrations 1000 et 500 $\mu\text{g/mL}$. Cette différence devient, par contre, très significative aux concentrations 125, 62.5 et 31.25 $\mu\text{g/mL}$. L'inhibition à 50% est estimée à $200.97 \pm 6.85 \mu\text{g/mL}$. Ces résultats montrent que la fraction volatile d'*A.graveolens* inhibe l'enzyme α -glucosidase de façon dose-dépendante. Un tel résultat confirme son usage traditionnel comme antidiabétique (Ramdane et al., 2015) et prédit son emploi dans un traitement efficace et la gestion de l'hyperglycémie post-prandiale.

Il est bien connu que les métabolites secondaires des plantes sont des alternatives potentielles aux inhibiteurs synthétiques de l' α -glucosidase (Abubakar et al., 2014). L'activité antidiabétique des HEs est liée aux composés majoritaires. Plusieurs travaux ont montré une activité antidiabétique du thymol et du carvacrol par des essais *in vitro* ou *in vivo*. L'activité antidiabétique du linalol, qui est le composé majoritaire de l'*Origanum vulgare*, est confirmée chez les rats rendus diabétiques (Sarikurkcu et al., 2015). Ces composés sont absents ou se trouvent en traces dans les huiles étudiées. Talpure et al. (2005) ont indiqué qu'une administration orale d'une combinaison d'HEs comme celles extraites de la cannelle, le cumin, le fenouil, l'origan et le myrte pouvait améliorer la sensibilité à l'insuline dans le diabète de type 2, en plus de réduire le glucose circulant. L'HE de *Satureja khuzestanica* entraîne une diminution significative de la glycémie à jeun chez les rats diabétiques (Abdollahi et al., 2003). Dans cette étude, la présence de composés tels que le *cis*-chrysanthényle (31.1%), l'acétate de myrtényle (15.1%) et le kessane (11.5%) dans l'huile d'*A. graveolens* peut expliquer l'effet inhibiteur de l' α -glucosidase.

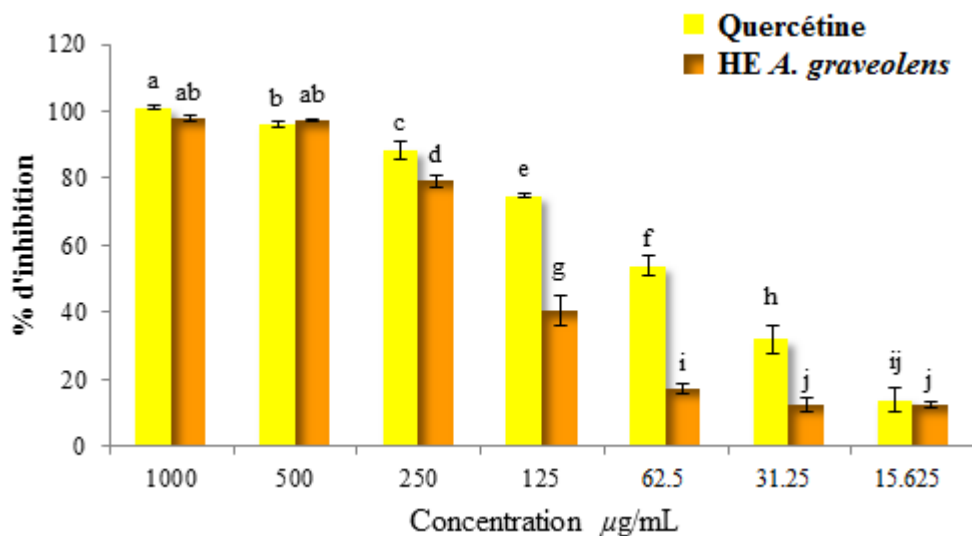


Figure 30: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE d'*A. graveolens* et de la quercétine.

c-A. javanica

La figure 31 montre que les pourcentages d'inhibition sont significativement différents aux concentrations considérées de l'huile d'*A. javanica* et de la quercétine. À la concentration 1000 µg/mL, l'huile montre une inhibition de l' α -glucosidase, contrairement aux autres concentrations qui donnent un effet inhibiteur faible. En effet, aucune différence significative n'est constatée à partir de 125 µg/mL jusqu'à la plus faible concentration 15.625 µg/mL. À l'opposé dans le cas de la quercétine, la différence est très visible et importante aux concentrations testées. À partir de tous ces résultats, il en ressort que l'HE d'*A. javanica* n'a pas d'effet inhibiteur de l' α -glucosidase.

Peu de travaux citent l'usage des HEs en tant qu'agents hypoglycémisants et les publications sur le sujet sont rares. Certaines HEs peuvent aggraver le diabète. C'est le cas, par exemple, de l'HE du romarin qui provoque une hyperglycémie liée aux effets inhibiteurs de la libération d'insuline chez les lapins rendus diabétiques. D'autres recherches sont nécessaires pour confirmer l'effet hypoglycémiant des huiles et élucider leur mécanisme d'action (Edris, 2007). D'autre part, plusieurs travaux soulignent l'effet antidiabétique des extraits aqueux et organique d'*A. javanica*.

En 2009, Reddy and Reddy ont testé les extraits éthanoliques des feuilles d'*A. javanica* sur des souris rendues diabétiques par l'alloxane. Il en ressort que les feuilles sont dotées d'une activité anti-hyperglycémique justifiant son usage en Inde. Au Soudan, une étude est réalisée sur des rats Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine. L'extrait éthanolique de la partie entière

d'*A.javanica* révèle un effet antidiabétique significatif (Abbas et al., 2015). Il est à noter aussi que l'extrait brut, de la partie aérienne d'*A.javanica* poussant au Pakistan, contient des composés antidiabétiques qui ont pour effet de régler l'hyperglycémie et le poids corporel des rats (Shadet al., 2017).

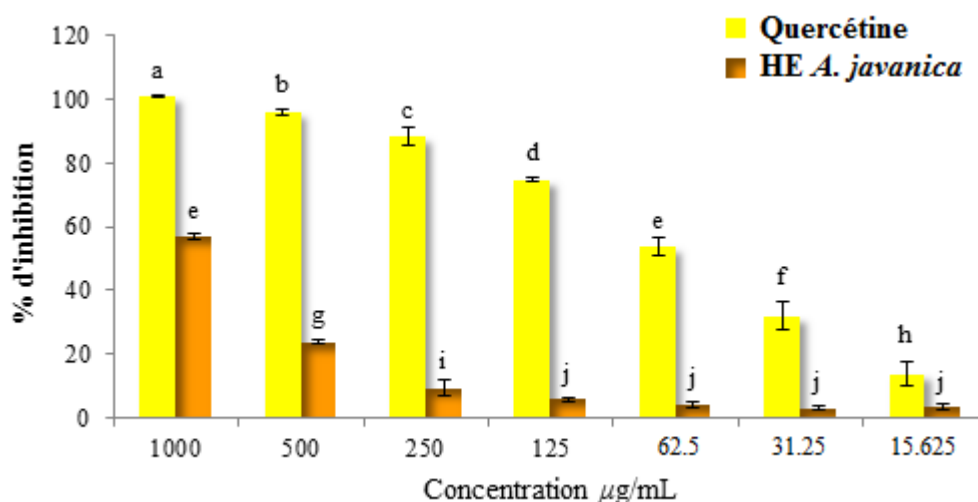


Figure 31: % d'inhibitions en fonction des concentrations de l'HE d'*A. javanica* et de la quercétine.

IV-2-4 Activité anti-inflammatoire

Si les HEs sont capables de piéger certains radicaux libres, elles peuvent également agir comme des agents anti-inflammatoires, car l'une des réponses inflammatoires est l'éclatement oxydatif qui se produit dans diverses cellules (monocytes, neutrophiles, éosinophiles et macrophages). Les radicaux sont communément appelés ROS. Néanmoins et au cours d'un processus inflammatoire, il y a aussi la génération d'autres radicaux libres appelés RNS (espèces réactives de l'azote). L'oxyde nitrique (NO) et l'anion peroxynitrite (ONOO⁻) sont deux exemples de ce type de radicaux. L'oxyde nitrique est produit en grande quantité par les synthases d'oxyde nitrique inductibles (iNOS) dans les macrophages activés et les neutrophiles au cours des réactions immunitaires et de défense. Cependant cette espèce réactive peut également exercer sa toxicité en générant l'anion peroxynitrite après réaction avec le radical anion superoxyde (Miguel, 2010). L'efficacité globale des HEs sur l'inhibition de nitrite active par IFN- γ /LPS est présentée dans le tableau 18.

Tableau 18: % d'inhibition du NO et de viabilité pour des HEs étudiées.

Huile Essentielle	Concentration	Inhibition NO (%)	Viabilité (%)
<i>P. incisa</i>	1000	59.77±5.32	131.00±8.70
	500	11.46±6.06	102.33±1.53
<i>A. graveolens</i>	1000	93.12±0.41	0.95±0.70
	500	98.69±0.12	1.13±0.41
	250	81.92±1.93	117.77±13.38
	125	56.28±12.08	116.78±3.22
	62.5	40.04±15.52	123.71±6.35
<i>A. javanica</i>	1000	96.11±0.93	111.67±9.94
	500	22.52±2.80	125.08±7.01

Les HEs des espèces étudiées sont examinées pour leurs effets inhibiteurs sur la libération de NO dans les cellules RAW 264.7. Chaque échantillon est dosé à une concentration allant de 31.25 à 1000 µg/mL. Tous les échantillons sont comparés au contrôle du macrophage activé par IFN-γ/LPS non traité dans les milieux de cultures. Les HEs sont considérées comme ayant des activités faibles à modérées. D'après les résultats mentionnés dans le tableau 18, il en ressort que l'huile d'*A. graveolens* présente le meilleur pourcentage d'inhibition de libération de NO, estimé à 98.69±0.12 à la concentration 500 µg/mL. A l'opposé, l'HE de *P. incisa* possède un faible pouvoir anti-inflammatoire même aux concentrations élevées. D'autre part, l'huile d'*A. javanica* qui n'a pas montré de bonnes activités biologiques jusqu'à maintenant révèle un bon pourcentage d'inhibition (96.11±0.93%) à la concentration 1000 µg/mL.

Des exemples de la littérature confirment les activités anti-inflammatoires de certaines HEs. C'est le cas de l'HE de la camomille qui a été utilisée, pendant des siècles, comme anti-inflammatoire et aussi pour soulager les symptômes associés à l'eczéma, la dermatite et autres irritations prononcées (Kamatou et Viljoen, 2010). L'huile d'*A. graveolens* présente un effet toxique aux concentrations élevées (500, 1000 µg/mL...). Aux concentrations élevées, le pourcentage de viabilité enregistré est compris entre 0.95±0.70 et 1.13±0.41%. Ces valeurs correspondent à la mort cellulaire. En effet, cette huile à forte concentration est contre indiquée à l'inflammation. En revanche, aux concentrations faibles, l'inhibition est importante et la viabilité est élevée. Ce qui en résulte qu'aux concentrations faibles, l'huile d'*A. graveolens* exhibe un effet anti-inflammatoire expressif. De

.....
plus, les huiles de *P.incisa* et d'*A.javanica* ne sont pas cytotoxiques aux concentrations testées dans les cultures déterminées par dosage au MTT. Cependant, elles ne présentent aucune inhibition aux faibles concentrations. Les valeurs enregistrées sont négatives.

IV-3 Activité anticorrosion

Actuellement, les recherches se concentrent sur l'utilisation des produits naturels à bases d'extraits de plantes aromatiques et médicinales. Leur utilisation en tant qu'inhibiteurs de corrosion est privilégiée en raison des objectifs économiques et environnementaux. Une enquête de la littérature montre que de nombreux travaux sont réalisés dans le but de tester les substances d'origine naturelle comme inhibiteurs de corrosion dans divers milieux (Mokhtari et al., 2014). La raison est que la corrosion provoque des accidents aux conséquences néfastes et contribue à la pollution de l'environnement. Dans la plupart des pays industrialisés, la charge annuelle occasionnée par la corrosion et ses conséquences est estimée à plusieurs milliards de dollars par an (Selles, 2012).

Dans le cadre de cette étude, une étude électrochimique de l'inhibition de la corrosion de l'acier, en milieu acide chlorhydrique 0.5 M par les huiles des plantes sélectionnées, est effectuée. Les tests de corrosion sont réalisés par trois méthodes: chronopotentiométrie, polarisation potentiodynamique et spectroscopie d'impédance électrochimique. Les courbes obtenues sont comparées à une courbe de référence obtenue sans inhibiteur. Les résultats ne sont représentatifs que pour l'HE de *P.incisa*, qui est testée à trois concentrations. Dans les cas des HEs d'*A. graveolens* et d'*A. javanica*, deux concentrations seulement sont testées.

IV-3-1 Chronopotentiométrie

La figure 32 présente l'évolution temporelle du potentiel d'abandon de l'acier en absence et en présence de différentes concentrations de l'extrait huileux de *P.incisa*. Les courbes d'évolution du potentiel d'abandon présentent toutes la même allure en l'absence et en présence de l'inhibiteur. Le potentiel diminue avec le temps d'immersion, ce qui traduit par la dissolution du métal dans le milieu corrosif, puis croît considérablement pour se stabiliser à partir de 30 min autour de -470 mV/ECS. Cette augmentation est due à la formation d'une couche protectrice des produits de corrosion du métal, combinée à l'action inhibitrice de l'inhibiteur utilisé. Un comportement similaire a également été observé dans le cas des HEs d'*A. graveolens* et d'*A. javanica*.

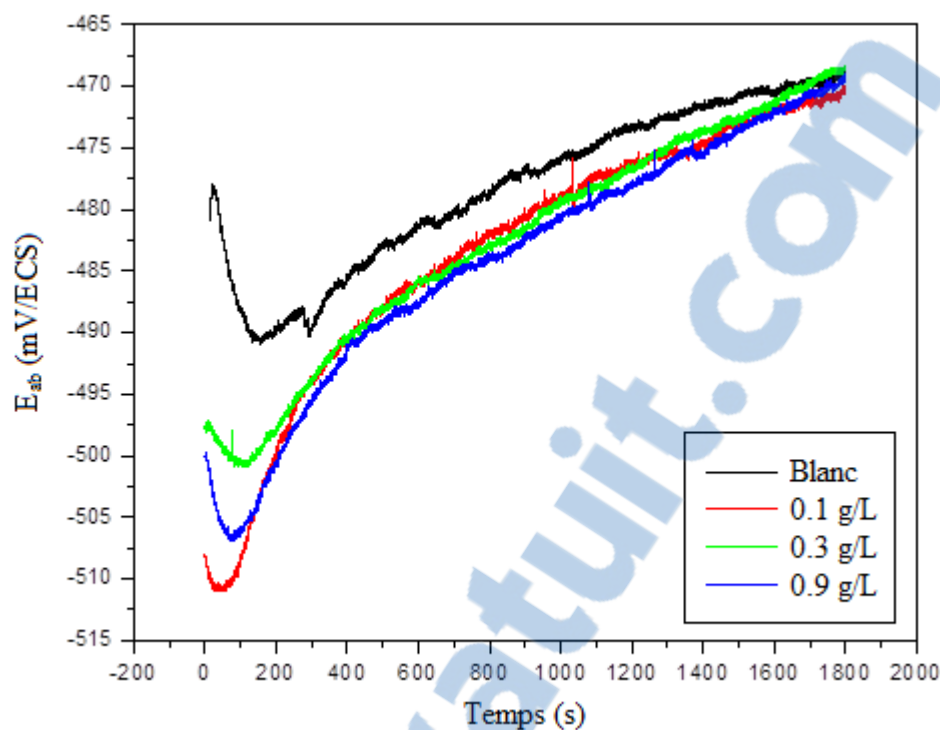


Figure 32: Évolution temporelle du potentiel d'abandon de l'acier en l'absence et en présence de l'HE de *P. incisa* à différentes concentrations et à $T = 25^{\circ}\text{C}$.

IV-3-2 Polarisation potentiodynamique

La figure 33 présente les courbes de polarisation cathodique et anodique de l'acier doux dans HCl 0.5 M en l'absence et en présence de l'HE de *P. incisa* à différentes concentrations. L'analyse de ces courbes montre que l'ajout de l'extrait huileux de *P. incisa* induit une diminution importante des deux courants partiels anodique et cathodique. Ces premières constatations confirment la formation effective d'une couche protectrice d'extrait de *P. incisa* à la surface de l'acier.

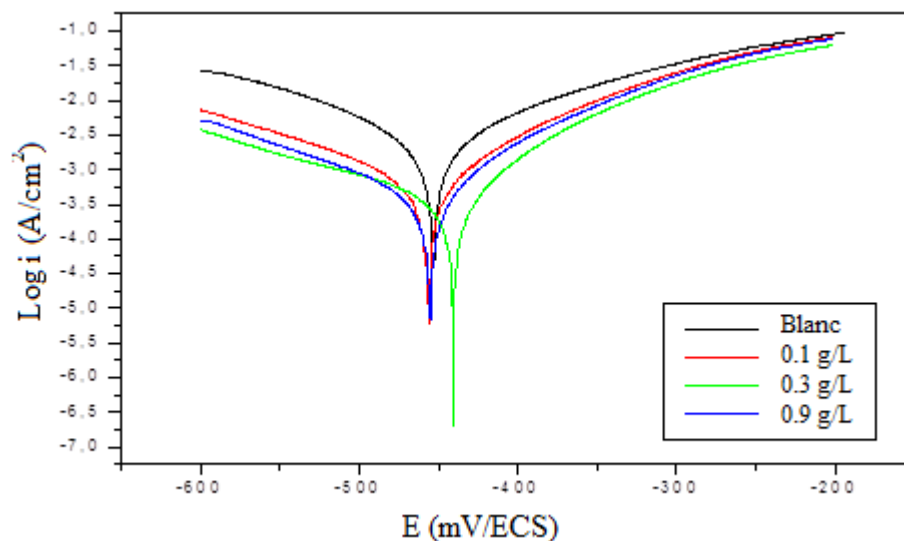


Figure 33: Courbes de polarisation de l'acier doux dans HCl 0.5 M en l'absence et en présence de l'HEde *P. incisa* à différentes concentrations et à $T = 25^{\circ}\text{C}$.

Le tableau 19 ci-dessous regroupe les valeurs des paramètres électrochimiques déterminées à partir des courbes de polarisation des fractions volatiles testées, à savoir la densité du courant de corrosion (i_{corr}), le potentiel de corrosion (E_{corr}), la pente de Tafel cathodique (b_c) ainsi que l'efficacité inhibitrice de corrosion.

Tableau 19: Efficacités inhibitrices et paramètres électrochimiques relatifs à la corrosion en milieu HCl 0.5 M de l'acier sans et avec addition des HEs de *P. incisa*, d'*A. graveolens* et d'*A. javanica* à différentes concentrations et à 25°C .

	C(g/L)	$-E_{\text{corr}}(\text{mV/ECS})$	$-b_c(\text{mV/dec})$	$i_{\text{corr}}(\mu\text{A/cm}^2)$	$P_{\text{icorr}}(\%)$
HCl	0	454	178	4452	—
<i>P. incisa</i>	0.1	457	145	699	84.3
	0.3	440	196	370	91.7
	0.9	456	129	411	90.8
<i>A. graveolens</i>	0.1	456	145	967	78.2
	0.3	441	166	437	90.2
<i>A. javanica</i>	0.1	462	148	1262	71.7
	0.3	440	120	1323	70.3

Il est à noter que les courbes de polarisation obtenues pour *A. graveolens* et *A. javanica* sont similaires à celle obtenue pour *P. incisa*. Les analyses des résultats mentionnés dans le tableau 19 et des courbes de polarisation permettent de constater qu'en présence des fractions volatiles des plantes :

- Les deux courants partiels anodique et cathodique sont diminués. Ces HE réduisent donc la dissolution anodique de l'acier et retardent l'évolution de la décharge cathodique des protons. Ces résultats confirment le caractère mixte des trois extraits.
- L'efficacité inhibitrice de *P. incisa* augmente avec la concentration et atteint un maximum de 91.7% à 0.3 g/L. Cette efficacité augmente dans le sens :

$$A. javanica < A. graveolens < P. incisa.$$

- Les pentes de Tafel sont légèrement modifiées. La réaction de réduction des protons à la surface de l'acier n'est donc pas modifiée par l'addition des HE et se fait selon un mécanisme d'activation pure. L'inhibiteur s'adsorbe d'abord sur la surface de l'acier avant d'agir par simple blocage de ses sites actifs.

IV-3-3 Spectroscopie d'impédance électrochimique

La figure 34 présente les diagrammes de Nyquist de l'acier dans HCl 0.5 M en l'absence et en présence de l'HE de *P. incisa* à différentes concentrations. Ces graphes sont constitués d'une boucle capacitive sous forme de demi-cercle qui indique que la réaction de corrosion est contrôlée par un processus de transfert de charges (Khaled et al., 2009). Un comportement similaire est également observé pour les huiles d'*A. graveolens* et d'*A. javanica*.

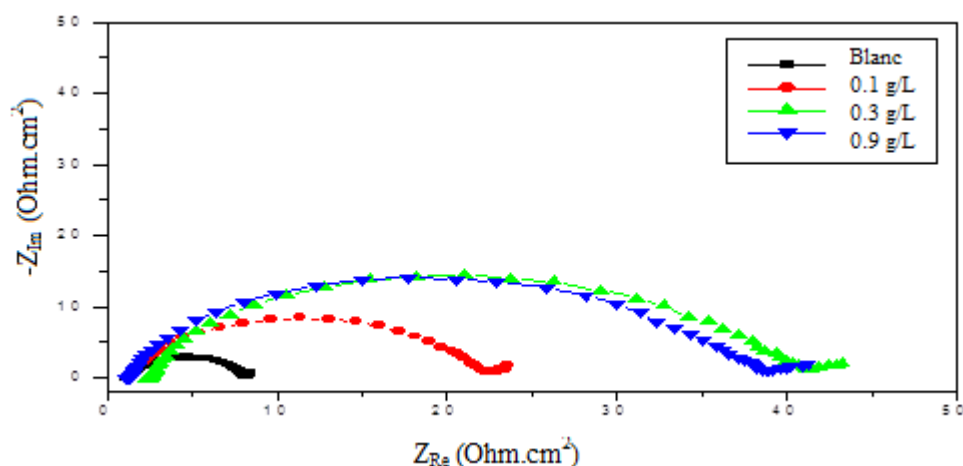


Figure 34: Spectres d'impédances de l'acier doux dans HCl 0.5 M en l'absence et en présence de l'HE de *P. incisa* à de différentes concentrations et à T = 25°C.

L'analyse de ces figures montre que l'ajout de l'HE de *P. incisa* entraîne une augmentation de la taille du spectre d'impédance. Le tableau 20 regroupe les valeurs des paramètres d'impédance correspondants à ces diagrammes.

Tableau 20: Efficacités inhibitrices et paramètres électrochimiques relatifs à la corrosion en milieu HCl 0.5 M de l'acier doux en l'absence et en présence de l'HE de *P. incisa* à différentes concentrations et à 25°C.

	C (g/L)	R_e ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	Q ($\mu\text{S}^n \Omega^{-1} \text{cm}^{-2}$)	n	R_t ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	C_{dc} ($\mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$)
HCl	0	1.27	356.2	0.87	6.9	145.1
<i>P. incisa</i>	0.1	1.36	165.5	0.86	21.0	65.8
	0.3	1.34	109.9	0.87	40.2	48.9
	0.9	1.31	120.8	0.87	36.7	53.8
<i>A. graveolens</i>	0.1	1.36	218.7	0.87	18.0	95.6
	0.3	1.32	183.5	0.86	27.4	77.5
<i>A. javanica</i>	0.1	1.41	179.4	0.87	13.8	73.2
	0.3	1.39	246.6	0.86	12.1	95.7

Ces paramètres sont déterminés par ajustement, à l'aide du logiciel Z-View (version 2.80, 2002, Scribner Associates, Inc.), des spectres d'impédance expérimentaux par rapport aux modèles obtenus par le circuit électrique équivalent de la figure 35 représenté ci-dessous:

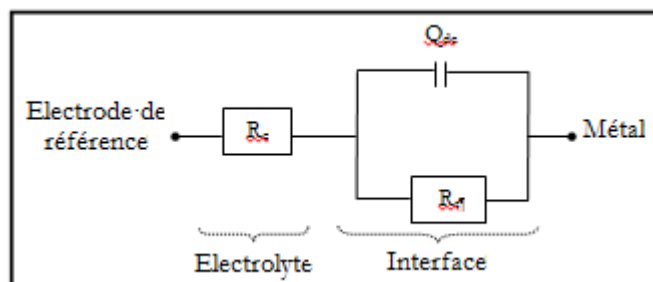


Figure 35: Circuit électrique équivalent de l'interface acier/milieu acide.

.....

L'impédance faradique est représentée par la résistance de transfert de charges (R_t) qui correspond aux réactions électrochimiques se déroulant à l'interface, et Q_{dc} est l'élément à phase constante (CPE) utilisé pour rendre compte de la dispersion de fréquences par l'intermédiaire du coefficient n (khaled et al, 2009).

L'impédance d'un tel élément est donnée par:

$$Z_{CPE} = \frac{1}{Q(j\omega)^n} \quad \text{avec :} \quad Q = \frac{(C_{dc}R_t)^n}{R_t},$$

Avec :

Q : Facteur de proportionnalité (constante réelle) ;

C_{dc} : Capacité de double couche ;

n : Coefficient compris entre 0 et 1 et représente une mesure des inhomogénéités de surface.

L'examen de ces résultats montre que l'ajout de l'HE de chaque plante étudiée entraîne une augmentation de la résistance de transfert de charge et une diminution de la capacité de double couche, ce qui confirme la formation d'une couche à la surface du métal le protégeant contre la corrosion. L'efficacité inhibitrice obtenue avec cette méthode atteint un maximum de 82.8% dans le cas du *P. incisa* à 0.3g/L. Elle augmente dans le sens suivant:

$$A.javanica < A.graveolens < P.incisa.$$

Ces résultats confirment ceux obtenus par la polarisation potentiodynamique, comme le montre la figure 36. En effet, cette dernière représente l'évolution du taux d'inhibition de la corrosion de l'acier en milieu HCl 0.5 M en fonction de la concentration de l'HE de *P. incisa*. Ces courbes sont obtenues par polarisation et par SIE.

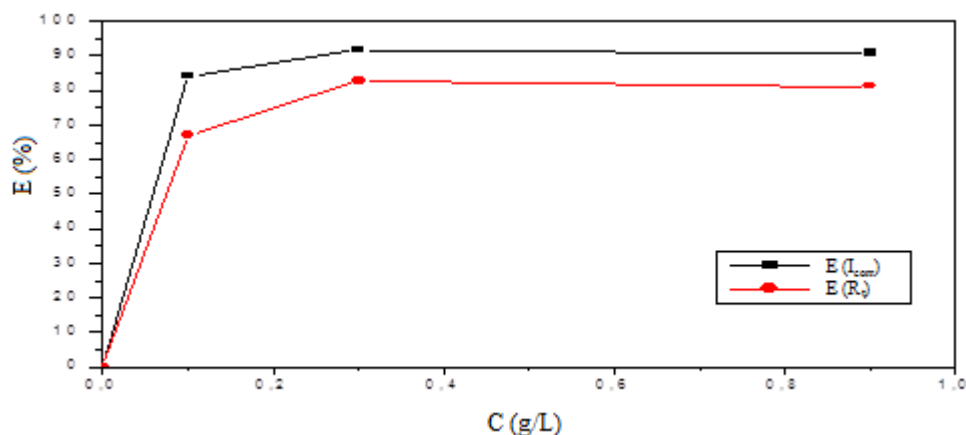


Figure 36: Évolution du taux d'inhibition de la corrosion de l'acier doux en milieu HCl 0.5 M en fonction de la concentration de l'extrait de *P. incisa* par polarisation potentiodynamique et SIE à $T = 25^{\circ}\text{C}$.

