



**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministre de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Larbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi**

**Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

*N° d'ordre :.....*

*N° de série :.....*

**Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de**

**Doctorat en Sciences**

**Filière : Sciences biologiques**

**Option: Biochimie des produits naturels**

**Thème :**

**Evaluation des activités biologiques d'huiles essentielles  
et d'extraits végétaux de plantes médicinales et  
fourragères**

**Présentée par : Nadia DJERMANE**

**Devant les membres du jury :**

**Président : Pr. Mohamed Mourad SENOUSI**

**Université Larbi Ben M'Hidi-OEB**

**Directeur de thèse : Pr. Rabah ARHAB**

**Université Larbi Ben M'Hidi-OEB**

**Co-Directeur de thèse : Pr. Nouredine GHERRAF**

**Université Larbi Ben M'Hidi-OEB**

**Examineur : Pr. Khellaf REBBAS**

**Université M<sup>ed</sup> Boudiaf-M'sila**

**Examinatrice : Dr. Moufida AGGOUN**

**Université Frères Mentouri-Constantine1**

**Examinatrice : Dr. Assia ZEGHIB**

**Université Larbi Tebessi-Tebessa**

**Année universitaire 2020-2021**



## REMERCIEMENT

'abord, je remercie, du plus profond de mon cœur, **DIEU** tout puissant de m'avoir donné la force et la volonté pour réaliser ce travail.

Je remercie très chaleureusement mon directeur de thèse **Mr.Arhab Rabeh** (Professeur à l'Université Larbi Ben M'hidi, OEB) de m'avoir donné sa confiance en acceptant la direction de ce travail, pour sa patience, son dynamisme, sa rigueur, sa compréhension, ses conseils précieux et sa disponibilité dans tous les instants.

Je tiens à exprimer ma respectueuse gratitude et mes remerciements à mon co-directeur de thèse **Mr.Gherraf Noureddine** (Professeur à l'Université Larbi Ben M'hidi, OEB) pour sa finesse d'esprit et son humour. Je le remercie de m'avoir orienté, aidé et conseillé.

Je tiens à adresser mes remerciements également aux membres de jury, **Mr.Snoussi M<sup>ed</sup>Mourad** (Professeur à l'université Larbi Ben M'hidi, OEB) qui m'a fait l'honneur de présider ce jury, **Mr.Rebbas Khellaf** (Professeur à l'université Mohamed Boudiaf, M'sila), **M<sup>me</sup>.AgounMofida** (Maître de Conférences « A » à l'université Mentouri, Constantine1), **M<sup>me</sup>.ZeghibAssia** (Maître de Conférences « A » à l'université Larbi Tebessi, Tébessa) qui m'ont fait l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce travail malgré leurs nombreuses occupations.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à **Dr.Gali Linda**, chercheur dans laboratoire de biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBt) pour leur aide, leur soutien inestimable et pour avoir eu la patience de répondre à mes innombrables questions. De même, J'adresse mes remerciements à tous les chercheurs et techniciens des laboratoires du centre pour leur aide et en particulier **Mr.Abdessamed Alaa**, **Mr.Debbi Ali** et **M<sup>me</sup>.Hanachi Hiba**.

Je remercie mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi. Je remercie mes sœurs **Sara**, **Nawel** et **Soumia**, et mes frères **Samir**, **Wahib** et **Walid**, pour leurs encouragements.

Enfin, je remercie mon amie **Amina** qui m'a apporté son soutien moral et son encouragement tout au long de la réalisation de cette thèse de Doctorat.

Merci à tous



# SOMMAIRE

Remerciements

Sommaire

Production scientifique

Liste des abréviations, symboles et conventions

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....1

## PREMIÈRE PARTIE

### SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE 1 : Monographie de plantes étudiées

<b>1-La famille des <i>Asteraceae</i>.....</b>	<b>3</b>
1-1-Description, distribution et classification systématique.....	3
1-2- Utilisation et intérêts économiques.....	4
1-3-La plante <i>Pulicaria arabica</i> (L).Cass.....	5
1-3-1-Description botanique.....	5
1-3-2-Classification classique.....	6
1-3-3-Habitat et répartition géographique.....	6
1-3-4-Propriétés et utilisations.....	6
1-3-5-Composition chimique.....	6
<b>2-La famille des <i>Brassicaceae</i>.....</b>	<b>8</b>
2-1-Description, distribution et classification systématique.....	8
2-2-Utilisation et intérêts économiques.....	9
2-3-La plante <i>Erucaria uncata</i> (Boiss.) Asch. &Schweinf.....	10
2-3-1-Description botanique.....	10
2-3-2-Classification classique.....	10
2-3-3-Habitat et répartition géographique.....	10
2-3-4-Propriétés et utilisations.....	10
2-3-5-Composition chimique.....	11
<b>3-La famille des <i>Thymelaeaceae</i>.....</b>	<b>14</b>
3-1-Description, distribution et classification systématique.....	14
3-2-Utilisation et intérêts économiques.....	15
3-3-La plante <i>Thymelaea hirsuta</i> Endl.....	15

3-3-1-Description botanique.....	15
3-3-2-Classification classique.....	16
3-3-3-Habitat et répartition géographique.....	16
3-3-4-Propriétés et utilisations.....	16
3-3-5-Composition chimique.....	17

## CHAPITRE 2: Activités biologiques et substances bioactives

<b>1-Activité antioxydante.....</b>	<b>19</b>
1-1-Les radicaux libres.....	19
1-2-Le stress oxydatif.....	20
1-3-Système de défense antioxydant.....	20
1-4-Principaux systèmes antioxydants.....	20
1-4-1-Systèmes antioxydants enzymatiques (les endogènes).....	20
a-Superoxyde dismutase (SOD).....	20
b-Catalase (CAT).....	21
c-Glutathion peroxydase (GPx).....	21
1-4-2-Systèmes antioxydants non enzymatiques (Les exogènes).....	21
a- Les vitamines.....	21
b- Les caroténoïdes.....	22
c- Les oligoéléments.....	22
d- Les poly phénols.....	22
<b>2-Activité antimicrobienne.....</b>	<b>26</b>
2-1-Les micro-organismes étudiés.....	26
2-1-1-Bactéries.....	26
a- <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	26
b- <i>Bacillus cereus</i> (AT CC 10876).....	27
c- <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922).....	27
d- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853).....	27
2-1-2-Champignons.....	28
a- <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).....	28
b- <i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>splycopersici</i> .....	28
2-2-Les antimicrobiens.....	28
2-2-1-Les antibiotiques.....	29
2-2-2-Phytothérapie antimicrobienne.....	29

<b>3-Activité anti-Alzheimer.....</b>	<b>33</b>
3-1-La maladie d'Alzheimer.....	33
3-2-Diagnostic.....	33
3-2-1-Diagnostic clinique.....	33
3-2-2-Examens para cliniques.....	33
3-3-Traitement médicamenteux de la maladie d'Alzheimer.....	34
3-3-1-Traitements actuels.....	34
a-Les anticholinestérasiques.....	34
b-Les antiglutamates.....	35
3-3-2-Phytomolécules.....	35
a-Les alcaloïdes.....	35
b-Les poly phénols.....	36
<b>4-Activité anti diabète .....</b>	<b>37</b>
4-1-Le diabète sucré.....	37
4-1-1-Diabète de type 1.....	37
4-1-2-Diabète de type 2.....	37
4-2-Diagnostic du diabète sucré.....	38
4-3- Traitements du diabète sucré.....	38
4-3-1-Traitements médicamenteux .....	38
a-L'insulinothérapie.....	38
b-Les antidiabétiques oraux.....	39
4-3-2-Phytothérapie antidiabétique.....	39

## **DEUXIÈME PARTIE**

### **PARTIE EXPERIMENTALE**

#### **CHAPITRE 1 : Matériel et Méthodes**

<b>1-Rappel des objectifs</b>	
<b>2-Matériel.....</b>	<b>45</b>
2-1-Matériel végétal .....	45
2-2-Appareillage et produits chimiques.....	45
2-3-Les souches testées.....	46
2-4-Les milieux de cultures utilisés.....	46
<b>3-Méthodes.....</b>	<b>46</b>
3-1-Préparation des extraits bruts et des huiles essentielles.....	46

