

LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE  
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi  
Faculté des Sciences exactes et Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

N° d'ordre :  
N° de série :



**Mémoire**  
**En vue de l'obtention du diplôme de Magister**  
**en Biochimie Appliquée**  
**Option : Biochimie des produits naturels d'origine végétale**

## **Thème**

**Valorisation des Substances Bioactives à Activités Pharmacologiques à partir de deux Asteraceae : *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. et *Hertia cheirifolia* (L.) O.K.**

**Présenté par : Melle BOULECHFAR Safia**  
**Soutenu le 23 Juin 2014**

Devant le jury :

**Président : GHERRAF Nouredine**

**Prof. Univ. Oum El Bouaghi**

**Rapporteur : ZELLAGUI Amar**

**Prof. Univ. Oum El Bouaghi**

**Examineurs : BENSEGUENI Abderrahmane**  
**ARHAB Rabah**

**Prof. Univ. Constantine -1-**  
**MCA. Univ. Oum El Bouaghi**

**Année universitaire 2013/2014**

*« A la lumière de la connaissance, l'heureux résultat semble presque aller de soi ; tout étudiant (...) peut l'appréhender sans trop de difficulté. Mais les longues années de tâtonnements, de recherches dans le noir, avec leur lancinante tension, l'alternance des périodes de confiance et de découragement, puis finalement la sortie vers la lumière, seuls ceux qui ont prouvé cela peuvent le comprendre. »*

***A. Einstein (1934).***

## *Remerciements*

*Ce travail de recherche est le fruit de nombreuses collaborations pluridisciplinaires, il se situe à la frontière entre la chimie et la biologie ayant une finalité thérapeutique. Il a été réalisé au sein du Laboratoire de Biomolécules Végétales et Amélioration des Plantes de l'Université d'Oum El Bouaghi.*

*Je tiens tout d'abord à remercier mon encadreur professeur Amar ZELLAGUI pour m'avoir accepté dans son équipe et m'avoir guidé durant mes années de mémoire de magister. Si ce travail est présentable aujourd'hui, c'est grâce à ses efforts inlassables à nous offrir une bonne formation. Merci pour tout ce que vous nous avez transmis pendant ces courtes années. J'ai été très sensible à la confiance totale qu'il m'a accordée. Ses précieux conseils et ses encouragements ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail. Merci également pour votre patience, votre compréhension et d'avoir toujours cru en mes capacités. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Je remercie tous les membres du jury qui ont accepté de juger la qualité de ce travail :*

***A** Monsieur Nouredine GUERRAF, Professeur à la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie Université Larbi Ben M'hidi d'avoir accepté de juger ce travail et m'honoré par sa présidence de jury, qu'il trouve ici ma sincère gratitude et mes sincères remerciements.*

***A** Monsieur Abderrahmane BENSEGUENI, Professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Constantine 1 d'avoir accepté de jurer ce modeste travail. Qu'il soit assuré de ma respectueuse et très sincère gratitude.*

***A** Monsieur Rabah ARHAB, Maître de conférences à la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie de l'Université Larbi Ben M'hidi d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération.*

*Ma spéciale gratitude et mes grands remerciements sont adressés à Mr KITOUNI Mahmoud Chef de Département de Microbiologie de la faculté SNV de l'Université Constantine 1, pour m'avoir permis de réaliser un tiers de mon travail au sein de laboratoire de Biochimie et de Microbiologie de la faculté SNV et ce, dans de meilleures conditions tout en me laissant une grande liberté, pour son soutien moral et matériel et sa grande générosité.*

*Je remercie vivement Melle LEULMI Nassima, Maître Assistante à l'Université de Khenchela pour son soutien moral et ses précieux conseils surtout lors de la réalisation du test de l'activité antibactérienne.*

*Les paroles ne suffisent pas pour remercier Melle ABDELAZIZ Wided, Maitre Assistante à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Constantine 1 et Melle HARZALLAH Besma, Maitre Assistante à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Oum El Bouaghi pour leurs précieux conseils et leurs soutien moral et matériel.*

*C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire de Biomolécules Végétales et Amélioration des Plantes de l'Université Oum El Bouaghi et les membres du laboratoire de biochimie et de Microbiologie de la faculté SNV de l'université de Constantine 1 pour leur soutien et les facilités accordées pour la réalisation de ce travail : Sihem, Mr Ammar LAARDJANI, Mme HANNICHE, Zahra, Hayet, Linda, Nadia, Razika et Nadjet.*

*Je remercie tout particulièrement ma famille qui m'a toujours soutenu dans mes choix, et qui été présente chaque fois que cela a été nécessaire. Merci Maman, Merci Papa, Merci mes Sœurs, mes Frères. C'est avec vous que j'ai partagé mes joies, mes peines, vous m'avez soutenu grâce à votre présence, à votre sourire, à votre amitié.*

*Et enfin, il y a les compagnons de route, ceux avec qui l'on partage les joies du quotidien, les doutes, je suis heureuse de vous avoir rencontré. Un grand merci à Imène, Hind, et Soumia. A ma promotion de magister. Merci également à Yasmine, Nadia, Wissam et Zeyneb avec qui j'ai partagé paillasses, matériels et conseils techniques. Je remercie toutes les personnes qui ont contribuées de près ou de loin à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel.*

*Que ceux et celles qui ne sont pas nommé(e)s ne sentent pas oublier. Je ne saurai oublier personne car vous avez été tous et toutes là pour moi, je vous garde dans ma pensée.*

*Merci à tous et à toutes pour les efforts consentis d'une façon ou d'une autre !*

## **Avant propos**

Les principales communications auxquelles ce travail a donné lieu :

- **S. BOULECHFAR, A. ZELLAGUI & N. GHERRAF.** Etude comparative des huiles essentielles et effet antioxydant d'une espèce endémique *Hertia cheirifolia*. **Le I<sup>ier</sup> Séminaire Nationale sur les Molécules Bioactives et Pathologies Cellulaires. Batna, 26 - 27 Octobre 2013.**
- **S. BOULECHFAR, A. ZELLAGUI, N. GUERRAF & N. LEULMI.** Etude de l'activité antibactérienne des feuilles de la plante *Aster squamatus* vis-à-vis des bactéries responsables des infections respiratoires. **Le I<sup>ier</sup> Colloque International sur les Maladies Respiratoires. Médéa, 09-10 Novembre 2013.**
- **S. BOULECHFAR, A. ZELLAGUI & N. GHERRAF.** Étude comparative des huiles essentielles et effet antioxydant d'une plante médicinale de l'est algérien *Aster squamatus*. **5<sup>ème</sup> Congrès International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Zarzis, Tunisie, les 17- 20 Mars 2014.**
- **S. BOULECHFAR & A. ZELLAGUI.** Étude du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant des extraits des feuilles d'*Aster squamatus* (asteraceae). **Le II<sup>ème</sup> Congrès International de Biotechnologie et Valorisation des bio-ressources. Tabarka, Tunisie, les 18-20 Mars 2014.**

# Sommaire

## Première partie : Synthèse Bibliographique

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Les plantes médicinales sélectionnées</b>	
I.1.Généralités.....	3
I.2. La plante <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	3
I.2.1.Le genre <i>Aster</i> .....	3
I.2.2.L'espèce <i>Aster squamatus</i> .....	4
I.2.2.1.Classification .....	4
I.2.2.2. Description botanique et aire géographique.....	5
I.2.2.3.Utilisation en médecine traditionnelle.....	5
I.2.2.4.Travaux antérieurs.....	5
I.2.2.4.1.Travaux sur le genre.....	5
I.2.2.4.2.Travaux sur l'espèce.....	12
I.2.2.5.Propriétés pharmacologiques.....	13
I.3.La plante <i>Hertia cheirifolia</i> (L.)O.K.....	14
I.3.1.Classification .....	14
I.3.2.Description botanique et aire géographique.....	15
I.3.3.Travaux antérieurs.....	15
I.3.3.1.Travaux sur le genre .....	15
I.3.3.2.Travaux sur l'espèce.....	16
I.3.4.Propriétés pharmacologiques .....	17
I.3.4.1.Activité antioxydante.....	17
I.3.4.2.Activité antibactérienne.....	17
I.3.4.3Activité anti-inflammatoire.....	18
I.3.4.4.Activité antispasmodique.....	18
<b>Chapitre II : Les Substances Bioactives : Flavonoïdes et Huiles essentielles</b>	
II.1.Les Flavonoïdes.....	19
II.1.1.Généralités sur les polyphénols.....	19
II.1.2.Biosynthèse .....	20
II.1.3.Effets biologiques des polyphénols .....	20

II.1.4.Les flavonoïdes .....	21
II.1.4.1.Définition .....	21
II.1.4.2.Structure chimique et classification.....	21
II.1.4.3.Biosynthèse .....	24
II.1.4.4.Distribution et localisation dans les plantes .....	26
II.1.4.5.Biodisponibilité des flavonoïdes.....	26
II.1.4.6.Activités biologiques des flavonoïdes .....	27
II.1.4.6.1.Propriétés antioxydantes et piègeurs de radicaux libres.....	27
II.1.4.6.2. Propriétés inhibitrices d'enzymes.....	28
II.1.4.6.3. Effets anti-inflammatoires.....	28
II.1.4.6.4. Effets antiulcéreux .....	29
II.1.4.6.5. Effets antiallergiques .....	29
II.1.4.6.6. Effets cardiovasculaires.....	30
II.1.4.6.7. Activités antimicrobiennes.....	30
II.1.4.6.7.1.Activité antibactérienne.....	30
II.1.4.6.7.2. Activité antivirale .....	31
II.1.4.6.7.3. Activité antifongique.....	31
II.1.4.6.8. Autres effets biologiques.....	31
II.1.4.6.9. Rôles des flavonoïdes chez les plantes .....	32
II.2.Les huiles essentielles .....	33
II.2.1.Généralités sur les terpènes.....	33
II.2.2. Les huiles essentielles.....	34
II.2.2.1.Définition .....	34
II.2.2.2.Répartition, localisation et fonction .....	34
II.2.2.2.1.Répartition .....	34
II.2.2.2.2.Localisation .....	35
II.2.2.2.3.Fonction.....	35
II.2.2.3.Propriétés physiques .....	35
II.2.2.4.Composition chimique .....	36
II.2.2.5.Facteurs de variabilité des huiles essentielles .....	36
II.2.2.6.Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles .....	37

II.2.2.6.1. Activité antioxydante.....	37
II.2.2.6.2. Activité antibactérienne.....	37
II.2.2.6.3. Activité antifongique.....	38

**Chapitre III : Les antioxydants et les agents antimicrobiens**

III.1. Les antioxydants.....	39
III.1.1. Généralités.....	39
III.1.2. Définition d'antioxydant.....	40
III.1.3. Classification des antioxydants.....	40
III.1.3. 1. Les antioxydants enzymatiques.....	41
III.1.3. 1.1. Les superoxydes dismutases .....	41
III.1.3. 1.2. Les catalases.....	41
III.1.3. 1.3. Les glutathion peroxydases .....	42
III.1.3. 2. Les antioxydants non enzymatiques.....	42
III.1.3. 2.1. La Vitamine E.....	42
III.1.3. 2.2. La Vitamine C .....	43
III.1.3. 2.3. Le $\beta$ - carotène.....	43
III.1.3. 2.4. Le Glutathion.....	43
III.1.4. Mécanismes d'action.....	43
III.2. Les Agents antimicrobiens.....	44
III.2.1. Généralités.....	44
III.2.2. Mode d'action des agents antimicrobiens.....	44
III.2. 2.1. Action germicide.....	44
III.2.2.2. Action germistatique.....	44
III.2.3. Facteurs influençant l'activité des antimicrobiens.....	44
III.2.3.1. Nature et état du microorganisme.....	45
III.2.3.2. Nature de l'agent antimicrobien.....	45
III.2.3.3. Rôle de l'environnement.....	45
III.2.4. Types d'agents antimicrobiens.....	45
III.2. 4.1. Agents physiques.....	46
III.2. 4.2. Agents chimiques.....	46
III.2. 4.3. Agents chimiothérapeutiques.....	47

## *Deuxième partie : Etude expérimentale*

### **Chapitre I: Matériel et Méthodes**

I. Etude phytochimique .....	47
I.1. Récolte du matériel végétal.....	47
I.1.1. La plante <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	47
I.1.2. La plante <i>Hertia cheirifolia</i> (L.)O.K .....	47
I.2. L'extraction.....	47
I.2. 1.Extraction des flavonoïdes.....	47
I.2. 2.Extraction des huiles essentielles.....	50
I.3. Analyse quantitative des extraits des feuilles d' <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	50
I.3. 1. Dosages des polyphénols totaux des extraits.....	50
I.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	51
I.4. Analyse qualitative des huiles essentielles de la partie aérienne d' <i>H.cheirifolia</i> ..	51
II. Activités biologiques.....	52
II.1. Activité anti-oxydante .....	52
II.1 .1. Test au DPPH .....	52
II.2. Activité antibactérienne.....	53
II.2.1. Souches bactériennes.....	53
II.2.2. Milieux de culture.....	54
II.2.3. Préparation des solutions .....	54
II.2.4. Méthode de diffusion en milieu gélosé .....	54

### **Chapitre I: Résultats et discussion**

I. Etude phytochimique.....	55
I.1.Rendement des extractions.....	55
I.1.1. Rendement d'extraction des flavonoïdes.....	55
I.1.2. Rendement d'extraction des huiles essentielles.....	55
I.2.Analyse quantitative des extraits des feuilles d' <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	58

I.2.1. Teneur en polyphénols .....	58
I.2.2. Teneur en flavonoïdes .....	60
I.2.3. Corrélation entre le contenu phénolique –flavonoïdes .....	61
I.4. Analyse qualitative des huiles essentielles des feuilles d' <i>Hertia cheirifolia</i> .....	62
II. Etude des activités biologiques.....	66
II.1. Activité antioxydante .....	66
II.1.1. Cinétique de la réaction de réduction et puissance antioxydante.....	67
II.1.2. Pouvoir antioxydant des extraits flavonoidiques .....	70
II.1.2.1. Détermination du pourcentage d'inhibition.....	70
II.1.2.2. Détermination d'IC50.....	71
II.1.2.3. Corrélation pouvoir antiradicalaire-flavonoïdes.....	72
II.1.3. Pouvoir antioxydant des huiles essentielles .....	73
II.1.3.1. Huiles essentielles d' <i>Hertia cheirifolia</i> (L.)O.K.....	73
II.1.3.2. Huiles essentielles d' <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	75
II.1.4. Etude comparative du pouvoir antioxydant des extraits flavonoidiques et huiles essentielles.....	76
II.2. Activité antibactérienne.....	77

<b>Conclusion</b> .....	84
-------------------------	----

**Références bibliographiques**

**Annexes**

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1.</b> <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	<b>4</b>
<b>Figure 2.</b> <i>Hertia cheirifolia</i> (L.)O.K.....	<b>14</b>
<b>Figure 3.</b> Structure de l'enchainement benzo- $\gamma$ -pyrone.....	<b>21</b>
<b>Figure 4.</b> Différentes classes de flavonoïdes.....	<b>23</b>
<b>Figure 5.</b> Voie de biosynthèse des flavonoïdes .....	<b>25</b>
<b>Figure 6.</b> Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.....	<b>27</b>
<b>Figure 7.</b> Structure de l'unité isoprénique.....	<b>33</b>
<b>Figure 8.</b> Réseau des antioxydants.....	<b>41</b>
<b>Figure 9.</b> Schéma de l'extraction des feuilles de l'espèce <i>A.squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	<b>49</b>
<b>Figure 10.</b> Histogramme comparatif des rendements en H.E de la partie aérienne d' <i>Hertia cheirifolia</i> obtenue à différentes périodes de récoltes.....	<b>56</b>
<b>Figure 11.</b> Histogramme comparatif des rendements en H.E de différents organes d' <i>Aster squamatus</i> .....	<b>56</b>
<b>Figure 12.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	<b>58</b>
<b>Figure 13.</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	<b>60</b>
<b>Figure 14.</b> Corrélation linéaire entre la quantité en polyphénols totaux et la quantité des flavonoïdes des différents extraits des feuilles d' <i>Aster squamatus</i> .....	<b>64</b>
<b>Figure 15.</b> Représentation des principaux constituants de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Hertia cheirifolia</i> (L.)O.K.....	<b>64</b>
<b>Figure 16.</b> Répartition des monoterpènes hydrocarbonés (M.H), des monoterpènes oxygénés (M.O), des sesquiterpènes hydrocarbonés (S.H), des sesquiterpènes oxygénés (S.O) et autre constituants dans l'huile essentielle des feuilles d' <i>Hertia cheirifolia</i> (L.)O.K.....	<b>62</b>
<b>Figure 17.</b> Activité antiradicalaire de la vitamine C.....	<b>66</b>
<b>Figure 18.</b> Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de l'extrait AcOEt.....	<b>67</b>
<b>Figure 19.</b> Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de l'extrait <i>n</i> - BuOH.....	<b>67</b>
<b>Figure 20.</b> Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E d' <i>H.cheirifolia</i> au (L.)O.K au stade végétatif.....	<b>68</b>

<b>Figure 21.</b> Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E d' <i>H.cheirifolia</i> (L.)O.K au stade de floraison .....	<b>68</b>
<b>Figure 22.</b> Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E d' <i>H.cheirifolia</i> (L.)O.K au stade de fructification .....	<b>68</b>
<b>Figure 23.</b> Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E des fleurs d' <i>A. squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	<b>69</b>
<b>Figure 24.</b> Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E des grains d' <i>A. squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	<b>69</b>
<b>Figure 25.</b> Activité antiradicalaire des extraits flavonoidiques ( <i>n</i> -BuOH et AcOEt) des feuilles d' <i>A. squamatus</i> (Spreng.) Hieron .....	<b>70</b>
<b>Figure 26.</b> Histogramme comparatif de l'activité antiradicalaire de l'extrait <i>n</i> -BuOH et AcOEt des feuilles d' <i>A. squamatus</i> (Spreng.) Hieron et de la vitamine C à différentes concentrations .....	<b>71</b>
<b>Figure 27.</b> Corrélation linéaire entre l'activité antiradicalaire et la teneur en flavonoides des extraits des feuilles d' <i>A.squamatus</i> (Spreng.) Hieron .....	<b>72</b>
<b>Figure 28.</b> Activité antiradicalaire des huiles essentielles de la partie aérienne d' <i>Hertia cheirifolia cheirifolia</i> (L.)O.K à différentes périodes de récolte .....	<b>73</b>
<b>Figure 29.</b> Histogramme comparatif de l'activité antiradicalaire des trois huiles essentielles d' <i>H. cheirifolia</i> (L.)O.K et de la vitamine C à différentes concentrations .....	<b>74</b>
<b>Figure 30.</b> Activité antiradicalaire des H.Es des fleurs et des grains d' <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron .....	<b>75</b>
<b>Figure 31.</b> Histogramme comparatif de l'activité antiradicalaire des H.Es d' <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron. et de la vitamine C à différentes concentrations .....	<b>76</b>
<b>Figure 32.</b> Effet de la fraction Acétate d'éthyle sur les bactéries tests.....	<b>79</b>
<b>Figure 33.</b> Effet de la fraction <i>n</i> -butanol sur les bactéries tests.....	<b>80</b>
<b>Figure 34.</b> Effet de l'extrait AcOEt sur les bactéries tests à différentes concentrations.....	<b>81</b>
<b>Figure 35.</b> Effet de l'extrait <i>n</i> -BuOH sur les bactéries tests à différentes concentrations.....	<b>81</b>

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1.</b> Les métabolites secondaires isolés des espèces du genre <i>Aster</i> .....	<b>6</b>
<b>Tableau 2.</b> Principales classes de composés phénoliques.....	<b>19</b>
<b>Tableau 3.</b> Activités biologiques des composés polyphénoliques .....	<b>20</b>
<b>Tableau 4.</b> Condition d'analyse GC/MS de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Hertia cheirifolia</i> (L.)O.K.....	<b>52</b>
<b>Tableau 5.</b> Aspects, couleurs et rendement des divers extraits des feuilles d' <i>Aster squamatus</i> (Spreng.)Hieron .....	<b>55</b>
<b>Tableau 6.</b> Teneur en polyphénols des extraits des feuilles d' <i>A. squamatus</i> (Spreng.) Hieron .....	<b>59</b>
<b>Tableau 7.</b> Teneur en flavonoïdes des extraits des feuilles d' <i>A.squamatus</i> (Spreng.) Hieron .....	<b>60</b>
<b>Tableau 8.</b> Les résultats d'analyse d'huile essentielle des feuilles d' <i>H. cheirifolia</i> (L.) O.K par GC/MS.....	<b>62</b>
<b>Tableau 9.</b> Comparaison du pourcentage de différentes fractions d'HE des feuilles de la plante <i>Hertia cheirifolia</i> (L.)O.K. ....	<b>65</b>
<b>Tableau 10.</b> Valeurs des IC50 (en µg/ml) des extraits d' <i>A. squamatus</i> (Spreng.) Hieron et de la vitamine C.....	<b>71</b>
<b>Tableau 11.</b> La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits des feuilles d' <i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron .....	<b>78</b>
<b>Tableau 12.</b> Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus par l'extrait AcOEt des feuilles d' <i>A.squamatus</i> (Spreng.) Hieron.....	<b>78</b>
<b>Tableau 13.</b> Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus par l'extrait <i>n</i> -BuOH des feuilles d' <i>A. squamatus</i> (Spreng.) Hieron .....	<b>79</b>

## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'Aluminium  
**AOX** : antioxydant  
**ATCC** : American type culture collection  
**ATP** : Adénosine triphosphate  
**CAT** : Catalase  
**DMSO** : Dimethyl sulfoxyde  
**DPPH** : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl  
**EAcOEt** : La fraction de l'acétate d'éthyle  
**En-BuOH** : La fraction du n-butanol  
**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène  
**GSH** : Glutathion réduit  
**GSHPx** : Glutathion peroxydase.  
**GSSG** : Glutathion oxydé.  
**GC-MS** : Gas Chromatography – Mass Spectroscopy  
**HCl** : Acide chlorhydrique  
**HDL** : High density lipoprotein  
**HO•** : Radical hydroxyle  
**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène.  
**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50%  
**LDL** : Low density lipoprotein  
**mg** : milligramme  
**ml** : millilitre  
**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit  
**NCCLS** : National Committee for Clinical Laboratory Standards  
**O<sub>2</sub>•-** : Anion superoxyde  
**SOD** : Superoxyde dismutase  
**Tr** : Temps de rétention  
**UFC** : Unité Formant Colonie  
**UV-Vis** : Ultraviolet/Visible  
**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine  
**µl** : microlitre  
**µg** : microgramme

# **Introduction**

## *Introduction*

Depuis l'antiquité, quelques caractéristiques des principes actifs étaient connues pour l'homme et certaines épices ont été utilisées pour leurs particularités de parfum, leur saveur et leur effet de conservateur (**Bauer et al., 2001**)

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

Ces dernières années, nous avons assisté à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale.

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Ouraini et al., 2007**).

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques (**Gaussen & Leroy, 1982**)

Notre travail s'inscrit dans le cadre général des travaux visant la valorisation des ressources naturelles d'origine végétale de l'Est- algérien.

Deux plantes locales appartenant à la famille Asteraceae ont retenu notre attention, il s'agit d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. et d'*Hertia Cheirifolia* (L.)O.K. La sélection de ces espèces résulte d'une enquête ethnobotanique réalisée par notre laboratoire sur les plantes de la région d'Oum el Bouaghi. Par ailleurs, les recherches bibliographiques sur les travaux effectuées sur ces deux plantes ont montré que leurs études phytochimiques et pharmacologiques restent insuffisamment étudiées.

Notre travail a été divisé en deux parties ; nous aborderons dans une première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne une description détaillée des plantes étudiées. Le deuxième chapitre est consacré aux métabolites secondaires flavonoïdes et huiles essentielles, leurs classifications et leurs propriétés pharmacologiques. Nous donnerons dans le troisième les antioxydants et les agents antimicrobiens.

La deuxième partie est réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux chapitres : le premier décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- L'étude phytochimiques des plantes sélectionnées;
- L'étude *in vitro* des activités biologiques antioxydante et antibactérienne des extraits de ces plantes.

Dans le deuxième chapitre nous présenterons les résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

# **Partie I**

## Synthèse Bibliographique

# **Chapitre I**

Les Plantes Médicinales Sélectionnées

## I. Les plantes médicinales sélectionnées

### I.1. Généralités

Le nom *Aster* provient du mot latin "aster" qui signifie étoile, faisant allusion à la forme des capitules (**Oren-Shamir et al., 2000**).

La famille Asteraceae (compositae) est la famille la plus vaste des plantes vasculaires dans le monde, avec 1600-1700 genres et 24,000-30,000 espèces (**Moreira-Muñoz & Muñoz-Schick, 2007**). Les plantes de cette famille se distinguent par des fleurs qui sont regroupées en capitules (**Moreira-Muñoz & Muñoz-Schick, 2007**).

Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues (**Bonnier, 1934**). Bien que généralement ce soit des plantes herbacées à feuilles isolées (**Crete, 1965**). L'aspect de l'appareil végétatif est trop variable pour caractériser les Astéracées sur ce seul critère. En revanche, cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques : le capitule. Le fruit est un akène généralement surmonté d'un pappus provenant du calice.

Une des propriétés typique de la famille des Asteraceae est sa richesse en composés naturels divers. On y trouve des terpenoïdes, des flavonoïdes et des alcaloïdes (**Harborne & Swain, 1969**). c'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représente des principes amers typiques de cette famille (**Harborne & Swain, 1969**).

### I.2. La plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

#### I.2.1. Le genre *Aster*

Le genre *Aster* appartient à la famille Asteraceae, tribu Astereae (**Corea et al., 2004**). Ce vaste genre, originaire des régions tempérées de l'hémisphère Nord et principalement d'Amérique du Nord (**Burnie et al., 2006**), comprend environ 500 espèces originaires d'Amérique, 100 espèces distribuées dans la chine et d'autres sont originaires d'Europe, d'Asie, et Afrique du Sud (**Oren-Shamir et al., 2000 ; Liu et al., 2010**).

Sa large distribution géographique, à la fois dans l'Ancien et le Nouveau Monde, indique une forte adaptation à divers habitats, y compris des conditions difficiles (**Corea et al., 2004**).

Les espèces de ce genre sont des plantes herbacées vivaces et caduques ou de sous-arbrisseaux persistants, variant en taille de la miniature pour rocaille à la géante, de 2m de hauteur. Les asters portent des feuilles simples, le plus souvent à marge lisse assez petite, parfois pubescente. Les plantes se revêtent, généralement en fin d'été ou en automne, de capitules voyants dans une vaste gamme de coloris dans les bleu, violet, pourpre, rose, rouge et blanc, présentant toujours un disque central jaune ou violet (**Burnie et al., 2006**).

## I.2.2. L'espèce *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

### I.2.2.1. Classification

**Règne** : Plantae

**Embranchement** : Angiospermae

**Classe** : Dicotylédonae

**Sous classe** : Asteroideae

**Ordre** : Astéral

**Famille** : Asteraceae

**Tribu** : Astereae

**Sous-tribu** : Asterinae

**Genre** : *Aster*

**Espèce**: *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.



**Figure 1:** *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron

### **I.2.2.2. Description botanique et aire géographique**

La plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron possède des feuilles supérieures obovales, les inférieures lancéolées. Inflorescence en grappe. Les Capitules petits (6-7 mm de diam.). Les Pédoncules sont très fins. Les Tiges de cette plante sont rougeâtres de 40-80 cm. Les Bractées de l'involucre lancéolées, scarieuses sur les bords et plus ou moins mucronulées. Les Akènes sont fusiformes, très petits (2 mm env.). Velus à aigrette blanche plus longue qu'eux (**Quezel & Santa, 1963**).

*Aster squamatus* est originaire d'Amérique du Sud, naturalisée un peu partout jusque dans les oasis du Sahara (**Quezel & Santa, 1963**).

### **I.2.2.3. Utilisation en médecine traditionnelle**

Les espèces du genre *Aster* ont été également utilisées en médecine traditionnelle chinoise pour le traitement des morsures de serpent, fièvre, rhume, angine et piqûre d'abeille (**Corea et al., 2004**).

Certains membres d'*Aster* ont été utilisés comme folk-médicaments pour soulager la toux et réduire des expectorations, en raison de leur activités antibactériennes, antivirales et antiulcéreux, etc (**Liu et al., 2010**).

Dans le Sud du Brésil, La plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron connue sous le nom "erva-milagrosa" ou "zé-da-silva", est traditionnellement utilisée comme antidiarrhéique, antinéoplasique et cicatrisante (**Ghedini & Almeida, 2007**).

### **I.2.2.4. Travaux antérieurs**

#### **I.2.2.4.1. Travaux sur le genre :**

La composition phytochimique des plantes du genre *Aster* est étudiée de longue date en raison de leur utilisation en médecine traditionnelle et de l'intérêt que cela suscite.