Une seule étude portant sur l'efficacité de la corrosion de l'HE d'*A. graveolens*, poussant au Maroc, est citée dans la littérature. Les auteurs montrent que l'HE de cette plante agit comme un bon inhibiteur de la corrosion de l'acier doux dans HCl 0.5M avec une efficacité d'inhibition estimée à 82.89% à la concentration 3g/L. Cette efficacité d'inhibition est peut être due à l'action du 6-oxocyclonérolidol et du 6-hydroxycyclonérolidol, composés majoritaires, d'après Znini et al. (2012). Ces composés sont, totalement, absents dans l'HE d'*A. graveolens* du Hoggar. Dans ce cas, le pourcentage d'inhibition atteint 74.8% à la concentration 0.3g/L qui est du probablement au profil chimique de cette plante et plus précisément à sa richesse en terpénoïdes oxygénés.

PARTIE V:
MATÉRIELS & MÉTHODES

PARTIE V: Matériels & Méthodes

A) Étude Ethnobotanique de Quelques PAM du Hoggar (Part. I)

V-1 Matériel végétal

Le matériel étudié est représenté par des feuilles, des tiges ou des parties aériennes de 15 plantes prélevées dans la région du Hoggar (Tableau 1). Ces plantes sont récoltées et identifiées par Mme Sahki Rabia de l'INRF (Institut National de Recherche Forestière) en mai 2009 et février 2010 où des spécimens sont mis en herbier (Sahki et al., 2004). Les plantes sont séchées à l'air libre et à l'obscurité ou à l'étuve à 50°C pendant 24 h puis broyées sous forme de poudre.

V-2 Extraction

L'extraction sous reflux consiste à mettre 10 g de poudre végétale dans 100 mL d'eau distillée. L'opération est répétée trois fois pendant une demi-heure. Après filtration, les trois extraits sont recueillis et constituent l'extrait aqueux qui est, ensuite, lyophilisé puis conservé à une température de - 4°C jusqu'à son utilisation.

V-3 Préparation des solutions

La poudre lyophilisée est pesée puis dissoute dans le méthanol afin d'avoir des solutions méthanoliques d'une même concentration de 5 mg/mL pour tous les échantillons.

V-3-1 Tests phytochimiques par CCM

Les groupes phytochimiques sont recherchés selon, la méthode décrite par Wagner et Bladt (1996). Les analyses chromatographiques sont effectuées sur des plaques de CCM gel de silice F₂₅₄ (Merck). Plusieurs systèmes sont utilisés. Les chromatogrammes sont observés sous U.V à 254 et à 365 nm et au visible. Après révélation, le criblage phytochimique montre la présence des flavonoïdes, les saponines, les terpénoïdes, les glycosides cardiotoniques, les sesquiterpènes lactones, les quinones et les lignanes.

V-3-2 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols est estimée selon la méthode Follin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965). 100 µL d'extrait sont ajoutés à 500 µL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10). Le mélange est vortexé et laissé à l'obscurité pendant 5 minutes et à température ambiante. Ensuite 1.5 mL de carbonate de sodium saturé (2%) sont additionnés sous agitation. Après incubation à l'obscurité pendant une heure, la lecture de l'absorbance se fait à 765 nm.

V-3-3 Dosage des flavonoïdes

L'analyse quantitative des flavonoïdes est réalisée par dosage spectrophotométrique selon la méthode décrite par Kim et al. (2003). 500 μL de chaque extrait méthanolique (ou solution de catéchine pour la courbe d'étalonnage) sont mis dans des tubes à essais. 1500 μL d'eau distillée puis 150 μL de nitrite de sodium (NaNO_2 , 5% (m/v)) sont, ensuite, ajoutés. Après 5 minutes, 150 μL de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10% (m/v)) sont additionnés. 11 minutes après, 500 μL de NaOH 1M sont ajoutés. Les solutions sont mélangées au vortex puis les absorbances sont lues au spectrophotomètre à 510 nm.

V-3-4 Dosage des tanins

A 100 μL d'extrait, 600 μL de vanilline 4% dans du méthanol absolu et 300 μL de HCl concentré sont ajoutés (Burns, 1971). La réaction se déroule en incubant l'échantillon à 30°C dans un bain-marie pendant 20 minutes. Les tubes à essai doivent être maintenus à l'abri de la lumière. L'absorbance est lue à 500 nm contre un témoin où la solution de vanilline est remplacée par du méthanol.

V-4 Activités biologiques

V-4-1 Evaluation de l'activité anti-radicalaire par bioautographie (CCM)

L'activité sur les radicaux libres est évaluée par l'utilisation du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) selon Domínguez et al. (2005). Le test antioxydant est effectué par chromatographie sur couche mince (CCM). 100 μg d'extrait sont déposés sur les plaques de silice F_{254} . Les chromatogrammes sont développés dans un mélange de plusieurs solvants. Après séparation et séchage, les plaques sont pulvérisées avec une solution de DPPH à 0.2% dans le méthanol.

V-4-2 Test DPPH par dosage spectrophotométrique

Le dosage par la méthode de Blois (1958) modifiée par Rached et al. (2010) concerne uniquement les extraits ayant montrés une activité anti-radicalaire par bioautographie. La solution du DPPH 6.10^{-5} M est préparée dans du méthanol. Les extraits aqueux lyophilisés, dissous dans le méthanol à une concentration de 2 mg/mL, sont dilués à différentes concentrations croissantes (5, 10, 12.5, 15, 20 $\mu\text{g/mL}$). La détermination du pouvoir antioxydant est basée sur la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant. Le spectrophotomètre est calibré à l'aide d'un blanc constitué de méthanol pur à une longueur de 517 nm. Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est calculé suivant l'équation :

$$\text{IP} = [\text{A}_{\text{témoin(-)}} - \text{A}_{\text{extrait}} / \text{A}_{\text{témoin(-)}}] \times 100$$

Avec :

$A_{\text{témoin (-)}}$: Absorbance du témoin négatif, contenant du DPPH et du méthanol sans extrait.

A_{extrait} : Absorbance en présence de l'extrait.

La quercétine et le BHA (butylhydroxyanisole) sont utilisés comme témoins positifs. L'expérience est répétée trois fois pour chaque échantillon et la valeur est exprimée par une moyenne \pm écart type.

V-4-3 Evaluation de l'activité antimicrobienne

a- Souches bactériennes testées

Les souches de *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* E195, *Klebsiella pneumoniae* E40, *Candida albicans* C200, *Aspergillus flavus* AF1, *Aspergillus carbonarius* M333, *Fusarium culmorum* FC1, fournies par le Professeur Sabaou du Laboratoire des Produits Bioactifs et la Valorisation de la Biomasse (LPBVB) de l'ENS-Alger, sont prélevées au niveau des hôpitaux de Bejaïa et d'Alger.

b- Préparation des disques

Des solutions mères, concentrées à 200 mg/mL à partir des extraits aqueux des plantes testées, sont préparées. Des disques de papier buvard de 9 mm de diamètre sont imprégnés avec 25 μ L et 50 μ L de chaque solution mère, correspondant respectivement à 5 mg et 10 mg d'extrait par disque respectivement. Tous les disques ainsi préparés sont séchés à l'air libre puis stérilisés sous U.V. Les disques imprégnés des différents extraits sont, ensuite, déposés délicatement à la surface de la gélose. L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition autour de chaque disque. L'incubation se fait à 30°C pendant 18 à 24 h pour les bactéries et 36 à 48 h pour les champignons et les levures.

V-5 Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. L'ANOVA (l'analyse de la variance) a permis de comparer plusieurs groupes en utilisant le test Duncan. Pour la comparaison entre deux groupes. Les valeurs ont été significatives ($\alpha < 0.05$).

B) Études Chimique & Biologique de Quelques PAM du Sud Algérien (Part. III)

V-1 Matériel végétal

Les parties aériennes de *P. incisa*, *A. graveolens* et *A. javanica* ont été collectées dans le Hoggar (région de Tamanrasset, sud d'Algérie) [Latitude 22° 41'576 " S, Longitude 5° 33'266' E, Altitude 1307 m], en 2013 (Figure 37). Les plantes sont identifiées par Dr Rabéa SAHKI. Un spécimen de chacune des trois plante a été déposé à l'Herbier de l'Institut National de Recherche Forestière - Tamanrasset (Algérie).

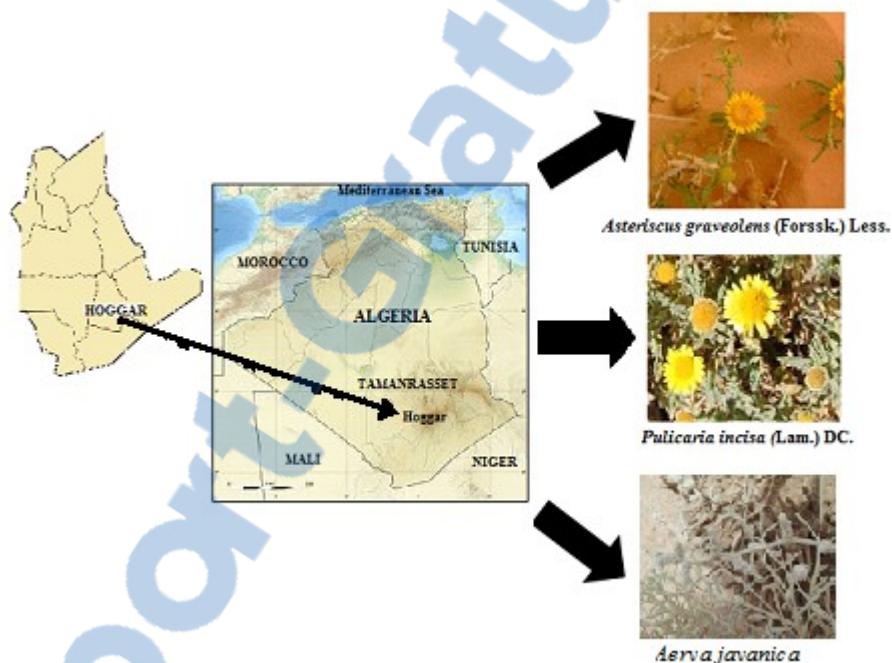


Figure 37: Localisation des plantes sélectionnées.

V-2 Extraction des HEs

Chaque échantillon est soumis à une hydrodistillation pendant 5 h en utilisant un appareil de type Clevenger selon la méthode décrite dans la *Pharmacopée Européenne*. L'huile essentielle est stockée dans des flacons scellés dans l'obscurité à +4 °C avant l'analyse chimique et les tests biologiques. Les huiles essentielles obtenues sont de couleur jaune foncé pour *P. incisa* et jaune pâle pour *A. graveolens* avec une odeur aromatique. Celle de l'*A. javanica* est de couleur marron foncé.

Description de la technique et montage utilisé au laboratoire: Le montage adapté au laboratoire est représenté sur la figure 38. La matière végétale découpée est introduite dans un ballon de 6 L puis l'eau rajoutée. Le chauffage se fait en douce ébullition. La vapeur condensée et refroidit grâce au réfrigérant conduit à une phase organique (huile essentielle). Cette dernière est récupérée à l'aide d'une pipette pasteur. L'huile est, ensuite, séchée sur sulfate de magnésium anhydre puis conservée dans un pilulier en verre opaque pour analyses et tests biologiques.



Figure 38: Montage de type Clevenger.

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R^{dt} \% = (m/m_0) \times 100$$

Avec :

$R^{dt} \%$: Rendement des huiles essentielles exprimé en pourcentage ;

m : Masse des huiles essentielles exprimée en (g) ;

m_0 : Masse de la matière végétale exprimée (g).

V-3 Analyses CPG et CPG/SM

La chaîne analytique est composée d'une chromatographie en phase gazeuse (CPG) pour séparer les composés volatils et d'un spectromètre de masse (SM) pour les identifier. L'analyse est effectuée avec une chromatographe à gaz de marque CP-3800 équipé d'une colonne capillaire DB-5 (30 m \times 0.25 mm, épaisseur de la phase 0.25 μ m) et d'un détecteur de masse à piège ionique de marque Varian Saturn 2000. Les conditions d'analyses sont:

- injecteur et la température de la ligne de transfert sont de 220°C et 240°C, respectivement ;
- température du four est programmée de 60 °C à 240 °C à 3 °C/min ;
- hélium, gaz porteur à 1 mL/min ;

- injection de 0.2 μ L (solution à 10% d'hexane) ;
- injection en mode split avec un rapport de division de flux 1:30.

L'identification des constituants est basée sur la comparaison de leurs temps de rétention avec ceux des échantillons authentiques, en comparant leurs indices de rétention linéaire par rapport à la série des *n*-hydrocarbures et par comparaison des chromatogrammes et spectres obtenus à ceux des librairies commerciales (NIST 2014 et Adams) et aussi à la bibliothèque du laboratoire enrichie avec des spectres construits à partir des substances et des composants purs d'huiles connus et de données de la littérature (Swigar et Silverstein, 1981; Joulain et König, 1998).

L'analyse CPG-FID est effectuée à l'aide d'un chromatographe HP 5890 série II équipé d'un détecteur à ionisation FID et d'une colonne capillaire de silice fondue HP-5 (30 m x 0.25 mm ID, 0.35 mm d'épaisseur) dans les conditions suivantes:

- injecteur et détecteur sont de 220°C et 250°C, respectivement ;
- température du four est programmée de 60 °C à 240 °C à 3 °C/min ;
- hélium, gaz porteur à 1.0 mL/min;
- injection de 0.5 μ L (solution à 10% d'hexane) ;
- injection en mode split avec un rapport de division de flux 1:30.

L'identification des composants a été réalisée par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux des échantillons authentiques purs et par leurs indices linéaires de rétention (IR) par rapport à la série des *n*-hydrocarbures.

V-4 Activités biologiques

V-4-1 Activité antimicrobienne

V-4-1-1 Méthode de culture et microorganismes

Dans la présente étude, seize souches microbiennes sont testées. Il s'agit de :

- Six bactéries Gram-positives: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogens* ATCC 19115, *Bacillus cereus* ATCC 11778.
- Quatre bactéries Gram-négatives: *Klebsiella pneumonia* ATCC 70603, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853 et *Proteus mirabilis* 25933.
- Quatre bactéries cliniques: *Klebsiella pneumonia* clinique, *Escherichia coli* clinique, *Acinetobacter baumannii* clinique, *Staphylococcus aureus* clinique.

- Deux levures: *Candida albicans* ATCC 26790, *Candida albicans*. ATCC 444.

Les bactéries et levures de référence sont fournies par l'Institut Pasteur d'Oran et les souches cliniques sont collectées dans l'hôpital de Tlemcen. Les microorganismes testés sont choisis sur la base de pathogénicité chez les humains et les animaux. Les isolats d'organismes sont inoculés sur Mueller-Hinton Agar (MHA) pour les bactéries et sur la gélose de Sabouraud (Sabouraud-Dextrose-Agar, SDA) pour les levures. L'incubation se fait pendant 24 h pour les bactéries et de 48 à 72 h pour les levures, à 36°C. Trois antibiotiques (Chloramphénicol 30 µg/disque, Streptomycine 10 µg/disque, Érythromycine 15 µg/disque) et deux antifongiques (Nystatine 20.59 µg/disque et Amphotéricine B 20 µg/disque) sont testés comme témoins positifs. Les zones d'inhibition des HEs sont comparées avec ceux de références.

V-4-1-2 Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)

L'activité des HEs est évaluée par la méthode de diffusion d'agar. La suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture jeune. Elle est ajustée à une densité optique de 0.08 à 600 nm pour contenir 10⁸ UFC/mL puisensemencée sur Mueller-Hinton Agar (Fluka BioChemika) par des écouvillons comme recommandé par l'Institut des Standards Cliniques et des Laboratoires (CLSI, 2006). Un disque stérile de 6 mm de diamètre imprégné de 5 µL et 10 µL d'HE est déposé. Les antibiogrammes sont réalisés en parallèle avec l'aromatogramme. Chaque essai est répété trois fois.

V-4-1-3 Méthode de microdilution (CMI)

Cette méthode utilise de petits volumes de bouillon distribués dans des microplaques stériles (CLSL, 2006). Les HEs sont d'abord dissoutes dans 10% de diméthylsulfoxyde (DMSO) (Sigma-Aldrich) pour obtenir une solution mère (10 mg/mL); puis, une série des dilutions ont été faites dans huit puits consécutifs. A partir du second, il y a l'obtention des doses de 10 000 µg/mL à 19 µg/mL à tester. Les plaques de microtitration-96 puits, à fond plat, ont été préparées en distribuant 100 µL de MHB, 100 µL de MHB inoculé 10⁵ UFC/mL dans chaque puits. Les deux derniers puits, l'un contenant 100 µL de DMSO et l'autre contenant 100 µL de MHB inoculé, ont été utilisés comme témoins positifs et négatifs, respectivement. Le volume final de chaque puits était de 200 µL. Les plaques sont recouvertes et incubées à 37 °C pendant 24 h. La lecture s'effectue après l'addition de 50 µL de chlorure d'iodonitrotétrazolium (INT, Sigma-Aldrich). La présence des bactéries vivantes est détectée par coloration rose de l'INT. Chaque test est effectué trois fois en trois expériences successives. La concentration minimale d'inhibition (CMI) a été déterminée comme la concentration la plus basse d'échantillon à laquelle apparaîtrait la couleur rose.

V-4-2 Activité anti-oxydante

V-4-2-1 Mesure de l'activité anti-oxydante par DPPH

Principe: le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Popovici, 2009). Selon Blois (1958) (Figure 39) le radical possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, le radical DPPH \cdot reste sous sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution du DPPH \cdot . L'efficacité d'un antioxydant est relative à la diminution de la coloration bleue mesurée par spectrophotométrie entre 515-518 nm (Figure 40).

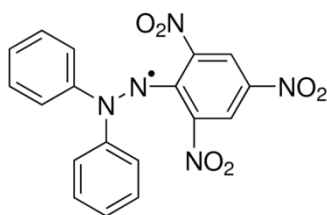


Figure 39: Structure du 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).

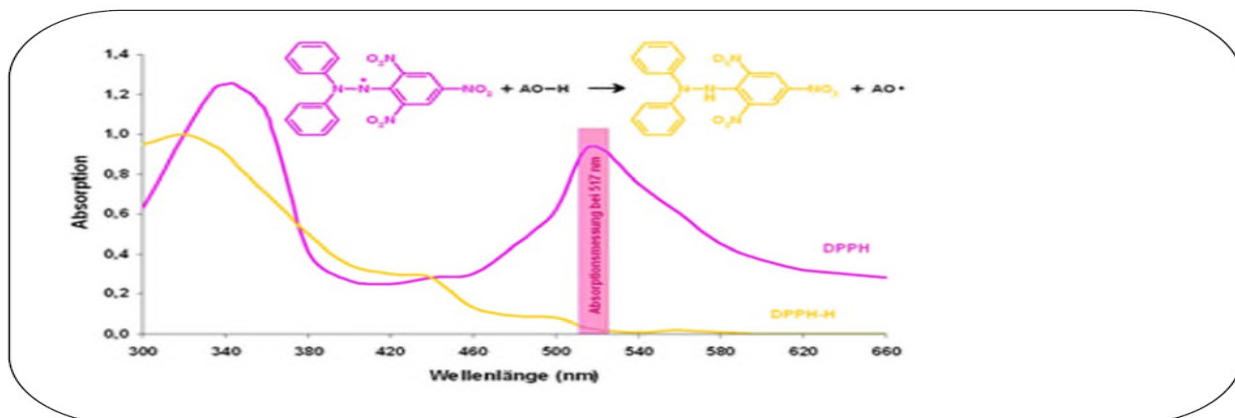


Figure 40: Réaction du DPPH avec un antioxydant.

L'activité anti-radicalaire des HEs a été mesuré selon la méthode (Brand-Williams, 1995 ; Molyneux, 2004).

Mode opératoire : 1 mL de solution de DPPH, à 0.006% dans l'éthanol, est mélangé avec un volume égal d'extraits à différentes concentrations. L'absorbance est mesuré à 517 à l'aide d'un spectrophotomètre (U.V/Vis de marque Optizen POP) au bout d'une heure d'incubation. Le contrôle négatif est réalisé avec 1 mL d'éthanol et 1 mL de solution éthanolique de DPPH. Le contrôle positif est représenté par une solution de BHT (Hydroxytoluène butylé) à différentes concentration. Les dosages sont répétés trois fois.

Une baisse de l'absorbance de la solution DPPH montre une augmentation de piégeage des radicaux DPPH^{*}, exprimé en %. Celui-ci se calcule comme suit :

$$\%DPPH = [(A_C - A_T)/A_C] \times 100$$

Avec :

A₀: Absorbance du contrôle ;

A_T: Absorbance de l'échantillon testé.

La concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀) des échantillons d'HEs et du témoin positif BHT sont calculés graphiquement par les régressions linéaires des graphes représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations testées.

V-4-2-2 Méthode de la réduction du fer (FRAP)

Principe: La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) est basée sur la capacité des extraits à réduire l'ion ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺).

Mode opératoire: Le pouvoir réducteur d'une HE est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice des HEs étudiées est déterminée selon la méthode d'Oyaizu (1986).

1 mL de l'extrait de chaque concentration est mélangé avec 2.5 mL de la solution aqueuse 1% d'hexacyanoferrate (II) de tétrapotassium, [K₃Fe(CN)₆]. Après une incubation de 30 min à 50°C, 2.5 mL d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés. Le mélange est centrifugé à 300 tr/min pendant 10 min. 2.5 mL du surnageant sont, ensuite, mélangés à un volume équivalent d'eau distillée et 0.5 mL d'une solution aqueuse fraîchement préparée de FeCl₃ (0.1%). Les absorbances sont lues à 700 nm contre un blanc préparé en remplaçant l'extrait par l'eau distillée qui permet de calibrer le spectrophotomètre UV-Vis. Dans les mêmes conditions, une courbe d'étalonnage d'acides ascorbique (AA) et de BHT est réalisée afin de comparer les échantillons avec les témoins positifs. Les concentrations des échantillons varient de 5 mg/mL à 0.156 mg/mL et le nombre de répétition est de trois fois pour chaque échantillon.

V-4-3 Activités enzymatiques

V-4-3-1 Dosage de l'activité Acétylcholinestérase (AChE) par microplaque

Principe: L'hydrolyse de l'acétylthiocholine iodure (ATCI) est déterminée en surveillant la formation de l'anion 5-thio-2-nitrobenzoate (TNB) jaune lors de la réaction de l'acide 6,6'-dinitro-3,3'-dithiodibenzoïque (DNTB) avec la thiocholine (incolore) libérée par hydrolyse enzymatique de l'acétylthiocholine selon les équations suivantes (Figure 41):

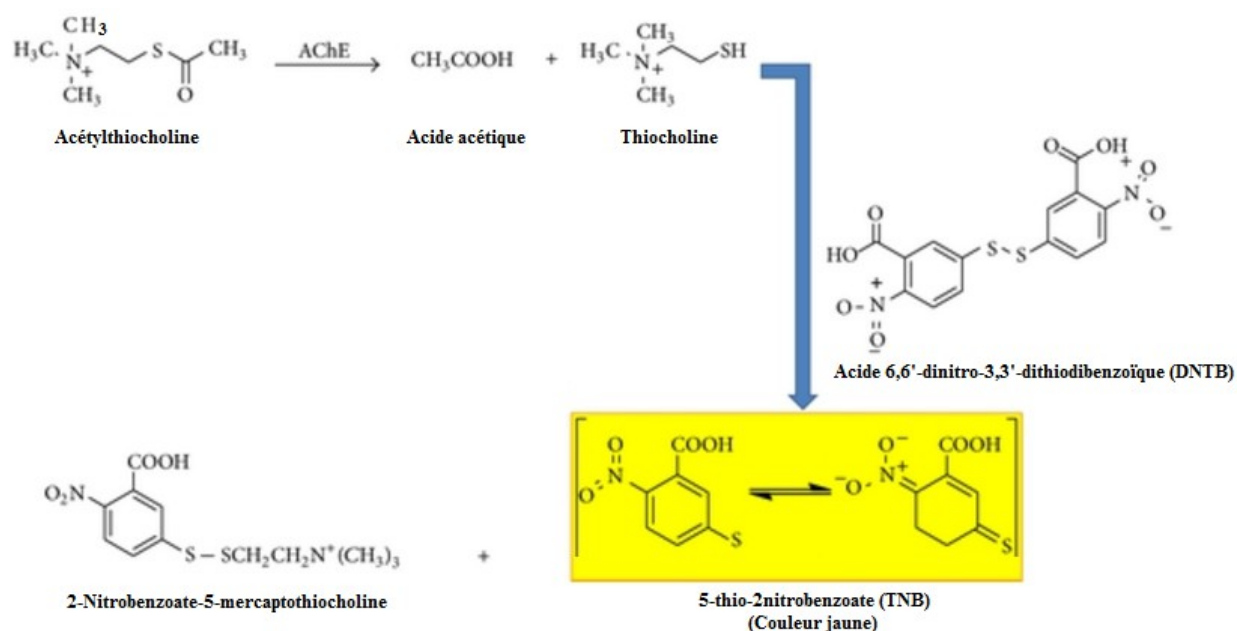


Figure 41: Réaction colorimétrique d'Ellman.

Mode opératoire: Le dosage de l'activité acétylcholinestérase est décrit par Ellman et al. (1961) avec des petites modifications. Le test a été effectué sur des microplaques. AChE (type V-S, poudre lyophilisée, ≥ 1.000 unités/mg protéine) est utilisé comme enzyme. Acétylthiocholine iodure sert comme substrat. DNTB est utilisé pour la mesure de l'activité du cholinestérase. Tous ces réactifs sont de qualité analytique (Sigma-Aldrich). L'enzyme est préparé dans une solution tampon de phosphate de sodium 0.1 M (pH 7.4) à une concentration de 0.25 U/mL. Le substrat est préparé dans l'eau distillée à une concentration de 0.25 mM. 190 μ L de 0.15 mM de DNTB dans une solution tampon de phosphate de sodium 0.1 M (pH 7.4) sont déposés sur une plaque de microtitration-96 puits, suivie par l'ajout de 20 μ L d'AChE et 20 μ L de l'extrait à tester dont les concentrations finales varient entre (1-0.0312 mg/mL). Le mélange est incubé à 37°C pendant 15 min, ensuite, 20 μ L d'ATCI est ajouté pour initier la réaction enzymatique. L'ensemble est incubé une seconde fois à 37°C pendant 15 min. L'absorbance est mesuré à 412 nm en utilisant un spectrophotomètre de

plaque type TECAN (Infinite® 200 PRO). Les échantillons sont dissous dans 10% DMSO. Le contrôle positif est représenté par la tacrine (10 $\mu\text{mol/L}$). Tous les essais sont réalisés trois fois. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante:

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

Avec :

$A_{\text{contrôle}}$: Absorbance du contrôle négatif ;

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'échantillon.