3-1-1-Préparation des extraits bruts.....	46
3-1-2-Extraction des huiles essentielles.....	47
3-2-Préparation des concentrations des extraits.....	48
3-3-Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.....	48
3-3-1-Dosage des polyphénols totaux.....	48
3-3-2-Dosage des flavonoïdes totaux.....	49
3-4-Analyse des huiles essentielles par GC/MS.....	49
3-5-Evaluation de l'activité antioxydante.....	50
3-5-1-Méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	51
3-5-2-Méthode de réduction des radicaux-Cation ABTS.....	52
3-5-3-Méthode de réduction de l'ion ferrique.....	53
3-5-4-Méthode de blanchissement du beta-carotène/acide linoléique.....	55
3-5-5-Méthode de réduction du cuivre CUPRAC.....	56
3-5-6-Méthode de chélation du fer.....	57
3-5-7-Méthode de réduction du ligand phénanthroline.....	58
<b>3-6-Evaluation de l'activité antimicrobienne.....</b>	<b>58</b>
3-6-1-Méthode de diffusion en milieu gélosé.....	58
3-6-2-Méthode des puits.....	59
3-6-3-Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	60
3-6-4-Détermination de la concentration minimale Bactéricide (CMB).....	60
3-6-5-Méthode de contact direct.....	60
<b>3-7-Evaluation de l'activité enzymatique.....</b>	<b>61</b>
3-7-1-Activité anti-Alzheimer.....	61
3-7-2-Activité antidiabétique.....	62
<b>3-8-Analyse statistique.....</b>	<b>63</b>

## **CHAPITRE 2 : Résultats et discussions**

<b>1-Etude chimique des huiles essentielles.....</b>	<b>64</b>
1-1-Rendement d'extraction.....	65
1-2-Composition chimique des huiles essentielles.....	65
1-2-1-Huile essentielle de <i>Pulicaria arabica</i> .....	65
1-2-2-Huile essentielle d' <i>Erucaria uncata</i> .....	67
1-2-3-Huile essentielle de <i>Thymelaea hirsuta</i> .....	69
<b>2-Rendement d'extraits bruts et teneurs en PT et FT.....</b>	<b>71</b>

<b>3-Activités biologiques.....</b>	<b>75</b>
<b>3-1-Activité antioxydante.....</b>	<b>75</b>
3-1-1-La plante <i>Pulicaria arabica</i> .....	76
3-1-2-La plante <i>Erucaria uncata</i> .....	77
3-1-3-La plante <i>Thymelaea hirsuta</i> .....	77
<b>3-2-Activité antimicrobienne.....</b>	<b>78</b>
3-2-1-La plante <i>Pulicaria arabica</i> .....	79
3-2-2-La plante <i>Erucaria uncata</i> .....	83
3-2-3-La plante <i>Thymelaea hirsuta</i> .....	87
<b>3-3-Activité enzymatique.....</b>	<b>91</b>
3-3-1-La plante <i>Pulicaria arabica</i> .....	91
3-3-2-La plante <i>Erucaria uncata</i> .....	92
3-3-3-La plante <i>Thymelaea hirsuta</i> .....	93
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>94</b>
<b>Références .....</b>	<b>96</b>

**Résumé**

**Abstract**

**الملخص**

**Annexes**

## Production scientifique

Cette thèse a fait l'objet d'un article scientifique publié dans un journal international, et deux communications dans des séminaires nationaux.

### ❖ Article scientifique

- ❖ **Nadia Djermane, Lynda Gali, Rabah Arhab, Nouredine Gherraf, Chawki Bensouici, Ramazan Erenler, Mesut Gok, Amina Abdessamed** « Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibitory activities of *Erucaria uncata* and *Thymelaea hirsuta*. » *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 29 (2020) 101834.

### ❖ Communications

- ❖ **Nadia Djermane, Rabah Arhab, Nouredine Gherraf, Linda Gali , Ramazan Erenler, Ilyas Yildis, Tunay Karan.** «Caractérisation de la composition en huiles essentielles de *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. et évaluation in vitro de leurs activités biologiques : antimicrobienne, antidiabétique et antialzheimer » 1<sup>er</sup> Séminaire National des molécules bioactives. Valorisation des plantes médicinales pour lutter contre les dommages cellulaires, Oum El Bouaghi, 18-19 Novembre 2019.
- ❖ **N.Djermane, R. Arhab, N. Gherraf , L. Gali, C. Bensouici, A.Abdessamed.** «Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits bruts d'une plante endémique algérienne: *Pulicaria arabica* (L.) Cass ». Le Séminaire National: Biodiversité, Santé et Ecotoxicologie, Environnementale, Skikda, 30 -31 octobre 2019.

## Liste des abréviations, symboles et conventions

<b>ABTS</b>	Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>ACNH<sub>4</sub></b>	Acétate d'ammonium
<b>AChE</b>	Acétylcholinestérase
<b>ACI</b>	Acétylthiocholineiodide
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>(Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 9H<sub>2</sub>O)</b>	Nitrate d'aluminium
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>BChE</b>	Butyrylcholinestérase
<b>BHA</b>	Butylhydroxyanisole
<b>BHT</b>	Butylhydroxytoluène
<b>BuCI</b>	S-Butyrylthiocholineiodide
<b>CG/SM</b>	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
<b>(CH<sub>3</sub>COOK)</b>	Potassium acétate
<b>(Cu Cl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O)</b>	Copper(II) chloride dihydrate
<b>DCM</b>	Dichlorométhane
<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>CMB</b>	Concentration Minimale Bactéricide
<b>CUPARC</b>	Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity
<b>CI<sub>50</sub></b>	Concentration Inhibitrice à 50%
<b>DPPH</b>	α-Diphényl-β-picrylhydrazyl
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>DTNB</b>	5,5'-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid
<b>DT1</b>	Diabète type 1
<b>DT2</b>	Diabète type 2
<b>EDTA</b>	Éthylènediaminetétraacétique
<b>FCR</b>	Folin-Ciocalteu réactif
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure ferrique
<b>GN</b>	Gélose nutritive
<b>HEs</b>	Huiles essentielles
<b>K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub></b>	Potassium ferricyanide
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b>	Persulfate de potassium

<b>MA</b>	Maladie d'Alzheimer
<b>MH</b>	Mueller Hinton
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>NaOH</b>	Hydroxyde de sodium
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	Bicarbonate de soude
<b>(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,2H<sub>2</sub>O)</b>	Sodium phosphate dibasic dihydrate,
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Carbonate de sodium
<b>NCCLS</b>	National Committee for Clinical Laboratory Standard
<b>NIST</b>	National Institute of Standard and Technology
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de santé
<b>TCA</b>	Acide tri-chloroacétique
<b>UFC /ML</b>	Unités Formant Colonie par Millilitre

## Liste des figures

Figure	page
<b>Fig1</b> . Distribution des plantes de la famille des <i>Astéraceae</i> dans le monde	<b>03</b>
<b>Fig2</b> . Photo de la plante <i>Pulicaria arabica</i>	<b>06</b>
<b>Fig3</b> . Structure des terpènes extraits de <i>Pulicaria arabica</i>	<b>07</b>
<b>Fig4</b> . Structure des composés majoritaires des huiles essentielles de <i>Pulicaria arabica</i>	<b>07</b>
<b>Fig5</b> . Distribution des plantes de la famille des <i>Brassicaceae</i> dans le monde	<b>08</b>
<b>Fig6</b> . Photo de la plante <i>Erucaria uncata</i>	<b>10</b>
<b>Fig7</b> . Structure des flavonoïdes extraits de l'espèce <i>Erucaria hispanica</i>	<b>11</b>
<b>Fig8</b> . Structure des composés majoritaires des huiles essentielles de l'espèce <i>Erucaria microcarpa</i>	<b>12</b>
<b>Fig9</b> . Structure des métabolites secondaires extraits de l'espèce <i>Erucaria microcarpa</i>	<b>13</b>
<b>Fig10</b> . Distribution des plantes de la famille des <i>Thymelaeaceae</i> dans le monde	<b>14</b>
<b>Fig11</b> . Photo de la plante <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>16</b>
<b>Fig12</b> . Structure de quelques coumarines extraites de <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>17</b>
<b>Fig13</b> . Structure de flavonoïdes extraits de <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>18</b>
<b>Fig14</b> . Structure de terpénoïdes extraits de <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>18</b>
<b>Fig15</b> . Structure de base des flavonoïdes	<b>23</b>
<b>Fig16</b> . Structures de base des principaux flavonoïdes	<b>24</b>
<b>Fig17</b> . Structure de base de stilbene	<b>25</b>
<b>Fig18</b> . Exemples des alcaloïdes à activité antidiabétique	<b>43</b>
<b>Fig19</b> . Exemples des phénols à activité antidiabétique	<b>43</b>
<b>Fig20</b> . Exemples des flavonoïdes à activité antidiabétique	<b>44</b>
<b>Fig21</b> . Photo de rota vapeur utilisé pour concentrer sous vide les différents extraits des plantes	<b>47</b>
<b>Fig22</b> . Photo de lyophilisateur utilisé pour sécher les différents extraits aqueux des plantes	<b>47</b>
<b>Fig23</b> . Les différents extraits des plantes obtenus.	
<b>Fig24</b> . Appareil de Clevenger	<b>48</b>
<b>Fig25</b> . Préparation des dilutions des extraits	<b>48</b>
<b>Fig26</b> . Lecteur de microplaque (Perkin Elmer, Enspire)	<b>39</b>
<b>Fig27</b> . Appareil de GC/MS (Agilent 7890A GC/5975C MSD)	<b>50</b>
<b>Fig28</b> . Réaction du DPPH• avec un antioxydant	<b>51</b>
<b>Fig29</b> . Résultat du test DPPH sur microplaque	<b>52</b>