La littérature indique que de nombreux composés ont été isolés de ce genre (**Tableau 1**)

**Tableau 1** : les métabolites secondaires isolés des espèces du genre *Aster*

l'espèce	Noms des composés isolés	Réf
<i>A.scaber</i> Thunb.	<b>Monoterpène Peroxyde Glycosides:</b> (3 <i>S</i> )-3- <i>O</i> -(3',4'-diangeloyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-7-hydroperoxy-3,7-dimethylocta-1,5-diene (3 <i>S</i> )-3- <i>O</i> -(3',4'-diangeloyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-6-hydroperoxy-3,7-dimethylocta-1,7-diene.	Jung <i>et al.</i> ,2001
<i>A. bakeranus</i> Burt.	<b>Monoterpène diol</b> : 6,7-dihydroxy-6,7-dihydro-cis-ocimene.	Tsankova & Bohlmann, 1983
<i>A. tataricus</i> L.	<b>Monoterpène glycoside:</b> shionoside C: L-endo-camphanol-8-3,5-isopropylidene- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1-6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	Cheng & Shao, 1994
<i>A. auriculatus</i> Franch.	<b>Sesquiterpénoïde glucoside:</b> auriculatoside C: 3 $\beta$ -hydroxy-4(15), 10(14), 11(13)-guaïatrien-12,6-olide-8 $\alpha$ - <i>O</i> - $\beta$ -D-(6'- <i>O</i> -formyl)-glucopyranoside,  3 $\beta$ -hydroxy-4(15), 10(14), 11(13)-guaïatrien-12,6-olide-8 $\alpha$ - <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	Zeng & Dequan,1997
<i>A.scaber</i> Thunb.	<b>Sesquiterpène</b> : germacra-4(15),5,10(14)-triène-1 $\beta$ -ol 6 $\alpha$ -methoxy-4(15)-eudesmane-1 $\beta$ -ol	Jung <i>et al.</i> , 2001
<i>A. veitchianus</i> Hutch. & Drumm	<b>Diterpène Acetylxylosides:</b> Acetylxyloside labdane acetylxylosides : <i>ent</i> -manool-13- <i>O</i> - $\beta$ -D-2'-acetylxylopyranoside  labdane acetylxylosides : <i>ent</i> -manool-13- <i>O</i> - $\beta$ -D-2', 4'-diacetylxylopyranoside	Li <i>et al.</i> ,2004
<i>A. spathulifolius</i> Maxim.	<b>Labdane Diterpenes:</b> (13 <i>R</i> )-labda-7,14-diene 13- <i>O</i> - $\beta$ -D-(4'- <i>O</i> -acetyl)fucopyranoside. (13 <i>R</i> )-labda-7,14-diene 13- <i>O</i> - $\beta$ -D-(3'- <i>O</i> -acetyl)fucopyranoside. (13 <i>R</i> )-labda-14(15)-ène-8,13-diol 13- <i>O</i> - $\beta$ -D-fucopyranoside  labda-7,14-dien-13-ol	Lee <i>et al.</i> , 2005

	(13 <i>R</i> )-labda-7,14-diene 13- <i>O</i> - $\alpha$ -L-(4'- <i>O</i> -acetyl)-6'-deoxydopyranoside  (13 <i>R</i> )-labda-7,14-diene 13- <i>O</i> - $\alpha$ -L-6'-deoxydopyranoside  (13 <i>R</i> )-labda-7,14-diene 13- <i>O</i> - $\beta$ -D-fucopyranoside	
<b><i>A. ageratoides</i> Turcz.</b>	<b>kaurane diterpenoïdes :</b> 16 $\beta$ ,17-dihydroxy(-)-kauran-19-oic acid  16 $\beta$ ,17-hydroxy(-)-kauran-19-oic acid- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester  16 $\beta$ -hydroxy-17-acetoxy(-)-kauran-19-oic acid- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester	Cheng <i>et al.</i> , 1993
<b><i>A. alpines</i> L.</b>	<b>Clerodane Diterpenoïdes</b>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1985
<b><i>A. auriculatus</i> Franch.</b>	<b>Secoiridoïdes:</b> Gentiopicroside	Zeng & Dequan, 1997
<b><i>A. auriculatus</i> Franch.</b>	<b>diterpenoïdes glucosidiques:</b> auriculatosides A: pimar- 15( 16)- $\beta$ -ene-8 $\beta$ , 11 $\beta$ ,20-triol-7 $\beta$ - <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside auriculatosides B: pimar- 15( 16)- $\beta$ -ene-8 $\beta$ , 11 $\alpha$ -diol-20-(3-hydroxy-3-methyl)-butanoyl-7 $\alpha$ - <i>O</i> -8-D-glucopyranoside	Zeng & Dequan, 1997
<b><i>A. auriculatus</i> Franch.</b>	<b>Hydroxy-Triterpenoïde Ketone:</b> Astertarone B: 4 $\beta$ -hydroxy-4-epishion-21-en-3-one (4 $\beta$ -hydroxy-4-epishionone)	
<b><i>A. bellidiastrum</i> (L.) Scop.</b>	<b>Triterpenoïdes saponines:</b> bellidiastrosides B: 3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-2 $\beta$ ,3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28- <i>O</i> - $\beta$ -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-fucopyranoside. bellidiastrosides C1: 3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-2 $\beta$ ,3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-fucopyranoside bellidiastrosides C2: 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-2 $\beta$ ,3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28- <i>O</i> - $\beta$ -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-fucopyranoside bellidiastrosides D1: 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-2 $\beta$ ,3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28- $\alpha$ -L-	Schopke <i>et al.</i> , 1995

	rhamnopyranosyl-(1 →3)- <i>O</i> -β-D-xylopyranosyl(1→ 4)-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-fucopyranoside	
<b><i>A. tataricus</i> L.</b>	<b>triterpène shionane:</b> shion-22-methoxy-20(21)-en-3-one shion-22(30)-en-3,21-dione shion-22-methoxy-20(21)-en-3β -ol	Zhou <i>et al.</i> , 2010
<b><i>A. lingulatus</i> Franch.</b>	<b>Triterpenoides saponines</b> asterlingulatosides A : 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-3β,16α-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid-28- <i>O</i> -α-L- <i>O</i> -arabinopyranoside asterlingulatosides B : 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-3β, 16α-dihydroxyolean- 12-en-28-oic acid-28- <i>O</i> - α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside	Shao <i>et al.</i> , 1997
<b><i>A. yunnanensis</i> Franchet.</b>	<b>Triterpene Saponines</b> asteryunnanosides A: 2α,3β,23-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid-28- <i>O</i> -α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside. asteryunnanosides B: 2α,3β,23-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid-28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside.  asteryunnanosides C: 2α,3β-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid-28- <i>O</i> -α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside  asteryunnanosides D: 2α,3β-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid-28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside.  asteryunnanoside E: 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-bayogenin-28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside	Shao <i>et al.</i> , 1995b  Shao <i>et al.</i> , 1995a
<b><i>A. batangensis</i> Bur. &amp; Franch.</b>	<b>Triterpenoides Saponines</b> asterbatanoside F: 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-23- <i>O</i> -acetyl-bayogenin-28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[α-rhamnopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranoside asterbatanoside G: 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-bayogenin-28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranoside  asterbatanoside H: 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1→3)-β-D-glucopyranosyl-bayogenin-28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside. asterbatanoside I: 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-(1→3)-β-D-glucopyranosyl-23- <i>O</i> -acetyl-bayogenin-28- <i>O</i> -β-o-	Shao <i>et al.</i> , 1995c

	<p>glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside.</p> <p>asterbatanosite B : 2 α,3β,23-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid-28-O-β-D-glucopyranosyl-(1 →6)-β-D-glucopyranoside</p> <p>asterbatanosite C : 3-O-β-D-glucopyranosyl-2β,3β,23-trihydroxyolean- 12-en--28-oic acid-28-O-β-D-glucopyranoside.</p>	Shao <i>et al.</i> , 1996
<b>A. ageratoides Turcz. var. ovatus</b>	<p><b>oleanane-type triterpene glycosides:</b></p> <p>ageratosides A1: 3-O-[O-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl] 2β,3β,16α-trihydroxyolean-12-ene-23,28-dioic acid (zanhic acid) 28-O-β-D-apiofuranosyl-(1→3)-O-(4-O-acetyl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranosyl ester</p> <p>ageratoside A2: 3-O-[O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl] zanhic acid 28-O-β-D-apiofuranosyl-(1→3)-O-(4-O-acetyl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranosyl ester</p> <p>ageratoside A3: 3-O-[O-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl] zanhic acid 28-O-α-L-arabinopyranosyl-(1→3)-O-(4-O-acetyl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranosyl ester</p> <p>ageratoside A4: 3-O-β-D-glucopyranosyl zanhic acid 28-O-α-L-arabinopyranosyl-(1→3)-O-(4-O-acetyl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranosyl ester</p> <p>ageratoside A5: 3-O-β-D-glucopyranosyl zanhic acid 28-O-β-D-apiofuranosyl-(1→3)-O-(4-O-acetyl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranosyl ester</p> <p>ageratoside B1: 3-O-β-D-glucopyranosyl 2β,3β-dihydroxyolean-12-ene-23,28-dioic acid (medicagenic acid) 28-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranosyl ester</p> <p>ageratoside B2: 3-O-[O-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl]medicagenic acid 28-O-β-D-xylopyranosyl-(1→3)-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranosyl ester</p> <p>ageratoside C1: 3-O-[O-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl] 2β,3β,16α,21β-tetrahydroxyolean-12-ene-23,28-dioic acid 21,28-lactone</p> <p>scaberoside A2</p>	Sakai <i>et al.</i> , 1999
<b>A. tataricus L.</b>	<p><b>oleanane -triterpene glycoside:</b> aster saponin G: 3-O-[O-α-L-arabinopyranosyl-( 1-6)-β-D-glucopyranosyl]asterogenic acid 28-[O-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-α-Lrhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranosyl]ester.</p>	Cheng & Shao ,1994
<b>A.batangensis Bur. &amp; Franch.</b>	<p><b>medicagenic acid saponines:</b></p> <p>asterbatanosite J: 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-2β, 3β-dihydroxy-olean- 12-en-23α,28-dioic acid-28-O-α-L-arabinopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-fucopyranoside.</p> <p>asterbatanosite K: 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-medicagenic acid-28-O-β-D-xylopyranosyl-</p>	Shao <i>et al.</i> ,1995d

	(1→4)-[α-L-arabinopyranosyl-(1→3)-]α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-fucopyranoside.	
<b><i>A. ageratoides</i> Turcz. var. <i>pilosus</i></b>	<b>Pentacyclic triterpenoids :</b> 2β,3β,16α-trihydroxyl-24α-al-olean-12-en-28-oic acid 2β,3β-dihydroxyl-16-O-β-d-glucopyranose-24α-al-olean-12-en-28-oic acid Friedelinol friedeline	
<b><i>A. praealtus</i> Poiret.</b>	<b>Coumarine :</b> Praealtine D, prenylated coumarin: Praealtine A, <i>Praealtine B</i> , <i>Praealtine C</i>	Wilzer <i>et al.</i> , 1989
<b><i>A. subulatus</i> Michx. var. <i>lingulatus</i></b>	<b>Flavonoïdes :</b> apigenine 7-O-β-D-glucoside apigenine 7-O-β-D-galactoside luteoline 7-O-β-D-glucoside Kaempferol 3-O-β-D-glucoside Kaempferol 3-O-β-D-galactoside 3-O-β-D-galactoside-O-α-L-rhamnosyl Kaempferol quercetine 3-O-β-D-glucoside	El-Sayed <i>et al.</i> , 1987
<b><i>A. bracteolatus</i> Nutt.</b>	quercetine 3-O-galactoside quercetine 3-O-glucoside, Quercetine 3-O-glucuronide Quercetine 3-O-xyloside quercetine 3-O-rhamnosylgalactoside Kaempferol 3-O-galactoside Kaempferol 3-O-glucoside Kaempferol 3-O-rhamnosylgalactoside luteoline 7-O-galactoside apigenine 7-O-glycoside	Allen, 1988
<b><i>A. indicus</i> L.</b>	<b>Dérivés phénoliques :</b> esters d'acide benzoïque : 4-hydroxy-3-[1-(methoxycarbonyl)vinyloxy]benzoic acid. 5-(1-carboxylvinyloxy)-2-hydroxybenzoic acid. Acide dehydrochorismique Phenylpropenes : 4-allyl-2,6-dimethoxyphenyl 3-methylbutanoate.	Lin <i>et al.</i> , 2007

	4-allyl-2-methoxyphenyl 2-methylbutanoate Isoeugenol 2-methylbutyrate	
<b><i>A.batangensis</i> Bur. &amp; Franch.</b>	<b>phenolic diglycoside:</b> asterbatanoside A : <i>p</i> -hydroxyacetophenone-4- <i>O</i> - $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	Shao <i>et al.</i> , 1996
<b><i>A. flaccidus</i> Bunge.</b>	<b>Phenylpropanoids :</b> lignane : (7'R, 8S)-9'-lariciresinol-( $\alpha$ -methyl)-butanoate.  5,9-dimethoxyl-7-( $\alpha$ -methyl)-butanoxyl-phenyl-2E-propenol-( $\alpha$ -methyl)-butanoate.	Liu <i>et al.</i> , 2010
<b><i>A. yunnanensis</i> Franchet.</b>	<b>Glucosides :</b> acétylène glycoside: asteryunnanoside I: 2Z,8E-decadiene-4,6-diyn- 1 - <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside.	Shao <i>et al.</i> ,1995a
<b><i>A. tataricus</i> L.</b>	<b>Peptides :</b> cyclotetrapeptide: tataricins A, tataricins B  <b>PENTAPEPTIDES:</b> Asterinine F: $\Delta^{2,4}$ Pro-L-Abu-L-Ser-L- $\beta$ Phe-L-Abu-OMe Asterinine E: $\Delta^{2,4}$ Pro-L-allo-Thr-L-Ser-L-Pro-L-allo-Thr-OMe Asterinine D: $\Delta^{2,4}$ Pro-L-Abu-L-Ser-L- $\beta$ Phe-L-Abu  <b>Astine B</b>	Xu <i>et al.</i> , 2013  Cheng <i>et al.</i> , 1996  Morita <i>et al.</i> , 1994
<b><i>A.scaber</i> Thunb.</b>	<b>Stérols :</b> $\alpha$ -spinasterol, $\alpha$ -spinasterol 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	Jung <i>et al.</i> ,2001

Le genre *Aster* est connu pour produire des huiles essentielles. Les travaux de **Gaspari Dias et al., (2009)** sur les fleurs d'*Aster lanceolatus* ont permis d'identifier treize composés dont les plus abondants le Caryophyllène oxide (34.53%), le 3-Cyclohexène-1-carboxaldehyde, 3,4 (12.72 %), le Bisabolène (7.36%), le 1-hexahydrofarnesyl acetone (5.19 %), Spathulenol (4.11 %), Cedrène-13-ol-8 (3.71), Naphthalène, 1,2-dihydro-1,1,6-triméthyl (3.47 %), Mirténol (2.58 %), et le Neoclovene-(I), dihydro (2.48%).

**Chu et al., (2012)** ont pu identifier 43 composés dans l'huile essentielle des fleurs d'*Aster ageratoides*. Les composés majoritaires de cette huile essentielle sont :  $\alpha$ -terpineol (10.8 %),  $\beta$ -caryophyllène(10.3 %), linalol (7.2 %), D-limonène (6.9 %), spathulénol(6.5 %), bornyl acetate (5.8 %) et bicyclosesquiphellandrene (5.6 %). Les monoterpénoides représentent 21 composés parmi les 43 composés, avec un pourcentage de 53.6% de la totalité d'huile essentielle et 20 de 43 composés sont des sesquiterpénoides représentant (41.1%) de l'huile essentielle.

#### **I.2.2.4.2.Travaux sur l'espèce**

Le criblage phytochimique a suggéré que les tiges et les racines contiennent des stéroïdes, terpènes, flavonoïdes, phénols, amino-groupes, des saponines, des tannins hydrolysables et condensés. La chromatographie sur couche mince des fractions solubles des extraits aqueux de feuilles, des tiges et des racines (fraction acétate d'éthyle, étherique et méthanolique), a révélé la présence d'acides caféique, cinnamique et sinapique dans toutes les fractions. L'acide vanillique semble être un seul constituant de la fraction soluble acétate d'éthyle obtenu à partir des racines (**Sperotto et al., 2002**).

Les travaux de (**El Sayed & Ross (1987)** cités par **Sperotto et al.,(2002)** sur les fleurs d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron, ont permis d'isoler plusieurs flavonoïdes tels que : squamatine, ternatine, ramnetime, kaempférol, baicaleine, luteolin-7-méthyletherleter, et quercetine.

Enfin, nous signalons qu'aucune étude n'a évoqué l'extraction et l'identification des huiles essentielles de l'espèce *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

### I.2.2.5. Propriétés pharmacologiques

L'effet anti-ulcérogène de l'extrait hydroalcoolique brut des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron a été testé sur des ulcères induits par l'éthanol, l'indométhacine, le froid et le stress. Les doses de 500 et 1000 mg / kg de l'extrait brut hydroalcoolique ont réduit l'indice de lésion (IL) et le nombre d'ulcères (NU) induits par l'éthanol. La dose de 1000 mg / kg réduit le NU dans les ulcères induits par l'indométhacine, et réduit également le IL et NU dans les ulcères induits par le stress. Les résultats de la présente étude suggèrent que l'extrait hydroalcoolique brut des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron peut être efficace dans le traitement des lésions gastriques (**Ghedini et al., 2002**).

**Ghedini & Almeida (2007)** ont signalé que la fraction Butanolique de l'extrait hydroalcoolique brut de la partie aérienne était également efficace pour inhiber la sécrétion d'acide gastrique.

Les travaux de **Sperotto et al.,(2002)** ont suggéré que les infusions de feuilles, des tiges et des racines d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron réduit de façon significative la propulsion gastro-intestinale par rapport au contrôle (standard), alors que les extraits aqueux et éthanolique ne l'ont pas modifié.

### I.3. La plante *Hertia cheirifolia* (L.) O.K.

Le genre *Hertia* appartenant à la famille Asteraceae tribu Senecioneae, comprend deux espèces distribuées à travers le Nord et le Sud de l'Afrique et le Sud Ouest de l'Asie (Akhgar *et al.*, 2012 ; Jakupovic *et al.*, 1989).



**Figure 2:** *Hertia cheirifolia* (L.) O.K.

#### I.3.1. Classification

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Angiospermae

**Classe :** Dicotylédonae

**Sous classe :** Asteridae

**Ordre :** Astérale

**Famille :** Asteraceae

**Sous famille :** Tubuliflore

**Tribu :** Senecioneae

**Genre :** *Hertia*

**Espèce :** *Hertia cheirifolia* (L.) O.K.

### I.3.2. Description botanique et aire géographique

L'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K. (Nom vernaculaire : Kerchoun en Arabe, Barbary ragwort en Anglais) (Gubb, 1913), connue également sous le nom d'*Othonopsis cherifolia* (Massiot *et al.*, 1990), est une petite plante à fleurs jaunes, qui pousse dans la bordure des champs dans l'Est de l'Algérie et le Nord et le centre de Tunisie (Massiot *et al.*, 1990 ; Ammar *et al.*, 2009). C'est une plante herbacée, très répandue sur les Hauts-plateaux (Gubb, 1913).

cet arbrisseau persistant touffu bas et rampant, d'environ 20 à 30 cm de hauteur, porte des feuilles spatulées charnues gris-vert, de 8 cm de longueur, alternes, sessiles (Burnie *et al.*, 2006 ; Benaïssa, 2003). Elle possède des tiges couchées à la base puis ascendante (Quezel & Santa, 1963).

L'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K se caractérise par des fleurs jaunes réunies en capitules jaunes citron, solitaires sur des pédoncules nus et élargis au sommet, assez gros (2cm de diamètre) (Quezel & Santa, 1963). Les styles de disques stériles indiquent une relation étroite avec *Othonna* (Jakupovic *et al.*, 1989). La période de la floraison se situe au début du printemps (Benaïssa, 2003).

### I.3.3. Travaux antérieurs

#### I.3.3.1. Travaux sur le genre :

Peu d'études phytochimiques antérieures ont été effectuées sur les plantes du genre *Hertia* en raison de l'endémicité de ce genre et sa distribution géographique très restreinte.

Une étude phytochimique réalisée par Jakupovic *et al.*, (1989) sur l'extrait de la partie aérienne de la plante *Hertia pallens* a révélé la présence de germacrene D, tremetone, acide oleanolique et le cétone correspondant, les furoeremophilanes et deux eremophilanolides dont leurs structures ont été établies par la méthode d'analyse spectroscopique RMN.

Les travaux réalisés par Afsharypuor *et al.*, (2000) sur les huiles essentielles de la partie aérienne de la plante *H. angustifolia* ont permis l'identification des plusieurs

constituants dont les principaux étaient  $\beta$ -pinène (51,5%),  $\beta$ -phellandrène (16,5%),  $\alpha$ -pinène (13,9%) et  $\alpha$ -thujène (2,7%).

L'étude en 2012 par **Akhgar et al.**, des huiles essentielles extraites de la partie aérienne d' *Hertia intermedia* (Boiss.) O. Kuntze a conduit par des analyses GC et GC-SM à l'identification de quarante composés dont les principaux constituants étaient  $\beta$ -pinène (32,8%),  $\alpha$ -pinène (22,7%),  $\alpha$ -thujène (10,9%), et  $\beta$ -phellandrène (9,6%), suivie par germacrène D (4,6%). L'huile de *H. intermedia* est caractérisée par une forte teneur en monoterpènes (89,9%), tandis que les sesquiterpènes et non-terpénoïdes ne représentent que 8,0% et 0,5% respectivement du total de l'huile.

### I.3.3.2. Travaux sur l'espèce

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés de l' *Hertia cheirifolia* (L.) O.K., peut être les plus importants sont les sesquiterpènes lactones. Les premiers tests effectués sur cette plante ont révélé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de leucoanthocyanes et de terpènes (**Benaïssa, 2003**).

La fraction chloroformique de l'extrait méthanol-eau des parties aériennes de l' *Hertia cheirifolia* a permis d'isoler six sesquiterpènes lactones de type érémosphénolides et leurs structures ont été établies par une combinaison de 1D et 2D 'H et RMN 13C (**Massiot et al., 1990**). Les composés identifiés sont :

10 $\beta$ -hydroxyérémosphénolide,  
8 $\beta$ -10 $\beta$ -dihydroxyérémosphénolide,  
8 $\beta$ -méthoxy-10 $\beta$ -hydroxyérémosphénolide,  
68, 10 $\beta$ -dihydroxy-8 $\beta$ -méthoxyérémosphénolide,  
3 $\beta$ -angéloyloxy-6 $\beta$ , 10 $\beta$ -dihydroxy-8 $\beta$ -méthoxyérémosphénolide et  
3 $\beta$ -angéloyloxy-10 $\beta$ -hydroxy-8 $\beta$ -méthoxyérémosphénolide.

La fraction éthero-pétrolique a permis d'isoler six sesquiterpènes lactones, les trois premières composés cités au dessus (1, 2,3) et les composés Bakkenolides A, 6 $\alpha$ , 8 $\beta$ -diméthoxy-log-hydroxyérémosphénolide et 3 $\beta$ -angéloyloxy- 10 $\beta$ -hydroxyérémosphénolide (**Aclinou et al., 1991**).

Une étude phytochimique effectuée sur l'extrait chloroformique de la partie aérienne de la plante *Hertia cheirifolia* (L.)O.K., a permis l'isolement de sesquiterpénoïde Bakkenolide et deux stéroïdes : (3 $\beta$ , 22E)-Stigmasta-5,22-dien-3-ol (Stigmasterol) et stigmasterol-3 $\beta$ -glucoside. Les structures ont été identifiées par les différentes méthodes d'analyses spectroscopiques ( $^1\text{H}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN) et la spectrométrie de masse (**Ammar et al., 2009**). D'autres analyses par la chromatographie sur couche mince ont révélé la présence de la quercétine dans l'extrait méthanolique des feuilles de la plante (**Bousselsela et al., 2012**).

L'étude réalisée par **Zellagui et al. (2012 c)**, sur les huiles essentielles extraites des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K. au stade végétatif (avant la floraison), a conduit par des analyses GC et GC-MS à l'identification de 36 composés dont les principaux constituants étaient Drimenin (67.5%), 1,2-Di(2-pyridinyl)-1,2-ethanediol (11.2 %) et globulol (1.7 %) suivis par Cycloheptane, 4-méthylène-1-méthyl-2-(2-méthyl-1-propène-1-yl)-1-vinyl- (1.5 %). L'huile de *H. cheirifolia* (L.)O.K. est caractérisée par une forte teneur en sesquiterpènes (80,6%), tandis que les monoterpènes et non-terpénoïdes ne représentent que 0,3% et 18,4% respectivement du total de l'huile.

### **I.3.4. Propriétés pharmacologiques**

#### **I.3.4.1. Activité antioxydante**

Le pouvoir antioxydant des différents extraits (méthanolique, éther de pétrole, dichlorométhane, extrait aqueux) des feuilles de la plante *Hertia cheirifolia* (L.)O.K. a été évalué par le test de blanchissement  $\beta$ -carotène et le test au DPPH (**Bousselsela et al., 2012**). Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique était parmi les extraits qui ont une activité importante et qu'il a montré une activité antioxydante plus élevée (72.97%) que celle évaluée par la méthode de DPPH (72.74%) (**Bousselsela et al., 2012**).

#### **I.3.4.2. Activité antibactérienne**

**Bousselsela et al., (2012)** ont rapporté que les différents extraits (méthanolique, éther de pétrole, dichlorométhane, extrait aqueux) des feuilles de la plante *Hertia cheirifolia* (L.)O.K. ne possèdent aucune activité antibactérienne contre la majorité des bactéries testées.

### I.3.4.3 Activité anti-inflammatoire

L'étude de l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts de la plante *Hertia cheirifolia* (L.) O.K. et des composés stéroïdes isolés à partir de cette plante (stigmastérol et stigmastérol 3 $\beta$ -glucoside), a été réalisée en provoquant l'œdème par le carraghénane, (substance inflammatoire injecté au niveau de la jambe gauche du rat). Le traitement par les extraits acétate d'éthyle et chloroformique montre une réduction significative de l'œdème à une dose de 200mg/kg et après 3 heures de l'injection du carraghénane. Les extraits méthanolique et acétate d'éthyle ont des pourcentages d'inhibition de l'œdème, respectivement de 64,1 et 57,3%. A la dose de 100 mg / kg, l'extrait chloroformique est plus actif que les précédents (74,3%) et a même une activité plus importante que celle de la dexaméthasone. Le fractionnement de l'extrait chloroforme ayant une activité anti-inflammatoire intéressante a permis d'isoler cinq substances dont 3 en état pure (Ammar *et al.*, 2009).

Les études montrent que le stigmastérol 3 $\beta$ -glucoside (hétérosidique) est plus actif que son aglycone (stigmastérol) avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 78,8% et 69,9% à une concentration de 10mg/kg après 3heures de l'injection du carraghénane (Ammar *et al.*, 2009).

### I.3.4.4. Activité antispasmodique

Les études menées par Ammar *et al.*, (2009), ont montrées que les extraits méthanolique, acétate d'éthyle et chloroformique obtenus à partir de la partie aérienne (feuilles et tiges) de l'*Hertia cheirifolia*, possèdent un effet antispasmodique surtout avec l'extrait chloroformique.

Pour spécifier l'activité spasmolytique de Bakkenolide (sesquiterpène), Ammar *et al.*, (2009) ont testé son effet sur la contraction du duodénum isolé du rat induite par l'acétylcholine et BaCl<sub>2</sub>. La comparaison de l'effet inhibiteur de Bakkenolide et alvérine (agent spasmolytique musculotrope ) sur la contraction musculaire induite par l'acétylcholine ou BaCl<sub>2</sub>, suggère que Bakkenolide fonctionne dans un mode similaire de celui de l'alvérine en présence de BaCl<sub>2</sub>. Cependant l'effet inhibiteur de l'alvérine est légèrement plus efficace que celui exercée par Bakkenolide. Ces deux composés (alvérine, Bakkenolide) produisent une inhibition complète contre la contraction induite par BaCl<sub>2</sub> et ce avec des concentrations respectives de 1 à 1.5mg/ml. Cependant, l'effet spasmolytique de Bakkenolide sur la contraction musculaire induite par l'acétylcholine semble suivre un mode d'action différent de celui de l'alvérine (Ammar *et al.*, 2009).

# **Chapitre II**

Substances Bioactives : Flavonoïdes et Huiles  
Essentielles

## II. Substances bioactives : flavonoïdes et huiles essentielles

### II.1. Les flavonoïdes

#### II.1.1. Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (Lebham, 2005). Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué dans le règne végétal avec plus de 8000 structures phénoliques actuellement connus, allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins et ils sont présents dans tous les organes de la plante (Tsao, 2010; Ferrazzano *et al.*, 2011; Dai & Mumper, 2010).

Ce sont des composés possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupements hydroxyles (Dai & Mumper, 2010).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau 2) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides ...) (Macheix *et al.*, 2006)

**Tableau 2.** Principales classes de composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides Hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acide caféique Scopolétine	Pomme de terre, Pomme, citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine, daidzéine	Fruit, légumes, fleurs soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, fruits à noyaux
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés		raisin, kaki

### II.1.2. Biosynthèse :

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique
- celle issue de l'acétate

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (**Martin & Andriantsitohaina, 2002**).

### II.1.3. Effets biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 1997**). Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (**Lebham, 2005**). Ces composés présentent des effets anticarcinogénétique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antitumorales, antioxydantes, etc. (**Tableau 3**).

**Tableau 3:** Activités biologiques des composés polyphénoliques (**Bahorun, 1997**)

POLYPHENOLS	ACTIVITES
Acides phénoliques (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, Antifongiques, Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales, Anticarcinogènes, Anti-inflammatoires, Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes, Antitumorales, Antifongiques, Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiqes	Antioxydantes

## II.1.4. Les flavonoïdes

### II.1.4.1. Définition

Le terme flavonoïde provenant du mot latin "*flavus*", signifiant "jaune (Bylka *et al.*, 2004) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux presque toujours hydrosolubles ( Bruneton, 2009) responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux ( Ghedira, 2005).

### II.1.4.2. Structure chimique et classification

A l'an 2010, plus de 6000 flavonoïdes différents ont été identifiés (Jaganath & Crozier, 2010). Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous le même élément structurel de base à quinze atomes de carbones (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), constitué de deux cycles aromatiques en C<sub>6</sub> (cycle A et cycle B), relié par un hétérocycle en C<sub>3</sub> (cycle C). ( Bruneton , 2009 ; Jaganath & Crozier, 2010 ; Cushnie & Lamb, 2005; Bylka *et al.*, 2004).

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone (figure 3) (Ghedira, 2005) et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- $\gamma$ -pyrone (Ghedira, 2005).

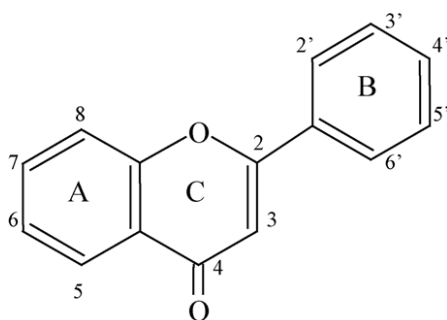


Figure 3 : Structure de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2. Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme isoflavonoïdes (**Ghedira, 2005**).

Selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes (**Pietta, 2000**) (**Figure 4**) dont les plus importantes sont : flavones, flavonols, flavanones, flavanols, dihydroflavanols, (**Ghedira, 2005**) et anthocyanes (**Pietta, 2000**).

Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants (groupement hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B (**Heim et al., 2002**).

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4' et/ou 5'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés (**Lhuillier, 2007**).

Dans les plantes, les flavonoïdes sont souvent présents sous forme C- ou O-glycosylés ; les formes libres, sans sucres attachés, sont appelées génines. Les O-glycosides, de loin les plus fréquents, portent leurs substituants sur les groupements hydroxyles de la génine, alors que pour les C-glycosides, la liaison se fait directement avec un carbone de la génine, les C-6 et/ou C-8 (**Lhuillier, 2007**).

En effet, la formation de la (ou des) liaison(s) hétérosidique(s) est sous la dépendance de transférases très spécifiques quant au substrat et à la position d'osylation (**Lhuillier, 2007**).

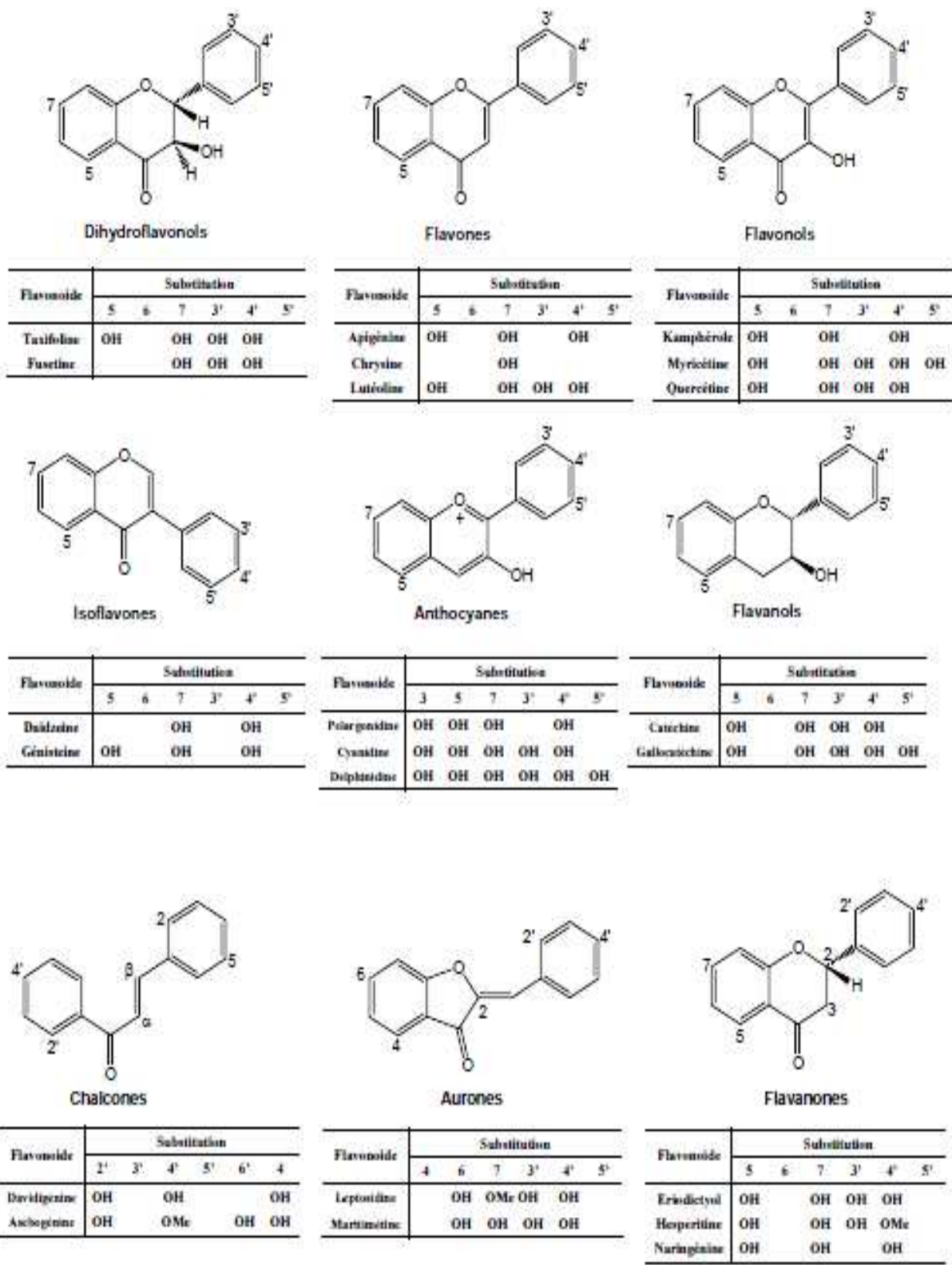


Figure 4: différentes classes de flavonoïdes

### II.1.4.3. BIOSYNTHESE

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose (**Lhuillier ,2007**).

Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en *p*-coumarate puis en *p*-coumaroyl-CoA (**Lhuillier ,2007**).

Le *p*-coumaroyl-CoA et les 3 malonyl-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4, 2',4', 6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone-isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(S)-flavanone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (**Lhuillier ,2007**).

Des étapes ultérieures surtout de glycosylation et acylation amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle elles se trouvent *in vivo* (**Bouakaz, 2006**).

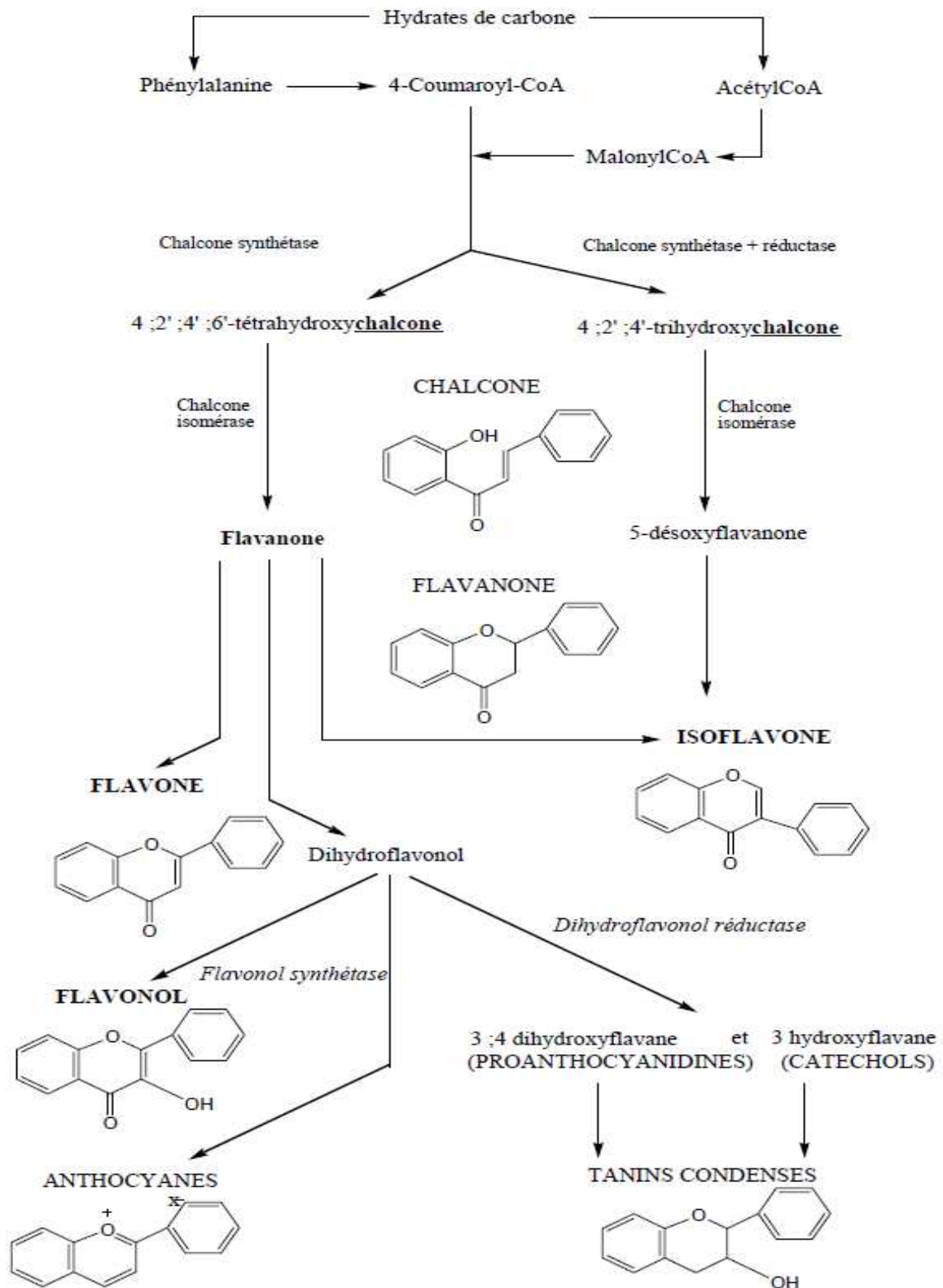


Figure 5 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Milane, 2004).

#### II.1.4.4. Distribution et localisation dans les plantes

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal (Milane, 2004). On estime environ 2% du carbone organique photosynthétisé par les plantes est converti en flavonoïdes (Lhuillier, 2007). Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs (Milane, 2004). C'est chez les Angiospermes que la diversité structurale des flavonoïdes est maximale (Bruneton, 2009).

Les flavonoïdes se trouvent en abondance dans les familles : Astéraceae, Apiaceae, Fabaceae, Rutaceae et Polygonaceae (Milane, 2004).

Ils sont de façon très générale localisés dans les feuilles (dans l'épiderme ou entre l'épiderme et le mésophylle), dans les fleurs (cellules épidermiques) ou encore dans les fruits (tégument externe) (Portet, 2007).

Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux (Milane, 2004).

En définitive, les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal.

#### II.1.4.5. Biodisponibilité des flavonoïdes

Les effets santé des flavonoïdes ne dépendent pas seulement de leurs niveaux de consommation mais aussi de leur biodisponibilité. Peu d'études systématiques ont été menées sur la pharmacocinétique des flavonoïdes chez l'homme. Toutefois, d'après des expériences menées sur des flavonoïdes provenant de l'alimentation, il apparaît que seuls les flavonoïdes sous forme de génines (ou aglycones) sont susceptibles d'être absorbés. L'hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée) n'intervient que dans le côlon où les micro-organismes dégradent simultanément les flavonoïdes d'origine alimentaire. Le foie est largement impliqué dans le métabolisme des flavonoïdes absorbés (Hollman & Katan, 1998 ; Walle, 2004).

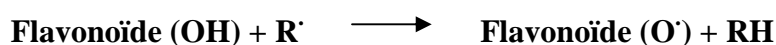
Une meilleure connaissance de la biodisponibilité des flavonoïdes est indispensable pour expliquer leurs effets protecteurs sur la santé.

### II.1.4.6. Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances naturelles hautement actives. Plusieurs études ont démontré une large gamme des effets biochimiques et pharmacologiques de ces molécules.

#### II.1.4.6.1. Propriétés antioxydantes et piègeurs de radicaux libres

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ), anions superoxydes ( $\text{O}_2^{\bullet -}$ ) et radicaux peroxylipidiques (Ghedira, 2005), selon la réaction suivante :

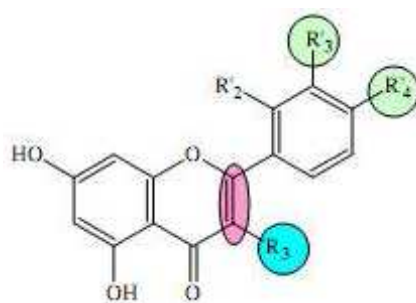


Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ) (Ghedira, 2005).

Des études faites sur la capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres ont montré que les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants :

- La structure ortho dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.
- La double liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> en conjugaison avec la fonction 4-oxo
- La présence du groupe 3OH en combinaison avec la double liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>.

A titre d'exemple, la quercétine satisfait à tous ces critères et par conséquent, elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes (figure 6) (Marfak, 2003).



**Figure 6.** Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes (Marfak, 2003)

En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (**Ghedira, 2005**).

#### **II.1.4.6.2. Propriétés inhibitrices d'enzymes**

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase, de la phospholipase A2, de la phosphodiesterase, de la Xanthine oxidase, du Ca<sup>2+</sup> ATPase et des enzymes de l'inflammation : la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase (**Ghedira, 2005 ; Agrawal, 2011**).

Les Flavonoïdes comme kaempferol, myricétine, et la quercétine sont de puissants inhibiteurs de la xanthine oxydase, et indiqués dans le traitement de la goutte, hyperuricémie, et les lésions de reperfusion. Ainsi la Catéchine agit comme un agent anti-ulcéreux en inhibant la Na<sup>+</sup> / K ATPase (**Shohaib et al., 2011**).

Beaucoup d'efforts ont été fait pour la recherche des inhibiteurs efficaces de la tyrosinase, l'enzyme clef dans la biosynthèse de la mélanine. Les flavonoïdes présentent le groupe le plus étudié des polyphénols. Les résultats des travaux de **Gao et ses collaborateurs (2007)** ont montré que les 5, 6,7-trihydroxy-flavones sont utiles en tant qu'agents de dépigmentation. Autres inhibiteurs de la tyrosinase comme butéine (2', 4', 3, 4 Tetrahydroxychalcone) et d'autres chalcones sont devenus de plus en plus important dans les produits cosmétiques et médicinales utilisées dans la prévention des hyperpigmentations (**Shohaib et al., 2011**).

#### **II.1.4.6.3. Effets anti-inflammatoires**

Le Cyclooxygénase et le lipoxygénase jouent un rôle important comme des médiateurs inflammatoires. Ils sont impliqués dans la libération de l'acide arachidonique, qui est un point de départ pour une réponse inflammatoire générale (**Agrawal, 2011**).

*In vitro*, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement. Certains travaux

suggèrent qu'ils posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène (**Ghedira, 2005**). L'hespéridine, administrée par voie sous-cutanée (car inactive *per os*), présente une activité anti-inflammatoire significative chez le rat dont l'œdème a été induit aussi bien par la carragénine que par le dextran (**Ghedira, 2005**).

#### **II.1.4.6.4.Effets antiulcéreux**

Les flavonoïdes sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. L'hypolaetine-8- glucose, flavonoïde présent dans diverses espèces du genre *Sideritis*, présente une activité anti-ulcérogène significative (**Ghedira, 2005**).

Dans des expériences réalisées sur des rats, dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes (**Di Carlo, 1999**). Par ailleurs, il a été établi que la quercétine inhibe la croissance d'*Helicobacter pylorii* ainsi que la formation d'acide par les cellules pariétales en réponse à une stimulation par l'histamine et l'AMPc dibutyrique (**Ghedira, 2005**).

#### **II.1.4.6.5.Effets antiallergiques**

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca<sup>++</sup> ATPase (**Ghedira, 2005**).

En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes. Parmi les flavonoïdes, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (**Di Carlo, 1999**).

#### II.1.4.6.6. Effets cardiovasculaires

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes (**Xu et al., 2007**).

Parmi les 17 flavonoïdes examinés par **Xu et al., (2007)**, les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline, Kampferol, et la génistine. Cette relaxation vasculaire est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire.

#### II.1.4.6.7. Activité antimicrobienne

Les flavonoïdes possèdent des propriétés antimicrobiennes (**Cushnie et al., 2005**). L'activité antimicrobienne a été attribuée à la fonction phénolique des flavonoïdes, cette activité est sensée augmenter avec le nombre de substituants hydroxyles, méthoxyles ou glucosyle. Les structures les plus efficaces étant les flavones et les flavanones (**Picman et al., 1995**).

##### II.1.4.6.7.1. Activité antibactérienne

Des propriétés antibactériennes des flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont également été mises en évidence (**Ghedira, 2005**). Les extraits de plantes riches en flavonoïdes provenant d'espèces d'*Hypericum*, *Capsella* et *Chromolaena* et beaucoup d'autres préparations phytochimiques à forte teneur en flavonoïdes ont été rapportés posséder une activité antibactérienne (**Cushnie et al., 2005**).

Il a été démontré que les 5-hydroxyflavanones et les 5-hydroxyisoflavanones avec un, deux ou trois groupements hydroxyles en position 7, 2' et 4' inhiberaient la croissance de *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sobrinus*, l'hydroxylation la plus importante pour l'activité étant celle en position 2'. Par contre, les méthoxylations diminuent considérablement les effets antibactériens (**Cushnie et al., 2005**).

La quercétine a été signalé qu'il inhibe complètement la croissance de *Staphylococcus aureus* (**Tapas et al., 2008**). La plupart des flavonones non glucosidiques ont montré des activités antimicrobiennes alors qu'aucun des flavonols et flavonolignanes testées ont montré une activité inhibitrice des microorganismes (**Narayana et al., 2001**).

#### II.1.4.6.7.2. Activité antivirale

Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire des virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (**Ghedira, 2005**). Plusieurs travaux récents ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur HIV. Sur vingt-huit flavonoïdes testés, les flavanes étaient généralement plus efficaces dans l'inhibition sélective du HIV-1 et HIV -2 que les flavones et flavonones (**Tapas et al., 2008**).

D'après **Middleton et al., (2000)** la quercétine, morine, rutine, dihydroquercétine (Taxifolin), dihydrofisetine, leucocyanidine, apigénine, catéchine, hespéridine et la naringine possèdent une activité antivirale contre 11 types de virus. L'activité antivirale semble être associée aux composés non glycosylés et l'hydroxylation en position 3 est apparemment nécessaire à cette activité.

#### II.1.4.6.7.3. Activité antifongique

L'activité antifongique des flavonoides est aussi établie : deux nouveaux flavonoïdes, un flavone et un flavanone, respectivement isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été montré comme posséder l'activité contre le microbe pathogène opportuniste *Candida albicans*. Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi* ont été rapportés exhibé une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus*, une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseifs. Galangin, un flavonol généralement trouvé dans des échantillons de propolis a été montré avoir l'activité inhibitrice contre *Aspergillus tamarisii*, *A. flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* (**Cushnie et al., 2005**).

#### II.1.4.6.8. D'autres effets biologiques

Les flavonoïdes préviennent la cataracte diabétique par inhibition de l'aldose réductase du cristallin. En effet, la myricétine présente des effets hypoglycémiant et hypotriglycéridémiant chez les animaux diabétiques (**Ghedira, 2005**).

L'effet des flavonoïdes sur le système immunitaire est complexe et demeure encore mal élucidé. Certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuant de façon générale la réponse inflammatoire. À doses élevées, ils inhibent les fonctions lymphocytaires,

mais, à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés. L'activité immuno-modulatrice des flavonoïdes dépend, d'une part, de leur capacité à inhiber la formation des eicosanoïdes et de l'histamine et de leur pouvoir piègeur des radicaux libres d'autre part (**Ghedira, 2005**).

#### **II.1.4.6.9. Rôles des flavonoïdes chez les plantes**

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois feuilles. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigments. Dans certains cas, la zone d'absorption de la molécule est située dans le proche ultraviolet : la coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen (**Bruneton, 1994**).

On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes.

Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (**Marfak, 2003**).

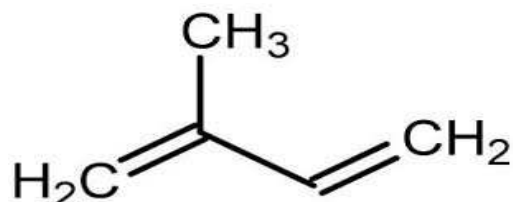
De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogenèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (**Lhuillier, 2007**).

## II.2.LES HUILES ESSENTIELLES

### II.2.1.Généralité sur les terpènes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine (**Muanda, 2010**).

Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène  $C_5H_8$  (**Figure 7**) et ont pour formule de base des multiples de celle-ci  $(C_5H_8)_n$  (**Muanda, 2010**).



**Figure 7:** Structure de l'unité isoprénique

Leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre eux. C'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles (**Muanda, 2010**).

En fonction du nombre  $n$  (entier) d'unités, on peut distinguer pour;  $n = 2$  : les monoterpènes ( $C_{10}$ ),  $n = 3$ : les sesquiterpènes ( $C_{15}$ ),  $n = 4$ : les diterpènes ( $C_{20}$ ),  $n = 5$ : les sesterpènes ( $C_{25}$ ),  $n = 6$ : les triterpènes ( $C_{30}$ ) (**Muanda, 2010**).

Le carotène est un tétraterpène ( $C_{40}H_{64}$ ). Il joue le rôle de pigment en photosynthèse végétale. Des matières aussi diverses que le caoutchouc, la vitamine A1 ou le cholestérol sont construites essentiellement des «briques» d'isoprènes (**Muanda, 2010**).

Parmi les terpènes les plus importants on trouve: l' $\alpha$ -pinène, le  $\beta$ -pinène, le  $\delta$ -3-carène, le limonène, le carotène... (**Muanda, 2010**).

En revanche, les caroténoïdes qui contiennent des atomes d'oxygènes, ne sont pas à proprement parler des terpènes, mais des terpénoïdes (luteine) (**Muanda, 2010**).

Deux de propriétés fondamentales de terpènes sont leurs caractères odoriférants (géranium) et leurs sensibilités à la lumière (**Muanda, 2010**).

## II.2.2. Les huiles essentielles

### II.2.2.1. Définition :

Les huiles essentielles (=essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation» (**Bruneton, 2009**).

### II.2.2.2. Répartition, localisation et fonction :

#### II.2.2.2.1. Répartition :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (**Bruneton, 2009**). Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, exemples : Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae, Zingiberaceae, etc (**Bruneton, 2009**).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs bien sur (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (Citronnelle, Eucalyptus, Laurier noble) et bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (Cannelier), des bois (Bois de rose, Santal), des racines (Vétiver), des Rhizomes (Curcuma, Gingembre), des fruits (toute épice, anis, badiane), des graines (muscade) (**Bruneton, 2009**).

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière (qualitative et quantitative) peut varier selon sa localisation. Ainsi, dans le cas de l'oranger amer (*C.aurantium L.ssp.aurantium*, Rutaceae), le zeste c'est-à-dire le péricarpe frais du fruit, fournit l'huile essentielle d'orange amère ou essence de Curaçao, la fleur fournit l'essence de Néroli et l'hydrodistillation de la feuille, des ramilles et des petits fruits conduit à l'essence de petit grain bigaradier. La composition de ces trois huiles essentielles est différente quantitativement, les teneurs en huile essentielle sont plutôt faibles, assez souvent inférieurs à 10 ml / Kg. Des teneurs fortes comme celle du bouton

florale de giroflier (150 ml / Kg et plus dans le bouton séché) sont exceptionnelles (**Bruneton, 2009 ; Desmares et al., 2008**).

#### **II.2.2.2.2. Localisation :**

La biosynthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Bruneton, 2009**). Ces structures peuvent être :

- Des cellules à huiles essentielles de *Lauraceae* ou des *Zingiberaceae*
- Des poils sécréteurs épidermiques rencontrés souvent chez les *Lamiacées*, *Géraniacées* et *Verbénacées*. Ils produisent les essences dites superficielles.
- Des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les *Myrtacées* et les *Rutacées*
- Des canaux sécréteurs des *Apiaceae* ou des *Asteraceae* (**Bruneton, 2009 ; El Kalamouni, 2010**).

#### **II.2.2.2.3. Fonction :**

La fonction biologique des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont une fonction écologique ; pour certaines d'entre elles, le rôle a été établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales (comme agent allélopathiques et notamment comme des inhibiteurs de germination) que dans celui des interactions végétal-animal : protection contre les prédateurs (insectes, champignons) et attraction des pollinisateurs (**Bruneton, 2009**).

#### **II.2.2.3. Propriétés physiques :**

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels, entraînaibles à la vapeur d'eau, très peu solubles dans l'eau (**Bruneton, 2009 ; Desmares et al., 2008**).

#### II.2.2.4. Composition chimique :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétique distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et celui des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part (Bruneton, 2009). Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 2009**).

Les huiles volatiles sont des mélanges très complexes, les constituants sont principalement des monoterpènes et des sesquiterpènes. Les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures incluent des alcools, des aldéhydes, des esters, des éthers, des cétones, des phénols et des oxydes. On estime qu'il y a plus de 1000 monoterpènes et 3000 de structures sesquiterpènes. D'autres composés incluent des phenylpropanes et des composés spécifiques contenant le soufre ou l'azote (**Svoboda & Hampson, 1999**).

#### II.2.2.5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions : l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de récolte, le séchage, lieu de séchage, la température, et durée de séchage, les parasites, les virus et mauvaises herbes (**Svoboda & Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001**). C'est ainsi que l'action des huiles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, ces composés inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique (**Svoboda & Hampson, 1999**).

Ajouter à la complexité d'huiles volatiles (**Svoboda & Hampson, 1999**), les proportions des différents constituants d'une huile essentielle peuvent varier de façon importante tout au long du développement, aussi les chimiotypes ou races chimiques sont très fréquentes chez les plantes aromatiques (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques) (**Bruneton, 1993**).

### **II.2.2.6. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (**Valnet, 2005**).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

#### **II.2.2.6.1. Activité antioxydante**

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**).

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (**Caillet & Lacroix, 2007**).

#### **II.2.2.6.2. Activité antibactérienne**

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HES, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HES sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**).

Le mode d'action des HES dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al., 2000; Carson et al., 2002**).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (**Wendakoon & Sakaguchi, 1995**). Les HES peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, ARN, des protéines et des polysaccharides (**Cox et al., 1991**).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman & Deans, 2000**).

### **II.2.2.6.3. Activité antifongique**

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin, 2002**).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Lamiaceae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (**Voukou et al., 1988**). Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6-diméthoxyphénol) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydro cinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxité significative (**Voukou et al., 1988**).

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique : **Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures**

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-*n*-propylphénol > thymol > isoeugénol > eugénol) (**Utree et al., 2002**).

# **Chapitre III**

Les Antioxydants et les Agents Antimicrobiens

### III. Les Antioxydants et les Agents antimicrobiens

#### III.1. Les antioxydants

##### III.1.1. Généralités

L'oxygène ( $O_2$ ) est une molécule indispensable à la vie (**Pincemail *et al.*, 2002**). Il est essentiel pour le métabolisme aérobie en tant qu'accepteur final des électrons de la chaîne respiratoire. Cette réaction est associée à la production de 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) à haut potentiel énergétique. Les processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfait car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ERO) particulièrement réactionnelles (**Koppenol, 2001**).

Cette production physiologique d'ERO est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (superoxyde dismutase (SODs), catalase, glutathion peroxydase (GPxs) (**Morel & Barouki, 1998 ; Delattre *et al.*, 2005**), et de molécules antioxydantes de petite taille (caroténoïdes, vitamines, glutathion...) et de protéines telles que la transferrine (**Coyle *et al.*, 2002**). Dans un premier temps, la cellule ne modifie pas ses propriétés biologiques. Si les ERO continuent à s'accumuler, une adaptation plus consistante de la cellule est nécessaire avec l'induction de gènes codant des enzymes anti- oxydantes et des enzymes impliquées dans la réparation de l'ADN (Adénosine désoxy-nucléotide) et des protéines. On observe aussi une répression des systèmes susceptibles de libérer des ERO, notamment la chaîne respiratoire (**Barouki & Morel, 2001**). A un stade ultime, la cellule peut suivre la voie de l'apoptose ou de la nécrose.

La perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défaillante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant (**Berger, 2006**).

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (**Pincemail *et al.*, 1999**).

### III.1.2. Définition d'antioxydant

Un antioxydant (AOX) est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (**Berger, 2006**).

### III.1.3. Classification des antioxydants :

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire (**Berger, 2006**).

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif (**Goudable & Favier, 1997**).

Comme le montre la **figure 8**, l'organisme dispose d'un vaste réseau d'antioxydants ou de défense qui ne se limite pas qu'aux seules vitamines C et E. D'une part une multitude d'antioxydants proprement dits sont synthétisés par l'organisme ou le plus souvent apportés par notre alimentation. D'autre part, des systèmes enzymatiques extrêmement complexes qui assurent la réparation des éventuels dommages oxydatifs au niveau des protéines ou de l'ADN. S'y ajoutent quelques oligoéléments (sélénium, cuivre et zinc) qui sont les cofacteurs de divers enzymes à activité antioxydante (**Defraigne & Pincemail, 2007**).

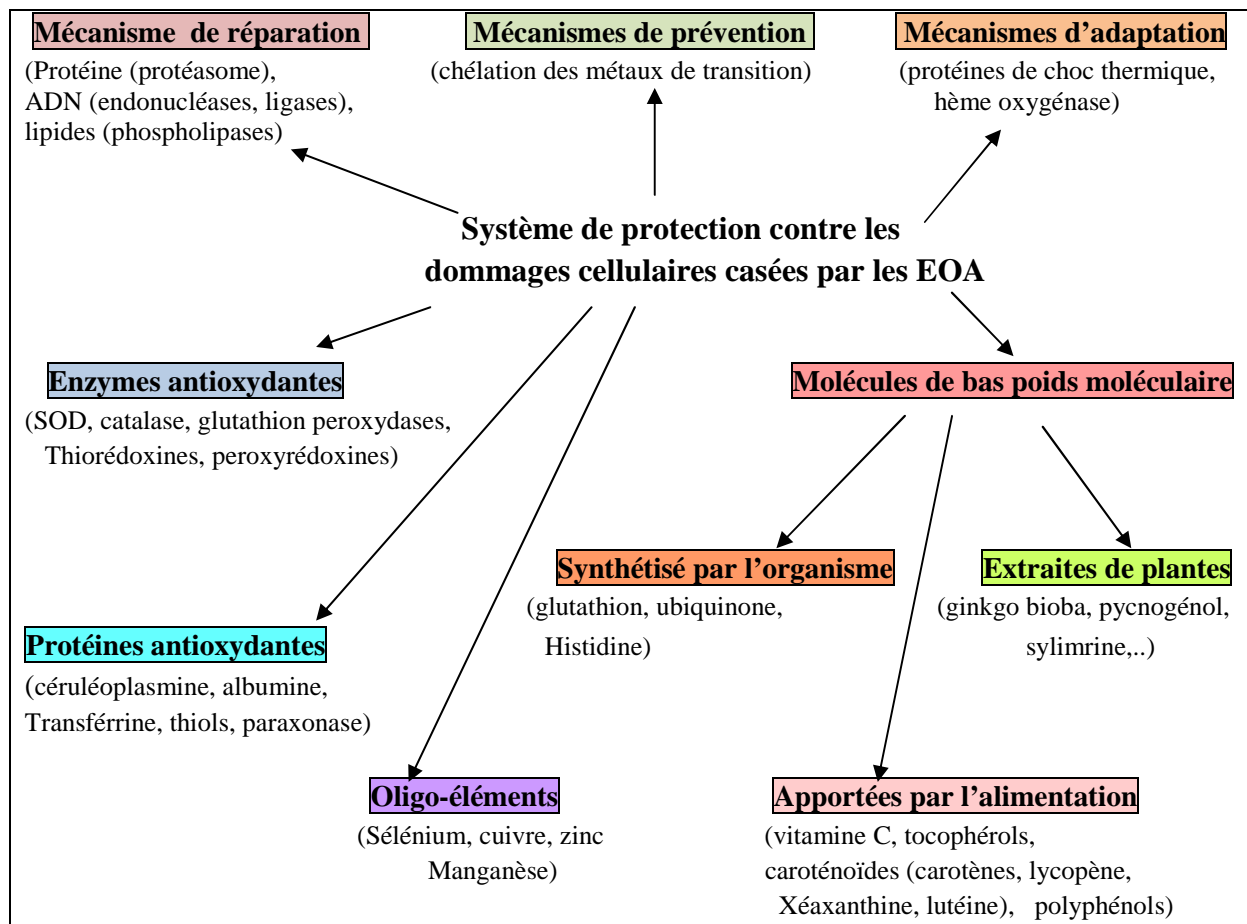


Figure 8 : Réseau des antioxydants

### III.1.3. 1. Les antioxydants enzymatiques

#### III.1.3. 1.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Les SOD éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en  $H_2O_2$  et en  $OH^-$  (Mn SOD dans la mitochondrie, Cu Zn SOD dans le cytosol et les érythrocytes). Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux/à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (**Goudable & Favier, 1997**).