V-4-3-2 Evaluation de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase

Les α -glucosidases sont des enzymes qui interviennent dans l'hydrolyse des saccharides (poly-, oligo- et disaccharides) en monosaccharides, à l'exception du lactose. Les monosaccharides sont les seuls à pouvoir être absorbés par l'organisme.

Principe : Le test d'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase est réalisé par dosage spectrophotométrique. L'effet des HEs des différentes plantes sur l'activité de l' α -glucosidase est étudié en utilisant un substrat synthétique, le *p*-nitrophényl α -D-glucopyranoside (PNPG). La dégradation de ce dernier forme le produit *p*-nitro phénol (PNP) de couleur jaune (Figure 42).

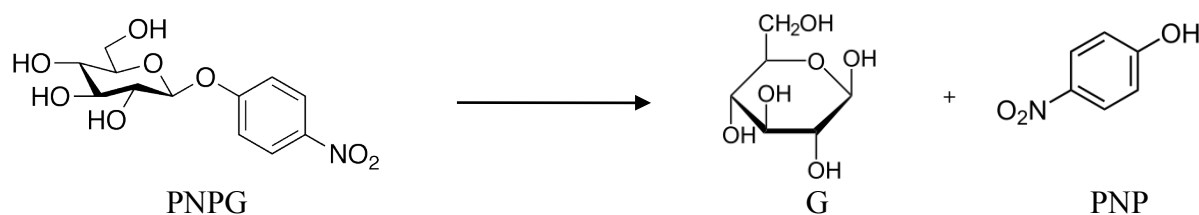


Figure 42: Dégradation du *p*-nitrophényl α -D-glucopyranoside (PNPG) par l' α -glucosidase.

Mode opératoire: L'inhibition de α -glucosidase est décrite par Kim et al. (2000) et Mediani et al. (2015) avec quelques modifications. Le substrat PNPG est dissout dans une solution tampon phosphate 50 mM (pH 6.5). 130 μL d'une solution tampon phosphate (30 Mm) et 10 μL de l'HE (série de dilutions : 1000 à 15.62 $\mu\text{g/mL}$) sont déposés sur des puits d'une microplaque puis 10 μL de l'enzyme sont ajoutés. L'ensemble est incubé pendant 5 min à la température ambiante. Après ajout de 50 μL du substrat PNPG, une seconde incubation pendant 20 min, à la même température, est réalisée. La réaction est stoppée en rajoutant 50 μL d'une solution de glycine 2M (pH 10). La plaque est lue à une longueur d'onde de 405 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de plaque type TECAN (Infinite® 200 PRO). Le blanc est constitué de la solution tampon phosphate (140 μL , 30 Mm) sans enzyme, pour l'échantillon. Ce dernier est remplacé par le solvant (DMSO) pour diluer les HEs dans le cas du contrôle négatif. 140 μL de la solution tampon phosphate (30 mM), 10 μL de

solvant et l'eau distillée, remplaçant la glycine, constitue le blanc du substrat. L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase de l'échantillon est calculée et exprimée en pourcentage avec la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition de l'Ech} = 100 \times [(N_{eg} - B_{sol}) + (Ech - B_{ech})] / (N_{eg} - B_{sol})$$

Avec:

N_{eg} : Contrôle négatif ;

B_{sol} : blanc contient solvant ;

Ech: Echantillon ;

B_{ech} : blanc contient échantillon.

V-4-4 Activité anti-inflammatoire

V-4-4-1 Activité inhibitrice NO

Mode opératoire: Les cellules RAW 264.7 sont mises en culture dans le milieu de Eagle modifié de Dulbecco (DMEM) dans des flacons en plastiques spécifiques de culture cellulaire. Le rouge du phénol (phénolsulfonephtaléine ou PSP) contenant l'acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique (HEPES), la L-glutamine, 10% de sérum fœtal bovin (FBS), 1% d'antibiotique (Gibco/BRL) sont ajoutés. L'ensemble est incubé dans une étuve CO₂ à 37°C. Après 3 à 4 jours, l'enzyme TrypLE™ est utilisé pour recueillir les cellules qui sont, ensuite séparées par centrifugation à 100 t/min à une température de 4°C pendant 10 min. Après élimination du milieu, les cellules sont mises en suspension dans un DMEM frais sans rouge de phénol contenant de l'HEPES, de la L-glutamine et d'autres compléments similaires. Le comptage des cellules est déterminé en utilisant la technique standard de comptage des cellules colorées au bleu de trypan. La concentration cellulaire est modifiée à 10⁶ cells/mL dans le même milieu. Après l'ajout des agents déclencheurs, l'interféron IFN- γ (200 U/mL) et le lipopolysaccharide (LPS) 10 μ g/mL au milieu cellulaire, 50 μ L d'aliquote sont déposés sur une plaque de microtitration-96 puits.

Les extraits sont soumis à une série de dilution dans le milieu contenant du DMSO. 50 μ L de chaque concentration sont déposés dans les puits. Les concentrations varient entre (1000-15.62 μ g/mL). La concentration finale du DMSO est de 0.4% par puits. Le nombre de répétitions est de 6 répliques. Les plaques sont incubées, ensuite, dans des incubateurs CO₂ humides de 5% à une température 37°C pendant 17 h. Les groupes témoins se composent uniquement de milieux contenant les cellules, les agents déclencheurs et le solvant DMSO à 0.4%.

Le test de Griess est utilisé pour mesurer la conversion du NO stable en nitrite (NO⁻²). Dans une nouvelle plaque, 50 μ L d'aliquote du surnageant des cellules testées sont prélevés. Un volume

égal du réactif de Griess (1% de sulfanilamide, 0.1% de N-(1-naphtyl)éthylènediamine dichlorohydrate, 2.5% de H_3PO_4) est, ensuite, additionné. L'ensemble est incubé pendant 15 min. L'absorbance est lue à 550 nm en utilisant un spectrophotomètre de plaque type TECAN (Infinite® 200 PRO). Le blanc correspond au milieu de culture (Abbas et al., 2006; Abdul-Hamid et al., 2015).

V-4-4-2 Test de viabilité MTT

Principe: Le bromure 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT) est un substrat de couleur jaune pâle. Il est converti en cristaux de formazan bleu foncé (Figure 43). Cette réduction ne se produit que dans les mitochondries actives car la quantité importante de MTT ne sera pas réduite par les cellules fraîchement mortes (Heras et al., 2001).

Mode opératoire: Après élimination du milieu, les cellules sont mises en présence de 100 μL de DMEM. Cette opération est suivie par l'addition de 20 μL de MTT dissous dans une solution tampon phosphate saline (PBS, pH 7.2). Les plaques sont, ensuite, incubées dans des incubateurs CO_2 humides de 5% à 37°C pendant 4 h. Le milieu est éliminé et le sel de formazan est dissous dans 100 μL de DMSO. Une lecture spectrophotométrique est réalisée à 570 nm. La viabilité à 100% est indiquée par l'absorbance de formazan dans le témoin (cellules non traitées) (Abbas et al., 2006).

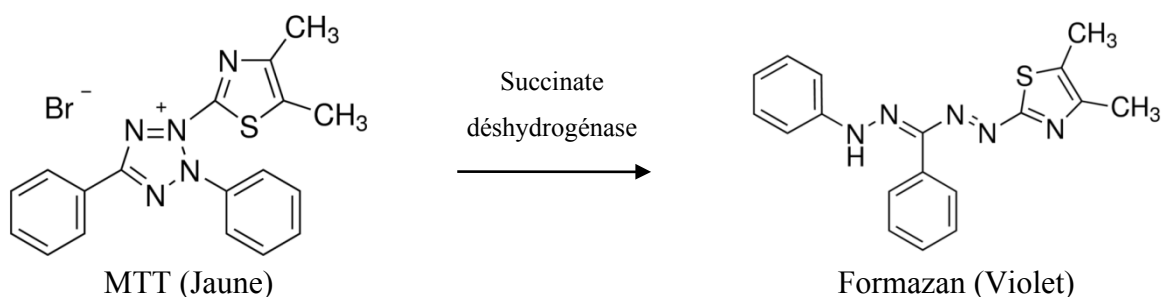


Figure 43: Action de la succinate déshydrogénase sur le MTT conduisant au formazan (Heras et al., 2001).

V-5 Activité anticorrosion

Une étude électrochimique de l'inhibition de la corrosion d'un acier doux dans un milieu HCl 0.5M en utilisant les HEs est réalisée. La chronopotentiométrie, les courbes de polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique sont les techniques employées. Les quantités d'HEs suivantes 0.1 g, 0.19 g et 0.3 g sont considérées correspondantes à des prises en μL . Les tests sont effectués sur l'acier doux (acier noir) dans une solution d'HCl à 0.5M comme agent corrosif. Des électrodes en platine sont reliées à potentiostat et à un système d'acquisition. Les courbes obtenues sont comparées à une courbe de référence obtenue sans inhibiteur.

V-5-1 Principe des méthodes employées

V-5-1-1 Suivi du potentiel en circuit ouvert ou chronopotentiométrie

Egalement désigné par le potentiel spontané, libre, d'abandon, ou encore de repos, le potentiel en circuit ouvert (OCP : Open Circuit Potential) est la grandeur électrochimique la plus immédiatement mesurable. Cette technique simple, qui consiste à suivre le potentiel en fonction du temps d'immersion dans le milieu est la seule mesure qui n'entraîne absolument aucune perturbation de l'état du système étudié. Elle est mesurée par rapport à un potentiel de référence, dans ce cas celui de l'électrode au calomel saturée $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{KCl}$ (2 électrodes sont nécessaires seulement). Le suivi du potentiel en circuit ouvert apporte des informations préliminaires sur la nature des processus se produisant à l'interface métal/électrolyte (corrosion, passivation, ...).

Cette mesure permet également de connaître la durée d'immersion nécessaire à l'établissement d'un régime stationnaire nécessaire à l'utilisation des autres techniques électrochimiques (polarisation linéaire et impédance électrochimique). L'équilibre du système électrochimique est atteint lorsque le potentiel est constant en fonction du temps. Dans notre cas, 30 min sont nécessaires pour atteindre cet équilibre. La valeur du potentiel libre est le potentiel de corrosion E_{corr} mais elle ne renseigne, cependant, pas sur les cinétiques électrochimiques et ne permet donc pas d'accéder à la vitesse de corrosion.

V-5-1-2 Tracé des courbes de polarisation

Les courbes de polarisation (densité de courant versus potentiel appliqué) de l'interface métal-solution constituent une caractéristique fondamentale de la cinétique électrochimique. Cette technique donne des mesures rapides et sa mise en œuvre est relativement simple. Toutefois, elle ne rend compte que de l'étape la plus lente du processus global qui a lieu à l'interface électrochimique.

Pour tracer une courbe de polarisation, différents potentiels sont appliqués, à l'aide d'un potentiostat, entre l'électrode de travail (ET) et une électrode de référence (ER). Le courant résultant dans le circuit électrique est ensuite mesuré entre cette électrode de travail et une contre-électrode (CE). Le potentiostat est programmé pour balayer automatiquement le potentiel à une vitesse bien déterminée. Cette méthode permet de déterminer des paramètres tels que la vitesse instantanée de corrosion (I_{corr}), le potentiel de corrosion (E_{corr}) et les pentes de Tafel.

Afin d'obtenir expérimentalement ces paramètres, les courbes de polarisation sont tracées en coordonnées semi-logarithmique pour mettre en évidence la relation linéaire entre le logarithme de la densité de courant et le potentiel appliqué, connue sous le nom de loi de Tafel (Figure 44).

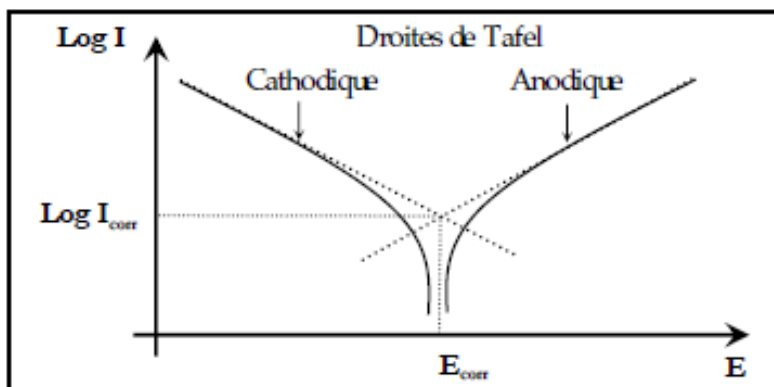


Figure 44: Courbe de polarisation et droites de Tafel d'un système redox à l'équilibre.
V-5-1-3 Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)

Les techniques dites non-stationnaires ou transitoires sont basées sur la perturbation des grandeurs physiques du système électrochimique de sorte que la réponse du système puisse être analysée dans un domaine linéaire invariant dans le temps. Ces techniques ont été développées afin de pallier un certain nombre de contraintes apparues lors du calcul de la vitesse de corrosion d'un métal ou lors de l'étude des mécanismes réactionnels mis en jeu.

La spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) est une méthode non-stationnaire qui permet d'avoir des informations sur les étapes élémentaires qui constituent le processus électrochimique global. Son principe consiste à superposer au potentiel de l'électrode une modulation de potentiel sinusoïdale de faible amplitude et à suivre la réponse en courant pour différentes fréquences du signal perturbateur. La réponse en courant est également sinusoïdale, superposée à un courant stationnaire mais déphasée d'un angle par rapport au potentiel. Le système électrochimique peut, en effet, être considéré comme une "boîte noire" qui réagit en émettant un signal quand il est soumis à une perturbation. Inversement, un courant peut être imposé et le potentiel enregistré. Pour chaque fréquence d'excitation, l'impédance $Z(\omega)$, qui est un nombre complexe, se définit alors comme étant le rapport entre le signal de perturbation et la réponse associée :

$$Z(\omega) = \frac{\Delta E(\omega)}{\Delta I(\omega)}$$

Avec :

$\Delta E(\omega)$: Perturbation imposée à un potentiel choisi E_0 ;

$\Delta I(\omega)$: Réponse en courant du système étudié avec une composante continue I_0 ;

ω : Pulsation ($2\pi f$).

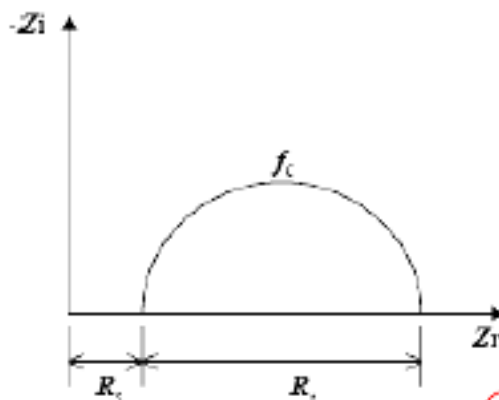


Figure 45: Diagramme de Nyquist ou spectre d'impédance électrochimique.

Le diagramme de Nyquist est le plus utilisé pour représenter graphiquement l'impédance électrochimique $Z(\omega)$. Il est obtenu en portant dans le plan complexe l'opposé de la partie imaginaire de l'impédance $-Z_{\text{Im}}(\omega)$ en fonction de sa partie réelle $Z_{\text{Re}}(\omega)$ (Figure 45). Il est possible d'associer à chacune des étapes observables sur le diagramme de Nyquist, des grandeurs physiques représentatives obtenues à partir de la modélisation de ce spectre par un circuit électrique équivalent (CEE), composé d'éléments simples tels que la résistance de transfert de charge R_t , uniquement modélisée par sa partie réelle (indépendante de la pulsation) et la capacité de double couche électrochimique ou C_{dc} .

L'analyse en fréquence de l'impédance électrochimique permettra ainsi de différencier les divers phénomènes élémentaires en fonction de leur fréquence caractéristique f_c (ou constante de temps). Chaque processus perturbé revient à l'état stationnaire avec son propre temps de réponse. Les réactions partielles se produisant à l'interface électrode/électrolyte peuvent donc être différenciées les unes des autres : les phénomènes électrochimiques rapides (transfert de charge) sont sollicités dans le domaine des hautes fréquences, tandis que les phénomènes lents (transport de matière : diffusion, adsorption) se manifestent à basses fréquences.

Dans le domaine de la corrosion, la spectroscopie d'impédance électrochimique présente plusieurs avantages. Elle permet la détermination précise de la vitesse de corrosion même dans le cas où le métal est recouvert d'une couche protectrice. La spectroscopie d'impédance électrochimique permet aussi l'évaluation du taux d'inhibition, la caractérisation des différents phénomènes de corrosion (dissolution, passivation, piqûration,...) et l'étude des mécanismes réactionnels à l'interface électrochimique.



V-5-1-4 Modes d'expression de l'efficacité d'un inhibiteur de corrosion

L'expression la plus courante et la plus souvent utilisée pour exprimer l'efficacité d'un inhibiteur de corrosion est le taux d'inhibition (P%) qui est donné par les relations suivantes selon la technique d'analyse utilisée :

$$E_{\text{icorr}} = [1 - I/I'] \times 100$$

Dans le cas de la polarisation potentiodynamique. I_{corr} et I'_{corr} étant les densités de courant de corrosion obtenues en l'absence et en présence de l'inhibiteur, respectivement.

$$E_{Rt} = [1 - R_t/R_t'] \times 100$$

Dans le cas de la SIE, R_t et R_t' étant les résistances de transfert de charges en l'absence et en présence de l'inhibiteur.

V-5-2 Expérimentation

V-5-2-1 Inhibiteurs testés

Les plantes testées comme inhibiteurs de la corrosion sont: *P. incisa*, *A. graveolens* et *A. javanica*. La gamme de concentration des HEs varie de 0.1 à 0.9 g/L.

V-5-2-2 Préparation des échantillons

Le matériau étudié est un acier dont la composition chimique est la suivante (C: 0.14-0.22, Mn: 0.50-0.80, Si: 0.15-0.3, S: 0.05, P: 0.05, Cu: 0.5, Cr: 0.3, Ni: 0.3, Mo: 0.05, V: 0.08, Sn: 0.05, N₂: 0.012 et le Fer Balance). Avant chaque essai, les échantillons d'acier sont mécaniquement polis, sous l'eau, au papier abrasif SiC de grade (400 – 800), dégraissés par l'acétone et rincés à l'eau distillée. La surface en contact avec l'électrolyte ou surface active est de 0.16 cm².

V-5-2-3 Préparation du milieu corrosif

La solution corrosive est une solution d'acide chlorhydrique 0.5M obtenue par dilution avec de l'eau distillée, de l'acide commercial concentré à 37% (Merck).

V-5-2-4 Mesures électrochimiques

Les expériences électrochimiques sont effectuées dans une cellule en pyrex thermostatée et équipée d'un montage à trois électrodes: une électrode de platine comme électrode auxiliaire, une électrode au calomel saturée (ECS) comme électrode de référence et l'acier comme électrode de travail.

Les mesures électrochimiques sont réalisées avec un montage comprenant un potentiostat RGZ 301(radiomètre analytique) piloté par le logiciel Voltmaster 4. Les courbes intensité-potential ou courbes de polarisation sont obtenues en variant le potentiel appliqué de -700 à -300 mV vs ECS,

avec une vitesse de balayage de 30 mV/min. L'intensité du courant est mesurée entre l'électrode de travail et la contre-électrode de platine. Avant le tracé des courbes, l'électrode de travail est maintenue à son potentiel d'abandon pendant 30 min. Pour les mesures d'impédance, l'amplitude de la perturbation sinusoïdale appliquée au potentiel d'abandon est de 10 mV. Les fréquences balayées lors de ces mesures d'impédance vont de 100 kHz et 10^{-1} Hz à raison de 5 points par décade.

V-6 Analyses statistique

Les résultats des activités antimicrobiennes, anti-oxydantes et enzymatiques sont exprimés sous forme de moyennes \pm écart type. Le nombre de répétition est de 3. La comparaison entre les échantillons est effectuée par l'analyse des variances (ANOVA) et la signification des différences entre les moyennes est calculée par un test multiple Duncan utilisant le logiciel SPSS pour Windows (Standard Version 19.0 SPSS Inc., Chicago. IL.), p valeurs < 0.05 est considéré comme significatif.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

La flore du Sahara algérien est restée jusqu'aux années vingt seulement connue par des récoltes d'explorateurs et par des Touaregs. Depuis, plus de 350 espèces ont été recensées. Beaucoup d'investigations sur la flore et de la végétation révèlent l'existence d'espèces propres au Sahara, auxquelles s'ajoutent des éléments méditerranéens et tropicaux. Toutefois, la particularité de cette flore est sa pauvreté évidente du fait des conditions climatiques extrêmes. Aussi, en raison de son altitude élevée, le Hoggar, moins chaud et moins aride que la plaine désertique, a servi de refuge à beaucoup de plantes. On y observe un taux d'endémisme élevé, qui croît avec l'altitude.

L'objectif de ce travail de recherche est de contribuer à l'étude de quelques PAM du sud algérien, en employant les techniques usuelles d'analyse (CPG, CPG/SM...) pour l'établissement des profils chimiques des mélanges complexes étudiés. Cette étape est suivie par une valorisation des extraits en évaluant leurs activités biologiques, notamment, antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, enzymatique etc. et aussi leurs utilisations comme inhibiteurs de la corrosion.

Dans un premier temps, une enquête ethnobotanique est réalisée auprès des herboristes et des tradipraticiens de Tamanrasset. Douze espèces appartenant à neuf familles sont choisies et répertoriées pour leurs usages en médecine traditionnelle. Il s'agit, notamment, de *Solenostemma argel*, *Aerva javanica*, *Deverra scoparia*, *Pentzia monodiana*, *Pulicaria incisa*, *Maerua crassifolia*, *Anabasis articulata*, *Lavandula pubescens* subsp. *antinea*, *Marrubium desertii*, *Mentha longifolia*, *Cymbopogon schoenanthus*, *Balanites aegyptiaca*.

Le criblage phytochimique par CCM, des extraits aqueux et alcooliques, met en évidence plusieurs métabolites secondaires parmi lesquels les saponosides, les glycosides cardiotoniques et les flavonoïdes. Les résultats révèlent aussi que parmi tous les extraits aqueux testés dix d'entre eux montrent une activité antioxydante significative par la méthode de bioautographie par DPPH et seulement deux par dosage spectrophotométrique, notamment, ceux de deux espèces de Lamiacées, *L. pubescens* sub sp. *antinea* et *M. longifolia*. De plus, les tests d'activités antimicrobiennes réalisés sur les extraits aqueux montrent que ces derniers sont inefficaces contre la majorité des souches testées, à l'exception de l'extrait de *Balanites aegyptiaca* qui indique une inhibition du *B. subtilis*

ATCC 6633 et aussi de celui de l'*A. javanica* qui se révèle actif contre les souches fongiques, *C. albicans* C200, *A. flavus* AF1, *A. carbonarius* M333 et *F. culmorum* FC.

Cette étude est suivie, dans un deuxième temps, par un intérêt particulier porté aux HEs de deux plantes parmi les douze choisies, notamment, l'*A. javanica* et la *P. incisa* auxquelles s'ajoute une troisième espèce poussant dans le même écosystème formant un couple "*amyu-tamayu*" avec *P. incisa*. Il s'agit d'*Asteriscus graveolens*. Cet intérêt est motivé par l'odeur parfumée très forte que ces plantes dégagées lors de leurs cueillettes pendant la période de floraison.

Les HEs sont extraites par hydrodistillation en employant un montage de type Clevenger puis caractérisées par les méthodes usuelles d'analyse (CPG-FID, CPG/SM,...). L'HE de *P. incisa* est caractérisée par sa richesse en terpénoïdes oxygénés (74%) et une faible quantité de composés hydrocarbonés (6.2%). Ces constituants de l'HE sont accompagnés de d'autres dérivés (17.1%). Les composés quantitativement significatifs sont la chrysanthénone (45.3%), le 2,6-diméthylphénol (12.6%), l' α -cadinol (5.6%), l'eudema-4(15),7-diène-1-ol (3.5%) et le T-cadinol (3.6%) (Figure 18). Cette plante, poussant dans le Hoggar, montre un profil chimique différent comparé à ceux publiés dans la littérature pour les espèces et les sous-espèces du genre *Pulicaria*. La teneur élevée en composés terpénoïdes oxygénés peut expliquer l'odeur caractéristique et parfumée de l'huile.

L'HE d'*A. graveolens* de la région du Hoggar est étudiée pour la première fois. Elle aussi se compose, essentiellement, de terpénoïdes oxygénés (89.1%). Ces composés sont accompagnés de terpénoïdes hydrocarbonés (7.9%). Les constituants majoritaires de cette huile sont l'acétate de *cis*-chrysanthényle (31.1%), l'acétate de myrtényle (15.1%), le kessane (11.5%), le liguloxyde (7.4%), le *cis*-chrysanthénol (5.3%), le T-cadinol (4.5%) et le valérianol (3.8%). Les études antérieures portant sur les HEs du genre *Asteriscus* montrent que les principaux composés identifiés (1,8-cinéole, le β -phellandrène, le *m*-cymène, l'*exo*-2-hydroxycinéole, le 6-oxocyclonérolidol,...) sont inexistant dans l'huile des parties aériennes d'*A. graveolens* du Hoggar. Cette variation observée dans la composition chimique peut s'expliquer par les facteurs environnementaux (climat, le sol,...), l'organe de la plante extrait, la méthode d'extraction employée, etc.

L'HE d'*A. javanica* de la région du Hoggar est, également, étudiée pour la première fois. Son profil chimique révèle sa richesse en terpénoïdes oxygénés (78%) auxquels sont associés des composés hydrocarbonés (1.5%), des apocarotènes (10.4%) et d'autres dérivés (4.3%). Les composés majoritaires de l'HE d'*A. javanica* sont le kessane (15.5%), l'acétate de *cis*-chrysanthényle

(14.8%), liguloxide (11.4%), l'acétate de myrtényle (8.3%), le linalool (7.4%) et le (E)-nérolidol (6.5%).

Beaucoup de disparités entre les profils chimiques des HEs des plantes, poussant au Hoggar, sont trouvées avec ceux publiés, pour les espèces du même genre, antérieurement. En effet, les composés majoritaires identifiés dans les HEs (*P. incisa*, *A. graveolens*, *A. javanica*) sont absents ou détectés en petites quantités dans les espèces citées dans la littérature.

Un troisième volet de cette thèse porte sur la valorisation de ces HEs. Pour ce faire, des évaluations des activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante, enzymatique, anti-inflammatoire) et anticorrosion sont réalisées.