<b>Fig30</b> . Réduction du radical ABTS avec un antioxydant donneur de H <sup>•</sup>	<b>52</b>
<b>Fig31</b> . Résultat du test ABTS sur microplaque	<b>53</b>
<b>Fig32</b> . Réduction de l'ion ferrique par un antioxydant	<b>54</b>
<b>Fig33</b> . Résultat du test du pouvoir réducteur sur microplaque	<b>54</b>
<b>Fig34</b> . Résultat du test du beta-carotène sur microplaque	<b>56</b>
<b>Fig35</b> . Réduction de l'ion cuivrique (Cu <sup>+2</sup> ) par un antioxydant	<b>56</b>
<b>Fig36</b> . Résultat du test du CUPRAC sur microplaque	<b>57</b>
<b>Fig37</b> . Résultat du test de chélation du ferre sur microplaque	<b>58</b>
<b>Fig38</b> . Résultat du test phénanthroline sur microplaque	<b>58</b>
<b>Fig39</b> . Résultat de l'effet inhibiteur de l'AChE ou BChE sur microplaque	<b>62</b>
<b>Fig40</b> . Résultat de l'effet inhibiteur de l'alpha glucosidase sur microplaque	<b>62</b>
<b>Fig41</b> . Rendement en huile essentielle de plantes	<b>64</b>
<b>Fig42</b> . Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Pulicaria arabica</i> .	<b>65</b>
<b>Fig43</b> . Les composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Pulicaria arabica</i>	<b>66</b>
<b>Fig44</b> . Chromatogramme de l'huile essentielle d' <i>Erucaria uncata</i>	<b>67</b>
<b>Fig45</b> . Les composés majoritaires de l'huile essentielle d' <i>Erucaria uncata</i>	<b>68</b>
<b>Fig46</b> . Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>69</b>
<b>Fig47</b> . Les composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>70</b>
<b>Fig48</b> . La courbe d'étalonnage de la quercetine	<b>72</b>
<b>Fig49</b> . La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	<b>72</b>
<b>Fig50</b> . Effet de différents extraits de <i>Pulicaria arabica</i> sur les souches microbiennes testées	<b>80</b>
<b>Fig51</b> . Effet de différents extraits de <i>Pulicaria arabica</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i>	<b>82</b>
<b>Fig52</b> . Effet de différents extraits d' <i>Erucaria uncata</i> sur les souches microbiennes testées	<b>84</b>
<b>Fig53</b> . Effet de différents extraits de d' <i>Erucaria uncata</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i>	<b>86</b>
<b>Fig54</b> . Effet de différents extraits de <i>Thymelaea hirsuta</i> sur les souches microbiennes testées	<b>88</b>
<b>Fig55</b> . Effet de différents extraits de <i>Thymelaea hirsuta</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i>	<b>90</b>

## Liste des tableaux

Tableau	page
<b>Tab1</b> . Classification systématique de la famille des <i>Astéraceae</i>	<b>04</b>
<b>Tab2</b> . Usages de certaines espèces de la famille des <i>Astéraceae</i>	<b>04</b>
<b>Tab3</b> . Classification systématique de l'espèce <i>Pulicaria arabica</i>	<b>06</b>
<b>Tab4</b> . Structure des Flavonoïdes extraits de <i>Pulicaria arabica</i>	<b>07</b>
<b>Tab5</b> . Classification systématique de la famille des <i>Brassicaceae</i>	<b>09</b>
<b>Tab6</b> . Usages de certaines espèces de la famille des <i>Brassicaceae</i>	<b>09</b>
<b>Tab7</b> . Classification systématique de l'espèce <i>Erucaria uncata</i>	<b>10</b>
<b>Tab8</b> . Le contenu en flavonoïde (mg/100gm) isolé de l'extrait Méthanol 70% d' <i>Erucaria pinnata</i>	<b>13</b>
<b>Tab9</b> . Classification systématique de la famille des <i>Thymelaeaceae</i>	<b>15</b>
<b>Tab10</b> . Usages de certaines espèces de la famille des <i>Thymelaeaceae</i> .	<b>15</b>
<b>Tab11</b> . Classification systématique de l'espèce <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>16</b>
<b>Tab12</b> . Les principales types d'espèces réactives	<b>19</b>
<b>Tab13</b> . Exemples des composés phénoliques à activité antioxydante	<b>26</b>
<b>Tab14</b> . Les principales familles d'antibiotiques	<b>29</b>
<b>Tab15</b> . Exemples des composés phénoliques et alcaloïdes à activité antimicrobienne	<b>30</b>
<b>Tab16</b> . Exemple des terpènes à activité antimicrobienne	<b>32</b>
<b>Tab17</b> . Anticholinérasiques utilisés dans la maladie d'Alzheimer	<b>35</b>
<b>Tab18</b> . Antagoniste utilisée dans la maladie d'Alzheimer	<b>36</b>
<b>Tab19</b> . Exemples des poly phénols à activité anti-Alzheimer	<b>38</b>
<b>Tab20</b> . Quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète	<b>42</b>
<b>Tab21</b> . Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce <i>Pulicaria arabica</i> (L.)Cass	<b>65</b>
<b>Tab 22</b> . Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce <i>Erucaria uncata</i> .	<b>67</b>
<b>Tab23</b> . Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>69</b>
<b>Tab24</b> . Rendement d'extraction, teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits de <i>Pulicaria arabica</i> , <i>Erucaria uncata</i> et <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>72</b>
<b>Tab25</b> . Activité antioxydante des extraits de <i>Pulicaria arabica</i> , <i>Erucaria uncata</i> et <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>75</b>
<b>Tab26</b> . Diamètre des zones d'inhibition des extraits de la plante <i>Pulicaria arabica</i>	<b>80</b>
<b>Tab27</b> . CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante <i>Pulicaria arabica</i>	<b>80</b>

<b>Tab 28</b> . Résultats de l'activité inhibitrice de <i>Fusarium oxysporum</i> par les extraits de <i>Pulicaria arabica</i>	<b>82</b>
<b>Tab29</b> . Diamètre des zones d'inhibition des extraits de la plante <i>Erucaria uncata</i>	<b>84</b>
<b>Tab30</b> . CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante <i>Erucaria uncata</i>	<b>84</b>
<b>Tab31</b> . Résultats de l'activité inhibitrice des extraits d' <i>Erucaria uncata</i> contre <i>Fusarium oxysporum</i>	<b>86</b>
<b>Tab32</b> . Diamètre des zones d'inhibition des extraits de la plante <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>88</b>
<b>Tab33</b> . CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>88</b>
<b>Tab34</b> . Résultats de l'activité inhibitrice de <i>Fusarium oxysporum</i> par les extraits de <i>Thymelaea hirsuta</i>	<b>90</b>
<b>Tab35</b> . Effet de l'huile essentielle et des extraits bruts de <i>Pulicaria arabica</i> , <i>Erucaria uncata</i> et <i>Thymelaea hirsuta</i> vis-à-vis l'ACHé, BChEet $\alpha$ -glucosidase.	<b>91</b>

# *Introduction générale*

Le stress oxydatif est couramment défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités des systèmes de défense anti-oxydantes d'une cellule ou d'un organisme (**Gilbert et al., 2013**). La production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est utile pour l'organisme mais peut être rendue inutile lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense (**Guillouty, 2016**). Ceci peut favoriser le développement des pathologies graves (cancers, diabète, maladies cardiovasculaires, maladies neurodégénératives, maladies rhumatismales) et ainsi qu'un vieillissement prématuré (**Guillouty, 2016 ; Favier, 2003 ; Haleng et al., 2007**).