#### III.1.3. 1.2. Les catalases

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du

peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier. Elles sont quantitativement moins efficaces que le système suivant : les glutathion peroxydases (**Goudable &Favier, 1997**).

### **III.1.3. 1.3.Les glutathion peroxydases (GSHPX)**

Les GSHPX réduisent le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (**Goudable &Favier, 1997**).

Dans la cellule, dans les conditions physiologiques, la forme glutathion réduit est prédominante (95 %). Les GSHPX connues sont des enzymes à sélénium. Le sélénium est intégré dans la protéine sous forme de sélélocystéine. Le facteur limitant de la synthèse des séléloprotéines, et donc des GSHPX, est la teneur intracellulaire en sélénium. Le stress oxydant selon sa nature et son intensité peut entraîner une modification de la synthèse des GSHPX pour une meilleure adaptation cellulaire ou une inactivation de l'enzyme. Il est important de noter que la lutte contre les radicaux libres passe par un effet complémentaire des SOD et des GSHPX (**Goudable &Favier, 1997**).

En effet, le radical superoxyde n'est pas particulièrement agressif pour les milieux biologiques, les SOD seules ont donc un effet ambigu générant du peroxyde d'hydrogène qui, lui, est très cytotoxique expérimentalement surtout en présence de traces de fer. Il faut donc la présence concomitante des SOD et des GSHPX pour obtenir un effet protecteur optimum contre les radicaux libres (**Goudable &Favier, 1997**).

### **III.1.3. 2.Les antioxydants non enzymatiques**

#### **III.1.3. 2.1. La Vitamine E**

Elle agit *in vivo* et *in vitro* en neutralisant les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique. La réduction de la vitamine E oxydée est assurée par la vitamine C. Les concentrations de ces deux vitamines sont donc nécessairement liées pour la protection contre la peroxydation lipidique. La vitamine E est l'antioxydant liposoluble qui a la plus grande concentration molaire cellulaire. La vitamine E permet de diminuer la peroxydation lipidique

dans la membrane cellulaire et au sein des LDL. Elle est très active dans la résistance à l'oxydation des LDL. L'oxydation des LDL est précédée par une disparition séquentielle des antioxydants endogènes, en particulier de la vitamine E et des caroténoïdes, ce qui semble confirmer le rôle protecteur de ces composés. Dans le plasma, la vitamine E est transportée par les LDL. Elle est distribuée aux cellules par le récepteur du cholestérol (**Goudable &Favier, 1997**).

### **III.1.3. 2.2. La Vitamine C (acide ascorbique)**

Elle agit en régénérant la vitamine E *in vivo*, mais peu *in vitro*. *In vivo*, elle est maintenue sous forme réduite par l'action de la déshydroascorbate réductase qui utilise le glutathion comme cofacteur (**Goudable &Favier, 1997**).

### **III.1.3. 2.3. Le $\beta$ - carotène**

Le  $\beta$ - carotène est apporté par l'alimentation, il est doué de plusieurs capacités : il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : il s'oppose à la cyto- et à la génotoxicité de nombreux agents (**Goudable &Favier, 1997**).

### **III.1.3. 2.4. Le Glutathion**

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E (**Goudable &Favier, 1997**).

### **III.1.4. Mécanismes d'action**

Les antioxydants agissent de plusieurs manières. Leur mécanisme d'action peut être direct ou indirect, en tant que partie de la structure d'enzymes et/ou cofacteurs d'enzymes antioxydantes, comme dans le cas des éléments traces. Les mécanismes les plus fréquents sont l'interruption de la spirale oxydative (vitamines C et E, NADPH, glutathion), la prévention des dégâts par la mise à disposition d'électrons (céruloplasmine, vitamine C, superoxyde dismutase, GSHPx), et la réparation des molécules de DNA (Zn, acide folique, niacine) (**Berger, 2006**).

## **III.2. Les Agents antimicrobiens**

### **III.2.1. Généralités**

On désigne par agent antimicrobien tout agent chimique, physique ou biologique inhibant la croissance et/ou la survie des micro-organismes (**Asada *et al.*, 1998**). Ces substances ayant une affinité pour les cellules des parasites et le pouvoir de les tuer plus forts que les dommages qu'elles causent à l'organisme; ce qui rendra possible la destruction des parasites sans perturbation sérieuse de l'organisme (**Perry *et al.*, 2002**).

### **III.2.2. Mode d'action des agents antimicrobiens**

Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisés de diverses manières, selon les objectifs recherchés et leur spécificité d'action qui peut être germicide ou germistatique (**Bousseboua, 2006**).

#### **III.2. 2.1. Action germicide**

Cette action caractérise les agents ayant une action létale sur les microorganismes. En fonction de la catégorie de microorganismes ciblés, les agents antimicrobiens exercent une action bactéricide (agent antibactérien), algicide (agent anti-algues), fongicide (agent anti-champignons), virucide (agent anti-virus) ou antiparasitaire (agent anti- protozoaires) (**Bousseboua, 2006**).

#### **III.2.2.1. Action germistatique (bactériostatique et fongistatique)**

Dans ce cas, les agents inhibent la croissance du microorganisme sans le tuer (bactérie ou champignon) (**Bousseboua, 2006**). Les substances bactériostatiques inhibent temporairement le développement microbien, les microorganismes recommenceront à se développer dès que la concentration de la substance aura diminué ou dès que l'application du procédé physique sera interrompue (**Guiraud, 1998**).

### **III.2.3. Facteurs influençant l'activité des antimicrobiens**

Plusieurs facteurs peuvent affecter l'activité d'un agent antimicrobien, modulant ainsi leur efficacité et même plus leur structure, parmi ces facteurs on peut citer la nature et l'état du microorganisme, la nature de l'agent antimicrobien et le rôle de l'environnement.

### III.2.3.1. Nature et état du microorganisme

Les différences existantes entre les espèces microbiennes entraînent une sensibilité variable à l'égard des agents antimicrobiens caractérisé chacun par son spectre d'activité plus ou moins large, et également par leur nature (**Bousseboua, 2001**).

L'état physiologique de la cellule microbienne joue également un rôle crucial car les microorganismes sont plus sensibles en phase exponentielle qu'en phases stationnaire à l'égard des antimicrobiens chimiques, ce phénomène pouvant être inversés pour les agents physiques, alors que les formes sporulées sont beaucoup plus résistantes aux agents physiques ou chimiques que les formes végétatives correspondantes, en raison de l'apparition d'un composé nouveau, absent dans les cellules végétatives : l'Acide dipicolinique qui représente environ 10% du poids sec de l'endospore (**Bousseboua, 2001**).

Il existe une corrélation directe entre l'âge de la culture et le taux de destruction des cellules microbiennes, en fait plus la charge initiale en microorganismes est élevée, plus le temps nécessaire pour obtenir un niveau de destruction donnée sera grand (**Guiraud, 1998**).

### III.2.3.2. Nature de l'agent antimicrobien

Les agents antimicrobiens diffèrent par leur efficacité et leur spectre d'activité. Dans le cas des agents physiques, l'activité microbicide augmente souvent avec la dose, alors que pour les agents chimiques, les effets seront d'abord bactériostatiques puis bactéricides.

Cependant, l'activité de certains d'entre eux dépend de leur stabilité, pour d'autres elle est liée à leur décomposition ; c'est le cas par exemple de l'hypochlorite de sodium et peroxyde de l'hydrogène (**Guiraud, 1998**).

### III.2.3.3. Rôle de l'environnement

La population à détruire ou à inhiber n'est pas isolé mais elle est soumise a des facteurs de l'environnement qui peuvent offrir une protection ou favorisé la destruction par exemple la chaleur tue plus facilement à pH acide. La nourriture et les boissons acide tel que les fruits et les tomates, sont plus facilement pasteurisé que les denrées alimentaires plus neutres comme le lait et les solutions huileuses (**Prescott et al., 1995**).

### III.2.4. Types d'agents antimicrobiens

Il existe trois types d'agents antimicrobiens : physiques, chimiques et chimiothérapeutiques (**Bousseboua, 2006**).

#### III.2.1.4.1. Agents physiques

De nombreux agents physiques exercent un effet antagoniste vis-à-vis des microorganismes. La chaleur ou certains types de radiations ont une action létale qui permet leur emploi dans la stérilisation de différents milieux. D'autres agents moins agressifs, comme la dessiccation limitée sont utilisés à d'autres fins (**Bousseboua, 2001**).

Les principaux agents physiques sont la chaleur (humide ou sèche), les radiations (micro-ondes, rayons ultra-violets, rayons gamma, rayons bêta, rayons alpha ; rayons X). Chaque type de radiation a une longueur d'onde spécifique qui détermine son énergie, son mécanisme d'action et son domaine d'application (**Bousseboua, 2001**).

#### III.2.1.4.2. Agents chimiques

Ils correspondent aux substances utilisées comme désinfectants et antiseptiques. Les désinfectants sont des agents antimicrobiens utilisés sur les matériaux inertes ; leur action est létale ou inhibitrice de la croissance microbienne. Les antiseptiques ont la même nature chimique que les désinfectants mais leur toxicité plus réduite permet leur emploi sur les tissus vivants. Les désinfectants et antiseptiques les plus largement employés sont les alcools, les composés phénoliques qui agissent par dénaturation des protéines et altération des membranes cellulaires, les aldéhydes, les halogènes et les détergents (**Bousseboua, 2001**).

Les alcools sont les désinfectants et antiseptiques les plus largement employés, notamment comme désinfectants de la peau. Les composés phénoliques ont une utilisation avantageuse en raison de leur efficacité, de leur persistance dans le temps et de leur insensibilité relative à la présence de matière organique dans le milieu. L'aldéhyde de plus commun est le formaldéhyde, souvent commercialisé en solution à 40% (formol). Les halogènes sont des composés dérivés du chlore, du brome et de l'iode: hypochlorites et chloramines, hypobromites, iodures, qui ont une action bactéricide par l'oxydation dénaturante des protéines et d'autres composés cellulaires. Les détergents enfin, ont la propriété de solubiliser les résidus normalement peu solubles. Seuls les détergents cationiques sont des désinfectants efficaces (**Guiraud, 1998**).

### 3.3. Agents chimiothérapeutiques.

Un agent chimiothérapeutique est un composé chimique ou de synthèse qui inhibe le développement des microorganismes. Ce composé agit à faibles doses, il exerce une action très spécifique sur le fonctionnement cellulaire tout en ayant une toxicité sélective. Il inhibe le développement de sa cible ou la tue tout en étant inoffensif pour l'hôte. Dans ce groupe, on retrouve les antibiotiques, les antifongiques et les antiviraux (**Guillaume, 2000**).

Il existe actuellement deux grandes catégories d'agents chimiothérapeutiques antibactériens : les sulfamides et les antibiotiques ; ils ont des modes d'action comparables et se distinguent principalement par leur origine. Les sulfamides sont des produits de synthèse alors que la majorité des antibiotiques sont d'origine naturelle (les plus anciens) d'autres de synthèse ou d'hémisynthèse. Les agents chimiothérapeutiques comprennent cinq groupes selon qu'ils affectent la synthèse de la paroi, les échanges cellulaires, la réplication et la transcription de l'ADN, la synthèse des protéines ou certaines réactions du métabolisme intermédiaire (**Prescott *et al.*, 1995**).

# **Partie II**

## Etude Expérimentale

# **Chapitre I**

## Matériel et Méthodes

## I. Etude phytochimique

### I.1. Récolte du matériel végétal

#### I.1.1. La plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

La plante a été récoltée de la région d'Oum el Bouaghi le 15 Octobre 2012 (stade de floraison). Après séchage dans un endroit sec à l'abri des rayons solaires, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, les feuilles ont été coupées en petits morceaux, et broyées dans un moulin électrique, puis pesées. Ce matériel végétal a été réservé pour l'extraction des flavonoïdes.

Cependant, le matériel végétal réservé pour l'extraction des huiles essentielles (fleurs et fruits) a été récolté fin Octobre (stade de floraison) et au début de Novembre 2013 (stade de fructification) dans la même localité.

#### I.1.2. La plante *Hertia cheirifolia* (L.) O.K

La plante a été récoltée de la région d'Oum el Bouaghi en 2013, sur trois périodes de récolte différentes : stade végétatif (le 12 Février 2013), stade floraison (le 1<sup>er</sup> Avril 2013) et stade de fructification (le 05 Juin 2013). Après séchage dans un endroit sec à l'abri des rayons solaires, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, les parties aériennes (tiges, feuilles, fleurs et fruits) ont été coupées en petits morceaux, et broyées ensemble dans un moulin électrique, puis pesées.

Nous signalons que le matériel végétal utilisé dans ce travail a été identifié par l'enseignant ZELLAGUI Amar, professeur à l'université de Larbi Ben Mhidi d'Oum el Bouaghi.

## I.2. L'extraction

### I.2. 1.Extraction des Flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes est réalisée selon le protocole de **Markham (1982)**.

100g de la matière végétale subit une macération dans un mélange hydroalcoolique (MeOH/H<sub>2</sub>O: 7/3, v/v), le premier extrait est récupéré, filtré puis concentré sous pression réduite. La macération est répétée (4x 72 heures) : 3 fois à froid et la 4<sup>ème</sup> à chaud avec renouvellement du solvant. Les quatre extraits hydroalcooliques récupérés sont réunis et concentrés non à sec. L'extrait brut est traité avec une quantité d'eau bouillante, pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation, la solution

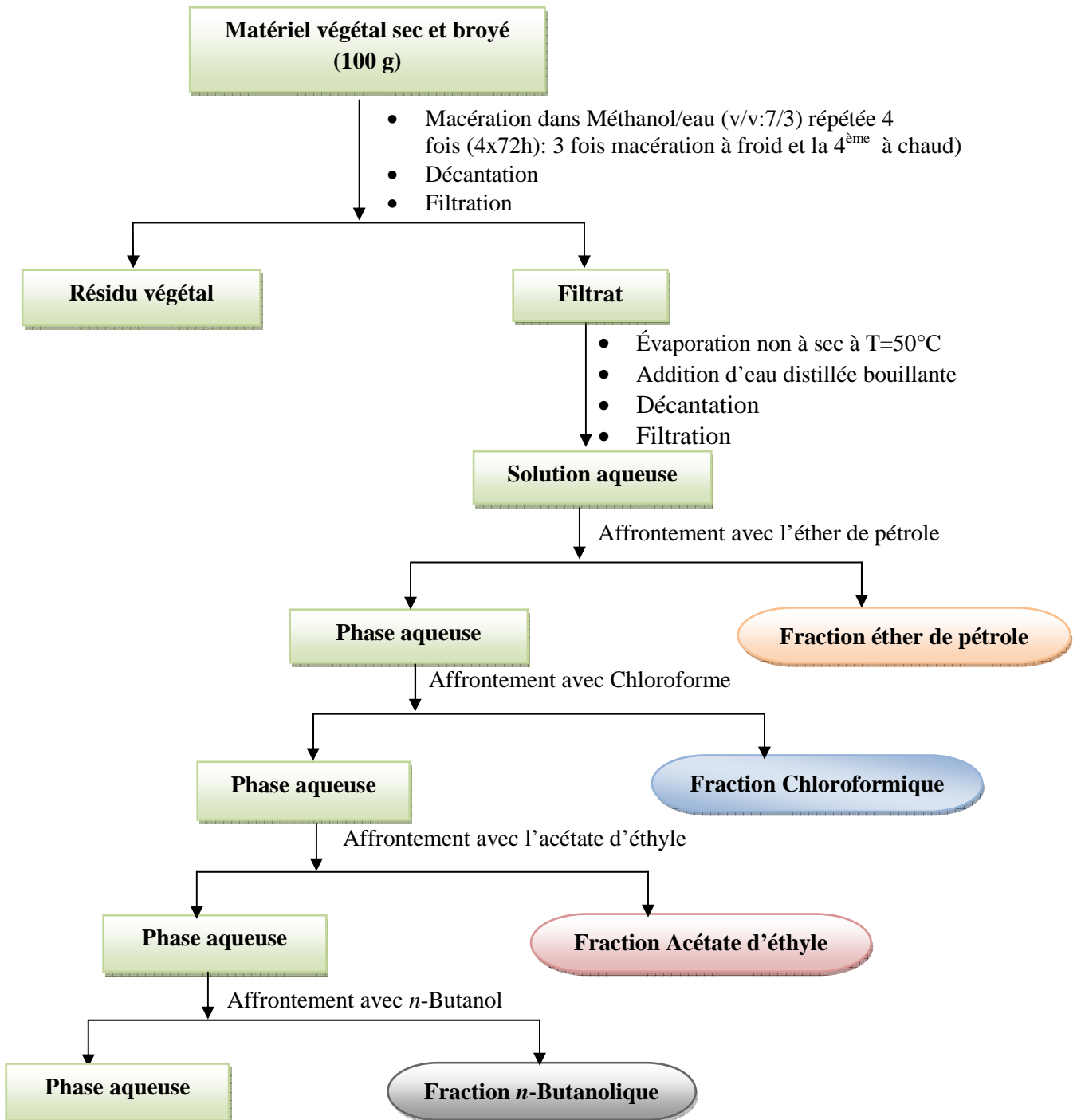
obtenue est laissée au repos pendant une nuit pour décantation. Celle-ci permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable, des résines, etc..... après filtration, on obtient une solution aqueuse.

A l'aide d'une ampoule à décanter de 1L, nous avons procédé à des extractions successives de type liquide-liquide, par affrontement à des solvants organiques de polarité croissante :

- L'éther de pétrole qui permet d'éliminer les matières grasses, les chlorophylles, et les impuretés.
- Le chloroforme qui permet l'extraction des aglycones méthoxylés et peu hydroxylés
- L'acétate d'éthyle qui permet l'extraction des aglycones polyhydroxylés et monoglycosylés et partiellement les diglycosylés.
- et dernièrement le *n*-butanol qui accède aux hétérosides polyglycosylés et aussi les hétérosides de type C-glycosyle.

La phase aqueuse et le solvant sont agités énergiquement puis laissés au repos pendant 30 minutes, la phase aqueuse (qui est au fond de l'ampoule) et la phase chargée de molécules spécifiques sont récupérées séparément. Les 4 phases organiques récupérés sont évaporées sous pression réduite, et pesées. Les extraits obtenus sont ensuite stockés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation. **La Figure 9**, résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut.

Les extraits butanolique et acétate d'éthyle des feuilles de la plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron ont été choisi pour être étudié sur le plan chimique et biologique à cause des solvants d'extraction utilisés et qui assurent la solubilisation de différentes classes des flavonoïdes.



**Figure 9:** Schéma de l'extraction des feuilles de l'espèce *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

### ➤ Calcul du rendement

Le rendement d'extraction est le rapport entre le poids des fractions obtenu et le poids de la plante (PP).

## I.2. 2.Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par le procédé d'hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger.

➤ **Principe :**

100g de la plante (sèche dans le cas d'*H. cheirifolia* (L.)O.K et fraîche dans le cas d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron. est introduit dans un ballon de deux litres rempli d'eau distillée, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle; en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. Après condensation, l'huile est séparée par décantation, puis conservée au réfrigérateur à 4 °C et à l'obscurité jusqu'à leur utilisation.

➤ **Calcul du rendement**

Le rendement d'extraction est le rapport entre le poids de l'huile essentielle (PHE) obtenu et le poids de la plante (PP). Il est calculé selon la formule suivante :

$$R = \frac{\text{PHE}}{\text{PP}} \times 100$$

## I.3. Analyse quantitative des extraits de feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

### I.3. 1. Dosage des polyphénols totaux des extraits

Le dosage des polyphénols totaux de nos extraits butanolique et acétate d'éthyle a été effectuée selon la méthode du réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu décrite par **Makkar et al., (1993)**.

➤ **Principe :**

Il consiste à mélanger 20µl de l'extrait avec 480µl de l'eau distillée, 1,25 ml de réactif de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 2%), 250µl de Folin Ciocalteu (1N). Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 40 min. L'absorbance est mesuré à 750 nm et les résultats sont rapportés à une courbe étalon et exprimés en équivalent d'acide gallique.

#### **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (2-

10µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µgEAG/mg).

### I.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) cité par (Djeridane *et al.*, 2006) et (Boudiaf, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

#### ➤ Principe:

1 ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

#### Expression des résultats:

La quantification des flavonoïdes à été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1,75-36 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

### I.4. Analyse qualitative des huiles essentielles des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K.

Le profil chimique de l'huile essentielle des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K. a été mis en évidence par la technique de chromatographie gazeuse couplée à un spectrophotomètre de masse. Le principe de cette technique, repose sur la différence de répartition des constituants d'un mélange complexe (dans notre cas l'HE) entre la phase mobile (gaz vecteur ou porteur) et la phase stationnaire de la colonne. Les différents composants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux de la base de données.

#### Conditions d'analyse GC/MS des huiles essentielles.

Les huiles essentielles ont été analysées sur un appareil de type Agilent GC6890A, équipé d'une colonne capillaire HP5MS (longueur: 30 m, et de 0,25 mm de diamètre intérieur. L'épaisseur du film est 0,25 µm) couplé à un spectromètre de masse de type Agilent 5973EI.

Les conditions analytiques sont les suivantes (**tableau 4**) :

**Tableau 4:** Condition d'analyse GC/MS de l'huile essentielle des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K

Conditions	
Température de l'injecteur (°C)	220 ° C
Température du détecteur (°C)	250 ° C
Gaz vecteur	Hélium
Les flux de gaz vecteur	1,6 ml / min
pression de la colonne	100 Kpa.
Programmation de température de la colonne (°C)	60 ° C pendant 1 min, puis porté de 60 ° C à 200 ° C avec un palier de 10 ° C / min et maintenu pendant 5 min et de 200 ° C à 240 ° C avec un palier de 10 ° C / min et maintenu pendant 6 min.

## II. Activités biologiques :

### II.1. Activité anti-oxydante :

#### II.1 .1. Test au DPPH :

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl), selon le protocole de **Masuda et al., (1999)**, cité par **Zellagui et al. (2012 a)**.

Dans ce test les antioxydants réduisent le (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl) ayant une couleur violette en un composé jaune, le (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazine), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002 ; Maataoui et al., 2006**).

Du point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant les groupes SH, NH et OH (**Salah et al., 1995**).

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 3,94 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol puis le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min. Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel sont de l'ordre de ( $10^{-1}M$ ,  $10^{-2}M$ ,  $10^{-3}M$ ,  $10^{-4}M$ ) pour les extraits AcOEt, *n*-BuOH, HE et pour le standard (la vitamine C).

20µl des solutions d'extraits sont ajoutés à 2ml de DPPH, et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH (solution méthanolique au DPPH) est mesurée à 517nm pendant 5min.

### L'expression des résultats:

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où qui est estimée selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = [A_0 - A_1] / A_0 \times 100$$

A<sub>0</sub> : Absorbance du Blanc

A<sub>1</sub> : Absorbance de l'extrait

Ou en calculant L'IC<sub>50</sub> qui est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

## II.2. Activité antibactérienne :

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de la Faculté SNV, Université Constantine 1.

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée par NCCLS (2003) cité par (Zellagui *et al.*, 2012 b).

### II.2.1. Souches bactériennes :

Six souches bactériennes ont été choisies pour leur pathogénicité et leur implication fréquente dans plusieurs infections notamment les infections respiratoires et la diarrhée.

- 4 souches de références: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

- 2 souches cliniques:

*Salmonella enteritidis* et *Bacillus cereus*

### II.2.2. Milieux de culture :

Nous avons utilisé comme milieux de culture les milieux suivants :

- Gélose Nutritive et Gélose Mueller Hinton.

### **II.2.3. Préparation des solutions :**

Les extraits ont été repris avec le Dimethyl sulfoxyde (DMSO). Une série concentrations de l'ordre de 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml et 0,5mg/ml a été ensuite réalisée.

### **II.2.4. Méthode de diffusion en milieu gélosé :**

➤ **Principe :**

#### **Préparation de l'inoculum bactérien :**

Chaque souche a été ensemencée en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies isolées. Après incubation de 24 heures à 37 °C, on a choisi 4 à 5 colonies bien isolées qu'on a transféré à l'aide d'une anse de platine dans un tube de solution d'eau physiologique afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0,5 ( $10^6$  UFC/ml). Cette comparaison est mesurée à l'aide d'un étalon Mc Farland.

#### **Ensemencement :**

Dans les 15minutes suivant l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface entière de la gélose Mueller Hinton à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum . Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

Des disques stériles de papier Wattman N° 3 ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose puis à l'aide d'une micropipette on dépose sur chaque disque 20 µl des concentrations croissantes d'extraits. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 24 h à 37 °C.

#### **Expression des résultats:**

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des différents extraits autour des disques.

# **Chapitre II**

## Résultats et Discussion

## I. Etude phytochimique

### I.1. Rendement des extractions

#### I.1.1. Rendement d'extraction des Flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. par macération dans le mélange (MeOH/H<sub>2</sub>O: 7/3, v/v) et le fractionnement par différents solvants nous ont permis d'obtenir les quantités (g) récupérées de chaque phase. La couleur, l'aspect ainsi que le rendement de chaque extrait par rapport au poids des feuilles sèches sont représentés dans le **tableau 5** ci-dessous.

**Tableau 5 :** Aspects, couleurs et rendement des divers extraits des feuilles d'*A.squamatus* (Spreng.) Hieron.

Extrait	Couleur	Aspect	Rendement
Ether de pétrole	marron	huileux	0,44%
Chloroforme	Vert clair	pâteux	0,32%
Acétate d'éthyle	Marron	pâteux	0,28%
<i>n</i> -Butanol	Marron jaunâtre	poudre	1,28%

Les résultats obtenus montrent que parmi les quatre extraits, l'extrait butanolique représente le rendement le plus élevé (1,28%), suivi par l'extrait éthérique (0,44%) puis l'extrait chloroformique (0,32%) alors que l'extrait acétate d'éthyle possède le rendement le plus bas (0,28%).

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. La méthode d'extraction influe également sur le contenu total en phénols et flavonoïdes (**Lee et al., 2003**).

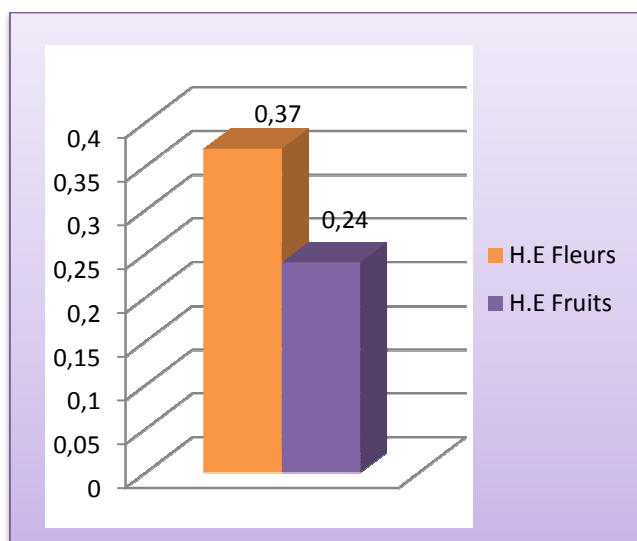
#### I.1.2. Rendement d'extraction des Huiles Essentielles

L'extraction des huiles essentielles (H.E) par la méthode d'hydrodistillation de la partie aérienne séchée de la plante *Hertia cheirifolia* (L.)O.K. récoltée sur trois périodes différentes (stade végétatif, floraison et fructification) et des fleurs et fruits fraîches de la plante *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. , a permis d'obtenir des huiles de couleur jaune clair.

Les teneurs en H.Es obtenues sont présentés par les **figures 10 et 11**.



**Figure 10 :** Histogramme comparatif des rendements en H.E de la partie aérienne d' *Hertia cheirifolia* (L.)O.K obtenue à différentes périodes de récoltes



**Figure 11:** Histogramme comparatif des rendements en H.E de différents organes d' *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

Les résultats représentés sur les **figures 10 et 11**, montrent que les rendements en H.Es de la partie aérienne séchée d' *H. cheirifolia* (L.)O.K récolté durant le stade végétatif, floraison et fructification, obtenus à l'aide d'une extraction par hydrodistillation sont de l'ordre de 0,24, 0,34 et 0,86% respectivement et les rendements en H.Es d' *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. obtenus à partir des fleurs et des fruits fraîches sont de l'ordre de 0,37 et 0,24%. Il s'est avéré

que les parties séchées ont donné un rendement en huile essentielle plus important que les parties fraîches.