Les activités antimicrobiennes des HEs des espèces *P. incisa*, *A. graveolens* et *A. javanica* sont testées contre seize germes pathogènes appartenant à des souches de références et des souches cliniques à l'origine de la contamination des aliments et responsables de nombreuses infections. Les résultats montrent que l'HE de *P. incisa* a un effet inhibiteur significatif contre les bactéries Gram-positives, comparé aux différents antibiotiques testés. Il est à noter aussi que quelques bactéries Gram-négatives sont sensibles aux fractions volatiles. Lors de cette étude, les valeurs de CMI varient entre 19 $\mu\text{g/mL}$ et 625 $\mu\text{g/mL}$. Aussi, des activités antifongiques intéressantes sont obtenues surtout contre *C. albicans* ATCC 26790 avec une CMI de 312 $\mu\text{g/mL}$. D'autre part, l'huile d'*A. graveolens* montre une inhibition modérée contre les pathogènes testés. L'action inhibitrice la plus importante de cette huile est observée contre *P. mirabilis* ATCC 25933 avec une CMI de 39 $\mu\text{g/mL}$. Contrairement, l'HE d'*A. javanica* ne montre aucune zone d'inhibition contre tous les pathogènes testés. D'après ces résultats, les HEs de *P. incisa* et *A. graveolens* peuvent être suggérer comme agents antimicrobiens dans le traitement de maladies infectieuses, ce qui est en accord avec leurs utilisations traditionnelles chez les autochtones du Sud algérien.

La mesure des activités antioxydantes, des fractions volatiles réalisée par deux méthodes (DPPH et FRAP), montre un pouvoir antioxydant intéressant de l'huile de *P. incisa* par rapport aux huiles de *A. graveolens* et *A. javanica*. D'autre part, les tests enzymatiques en utilisant l'acétylcholinestérase témoignent d'une faible action inhibitrice des HEs, *in vitro*, comparées à la référence; la tacrine. En revanche, les résultats obtenus avec l' α -glucosidase se révèlent être beaucoup plus prometteurs, surtout dans les cas des HEs de *P. incisa* et *A. graveolens*. En effet, ces dernières montrent un pourcentage d'inhibition élevé à des concentrations variant entre 1000 et 250 $\mu\text{g/mL}$. Par ailleurs, l'évaluation du potentiel anti-inflammatoire des différentes HEs, sur les cellules

RAW 264.7, conduit à la sélection de l'HE d'*A. graveolens* comme étant la plus prometteuse car les huiles de *P. incisa* et d'*A. javanica* se sont révélées non cytotoxiques aux concentrations testées dans les cultures déterminées par dosage au MTT.

L'étude de l'effet anticorrosion de l'acier doux en milieu acide 0.5 M par les HEs, à différentes concentrations et en utilisant les méthodes telles que la chronopotentiométrie, la polarisation potentio-dynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique, révèle que l'huile de *P. incisa* présente un effet inhibiteur supérieur à celui des HEs de *A. graveolens* et *A. javanica*. Il est à noter que ce résultat est en parfait accord avec le potentiel antioxydant des HEs. Ce pouvoir inhibiteur est dû en partie à l'activité antioxydante des composés majoritaires seuls ou leur synergie avec les composés minoritaires composant la fraction volatile de *P. incisa*. En effet, la présence des composés oxygénés sont responsables de l'activité antioxydante et en partie expliquent l'inhibition de la réaction cathodique. Ces mêmes molécules sont également responsables de l'inhibition anodique en raison de la capacité de leurs fonctions oxygénées à chélation les cations. Cependant, l'efficacité d'inhibition significative obtenue par l'HE de *P. incisa* est également due à la formation d'un film tridimensionnel à la surface de l'acier, qui peut être formé par d'autres molécules minoritaires qui agissent en synergie avec les molécules antioxydantes. D'autres études sont donc nécessaires pour comprendre le mécanisme d'inhibition de la corrosion des HEs.

La réalisation de la technique de spectrométrie de masse à ionisation secondaire à temps de vol (TOF-SIMS) permettra, certainement, la détermination de la nature des composés organiques formant le film tridimensionnel à la surface de l'acier et l'étudie par la suite de leur pouvoir inhibiteur. Des investigations complémentaires peuvent être réalisées pour comprendre le couplage/la synergie entre les molécules et les relations structures/activités des molécules composant les HEs. De plus, l'étude de l'effet anticorrosion de l'acier en milieu basique par les HEs mérite d'être effectué et comparé avec celui en milieu acide.

Les plantes étudiées sont utilisées par les Touaregs du sud algérien pour traiter certaines pathologies. Ce savoir ancestral est basé sur l'expérience personnelle ou sur des connaissances transmises depuis plusieurs générations. Dans cette thèse, l'étude scientifique menée confirme l'efficacité de ces plantes et leur usage comme remèdes traditionnels. Toutefois, des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier les composés majoritaires qui sont probablement actifs chez l'espèce qui a montré le plus de pouvoir biologique et anticorrosif. Aussi, une étude de leur toxicité s'impose avant toute utilisation pour la santé humaine.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

A

Aazza S., Lyoussi B., Miguel, M.G., 2011. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds. *Molecules*, 16(9): 7672-7690.

Abas F., Lajis N. H., Israf D.A., Khozirah S., Kalsom Y.U., 2006. Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chemistry*, 95(4):566-573.

Abbas Osman N.M., El-imam Y.M., Ahmed G.M., 2015. A study of the wound healing properties of Sudanese *Aerva javanica*. In diabetic rats. *International Journal of innovative pharmaceutical Sciences and Research*, 3(3): 111-116.

Abad M. J., Bedoya L. M., Apaza L., Bermejo, P., 2012. The *Artemisia L.* genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules*, 17(3):2542-2566

Abd El-Gleel W. and Hassanien M., 2012. Antioxidant properties and lipid profile of *Diplotaxis harra*, *Pulicaria incisa* and *Avicennia marina*. *Acta Alimentaria*, 41(2): 143-151.

Abdollahi M., Salehnia A., Mortazavi S.H.R., Ebrahimi M., Shafiee A., Fouladian F., Keshavarz K., Sorouri S., Khorasani R., Kazemi A. Kazemi, A., 2003. Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of *Satureja khuzestanica* in rat in vivo: a toxicopharmacological study. *Medical Science Monitor*, 9(9):331-335.

Abdul-Hamid N.A., Abas F., Ismail I.S., Shaari K., Lajis N.H., 2015. Influence of different drying treatments and extraction solvents on the metabolite profile and nitric oxide inhibitory activity of Ajwa Dates. *Journal of food science*, 80(11):603-611.

Abdulmutalib U. and Shah M.M., 2017. Phytochemical screening on the antioxidant properties of *Aerva lanata* flower extracts and their *in vitro* antiproliferative effects on human liver cancer cell line (hepg-2) running head-phytochemical screening of flower extracts of *Aerva lanata*. *Journal of Biology and Nature*, 7: 81-90.

Abdulwahab M., Kasim A., Fayomi O.S., Asuke F., Popoola A.P.I., 2012. Inhibitive effect of *Arachis hypogaeae* on the corrosion of mild steel in sulphuric acid solution. *Journal of Materials and Environmental Science*, 3(6):1177-1182.

Abubakar M., Abas F., Ismail I.S., Ghazali H., Shaaria K., 2014. Chemical profile and anti-acetylcholinesterase, antityrosinase, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of *Cynometra cauliflora* L. leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95: 635-642.

Adepu A., Narala S., Ganji A., Chilvalvar S., 2013. A review on natural plant: *Aerva lanata*. International Journal of Pharma Sciences, 3(6):398-402.

Ado M.A., Abas F., Ismail I.S., Ghazali H.M., Shaari K., 2015. Chemical profile and antiacetylcholinesterase, antityrosinase, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of *Cynometra cauliflora* L. leaves. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95(3):635-642.

Aelenei P., Miron A., Trifan A., Bujor A., Gille E., Aprotosoie A.C., 2016. Essential oils and their components as modulators of antibiotic activity against gram-negative bacteria. Medicines, 3(3):19.

Akssira M., Mellouki F., Salhi A., Alilou H., Saouf A., El Hanbali F., Arteagab J.F., Barrero A. F., 2006. Naupliolide, a sesquiterpene lactone with a novel tetracyclic skeleton from *Nauplius graveolens* subsp. *odorus*. Tetrahedron letters, 47(38):6719-6721.

Al-Bayati F.A., 2009. Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 8(1):20.

Al-Fatimi M., Wurster M., Schröder G., Lindequist U., 2007. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. Journal of ethnopharmacology, 111(3): 657-666.

Al-Fatimi M., Awadh N. A.A., Wurster M., Al-Sokari S.S., Lindequist U., Setzer W.N., 2015. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Pulicaria jaubertii* from South Yemen. World Journal of Pharmaceutical Research, 4(12):1-9.

Al-Hajj N.Q.M., Wang H.X., Ma C., Lou Z., Bashari M., Thabit R., 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of some aromatic medicinal plants (*Pulicaria inuloides*-Asteraceae and *Ocimum forskolei*-Lamiaceae). Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 13(8):1287-1293.

Ali N.A., Crouch R.A., Al-Fatimi M.A., Arnold N., Teichert A., Setzer W.N., Wessjohann L., 2012. Chemical composition, antimicrobial, antiradical and anticholinesterase activity of the essential oil of *Pulicaria stephanocarpa* from Soqatra. Natural Product communications, 7(1):113-116.

Ali-Emmanuel N., Moudachirou M., Akakpo A.J., Leclercq J.Q., 2002. Activités antibactériennes *invitro* de *Cassia alata*, *Lantana camara* et *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophilus congolensis* isolé au Bénin. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, 55(3):183-187.

Alilou H., Bencharki B., Hassani L.I., Barka N., 2014. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus*. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie, 10(3).

Alilou H., Asdadi A., Idrissi Hassani L. M., González-Mas M. C., Blázquez M. A., Akssira M. 2014. Antifungal and Antioxidant Activity of *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* Essential Oil. Journal of Natural Sciences Research, 1(4).10.

Alilou H., Talbi T., L. M. Idrissi Hassani., 2016. Activité antifongique des extraits de quatre plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus imbricatus* (Cav.) DC., *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus*(Schousb.) Greuter, *Cladanthus arabicus* (L.) Cass. Et *Kleinia anteuphorbium* (L.) Haw. Science Lib Editions Mersenne : Volume 5, N° 131120.

Algabr M.N., Ameddah S., Menad A., Mekkiou R., Chalchat J.C., Benayache S., Benayache F., 2012. Essential oil composition of *Pulicaria jaubertii* from Yemen. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 2(4): 688-690.

Allali H., Benmehdi H., Dib M.A., Tabti B., Ghalem, S., Benabadji N., 2008. Phytotherapy of diabetes in west Algeria. Asian Journal of Chemistry, 20(4): 2701-2710.

Angelini, P. 2013. Some Biological Activities of Essential Oils. Edited by Gianluigi Bertuzzi and Roberto Venanzoni. *Medicinal & Aromatic Plants*. OMICS International.

Arafat S.M., Gaafar A.M., Basuny A.M., Nassef S.L., 2009. Chufa tubers (*Cyperus esculentus* L.): As a new source of food. World Applied Sciences Journal 7(2):151-156.

Arbab A.H., Parvez M.K., Al-Dosari M.S., Al-Rehaily A.J., Ibrahim K.E., Alam P., Alsaid M.S., Rafatullah, S., 2016. Therapeutic efficacy of ethanolic extract of *Aerva javanica* aerial parts in the amelioration of CCl₄-induced hepatotoxicity and oxidative damage in rats. Food & Nutrition Research, 60(1): 30864.

Arts I.C.and Hollman P.C., 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. The American journal of clinical nutrition, 81(1):317S-325S.

B

Badarinath A.V., Rao K.M., Chetty C.M.S., Ramkanth S., Rajan T.V.S., Gnanaprakash K., 2010. A review on *in vitro* antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. International Journal of PharmTech Research, 2(2):1276-1285.

Battu G.R., Kumar B.M.,2012. *Invitro* antioxidant activity of leaf extract of *Aerva lanata* Linn. International Journal of Pharma Sciences, 2(4):74-78.

Bedini S., Flamini G., Cosci, F., Ascrizzi, R., Echeverria, M.C., Guidi, L., Landi, M., LucchiA., Conti, B., 2017. *Artemisia* spp. essential oils against the disease-carrying blowfly *Calliphora vomitoria*. Parasites & vectors,10(1):80.

Belewu M.A. et Belewu K.Y., 2007. Comparative physico-chemical evaluation of tiger-nut, soybean and coconut milk sources. *International Journal of Agriculture and Biology*, 5: 785-787.

Bellakhdar J., 2006. Plantes médicinales au Maghreb et soins de base: Précis de Phytothérapie Moderne. Eds Le Fennec Maroc. p.386.

Benamar H., Rached W., Derdour A., Marouf A., 2010. Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Biological Sciences*, 10(1): 1-9.

Bencheqroun H.K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Chaouch, A., 2012. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. *Bulletin de la société Royale des sciences de Liège*, 81:4-21.

Benhouhou S., 2005. A Guide to Medicinal Plants in North Africa, *Pulicaria incisa* (Lam.) DC., IUCN, Malaga, p.195-196.

Benyelles B., Allali H., Touaibia M., Fekih N., Boudreau L.H., Surette M. E., 2016. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the volatile components of *Tropaeolum majus* L. (*Garden Nasturtium*) From North Western Algeria. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 4(3): 431-439

Benzie I.F., Strain J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1):70-76.

Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617):1199-1200.

Boumaraf M., Mekkiou R., Benyahia S., Chalchat C., Chalard P., Benayache F., Ben ayache S., 2016. Essential Oil Composition of *Pulicaria undulata* (L.) DC. (Asteraceae) Growing in Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(5): 746-749.

Bourkhiss M.B., Hnach M., Paolini J., Costa J., Farah A., Satrani B., 2010. Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 72 :141-154.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.L.W.T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1):25-30.

Bruneton, J., 1993. Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes Médicinales. 2^{ème} Edition, Technique & Documentation, Paris, p.914.

Burns R.E., 1971. Method for estimation of tannin in grain sorghum. *Agronomy Journal*, 63(3), 511-512.

Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food-A review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.

C

Can Başer H.K., Buchbauer G.B., 2010. Handbook of essential oils. Science, Technology, and Applications. CRC Press. Taylor & Francis Group. p. 975.

Cavin A., 1999. Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire: *Tinospora crispa* (Ménispermacees), *Merremiae marginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneandra* (annonacées). Thèse de Doctorat, Lausanne, p. 241.

Chatzopoulou P., Haan A., Kastiotis S., 2002. Investigation on the supercritical CO₂ extraction of the volatile constituent from *Juniperus communis* obtained under different treatment of the “berries” (Cones). Planta Medica, 68: 827-831.

Chawla P., Chawla A., Vasudeva N., Sharma S.K., 2012. A review of chemistry and biological activities of the genus *Aerva* a desert plant. Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research. 69 (2): 171-177.

Cheriti A., Saad A., Belboukhari N., Ghezali S., 2007. The essential oil composition of *Bubonium graveolens* (Forssk.) Maire from the Algerian Sahara. Flavour and fragrance Journal, 22(4):286-288.

CJB : Conservatoire et Jardin Botanique & South African National Biodiversity Institute. 2012. Bases de données en ligne. Source: African Plant Database (version 3.4.0) Conservatoire et Jardin Botanique de la ville de Genève and South African National Biodiversity Institute. <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/.22-07-2017; 20H56mn>.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006. M7-A7. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically approved standard, 7th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G., 2001. Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. Molecules, 6: 87-91.

Cristofari G., Znini M., Majidi L., Mazouz H., Tomi P., Costa J., Paolini J., 2012. Chemical Diversity of Essential Oils from *Asteriscus graveolens* (Forssk.) Less.: Identification of *cis*-8-Acetoxychrysanthenyl Acetate as a New Natural Component. Chemistry & Biodiversity, 9(4):727-738.

D

D'Abrosca B., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C., Fiorentino A., 2007. Limoncella apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. Food chemistry, 104(4):1333-1337.

Daur I., 2013. Chemical composition of selected Saudi medicinal plants. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3):329-332.

De las Heras B., Abad M.J., Silvan A.M., Pascual R., Bermejo P., Rodríguez B., Villar A.M., 2001. Effects of six diterpenes on macrophage eicosanoid biosynthesis. *Life sciences*, 70(3):269-278.

De Oliveira T.L.C., de Araújo Soares R., Ramos, E.M., das Graças Cardoso M., Alves E., Piccoli R.H., 2011. Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *International journal of food microbiology*, 144(3): 546-555.

De Padua L.S., Bunyapraphatsara N., Lemmens R.H.M.J., 1999. Plant Resources of South-East Asia, 12(1):210-218.

Deshmukh T., Yadav B.V., Badole S.L., Bodhankar S.L., Dhaneshwar S.R., 2008. Antihyperglycaemic activity of alcoholic extract of *Aerva lanata* (L.) AL Juss. Ex JA Schultes leaves in alloxan induced diabetic mice. *Journal of Applied Biomedicine*, 6(2): 81-87.

Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., Mnif W., 2016. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. *Medicines*, 3(4) : 25.

Diallo A.M., 2005. Étude des plantes médicinales de Niafunké (Région de Tombouctou). Phytochimie de et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidaceae). Thèse de doctorat en pharmacie Université de Bamako, p.140.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4): 654-660.

Djermane N., Gherraf N., Arhab R., Zellagui A., Rebbas K., 2016. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. *Der Pharmacia Lettre*, 8 (7):1-6.

Domínguez M., Nieto A., Marin J.C., Keck A.S., Jeffery E., Céspedes C.L., 2005. Antioxidant activities of extracts from *Barkleyanthus salicifolius* (Asteraceae) and *Penstemon gentianoides* (Scrophulariaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15): 5889-5895.

Duraffourd, C., Lapraz, J.C., 2002. *Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine*. Elsevier Masson, 3^{ème} édition, p. 864.

E

Eddouks M., Maghrani M., Lemhadri A., Ouahidi M.L., Jouad H., 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of ethnopharmacology*, 82(2-3): 97-103.

Edris A.E., 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy research*, 21(4): 308-323.

Ehsan B., Qasim M., Masoud M.S., ur Rehman M., Jahan S., Ashfaq U.A., 2013. Therapeutic potential of herbs against diabetes. *Pure and Application of Biology* , 2(4):138.

El bribri M., Tabyaoui., El Attari H., Boumhara K., Siniti M., Tabyaoui B., 2011. Temperature effects on the corrosion inhibition of carbon steel in HCl (1M) solution by methanolic extract of *Euphorbia Falcata* L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 2(2):156-165.

El Bribri A.E., El Attari H., Sinit M., Tabyaoui M., 2015. Temperature effects on the corrosion inhibition of carbon steel in 1N H₃PO₄ solution by methanolic extract of *Euphorbia falcata*. L. *Moroccan Journal of Chemistry*, 3(2):286-297.

Ellman G.L., Courtney K.D., Andres J.V., Featherstone R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2): 88-95.

Ezzat M.I., Ezzat S.M., El Deeb K.S., El Fishawy A.M., El-Toumy S.A., 2016. A new acylated flavonol from the aerial parts of *Asteriscus maritimus* (L.)Less (Asteraceae). *Natural Product Research*, 30(15):1753-1761.

F

Fadel H., Sifaoui I., López-Arencibia A., Reyes-Batlle M., Hajaji S., Chiboub O., Jiménez I.A., Bazzocchi I.L., Lorenzo-Morales J., Benayache S., Piñero J.E., 2018. Assessment of the antiprotozoal activity of *Pulicaria inuloides* extracts, an Algerian medicinal plant: leishmanicidal bioguided fractionation. *Parasitology Research*, 1-7.

Fahmy H.S., 2003. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Volatile oil of *Nauplius graveolens* (Forssk.)Less. *Journal of Environmental Sciences*, 26: 307-317.

Faustin M., 2013. Étude de l'effet des alcaloïdes sur la corrosion de l'acier C38 en milieu acide chlorhydrique 1M: application à *Aspidosperma album* et *Geissospermum laeve* (Apocynacées), Thèse de Doctorat Antilles-Guyane, p. 186.

Fawzy G.A., Al Ati H.Y., El Gamal A.A., 2013. Chemical composition and biological evaluation of essential oils of *Pulicaria jaubertii*. *Pharmacognosy Magazine*, 9(33): 28-32.

Fernandez X. and Chemat F., 2012. La chimie des huiles essentielles : Tradition et innovation, Ed. Vuibert, Paris, p. 122.

G

Gang D.R., 2013. 50 Years of Phytochemistry Research. Vol. 43, Springer Science & Business Media, p. 195.

Gast M., 1968. Alimentation des populations de l'Ahaggar: étude ethnographique. Arts et métiers graphiques. Paris, p. 456.

Genovese S., Taddeo V.A., Fiorito S., Epifano F., Marrelli M., Conforti F., 2017. Inhibition of nitric oxide production by natural oxyprenylated coumarins and alkaloids in RAW 264.7 cells. *Phytochemistry Letters*, 20:181-185.

Gherib M., Bekhechi C., El-Haci I.A., Chaouche T.M, Atik-Bekkara F., 2016. Antioxidant and Antibacterial Activities of Aerial Parts Essential Oil and Some Organic Extracts from the Algerian Medicinal Plant *Pulicaria mauritanica* coss. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(1):76-84.

Gortzi O., Lala S., Chinou I., Tsaknis J., 2007. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of *Origanum dictamnus* extracts before and after encapsulation in liposomes. *Molecules*, 12(5):932-945.

Gras A., Garnatje T., Ibáñez N., López-Pujol J., Nualart N., Vallès J., 2017. Medicinal plant uses and names from the herbarium of Francesc Bolòs (1773-1844). *Journal of ethnopharmacology*, 204:142-168.

Guillen M.D., Manzanos M.J., 1998. Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. plant. *Food chemistry*, 63(3):373-383.

H

Haddouchi F., Chaouche T.M., Halla N., 2016. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémostatique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

Haines D.D., Varga B., Bak I., Juhasz B., Mahmoud F.F., Kalantari H., Gesztelyi R., Istvan Lekli I., Czompa A., Tosaki, A., 2011. Summative interaction between astaxanthin, *Ginkgo biloba* extract (EGb761) and vitamin C in suppression of respiratory inflammation: a comparison with ibuprofen. *Pytotherapy Research*, 25(1):128-136.

Hamburger M., Hostettmann K., 1991. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, 30(12):3864-3874.

Hamid A.A., Aiyelaagbe O.O., Usman L.A., 2011. Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. *International Journal of Current Research*, 33(2): 86-98.

Hammer T.A., Davis R.W., Thiele K.R., 2017. *Wadithamnus*, a new monotypic genus in Amaranthaceae. *Phytotaxa*, 295(2):173-184.

Hanbali F.E., Akssira M., Ezoubeiri A., Gadhi C.A., Mellouki F., Benherraf A., Blazquez A.M., Boira H., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of ethnopharmacology*, 99(3): 399-401.

Harborne J.B. and Williams C.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55 (6): 481-504.

Heinrich G., Schultze W., Pfab I., Bottger M., 1983. The site of essential oil biosynthesis in *Poncirus trifoliata* and *Monarda fistulosa*. *Physiologie végétale*, 21:257-68.

Housam H., Warid K., Zaid A., 2014. Estimating the antioxidant activity for natural antioxidants (tocochromanol) and synthetic one by DPPH. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(5):441-444.

Huang B., He J., Ban X., Zeng H., Yao X., Wang Y., 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. *Meat science*, 87(1):46-53.

Husain S.R., Cillard J., Cillard P., 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, 26(9): 2489-2491.

Hussein K., Ahmed A.H., Al-Maqteri M. A., 2017. Composition and Radical Scavenging Activity of Edible Wild *Pulicaria jaubertii* (Asteraceae) Volatile Oil. *Biological Research*, 2(1): 21-29.

Hussien T.A., El-Toumy S.A., Hassan H.M., Hetta M.H., 2016. Cytotoxic and antioxidant activities of secondary metabolites from *Pulicaria undulata*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(9):150-155.

I

Ikigai H., Hara Y., Shimamura T., 1998. Mechanism of membrane damage by (-)-epigallocatechin gallate: comparison with polymyxin B. *Japanese Journal Chemotherapy*, 179-183.

INSA., 2015. Institut National des Sciences Appliquées de Rouen. Mise au point d'une technique de séparation et de quantification des composés présents dans une huile essentielle.

ISO, 1999, Norme Internationale ISO 8044.

J

Jamshidi-Kia F., Lorigooini Z., Amini-Khoei H., 2018. Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7(1):1-7.

J.O.R.A.D.P., 1987. Le Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

Joulain D., König W.A., 1998. The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons. E. B. Verlag, Hamburg, p. 661.

K

- Kaisoon O., Siriamornpun S., Weerapreeyakul N., Meeso N., 2011. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *Journal of Functional Foods*, 3(2): 88-99.
- Kamatou G.P. and Viljoen A.M., 2010. A review of the application and pharmacological properties of α -bisabolol and α -bisabolol-rich oils. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 87(1):1-7.
- Kamkar A., Ardekani M.R.S., Shariatifar N., Misagi A., Nejad A.S.M., Jamshidi A.H., 2013. Antioxidative effect of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* L. extracts in soybean oil. *South African Journal of Botany*, 85: 39-43.
- Karam J.H., 2007. Chapter 41: Pancreatic hormones and antidiabetic drugs. New York, USA, The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Karou D., Dicko M.H., Sanon S., Simpore J., Traore, A.S., 2003. Antimalarial activity of *Sida acuta* Burm.f.(Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* Poir.(Fabaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 89(2-3): 291-294.
- Kazeem M.I., Adamson J.O., Ogunwande I.A., 2013. Modes of Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Aqueous Extract of *Morinda lucida* Benth. Leaf. *BioMed Research International*, 527570:6.
- Khaled K.F. and Amin M.A., 2009. Corrosion monitoring of mild steel in sulphuric acid solutions in presence of some thiazole derivatives- Molecular dynamics, chemical and electrochemical studies. *Corrosion Science*, 51:1964-1975.
- Khan A.W., Jan S., Parveen S., Ali Khan R., Saeed A., Tanveer A.J., Shad A.A., 2012. Phytochemical analysis and Enzyme Inhibition Assay of *Aerva javanica* for Ulcer. *Chemistry Central Journal*, 6:76.
- Khare C.P., 2007. Indian medicinal plants: an illustrated dictionary. Springer Science & Business Media, p. 900.
- Khoudali S., Benmessaoud D., Essaqui A., Zertoubi M., Azzi M., Benaissa M., 2014. Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(3): 887-898.
- Kim J.S., Kwon, C.S., Son, K.H., 2000. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 64(11):2458-2461.
- Kim D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y., 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food chemistry*, 81(3):321-326.
- Knobloch E., Pauli A., Iberl B., Wies N., Weigand H., 1987. Mode of action of essential oil components on whole cells of bacteria and fungi in plate tests. *Bioflavour* 87: 287-299.

Krishnan A.G., Rai V. K. Nandy B. C., Meena K. C. Dey S. Tyagi P. K. Tyagi L. K., 2009 Hypoglycemic and Antihyperlipidaemic Effect of Ethanolic Extract of Aerial Parts of *Aerva lanata* Linn. in Normal and Alloxan induced Diabetic Rats. International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research, 1(3):191-194.

Kulišić T., Dragović-Uzelac V., Miloš M., 2006. Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. Food Technology & Biotechnology, 44(4):485-492.

Kumar G., Karthik L., Bhaskara Rao K.V., 2011. Haemolytic activity of Indian medicinal plants toward human erythrocytes: an *in vitro* study. Applied Botany, 40: 5534-5537.

Kumar G., Karthik L., Rao, K.V.B., 2013. Phytochemical composition and *invitro* antioxidant activity of aqueous extract of *Aerva lanata* (L.) Juss.ex Schult. Stem (Amaranthaceae). Asian Pacific journal of tropical medicine, 6(3): 180-187.