Nombreux axes de recherche antérieurs ont montré le rôle majeur du stress oxydant dans l'apparition et le développement de ces maladies graves et donc dans la mortalité au niveau mondial (**Ihara et al., 1999 ; Baynes, 1991; Gilbert et al.,2013 ; Bonnefont-Rousselot, 2014 ; Su et al.,2008 ; Janda et al.,2012**). D'autre part, les maladies infectieuses constituent également une cause majeure dans la mortalité humaine et aussi animale. Ceci est due à l'émergence continue de multi résistance aux médicaments, au spectre antibactérien limité et aux effets indésirables des agents antimicrobiens disponibles (**Fonkeng et al., 2015**). Pour cette raison, des recherches sur des nouveaux traitements possibles dans l'espoir de protéger notre santé et même guérir ces différentes maladies se basent actuellement sur des médicaments à base de produits naturels qui sont généralement moins ou sans effets indésirables.

Selon l'Organisation Mondiale de Santé (OMS), il est estimé que 3/4 des populations de pays en voie du développement s'orientent vers les remèdes traditionnels à base des plantes médicinales. Du fait que les plantes sont des excellentes réservoirs de principes actifs qui peuvent être utilisées pour soigner plusieurs maladies. Malgré la richesse et la diversité du règne végétal, seulement une petite partie des 250 000 espèces de plantes connues a été étudiée sur les plans phytochimiques et pharmacologiques, dont chaque plante peut contenir plusieurs de composés bioactifs (**El-Haci et al., 2012**).

En Algérie, plusieurs espèces de plantes sont encore peu ou pas investiguées (**Bentabet et al., 2014**). C'est dans ce contexte que notre travail s'inscrit et vise à la valorisation de trois plantes de la flore locale d'intérêt thérapeutique.

Ce manuscrit est subdivisé en deux parties :

La première partie est bibliographique, articulée en deux chapitres. Le premier chapitre est consacré à une présentation ethnobotanique et pharmacologique des plantes sélectionnées et le deuxième chapitre expose des généralités sur les activités biologiques étudiées et les substances bioactives responsables de ces activités.

La deuxième partie est expérimentale, structurée aussi en deux chapitres, le premier chapitre expose le matériel et les méthodes en expliquant les techniques et les protocoles utilisés pour réaliser ce travail, et le deuxième chapitre présente les résultats obtenus et l'interprétation suivi par une conclusion générale. Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse sont les suivants :

- Identification et récolte des plantes choisies.
- Extraction des huiles essentielles des parties aériennes de plantes par la méthode d'hydrodistillation.
- Caractérisation de la composition chimique de ces huiles essentielles par la méthode d'analyse (GC/MS).
- Préparation des extraits bruts à partir des solvants de polarité différente.
- Détermination de la composition chimique en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits préparés en utilisant des méthodes de dosage sur microplaque.
- Evaluation *in vitro* des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits bruts (aqueux, hydro-méthanolique, acétone et dichlorométhane). Ces activités biologiques se sont intéressées à :
  - l'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant différentes méthodes spectrophotométriques ; le piégeage du radical libre DPPH, le piégeage des radicaux-cations ABTS, la chélation du fer, la réduction de l'ion ferrique, le blanchissement du beta-carotène, la réduction du cuivre CUPRAC et la réduction de phénanthroline,
  - la détermination de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de cinq souches microbiennes selon la méthode de diffusion en milieu gélosé et la méthode des puits (détermination de la CMI et la CMB),
  - l'évaluation de l'activité anti-Alzheimer en déterminant l'effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme acétylcholinestérase et l'enzyme butyrylcholinestérase,
  - et de l'activité antidiabétique en déterminant l'effet inhibiteur vis-à-vis de l'enzyme alpha-glucosidase.

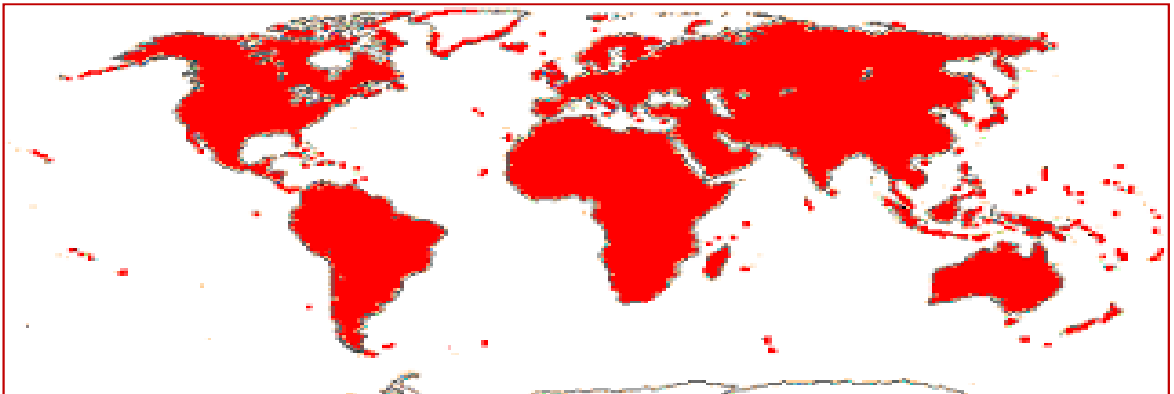
**PREMIÈRE PARTIE**  
**SYNTHÈSE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHAPITRE I : Monographie de plantes étudiées**

## 1- La famille des *Astéracées*

### 1-1- Description, distribution et classification systématique

La famille des *Astéracées* ou des composées est une famille très vaste de plantes dicotylédones qui comprend environ 1000 genres, pour un nombre d'espèces estimé à environ 2500. Elle est répandue dans le monde entier, principalement, dans les régions tempérées et rarement dans les zones floristiques humides (Philippe, 2008 ; Beltrame, 2007).



**Figure 1.** Distribution des plantes de la famille des *Astéraceae* dans le monde (Filleul, 2019)

Les plantes de cette famille sont des plantes herbacées érigées ou grimpantes, vivaces, parfois des arbustes et très rarement des arbres (Philippe, 2008 ; Spichiger et al., 2004). Les feuilles sont alternes, opposées ou verticillées, simples, parfois profondément lobées ou découpées, dépourvue de stipule, à bords entiers à diversement dentés, à nervation généralement pennée ou palmée (Judd et al., 2002). Inflorescence en capitule formée de petites fleurs individuelles, d'un involucre de petites bractéoles vertes et parfois d'un involucre secondaire de bractées colorées (Philippe, 2008). Fleurs de type floral  $5s/5p/5st/2c$  caractérisées par des sépales profondément modifiés, formant un Pappus composé de 2 à nombreuses écailles arêtes ou soies, persistantes, parfois soudées, pouvant être capillaires, velues, courtement barbues ou plumeuses. Pétales au nombre de cinq, sont soudés entre eux et à l'ovaire, formant soit une corolle actinomorphe et tubulaire, soit une corolle zygomorphes bilabiée, soit une corolle zygomorphe allongée en languette se terminant par cinq petites dents (Judd et al., 2002). En générale à cinq étamines soudées, d'une part, à la corolle, par la base de leur filet et d'autre part, entre elles par leurs anthères (Raven et al., 2003; Guignard et Dupont, 2004). Ovaire infère à placenta basale et surfaces stigmatiques couvrant la face interne ou réduite à 2 bandes marginales (Judd et al., 2002). Fruit, appelée akène, généralement surmonté d'un Pappus prévenant du

développement du calice après fécondation. Graine à embryon droit, sans albumen (Spichiger et al., 2004).