De nos jours l'hydrodistillation reste la méthode d'extraction des H.Es la plus convoitée par l'industrie. Cependant, pour optimiser le rendement en H.E, plusieurs études ont été réalisées sur des parties végétales fraîches et, la concentration en eau du matériel végétal a été prise comme facteur de variation. Les résultats obtenus ont démontré que les rendements obtenus sont très inférieurs chez les parties végétales fraîches. Ceci pourrait être expliqué par la grande proportion d'eau présente dans le végétal. Néanmoins, les rendements ont été optimisés pour les parties végétales qui ont été séchées pendant 8 jours. Toutes les extractions qui ont été réalisées pour les parties végétales séchées au-delà de cette période de 8 jours ont engendré des rendements significativement inférieurs. Ce déclin est probablement lié à l'évaporation des composés volatils lors d'un séchage prolongé (**Bendimerad et al., 2005**).

D'après les résultats représentés par la **figure 10**, nous remarquons l'extrême diversité des valeurs enregistrées pour les différentes périodes de récolte. Cette remarque s'applique particulièrement pour le rendement d'extraction de l'huile essentielle ou le minimum est de 0.24% pour la période de Février (phase végétative) et le maximum est de 0.86% obtenu au mois de Juin correspondant au stade de fructification d'*H. cheirifolia* (L.)O.K dans la région Oum el Bouaghi.

Il apparaît au vu des résultats de la **figure 11** que le rendement en H.E de la plante *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. varie significativement selon l'organe végétal. Le meilleur rendement en H.E est obtenu à partir des fleurs (0,37%) et le plus faible rendement est obtenu à partir des fruits (0,24%).

Les résultats obtenus dans ce travail sont presque similaires aux autres résultats cités dans la littérature. En effet, **Akhgar et al., (2012)** ont rapportés un rendement de 0.8 % pour l'espèce *H. intermedia* récolté en mois de Juin. **Gaspari Dias et al., (2009)** ont observé un rendement de 0.2 % pour l'H.E d'*A. lanceolatus* obtenus à partir des fleurs.

Ainsi, les différences pourraient être expliquées selon **Kelen &Tepe (2008)** par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en terme de rendement et qualité de l'H.E. Le climat, la zone géographique, le génotype, l'organe de la plante utilisé, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode d'extraction employée, etc. Ce sont des facteurs

entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en H.Es (Vekiari *et al.*, 2002).

## I.2. Analyse quantitative des extraits des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

Afin de caractériser les différents extraits préparés à partir des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron., un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué.

Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribués.

### I.2.1. Teneur en polyphénols

Le méthanol a été recommandé et fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques (Falleh *et al.*, 2008). Le méthanol aqueux 70% est deux fois plus efficace que le méthanol pur, pour l'extraction des composés phénoliques de graine de colza (Vuorela, 2005).

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et les nourritures (Abdel-Hameed, 2009).

L'acide gallique est le standard (Figure 12) le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul *et al.*, 2008).

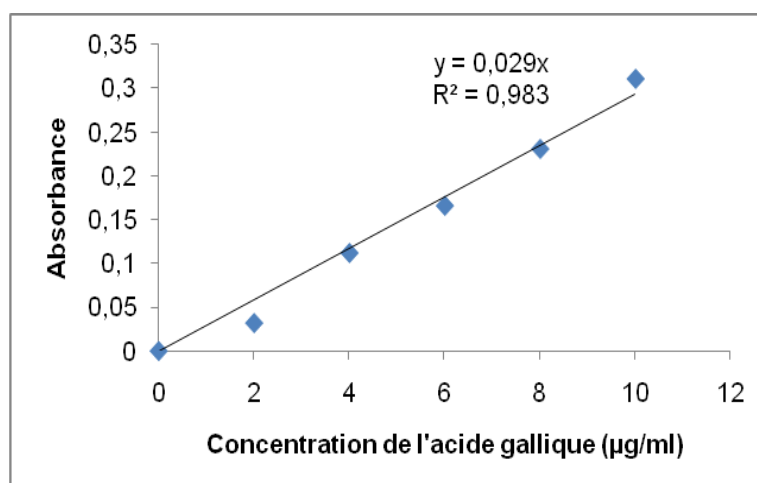


Figure 12: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

D'après les résultats obtenus, on peut déduire que la plante *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. possède des teneurs en polyphénols importantes.

**Tableau 6 :** Teneur en polyphénols des extraits des feuilles d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron.

Extrait	Teneur en polyphénols <sup>(a)</sup>
EAcOEt	8,86±1,31
En-BuOH	19,82±1,61

(a) µg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait.  
Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

D'après les résultats du **tableau 6**, La fraction *n*-BuOH d'extrait de feuilles d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron. représente la teneur la plus élevée en polyphénols avec une teneur de 19,82±1,61 µg EAG/ mg, tandis que la fraction AcOEt vient en seconde position avec une teneur de 8,86±1,31 µg EAG/ mg. Ce résultat confirme la richesse des feuilles d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron. en substances polyphénoliques.

Nos résultats sont proches des ceux de **Ravipati et al. (2012)**, qui indiquent que les extraits polaires (aqueux et éthanolique) de l'espèce *Aster tataricus* L., présentent des teneurs de 15.17 ± 0.27 et 6.95 ± 0.00 mg /g d'extrait équivalent d'acide gallique respectivement.

La recherche bibliographique réalisée sur le genre *Aster* montre la diversité du contenu phénolique, ce qui est en corrélation avec les travaux de certains auteurs (**Wilzer et al., 1989 ; El-Sayed et al., 1987 ; Allen, 1988 ; Lin et al., 2007 ; Shao et al., 1996 ; Liu et al., 2010**) qui indiquent que le genre *Aster* présente une grande variété des classes polyphénoliques isolées et identifiées.

La teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008 ; Podsedek, 2007**). La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques rudes (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (**Falleh et al., 2008**).

### I.2.2. Teneur en flavonoïdes

La raison principale pour la quelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006), en plus de la richesse des espèces du genre *Aster* en ces composés (El-Sayed *et al.*, 1987; Allen, 1988).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d'AlCl<sub>3</sub> en utilisant comme standard la quercétine (Figure 13), les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en µg EQ/mg d'extrait

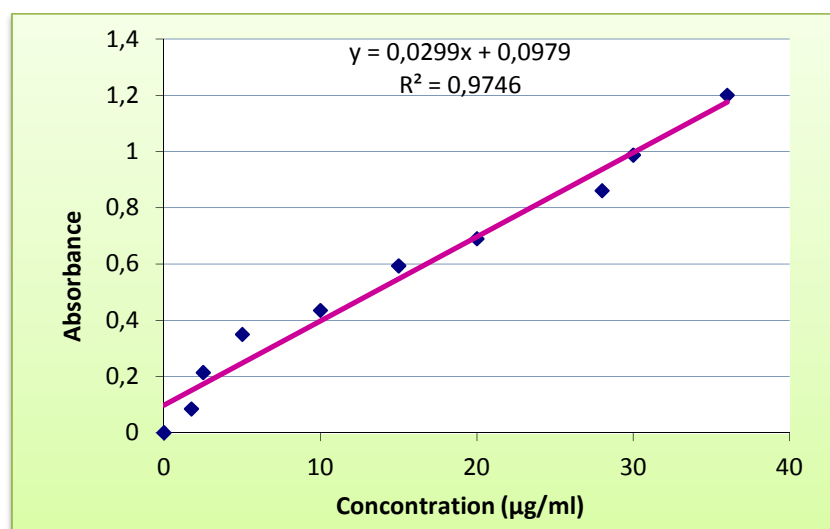


Figure 13: Courbe d'étalonnage de la quercétine

Tableau 7 : Teneur en flavonoïdes des extraits des feuilles d'*A.squamatus* (Spreng.) Hieron.

Extrait	Teneur en flavonoïdes <sup>(b)</sup>
EAcOEt	47,11±2,82
En-BuOH	58,53±5,10

(b) µg d'équivalent de la quercétine par mg d'extrait.  
Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait butanolique est l'extrait le plus riche en flavonoïdes avec une

teneur de  $(58,53 \pm 5,10 \mu\text{g EQ/mg d'extract})$ , que l'extract acétate d'éthyle  $(47,11 \pm 2,82 \mu\text{g EQ/mg d'extract})$  (**tableau 7**).

En tenant compte de la polarité des extraits, il apparaît que la teneur en flavonoïdes dans la plante *A. squamatus* (Spreng.) Hieron augmente avec la polarité de l'extract ( $n\text{-BuOH} > \text{AcOEt}$ ).

Nos résultats sont supérieurs à ceux de **Ravipati et al. (2012)**, qui indiquent que les extraits polaires (aqueux et éthanolique) de l'espèce *A. tataricus* L., présentent des teneurs de  $39.82 \pm 0.98$  et  $22.79 \pm 0.98 \text{ mg /g d'extract}$  équivalent quercétine respectivement.

Selon les travaux antérieurs rapportés par la littérature le genre *Aster* est riche en flavonoïdes. Ces derniers sont largement distribués chez les espèces de ce genre (**El-Sayed et al., 1987; Allen, 1988**). Par ailleurs selon **Elâgoun (2003)**, l'acétate d'éthyle est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes aglycones ou mono *O*-glycosides et partiellement di-*O*-glycosides, tandis que le *n*-butanol est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes di-*O*-glycosides et tri-glycosides et C-glycosides.

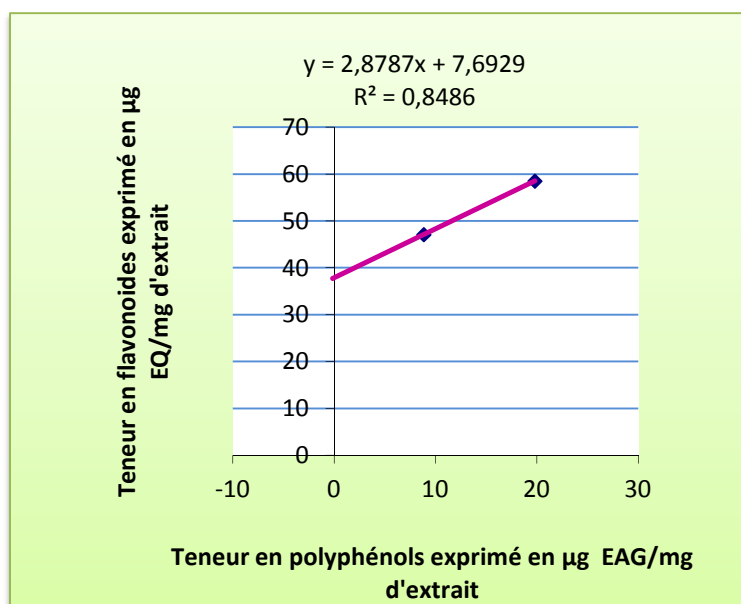
En tenant compte de la sélectivité de chaque solvant utilisé pour le fractionnement, on admet que l'espèce *A.squamatus* (Spreng.) Hieron. est riche en flavonoïdes glycosylés et faiblement riche en flavonoides aglycones.

### I.2.3. Corrélation entre le contenu phénolique –flavonoïdes

La courbe ci-dessous représente la corrélation entre le contenu phénolique (en abscisse) et le contenu en flavonoïdes (en ordonné) (**Figure 14**).

**Maisuthisakul et al., (2008)** ont constaté que la teneur totale des flavonoïdes des extraits éthanoliques de 28 plantes, est liée à la teneur des composés phénoliques totaux. De même nous avons trouvé que la teneur des flavonoïdes des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanolique s'est corrélié significativement avec la teneur des polyphénols ( $R^2 = 0,848$ ).

Ceci apparaît logique, où les flavonoïdes représentent les composés prépondérants des polyphénols.



**Figure 14 :** Corrélation linéaire entre la quantité en polyphénols totaux et la quantité des flavonoïdes des différents extraits des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

#### I.4. Analyse qualitative des huiles essentielles des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K

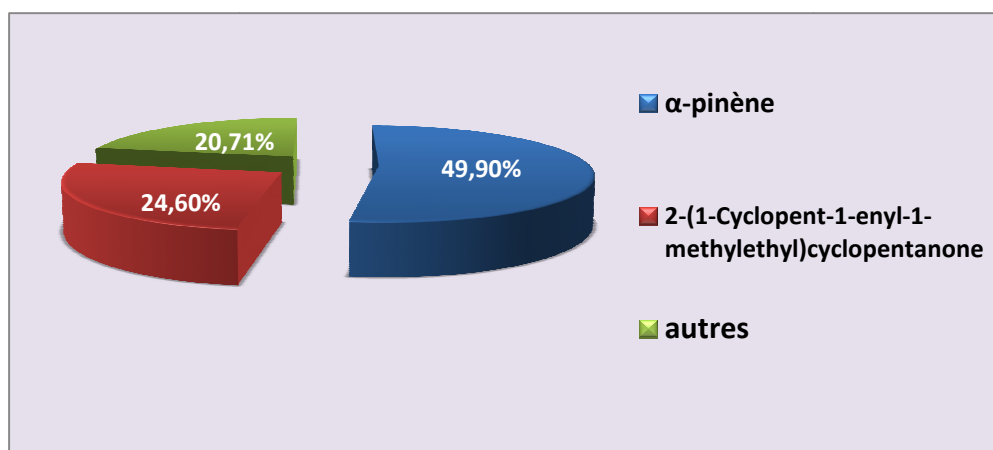
Les résultats des analyses par GC/MS de l'huile essentielle extraite des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K récoltées au stade de fructification sont présentés dans le **tableau 8**.

**Tableau 8 :** les résultats d'analyse d'H.E des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K par GC/MS

pics	Constituents	Tr	%
1	<b><math>\alpha</math>-pinéne</b>	4.064	<b>49.9</b>
2	Camphene	4.339	0.2
3	$\beta$ -Phellandrene	4.983	2.1
4	1,3,8-p-Menthatriene	6.636	0.9
5	Cyclobutane, 1,2-bis(1-methylethenyl)-,trans-	7.039	0.4
6	Thujone	11.376	0.1
7	Isothujol	13.141	0.3
8	4-Terpineol	14.620	0.1
9	Terpineol	15.192	0.1
10	Bicyclo[4.1.0]heptan-3-one, 7,7-dimethyl-4-methylene-,(1R)-	15.453	0.1
11	Carvacrol	19.192	0.8
12	$\alpha$ -Bourbonene	22.075	0.1
13	Cyclohexan, 1-ethenyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-	22.339	0.9
14	Caryophyllene	22.974	0.7
15	1,4-methanocycloocta[d]pyridazine, 1,4,4a,5,6,9,10,10a-octahydro-11,11-Dimethyl-	23.566	0.1
16	$\alpha$ -Caryophyllene	23.853	0.5

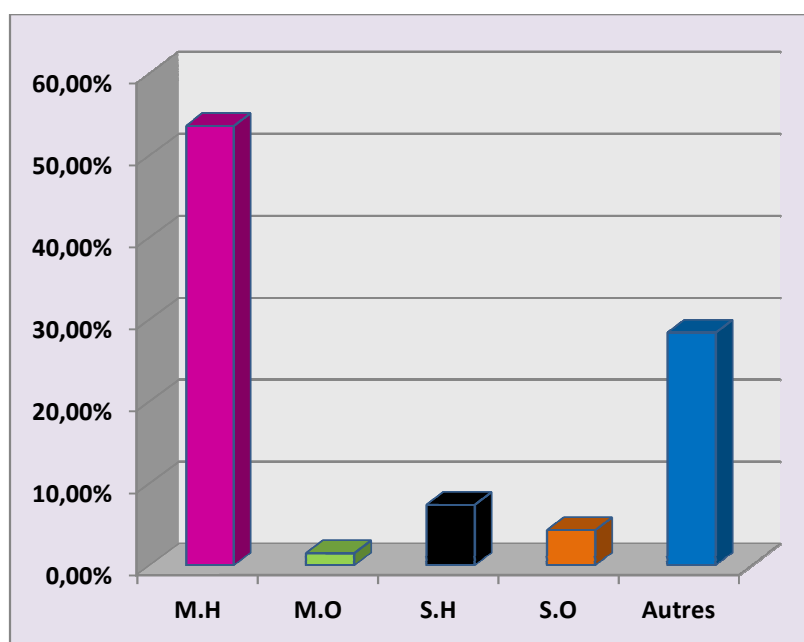
17	à-Amorphene	24.317	0.2
18	á-Cubebene	24.679	1.3
19	á-Eudesmene	24.766	0.5
20	Eremophilene	24.961	0.4
21	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-(E,E)-	25.144	0.4
22	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethenyl)-	25.251	0.2
23	ButylatedHydroxytoluene	25.403	0.1
24	Naphtalene, 1-2-3-4-4a-5-6-8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-	25.685	0.6
25	Aromadendreneoxide-(2)	26.695	0.1
26	Spathulenol	26.886	0.6
27	Davanone	27.006	0.3
28	Cycloheptane, 4-methylene-1-methyl-2-(2-methyl-1-propen-1-yl)-1-vinyl-	27.191	0.8
29	Cholestane, 4,5-epoxy-epoxy-(4.α,5.α)-	27.387	0.2
30	1,3-Hexadiene,3-ethyl-2,5-dimethyl-	27.558	0.1
31	Varidiflorene	27.925	0.4
32	Guaoil	28.325	0.1
33	ë-Cadinol,	28.636	0.2
34	6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2-ol	28.750	1.81
35	à-Gurjunene	29.274	0.4
36	2,3,4-trifluorobenzoic acid,tridec-2-ynyl-ester	30.024	0.2
37	Cyclohexan-1-ethanol, 1-hydroxymethyl-	30.217	0.1
38	<b>2-(1-Cyclopent-1-enyl-1-methylethyl) cyclopentanone</b>	<b>31.504</b>	<b>24.6</b>
39	Pregn-4-en-3-one, 20,21-[[[(1,1-dimethylethyl)borylene]bis(oxy)-	31.820	0.7
40	.Euparone	32.533	0.1
41	1,2-Benzendicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	32.751	0.2
42	Acetic acid, 6-(1-hydroxymethyl-vinyl)-4,8a-dimethyl-3-oxo	34.473	0.2
43	Cyclohexane, 1,3,5-trimethyl-	35.228	0.1
44	Isomaltol	35.537	0.1
45	Procerin	35.863	1.6
46	Cycloisolongifolene, 8,9-dehydro-9-formyl	36.435	0.1
47	Jatamansone	38.834	1.2
<b>Total</b>			<b>95,21%</b>

Quarante-sept constituants sont identifiés représentant un total de 95,21 % de cette essence. Cette huile essentielle présente comme composés majoritaires l'α-pinène (49,9 %) et le 2-(1-Cyclopent-1-enyl-1-methylethyl)cyclopentanone (24,6 %). (**Figure 15**).



**Figure 15 :** Représentation des principaux constituants de l'huile essentielle des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K

Ces principaux constituants représentent 76,6 % de la composition chimique totale. Cette huile essentielle est dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (53,6 %), suivi des hydrocarbures sesquiterpéniques (7,4 %) puis les sesquiterpènes oxygénés (4,31 %) et les monoterpènes oxygénés (1,5 %) (**Figure 16**).



**Figure 16 :** Répartition des monoterpènes hydrocarbonés (M.H), des monoterpènes oxygénés (M.O), des sesquiterpènes hydrocarbonés (S.H), des sesquiterpènes oxygénés (S.O) et autre constituants dans l'huile essentielle des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K

Comparativement aux données de la littérature (Zellagui *et al.*, 2012 c) la composition chimique de notre huile essentielle extraite des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K au stade de fructification est différente de celle des feuilles de la même plante au stade végétatif (**tableau 9**). Nous remarquons que les composés de l'huile identifiés en représentent 95,21 % et 99.3 %, respectivement, de l'huile totale pour notre travail et l'huile des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K. au stade végétatif. On remarque aussi que l'huile essentielle des feuilles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K récolté au stade de fructification est dominée par l' $\alpha$ -pinène (49,9 %) alors que celle des feuilles récoltées au stade végétatif étant riche en Drimenin (67.5 %).

Le **tableau 9** montre que la composition de l'huile essentielle des feuilles récoltées au stade de fructification est dominée par les monoterpènes hydrocarbonés (53,6 %) tandis que l'huile des feuilles récoltées au stade végétatif est dominée par les sesquiterpènes oxygénés (72,3%).

**Tableau 9:** comparaison du pourcentage de différentes fractions de HE des feuilles de la plante *Hertia cheirifolia* (L.)O.K.

Les sous-classes	stade de fructification (notre travail)	Stade végétatif (Zellagui <i>et al.</i> , 2012 c)
Monoterpènes hydrocarbonés	53,6 %	/
Monoterpènes oxygénés	1,5 %	0,3%
Sesquiterpènes hydrocarbonés	7,4 %	8,3%
Sesquiterpènes oxygénés	4,31 %	72,3%
autres	28,4%	18,4%

L'analyse de ces résultats montre qu'il existe une large différence qualitative et quantitative entre les compositions des deux huiles qui pourrait être attribuée à la variation de la période de récolte. En effet, il a été démontré que le cycle végétatif d'une espèce donnée influe sur la composition des différents constituants de l'huile essentielle (Hudaib *et al.*, 2002).

## II. Etude des Activités Biologiques

### II.1. Activité antioxydante :

Vu la diversité et la gravité des maladies qu'induit le stress oxydant, les recherches de nouveaux antioxydants en vue de lutter contre le stress oxydant et ses pathologies associées, se sont largement intensifiées. Dans ce contexte nous avons évalué *in vitro* l'activité antioxydante des différents extraits flavonoidiques et huiles essentielles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. et des huiles essentielles d'*Hertia cheirifolia* (L.) O.K vis-à-vis le radical DPPH en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune à 517 nm.

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités antiradicalaires des extraits végétaux (Yi *et al.*, 2008).

Les résultats peuvent être exprimés en tant que : pourcentage de l'activité antiradicalaire ou en pourcentage de DPPH restant ou peuvent également être exprimés en utilisant le paramètre IC<sub>50</sub>, qui est défini comme la concentration du substrat qui cause une perte de 50% de l'activité de DPPH (Markowicz Bastos *et al.*, 2007).

A des fins comparatives, un antioxydant standard a été utilisé, la Vitamine C (Figure 17), elle a montré une activité antiradicalaire puissante avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 64%.

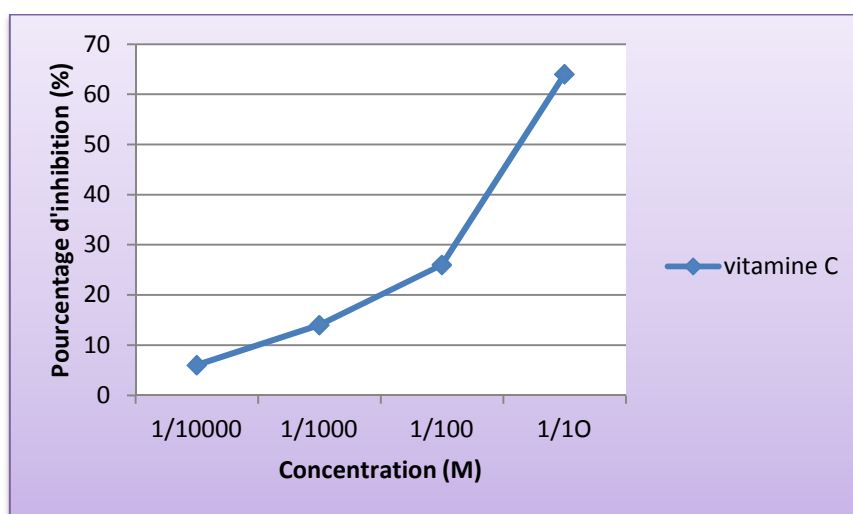
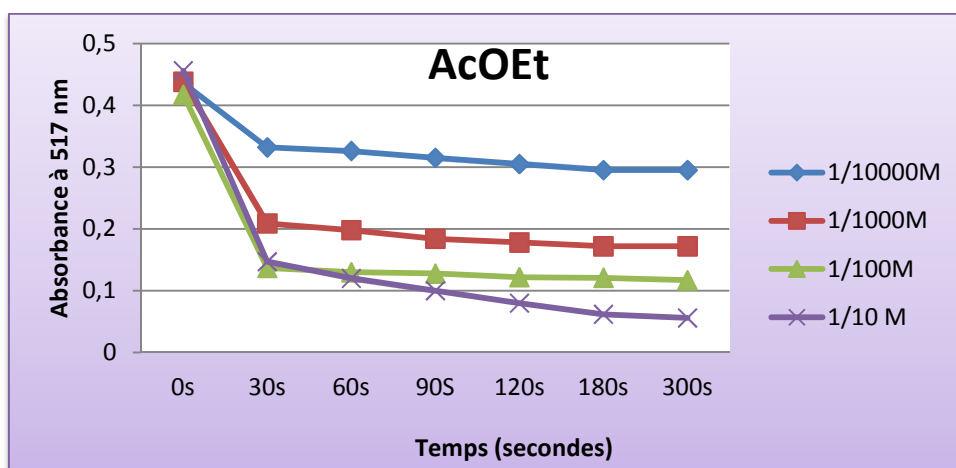


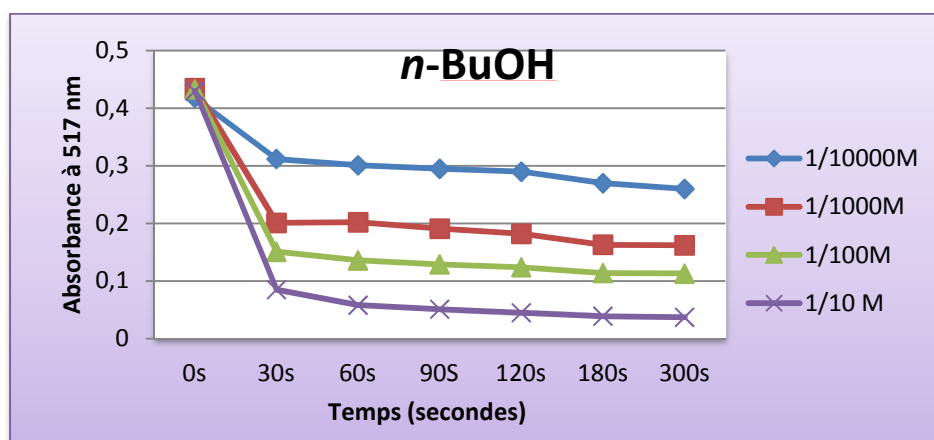
Figure 17 : Activité antiradicalaire de la vitamine C

### II.1.1. Cinétique de la réaction de réduction et puissance antioxydante

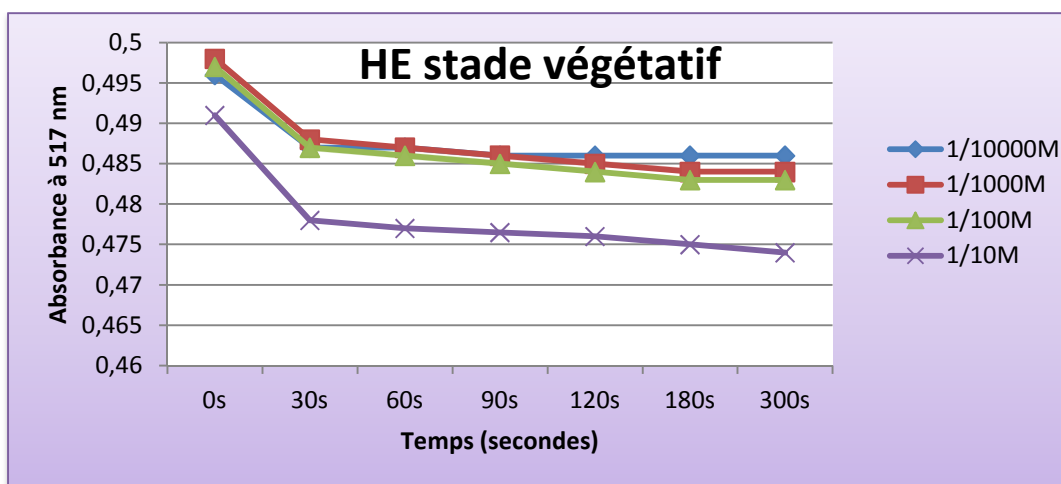
La caractéristique principale d'un antioxydant est sa capacité de capter les radicaux libres. Pour se renseigner sur la vitesse de réduction du radical et la puissance d'un antioxydant, nous avons réalisé un suivi de la réaction de réduction par mesure de l'abaissement de l'absorbance dans le temps, ce qui est bien montré dans les **figures (18, 19, 20, 21, 22,23 et 24)**. On a remarqué expérimentalement, lorsqu'on additionne un volume défini de l'extrait naturel flavonoïdique à un volume déterminé de la solution DPPH, l'absorbance du mélange diminue très rapidement vers une valeur très basse par rapport à l'absorbance de la solution uniquement constitué de DPPH (le blanc) et devient stable dans un laps de temps extrêmement court, ainsi la solution change de couleur instantanément du violet sombre au jaune pâle. Ce qui n'est pas le cas avec les huiles essentielles où la réaction de réduction nécessite un certain temps assez prolongé.