Kurkin V.A., 2003. Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity. Chemistry of Natural Compounds, 39(2):123-153.

L

Langeveld W. T., Veldhuizen E. J., and Burt, S. A., 2014. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. Critical reviews in microbiology, 40(1): 76-94

Lee S.Y., Mediani A., Nur Ashikin A.H., Azliana A.B.S., Abas F., 2014. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of the leaf and stem of selected traditional medicinal plants. International Food Research Journal, 21(1):379-386.

Left D.B., Zertoubi M., Irhzo A., Azzi M., 2013. Review: oils and extracts plants as corrosion inhibitors for different metals and alloys in hydrochloric acid medium. Journal of Materials and Environmental Science, 4(6):855-866.

Lei-Lei L., Yang J.-L., Shi Y.-P., 2010. Phytochemicals and biological activities of *Pulicaria* species. Chemistry and Biodiversity, 7(2): 327-349.

Leong S.W., Faudzi, S.M.M., Abas, F., Aluwi, M.F.F.M., Rullah, K., Wai, L.K., Abdul Bahari M.N., Ahmad S., Tham C.L., Shaari K., Lajis, N.H., 2014. Synthesis and sar study of diarylpentanoid analogues as new anti-inflammatory agents. Molecules, 19(10):16058-16081.

Li J., Hua Y., Ji P., Yao W., Zhao H., Zhong L., Wei Y., 2016. Effects of Volatile Oils of *Angelica Sinensis* on an Acute Inflammation Rat Model. Pharmaceutical Biology, 54(9): 1881-90.

Li Y., Fabiano-Tixier A.-S., Chemat F., 2014. Essential Oils as Reagents in Green Chemistry. Springer Cham Heidelberg, New York, Dordrecht London, p. 71.

López M.D. and Pascual-Villalobos M.J., 2010. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products*, 31(2): 284-288.

López M.D., Campoy F.J., Pascual-Villalobos M.J., Muñoz-Delgado E., Vidal, C.J., 2015. Acetylcholinesterase activity of electric eel is increased or decreased by selected monoterpenoids and phenylpropanoids in a concentration-dependent manner. *Chemico-Biological Interactions*, 229: 36-43.

Lubbe A. and Verpoorte R., 2011. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*, 34(1): 785-801.

M

Markham K.R., 1982. Techniques of flavonoid identification. Vol.3. London: Academic press, p. 113.

Mbunde M.V.N., Innocent E., Mabiki F., Andersson P.G., 2017. Ethnobotanical survey and toxicity evaluation of medicinal plants used for fungal remedy in the Southern Highlands of Tanzania. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 6(1): 84-96.

Mediani A., Abas F., Khatib A., Tan C. P., Ismail I. S., Shaari K., Lajis, N. H. 2015. Relationship between metabolites composition and biological activities of *Phyllanthus niruri* extracts prepared by different drying methods and solvents extraction. *Plant foods for human nutrition*, 70(2), 184-19

Medimagh S., Daami-Remadi M., Jabnoun-Khiareddine H., Ben Jannet, H., Ali Hamza M., 2012. Chemical composition, Antimicrobial and anti-acetylcholinesterase activities of essential oils from the Tunisian *Asteriscus maritimus* (L.) Less. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2(2): 459-470.

Medimagh S., Daami-Remadi M., Jabnoun-Khiareddine H., Naffati M., Ben Jannet H., Hamza, M.H.A., 2013. Chemical composition and *in vitro* evaluation of antimicrobial and anti-acetylcholinesterase activities of the root oil from *Asteriscus maritimus* (L.) Less Growing in Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(4): 443-450.

Merghache D., Boucherit-Otmani Z., Merghache S., Chikhi I., Selles C., Boucherit K., 2014. Chemical composition, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of Algerian *Eryngium tricuspidatum* L. essential oil. *Natural product research*, 28(11): 795-807.

M'Hiri, N., 2015. Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, p. 203.

Miguel M.G., 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules*, 15(12): 9252-9287.

Mohammed R.A., Abdulwahab M., Madugu I.A., Gaminana J.O., Asuke, F., 2013. Inhibitive effect by natural *Cyperus culentus* L. oil on the corrosion of A356.0-type Al-Si-Mg alloy in simulated seawater environment. *Journal of Material Environmental Science*, 1:93-98.

Mokhtari O., Hamdani I., Chetouani A., Lahrach A., El Halouani H., Aouniti A., Berrabah M., 2014. Inhibition of steel corrosion in 1M HCl by *Jatropha curcas* oil. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(1):310-319.

Molyneux P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2):211-219.

Murai A., Iwamura K., Takada M., Ogawa K., Usui T., Okumura J.I., 2002. Control of postprandial hyperglycaemia by galactosyl maltobionolactone and its novel anti-amylase effect in mice. *Life Sciences*, 71(12):1405-1415.

Murtaza S., Ullah R.S., Abbas A., Riaz T., Ghous T., Altaf Y., Khan M., Ahmed, S., 2013. On-line anti-acetylcholine esterase activity of extracts of *Oxystelma esculentum*, *Aerva javanica* and *Zanthoxylum armatum*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 35(3):801-804.

Mussadiq S., Riaz N., Saleem M., Ashraf M., Ismail T., Jabbar A., 2013. New acylated flavonoid glycosides from flowers of *Aerva javanica*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 15(7): 708-716.

N

Nawaz H., Shad M.A., Andleeb H., Rehman T., 2015. Phytochemical and Antioxidant Composition of Desert Cotton (*Aerva javanica*) Crude Extracts in Solvents with Varying Polarity. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 6(2):4238-4246 .

Nur Alam Md., Bristi N.J., Rafiquzzaman M.d., 2013. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21:143–152.

O

Ouzegane K., Bendaoud A., Kienast J.R., Touret J.L., 2001. Pressure-temperature-fluid evolution in Eburnean metabasites and metapelites from Tamanrasset (Hoggar, Algeria). *The Journal of Geology*, 109(2):247-263.

Owokotomo I.A., Ekundayo O., Abayomi T.G., Chukwuka A.V., 2015. *In-vitro* anti-cholinesterase activity of essential oil from four tropical medicinal plants. *Toxicology reports*, 2:850-857.

Oyaizu M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44:307-315.

Ozenda P., 1991. Flore et Végétation du Sahara. 3^{ème} édition, p. 430.

Ozenda P., 2004. Flore du Sahara, 3rd Ed. CNRS, Paris, p. 622.

P

Paolini J., 2005. 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.

Palá-Paúl J., Usano-Aleman, J., Soria, A. C. 2014. Essential Oil Composition of *Asteriscus maritimus* (L.) Less. from Spain. Journal of Plant and Biological Soil Health, 1(2):4.

Pavia D.L., Lampman G.M., Kriz G.S., 1976. Introduction to organic laboratory techniques WB Saunders Co Philadelphia, USA, p. 567.

Philip Y., Mohd Fadzelly, A.B., 2015. Antioxidative and acetylcholinesterase inhibitor potential of selected honey of Sabah, Malaysian Borneo. International Food Research Journal, 22(5): 1953-1960.

Picollo M.I., Toloza A.C., Mougabure C.G., J. Zygadlo, E. Zerba., 2008. Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids. Fitoterapia, 79: 271-278.

Pinchuk H., Shoval, Y. Dotan, D., 2012. Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. Review Chemistry and Physics of Lipids, 165: 638-647.

Politeo O., Skocibusic M., Maravic A., Ruscic M., Milos M., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of endemic Dalmatian black pine (*Pinus nigra* ssp. *dalmatica*). Chemistry & biodiversity, 8(3):540-547.

Popovici C., Saykova I., Tylkowsk, B., 2009. Évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, 4:25-39.

Priscilla C.V., Martinez J., Angela A.M., 2013. Chapter 2. Fundamentals of microwave extraction. Springer Science-Business Media New York.

Properzi A., Angelini P., Bertuzzi G., Venanzoni R., 2013. Some biological activities of essential oils. Medicinal and Aromatic Plants, 2: 136.

Q

Qaid Nabil M.A., Algabr M.N., Alyousef H.A., Sharif H.R., Thabit R., Aboshora W., Al-Farga A., Wang H., 2016. *In vitro* and *in vivo* évaluation of antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of *Pulicaria inuloides*-Asteraceae. Journal of Food and Nutrition Research, 4(7): 461-470.

Quézel P. and Santa S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales CNRS, Paris, Vol. II, p. 949.

R

Rached W., Benamar H., Bennaceur M., Marouf A., 2010. Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. The Journal of Biological Sciences, 10(4):316-324.

Ramadan M.F., Amer M.M.A., Mansour H.T., Wahdan K.M., El-Sayed R.M., El-Sanhoty S., El-Gleel W.A., 2009. Bioactive lipids and antioxidant properties of wild Egyptian *Pulicaria incise*, *Diplotaxis harra*, and *Avicennia marina*. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 4(3):234-239.

Ramdane F., Mahammed M.H., Ould Hadj M.D., Chanai A., Hammoudi R., Hillali N., Mesrouk H., Bouafia I., Bahaz C., 2015. Ethnobotanical study of some medicinal plants from Hoggar, Algeria. Journal of Medicinal Plants Research, 9(30): 820-827.

Ramdane F., Essid R., Mkadmini K., Hammami M., Fares N., Mahammed M.H., El Ouassiss D., Tabbene O., Limam F., Hadj, M.D.O., 2017. Phytochemical composition and biological activities of *Asteriscusgraveolens* (Forssk) extracts. Process Biochemistry, 56:186-192.

Ramkissoon J.S., Mahomoodally M.F., Ahmed N., Subratty A.H., 2014. Therapeutic potential of common culinary herbs and spices of Mauritius. In Chemistry: the key to our sustainable future Springer, Dordrecht: 147-162.

Ranitha M., Abdurahman H.N., Ziad A.S., Azhari H.N., Thana R.S., 2014. A comparative study of Lemongrass (*Cymbopogon Citratus*) essential oil extracted by Microwave-Assisted Hydrodistillation (MAHD) and Conventional Hydrodistillation (HD) Method. International Journal of Chemical Engineering and Applications, 5(2).

Ravandeh M., Valizadeh J., Noroozifar M., Khorasani-Motlagh M., 2011. Screening of chemical composition of essential oil, mineral elements and antioxidant activity in *Pulicaria undulata* from Iran. Journal of Medicinal Plants Research, 5(10): 2035-2040.

Reddy K.S. and Reddy V.M., 2009. Antihyperglycaemic activity of ethanol extract of *Aerva javanica* leaves in alloxan-induced diabetic mice. Journal of Pharmacy Research, 2(7): 1259-1261.

Rhayour K. 2002. Étude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse Doctorat Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc, p. 152.

Ryu, H.W., Cho, J.K., Curtis-Long, M.J., Yuk, H.J., Kim, Y.S., Jung, S., Kim Y.S., Lee B.W., Park, K.H., 2011. α -Glucosidase inhibition and antihyperglycemic activity of prenylated xanthenes from *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*, 72(17):2148-2154.

S

Saad B. and Said O., 2011. Greco-Arab and Islamic herbal medicine: traditional system, ethics, safety, efficacy, and regulatory issues. John Wiley & Sons.

Sahki R., 1998. Les plantes naturelles utilisées pour guérir les affections dues aux animaux venimeux scorpions. *Revue FOREM Santé* + N°1.

Sahki A. and Sahki, R., 2004. Le Hoggar promenade botanique. Ed. Ésope. Lyon, p. 311.

Sahki R., 2012. Contribution à l'étude de phytoécologie et inventaire des plantes médicinales du Sahara central (Feuilles d'Assekrem au 1/200000) (Unpublished Thesis). F.S.B. Univ. U.S.T.H.B., Algeria.

Samejo M. Q., Memon S., Bhanger M. I., Khan K. M., 2012. Chemical compositions of the essential oil of *Aerva javanica* leaves and stems. *Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry*, 13(1) : 5.

Samejo M. Q., Memon S., Bhanger M. I., Khan K. M. 2013. Comparison of chemical composition of *Aerva javanica* seed essential oils obtained by different extraction methods. *Pakistan Journal of Pharmacy and Science*, 26(4):757-760.

Sarikurkcü C., Zengin G., Oskay M., Uysal S., Ceylan R., Aktumsek A., 2015. Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. *Industrial Crops and Products*, 70: 178–184.

Savelev S.U., Okello E.J., Perry E.K., 2004. Butyryl- and acetylcholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. *Phytotherapy Research*, 18: 315-324.

Sell C., 2010. Chemistry of Essential Oils. In Can Başer & Buchbauer. Chapter 5, (Eds.). (2010). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC Press/Taylor & Francis. Science, Technology, and Applications. CRC Press. Taylor & Francis Group, p. 121-150.

Selles C., Benali O., Tabti B., Larabi L., Harek Y., 2012. Green corrosion inhibitor: inhibitive action of aqueous extract of *Anacyclus pyrethrum* L. for the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄. *Journal of Materials and Environmental Science*, 3(1):206-219.

Selles C., 2012. Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse de doctorat d'état, Université de Tlemcen, Algérie.

Senhaji B., Chebli B., Mayad E.H., Ferji Z., 2014. Antifungal activity of medicinal plants extracts against *Botrytis cinerea* the causal agent of gray mold on tomato. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, 4(26):141-147.

Shad A.A., Asmat S., Bakht J., Din A.U., 2017. Screening of *Aerva javanica* and *Linum usitatissimum* for their antidiabetic and anti-oxidant activity. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 30(1).

Shahat E.A., Bakr R.O., Eldahshan O.A., Ayoub N.A., 2017. Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oil from Leaves and Flowers of *Pulicaria incise* sub. *candolleana* Growing in Egypt. Chemistry and Biodiversity, 14(1).

Shahidi F., Janitha P.K., Wanasundara P.D., 1992. Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 32(1):67-103.

Shaker M.A., Ahmed M.G., Amany, M.B., Shereen L.N., 2009. World Applied Sciences Journal, 7(2): 151.

Shariatifar N., Kamkar A., Shamse Ardekani M.R., Misagi A., Akhonzade A., Jamshidi A.H., 2014. Composition and antioxidant activities of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* essential oil in Soybean oil. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 27(4):807-812.

Sharif A., Ahmed E., Hussain M. U., Malik A., Ashraf M., 2011. Antimicrobial constituents from *Aerva javanica*. Journal of the Chemical Society of Pakistan, 33(3): 439-443.

Sikkema J., de Bont J.A., Poolman B., 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. 1995. Microbiological Reviews, 59(2):201-22.

Simon B.I.A., Lidianys M.L.L., Gil-Salido A., Claudia L., Espinoza L., Fernandez A.D., Jose L., Betancourt Riera R., 2017. Anti-inflammatory activity and modulate oxidative stress of *Bucida buceras* in lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 macrophages and Carrageenan induced acute paw edema in rats. Journal of Medicinal Plants Research Anti-inflammatory, 11(12):239-252.

Singleton V.L. and Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16(3):144-158.

Sowndhararajan K., Deepa P., Kim M., Park S.J., Kim S., 2017. A Review of the Composition of the Essential Oils and Biological Activities of *Angelica* Species. Scientia Pharmaceutica, 85(3): 33.

Sultan A.A., Ateeq A.A., Khaled N.I., Taher M.K., Khalaf M.N., 2014. Study of Some Natural Products as Eco-Friendly Corrosion Inhibitor for Mild Steel in 1.0 M HCl Solution. Journal of Materials and Environmental Science, 5(2):498-503.

Swamy M. K., Akhtar M. S., Sinniah U. R., 2016. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016.

Swigar A.A., Silverstein R.M., 1981. Monoterpenes, Milwaukee: Aldrich Chem. Comp.

T

Talpur N., Echard B., Ingram C., Bagchi D., Preuss H., 2005. Effects of a novel formulation of essential oils on glucose–insulin metabolism in diabetic and hypertensive rats: a pilot study. Diabetes, Obesity and Metabolism, 7(2):193-199.

Tepe B., Donmez E., Unlu M., Candan F., Daferera D., Vardar-Unlu G., Polissou M., Sokmen, A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl.). Food Chemistry, 84(4): 519-525.

Thiv M., Thulin M., Kilian N., Linder H.P., 2006. Eritreo-Arabian affinities of the Socotran flora as revealed from the molecular phylogeny of *Aerva* (Amaranthaceae). Systematic Botany, 31(3):560-570.

Thuille N., Fille M., Nagl M., 2003. Bactericidal activity of herbal extracts. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 206(3):217-221.

Torel J., Cillard J., Cillard P., 1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. Phytochemistry, 25(2):383-385.

U

Urbain A., 2007. Isolement de xanthones et coumarines inhibitrices de l'acétylcholinestérase, respectivement à partir de *Gentianella campestris* (L.) Börner et *Gentianella amarella* (L.) Börner ssp. *Acuta* (Michx.) JM Gillett (Gentianaceae), et *Peucedanum ostruthium* (L.) Koch (Apiaceae). Thèse de Doctorat Université de Genève, Suisse, p. 182.

V

Vadivu S.D., Saratha R., Jothi V.R., 2016. Corrosion inhibition of mild steel in hydrochloric acid medium using plant extracts – a succinct review. International Journal of Science, Engineering and Technology Research. 5(12): 3324-3340.

Venturini N., 2012. Contribution chimique à la définition de la qualité : exemples des spiritueux de myrte (*Myrtus communis* L.) et de cedrat (*Citrus medica* L.) de corse. Thèse de Doctorat Université de Corse-Pascal Paoli, France, p. 242.

Vongsak B., Kongkiatpaiboon S., Jaisamut S., Machana S., Pattarapanich C., 2015. *In vitro* alpha-glucosidase inhibition and free-radical scavenging activity of propolis from Thai stingless bees in mangosteen orchard. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 25(5):445-450.

W

Wagner H. and Bladt S., 1996. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer Science & Business Media, p. 384.

Warnke P.H., Becker S.T., Podschun R., Sivananthan S., Springer I.N., Russo, P.A., Wiltfang J., Fickenscher H., Sherry E., 2009. The battle against multi-resistant strains: renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. Journal of Cranio-maxillo-facial Surgery, 37(7):392-397.

Werner M., 2002. Les Huiles Essentielles : réveil du corps et de l'esprit, Ed. Vioget, Collection Santé bien-être.

Wetwitayaklung P., Limmatvapirat C., Phaechamud T., Keokitichai S., 2007. Kinetics of acetylcholinesterase inhibition of *Quisqualis indica* Linn. flower extract. Silpakorn University Science and Technology Journal, 1(2): 20-28.

Wiklund A., 1987. The genus *Nauplius* (Asteraceae-Inuleae). Nordic Journal of Botany, 7(1):1-23.

Y

Yemoa A.L., Gbenou J.D., Johnson R.C., Djego J.G., Zinsou C., Moudachirou M., Quetin-Leclercq J., Bigot A., Portaels F., 2008. Identification et étude phytochimique de plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère de Buruli au Bénin. Ethnopharmacologia, 42: 48-55.

Z

Zaabat N., Darbour N., Bayet C., Michalet S., Doléans-Jordhem A., Chelr-Ghedlra L., Akkal S., Dijoux-Franca M.G., 2010. Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une Lamiaceae endémique algérienne. Phytothérapie, 8(6):353-358.

Zhu F., Du B., Xu B., 2017. Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1-11.

Ziani B.E., Calhelha R.C., Barreira J.C., Barros L., Hazzit M., Ferreira I.C., 2015. Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora: Selecting the species with the highest potential in view of application purposes. Industrial Crops and Products, 77: 582-589.

Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M., Benjelloun W., 1997. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. Journal of ethnopharmacology, 58(1):45-54.

Znini M., Cristofari G., Majidi L., Mazouz H., Tomi P., Paolini J., Costa, J., 2011. Antifungal activity of essential oil from *Asteriscus graveolens* against postharvest phytopathogenic fungi in apples. Natural Product Communications, 6(11):1763-1768.

Znini M., Cristofari G., Majidi L., Ansari A., Bouyanzer A., Paolini, J., Hammouti, B. 2012. Green approach to corrosion inhibition of mild steel by essential oil leaves of *Asteriscus graveolens* (Forssk.) in sulphuric acid medium. Int J Electrochem Sci, (7) 3959-3981.

Znini M., Cristofari G., Majidi L., Paolini J., Desjobert J.M., Costa J., 2013. Essential oil composition and antifungal activity of *Pulicaria mauritanica* Coss., against postharvest phytopathogenic fungi in apples. LWT-Food Science and Technology, 54(2):564-569.

Annexe

Liste des Publications & des Communications

Les résultats obtenus lors de mes travaux de thèse ont fait l'objet de publications dans des revues internationales à comité de lecture (03) et ont été présentés dans des congrès nationaux et internationaux (02 communications).

Publications:

Article 01 : Nadia FEKIH, Hocine ALLALI, Salima MERGHACHE, **Faïza CHAIB**, Djamila MERGHACHE, Mohamed El Amine DIB, Nassim DJABOU, Alain MUSELLI, Boufeldja TABTI, Jean COSTA. "Chemical composition and antibacterial activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* (APJTD), **2014**; 4(2): 97-103. doi:10.1016/S2222-1808(14)60323-6.

Available online at: <http://www.apjtd.com>

Article 02: **Faïza CHAIB**, Rabâa SAHKI, Nasreddine SABAOU, Wahiba RACHED, Malika BENNACEUR. "Phytochemical Investigation and Biological Activities of Some Saharan Plants from Hoggar", *Journal of Agricultural Science*, **2015**; 7(7): 163-173. doi:10.5539/jas.v7n7p163

<http://dx.doi.org/10.5539/jas.v7n7p163>

Article 03: **Faïza CHAIB**, Hocine ALLALI, Malika BENNACEUR, Guido FLAMINI. "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aerial Parts of *Asteriscus graveolens* (Forssk.) Less. and *Pulicaria incisa* (Lam.) DC.: Two Asteraceae Herbs Growing Wild in the Hoggar", *Chemistry and Biodiversity*, **2017**; 14, e1700092. doi:10.1002/cbdv.201700092

Available online at: www.cb.wiley.com

Communications:

Communications Nationales:

Faïza CHAIB. "Screening phytochimique et évaluation biologique de quelques lamiacées du Hoggar". First International Congress of Biotoxicology and Bioactivity, 26-27 Novembre **2014**, Oran, Algérie.

Communications Internationales:

Faïza CHAIB, Hocine ALLALI, Malika BENNACEUR, Guido FLAMINI. "Composition Chimique et Activités Biologiques de l'Huile Essentielle de *Pulicaria incisa*, une Asteraceae Poussant dans le Sud Algérien «Hoggar»", 8^{ème} Journées Scientifiques Internationale sur la Valorisation des Bioressources, 5-7 mai **2017**, Monastir, Tunisie.

Résumé:

Le Hoggar, moins chaud et moins aride que la plaine désertique, sert de refuge à beaucoup de plantes. Dans cette région du sud, un taux d'endémisme élevé est observé et croît avec l'altitude. Douze plantes aromatiques et médicinales appartenant à neuf familles botaniques sont étudiées scientifiquement afin de confirmer leur usage comme remèdes traditionnels par les Touaregs. Pour ce faire, une étude ethnobotanique est suivie d'investigations chimiques et biologiques. Le criblage phytochimique, des extraits aqueux et alcooliques, met en évidence plusieurs métabolites secondaires parmi lesquels les saponosides, les glycosides cardiotoniques et les flavonoïdes. Ces derniers sont responsables des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits obtenus. Cette étude est suivie, dans un deuxième temps, par un intérêt particulier porté aux HEs de la *P. incisa*, de l'*A. graveolens* et de l'*A. javanica*. Après caractérisation chimique par CPG et CPG/SM, les fractions volatiles de ces plantes sont valorisées par évaluation de leurs activités biologiques, notamment, antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, enzymatique etc. et aussi leurs utilisations comme inhibiteurs de la corrosion. Les résultats sont prometteurs, confirment l'usage traditionnel de ces plantes et ouvrent la voie à de nouvelles applications des HEs.

Mots clés: Produits naturels, Huiles essentielles, CPG et CPG/SM, Activités biologiques, Activité anticorrosion.

Abstract:

The Hoggar, less hot and less arid than the desert plain, serves as a refuge for many plants. In this southern region, a high rate of endemism is observed and increases with altitude. Twelve aromatic and medicinal plants belonging to nine botanical families are studied scientifically to confirm their use as traditional remedies by the Tuaregs. For this purpose, an ethnobotanical study is followed by chemical and biological investigations. Phytochemical screening of aqueous and alcoholic extracts reveals several secondary metabolites including saponosides, cardiotonic glycosides and flavonoids. The latter are responsible for the antimicrobial and antioxidant activities of the extracts obtained. This study is followed, in a second time, by a particular interest in the EOs of *P. incisa*, *A. graveolens* and *A. javanica*. After chemical characterization by GC and GC/MS, the volatile fractions of these plants are valorized by evaluation of their biological activities, in particular, antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, enzymatic, etc. and also their uses as corrosion inhibitors. The results are promising, confirm the traditional use of these plants and pave the way for new applications to EOs.

Keywords: Natural products, Essential oils, GC and GC/MS, Biological activities, Anticorrosion activity.

المخلص:

يعتبر الهقار، الأقل حرًا وأقل جفافًا من السهل الصحراوي، ملاذًا للعديد من النباتات. في هذه المنطقة الجنوبية، لوحظ ارتفاع معدل التوطن ويزداد مع الارتفاع. تمت دراسة اثنتي عشرة نباتات عطرية وطبية تنتمي إلى تسع عائلات نباتية للتأكد من استخدامها كعلاجات تقليدية من قبل الطوارق. لهذا الغرض، تلت دراسة إثنوبوتانية تحقيقات كيميائية وبيولوجية. يكتشف الفحص الكيميائي النباتي للمستخلصات المائية والكحولية عن العديد من المستقلبات الثانوية بما في ذلك السابونوزيدات، جليكوسيدات cardiotonic وفلافونويدس. هذه الأخيرة هي المسؤولة عن الأنشطة المضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة من المقطوعات التي تم الحصول عليها. تتبع هذه الدراسة، في المرة الثانية، اهتمامًا خاصًا بالزيوت العطرية لـ *P. incisa* و *A. graveolens* و *A. javanica*. بعد التوصيف الكيميائي بواسطة GC و GC / MS، يتم تقييم الأجزاء المتطايرة من هذه النباتات من خلال تقييم أنشطتها البيولوجية، على وجه الخصوص، مضادات الميكروبات، مضادات الأكسدة، المضادة للالتهابات، الأنزيمية، إلخ، وكذلك استخداماتها كمثبطات للتآكل. النتائج واعدة، وتؤكد الاستخدام التقليدي لهذه النباتات وتمهد الطريق لتطبيقات جديدة للزيوت الأساسية.

الكلمات المفتاحية: المنتجات الطبيعية، الزيوت الأساسية، GC و GC / MS، الأنشطة البيولوجية، نشاط مقاومة التآكل.