Les plantes de la famille des Astéracées sont classées comme suit (tab.1) :

**Tableau 1.** Classification systématique de la famille des *Astéracées* (Tela botanica)

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermatophytae</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Dicotylédonae</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>

### 1-2- Utilisations et intérêts économiques

La famille des *Astéracées* est une grande famille du monde végétal, elle est connue par sa richesse en métabolites secondaires bioactifs, parmi les plantes appartenant à cette famille, on retrouve des espèces cultivées pour la production d'huile (à usage alimentaire et industriel), pour la consommation humaine et animale, à usage ornementale et surtout à usage thérapeutique, quelques utilisations d'espèces de cette famille sont présentées dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Usages de certaines espèces de la famille des *Astéracées*.

Espèces	Utilisations	Références
<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.	-Traitement du diabète sucré, la diarrhée, les douleurs abdominales et l'inflammation du tractus gastro-intestinal. -Antiseptiques, vermifuges et antispasmodiques. -Alimentation animale	Twajj et Al-badr, 1988 Gharabi et Sand, 2008 Houmani et al., 2004
la marguerite, le dahlia, le zinnia, le cosmos, le chrysanthème et l'aster	-Utilisées comme plantes ornementales	Gausson et Leroy, 1982
<i>Lactuca sativa</i> (Laitue) <i>Cynara cardunculus</i> (Artichaut) <i>Cichorium intybus</i> (Chicorée) <i>Cichorium endiva</i> (Endive) <i>Artemisia dracunculoides</i> (Estragon) <i>Helianthus annuus</i> (Tournesol)	-Utilisées comme plantes alimentaires	Gausson et Leroy, 1982
<i>Centaurea pungens</i> Pomel	-Traiter des maladies cardiovasculaires	Yasser et al., 2018
<i>Pulicaria incisa</i>	- Traitement des maladies du cœur et comme un agent hypoglycémiant et hypocholestérolémiant.	Elmann et al., 2012

<i>Pulicaria dysenterica</i>	-Utilisée comme astringent et contre la diarrhée -Utilisée dans la dysenterie, la gale et d'autres troubles cutanés	El-Abed et al., 2010 Mohamed vall, 2009
<i>Pulicaria odora</i>	- Utilisée comme un agent anti-inflammatoire	Hanbali et al., 2005
<i>Pulicaria undulata</i>	-Utilisée comme inhalateur pour soulager la congestion nasale et bronchique associée avec le rhume	El-Abed et al., 2010 Mohamed vall, 2009
<i>Pulicaria jauberti</i>	-Utilisé comme diurétique -Soigner la fièvre, antibactérienne, antifongique, antipaludique et insecticide	Algabr et al., 2010

### 1-3-La plante *Pulicaria arabica*(L).Cass

#### 1-3-1-Description botanique

Pulicaria arabica est une plante odorante, à tiges longs d'un pied et demi, plus ou moins dressées ou étalées, très rameuses, à rameaux très longs, étalés, divergents, et pubescents. Les feuilles sont alternes, sessiles, amplexicaules, oblongues, molles, très pubescentes sur les deux faces, d'un vert pale, recourbées, pliées en gouttière, point crépues ni ondulées, à base élargie et échancrée en cœur, à bords très entiers ; Les calathides sont terminales, paniculées, larges d'environ quatre à cinq lignes, hautes de trois à quatre lignes, courtement radiées, composées de fleurs jaunes ; Au-dessous de chaque calathide terminale naissent un ou plusieurs rameaux qui se terminent par des calathides plus tardives et se ramifient ensuite de la même manière. L'ensemble forme la panicule. Celle-ci est hérissée de longs poils blancs, campanulée, un peu supérieure aux fleurs du disque, formée de squame nombreuses, inégales, plurisériées, imbriquées, linéaires-subulées, à partie inférieure appliquée, linéaire, sub-coriace, à partie supérieure appendiciforme, inappliquées, mais dressée, subulée, foliacée; Les corolles de la couronne ont le tube long, et la languette plus courte que le tube, oblongue, tridentée au sommet; les anthères ont de longs appendices basilaires membraneux, laciniés ou divisés en longs filets piliformes; L'aigrette extérieure est cupuliforme, dentée supérieurement et l'intérieure est composée de squamellules peu nombreuses, unisériées, distancées, filiformes, paraissent nues, c'est-à-dire non barbelurées, parce que les barbelures qui garnissent les bords sont réduites à des crénelures si peu saillantes qui ne sont visibles qu'à l'aide d'une loupe (Cuvier, 1826).

### 1-3-2-Classification classique

La plante *Pulicaria arabica* est classée comme suit (tab.3).

**Tableau 3.** Classification systématique de l'espèce *Pulicaria arabica* (Tela botanica)

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Pulicaria</i>
Nom binomial	<i>Pulicaria arabica</i>



**Figure 2 :** Photo de la plante *Pulicaria arabica* (K. Rebbas, 7.6.2017)

### 1-3-3-Habitat et répartition géographique

*Pulicaria* est le troisième genre le plus important dans la tribu *Inuleae*, il renferme 85 espèces distribuées en Europe, nord d'Afrique et l'Asie (Coutinho et al., 2011).

*Pulicaria arabica* est une espèce endémique saharienne, répandue en Afrique (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye et Soudan) et en Asie (Afghanistan, Cyrus, Egypte, Iran, Irak, Palestine, Jordanie, Liban, Syrie, Turquie, Turkménistan et Pakistan) (Cuvier, 1826 ; Boulos, 1999 ; Rechinger, 1963).

### 1-3-4-Propriétés et Utilisation

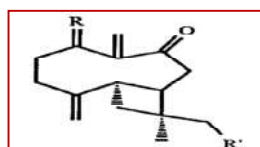
La poudre de *Pulicaria*, appelée tanetfirt ou tanteterf au sud Algérien, est utilisée traditionnellement comme sternutatoire, par prise nasale, dans les traitements de certaines maladies O.R.L et des céphalées (Bellakhdar, 1997). Elle est également utilisée pour traiter les troubles digestifs (Mossa et al., 1987). De plus, une étude menée par Yusufoglu (2014) a montré que cette plante a des propriétés analgésique, antipyrétique, anti-inflammatoire, hépato protecteur et néphrétique.

### 1-3-5-Composition chimique

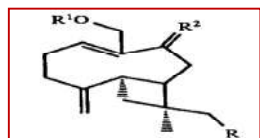
Des études phytochimiques antérieurs, réalisées sur l'espèce *Pulicaria arabica*, ont permis d'isoler et d'identifier des composés flavonoïques (El-Negoumy et al., 1982, Malek et al., 1988), des composés terpéniques (Hafez et al., 1987, Al-Hazimi, 1992) et des huiles essentielles (Djermane et al., 2016). Ces composés et leurs structures sont représentés dans le tableau 4 et les figure 3 et 4.

Tableau4. Structure des Flavonoïdes extraits de *Pulicaria arabica*.

Composé	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Structure
Quercetagetin3,7-diméthyl éther	CH3	H	H	CH3	H	-	
Quercetagetin3,5,7-triméthyl éther	CH3	CH3	H	CH3	H	-	
Quercetagetin3,5,7,3'-tetra méthyl éther	CH3	CH3	H	CH3	CH3	-	
Quercetin3-glucoside	Glu	H	H	H	H	-	
Quercetin-3-glucuronide	Gluc	H	H	H	H	-	
Quercetagetin3',4'-diméthyl éther	H	H	H	H	CH3	CH3	
Quercetagetin3, 5, 6, 7,3'-pentaméthylether	CH3	CH3	CH3	CH3	CH3	H	
Quercetagetin,3,5,6,7,4'-pentaméthylether	CH3	CH3	CH3	CH3	H	CH3	



R	$\beta$ -OH,H	$\beta$ -OCH <sub>3</sub> ,H	$\beta$ -OCH <sub>3</sub> ,H	$\alpha$ -OCH <sub>3</sub> ,H	OH
R'	OH	OH	OAc	OAc	OH



R	H	H	OH	OAc	OAc	OAc	OAc
R1	H	Ac	Ac	H	Ac	H	CH <sub>3</sub>
R2	O	O	O	O	O	$\alpha$ -OH,H	O

Dérivés de Caryophyllene (Diterpène)