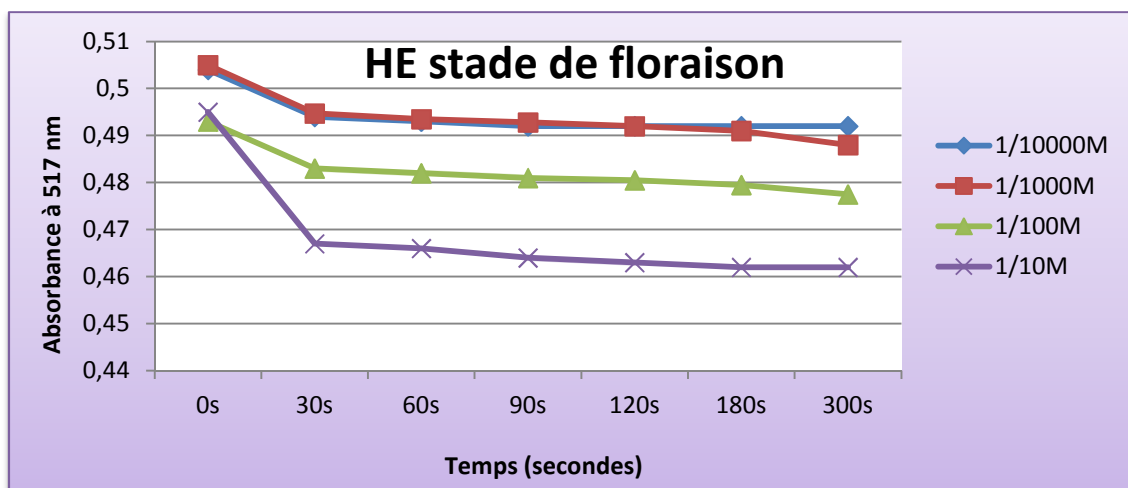
**Figure 18 :** Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de l'extrait AcOEt



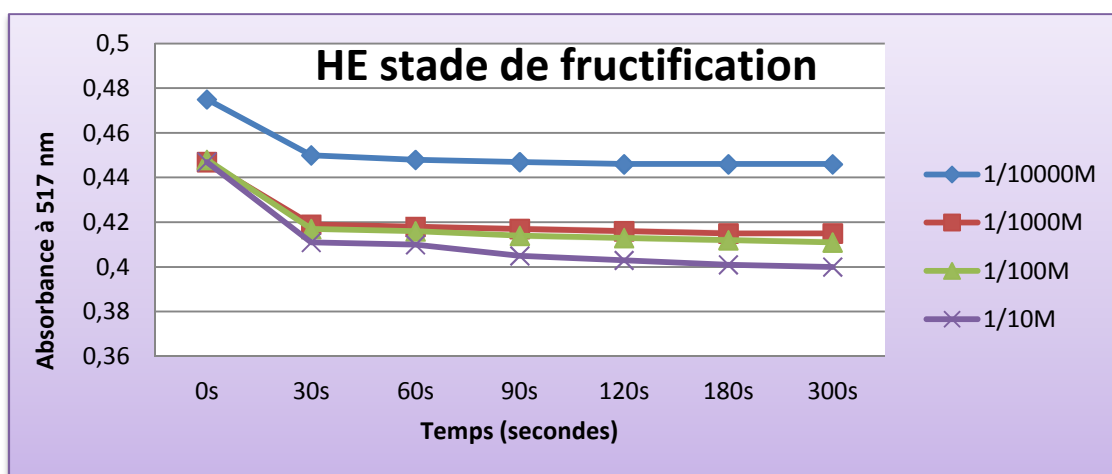
**Figure 19 :** Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de l'extrait *n*-BuOH



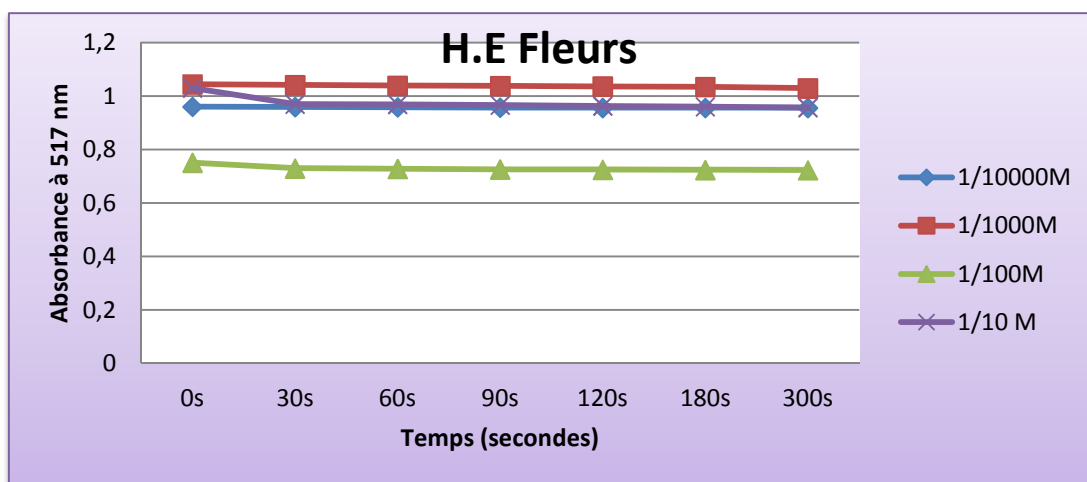
**Figure 20 :** Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E d'*H.cheirifolia* (L.)O.K au stade végétatif



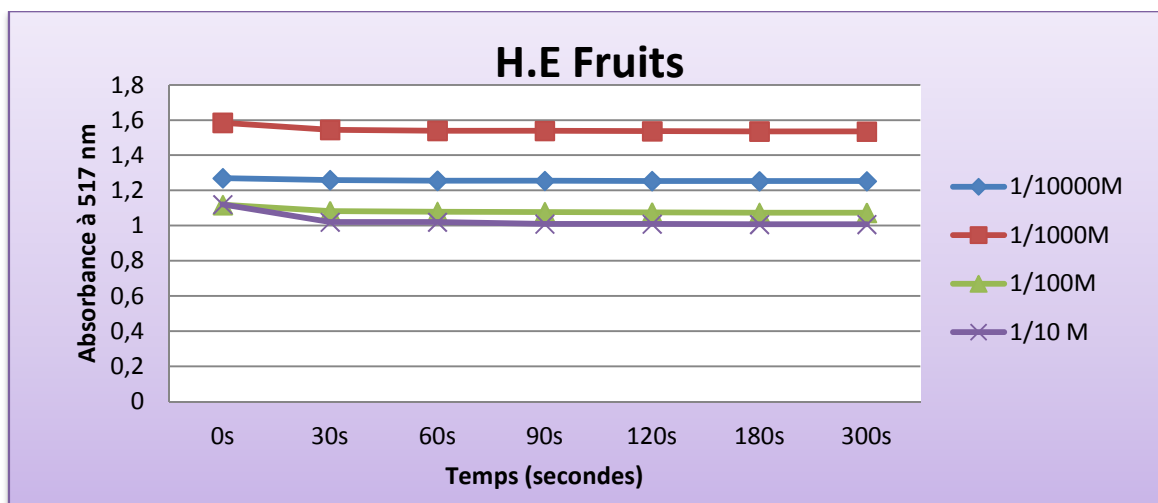
**Figure 21 :** Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E d'*H.cheirifolia* (L.)O.K au stade de floraison



**Figure 22 :** Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E d'*H.cheirifolia* (L.)O.K au stade de fructification



**Figure 23 :** Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E des fleurs d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron.



**Figure 24:** Cinétique de réduction du DPPH pour chaque concentration de H.E des fruits d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron.

Pour tous les extraits examinés (Extraits flavonoidiques et huiles essentielles), la réaction est biphasée, avec une baisse rapide dans l'absorbance dans les premières seconde surtout chez les extraits flavonoidiques, suivies d'une étape plus lente, jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint, alors on distingue deux zones :

- ❖ Zone à forte cinétique de piégeage du radical observée au bout des 30 premières secondes pour tous les extraits testés pour toutes les concentrations.
- ❖ Zone à faible cinétique de piégeage du radical DPPH ou zone de tendance vers l'équilibre constatée après les 5 minutes pour toutes les concentrations des extraits testés.

L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques. En présence d'un radical libre DPPH, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène (Laib, 2011).

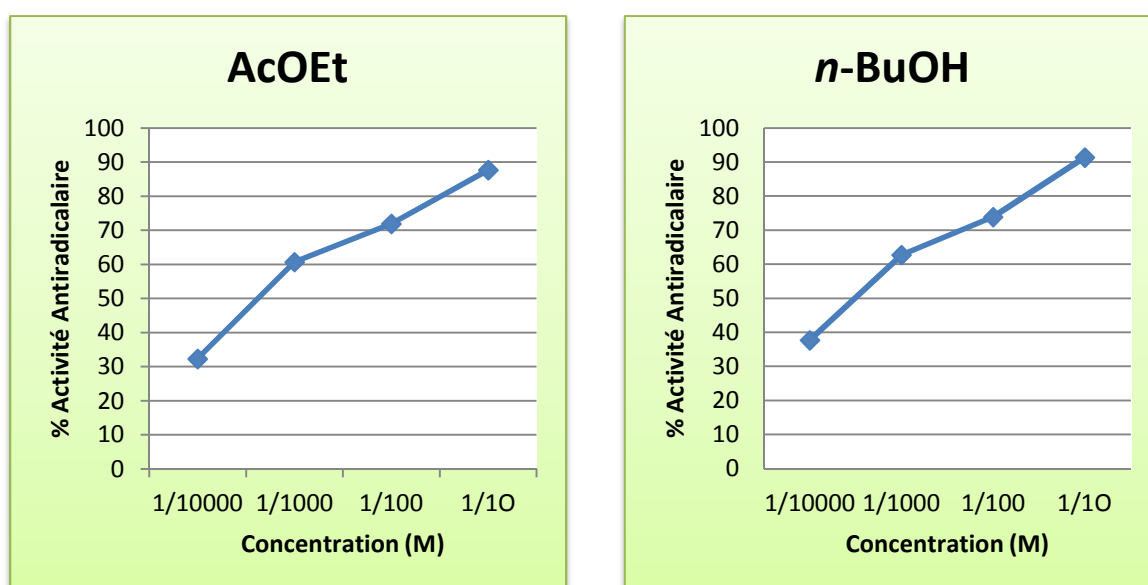
## II.1.2. Pouvoir antioxydant des extraits flavonoidiques

### II.1.2.1. Détermination du pourcentage d'inhibition

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) sont enregistrés dans la **figure 25**.

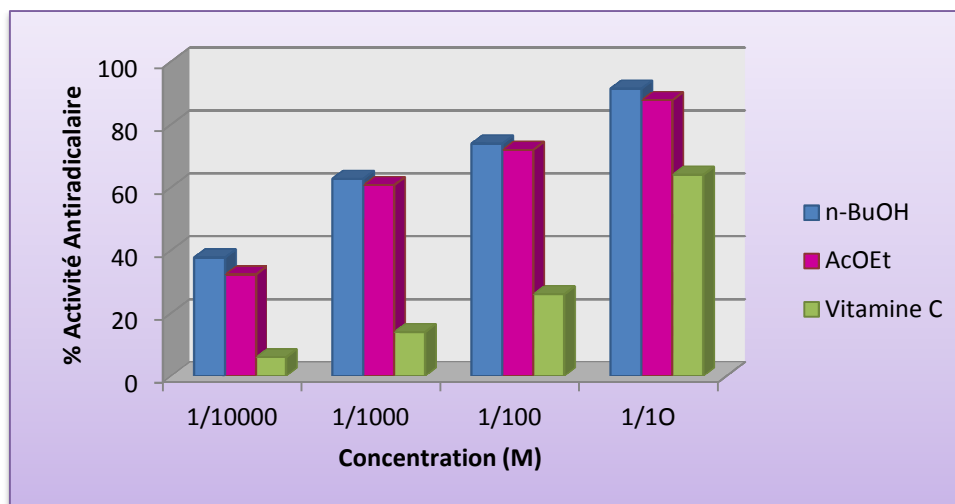
Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou pour les extraits flavonoidiques (*n*-BuOH et AcOEt) d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron. (**Figure 17 et 25**).

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les extraits *n*-BuOH et AcOEt est nettement supérieur à celui de la vitamine C prise comme référence, pour toutes les concentrations utilisées.



**Figure 25:** Activité antiradicalaire des extraits flavonoidiques (*n*-BuOH et AcOEt) des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron

Pour une concentration de  $10^{-1}$ M, *n*-BuOH a révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 94,55% suivi de l'extrait AcOEt 87,71% tandis que la vitamine C est de 64% (**figure 26**). Il s'est avéré que l'extrait *n*-BuOH possède le potentiel antioxydant le plus élevé.



**Figure 26:** Histogramme comparatif de l'activité antiradicalaire de l'extrait *n*-BuOH et AcOEt des feuilles d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron et de la vitamine C à différentes concentrations

#### II.1.2.2. Détermination d'IC<sub>50</sub>

La capacité antioxydante de nos différents extraits a été déterminée à partir des IC<sub>50</sub>. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. L'IC<sub>50</sub> et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnels (**Prakash et al., 2007**).

Nous avons calculé les IC<sub>50</sub> pour chaque extrait à partir de l'équation logarithmique de la courbe tracée (**annexe**), les valeurs sont représentées dans le **tableau 10**.

**Tableau 10 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> (en µg/ml) des extraits d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron et de la vitamine C

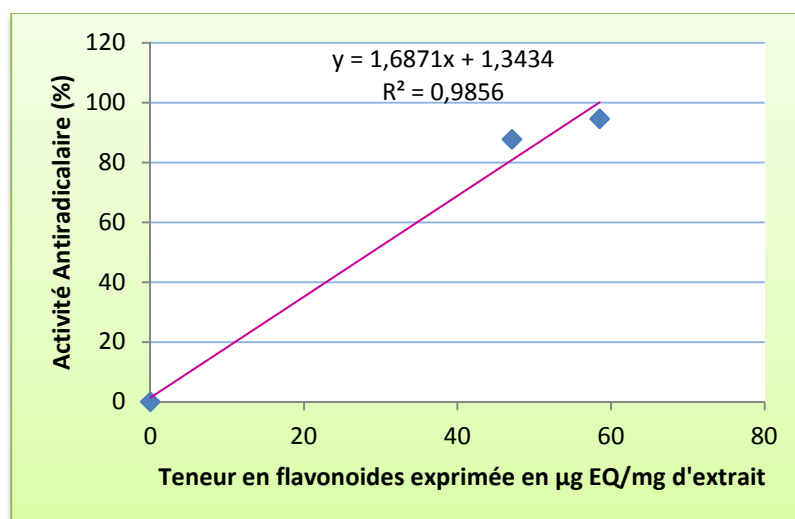
Extraits et Standard	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
AcOEt	571,44
<i>n</i> -BuOH	351,06
Vitamine C	5124,74

Comme figurant dans le tableau ci-dessus, l'extrait *n*-BuOH est le piègeur du radical DPPH le plus puissant avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre 351,06 µg /ml suivi par l'extrait AcOEt avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre 571,44µg/ml puis la vitamine C avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre 5124,74 µg/ml .

Nos extraits polaires surtout *n*-BuOH possèdent des capacités de neutralisation du radical libre DPPH intéressantes et supérieures à celle du standard. En comparaison avec la vitamine C, tous les extraits testés s'avèrent très actifs.

### II.1.2.3. Corrélation pouvoir antiradicalaire-flavonoïdes

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une corrélation linéaire significative ( $R^2=0,985$ ) entre la teneur des extraits en flavonoïdes et le pouvoir antiradicalaire (**Figure 27**).



**Figure 27:** Corrélation linéaire entre l'activité antiradicalaire et la teneur en flavonoïdes des extraits des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron

En effet, les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène.

Il est évident que la forte activité des extraits *n*-BuOH et AcOEt est attribuée à leur richesse aux composés phénoliques et flavonoïdes dont l'extrait *n*-BuOH possède la plus forte teneur en molécules dosés (polyphénols et flavonoïdes), suivi par l'extrait AcOEt. Une étude faite par **Kang et al., (2003)** a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

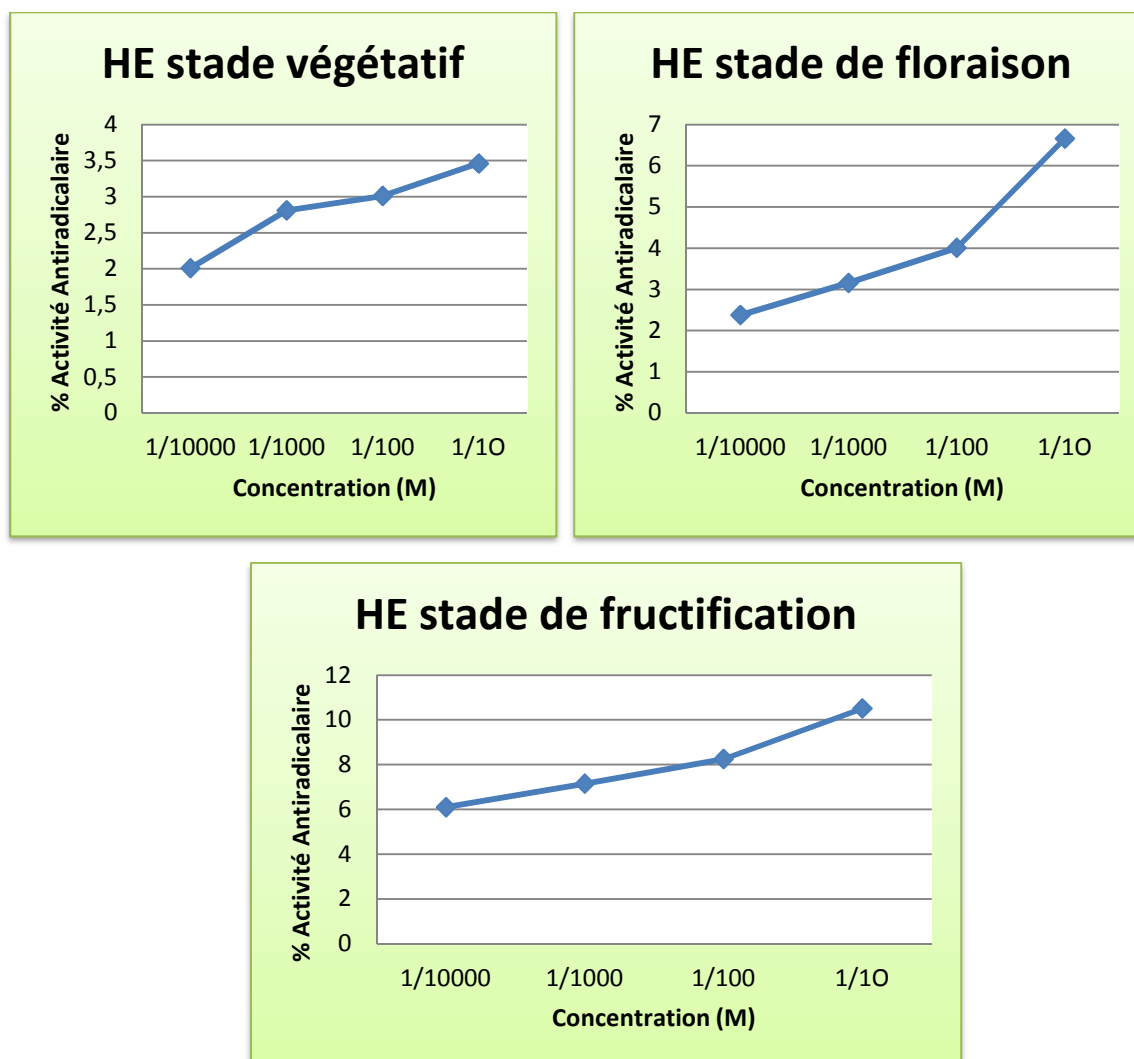
Il est à noter que les composés phénoliques présentent une activité 1,2 fois plus élevée que la vitamine C (Maataoui *et al.*, 2006) et les flavonoïdes présentent une activité 20 fois plus élevée que la vitamine C (Chow *et al.*, 2005; Martini *et al.*, 2004).

### II.1.3. Pouvoir antioxydant des huiles essentielles

#### II.1.3.1. Huiles essentielles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K

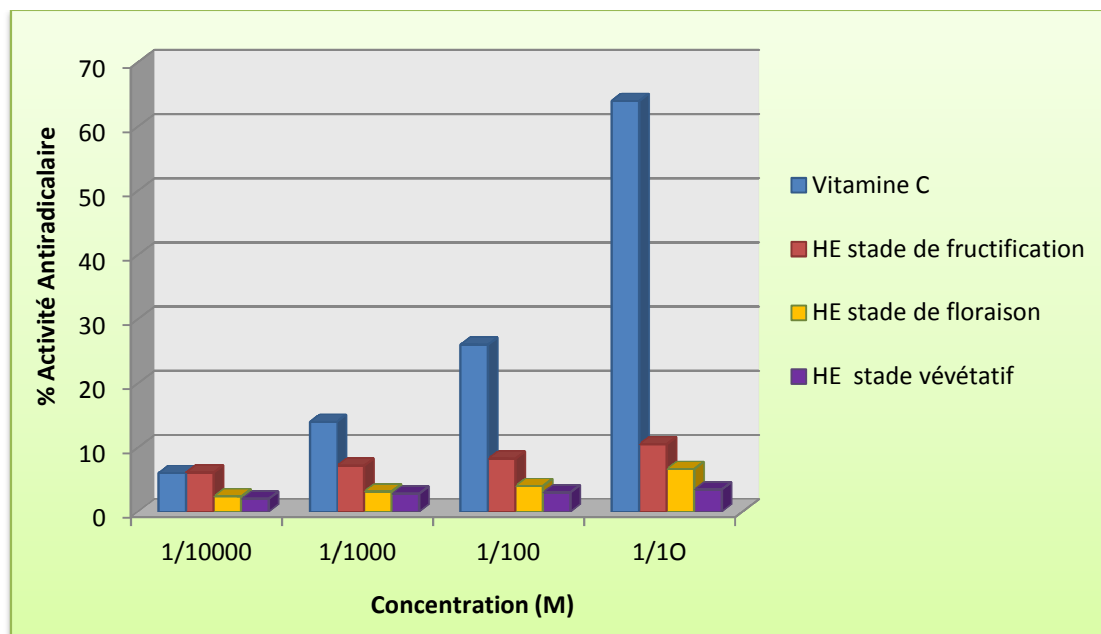
L'étude du pouvoir antiradicalaire a été menée sur les huiles essentielles de la partie aérienne séchée d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K récolté sur trois périodes différentes : stade végétatif, stade pleine floraison et le stade de fructification.

Les résultats ont montré que les trois huiles possèdent une activité antiradicalaire mais elle est moins efficace que celle de la vitamine C pour toutes les concentrations utilisées (Figure 28 et 17).



**Figure 28 :** Activité antiradicalaire des huiles essentielles de la partie aérienne d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K à différentes périodes de récolte

La comparaison du pourcentage d'inhibition de DPPH pour une concentration de  $10^{-1}$  M, fait apparaître en premier lieu la vitamine C avec un pourcentage d'inhibition important de 64% suivi de l'huile du stade de fructification (10,51%) puis celui du stade de floraison (6,66%) et du stade végétatif (3,64%) (**Figure 29**). De façon générale, toutes les huiles n'ont pas atteint 50% d'activité.



**Figure 29:** Histogramme comparatif de l'activité antiradicalaire des trois huiles essentielles d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K et de la vitamine C à différentes concentrations

Au vu de la **figure 29**, nous remarquons que l'activité antioxydante des huiles essentielles de la partie aérienne d'*H. cheirifolia* (L.)O.K est influencée par la période de récolte. En effet, elle est plus élevée lors de la récolte au mois de Juin correspondant au stade de fructification.

Le faible pouvoir antioxydant des huiles essentielles d' *H. cheirifolia* (L.)O.K peut attribuer à la faible teneur de son huile en phénols terpéniques.

En effet, l'étude réalisée par **Afsharypuor et al., (2000)** sur la composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne d' *H. angustifolia* et celle réalisée par **Akhgar et al., (2012)** sur les huiles essentielles de la partie aérienne d' *H. intermedia* (Boiss.) O. Kuntze ont montré qu'elles contiennent l' $\beta$ -pinène et  $\alpha$ -pinène avec des teneurs élevées. Nos résultats des analyses par GC/MS de l'huile essentielle extraite des feuilles d'*H. cheirifolia* (L.)O.K récoltées au stade de fructification ont révélé la richesse de cet HE en  $\alpha$ -pinène.

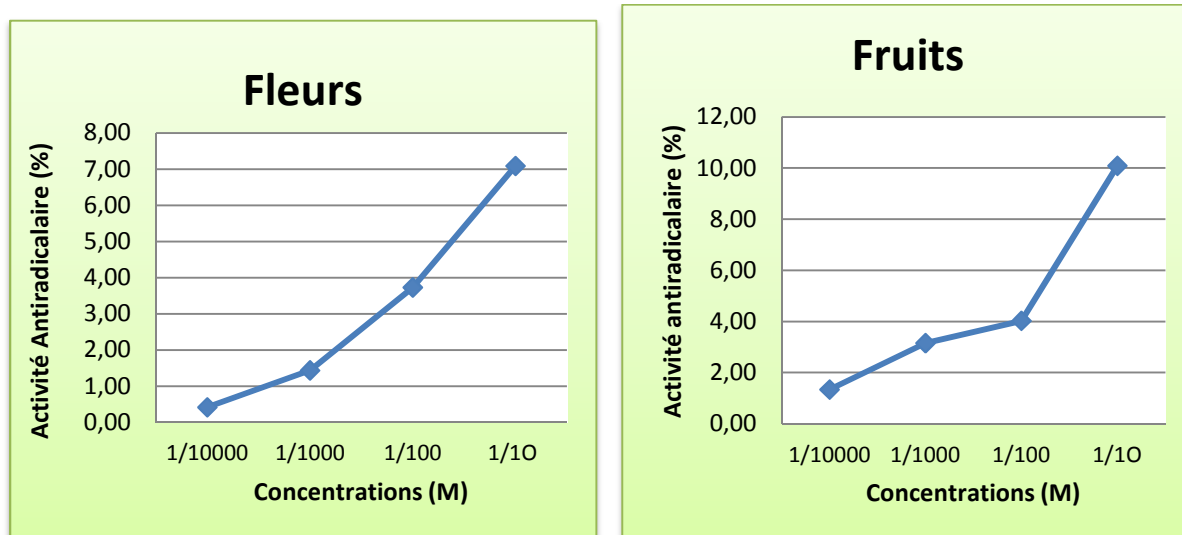
Cependant, **Lopes-Lutz et al., (2008)** ont attribué l'activité antioxydante faible de l'huile d'*Artemisia absinthium* à la présence de quelques composés non phénoliques tels que le 1,8-cinéole, l' $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène, le terpinène-4-ol et le *P*-cimène.

La différence de l'activité antiradicalaire de l'H.E d'*H.cheirifolia* (L.)O.K observée à différents stades de développement pourrait s'expliquer par une variation de la composition chimique de cette huile.

### II.1.3.2. Huiles essentielles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

L'étude du pouvoir antiradicalaire a été menée sur les huiles essentielles des fleurs et des grains (fruits) fraîches d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. récolté au début du mois de novembre.

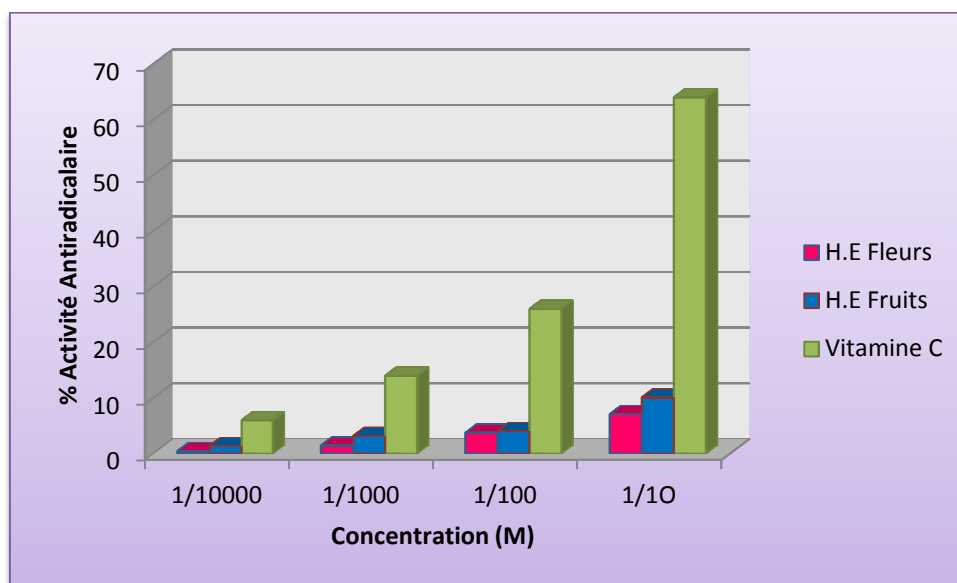
Les résultats ont montré que les deux huiles possèdent une activité antiradicalaire moins efficace que celle de la vitamine C pour toutes les concentrations utilisées et que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou pour les deux huiles essentielles de l'*A.squamatus* (Spreng.) Hieron. (**Figure 30 et 17**).



**Figure 30** : Activité antiradicalaire des H.Es des fleurs et des fruits d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

La comparaison du pourcentage d'inhibition de DPPH pour une concentration de  $10^{-1}$  M fait apparaître en premier lieu la vitamine C avec un pourcentage d'inhibition important de

64% suivi de l'H.E des fruits (10,09%) puis celui des fleurs (7,09%) (Figure 32). On remarque que toutes les huiles n'ont pas atteint 50% d'activité.



**Figure 31:** Histogramme comparatif de l'activité antiradicalaire des H.Es d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. et de la vitamine C à différentes concentrations

Au vu de la **figure 31**, on constate que l'activité antioxydante des H.Es d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron. est influencée par l'organe végétal. On attribue cette différence d'activité antiradicalaire à la variation de composition chimique entre les fleurs et les fruits.

#### II.1.4. Etude comparative du pouvoir antioxydant des extraits flavonoidiques et huiles essentielles

En comparant les résultats obtenus avec les huiles, les extraits flavonoidiques et le standard, on classe l'activité antioxydante suivant l'ordre :

L'extrait *n*-BuOH d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron. (feuilles) > extrait AcOEt *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. (feuilles) > vitamine C > HE *H. cheirifolia* (stade de fructification) > HE *H. cheirifolia* (stade de floraison) > HE *H. cheirifolia* (stade végétatif) > HE *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. (fruits) > HE *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. (Fleurs).

Le pouvoir puissant des extraits flavonoidiques d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron. peut être expliqué par le contenu phénolique des feuilles. En raison de la teneur élevée des flavonoïdes, *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. a une activité antioxydante significative.

Nous pouvons en conclure que comme la vitamine C, les extraits flavonoidiques ont un très bon pouvoir antioxydant.

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent est de combiner les résultats de différents tests pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (**Tabart et al., 2009 ; Saint-Cricq & Vivas, 1999 ; Li et al., 2008**).

## II.2. Activité antibactérienne

La méthode utilisée pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne est la diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Grâce à sa spécificité et à sa composition, ce milieu, souvent rencontré dans la littérature, permet une bonne croissance aux bactéries-tests tout en offrant des résultats clairs. L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage afin d'assurer une distribution uniforme de l'inoculum sur la gélose et faciliter la diffusion des molécules actives dans une fine couche de surface (**Horikawa et al., 1999 ; Woo et al., 2002**).

L'activité antibactérienne de différents extraits des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. a été évaluée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne (**Figure 29**).