Rapport-gratuit.com

LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from the Aerial Parts of *Asteriscus graveolens* (FORSSK.) LESS. and *Pulicaria incisa* (LAM.) DC.: Two Asteraceae Herbs Growing Wild in the Hoggar

Faiza Chaib,^{a,b} Hocine Allali,^{*a} Malika Bennaceur,^b and Guido Flamini^c

^aLaboratoire des Substances Naturelles & Bioactives (LASNABIO), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid, BP 119, Tlemcen 13000, Algérie, e-mail: h_allali72@yahoo.fr

^bLaboratoire de Biochimie Végétale, Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Oran1 Ahmed Benbella, Oran, Algérie

^cDipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Via Bonanno, IT-56126 Pisa

In recent years, antimicrobial activities of essential oils have been intensively explored, mainly in researching and developing new antimicrobial agents to overcome microbial resistance. The present study investigates the chemical composition and antimicrobial activities of essential oils obtained from two *Asteraceae*: *Asteriscus graveolens* (FORSSK.) LESS. and *Pulicaria incisa* (LAM.) DC. Chemical analysis was performed using a combination of capillary GC-FID and GC/MS analytical techniques. The major component of *Asteriscus graveolens* were *cis*-chrysanthenyl acetate (31.1%), myrtenyl acetate (15.1%), and kessane (11.5%), while for *Pulicaria incisa* the main components were chrysanthenone (45.3%) and 2,6-dimethylphenol (12.6%). The oils obtained from the aerial parts were tested against sixteen microbial strains by agar well diffusion technique and dilution methods and showed minimum inhibitory concentrations (MIC) in the range of 19 – 1250 µg/ml. A good antibacterial activity against a common nosocomial pathogen, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 was observed, especially from *Pulicaria incisa* essential oil, with a MIC value up to 19 µg/ml. These results give significant information about the pharmacological activity of these essential oils, which suggest their benefits to human health, having the potential to be used for medical purposes.

Keywords: *Pulicaria incisa*, *Asteriscus graveolens*, Aerials parts, Essential oils, GC, GC/MS, Antimicrobial Activity.

Introduction

Essential oils derived from aromatic and medicinal plants have been recognized for decades to exhibit biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, and antimicrobial attributes.^{[1][2]} Antimicrobial activities of these natural plant materials have been intensively explored in recent years. Even today, essential oils are attracting substantial interest from scientists because of their use in the treatment of certain infectious diseases for which synthetic antibiotics are becoming less active.^{[1][3][4]}

Asteraceae, formerly known as Compositae, is one of the largest families of flowering plants comprising about 1535 genera and about 23 000 species, cosmopolitan. It represents approximately 10% of all world flora.^[5] The plants of the Asteraceae family have been largely studied for their chemical composition and biological activity.^[6]

The genus *Asteriscus* with its eight species, belonging to the *Inula*-group of the *Asteraceae-Inuleae*, is represented in the Macaronesian, North African, and Mediterranean areas. Two species are very widespread, namely the mainly Mediterranean *Asteriscus aquaticus* and *Asteriscus graveolens*. The other six species have very restricted distributions.^[7] Taxonomic study carried out in 1997 by Greuter demonstrated that the genus *Asteriscus* replaces *Nauplius* CASS.^[8] The chemical composition of the essential oils and biological actions of some of them have been reported by some authors.^[9 – 13]

In Algeria this genus includes five species: *A. graveolens* (FORSSK.) LESS., *A. aquaticus* (L.) LESS., *A. maritimus* (L.) LESS., *A. pygmaeus* COSS. et KRAL, and *A. spinosus* G.G.^{[14][15]} *A. graveolens* (FORSSK.) LESS. has as synonyms *Bubonium graveolens*, *Odontospermum graveolens*, or *Nauplius graveolens*.^{[7][8]} This Saharan-Sindian species occurs throughout the central and

northern *Sahara*, and in Egypt. In the Hoggar, located in the province of Tamanrasset (South of Algeria), it is frequent in desert savannas, *silty-sandy and stony wadis* and also on rocky mountains up to 2800 m. It is locally known as *Tameyou*, and has been used in the folk medicine for treating fever, cephalic pains and against vomiting. The Tuareg also use this herb to flavor tea.^[16]

The genus *Pulicaria*, which belongs to the tribe *Inuleae* of the *Asteraceae* family, consists of 100 species spread across Europe, Africa, and Asia.^[17] The species of the genus *Pulicaria* are numerous and varied. Recent phytochemical investigations on different species have led to the isolation of monoterpenes, flavonoids, acetylenes, isocomene, and sesquiterpene lactones and other compounds from the different plant parts, which have attracted considerable attention due to their pharmacological properties supporting the traditional use.^[18–23]

In Algeria, the genus *Pulicaria* is represented by sixteen species. Four are located in the Sahara^{[14][15]} and among them, *P. incisa* (LAM.) DC. is also known as *P. undulata* (L.) DC., *P. desertorum* DC., and *P. prostrata* (GILIB.) ASCHERS.^[24] It is a Sahara-Sindian species, which is common in Hoggar. It is locally known as *Ameyou*.^[16] Touareg, autochthons of Algeria use decoction of *P. incisa* against colds, flu, and tachycardia. Its flowers are also used to flavor tea.^[16] *Pulicaria incisa* is used by the natives of some upper Egyptian areas in the form of a decoction, sweetened with sugar as a substitute for tea.^[25] This species is also used as a traditional medicine for treating heart diseases by Bedouins.^[26] The plant has a pleasant aromatic smell and it is well known for its essential oil, which is partly responsible for its use in preparing the tonic drink. Karim *et al.*^[27] reported that *P. incisa* was used as a tonic and a tea substitute, antispasmodic, hypoglycemic and as an ingredient of a local perfume in the Sudan. In Iran the genus *Pulicaria* is commonly used as herbal tea, flavoring agent, and medicinal plant.^[28]

In this article, we present a detailed study of the hydrodistilled oils of *A. graveolens* and *P. incisa*, two *Asteraceae* available in Hoggar. Moreover, their antimicrobial activities were assayed.

Results and Discussion

Characterization of the Essential Oils of the Aerial Parts

The hydrodistillation of the dried aerials parts of *A. graveolens* gave a yellowish-green oil with an aromatic fragrant odour. While the oils obtained from *P. incisa* were pale yellow oil with an aromatic,

fragrant and pleasant odour. The oil yields were 0.30% and 0.50% (w/w) for *A. graveolens* and *P. incisa*, respectively. Our results are in agreement with earlier studies carried out on other species of the two genera previously studied in the Mediterranean region. Authors reported that the genus *Pulicaria* yields relatively moderate quantities of essential oil, while *Asteriscus* genus yields low amounts of essential oil.^{[10][23]}

The identified components, their retention indices and their proportions are summarized in *Tables 1* and *2*, and are arranged in their order of elution on DB-5 column.

In *A. graveolens*, a total of 31 components were identified, representing 97.0% of the aerial parts essential oil. It consists exclusively of terpenoids, primarily eight oxygenated monoterpenes, which accounted for 53.9%, together with 13 oxygenated sesquiterpenes that made up further 35.2% of the volatile oil. Six monoterpene hydrocarbons constituted 5.7% and four sesquiterpene hydrocarbons accounted for 2.2% of the aerial parts oil. The main constituents in this oil were *cis*-chrysanthenyl acetate (31.1%), myrtenyl acetate (15.1%), kessane (11.5%), liguloxide (7.4%), *cis*-chrysanthenol (5.3%), T-cadinol (4.5%), valerianol (3.8%; *Table 1*).

Previous studies on *Asteriscus* species and subspecies have revealed the abundance of 1,8-cineole (21.5%), δ -cadinol (19.1%), δ -cadinene (12.4%), and humulene epoxide II (6.2%) in *A. graveolens* subsp. *stenophyllus* leaves;^[9] 6-oxocyclonerolidol (30.72%), T-cadinol (14.50%), α -pinene (4.22%), α -bisabolone oxide (3.56%), humulene epoxyde II (3.5%), and bisabolone (3.5%) in *A. graveolens* subsp. *odorus* aerial parts;^[10] 6-oxocyclonerolidol (66.7%), 6-hydroxycyclonerolidol (8.8%), and intermedeol (4.3%) in *A. graveolens* aerial parts;^[11] *cis*-8-acetoxychrysanthenyl acetate (48.5%), *cis*-chrysanthenyl acetate (13.4%), T-Cadinol (11.4%), 6-oxocyclonerolidol (7.8%), α -oxobisabolene (5.7%) in *A. graveolens* (FORSSK.) LESS. flowers from Morocco;^[12] 1,5-dihydroxy-6,7-dimethylocta-3,5-diene (8.62%), carveol (6.07%), α -pinene (3.83%), cedrenol (3.10%), α -phellandrene (2.12%), and α -himachalene (1.89%) in *Nauplius graveolens* flowering parts from Sinai.^[13]

Some major constituents of previous studies on the essential oil of *Asteriscus* plants such as 1,8-cineole, β -phellandrene, *m*-cymene, *exo*-2-hydroxycineole, *trans*-chrysanthenyl acetate, menthyl acetate, 2,6-dimethyl-1,6-heptadien-4-yl acetate, 6-oxocyclonerolidol, δ -cadinene and phytol were not identified in the *A. graveolens* aerial parts oil. This observed variation in the compositional profile may be attributed to the soil composition, plant organ, vegetative cycle phase and climate.^[29]

Table 1. Chemical composition of *A. graveolens* aerial parts essential oil

No. ^a	Compounds	<i>R</i> _I ^b	Essential Oils [%] ^c	Identification ^d
1	α-Pinene	941	2.6	<i>RI</i> , MS
2	Sabinene	977	0.2	<i>RI</i> , MS
3	Myrcene	993	2.2	<i>RI</i> , MS
4	α-Phellandrene	1006	0.3	<i>RI</i> , MS
5	<i>p</i> -Cymene	1028	0.1	<i>RI</i> , MS
6	Limonene	1032	0.3	<i>RI</i> , MS
7	Linalool	1101	0.2	<i>RI</i> , MS
8	cis-Chrysanthenol	1163	5.3	<i>RI</i> , MS
9	4-Terpineol	1179	0.2	<i>RI</i> , MS
10	Myrtenol	1195	1.6	<i>RI</i> , MS
11	cis-Chrysanthenyl acetate	1263	31.1	<i>RI</i> , MS
12	Bornyl acetate	1287	0.2	<i>RI</i> , MS
13	Myrtenyl acetate	1327	15.1	<i>RI</i> , MS
14	α-Humulene	1455	0.7	<i>RI</i> , MS
15	Germacrene D	1482	0.8	<i>RI</i> , MS
16	β-Selinene	1487	0.4	<i>RI</i> , MS
17	Bicyclogermacrene	1496	0.3	<i>RI</i> , MS
18	Kessane	1528	11.5	<i>RI</i> , MS
19	Liguloxide	1530	7.4	<i>RI</i> , MS
20	Spathulenol	1577	0.3	<i>RI</i> , MS
21	Caryophyllene oxide	1582	0.3	<i>RI</i> , MS
22	Neryl isovalerate	1584	0.2	<i>RI</i> , MS
23	Rosifolol	1601	0.4	<i>RI</i> , MS
24	Humulene epoxide II	1607	1.6	<i>RI</i> , MS
25	1,10-di- <i>epi</i> -Cubenol	1615	0.8	<i>RI</i> , MS
26	T-Cadinol	1641	4.5	<i>RI</i> , MS
27	β-Eudesmol	1650	0.8	<i>RI</i> , MS
28	Valerianol	1656	3.8	<i>RI</i> , MS
29	Bulnesol	1667	1.1	<i>RI</i> , MS
30	<i>epi</i> -α-Bisabolol	1686	0.4	<i>RI</i> , MS
31	Bisabolone	1749	2.3	<i>RI</i> , MS
	Total Identification%		97.0	
	Yields [%] (w/w)		0.30	
	Monoterpene hydrocarbons		5.7	
	Oxygenated monoterpenes		53.9	
	Sesquiterpene hydrocarbons		2.2	
	Oxygenated sesquiterpenes		35.2	

The main compounds are reported in bold. ^a Order of elution is given on apolar capillary column DB-5. ^b Retention indices (*R*_I) determined relatively to the retention time of a series of *n*-alkanes. ^c Relative percentage calculated by GC-FID on an apolar capillary column DB-5. ^d *RI*: Retention Indices; MS: Mass Spectra in electronic impact.

Chemical analyses of *P. incisa* aerial parts essential oil revealed the occurrence of 42 components accounting for 97.3% of the oil. Identified compounds characterized in the oil and their percentage concentrations are shown in Table 2. The oil was mainly composed of monoterpenoids, sesquiterpenoids, and aromatic compounds. It consists mainly of oxygenated compounds (91.1%) and it was found that the terpenoid content of the aerial parts oil was high (80.2%). Thirteen oxygenated monoterpenes (55.2%) made up the bulk of the oil, together with small amounts of hydrocarbons derivatives (1.4%). Twelve oxygenated sesquiterpenes (18.8%), six sesquiterpene hydrocarbons (4.8%), and

five aromatic compounds (16.4%) were also identified in the oil. The aromatic alcohol and ketone detected were *p*-methylbenzyl alcohol and 2,4-dimethylacetophenone, which occurred as minor components of the aerial parts oil. The quantitatively significant compounds were chrysanthenone (45.3%), 2,6-dimethylphenol (12.6%), α-cadinol (5.6%), eudesma-4(15),7-dien-1-ol (3.5%), and T-cadinol (3.6%). The high content of oxygenated compounds might explain the characteristic and fragrant odour of the oil.

The chemical composition of the essential oils from other species belonging to the genus *Pulicaria* has been widely investigated.^[18 – 23]

Table 2. Chemical composition of *P. incisa* aerial parts essential oil

No. ^a	Compounds	<i>R</i> _I ^b	Essential Oils [%] ^c	Identification ^d
1	<i>α</i> -Pinene	941	0.2	<i>RI</i> , MS
2	Sabinene	977	0.2	<i>RI</i> , MS
3	<i>p</i> -Cymene	1028	0.3	<i>RI</i> , MS
4	Limonene	1032	0.3	<i>RI</i> , MS
5	<i>cis</i> -Linalool oxide (furanoid)	1076	0.5	<i>RI</i> , MS
6	Terpinolene	1090	0.4	<i>RI</i> , MS
7	2,6-Dimethylphenol	1105	12.6	<i>RI</i> , MS
8	<i>p</i> -Methylbenzyl alcohol	1107	2.3	<i>RI</i> , MS
9	Chrysanthenone	1126	45.3	<i>RI</i> , MS
10	2-Ethylphenol	1141	0.6	<i>RI</i> , MS
11	<i>cis</i> -Verbenol	1145	0.3	<i>RI</i> , MS
12	<i>cis</i> -Chrysanthenol	1163	2.3	<i>RI</i> , MS
13	Borneol	1167	1.5	<i>RI</i> , MS
14	4-Terpineol	1179	0.9	<i>RI</i> , MS
15	<i>α</i> -Terpineol	1191	0.2	<i>RI</i> , MS
16	Verbenone	1206	0.6	<i>RI</i> , MS
17	2,4-Dimethylacetophenone	1220	0.4	<i>RI</i> , MS
18	Carvotanacetone	1247	0.6	<i>RI</i> , MS
19	<i>cis</i> -Chrysanthenyl acetate	1263	0.4	<i>RI</i> , MS
20	Isopiperitenone	1271	1.8	<i>RI</i> , MS
21	4-Vinylguaiaicol	1316	0.5	<i>RI</i> , MS
22	Myrtenyl acetate	1327	0.5	<i>RI</i> , MS
23	(<i>Z</i>)-Jasmone	1395	0.7	<i>RI</i> , MS
24	<i>β</i> -Caryophyllene	1419	0.8	<i>RI</i> , MS
25	2,5-Dimethoxy- <i>p</i> -cymene	1424	0.3	<i>RI</i> , MS
26	<i>β</i> -Selinene	1487	0.8	<i>RI</i> , MS
27	<i>trans</i> -Muurolo-4(14),5-diene	1492	0.2	<i>RI</i> , MS
28	<i>epi</i> -Cubebol	1495	0.4	<i>RI</i> , MS
29	<i>α</i> -Muurolene	1499	0.5	<i>RI</i> , MS
30	<i>trans</i> - <i>γ</i> -Cadinene	1514	0.4	<i>RI</i> , MS
31	<i>δ</i> -Cadinene	1524	2.1	<i>RI</i> , MS
32	<i>cis</i> -Cadinene ether	1553	0.4	<i>RI</i> , MS
33	Germacrene D-4-ol	1575	1.2	<i>RI</i> , MS
34	Caryophyllene oxide	1582	0.9	<i>RI</i> , MS
35	<i>β</i> -Oplopenone	1607	0.5	<i>RI</i> , MS
36	1- <i>epi</i> -Cubenol	1629	0.7	<i>RI</i> , MS
37	T-Cadinol	1641	3.6	<i>RI</i> , MS
38	<i>α</i> -Muurolol	1646	0.7	<i>RI</i> , MS
39	<i>β</i> -Eudesmol	1650	0.4	<i>RI</i> , MS
40	<i>α</i>-Cadinol	1652	5.6	<i>RI</i> , MS
41	14-Hydroxy-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-caryophyllene	1667	0.9	<i>RI</i> , MS
42	Eudesma-4(15),7-dien-1-ol	1688	3.5	<i>RI</i> , MS
Total Identification%			97.3	
Yields% (w/w)			0.50	
Monoterpene hydrocarbons			1.4	
Oxygenated monoterpenes			55.2	
Sesquiterpene hydrocarbons			4.8	
Oxygenated sesquiterpenes			18.8	
Other derivatives			17.1	

The main compounds are reported in bold. ^a Order of elution is given on apolar capillary column DB-5. ^b Retention indices (*R*_I) determined relatively to the retention time of a series of *n*-alkanes. ^c Relative percentage calculated by GC-FID on an apolar capillary column DB-5. ^d *RI*: Retention Indices; MS: Mass Spectra in electronic impact.

The comparison of our results on *P. incisa* with those reported in literature allowed us to emphasize some interesting considerations. The composition of

the *P. incisa* oil showed a completely different and particular profile regarding to all the other species in this genus, except for *P. incisa* sub. *candollena*

growing wild in Egypt.^[23] In fact, chrysanthenone and 2,6-dimethylphenol, the main compounds identified in the *P. incisa* oil, were practically either not detected or found in small amount in the oils of the other species and subspecies. On the other hand, carvotanacetone, the main compound of the oils of *P. undulata* from Yemen^[19] and Sudan,^[21] of *P. jaubertii*,^{[20][22]} and of *P. mauritanica*,^[18] was found in very small amount (0.6%) in the *P. incisa* oil.

Antimicrobial Activity

The volatile oils of the aerial parts of *A. graveolens* and *P. incisa* showed a broad-spectrum of antimicrobial activity (Table 3). It is worth mentioning that these essential oils were highly active against all the tested bacteria and yeasts in a dose-dependent way.

The MIC of the oils ranged between 19 and 1250 µg/ml. The effect was higher against Gram-positive than Gram-negative bacteria in general. The most resistant bacteria were *Acinetobacter baumannii* clinical, *Klebsiella pneumoniae* clinical, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 (MIC – no inhibition zone), while *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 (19 µg/ml) was the most susceptible one. Antibiotic examination showed that all the microorganisms were sensible against all of the reference antibiotics (chloramphenicol, streptomycin, and erythromycin).

Pulicaria incisa oil exhibited a stronger antibacterial effect on *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 (19 µg/ml), *S. aureus* ATCC 43300 (39 µg/ml), *S. aureus* ATCC 29213 (39 µg/ml), *Proteus mirabilis* ATCC 25933 (78 µg/ml), and a moderate activity against *E. coli* ATCC 25922 (156 µg/ml) and *B. cereus* ATCC 11778 (312 µg/ml), compared with *A. graveolens* oil. However, the latter showed good inhibitory activity against *Proteus mirabilis* ATCC 25933 (39 µg/ml), *S. aureus* clinical (39 µg/ml). Besides, *E. coli* ATCC 25922 and *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 showed moderate susceptibility to *A. graveolens* oil, with a MIC value 312 µg/ml. *Candida albicans* ATCC 26790 was more susceptible to *P. incisa* volatile oil.

Nowadays, it is well known that the essential oil can be used to combat hospital-acquired infections and to control epidemic multi-resistant bacteria such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).^[30] Many essential oils (eucalypt, white thyme, lavender, cinnamon, clove bud, etc.) demonstrated to be effective against several MRSA, *Streptococcus* and *Candida* strains.^[30] This activity may be due either to the main constituents or to the synergistic effect between the major and some minor compounds.^{[4][31]}

According to our study, the difference in the chemical profile of the two hydrodistilled oils was remarkable, even if both are composed for more than 75% by terpenes (Tables 1 and 2).

Major oxygenated terpenoids constituents in *P. incisa* oil, such as chrysanthenone, α -cadinol, and eudesma-4(15),7-dien-1-ol, that were not detected in *A. graveolens* oil, have shown antimicrobial activity in previous studies;^{[32][33]} however, α -pinene, *cis*-chrysanthenol, and T-cadinol were common to both the oils. Hence, the compositional pattern of *P. incisa* aerial parts oil may have influenced such notable antimicrobial effect against Gram-positives, due to the relative thickness of their cell walls,^{[1][2]} compared with the oil from *A. graveolens* aerial parts (Table 3). This oil also exhibited a good activity against yeasts and Gram-negative bacteria, despite their very restrictive outer membrane barrier, highly resistant even to synthetic drugs.^[3] Potent antimicrobial activities were considered at MIC \leq 100 µg/ml.

Conclusion

Although the essential oils of *A. graveolens* and *P. incisa* have significant differences in their chemical compositions, both showed very effective antimicrobial activities. The results may justify the use of *A. graveolens* and *P. incisa* in traditional medicine. Therefore, the essential oils obtained from these two Asteraceae, growing wild in Hoggar, are potential candidates to be used as antimicrobial agents in new drugs for therapy of infectious diseases. The synergistic effects of the chemical compounds of the essential oils should be taken into consideration for the antimicrobial activities. Our results suggest that the essential oils of those species may warrant further investigation for their potential therapeutic efficacy.

Experimental Part

Plant Material

Aerial parts of the wild growing *A. graveolens* and *P. incisa* were collected in Hoggar (Fig. 1) (Tamanrasset, South of Algeria, 22°41'576" S, 5°33'266"E) in 2014, at 1307 m. The species were taxonomically identified by Dr. Rabéa Sahki. A voucher specimen of each species was deposited with the National Forest Research Institute, Tamanrasset (Algeria), under the registration numbers AGAP 114 and PIAP 111, resp. for *A. graveolens* and *P. incisa*. The plant materials were air-dried under a laboratory shade prior to extraction.

Table 3. Antimicrobial activity of essential oils of two Asteraceae: *P. incisa* and *A. graveolens*

Microorganisms	Essential oils				Antibiotics ^a				
	<i>P. incisa</i>				<i>A. graveolens</i>				
	<i>DIZ</i> ^b	<i>MIC</i> ^c	<i>DIZ</i>	<i>MIC</i>	<i>DIZ</i>	<i>MIC</i>	<i>DIZ</i>	<i>MIC</i>	
	5 µl	10 µl	[µg/ml]	5 µl	10 µl	[µg/ml]	C ^a (30 µg)	E ^a (15 µg)	S ^a (10 µg)
<i>Gram-negative</i>									
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC7060	15.67 ± 0.577(ac)	20.33 ± 0.577(ad)	≤312	– ^d	–	–	36.33 ± 0.57(b)	8.66 ± 0.577(c)	22.33 ± 0.577(d)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> clinical	–	10.67 ± 1.15(a)	–	–	–	–	36 ± 0.0(c)	22.67 ± 1.53(b)	22.67 ± 2.52(b)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	30 ± 0(a)	37.5 ± 3.54(b)	≤156	10.67 ± 1.15(c)	14 ± 1.0(d)	≤312	32 ± 2(e)	20.33 ± 0.58(f)	25 ± 3.46(g)
<i>Escherichia coli</i> clinical	20 ± 0(a)	20 ± 1.73(ac)	≤625	–	8 ± 0(b)	–	34.33 ± 0.58(c)	24 ± 1.73(d)	27.33 ± 0.58(e)
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	21.66 ± 2.89(a)	26.66 ± 2.89(a)	≤19	12.66 ± 2.31(b)	12 ± 3.46(b)	≤312	C.I. ^e	22.67 ± 2.31(a)	23.33 ± 2.89(a)
<i>Acinetobacter baumannii</i> clinical	–	7.66 ± 1.53(a)	–	–	–	–	30 ± 0.00(b)	12.33 ± 0.58(a)	30 ± 0.58(b)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	–	–	–	–	–	–	10 ± 2.65(a)	13.33 ± 2.08(a)	13.66 ± 2.65(a)
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	20 ± 0(a)	30 ± 0(b)	≤78	15.33 ± 2.52(c)	24.66 ± 1.5(d)	≤39	33 ± 0.00(e)	20 ± 0.00(a)	20.33 ± 1.15(a)
<i>Gram-positive</i>									
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	14.33 ± 0.577(a)	23.33 ± 1.52(b)	≤312	15 ± 0(a)	19 ± 1.0(c)	≤1250	28.33 ± 0.57(d)	21.66 ± 0.57(b)	33.33 ± 1.52(e)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	–	–	–	–	–	–	27.33 ± 0.577(a)	–	17.66 ± 5.50(c)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	27.66 ± 0.58(a)	28.66 ± 0.58(ad)	≤625	15 ± 0.00(b)	17 ± 0(c)	≤1250	29.33 ± 0.58(d)	20.66 ± 0.5(e)	17.33 ± 0.58(f)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	16.33 ± 2.31(a)	38 ± 0(b)	≤78	22.66 ± 2.89(ce)	30.33 ± 2.31(d)	≤625	25.33(e)	26.33 ± 0.58(e)	21.33 ± 0.58(c)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	40 ± 0(a)	50 ± 0(b)	≤39	11 ± 1.41(c)	19 ± 1.41(d)	≤1250	27 ± 1.0(d)	26 ± 1.0(d)	21.6 ± 0.58(d)
<i>Staphylococcus aureus</i> clinical	19.33 ± 2.31(a)	23.33 ± 2.89(a)	≤312	20 ± 0.00(a)	25 ± 5.0(a)	≤39	20 ± 0(a)	25.33 ± 0.58(a)	26.66 ± 0.58(a)
Yeast									
<i>Candida albicans</i> ATCC444	7.66 ± 1.15(a)	8.33 ± 2.30(a)	–	7.33 ± 0.0(a)	7.66 ± 0.0(a)	AMB ^a (20 µg)	7.00(a)	NYS ^a (20.59 µg)	7.00(a)
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	21.66 ± 2.89(a)	36.66 ± 2.89(b)	≤625	15.66 ± 0.58(c)	17.33 ± 0.58(c)	≤2500	26.00 ± 6.56(d)	25.00 ± 1(e)	

Values were expressed as mean ± SD ($n = 3$), values in the same line with different letters in brackets (a – e) are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan test; ATCC: American Type Culture Collection. ^a Antibiotics: C: Chloramphenicol; E: Erythromycin; S: Streptomycin; AMB: Amphotermin B; NYS: Nystatin. ^b DIZ: Diameter of inhibition zone in mm including the disc diameter (6 mm). ^c MIC: Minimum Inhibitory Concentration expressed in µg/ml. ^d –: no inhibition zone. ^e C.I.: Complete inhibition.

Isolation of the Essential Oils

Each sample was submitted to hydrodistillation for 5 h using a Clevenger-type apparatus according to the method recommended by the *European Pharmacopeia*.^[34] The essential oils were separately collected by decantation, dried over sodium sulphate, weighted and then stored in amber bottles wrapped in aluminum foil and kept under refrigeration (+4 °C) for later analysis and bioassays tests.