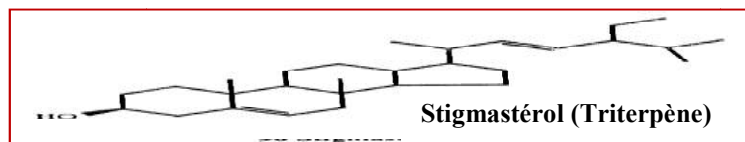


Figure 3. Structure des terpènes extraits de *Pulicaria arabica*

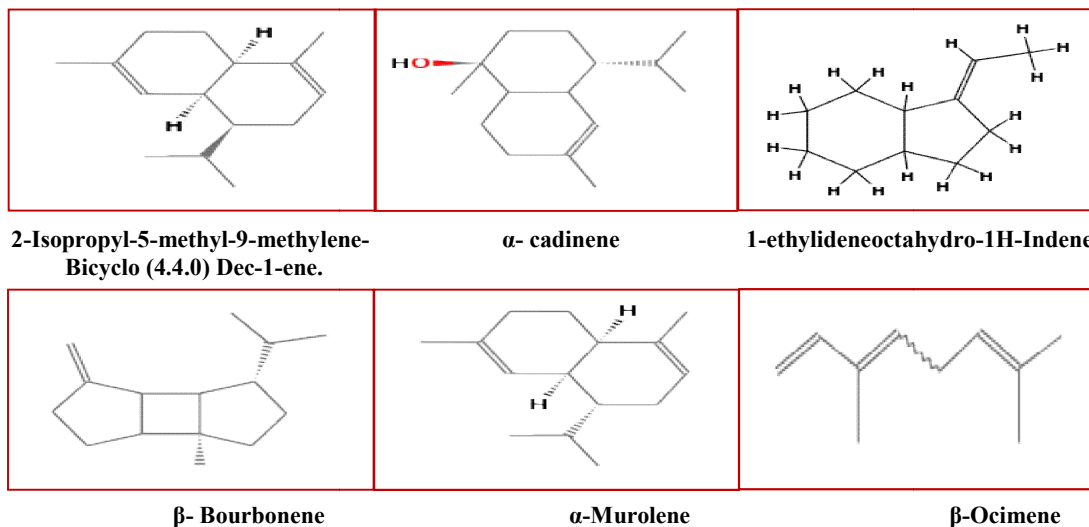


Figure 4. Structure des composés majoritaires des huiles essentielles de *Pulicaria arabica*

## 2-La famille des *Brassicaceae*

### 2-1-Description, distribution et classification systématique

La famille des *Brassicaceae*, appelée aussi *Crucifères* (*Crucifereae*), est une famille de plantes dicotylédones qui regroupe un nombre important d'espèces estimé environ 4000, appartenant à 400 genres, distribués dans le monde entier, mais la majorité de ces espèces préfèrent les régions froides principalement les régions de l'hémisphère nord, et certaines sont parfaitement adaptées dans des milieux particuliers comme le désert et les montagnes (Ozenda, 1977 ; Quezel et Santa, 1963 ; Rafael et Elena, 2005 ; Al-Shehbaz et al., 2006 ; Avato et al., 2013, Dupont et Guignard, 2007).



**Figure 5.** Distribution des plantes de la famille des *Brassicaceae* dans le monde.

([https://www.plantes-botanique.org/famille\\_brassicaceae](https://www.plantes-botanique.org/famille_brassicaceae),2006)

Les plantes de la famille des *Brassicaceae* sont essentiellement des plantes herbacées, très rarement sous-arbrisseaux ou arbustes à racine pivotante. Les Feuilles sans stipules, souvent alternes ou toutes à la base, rarement ligneuses, parfois succulentes ou épineuses. Cette famille a une importante homogénéité dans le genre de fleur et le modèle de fruit. Les fleurs comportent des pièces non soudées : quatre sépales libres, en alternance, quatre pétales libres (corolle dialypétale). Le nombre et la disposition de ces pièces sont tellement constants et remarquables que l'on avait donné le nom de crucifères à la famille. Les fruits du type de la silique comprennent deux loges séparées par une cloison médiane qui porte les graines. Les grappes florales, de type indéfini, n'ont pas de bractée. Elles sont souvent odorantes de couleur vive, attractifs pour les insectes (Ozenda, 1977 ; Quezel et Santa, 1963).

La position taxonomique de la famille des *Brassicaceae* est comme suit :

**Tableau 5.** Classification systématique de la famille des *Brassicaceae* (Tela botanica)

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermatophytae</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Dicotylédonae</i>
Sous-classe	<i>Gamopétales</i>
Ordre	<i>Brassicales</i>
Famille	<i>Brassicaceae</i>

## 2-2- Utilisation et intérêts économiques

De nombreuses espèces de la famille des *Brassicaceae* possèdent une valeur économique importante, à la fois ornementale, horticole, oléagineuse, condiment et comme fourrages ou aliments fourrages (Al-Shehbaz *al.*, 2006).

**Tableau6.** Usages de certaines espèces de la famille des *Brassicaceae*.

Espèces	Usages	Références
<i>Brassica oleracea</i>	-Utilisée en cataplasme contre toutes les maladies des reins	Bellakhdar, 1997
<i>Oudneya africana</i>	-Traiter des maladies de la peau en usage externe (mélangée avec <i>Lawsonia inermis</i> (Henné)). -Traiter les maladies de l'intestin	Bellakhdar, 1997 Smadi, 2006
<i>Erysimum cheranthoides</i>	-Soulager les fièvres -Traiter les maladies cardiaques	Lei <i>et al.</i> , 1998
<i>Lepidium sativum</i> <i>Sinapis alba</i>	-Traiter la stérilité.	Bellakhdar, 1997
<i>Lepidium sativum</i> L.	-Traiter des maladies respiratoires	Yasser <i>et al.</i> , 2018
<i>Savignya longistyla</i> <i>Moretia canescens</i> <i>Erysimum officinalis</i> <i>Diplotaxis acris</i> <i>Farestra ramosissima</i> <i>Zilla spinosa</i>	-Utilisées comme plantes fourragères (pâturage des dromadaires)	Longuo, 1989
<i>Brassica nigra</i> <i>Brassica juncea</i> <i>Sinapis alba</i> , <i>Armoracia rusticana</i> <i>Diplotaxis harra</i> <i>Eutrema wasabi</i>	-Utilisées comme condiments	Troyer, 2001
Les alyssons ( <i>Alyssum</i> ou <i>Lobularia</i> ) Les girofles ( <i>Erysimum</i> ) ( <i>Isatis tinctoria</i> )	-Utilisées comme plantes ornementales,	Skandrani, 2007

## 2-3-La plante *Erucaria uncata* (Boiss.) Asch. & Schweinf.

### 2-3-1-Description botanique

Herbe annuelle très rameuse, feuilles pennatiséquées, fleurs violet pâle assez grandes (10-15mm), siliques longues de 1-3 cm, cylindriques,  $\pm$  courbées en crochet. article inférieur cylindrique, à 1-4 graines pendantes et subdéhiscent ; le supérieur à 2-4 graines dressées et indéhiscent, 2-3 fois plus long, progressivement rétréci et récurvé. Plante est assez rare des pâturages désertiques (Quezel et Santa, 1963).

### 2-3-2-Classification classique

La plante *Erucaria uncata* est classée comme suit (tab.7) :

Tableau 7. Classification systématique de l'espèce *Erucaria uncata* (Tela botanica)

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Brassicales</i>
Famille	<i>Brassicaceae</i>
Genre	<i>Erucaria</i>
Nom binomial	<i>Erucaria uncata</i>

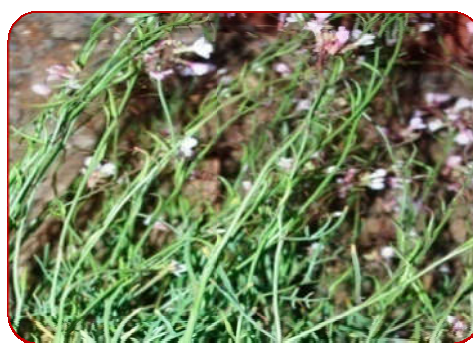


Figure 6 :Photo de la plante *Erucaria uncata*(K.Rebbas 6.3.2017)

### 2-3-3-Habitat et répartition géographique

*Erucaria* est un genre appartenant à la famille des *Brassicaceae* qui pousse principalement dans les régions tempérées et comprenant les mauvaises herbes, les légumes, les plantes de jardin et les fleurs sauvages (Abdelshafeek et al., 2011). C'est une espèce très rare poussant dans les pâturages désertiques (Quezel et Santa, 1962).