La sensibilité aux différents extraits est classifiée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (++) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (**Moreira et al., 2005**).

Le **tableau 11** montre la sensibilité des souches testées vis-à-vis les deux extraits

**Tableau 11** : La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

Souches bactériennes	Sensibilité	
	Extrait AcOEt	Extrait n-BuOH
<i>E. coli</i> ATCC25922	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	+	+
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC700603	+	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	+	++
<i>Salmonella enteritidis</i>	+	++
<i>Bacillus cereus</i>	+	+

Non sensible (-), Sensible (+), Très sensible (++) , Extrêmement sensible (+++)

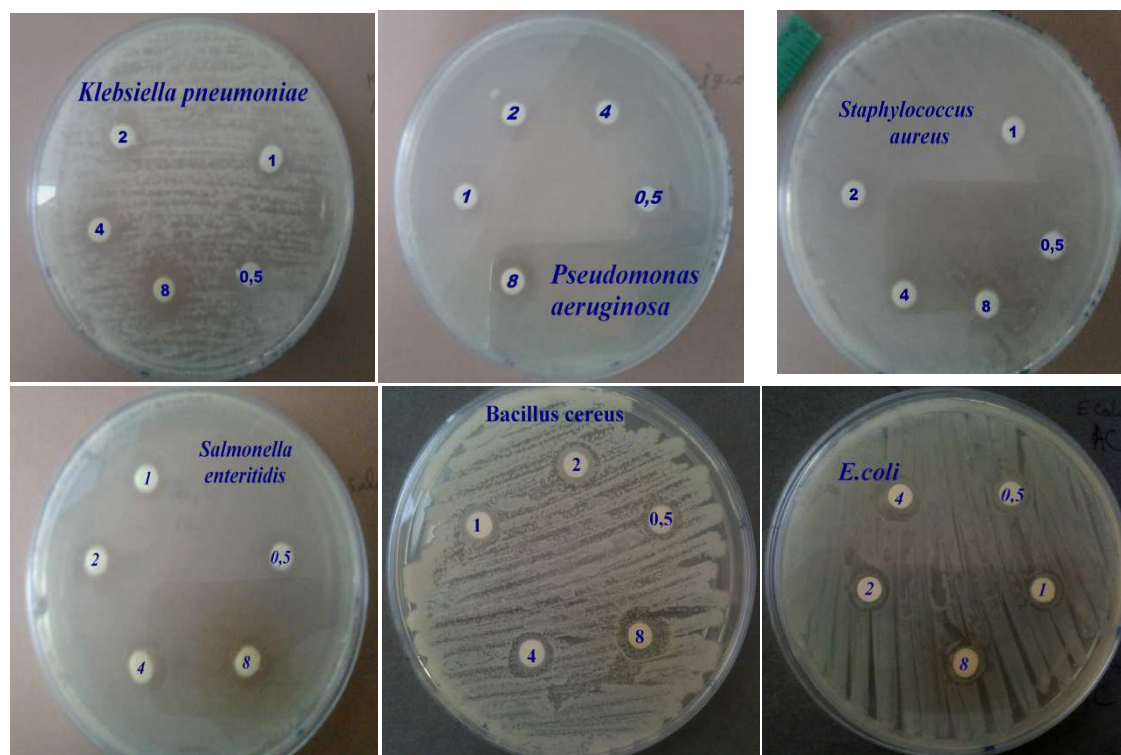
Le **tableau 11** montre que tous les extraits ont réagi positivement sur les souches bactériennes testées.

Les résultats obtenus pour l'activité antibactérienne des extraits *n*-BuOH et AcOEt sont exposés dans les **tableaux 12 et 13** et les **figures 32 et 33**. Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures de deux essais.

**Tableau 12** : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus par l'extrait AcOEt des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

Souche	Concentration Gram	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)				
		8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	1mg/ml	0,5mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC25922	-	13,91±1,77	12,83±0,62	12±0,5	11,25±0,66	10,58±1,01
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	+	10,81±0,38	8,58±0,66	7,25±0,75	..	..
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC700603	-	14±1,32	12,08±0,52	10,91±0,62	10,58±1,01	10,41±0,62
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	14,66±0,76	13,91±0,62	13,25±0,25	12,58±0,80	11,58±0,38
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	13,16±0,76	11,83±0,28	10,25±0,25	9,58±0,38	8,83±0,28
<i>Bacillus cereus</i>	+	14,58±0,8	13,5±0,75	12,66±0,52	11,75±0,66	10,91±0,52

(\*)Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition représentent la moyenne des mesures de deux essais ±SD

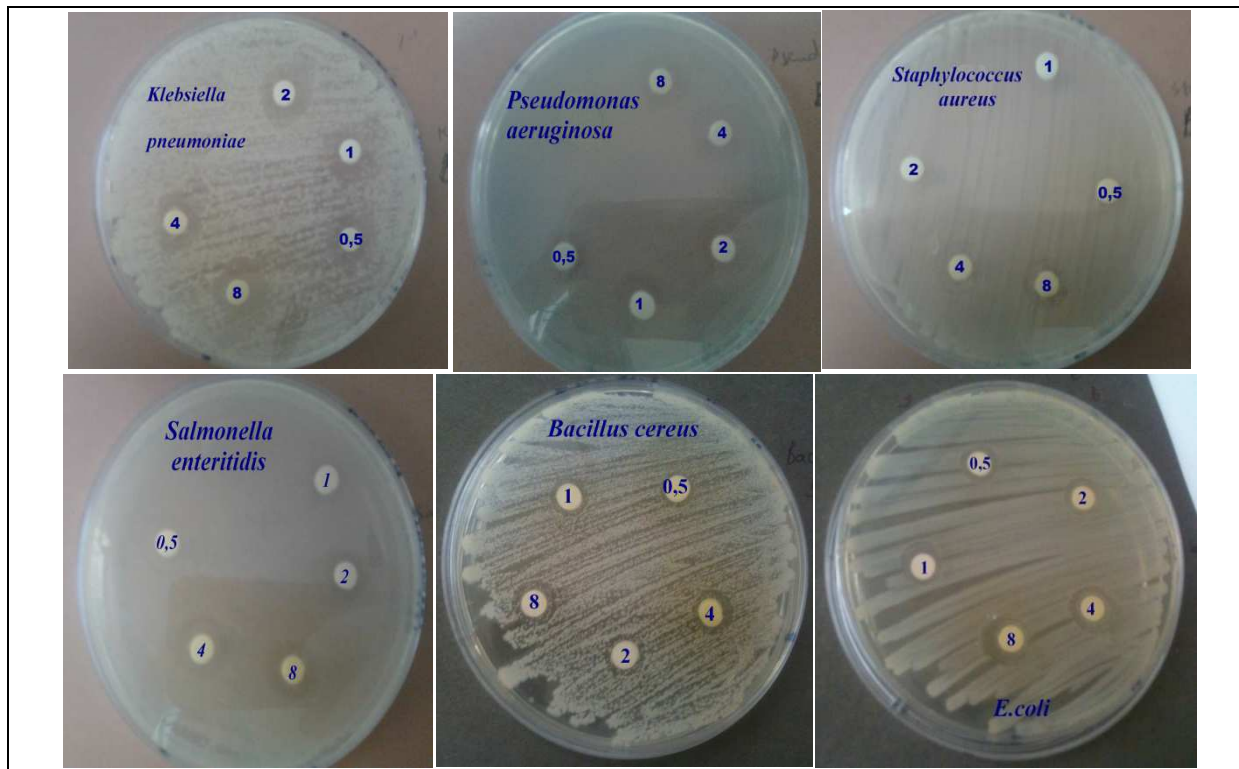


**Figure 32 :** Effet de la fraction Acétate d'éthyle sur les bactéries tests.

**Tableau 13 :** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus par l'extrait *n*-BuOH des feuilles d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

Souche	Concentration Gram	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)				
		8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	1mg/ml	0,5mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC25922	-	14,66±0,76	13,08±0,52	12,75±0,66	12,58±0,8	12,08±0,52
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	+	11,91±0,52	10,91±0,8	..	..	..
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC700603	-	<b>16,83±2,56</b>	15,83±1,52	14,91±0,52	14,5±1,32	13,75±0,66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	<b>15,16±1,04</b>	14,08±0,87	13,58±0,62	12,83±0,76	11,91±0,38
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	<b>15,33±1,04</b>	14,75±0,75	14,41±0,52	12,08±0,52	11,25±0,9
<i>Bacillus cereus</i>	+	13,25±0,25	12,08±0,52	11,25±0,66	9,58±0,38	8±0,5

(\*)Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition représentent la moyenne des mesures de deux essais ±SD



**Figure 33 :** Effet de la fraction *n*-butanol sur les bactéries tests.

Les résultats révèlent des réponses variables en fonction des souches, de la concentration et de type de l'extrait testé.

Les **tableaux 12** et **13** montrent que *E. coli* ATCC25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella enteritidis* et *Bacillus cereus* sont inhibées à toutes concentrations des extraits utilisés alors que *Staphylococcus aureus* ATCC25923 a résisté à l'action des extraits *n*-BuOH et AcOEt à des concentrations de 2, 1 et 0,5mg/ml pour l'extrait *n*-BuOH et à des concentrations de 1 et 0,5mg/ml pour l'extrait AcOEt.

Il apparaît aussi qu'à l'exception du *Bacillus cereus*, l'ensemble des bactéries à Gram positif et à Gram négatif testées semblent être plus sensibles à l'extrait *n*-BuOH qu'à l'extrait AcOEt et en comparant les diamètres des zones d'inhibition des bactéries entre elles, il s'est avéré que les bactéries à Gram négatif étaient plus sensibles aux différents extraits utilisés que celles à Gram positif. Ainsi Il apparaît que *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (Gram positif) est la bactérie la moins sensible aux différents extraits que toutes les bactéries testés et ceci peut être attribué à la résistance de cette souche.

Les **tableaux 12** et **13** ainsi que les **figures 34** et **35** montrent clairement que le diamètre des zones d'inhibition augmente parallèlement avec l'augmentation des

concentrations des extraits utilisés. Il existe donc une relation étroite entre l'inhibition de la croissance bactérienne et la concentration des extraits actifs. Ces extraits exercent donc une activité antibactérienne dose dépendante. La plus forte activité a été obtenue avec l'extrait *n*-BuOH avec la souche bactérienne *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 dont le diamètre de zone d'inhibition de croissance était de  $16,83 \pm 2,56$ mm (à la concentration de 8mg/ml).

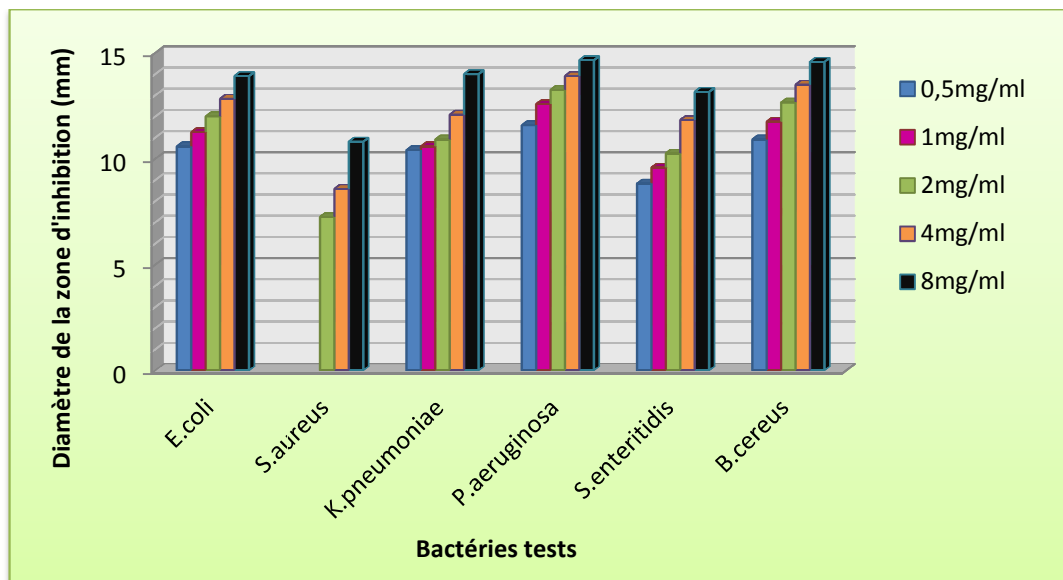


Figure 34: Effet de l'extrait AcOEt sur les bactéries tests à différentes concentrations

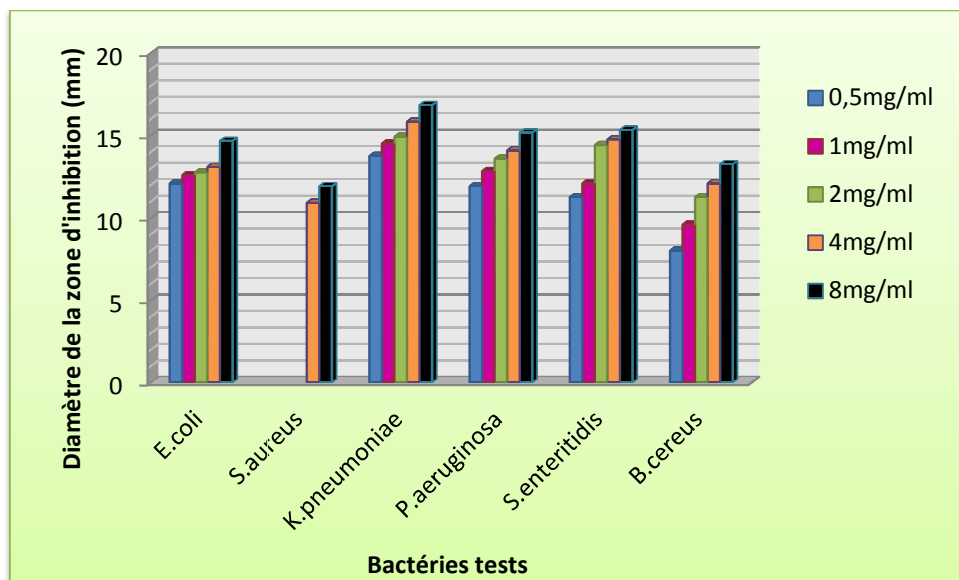


Figure 35 : Effet de l'extrait *n*-BuOH sur les bactéries tests à différentes concentrations

On remarque aussi que la plante *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. est douée de propriété antibactérienne très appréciée et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnelle comme un remède antidiarhéique.

La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antibactérienne des extraits. En effet, selon la polarité, les composés contenus dans les deux extraits ne sont pas les mêmes. L'extrait AcOEt, malgré sa teneur très faible en flavonoïdes et composés polyphénolique, il a montré une activité antibactérienne remarquable et proche de celle obtenue avec l'extrait *n*-BuOH (**tableau 12**).

Cependant, La TLC de l'extrait aqueux des feuilles d'*A. squamatus* (Spreng.) Hieron. a révélé la présence d'acides caféique, cinnamique et sinapique dans la fraction acétate d'éthyle (**Sperotto et al., 2002**).

**Cowan, (1999)** a suggéré que l'acide caféique contenu dans l'estragon (*Artemisia dracuncululus*) est responsable des propriétés antimicrobiennes de cette plante.

Le *n*-BuOH est un solvant de polarité plus élevée et il extrait des flavonoïdes, des tanins, des saponines et autres substances chimiques. Plusieurs flavonoïdes (squamatin, ternatin, ramnetim, kaempférol, baicaléine, la lutéoline-7-méthyl-éther, et quercétine) ont été isolés à partir des fleurs d'*A. squamatus* d'Egypte. La quercétine est connu comme un antibactérienne. Ces données suggèrent que les flavonoïdes présents dans *A. squamatus* pourraient être les principes actifs de l'activité antibactérienne représentée par l'extrait BuOH (**Ghedini & Almeida, 2007**).

L'extrait *n*-BuOH renferme une quantité appréciable en polyphénols mais il a montré activité inhibitrice moins faible sur la souche *Bacillus cereus* que l'extrait AcOEt, il se pourrait que son activité soit masquée par la présence des sucres (**Cavin, 2007**).

Nos extraits ont été tous trouvés contenir une quantité de flavonoïde plus ou moins importante, donc on peut dire que l'activité antibactérienne de ces extraits est due, au moins partiellement, à la présence de ce type de composés chimiques actifs dans leur composition.

Il est à noter que l'activité antibactérienne des flavonoïdes peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, inhibition du métabolisme bactérien, la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries (**Karou et al., 2005**).

Toutefois, il faut souligner que l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (**Essawi & Srour, 2000**). Pour cela, la comparaison cas par cas de l'activité antibactérienne de plusieurs extraits, en se basant sur le dosage d'un seul constituant actif (flavonoïdes dans notre cas), nous semble inutile.

Ce test est rapide et simple à effectuer, cependant, il serait judicieux de mettre en place des tests antibactériens avec la méthode de dilution afin d'avoir des résultats plus rigoureux et plus objectifs. En outre il faudrait pousser plus loin l'investigation sur les activités antibactériennes, d'une part en testant les extraits sur d'autres souches et d'autre part en fractionnant les extraits car il y aurait dans les extraits non fractionnés des composés inhibiteurs masquant les composés actifs (**Klervi, 2005 ; Cavin, 2007**).

Ainsi, l'efficacité d'un extrait dépend de sa concentration, de la plante du quelle il est issu et de la souche testée (**Klervi, 2005**).

# **Conclusion**

## Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux effets antibactériens et antioxydants des différents extraits et huiles essentielles de deux plantes de la région d'Oum el Bouaghi sélectionnées parmi celles poussant à l'état spontané.

Du point de vue phytochimique, nous avons réalisé une extraction générale dont le plus grand rendement est observé avec l'extrait *n*-BuOH (1,28%) par contre le plus faible rendement a été obtenu avec l'extrait AcOEt (0,28%).

La détermination des rendements en huiles essentielles ont montré une rentabilité en huile volatile chez l'espèce *H.cheirifolia* (L.)O.K. (0.86%), alors qu'il est faible chez l'espèce *A. squamatus* (Spreng.) Hieron. (0.34%).

L'analyse quantitative représentée par le dosage spectral des composés phénoliques et flavonoïdes contenus dans les deux extraits *n*-BuOH et AcOEt des feuilles d'*A.squamatus* (Spreng.) Hieron.a révélé des teneurs considérables en métabolites dosés chez la fraction la plus polaire (*n*-BuOH ) que la fraction AcOEt. Cependant, une corrélation très significative est trouvée entre la teneur des flavonoïdes et des polyphénols des extraits des feuilles *A. squamatus* (Spreng.) Hieron ( $R^2 = 0,848$ ).

L'analyse qualitative par GC /MS de l'huile essentielle des feuilles d' *H. cheirifolia* (L.)O.K. récolté au stade de fructification a permis l'identification de 47 composés dont l' $\alpha$ -pinène (49.9%) et 2-(1-Cyclopent-1-enyl-1-méthylethyl)cyclopentanone (24.6%) sont les principales constituants.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres que les huiles essentielles. Suivant les résultats qu'on a obtenus expérimentalement, nous pouvons prédire que les flavonoïdes sont des agents antioxydants de première classe. En effet, une corrélation très significative est trouvée entre la teneur des flavonoïdes et l'activité antioxydante des extraits *n*-BuOH et AcOEt des feuilles d'*A.squamatus* (Spreng.) Hieron. ( $R^2=0,985$ ).

Le test de l'activité antibactérienne des différents extraits flavonoidiques a montré que tous les extraits testés sont actifs. D'ailleurs toutes les souches bactériennes testées sont inhibées au moins par l'un des extraits dont l'extrait *n*-BuOH possède le pouvoir antibactérien le plus élevé et a montré le plus d'efficacité avec un diamètre de  $16,83 \pm 2,56$  mm sur la souche *Klebsiella pneumonia ATCC700603*.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Ces plantes locales, étant peu étudiées, possèdent une vraie potentialité et une source riche de molécules bioactives d'où la nécessité de les investiguer par des études chimiques plus approfondies en utilisant des techniques performantes telle que la HPLC et la CPG pour élucider leur composition quantitativement et qualitativement.

D'autres perspectives peuvent être envisagées telles que :

- Faire d'autres types d'extractions afin d'obtenir des molécules qui n'ont pas encore été identifiées et qui permettent d'ouvrir la porte à d'autres études des activités biologiques considérées comme nécessaire complémentaires.
- réaliser des tests *in vivo* sur des animaux de laboratoire afin d'assurer une étude complète de ces plantes suspectées d'avoir un effet antioxydant et antibactérien.

# **Références Bibliographiques**

## Références bibliographiques

**A**

- Abdel-Hameed E.S.** (2009). Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chemistry*. Vol.114, pp. 1271-1277.
- Aclinou P., Benkouider A., Massiot G., Le Men-Olivier L.** (1991). Eremophilenolides from *Hertia cheirifolia*. *Phytochemistry*. Vol. 30, N° 6, pp. 2083-2084.
- Afsharypuor S., Mosaffa-Jahromy M., Rahiminezhad M.R.** (2000). Investigation of the volatil oil of *Hertia angustifolia* (DC.) O. Kuntze. *DARU*, Vol. 8, pp.7-8.
- Agrawal A.D.**(2011). Pharmacological activities of flavonoids: A review. *International journal of pharmaceutical sciences and nanotechnology*. Vol. 4, N° 2, pp. 1394-1398.
- Akhgar M.R., Ghazanfari D., Shariatifar M.**(2012). Chemical composition of the essential oil of *Hertia intermedia* (Boiss.) O. Kuntze from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. Vol. 15, N° 3, pp.360 – 363.
- Allen G.A.** (1988). Flavonoids of *Aster bracteolatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 16, N° 2, pp. 139-141.
- Ammar S., Edziri H., Mahjoub M.A., Chatter R., Bouraoui A., Mighri Z.** (2009). Spasmolytic and anti-inflammatory effects of constituents from *Hertia cheirifolia*. *Phytomedicine*, Vol. 16, pp. 1156–1161.
- Asada Y., Oshikawa T., Welli.** (1998). Antimicrobial flavonoids from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures. *Planta medica*, Vol. 64, N°8, pp. 746-747.

**B**

- Bahorun T.** (1997). Substances naturelles actives:la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council*, Réduit, Mauritius, 83-94. AMAS, Université de Maurice.
- Bauer K., Garbe D., & Surburg H.**(2001). Common Fragrance and Flavour Materials: Preparation, Properties and Uses Wiley-VCH, Weinheim.
- Benaissa O.** (2003). Etude du métabolisme flavonique de l’espèce *Hertia cheirifolia* (compositae). Mémoire de Magistère. Université de Constantine
- Bendimerad N., Taleb S.A., Bendiab A., Benabadji B., Fernandez X., Valette L. & Lizzani-Cuvelier L.** (2005). Composition and antibacterial activity of *Pseudocytisus integrifolius* (Salib.) essential oil from Algeria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 53, pp. 2947-2952.
- Berger M.M.**(2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances, *Nutrition clinique et métabolisme*, Vol.20, pp. 48–53.

- Bidie A.P., N'Guessan B. B., Yapo A. F., N'Guessan J. D. & Djaman A.J.** (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, Vol. 8 N°1, pp.1 - 11.
- Bohlmann F., Jakupovic J., Hashemi-Nejad M., Huneck S.**(1985). Clerodane diterpenoids from *Aster alpinus*. *Phytochemistry*, Vol. 24, N°3, pp. 608-610.
- Bonnier** (1934). *Flore complète de France, Suisse et Belgique. Édition 10*, pp. 118.
- Bouakaz, I.** (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.
- Boudiaf K.** (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.
- Bousseboua H.** (2001; 2006). Eléments de microbiologie générale. pp. 32, 160-167
- Bousselsela H., Benhouda A., Yahia M., Benbia S., Ghecham A., Zidani A.** (2012). *In vitro* evaluation of antioxidant and antibacterial activities of extracts of *Hertia cheirifolia*'s leaves. *Natural Science*, Vol.4, No.11, 825-831.
- Bruneton J.** (1993). Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales, Paris, France, Lavoisier. pp. 278-279.
- Bruneton J.** (2009). Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales, Paris, France, Lavoisier. pp.
- Burnie G., Forresster S., Greig D., Guest S., Harmony M., Hobley S., Jackson G., Lavarack P., Ledgett M., McDonald R., Macoboy S., Molyneux B., Moodie D., Moore J., Newman D., North T., Pienaar K., Purdy G, Ryan S., Schien G., Silk J.,** (2006). Botanica, Encyclopédie de botanique et d'horticulture. *Editions places des victoires, Paris*. PP.120, 626.
- Bylka W., Matlawska I., Pilewski n.A.** (2004). Natural flavonoids as antimicrobial agents, *JANA* .vol 7, N° 2, pp. 24-31.

## C

- Caillet S. & Lacroix M.** (2007). Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (*RESALA*). pp.1- 8.
- Carson C.F., Rilley T.V., Bosque F.** (2002) . Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. Vol 78, pp. 264-269.
- Cavin A.L.** (2007). Contribution à la connaissance taxonomique et chimique de fruits africains du genre *Detarium* (Fabaceae-Caesalpinioideae) : *D .microcarpum* Guill. Et Perr. Et

des formes comestibles et toxiques de *D. senegalense* J.F.Gmel. Thèse de doctorat. Genève, pp. 277.

**Cheng D.L., Cao X.P., Wei H.X., He L.**(1993). Kaurane diterpenoids from *Aster ageratoides*. *Phytochemistry*, Vol. 33, N° 5, pp. 1181-1183.

**Cheng D.& Shao Y.** (1994). Terpenoid glycosides from the roots of *Aster tataricus*. *Phytochemistry*, Vol. 35, N° 1, pp. 173-176.

**Cheng D.L., Shao Y., Hartmann R., Roeder E., Zhao K.** (1996). New pentapeptides from *Aster tataricus*. *Phytochemistry*, Vol. 41, N° 1, pp. 225 - 227.

**Chow J-M, Shen S-H, Huan SK, Hui-Yi Lin H-Y, Chen Y-C** (2005). Quercetin, but not rutin and quercitrin, prevention of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis via anti-oxidant activity and heme oxygenase 1 gene expression in macrophages. *Biochemical pharmacology*, pp.1839-1851.

**Chu S.S., Liu S. L., Liu Q.Z., Jiang G.H. & Liu Z.L.** (2012). Chemical composition and insecticidal activities of the essential oil of the flowering aerial parts of *Aster ageratoides*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, Vol. 77 N°0, pp.1–10.

**Corea G., Iorizzi M., Lanzotti V., Cammareri M., Conicella C., Laezzad C., Bifulco M.** (2004). Astersedifolioside A–C, three new olean-type saponins with antiproliferative activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. Vol. 12, pp. 4909–4915.

**Cox S.D., Gustafson J.F., Warmington J.R. &Wyllie S.G.**,(1991). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, Vol.88, pp.170-175.

**Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. &Wyllie S.G.** (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). *Journal of Applied Microbiology*. Vol.88, pp.170-175.

**Cowan M. M.** (1999). Plant products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol.12 N°4, pp. 564-582.

**Crete P.** (1965). Précis de botanique. *Masson*, Paris, édition 2, pp. 429.

**Cushnie T.P.T & Lamb A.J.** (2005). Antimicrobial activity of flavonoids , *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 26, pp. 343–356.

## D

**Dai J. & Mumper R.J.**(2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties, *Molecules*, Vol. 15, pp. 7313-7352.

**Davidson P.M.** (1997). Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*. Vol 43, pp.148-155.

**Defraigne J.O.& Pincemail .J** (2007). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue Médicale de Liege*. Vol. 62 pp.4.

**Delattre J, Thérond P, Bonnefont-Rousselot D.** (2005). Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Paris : Lavoisier, pp.281-309.

**Desmares C., Laurent A., Delerme C.** (2008). Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Edition afssaps*.

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

**Di Carlo.**(1999). Mini Review: Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, Vol. 65, N° 4, pp. 337-353.

**Dorman H. J. D. & Deans S. G.** (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. Vol.88, N°2, pp. 308-316.

## **E**

**EL Kalamouni C.** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées .Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse.

**El-Sayed N H., Lenherr A., Sundberg S., Mabry T.J.** (1987). Flavonoids of *Aster subulatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 15, N° 5, pp. 549-550.

**El-Sayed H.M. & Ross S.A.**(1987). *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 9, pp. 149-163.

## **F**

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly,C.** (2008) Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*Comptes Rendus Biologies*. Vol. 331, N°5, pp. 372-379.

**Ferrazzano G. F., Amato I. , Ingenito A. , Zarrelli A., Pinto G. & Pollio A.**(2011). Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties: A Review, *Molecules*, Vol.16, N°2, pp. 1486-1507.

## **J**

**Jaganath I.B. & Crozier A.**(2010). Chapitre 1 Dietary Flavonoids and Phenolic Compounds  
Copyright by John Wiley & Sons, Inc, Edited by Cesar G. Fraga.

**Jakupovic J., Bohlmann F., Grenz M.** (1989). Furoeremophilanes from *Hertia pallens*,  
*Phytochemistry*, Vol. 28, N°11, pp. 3231-3232.

**Jung C.M., Kwon H.C., Seo J.J. , Ohizumi Y., Matsunaga K., Saito S., Lee K.R.** (2001).  
Two new monoterpene peroxide glycosides from *Aster scaber*. *Chemical and Pharmaceutical  
Bulletin*, Vol. 49, N°7, pp. 912- 914.

## G

**Gao H., Jun N., Shizuka S. and Jun K.,** (2007). Inhibitory Effects of 5,6,7-  
Trihydroxyflavones on Tyrosinase. *Molecules*, Vol. 12, pp.86-97.

**Gaspari Dias J.F., Miguel O.G., Miguel M.D.** (2009). Composition of essential oil and  
allelopathic activity of aromatic water of *Aster lanceolatus* Willd. (Asteraceae). *Brazilian  
Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 45, N° 3, pp. 469-474.

**Gausсен H., and Leroy H. F.** (1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs, 2<sup>ème</sup> Edition.  
pp. 426.

**Ghedini P.C. & Almeida C.E.** (2007). Butanolic Extract of *Aster squamatus* Aerial parts is  
the active fraction responsible to the antiulcer and gastric acid antiseecretory effects. *Latin  
American Journal of Pharmacy*, Vol. 26, N°6, pp. 889-92.