Chemical Analysis

GC/EI-MS analysis were performed with a Varian CP-3800 gas-chromatograph equipped with a DB-5 capillary column (30 m × 0.25 mm; coating thickness 0.25 µm) and a Varian Saturn 2000 ion trap mass detector. Analytical conditions: injector and transfer line temp. 220 and 240 °C resp.; oven temp. programmed from 60 to 240 °C at 3 °C/min; carrier gas helium at 1 ml/min; injection of 0.2 µl (10% hexane solution); split ratio 1:30. Identification of the constituents was based on comparison of the retention times with those of authentic samples, comparing their linear retention indices relative to the series of *n*-hydrocarbons, and on computer matching against commercial (NIST 2014 and Adams) and home-made library mass spectra built up from pure substances and components of known mixtures and MS literature data.^[35 – 38]

GC-FID Analysis was performed using a HP 5890-series II gas equipped with a HP-5 (30 m × 0.25 mm ID, 0.35 mm film thickness) fused silica capillary

column, carrier gas helium (1.0 ml/min); split ratio 1:30; injection 0.5 µl of 10% hexane solution. The oven temp. was programmed from 60 to 240 °C at 3 °C/min. The temp. of injector and detector were 220 and 250 °C, resp. The identification of the components was performed by comparison of their retention times with those of pure authentic samples and by mean of their linear retention indices (RI) relative to the series of *n*-hydrocarbons.

Antimicrobial Assays

Microorganisms and Cultural Methods. The antibacterial activity was screened against ten ATCC and four clinically isolated Gram-positive and Gram-negative bacterial strains and two yeasts: *Klebsiella pneumonia* ATCC 7060, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, *Klebsiella pneumonia* clinical, *Escherichia coli* clinical, *Acinetobacter baumannii* clinical, *Staphylococcus aureus* clinical, and *Candida albicans* ATCC444, *Candida albicans* ATCC26790. Bacteria and yeasts reference were provided by the Pasteur Institute of Oran (Algeria) and clinical strains were obtained from the University Hospital Center of Tlemcen (Algeria).

Müller-Hinton Agar (MHA) (Fluka BioChemika) was used to culture the bacteria for 24 h at 36 °C.

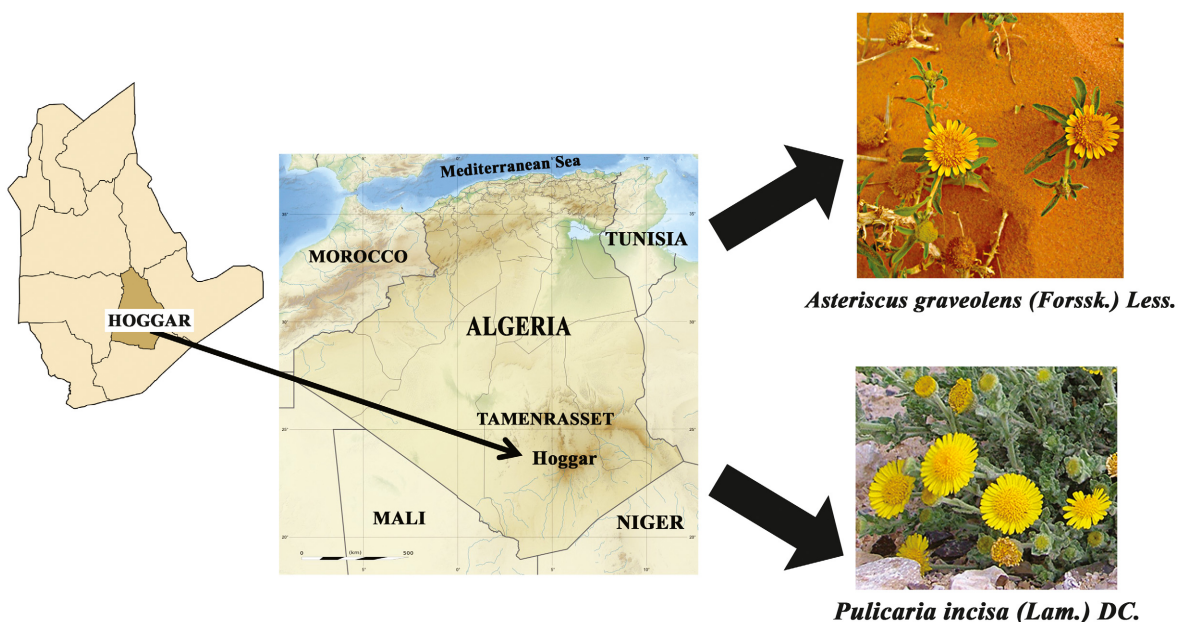


Figure 1. Location of the place of collection of the two Asteraceae plants.

Whereas, *Sabouraud* dextrose agar (SDA) (Fluka Bio-Chemika) was used to culture *C. albicans* for 48 – 72 h before use.

Three reference antibiotics (chloramphenicol 30 µg/disc, streptomycin 10 µg/disc and erythromycin 15 µg/disc) and two antifungal drugs (nystatin 20.59 µg/disc and amphotericin B 20 µg/disc) were used as positive controls and were included in each assay of disc method. The developing inhibition zones of essential oils were compared with the reference disc.

Aromatogram

The activity of the essential oils was evaluated by the agar diffusion method. Bacterial suspension were prepared from a young culture. The suspension was adjusted to an optical density of 0.08 at 600 nm to contain 10^8 CFU/ml and then seeded on *Müller-Hinton* agar by swabs as recommended by the *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI).^[39] A sterile 6 mm disk in diameter, impregnated with 5 and 10 µl of essential oils was used. Antibigrams were realized in parallel with aromatograms. All the assays were performed in triplicate.

Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC)

This method uses small volumes of broth dispensed into sterile microplates.^[39]

Essential oils were first dissolved in 10% dimethylsulfoxide (DMSO) (*Sigma-Aldrich*) to obtain (10 mg/ml) solution stock; then, serial dilutions were made in eight consecutive wells, starting from the second one, obtaining 10 000 µg/ml to 19 µg/ml doses to be tested. The 96-well plates were prepared by dispensing 100 µl of MHB, 100 µl of MHB inoculated 10^5 UFC/ml into each well. The last two wells, one containing 100 µl of DMSO and the other one containing 100 µl of MHB inoculated, were used as positive and negative controls resp. The final volume in each well was 200 µl. The plates were covered and incubated at 37 °C for 24 h.

Reading was carried out after the addition of 50 µl of iodonitrotetrazolium chloride (INT, *Sigma-Aldrich*). The presence of living bacteria was detected by the appearance of a pink coloration due to INT. Each test was performed three times in three successive experiments.

A solution of INT (50 µl) was then added to each well. The MIC was determined as the lowest sample concentration at which pink color appeared.

For MIC values below 100 µg/ml, the antimicrobial activity can be considered good; from 100 to 500 µg/ml, moderate; from 500 to 1000 µg/ml, weak; and over 1000 µg/ml, inactive.^[40]

Statistical Analysis

All the experiments were performed in triplicate and were reported as mean \pm SD. Data were subjected to one way analysis of variance (ANOVA) and the significance of differences between means was calculated by *Duncan* multiple range test using SPSS for Windows (Standard Version 19.0; *SPSS, Inc.*, Chicago, IL, USA). Differences were defined as significant at *P* values < 0.05.

Acknowledgements

This research was financially supported by Abou Bekr BELKAID University - Tlemcen and the Ministry of Higher Education and Scientific Research of the Algerian People's Democratic Republic under the project CNEPRU (Ref. E02020130152/2014-2018). The authors are grateful to Dr. *Rabéa Sahki* of the National Forest Research Institute, Tamanrasset (Algeria), for the taxonomic identification of the two Asteraceae studied. Also, we are grateful to Prof. *Tsaki Hassini* (University of Oran 1 Ahmed Benbella) for providing us with the necessary material for carrying out the biological tests. We would like to thank *Amina Kadiri* (University of Oran 1 Ahmed Benbella) and *Atika Omar* (University of Pahang Malaya) for their help in the statistical study.

Author Contribution Statement

A. H. designed research; C. F., B. M., A. H., and F. G. performed the research and analyzed the data; A. H., wrote the article. All authors read and approved the final manuscript.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

References

- [1] W. Dhifi, S. Bellili, S. Jazi, N. Bahloul, W. Mnif, 'Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review', *Medicines* **2016**, 3, 25.
- [2] M. K. Swamy, M. S. Akhtar, U. R. Sinniah, 'Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review', *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2016**, ID 3012462.

- [3] P. S. X. Yap, B. C. Yiap, H. C. Ping, S. H. E. Lim, 'Essential Oils, A New Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance', *Open Microbiol. J.* **2014**, 8, 6 – 14.
- [4] P. Aelenei, A. Miron, A. Trifan, A. Bujor, E. Gille, A. C. Aprozsoaie, 'Essential Oils and Their Components as Modulators of Antibiotic Activity against Gram-Negative Bacteria', *Medicines* **2016**, 3, 19.
- [5] K. Bremer, 'Asteraceae: Cladistics and Classification', Timber Press, Portland, Oregon, 1994.
- [6] L. Boulos, 'Flora of Egypt Checklist', Al Hadara Publishing Co., Cairo, Egypt, 1999, 419 – 420.
- [7] A. Wiklund, 'The genus *Nauplius* (Asteraceae-Inuleae)', *Nord. J. Bot.* **1987**, 7, 1 – 23.
- [8] W. Greuter, 'Save *Asteriscus*, sink *Nauplius* (Compositae)', *Flore Mediterranea* **1997**, 7, 41 – 48.
- [9] A. Cheriti, A. Saad, N. Belboukhari, S. Ghezali, 'The essential oil composition of *Bubonium graveolens* (Forssk.) Maire from the Algerian Sahara', *Flavour Fragr. J.* **2007**, 22, 286 – 288.
- [10] H. Alilou, A. Asdadi, L. M. Idrissi Hassani, M. C. González-Mas, M. A. Blázquez, M. Akssira, 'Antifungal and Antioxidant Activity of *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* Essential Oil', *J. Nat. Sci. Res.* **2014**, 4.
- [11] M. Znini, G. Cristofari, L. Majidi, H. Mazouz, P. Tomi, J. Paolini, J. Costa, 'Antifungal Activity of Essential Oil from *Asteriscus graveolens* against Postharvest Phytopathogenic Fungi in Apples', *Nat. Prod. Commun.* **2011**, 6, 1763 – 1768.
- [12] G. Cristofari, M. Znini, L. Majidi, H. Mazouz, P. Tomi, J. Costa, J. Paolini, 'Chemical Diversity of Essential Oils from *Asteriscus graveolens* (Forssk.) Less.: Identification of *cis*-8-Acetoxychrysanthenyl Acetate as a New Natural Component', *Chem. Biodiversity* **2012**, 9, 727 – 738.
- [13] H. S. Fahmy, 'Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Volatile oil of *Nauplius graveolens* (Forssk.) Less.', *J. Environ. Sci.* **2003**, 26, 307 – 317.
- [14] P. Quézel, S. Santa, 'Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales', CNRS, Paris, Vol. II, 1963, p. 949.
- [15] P. Ozenda, 'Flore et végétation du Sahara', 3rd Edn., CNRS, Paris, 2004.
- [16] A. Sahki, R. Sahki, 'Le Hoggar - Promenade Botanique', Ésope, Lyon/Chamonix, 2004, 1 – 311.
- [17] M. Chadeud, L. Emberger, 'Traité de Botanique', Masson & Cie, Paris, 1960.
- [18] M. Gherib, C. Bekhechi, I. A. El-Haci, T. M. Chaouche, F. Atik-Bekkara, 'Antioxidant and Antibacterial Activities of Aerial Parts Essential Oil and Some Organic Extracts from the Algerian Medicinal Plant *Pulicaria mauritanica* coss.', *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2016**, 7, 76 – 84.
- [19] N. A. Ali, F. S. Sharopov, M. Alhaj, G. M. Hill, A. Porzel, N. Arnold, W. N. Setzer, J. Schmidt, L. Wessjohann, 'Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oil from *Pulicaria undulata* from Yemen', *Nat. Prod. Commun.* **2012**, 7, 257 – 260.
- [20] M. Algabr, N. Al-Hajj, A. Jaber, A. Alshotobi, S. Al-suryhi, G. Whaban, N. Alshehri, 'Antibacterial and Antifungal Activities of the essential oil of *Pulicaria jaubertii* leaves', *Der Pharma Chemica* **2016**, 8, 224 – 228.
- [21] H. H. El-Kamali, M. O. Yousif, O. I. Ahmed, S. S. Sabir, 'Phytochemical Analysis of the Essential Oil from Aerial parts of *Pulicaria undulata* (L.) Kostel from Sudan', *Ethnobot. Leaflets* **2009**, 13, 467 – 471.
- [22] G. A. Fawzy, H. Y. Al Ati, A. A. El Gamal, 'Chemical composition and biological evaluation of essential oils of *Pulicaria jaubertii*', *Pharmacogn. Mag.* **2013**, 9, 28 – 32.
- [23] E. A. Shahat, R. O. Bakr, O. A. Eldahshan, N. A. Ayoub, 'Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oil from Leaves and Flowers of *Pulicaria incisa* subsp. *candolleana* Growing in Egypt', *Chem. Biodiversity* **2017**, 14, e1600156.
- [24] S. Benhouhou, 'A Guide to Medicinal Plants in North Africa', '*Pulicaria incisa* (Lam.) DC.', IUCN, Malaga, 2005, 195 – 196.
- [25] M. M. A. Amer, M. F. Ramadan, W. Abd El-Gleel, 'Impact of *Pulicaria incisa*, *Diploaxis harra* and *Avicennia marina* as hypocholesterolemic agent', *Deut. Lebensm.-Rundsch.* **2007**, 103, 320 – 327.
- [26] A. M. S. Nabel, 'Global phytochemistry: the Egyptian experience', *Phytochemistry* **2003**, 63, 239 – 241.
- [27] E. I. Karim, K. E. Ishag, A. A. B. Elegami, E. N. Mahmoud, I. A. Alfutuh, 'D-Carvotanacetone from *Pulicaria undulata*', *Fitoterapia* **1992**, 63, 281.
- [28] N. Shariatifar, A. Kamkar, M. R. Shamse-Ardekani, A. Misagi, A. Akhonzade, A. H. Jamshidi, 'Composition and antioxidant activities of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* essential oil in Soybean oil', *Pak. J. Pharm. Sci.* **2014**, 27, 807 – 812.
- [29] M. G. Miguel, J. Duarte, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso, L. G. Pedro, 'Thymus *carnosus* Boiss.: Effect of Harvesting Period, Collection Site and Type of Plant Material on Essential Oil Composition', *J. Essent. Oil Res.* **2005**, 17, 422 – 426.
- [30] P. H. Warnke, S. T. Becker, R. Podschun, S. Sivananthan, I. N. Springer, P. A. J. Russo, J. Wiltfang, H. Fickenscher, E. Sherry, 'The battle against multi-resistant strains: Renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections', *J. Cranio-Maxill-Facial Surg.* **2009**, 37, 392 – 397.
- [31] W. T. Langeveld, E. J. A. Veldhuizen, S. A. Burt, 'Synergy between essential oil components and antibiotics: a review', *Crit. Rev. Microbiol.* **2014**, 40, 76 – 94.
- [32] M. J. Abad, L. M. Bedoya, L. Apaza, P. Bermejo, 'The *Artemisia* L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils', *Molecules* **2012**, 17, 2542 – 2566.
- [33] Y. C. Su, K. P. Hsu, E. I. Wang, C. L. Ho, 'Composition, *in vitro* cytotoxic, and antimicrobial activities of the flower essential oil of *Diospyros discolor* from Taiwan', *Nat. Prod. Commun.* **2015**, 10, 1311 – 1314.
- [34] European Pharmacopoeia, 5th Edn., Council of Europe: Strasbourg Cedex, France, 2004, Volume I, pp. 217 – 218.
- [35] A. A. Swigar, R. M. Silverstein, 'Monoterpenes', Milwaukee, Aldrich Chem. Comp., 1981.
- [36] N. W. Davies, 'Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases', *J. Chromatogr. A* **1990**, 503, 1 – 24.
- [37] R. P. Adams, 'Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy', Allured Publishing, Carol Stream, 1995.
- [38] D. Joulain, W. A. König, 'The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons', E. B. Verlag, Hamburg, 1998.

- [39] CLSI, 'Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard M7-A7 – Seventh Edition', Vol. 26 No. 2, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2006.
- [40] J. Ríos, M. Recio, 'Medicinal plants and antimicrobial activity', *J. Ethnopharmacol.* **2005**, 100, 80 – 84.

Received March 3, 2017

Accepted April 28, 2017

Phytochemical Investigation and Biological Activities of Some Saharan Plants from Hoggar

Faiza Chaib^{1,2,3}, Rabéa Sahki⁴, Nasreddine Sabaou⁵, Wahiba Rached¹ & Malika Bennaceur^{1,2}

¹ Laboratoire de Biochimie Végétale, Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Oran1 Ahmed Benbella, Oran, Algérie

² Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides, El Alia Bab Ezzouar, Alger, Algérie

³ EcoleMérieux, Ecole Supérieure des Technologies de la Santé, Oran, Algérie

⁴ InstitutNational de Recherche Forestière, Tamanrasset, Algérie

⁵ Ecole Normale Supérieure, Kouba, Alger, Algérie

Correspondence: Malika Bennaceur, Université Oran1 Ahmed Benbella, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de Biologie, Laboratoire de Biochimie Végétale, BP 1524 El-Menouar. Oran 31000, Algérie. Tel: 213-551-074-090. E-mail: bennaceurmali@gmail.com

Faiza Chaib, Université Oran1 Ahmed Benbella, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de Biologie, Laboratoire de Biochimie Végétale, BP 1524 El-Menouar. Oran 31000, Algérie. E-mail: faizachaib@yahoo.fr

Received: March 10, 2015 Accepted: April 28, 2015 Online Published: June 15, 2015

doi:10.5539/jas.v7n7p163 URL: <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v7n7p163>

Abstract

Traditional medicine has a great impact on aboriginal heal thin Algerian Sahara and particularly in Hoggar. It is based on the use of local plants.

This study is based on phytochemical screening. Antioxidant activity evaluation by two methods of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH): bioautography and spectrophotometric assay, and microbiological activity of twelve plants species from nine families sampled in Hoggar.

The antioxidant activity revealed by the bioautography (DPPH) showed a positive activity on aqueous extracts of ten species among the twelve assayed. Both species *Lavandula pubescens* subesp. *antinea* and *Mentha longifolia* (*Lamiaceae*) have reported a significant activity compared to the others.

The comparison of antiradical activity by bioautography and phytochemical study by TLC showed the presence of cardiogenic glycosides, saponins and flavonoids which could be responsible of antioxidant activity or some species.

The antimicrobial activity assay showed that plant aqueous extracts were inefficient on the majority of tested strains except for *Balanites aegyptica* extract on *Bacillus subtilis* ATCC6633. Moreover, remarkable antifungal activity of *Aerva javanica* aqueous extracts on four fungal strains such as *Candida albicans* C200, *Aspergillus flavus* AF1, *Aspergillus carbonarius* M333, *Fusarium culmorum* FC1 was observed.

Keywords: Hoggar, medicinal plants, phytochemistry, antioxidant activity, antimicrobial activity

1. Introduction

Plants use for therapeutic purpose was reported in the ancient Arab literatures. In Africa, the therapeutic plants action was known by our ancestors and our parents in an empirical way (Karou et al., 2003). Until now, both medicines: traditional and modern are practiced. To achieve a better knowledge of this African medicine, several phytochemical investigations have been made in order to bring a justification and a scientific validation to its traditional use (Yemoa et al., 2008). Many work undertaken in ethnopharmacology field, showed that the used plants in traditional medicine which were tested are often considered as effective plants in the pharmacological models on the other hand, they would be almost deprived of toxicity.

Several works in the world were conducted, they are based on biological activities, for instance Bo Huang et al. (2011) in China and Kaisoon et al. (2011) in Thailand have tested the antioxidant activity of herbal medicine.

The antimicrobial activity was treated by De Oliveira et al. (2011) for Brazilian plants and Al-Bayati (2009) for Iraqi ones.

Algeria possesses a rich plant genotypes used in traditional pharmacopoeia to treat several diseases, like diabetes, cardiovascular diseases and other pathologies (Bellakhdar et al., 1991; Ziyat et al., 1997; Eddouks et al., 2002).

Several works were carried out in Algeria on plants of medicinal interest. These plants were evaluated for their richness in polyphenols and their antioxidant, antimicrobial, and antidiabetic proprieties (Djeridane et al., 2006).

Zaabat et al. (2010) conducted a phytochemical study on *Marrubium desertii*. He isolated an original diterpene of labdane type, a flavonoid and a glycosylated phenyl propanoides. These compounds were subjected to biological study as antioxidant, antibacterial and antigenotoxic activities.

The work carried out on fifty-six species of medicinal plants harvested in different areas of Algeria showed the richness of secondary metabolites and biological activity like the antioxidant and the acetyl cholinesterase activity (Benamar et al., 2010; Rached et al., 2010).

Despite many studies carried on biological activity of prospected plants in Algeria, many species remain still not investigated. Indeed, central Sahara hosts vegetal species resistant to extreme aridity conditions.

This natural richness indicated various foods, cosmetic and medicinal virtues (Sahki et al., 2004). Until now, traditional healers belonging to Tuareg tribes use these plants for treating several diseases. In this context, our investigation was conducted to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of twelve Hoggar plants species.

2. Materials and Methods

2.1 Biotope of Studied Plants

The Ahaggar (Hoggar) is an integral part of the central Sahara subdivision; it is constituted by mountain range rising to over 3000 m of altitude. It is located at the extreme south of Algeria and was approximately between 21°-25° North latitude and between 3°-6° West longitude (Gast, 1968). It covers a surface of approximately 554,000 Km², which represents the quarter of Algeria total surface (Sahki, 2012). The Ahagar flora is characterized by vegetal formations, especially tropical and saharo-sindian, which is concentrated mainly in Oued's bank and dry valley at middle and low altitudes. On the contrary, higher altitudes are less arid, then host many microclimates allowing mainly Mediterranean, endemic and endemic relic flora development.

Since ancient era, Tuaregs (inhabitants of Ahaggar) were interested by plants curative virtues growing in their natural environment. Generally, this traditional culture was transmitted by nomadic and semi-sedentary population, despite of sciences progress.

Ethnomedicinal surveys conducted with traditional healers's Ahaggar reported that different plant parts (leaves, roots, fruits, bark, seeds, flowers, wood) are used directly in the fresh or powder form, mixed with other plants, tea, honey or animal fats. Many obtained preparations were generally administered in the form of teas, baths, syrup or extract added to food or drink (Sahki, 1998).

2.2 Plant Material

The studied sample is represented by aerial parts of fifteen plants harvested from Hoggar area in May, 2009 and February, 2010 (Table 1). These plants were identified by Dr. Sahki, member of INRF (National Institute of Forest Research) and then were put in herbarium (Sahki et al., 2004). The samples were dried at free air in the darkness or in a drying oven at 50 °C during 24 h and then crushed to form a fine powder.

Table 1. List of studied plants and their traditional medicinal uses (Sahki, 1998; Sahki et al., 2004)

Vegetal species	Used organs	Therapeutic indications
<i>Solenostemma argel</i>	Leaves, fruits and flowers	Respiratory affections, rheumatisms, angina. Such stem is for helping wound healing
<i>Aervajav anica</i>	Roots, leaves, flowers and stems leaves	Viper bites and scorpion stings. Soap making
<i>Deverra scoparia</i>	Leaves stems and flowers	Used as condiments, infusion relieves Renal colic, rheumatism, colds, irritable bowel syndrome
<i>Pentzia monodiana</i>	-	Plant grazed, not used in traditional medicine
<i>Pulicaria incisa</i>	leaves	Decoction used against the colds, the flu and the tachycardia
<i>Maerua crassifolia</i>	Leaves and fruits	Antipyretic, dental caries, vomiting and against scorpion stings. The Fruit pleasant taste consumed scandy
<i>Anabasis articulata</i>		Forage plant. The stems are used to treat the skin diseases of camels. Crushed they give the soap
<i>Lavandula pubescens</i> subsp. <i>antinea</i>	Leaves stems and flower	Infusion used against the rheumatism and the spasms. These is antiseptic of the respiratory and urinary tracts. These is used as a condiment and flavoring.
<i>Marrubium desertii</i>	Leaves buds	Decoction used against bloating and diarrhea, they have efficient avirtues against tachycardia
<i>Mentha longifolia</i>	Leaves, flowers and fruits	The infusions of fresh leaves are digestives, stomachic and calming. The flowers and fruits are astringent infusion. The leaves are used as condiment infusions
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	Stems, leaves flowers and Roots	Used in decoction, they relieve kidney's pain, intestinal disorders and food poisoning; they used in rheumatic and sinusitis. It treats the wounds of dromedary by cataplasm
<i>Balanites aegyptiaca</i>	Fruits, barks, roots, leaves, oils extracts by almond	Decoction of the bark is used to relieve throat. Fruit relieve sinusitis, tonsillitis and protect the face against the cold. The leaves are laxative, digestive, anthelmintic, relieve rheumatic pain, nausea, boils and dental caries. The oily paste extracted from the almond of the fruits used in cosmetics and for treating scabies dromedaries

2.3 Extraction

The samples were extracted by heat under reflux, 10 g of plant powder were put in 100 ml of distilled water. This operation is repeated three times during half an hour. The three obtained filtrates were mixed, lyophilized and stored at -4 °C until further use.

2.4 Solution Preparation

The freeze-dried powder was weighed and dissolved in methanol at the concentration of 5 mg/ml for all the samples.

2.4.1 Phytochemical Screening by TLC

The phytochemical analyses of the plant extracts were carried out following the methods of (Wagner & Bladt, 1996), the chromatographic analyses were achieved out on plates of CCM silica gel F₂₅₄ (Merck). Several systems were used, the chromatograms are observed under U.V at 254 and 365 nm. After revelation, the detected phytoconstituants are: flavonoids, saponins, terpenoids, glycosides cardiotonics, sesquiterpenes lactones, quinones and lignans.

2.4.2 Total Phenolic Content Determination

The total phenolic content is estimated using Folin-Ciocalteu's method (Singleton & Rossi, 1965). 100 µl of sample was dissolved in 500 µl of Folin-Ciocalteu reagent (1/10 dilution). The solution were mixed and incubated at room temperature during 5 mn. Then, 1500 µl of saturated sodium carbonate (2%) was added. The final mixture was mixed and then incubated for one hour in the dark at room temperature. The absorbance was read at 765 nm.

2.4.3 Total Flavonoid Content Determination

Total flavonoid contents were determined by the method of (Kim et al., 2003). 500 µl of the methanolic samples were added to 1500 µl of distilled water and 150 µl of sodium nitrite (NaNO₂) at 5% (m/v). After 5 min, 150 µl of aluminum chloride (AlCl₃) at 10% (m/v) was added. 11 minutes later was added 500 µl of 1 M NaOH. The solution was vortexed then the absorbance was measured at 510 nm.