### 2-3-4-Propriétés et Utilisations

Les plantes de la famille des *Brassicaceae* sont généralement utilisées pour le traitement de plusieurs maladies en raison de leurs divers effets pharmacologiques anticancéreux, antibactérien, antifongique, antirhumatismale et antidiabétique (Marzouk et al., 2016).

Selon la bibliographie, seulement trois espèces appartenant au genre *Erucaria* ont été décrits pour ces effets pharmacologiques : *Erucaria hispanica*, *Erucaria microcarpa* et *Erucaria pinnata* (Hashem et al., 1999 ; Marzouk, 2016 ; Zakhary et al., 2020). Cependant, les travaux concernant l'espèce *Erucaria uncata* sont rares.

2-3-5-Composition chimique

Selon la bibliographie, la plante *Erucaria uncata* est citée comme une plante fourragère. Son caractérisation chimique n'a pas encore été étudiée. Il existe en fait que 4 études chimiques qui ont été réalisées sur trois espèces du même genre de cette espèce.

Une étude, réalisée sur l'extrait méthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Erucaria hispanica* (L.) Druce, a décrit l'isolement de 13 composés de flavonoïdes (fig. 7) (Marzouk, 2016).

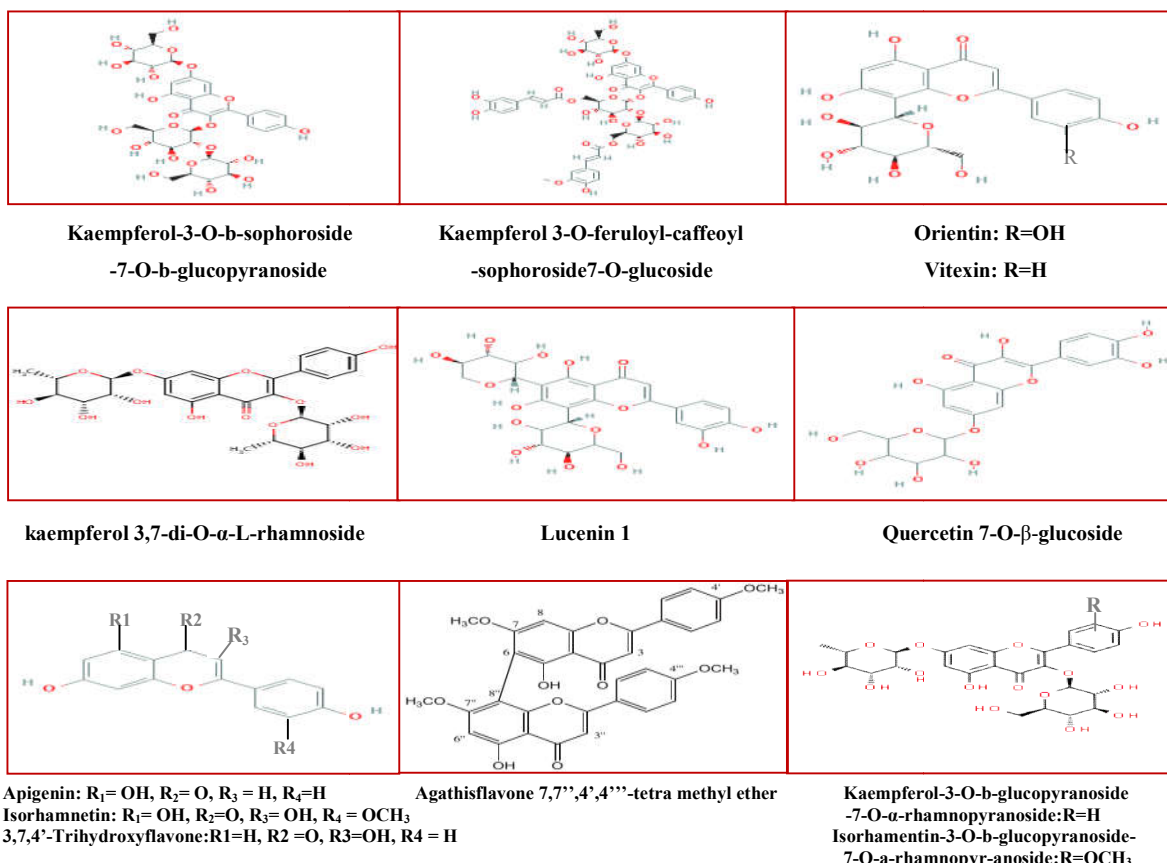
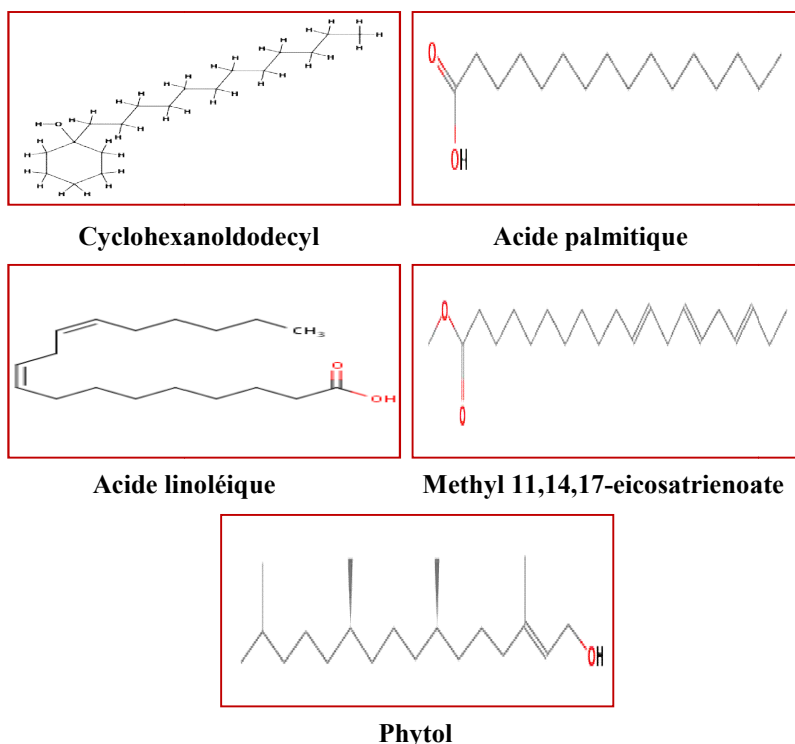


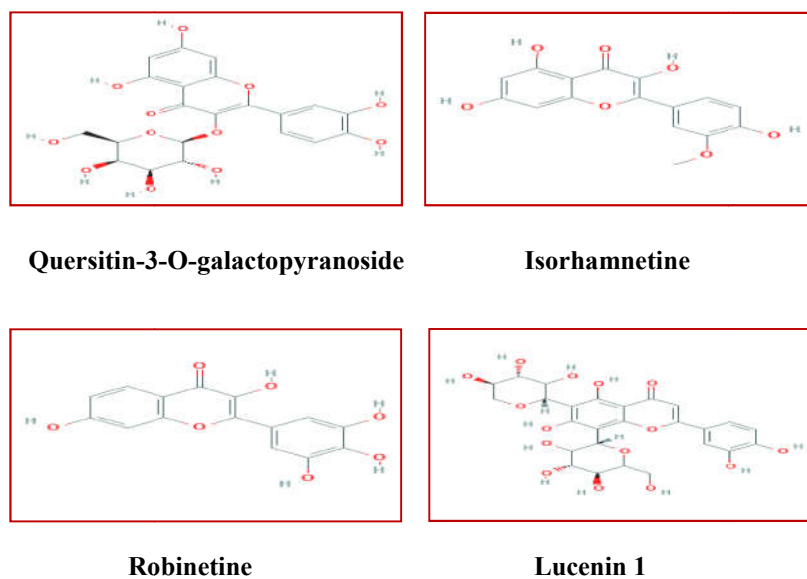
Figure 7 : Structure des flavonoïdes extraits de l'espèce *Erucaria hispanica*