**Ghedini P.C., Esteves Almeida C., Escobar Bürger M, Freitas Bauermann L., Valnes  
Magni D., Miollo Borgmann S.H.** (2002).Preliminary Studies of Anti-Ulcerogenic Effect of  
*Aster squamatus* Leaves Hydroalcoholic Extract on Various Ulcer Models in Rats. *Acta  
Farmaceutica Bonaerense*. Vol. 21, N°3, pp. 165-168.

**Ghedira K.** (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique  
et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. Vol.3, N°4, pp. 162-169.

**Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A.,  
Fernandez-Gutierrez A.** (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in  
products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 41,  
N°4, pp. 1220-1234.

**Goudable J.& Favier A.** (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition  
Clinique et Métabolisme*. Vol.11, N°2, pp.115-120.

**Gubb A. S.** (1913). La flore Algérienne naturelle et Acquise. *Imprimerie Adolphe Jourdan,  
place du gouvernement, Alger*.

**Guignard J.L.** (1998). Botanique. 11<sup>ème</sup> édition. *Edition Masson*. pp. 278.

**Guillaume**, (2000): Www. Second euro-bioweb.com/microbiologie/ microbiologie cours. Html.

**Guiraud J.P.** (1998). Microbiologie alimentaire. *Edition Dunod*. pp. 71-75.

## H

**Harborne.J.B, Swain.T.** (1969), Perspectives In Phytochemistry, *AcademicPress*, London, New York.

**Harkati B.** (2011). Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae: *Scorzonera undulata*. Thèse de Doctorat. Université de Constantine.

**Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobily D.J.**(2002). Flavonoid antioxydants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol.13, N°10, pp. 572-584.

**Hollman P.C.H. & Katan M.B.** (1998). Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. *Archives of Toxicology supplement*, Vol. 25, pp. 237-239.

**Horikawa.M., Nora.T., Kamei.Y.** (1999). In vitro antiméthycilline résistante *Staphylococcus aureus* activité trouvée dans l'extrait de algues marines indigènes à la côte du Japon. *Journal of Antibiotic*, Vol.52, pp. 186-89.

**Hudaib M., Speroni E., Di Pieta A.M., Cavrini V.** (2002). GC/MS évaluation de l'huile de thym (*Thymus vulgaris* L.) composition et variation pendant le cycle végétatif. *Journal of pharmaceutical Biomedical Analysis*, Vol. 29, pp. 691-700.

## K

**Kang D-G., Yun C-K., Lee H-S.** (2003).Screening and comparison of antioxydant activity of extracts of herbes médicinales utilisées en Corée. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 87, N° 2-3, pp.231-236.

**Karou D., Dicko M. H., Simporé J., Yameogo S., Sanon S. et Traoré A. S.** (2005). Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Maîtrise des procédés en vue d'améliorer la qualité des aliments, utilisation des OGM, analyse des risques en agroalimentaire. 8-11 novembre. Ouagadougou.

**Kelen M. &Tepe B.**(2008). Chemical composition, antioxydant and antimicrobial proprieties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, Vol. 99, pp. 4096-4104.

**Klervi L.L.** (2005). Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et etude des composes de défense de différents espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud). pp.210.

**Koppenol W.H.** (2001). The Haber-Weiss cycle, 70 years later. *Redox Report*, Vol.6, N°4, pp.229–234.

## L

**Lahlou M.**( 2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, Vol. 18, N°6, pp. 435-448.

**Lebham** (2005). Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).

**Lee S.O., Choi S.Z., Choi S.U, Lee K.C., Chin Y.W., Kim J., Kim Y.C., Lee K.R.** (2005). Labdane diterpenes from *Aster spathulifolius* and their cytotoxic effects on human cancer cell lines. *Journal of Natural Products*, Vol. 68, N°10, pp.1471-1474.

**Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. et Lee C. Y.** (2003) Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.51, pp.7292-7295.

**Lhuillier A.**(2007). Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (*Ericaceae*), *Tambourissa trichophylla* baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat, TOULOUSE.

**Li E.W., GAO K., Jia Z.J.** (2004). Two new diterpene acetylxylsides from *Aster veitchianus*. *Chinese Chemical Letters*, Vol. 15, N° 4, pp. 425-427.

**Li H., Wang X., Li P., Li Y., Wang H.**(2008). Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol.16, N°6, pp. 67-73.

**Lin C.F., Shen C.C., Chen C.C., Sheu S.J., Huang Y.L.** (2007). Phenolic derivatives from *Aster indicus*. *Phytochemistry*, Vol. 68, pp. 2450–2454.

**Lis-Balchin M.** (2002). Lavender: the genus *Lavandula*. *Taylor & Francis édition*, London. p: 37, 40,50, 155-200.

**Liu Z.L., Liu Y.Q., Zhao L., Xu J., Tian X.**(2010). The phenylpropanoids of *Aster flaccidus*. *Fitoterapia*, Vol. 81, pp.140–144.

**Lopes-Lutz, D., S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P.** (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils *Phytochemistry*. Vol. 69, pp. 1732-1738.

## M

**Maataoui B. S., Hmyene A., Hilali S.** (2006) Activites anti-radicalaires d’extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. Vol. 7, pp.3-8.

**Macheix J.J., Fleuriet A. , Machado P.S.**(2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Chapitre1 : composés phénoliques dans la plante- structure, Biosynthèse, répartition et rôle. *édition Lavoisier*.

**Maisuthisakul, P., Pasuk, S., Ritthiruangdej, P.** (2008) Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 21, N°3, pp. 229-240.

**Makkar H.P.S., Blümmel M., Borowy N.K. and Becker K.** (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science Food and Agriculture*, Vol. 61, N°2, pp. 161–165.

**Massiot G., Nuzillard J.M., Le Men-Olivier L., Aclinou P., Benkouider A., Khelifa A.**(1990). Eremophilenolides from *Hertia cheirifolia*. *Phytochemistry*, Vol.29, N° 7, pp. 2207-2210.

**Marfak A.** (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur réactivité avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges.

**Markham K. R.** (1982). Techniques of flavonoids identification. Edition Academic Press..

**Markowicz Bastos D. H., Saldanha L. A., Catharino R. R., Sawaya A.C.H. F., Cunha I. B.S., Carvalho P. O. Eberlin, M. N.** (2007) Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*. Vol. 12, pp. 423-432.

**Marinova D., Ribarova F., Atanassova M.** (2005). Total Phenolics And Total Flavonoids In Bulgarian Fruits And Vegetables, *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, Vol. 40, N°3, pp. 255-260.

**Martini N.D., Katerere D.R.P., Eloff J.N.** (2004). Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 93, pp. 207-212.

**Martin S., Andriantsitohaina R.** (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. Vol. 51, N°6, pp.304-315.

**Masuda T., Yonemori S., Oyama Y., Takeda Y., Tanaka T., Anddoh T.** (1999). Evaluation of the antioxydant activity of environmental plants: Activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agriculture and food Chemistry*, Vol. 47, pp. 1749-1754.

**Middleton E., JR., Kandaswami C., THEOHARIDES T.C.** (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease and Cancer. *Pharmacological Reviews*, Vol. 52, No. 4, pp. 673–751.

**Milane, H.** (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.

**Moreira M.R., Ponce A.G., Del Valle C.E., Roura S.I.** (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 38, N°5, pp. 565-570. Morel Y & Barouki R. (1998). Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *Medecine Science*, Vol. 14, pp. 713-721.

**Moreira-Muñoz A. & Muñoz-Schick M.** (2007). Classification, diversity, and distribution of Chilean Asteraceae: implications for biogeography and conservation. *Diversity and Distributions*, Vol. 13, pp.818–828.

**Morita H., Nagashima S., Takeya K., Itokawa H.** (1994). Conformational analysis of an antitumour cyclic pentapeptide, Astin B, from *Aster tataricus*. *Tetrahedron* Vol. 50, N°40, pp. 11614-11622.

**Muanda F.N.**(2010). Identification de polyphenols, evaluation de leur activite antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. Université Paul Verlaine-Metz.

## N

**Narayana K.R., Sripal R. M., Chaluvadi M.R., Krishna D.R.**(2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, Vol. 33, pp. 2-16.

**NCCLS** . (2003) .Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard. M7-A6, 6th ed., Wayne

**O**

**Oren-Shamir M., Shaked-Sachray L., Nissim-Levi A., Weiss D.** (2000). Effect of growth temperature on *Aster* flower development. *Hortscience*, Vol. 35, N°1, pp.28–29.

**Ouraini D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Alaoui M.A., Belabbas M.A.** (2007). Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques. *Phytothérapie*, Vol.1, pp. 6–14

**P**

**Parakash D., Upadhyay G., Brahma N., Singh H-B.** (2007). Singh antioxidant and free radicalscavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food Chemistry*, Vol.104, pp.783-790.

**Perry J., Staley J., Lory S et al.** (2002). Microbiologie. Cours et question de révision. *Dunod*, pp.159-160.

**Picman A. K., Schneder E. F., Picman J.** (1995). Effect of flavonoids on mycelial growth of *verticilium Albo Atrum*. *Biochemical Systematics and Ecology*.Vol. 23, pp. 683-693.

Pietta P. G.(2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, Vol. 63, N°7, pp.1035-1042

**Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O.** (2002). Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. Vol. 16, pp. 233-239.

**Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O.** (1999). Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention, *Cancérologie*, MS 95.

**Podsedek, A.** (2007) Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food and Science Technology*, Vol. 40, N°1, pp.1-11.

**Portet B.** (2007). Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise *Piper hostmannianum* var. *berbicense*. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier

**Prescott., Harley & Klein** (1995). *Microbiologie*. Bruxelles. *De Boeck Université*.

**Q**

**Quezel P. & Santa S.** (1963).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris*. Tome I, pp. 925, 956- 957.

**R**

**Ravipati A. S., Zhang L., Koyyalamudi S. R., Jeong S. C., Reddy N., Bartlett J., Smith P.T., Shanmugam K., Münch G., Wu M. J., Satyanarayanan M. & Vysett B.**(2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol.12, pp.173.

**Richard F.** (1992). Manuel des corps gras. *Edition Lavoisier*, Tec & Doc, Paris. pp. 1228-1242

**S**

**Saint-Cricq C. & Vivas N.N.**(1999). Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.47, pp. 425-431.

**Sakai K., Nagao T., Okabe H.**(1999). Triterpenoid saponins from the ground part of *Aster ageratoides* var. *ovatus*. *Phytochemistry*, Vol. 51, pp. 309-318.

**Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G.P., Rice-Evans C.A.**(1995). Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, pp. 339-346.

**Sanchez-Moreno C.** (2002).Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Foods Science and Technology*, Vol. 8, pp. 121-137.

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

**Shao Y., Zhou B.N., Gao J.H., Lin L.Z. & Cordell G.A.** (1995 a).Glycosides from *Aster yunnanensis*. *Phytochemistry*, Vol. 38, N° 3, PP. 675- 680.

**Shao Y., Zhou B.N., Lin L.Z. & Cordell G.A.** (1995 b).Triterpene saponins from *aster yunnanensis*. *Phytochemistry*, Vol. 38, N°6, pp.1487-1492.

**Shao Y., Zhou B.N., Lin L.Z. & Cordell G.A.** (1995 c). Triterpenoid saponins from *aster batangensis*. *Phytochemistry*. Vol. 38, N°4, pp. 927- 933.

**Shao Y., Zhou B.N., Ma K., Wu H., Lin L.Z. & Cordell G.A.** (1995 d). Medicagenic acid saponins from *Aster batangensis*. *Phytochemistry*, Vol. 39, N° 4, pp. 875-881.

**Shao Y., Ho C.T., Chin C.K., Rosen R.T., Hu B., Qin G.W.** (1997). Triterpenoid saponins from *Aster lingulatus*. *Phytochemistry*, Vol. 44, N° 2, pp. 337-340.

**Shao Y., Li Y.L. , Zhou B.N.**(1996). Phenolic and triterpenoid glycosides from *Aster batangensis*. *Phytochemistry*, Vol. 41, No. 6, pp. 1593-1598

**ShohaibT., Shafique M., Dhanya N., Divakar M.C.** (2011). Importance of flavonoides in therapeutics. *Hygeia Journal for Drugs and Medicines*. Vol.3, N°1, pp.1-18.

**Schopke T., Tawaha C.A., Wray V., Nimtze M., Meyer A., Hiller K.**(1995). Triterpenoid saponins from the aerial parts of *Aster bellidiastrum*. *Phytochemistry*, Vol. 40, N° 5, pp. 1489-1492.

**Sperotto J. S. , Bialeski N. , Savegnago L. , Heinzmann B.M., Karnikowski M.G.O., Baldisserotto B.** (2002). Effect on Gastrointestinal Propulsion and Preliminary Phytochemical Analysis of *Aster squamatus* (Asteraceae). *Acta Farmaceutica Bonaerense*, Vol. 21 N°4, pp. 279-282.

**Svoboda K.P. & Hampson J.B.** (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW

## T

**Tabart J., Kevers C., Pincemail J., Defraigne J., Dommes J.**(2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, Vol.113, pp. 1226-1233.

**Tapas A.R., DM Sakarkar D.M., Kakde R.B.** (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, Vol. 7, N°3, pp. 1089-1099.

**Tsankova E. & Bohlmann F.**(1983). A monoterpene from *Aster bakeranus*. *Phytochemistry*, Vol 22, N° 5, pp 1285-1286.

**Tsao R.** (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, Vol. 2, pp.1231-1246.

## U

**Utree A., Slump R.A, Steging G. & Smid E.J.** (2002). Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection*, Vol.63, pp. 620-624.

## V

**Valnet M.** (2005).Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth International. *Journal of Food Microbiology*, Vol.85, pp.73-81.

**Vekiari S.A., Protopapadakis E. F., Papadopoulou P., Papanicolaou D., Panou C. & Vamvakias M.** (2002). Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 5, N°1, pp.147-153.

**Vokou D., Kokkini S. & Bressiere J.M.**(1988). *Origanum onites*( Lamiaceae) in Greece Distribution , volatile oil yield, and composition . *Economy botany*. Vol. 42, N°3, pp. 407-412.

**Vuorela, S.** (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. *Helsinki*.

## X

**Xu H.M., Yi H., Zhou W.B., He W.J., Zeng G.Z., Xu W.Y., Tan N.H.** (2013).Tataricins A and B, two novel cyclotetrapeptides from *Aster tataricus*, and their absolute configuration assignment. *Tetrahedron Letters*, Vol. 54, pp. 1380–1383.

**Xu Y.C., Leung S.W.S., Yeung D.K.Y., Hu L.H., Chen G.H., Che C.M., Man R.Y.K.** (2007). Structure- activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytochemistry*, Vol. 68, pp. 1179-1188.

## W

**Walle T.** (2004). Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 36, N° 7, pp. 829-837.

**Wendakoon K.& Saguchi N.A.** (1995). Methods of asses quality and stability of oils and fatcontaining foods .*AOCS*. press, champaign.

**Wilzer K.A., Fronczek F.R., Urbatxh L.E., Fischer N.H.** (1989). Coumarins from *Aster praealtus*. *Phytochemistry*, Vol. 28, N° 6, pp 1729-1735.

**Woo J.H., Kitamura.E., Myouga.H., Kanei.Y.** (2002). An antifungal protein from the marine bacterium *Streptomyces* sp. Strain Ap77 is specific for *Pytium porphyrae*, a causative agent of red rad disease in porphyra SPP. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.68, N°6, pp. 2660–2665.

## Y

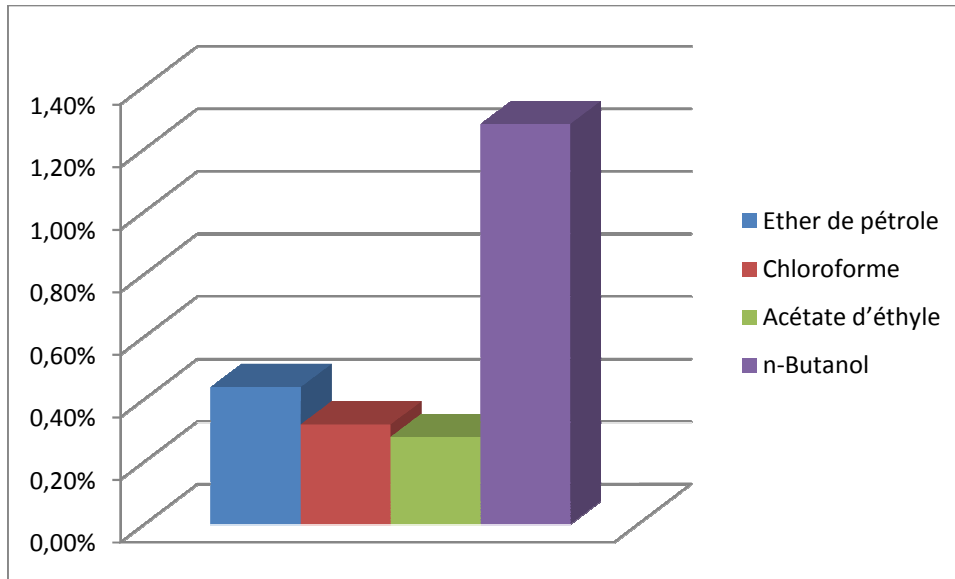
**Yi Z., Yan Y., Liang Y., Zeng B.** (2008). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of Pericarpium Citri Reticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid. *LWT-Food and Science Technology*, Vol.41, pp.597-603.

## Z

- Zellagui A., Gherraf N., Akkal S.** (2012a). Chemical composition, antimicrobial and antioxydant activities of the essential oils of *Aenante virgata Poiret* aerial parts, endemic in North Africa. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, Vol.2, N°2, pp. 235-239.
- Zellagui A., Said N. L., Gherraf N. and Rhouati S.** (2012 b). Phytochemical screening of five Algerian plants and the assessment of the antibacterial activity of two *Euphorbia guyoniana* extracts. *Der Pharmacia Lettre*, Vol.4, N° 5, pp.1438-1444.
- Zellagui A., Gherraf N. & Lahouel M.** (2012 c). Drimenin-rich essential oils from *Hertia cherifolia* growing in Algeria. *Journal of New Technology and Materials*, Vol. 02, N°01, pp. 38-40.
- ZENG W.C.& DEQUAN Y.** (1997). Diterpenoid, sesquiterpenoid and secoiridoid glucosides from *Aster auriculatus*. *Phytochemistry*, Vol. 45, N° 7, pp. 1483-1487.
- Zhou W.B., Tao J.Y., Xu H.M., Chen K.L., Zeng G.Z., Ji C.J., Zhang Y.M., Tan N.H.** (2010). Three new antiviral triterpenes from *Aster tataricus*. *Z. Naturforsch.*, 65b, pp. 1393 – 1396.

# **Annexe**

## Annexe



**Figure :** Histogramme comparative du rendement de divers extraits des feuilles d'*A.squamatus* (Spreng.) Hieron.

**Tableau:** Rendement d'extraction des H.Es d'*Hertia cheirifolia* (L.)O.K. à différentes périodes de récoltes

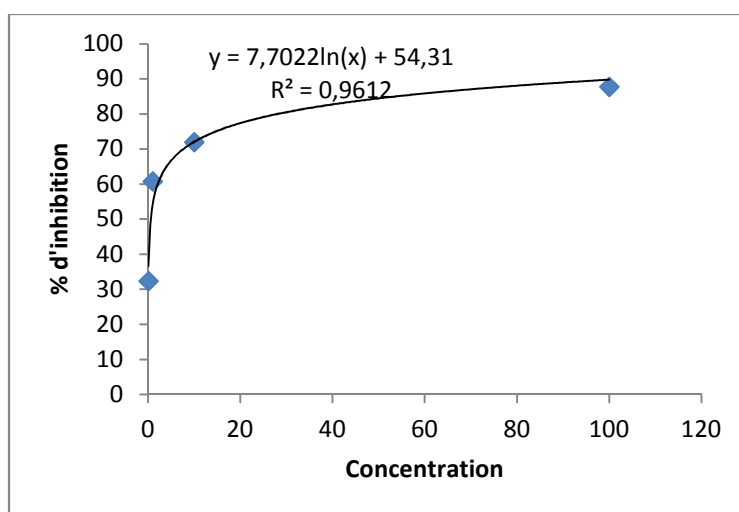
Période de récolte	Rendement (%)
Stade végétatif	0,24
Floraison	0,34
Fructification	0,86

**Tableau:** Rendement d'extraction des H.Es de différents organes d'*Aster squamatus* (Spreng.) Hieron.

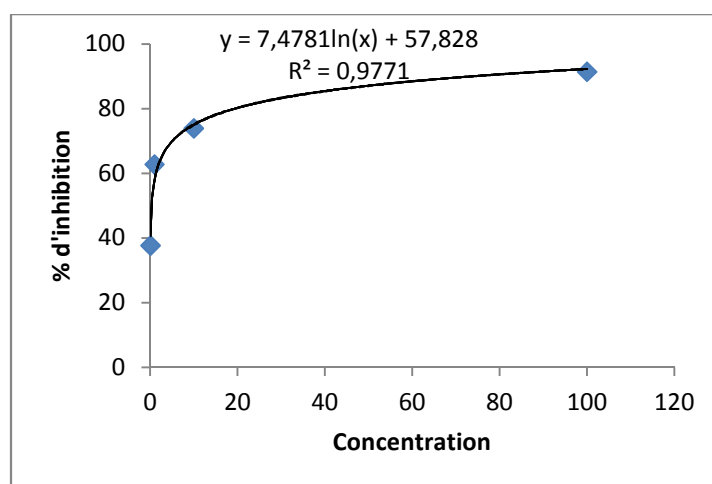
Organe	Rendement (%)
Fleurs	0,37
Grains (fruits)	0,24

**Tableau:** pourcentage des différences fraction d'huile essentielle des feuilles de la plante *Hertia cheirifolia* (L.)O.K.

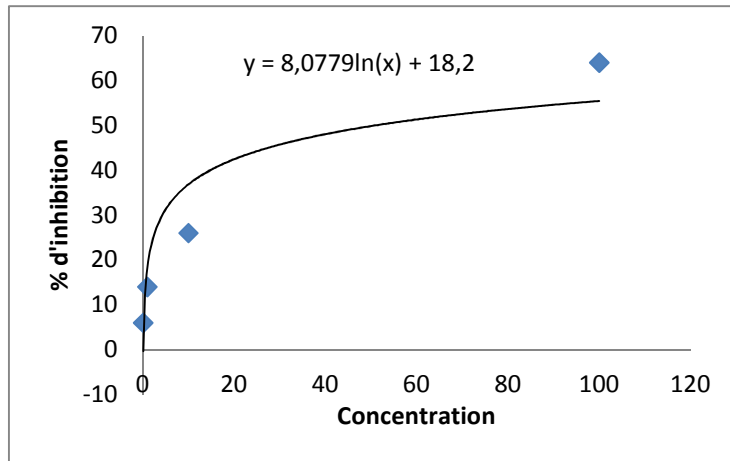
<b>Monoterpènes</b>	Monoterpènes hydrocarbonés (%)	53,6 %	<b>55,1%</b>
	Monoterpènes oxygénés (%)	1,5 %	
<b>Sesquiterpènes</b>	Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)	7,4 %	<b>11,71</b>
	Sesquiterpènes oxygénés (%)	4,31 %	
<b>Autres</b>		28,4%	<b>28,4%</b>
<b>Totale (%)</b>			<b>95,21%</b>



**Figure :** courbe logarithmique de l'extract AcOEt



**Figure :** courbe logarithmique de l'extract *n*-BuOH



**Figure :** courbe logarithmique de la vitamine C

## Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Dans ce contexte, nous avons tenté d'évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante de différents extraits flavonoidiques et huiles essentielles obtenus à partir de deux plantes de la famille Asteraceae : *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. et *Hertia cheirifolia* (L.) O.K. L'analyse qualitative par GC /MS de l'huile essentielle des feuilles d' *H. cheirifolia* (L.) O.K. a permis l'identification de 47 composés. L' $\alpha$ -pinène (49.9) et 2-(1-Cyclopent-1-enyl-1-methylethyl)cyclopentanone (24.6%) sont les principales constituants. L'analyse quantitative des extraits des feuilles d' *A. squamatus*, (Spreng.) Hieron., basée sur le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes a révélé que l'extrait le plus polaire est l'extrait le plus riche en ces molécules, où la teneur en composés phénoliques est ( $19,82 \pm 1,61 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait) pour l'extrait butanolique, et ( $8,86 \pm 1,31 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait) pour l'extrait acétate d'éthyle. L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits a révélé une puissante activité d'extrait butanolique sur les bactéries testées à l'exception de *Bacillus cereus*. *In vitro*, les extraits flavonoidiques ont présenté de fortes propriétés de piéger les molécules du radical libre DPPH dont l'extrait butanolique était le plus puissant. Nous avons conclu aussi dans cette étude que les huiles essentielles possèdent la capacité antioxydante mais faible en comparaison avec les extraits flavonoidiques.

**Mots clés :** *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron., *Hertia cheirifolia* (L.) O.K, activité antibactérienne, activité antioxydante, huile essentielle, flavonoïdes.

## المخلص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيا . في هذا السياق حاولنا تقييم النشاط المضاد للبكتيريا و المضادة للأكسدة للمستخلصات الفلافونويدية و الزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها من نباتين من العائلة المركبة : *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. و *Hertia cheirifolia* (L.) O.K. كشف التحليل النوعي للزيوت الأساسية لأوراق *Hertia cheirifolia* بواسطة كروماتوغرافيا الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة على وجود 47 مركب تربيني  $\alpha$ -pinène (49.9%) و 2-(1-Cyclopent-1-enyl-1-methylethyl)cyclopentanone (24.6%) هي المكونات الاعظمية . أظهر التحليل الكمي لمستخلصات من أوراق *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. ، المعتمد أساسا على حساب تركيز المركبات الفينولية و الفلافونويدات أن المستخلص الأكثر قطبية هو الأغنى بهذه المركبات، حيث محتوى المركبات الفينولية في المستخلص البيتانولي هي ( $1.61 \pm 19.82$  ميكروغرام مكافئ الغاليك / ملغ من المستخلص ) ، و ( $1.31 \pm 8.86$  ميكروغرام مكافئ الغاليك / ملغ من المستخلص) في خلاص الإيثيل . وأظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من لمختلف المستخلصات أن المستخلص البيتانولي ذو نشاط فعال على البكتيريا المختبرة، ماعدا العسوية الشمعية . كما أظهرت المستخلصات الفلافونويدية خصائص قوية في ارجاع جزيئات الجذور الحرة DPPH حيث أن المستخلص البيتانولي أقوى . استنتجنا أيضا في هذه الدراسة أن الزيوت الأساسية ذات قدرة مضادة للأكسدة ولكنها منخفضة بالمقارنة مع المستخلصات الفلافونويدية.

**الكلمات المفتاحية:** *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron., *Hertia cheirifolia* (L.) O.K, النشاط المضاد للبكتيريا, النشاط المضاد للأكسدة, الزيوت الأساسية, الفلافونويدات

## Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Dans ce contexte, nous avons tenté d'évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante de différents extraits flavonoïdiques et huiles essentielles obtenus à partir de deux plantes de la famille Asteraceae : *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. et *Hertia cheirifolia* (L.) O.K. L'analyse qualitative par GC /MS de l'huile essentielle des feuilles d' *H. cheirifolia* (L.) O.K. a permis l'identification de 47 composés. L' $\alpha$ -pinène (49.9) et 2-(1-Cyclopent-1-enyl-1-méthylethyl)cyclopentanone (24.6%) sont les principales constituants. L'analyse quantitative des extraits des feuilles d' *A. squamatus*, (Spreng.) Hieron., basée sur le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes a révélé que l'extrait le plus polaire est l'extrait le plus riche en ces molécules, où la teneur en composés phénoliques est  $(19,82 \pm 1,61 \mu\text{g EAG/mg d'extrait})$  pour l'extrait butanolique, et  $(8,86 \pm 1,31 \mu\text{g EAG/mg d'extrait})$  pour l'extrait acétate d'éthyle. L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits a révélé une puissante activité d'extrait butanolique sur les bactéries testées à l'exception de *Bacillus cereus*. *In vitro*, les extraits flavonoïdiques ont présenté de fortes propriétés de piéger les molécules du radical libre DPPH dont l'extrait butanolique était le plus puissant. Nous avons conclu aussi dans cette étude que les huiles essentielles possèdent la capacité antioxydante mais faible en comparaison avec les extraits flavonoïdiques.

**Mots clés :** *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron., *Hertia cheirifolia* (L.) O.K, activité antibactérienne, activité antioxydante, huile essentielle, flavonoïdes.

## الملخص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيا. في هذا السياق حاولنا تقييم النشاط المضاد للبكتيريا و المضادة للأكسدة للمستخلصات الفلافونويدية و الزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها من نباتين من العائلة المركبة: *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. و *Hertia cheirifolia* (L.) O.K. كشف التحليل النوعي للزيوت الأساسية لأوراق *Hertia cheirifolia* (L.) O.K بواسطة كروماتوغرافيا الغاز بمطيافية الكتلة على وجود 47 مركب ترييني.  $\alpha$  - بينين (49.9%) و 2 - (1 - méthylethyl - 1 - enyl - 1 - cyclopent) (24.6%) هي المكونات الأكثر نسبة. أظهر التحليل الكمي لمستخلصات من أوراق *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. المعتمد أساسا على حساب تركيز المركبات الفينولية و الفلافونويدات أن المستخلص الأكثر قطبية هو الأغنى بهذه المركبات، حيث محتوى المركبات الفينولية في المستخلص البيتانولي هي  $(1.61 \pm 19.82)$  ميكروغرام مكافئ الغاليك / ملغ من المستخلص، و  $(1.31 \pm 8.86)$  ميكروغرام مكافئ الغاليك / ملغ من المستخلص في خلاص الإيثيل. وأظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من لمختلف المستخلصات أن المستخلص البيتانولي ذو نشاط فعال على البكتيريا المختبرة، ماعدا العسوية الشمعية. كما أظهرت المستخلصات الفلافونويدية خصائص قوية في ارجاع جزيئات الجذور الحرة DPPH حيث أن المستخلص البيتانولي أقوى. استنتجنا أيضا في هذه الدراسة أن الزيوت الأساسية ذات قدرة مضادة للأكسدة ولكنها منخفضة بالمقارنة مع المستخلصات الفلافونويدية.

**الكلمات المفتاحية:** *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron., *Hertia cheirifolia* (L.) O.K, النشاط المضاد للبكتيريا, النشاط المضاد للأكسدة, الزيوت الأساسية, الفلافونويدات