2.4.4 Total Tannin Content Determination

100 µl of methanolic sample extract in pure methanol was added to 600 µl vanillin at 4% in absolute methanol and 300 µl of concentrated HCl (Burns et al., 1971). Incubation is conducted in water bath at 30 °C during 20 min. All the samples were maintained in the dark. The absorbance is read at 500 nm, we used as a control, a solution containing methanol instead of the vanillin solution.

2.5 Biological Activities

2.5.1 Antiradical Activity Determination by Thin Layer Chromatography (TLC) (Bioautography)

The 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyle (DPPH) method was used to determine antiradical activity according to (Dominguez et al., 2005). The antioxidant test is carried on thin layer chromatography, 100 µg of plant extract are deposited on aluminum plates of silica F₂₅₄. The chromatograms are developed in a mixture of several solvents. After separation and drying, the plates are pulverized with a 0.2% solution of DPPH in methanol.

2.5.2 Test DPPH by Spectrophotometry Dosage

The method of (Blois, 1958) modified by (Rached, 2010) includes only extracts which presented antiradical activity revealed by bioautography. The test is carried out according to the following stages: the methanolic solution of DPPH (1950 µl) at a concentration of 6.10⁻⁵ M was mixed with 50 µl of different extract concentration (5-10-12.5-15-20 µg/ml). Then, the mixture was incubated at room temperature in darkness for 1 h. The absorbance of each extract containing DPPH was read at 517 nm using a UV-visible spectrophotometer (8500P Double-Beam spectrophotometer). The percentage of inhibition (PI) of the extract is calculated according to the equation:

$$PI = \frac{A_{\text{neg.control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{neg.control}}} \times 100 \quad (1)$$

Where,

A neg. control is the absorption of the negative control solution (containing only DPPH);

A sample is the absorption in the presence of the plant extract in DPPH solution;

Quercetin and the BHA (Butyl Hydroxy Anisole) are used as the positive controls.

The experiment is repeated three times for each sample and the value is expressed by an average ± standard of deviation.

2.5.3 The Antimicrobial Activity Evaluation

The antibacterial and antifungal activities of extracts were investigated.

1) The Bacterial and Antifungal Strains Tested

The strains of *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* E195, *Klebsiella pneumoniae* E40, *Candida albicans* C200, *Aspergillus flavus* AF1, *Aspergillus carbonarius* M333, *Fusarium culmorum* FC1 were sampled from Bejaïa and Algiers hospitals, they were provided by the laboratory of microbiology of the (ENS).

2) Determination of Antimicrobial Activity

Antibacterial activity of the aqueous extract of the sample was evaluated by paper discs diffusion method. The stock concentration was prepared from the aqueous extracts of the tested plants at a concentration of 200 mg/ml. After that, sterile filter papers (9 mm diameter) were impregnated with 5 mg and 10 mg of extract by disc. All disks prepared were then dried in air and sterilized under UV.

The impregnated discs by various extracts are then deposited delicately on the surface of the agar medium. The antibacterial activity was determined by measurement of inhibition zone around each paper disc. Incubation was done at 30 °C during 18 h to 24 h for bacteria strains and 36 h to 48 h for fungi and yeast strains.

2.6 Statistical Analysis

The results are expressed on average ± standard deviation. ANOVA (variance analysis) compare several groups

by using the Duncan test. For comparison between two groups, the student test was used. The values were significant at $P < 0.05$.

3. Results

3.1 Phytochemical Result by TLC

Phytochemical study results of the tested vegetal extract were indicated in Table 2. The orange, yellow, blue, green spots observed on the chromatogram under UV/365 nm correspond to several secondary metabolites classes. The chromatograms showed a wealth of metabolites for some extracts. A comparison is made in parallel between the phytochemical and TL Cbioautography study by DPPH in order to focus on the active phytoconstituants.

3.2 Total Polyphenols, Flavonoids and Tannins Determination

The polyphenol content of the studied extracts has 230.003 ± 8.423 mg range for *Lavandula antinea* leaves and 33.635 ± 0.477 mg of gallic acid equivalent per gram of freeze-dried matter in *Balanites aegyptiaca* (aerial parts). The flavonoids content vary between 94.483 ± 4.137 and 9.537 ± 0.657 mg of catechin equivalent per gram of freeze-dried matter of *Lavandula antinea* (stems) and *Balanites aegyptiaca* (aerial parts). Tannins are present in 21.36 ± 0.33 mgrange for *Solenostemma argel* leaves and 3.3 ± 0.92 mg of catechin equivalent per gram of matter freeze-dried in *Mentha longifolia* stems.

Lavandula antinea (stems) given an IC_{50} value of 10.352 ± 0.388 . This value was determined in comparison to the reference value of IC_{50} BHA which is estimated to 4.457 ± 0.07 .

3.3 Biological Activities

3.3.1 Antioxidant Activity by Bioautography

The free radicals activity of fifteen aqueous extracts were investigated. The obtained results showed that thirteen extracts reacted with the DPPH, illustrated by the appearance of yellow bands on a purple background. Some of these extracts had appeared instantaneously but others appeared after 30 minutes.

3.3.2 DPPH Dosage Assay

The absorbance measurement (optical density) was conducted by a spectrophotometer at 514 nm. From the obtained values, the percentage of inhibition was calculated by using the formula the formula given in one methodology part.

Table 2 represents IC_{50} values (corresponding to 50% of inhibition) of the extracts and represents the antioxidant activities. The aqueous extract of *Lavandula antinea* (stems) given an IC_{50} value of 10.352 ± 0.388 . This value was determined in comparison to the reference value of IC_{50} BHA which is estimated to 4.457 ± 0.07 .

Table 2. Chemical composition of studied plants

Family, species	Used Organs	DPPH Bioautography IC ₅₀ [*]		Polyphenols contents*	Flavonoids contents***	Tannins contents***	Chemical groups				
							Sesquiterpen lactons	Flavonoids	Terpenoids	Saponin	Cardiotonic Glycosides
Asclepiadaceae											
<i>Solenostemma argel</i>	Leaves	+	100.627±6.454	97.710±1.109	17.834±2.235	21.36±0.33	-	+++	-	+++	-
Amaranthaceae											
<i>Aerva javanica</i>	Aerial parts	+	57.59±0.799	80.899±1.995	23.263±3.529	11.7±0.26	-	+	-	+++	-
Apiaceae											
<i>Deverra scoparia</i>	Aerial parts	+	97.399±2.535	68.946±6.397	9.640±1.477	8.42±0.49	-	+++	-	++	-
Asteraceae											
<i>Pentzia monodiana</i>	Aerial parts	+	56.873±0.583	72.311±1.312	30.797±1.010	11.58±0.54	-	+++	-	++	-
<i>Pulicaria incisa</i>	Stems and leaves	+	51.163±0.358	63.164±2.910	27.537±2.024	7.1±0.43	-	-	-	+++	-
Capparaceae											
<i>Maerua crassifolia</i>	leaves	+	122.893±2.852	35.129±2.291	15.720±1.046	10.2±0.34	-	+	-	-	-
Chenopodiaceae											
<i>Anabasis articulata</i>	Aerial parts	-	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Lamiaceae											
<i>Lavandula antinea</i>	Leaves steams	+	13.834±0.336	230.003±8.423	90.740±1.184	10.36±0.32	+	+++	+	+	+
<i>Lavandula antinea</i>	Leaves	+	10.352±0.388	126.997±2.735	94.483±4.137	9.06±0.48	-	-	+	+++	+
<i>Marrubium desertii</i>	Steams	+	73.149±2.662	44.033±1.599	28.040±3.071	11.58±0.79	-	-	-	+	-
<i>Marrubium desertii</i>	Leaves	-	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
<i>Mentha longifolia</i>	Steams	+	17.262±0.552	131.066±4.314	94.406±7.537	6.12±0.44	-	+++	-	-	+
<i>Mentha longifolia</i>	Leaves	+	19.6±0.822	103.310±4.036	93.469±10.734	3.3±0.92	-	+++	-	-	+
Poaceae											
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	Aerial parts	+	102,717±2,056	64.962±1.142	19.354±1.841	11.86±0.55	-	+	-	-	-
Zygophyllaceae											
<i>Balanites aegyptiaca</i>	Aerial parts	+	147.419±2.73	33.635±0.477	9.537±0.657	5.82±0.27	+	++	-	+	+
BHA			4.457±0.07								
Quercetin			1.119±0.0696								

Note. *Antioxidant activity expressed as $\mu\text{g ml}^{-1}$. **Total phenolics contents expressed as mg gallic acid in g of freeze-dried extract. *** flavonoids and tannins contents as mg catechin g^{-1} of freeze-dried extract. nd: Not determined, +: Positive result, -: Negative results. Data expressed as Mean±SD from triplicate experiments. BHA: Butyl-hydroxyanisole.

3.3.3 Antimicrobial Activity Determination

The antibacterial and antifungal activities of the various extracts were estimated by inhibition zone diameter evaluation after 12 h and 24 h incubation at 30 °C temperature for two concentrations 5 mg/ml and 10 mg/ml.

1) Inhibition Zone Diameter for 5 mg/ml Concentration

After 24 hours of incubation, inhibition zones of 12 mm are observed on only 04 extracts concerning gram positive

bacterial *Bacillus subtilis*. After 48 hour, significant inhibition is noticed for *Aspergillus flavus* (Tables 3 & 4).

Table 3. Inhibition zone diameter of active plants extracts against *Bacillus subtilis* strain at 5mg concentration

Extracts Strains	<i>Balanites aegyptiaca</i> (Oued Tounine)	<i>Balanites aegyptiaca</i> (Tin Tahounek)	<i>Lavandula antinea</i> (leaves)	<i>Lavandula antinea</i> (stems)	<i>Pentzia monodiana</i>	<i>Pulicaria incise</i> (Oued Taharart 1130M)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	11mm	10mm	12mm	12mm	12mm	12mm

Table 4. Inhibition zone diameter of active plants extracts against *Aspergillus flavus* at 5 mg concentration

Extracts Strains	<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (aerial parts)	<i>Mentha longifolia</i> (stems)	<i>Aerva javanica</i>	<i>Solenostema argel</i> (leaves)	<i>Pulicaria incise</i> (leaves and stems)
<i>Aspergillus flavus</i>	11 mm	13 mm	13 mm	11 mm	11 mm

2) Inhibition Zone Diameter for 10 mg/ml Concentration

Concerning *E. coli* E195 and *Staphylococcus aureus*, strains, the results were negative for all the tested extracts.

The results of inhibition zone diameter for *Bacillus subtilis*, showed that this strains sensitive to *Pentzia monodiana*, *Lavandula antinea* and *Pulicaria incise* extracts. Nevertheless, these extracts did not develop any inhibition zone for gram negative bacteria, yeasts and fungi.

Mentha longifolia and *Aerva javanica* extracts at 25 µl (5 mg/ml) concentration showed a significant inhibition of *Aspergillus flavus* fungus with 13 mm diameter. For 50 µl concentration, results were not significant for all organisms and sample. The *Balanites aegyptiaca* extract shown the most important inhibition zone for *Bacillus subtilis* (Table 5).

Table 5. Inhibition zone diameter of active plants extracts at 10 mg concentration

Extracts Strains	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	<i>Klebsiella pneumoniae</i> E40	<i>Candida albicans</i> C200	<i>Aspergillus flavus</i> AF1	<i>Aspergillus carbonarius</i> M333	<i>Fusarium culmorum</i> FC1
<i>Balanites aegyptiaca</i> (Oued Tounine)	13 mm	10 mm	0	0	0	0
<i>Balanites aegyptiaca</i> (Tin Tahounek)	13 mm	10 mm	0	0	0	0
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	10 mm	10 mm	0	0	0	0
<i>Lavandula antinea</i> leaves	12 mm	10 mm	0	0	0	0
<i>Lavandula antinea</i> stems	11 mm	10 mm	0	0	0	0
<i>Maerua crassifolia</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Marrubium desertii</i> leaves	0	11	0	0	0	0
<i>Marrubium desertii</i> stems	0	0	0	0	0	0
<i>Mentha longifolia</i> leaves	0	0	15 mm	13 mm	0	18 mm
<i>Mentha longifolia</i> stems	10 mm	11 mm	10 mm	0	0	0
<i>Pentzia monodiana</i>	12 mm	11 mm	0	0	0	0
<i>Aerva javanica</i>	11 mm	0	14 mm	16 mm	16 mm	15 mm
<i>Solenostema argel</i> stems	11 mm	0	0	0	11 mm	0
<i>Deverra scoparia</i>	11 mm	11 mm	0	0	0	0
<i>Pulicaria incisa</i>	11 mm	13 mm with a slow growth	0	0	0	0

4. Discussion

According to spots intensity and number, the most antioxidant extracts are those of *Lavandula antinea* (stems and leaves), *Mentha longifolia* (leaves), *Pentzia monodiana* and *Deverra scoparia*. This antioxidant activity may be explained by the presence of tannins and flavonoids (Bruneton, 1993; Cavin, 1999a), which are free radicals trappers.

Cavin (1999b) demonstrated that aqueous extract of Lamiaceae had less antioxidant activity by TLC, with unclear spots, especially for aqueous extract of *Thymus vulgaris* because of their low active components levels that may be due to the method extraction used (extraction by maceration with water). Whereas, the methanolic extract of *Thymus vulgaris* showed the most capacity trapper of radical DPPH.

Moreover, among the aqueous extracts assayed, *Maerua crassifolia* presented the lowest antioxidant activity. These results were consistent with those of (Diallo, 2005) with the aqueous extract macerated leaves of the same plant (data not published).

Our results reported that the DPPH reduction by spectrophotometric assay showed that *Lavandula antinea* extracts (stems and leaves) had a higher antioxidant capacity in comparison with BHA control; this activity might be attributed to the phenolic compounds richness. Similar data were observed with the aqueous extract of *Thymus vulgaris* leaves (Kulšić et al., 2006). In this extract, polyphenols such as flavonoids, acid rosmarinic, caffeic acid and α -tocopherol can explain the revealed activity (Guillén & Manzanos, 1998; Thuille et al., 2003; Kulšić et al., 2006). The less significant activity compared to BHA was obtained with *Balanites aegyptiaca*. For the same plant, the antioxidant activity is variable from one organ to another (Wagner & Bladt, 1996). In our investigation, Lamiaceae species did not present this variability which is only noted for *Marribium desertii*, its leaves had low activity and its roots do not show any activity. The isolated compounds (diterpens) from the arial part of this Algerian endemic species presented antiradical, antibacterial and antigenotoxic activities (Zaabat et al., 2010). Our phytochimic study revealed richness in some compounds and the lack even absence of other ones. Some species had shown the presence of saponosids and the cardiotoxic glycosides. Flavonoids were the most common compounds in all studied species. Markham et al. (1982) showed that anthocyanins-3-glycosides were detected by orange, red and purple spots, while, flavonols by yellow and green spots. Flavones methylate, flavones, isoflavones, flavanones and chalcones appeared as blue spots. The flavanols and the aurones are characterized by the appearance of the green spots.

A comparative study between phytochemical and antioxidant activity by DPPH TLC showed that some bands represent the same R_f for some species, this explained the reason that flavonoids, saponins and cardiotoxic glycosides had antioxidant activity. Flavonoids are recognized to have antioxidant activity (Torel et al., 1986; Husain et al., 1987; Shahidi & Wanasundara, 1992; Harborne & Williams, 2000; D'abrosca et al., 2007). The present study indicated that the antimicrobial activity was significant at 10 mg of extract. There was a sensitivity of gram positive bacterium *Bacillus subtilis* to the majority of studied extracts. This could be explained by the fact that gram-positive bacteria was more sensitive than gram-negative bacteria, suggesting that difference in sensitivity was caused by repulsion between polyphenols and lipopolysaccharide walls of gram negative bacteria. Generally, the sensitivity of bacteria against polyphenols depends on bacterial species and polyphenols structure (Ikigai et al., 1998).

Our findings showed that aqueous extracts from *Mentha longifolia* manifested high antifungal activity in leaves as compared to stems, but no activity was observed towards yeast. Such results could be explained by a difference in concentration of chemicals between both vegetal parts. Al-Bayati (2009) reported antifungal activity with different concentrations of *Mentha longifolia* essential oil on the majority of seven bacteria studied with a strong antifungal activity against *Candida albicans*. The richness of polyphenols and flavonoids of *Lavandula antinea* extract did not indicate any antifungal and antibacterial activity. All plants of Lamiaceae family, known for their phenolic compounds, were proven as active against variety of micro-organisms (Gortzi et al., 2007). *Aerva javanica* appears as an interesting plant, it showed an antifungal activity against *Candida albicans* and all tested yeasts with considerable inhibition zones. We noted that aqueous extracts have a low antimicrobial activity. The comparative work between alcoholic and aqueous extracts showed that *C. alata*, *L. camara* and *M. scaber* alcoholic extracts produced a more significant inhibition zones than the aqueous ones at a 500 mg/ml concentration (Ali-Emmanuel et al., 2002). It could be stated from this analysis that each extract acts differently on micro-organisms. A given compound can have a significant effect on one germ or less or no effect on another.

Marcelline Adiko et al. (2014) tested some plants were harvested in their natural habitats. Aqueous and methanol extracts of dried material were screened for antimicrobial activity, by dilution in solid culture medium, against

six bacterial species responsible for ocular infections. Seven extracts were active against all bacteria methanol extracts of *Hibiscus asper* (Malvaceae), *Hoslundia opposita* (Lamiaceae), *O. gratissimum*, *S. mombin*, *Vitellariaparadoxa* (Sapotaceae) and *Z. zanthoxyloides* (bark); aqueous extracts of *Piliostigma thonningii* (Fabaceae) and *S. mombin*.

5. Conclusion

This work revealed the richness of medicinal flora from extreme southern Algeria which is traditionally used in the treatment of several diseases. Our phytochemical and biological activities studies have been focused on the aerial parts, leaves and stems. The phytochemical analysis revealed the presence of saponins, cardiac glycoside and flavonoids. Some tested extracts have the capacity to scavenge free radicals. Antibacterial, antifungal, and anti-oxidant activities were demonstrated for certain plants *Lavandula antinea* (stems and leaves), *Mentha longifolia* (leaves), *Pentzia monodiana*, *Deverra scoparia* and *Aerva javanica*.

Acknowledgements

The first author would like to thank Professor Hocine Allali from the University of Tlemcen. Dr. Zineb Boukhatem and Professor Hichem Mortad from the University of Oran. Thank them for reading and correcting the manuscript.

References

- Al-Bayati, F. (2009). Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 8(20). <http://dx.doi.org/10.1186/1476-0711-8-20>
- Ali-Emmanuel, N., Moudachirou, M., Akakpo, A. J., & Quetin-Leclercq, J. (2002). Activités antibactériennes in vitro de *Cassia alata*, *Lantana camara* et *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophilus congolensis* isolé au Bénin. *Pays trop. Revue. Elev. Méd. Vét.*, 55(3), 183-187.
- Bellakhdar, J., Claisse, R. J., & Younos, C. (1991). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *J. Ethnopharmacol.*, 35, 123-143. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90064-K](http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741(91)90064-K)
- Benamar, H., Rached, W., Derdour, A., & Marouf, A. (2010). Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J. Biol.Sci.*, 10, 1-9. <http://dx.doi.org/10.3923/jbs.2010.1.9>
- Blois, M. S. (1958). Antioxydant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200. <http://dx.doi.org/10.1038/1811199a0>
- Bo Huang, J., Xiaoquan, H., Hong Zeng, B., Xincheng, Y., & Youwei, W. (2011). Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbonucifera*) rhizome knot and leaf. *Meat Science*, 87, 46-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.09.001>
- Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales* (2nd ed., Technique et Documentation, p. 914). Paris.
- Burns, R. E. (1971). Methods for estimation of tannin in grain sorghum. *J. Agrom.*, 63, 511-512. <http://dx.doi.org/10.2134/agronj1971.00021962006300030050x>
- Cavin, A. (1999a). *Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicals Tinospora crispa (Menispermaceae); Merremia marginata (Convolvulaceae) et Oropheaenandra (Annonaceae)* (Thesis). Univ. Lausanne, Suisse.
- Cavin, A., Wahjo, D., & Kurt, H. (1999b). Screening of Indonesian Plants for Antifungal and Free Radical Scavenging Activities. *Pharmaceutical Biology J.*, 37(4), 260-268. <http://dx.doi.org/10.1076/phbi.37.4.260.5800>
- D'abrosca, B., Pacifisco, S., Cefarelli, G., Mastellone, C., & Fiorentino, A. (2007). Limoncella' apple, an Italian cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chem.*, 104, 1333-1337. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.073>
- De Oliveira, T. L., de Araújo Soares, R., Ramos, E. M., das Graças Cardos, M., Alves, E., & Piccoli, R. H. (2011). Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *Int. J. Food Microbiol.*, 144, 546-555. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.022>
- Diallo, A. M. (2005). *Étude des plantes médicinales de Niafunke (région Tanbouktou). phytochimie et pharmacologie de MareuacrassifoliaForsk (Capparidacée)* (Unpublished Thesis). Faculté de Médecine de

- Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie., Univ. Bamako., Mali.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extract containing phenolic compounds. *J. Food Chem.*, 97, 654-660. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>
- Dominguez, M., Nieto, A., Marin, J. C., Keck, A. S., Jeffery, E., & Cespedes, C. L. (2005). Antioxidant activities of extract from *Barkleyanthussalicifolius* (Asteraceae) and *Penstemongentianoides* (Scrophulariaceae). *J. Agri. Food Chem.*, 53, 5889-5895. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0504972>
- Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M. L., & Jouad, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the southeast region of Morocco (Tafilalet). *J. Ethnopharmacol.*, 82, 97-103. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00164-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00164-2)
- Gast, M. (1968). Alimentation des populations de l'Aghaggar: étude ethnographique. *Mém. Cent. Rech. Anthropol. Préhist. Ethnog.* (8th ed., p. 457). Arts et Métiers graphiques. Paris.
- Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., & Tsaknis, J. (2007). Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes. *Molecules*, 12, 932-945. <http://dx.doi.org/10.3390/12050932>
- Guillén, M. D., & Manzanos, M. J. (1998). Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. plant. *Food Chem.*, 63(3), 373-383. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00013-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00013-2)
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochem.*, 55(6), 481-504. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1)
- Husain, S. R., Cillard, J., & Cillard, P. (1987). Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochem.*, 26, 2489-2492. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)83860-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)83860-1)
- Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y., & Shimamura, T. (1998). *Chemotherapy*, 46, 179-183.
- Kaisoon, O., Siriamornpun, S., Weerapreeyakul, N., & Meesoc, N. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *J. Functional Foods*, 3, 88-99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2011.03.002>
- Karou, D., Dicko, M. H., Sanon, S., Simpore, J., & Traore, A. S. (2003). Antimalarial activity of *Sida acuta* Burm. F. (Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *J. Ethnopharmacol.*, 89, 291-294. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.010>
- Kim, D. O., Jeong, S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem.*, 81, 321-326. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00423-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00423-5)
- Kulšić, T., Dragovic-Uzelac, V., & Miloš, M. (2006). Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.*, 44(4), 485-492.
- Marcelline, A., Sylvie, B., Timothée, A. O., Sylvie, L., Laurent, A., Brou, J. K., & Pierre, C. (2014). Phytothérapie traditionnelle des conjonctivites en milieu urbain ivoirien : enquête sur les deux marchés aux plantes médicinales d'Abidjan. *Acta Bot. Gallica.*, 161(1), 33-45. <http://dx.doi.org/10.1080/12538078.2013.864998>
- Markham, K. R. (1982). *Techniques of Flavonoid Identification Biological techniques series* (p. 113). Academic Press, London.
- Rached, W., Benamar, H., Bennaceur, M., & Marouf, A. (2010). Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. *J. Biol. Sci.*, 10(4), 316-324. <http://dx.doi.org/10.3923/jbs.2010.316.324>
- Sahki, A., & Sahki, R. (2004). *Le Hoggar promenade botanique* (Ed. Ésope. Lyon., p. 311).
- Sahki, R. (1998). Les plantes naturelles utilisées pour guérir les affections dues aux animaux venimeux scorpions et serpents dans l'Aghaggar. *Rev. FOREM. Santé +. Alger.*, 61, 11-16.
- Sahki, R. (2012). *Contribution à l'étude de phytoécologie et inventaire des plantes médicinales du Sahara central (Feuilles d'Assekrem au 1/200000)* (Unpublished Thesis). F.S.B. Univ. U.S.T.H.B., Algeria.
- Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 32, 67-103. <http://dx.doi.org/10.1080/10408399209527581>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic

- acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144-158.
- Thuille, N., Fille, M., & Nagl, M. (2003). Bactericidal activity of herbal extracts. *Int. J. Hug. Environ. Health*, 206, 217-221. <http://dx.doi.org/10.1078/1438-4639-00217>
- Torel, J., Cillard, J., & Cillard, P. (1986). Antioxidants activities of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochem.*, 25, 383-385. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)85485-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85485-0)
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas* (2nd ed., p. 384). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>
- Yemoa, A. L., Gbenou, J. D., Johnson, R. C., Djego, J. G., Zinsou, C., Moudachirou, M., ... Portaels, F. (2008). Identification et étude phytochimique de plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère de Buruli au Bénin. *Ethnopharmacologia*, 42.
- Zaabat, N., Darbour, N., Bayet, C., Michalet, S., Doléans-Jordhéim, A., Chekir-Ghedira, L., Akkal, S., & Dijoux-Franca, M. G. (2010). Etude préliminaire de *Marribium desertii* de Noé, une lamiaceae endémique Algérienne. *Phytothérapie*, 8, 353-358. <http://dx.doi.org/10.1007/s10298-010-0589-y>
- Ziyyat, H., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassoili, A., Serhrouchni, M., & Benjelloun, W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J. Ethnopharmacol.*, 58, 45-54. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00077-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00077-9)

Copyrights

Copyright for this article is retained by the author(s), with first publication rights granted to the journal.

This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

Résumé

Le Hoggar, moins chaud et moins aride que la plaine désertique, sert de refuge à beaucoup de plantes. Dans cette région du sud, un taux d'endémisme élevé est observé et croît avec l'altitude. Douze plantes aromatiques et médicinales appartenant à neuf familles botaniques sont étudiées scientifiquement afin de confirmer leur usage comme remèdes traditionnels par les Touaregs. Pour ce faire, une étude ethnobotanique est suivie d'investigations chimiques et biologiques. Le criblage phytochimique, des extraits aqueux et alcooliques, met en évidence plusieurs métabolites secondaires parmi lesquels les saponosides, les glycosides cardiotoniques et les flavonoïdes. Ces derniers sont responsables des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits obtenus. Cette étude est suivie, dans un deuxième temps, par un intérêt particulier porté aux HEs de la *P. incisa*, de l'*A. graveolens* et de l'*A. javanica*. Après caractérisation chimique par CPG et CPG/SM, les fractions volatiles de ces plantes sont valorisées par évaluation de leurs activités biologiques, notamment, antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, enzymatique [etc.](#) [et](#) aussi leurs utilisations comme inhibiteurs de la corrosion. Les résultats sont prometteurs, confirment l'usage traditionnel de ces plantes et ouvrent la voie à de nouvelles applications des HEs.

Mots clés:

Extraits aqueux; Screening phytochimiques; Produits naturels; Huiles essentielles; CPG et CPG/SM ; Antimicrobiennes; Anti-oxydantes; Enzymatiques; Anti-inflammatoire; Anticorrosion.