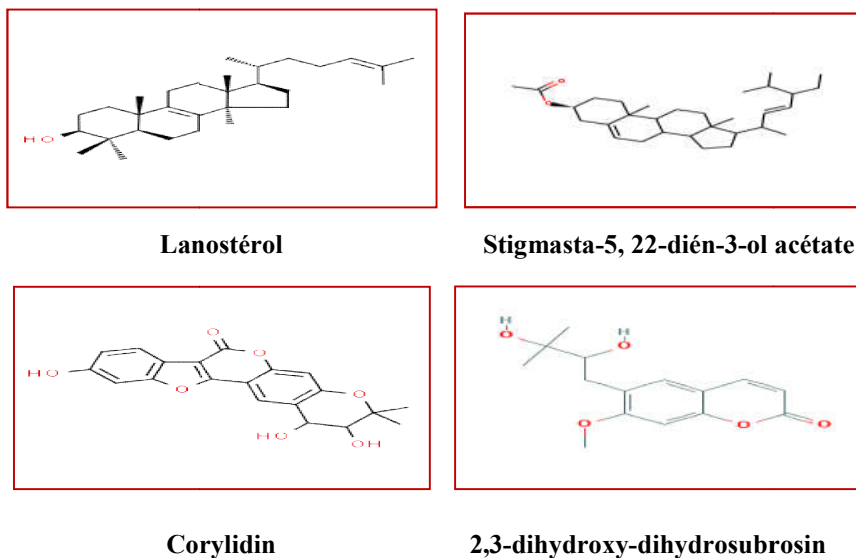
Une autre étude sur les huiles essentielles de la partie aérienne de l'espèce *Erucaria hispanica* (L.) a permis d'identifier 13 composés dont les composants majoritaires sont : acide palmitique (36,7%), cyclohexanoldodecyl (11,2%), 11,14,17-Eicosatrienoic acid, methyl ester (9,1%), acide linoléique (7,5%) et phytol (5,6%) (Al-Mazroa et al., 2015).



**Figure 8.** Structure des composés majoritaires des huiles essentielles de l'espèce *Erucaria microcarpa*

Une troisième étude faite sur la partie aérienne d'*Erucaria microcarpa* a démontrée l'isolement de : quatre flavonoïdes (Quercétine-3-O-galactoside, lucénine-1, robinetine et isorhamnetin-3-O-galactoside), deux stéroïdes (Lanostérol et stigmasta-5, 22-dièn-3-ol acétate), ainsi que deux coumarines (Corylidin et 2,3-dihydroxy-dihydrosubrosin) (fig. 9) (**Hashem, 2007**).





**Figure 9.** Structure des métabolites secondaires extraits de l'espèce *Erucaria microcarpa*

Une quatrième étude réalisée sur l'extrait de méthanol 70% de la partie aérienne de l'espèce *Erucaria pinnata* a permis d'isoler et d'identifier 20 composés de flavonoïdes (tab. 8) (Zakhary *et al.*, 2020).

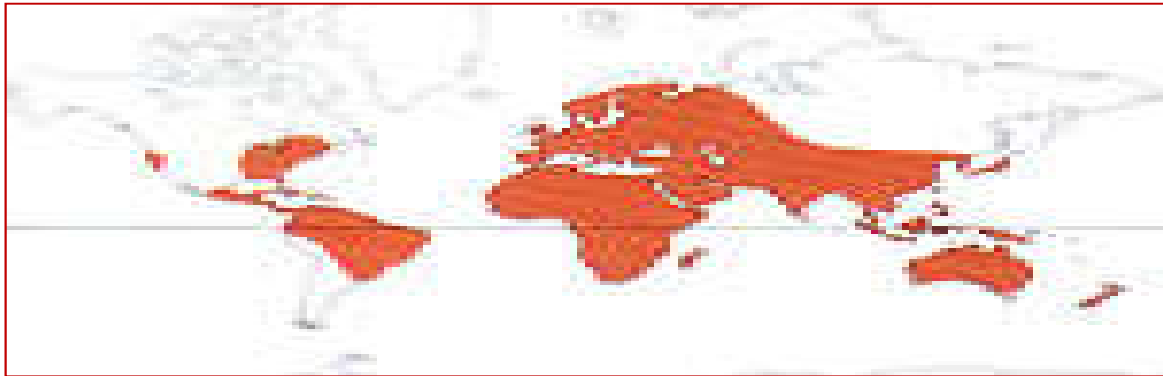
**Tableau 8.** Le contenu en flavonoïde (mg/100gm) isolé de l'extrait Méthanol (70%) d'*Erucaria pinnata*

Flavonoïdes	Concentration
Luteo.6-arabinose8-glucose	490.9
Luteo.6-glucose8-arabinose	25.038
Apig.6-arabinose 8-galactose	38.76
6-rhamnose8-glucose	72.499
Apig.6-glucose8-rhamnose	198.69
Luteo.7-glucose	7.3636
Narengin	25.557
Rutin	2412
Hesperidin	75.066
Apig.7-o-neohespiroside	5.7446
Kamp.3,7-dirhamnoside	7.5999
Apig.7-glucose	2.1073
Quercetrin	34.823
Quercetin	49.671
Naringenin	2.4948
Hespirin,	5.9607
Kampferol	4.2185
Rhamnetin	0.8569
Apegnin	2.3036
Acacetin	19.11

### 3-La famille des *Thymelaeaceae*

#### 3-1- Description, distribution et classification systématique

La famille des *Thymelaeaceae* est une petite famille de plantes dicotylédones qui regroupe environ 1200 espèces (Ferrari, 2002), appartenant à 67 genres, répandus dans les régions tropicales et tempérées de la planète, en particulier en Afrique, alors elles sont absentes dans les zones froides (Van der Bank et al., 2002 ; Borris et al., 1988 ; Galicia-Herbada, 2006).



**Figure 10.** Distribution des plantes de la famille des *Thymelaeaceae* dans le monde.

([https://www.plantes-botanique.org/famille\\_Thymelaeaceae](https://www.plantes-botanique.org/famille_Thymelaeaceae), 2016)

Les plantes de la famille des *Thymelaeaceae* sont des arbustes ou plantes herbacées à des feuilles alternes ou opposées, souvent coriaces et persistantes. Inflorescences très variables. Fleurs hermaphrodites dioïques ou polygames, 4-5 mères, à calice tubuleux. Etamines 8-10 insérées sur 2 rangs. Ovaire uniloculaire en général uniovulé. Fruit sec ou drupacé monosperme (Quezel et santa, 1993).

Dans les zones au climat méditerranéen, les *Thymelaeaceae* sont représentées par deux genres *Thymelaea* et *Daphne* dont le genre *Thymelaea* comprend une trentaine d'espèces d'arbustes (Kadri et al., 2011 ; Bruneton, 1999). *Thymelaea hirsuta* constitue l'espèce la plus typique du genre *Thymelaea* (Ressigle et al., 1987). Les plantes de la famille des *Thymelaeaceae* sont calcées comme suit :

**Tableau 9.** Classification systématique de la famille des *Thymelaeaceae* (Tela botanica)

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Phanérogames</i>
<b>Sous-embranchement</b>	<i>Angiospermes</i>
<b>Classe</b>	<i>Equisetopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Malvales</i>
<b>Famille</b>	<i>Thymelaeaceae</i>

### 3-2-Utilisation et intérêts économiques

En phytothérapie, les plantes de la famille de *Thymelaeaceae* sont largement indiquées dans la médecine traditionnelle. Quelques utilisations d'espèces de cette famille sont présentées dans le tableau 10.

**Tableau 10.** Usage de certaines espèces de la famille des *Thymelaeaceae*

Espèces	Utilisation	Références
<i>Thymelaea microphylla</i>	-Traiter des blessures et de diverses dermatoses : érysipèle, cancer de la peau, boutons et abcès. -Traiter la stérilité et l'ictère	<b>Boukef, 1986</b>
<i>Thymelaea lythroides</i>	- utilisée contre le mal de vessie et des reins, le froid, les rhumatismes et le mal de dos, les migraines et la fièvre, les enflures et les fractures, l'inflammation des yeux et de la prostate, le diabète, les abcès, diverses douleurs comme celles de l'estomac, de l'intestin grêle et du gros intestin et les otites. -utiliser en cosmétologie pour les soins des cheveux.	<b>Dohou et al.,2004</b>
<i>Daphne gnidium</i>	-Traiter des leucémies, des tumeurs, contre la sclérose en plaque et le sida - Utilisée comme purgatif, diurétique, antiseptique et cicatrisante -Traiter de la syphilis et des affections dartreuses. -Indiquée pour soigner les maux de dents et contre l'hépatite -Utilisée comme hypoglycémiant et pour le traitement des maladies de la peau surtout d'origine vénériennes, dans les avortements, dans les teintures pour textiles et les cheveux et dans les soins capillaires	<b>Vidal et al., 2012</b> <b>Chaabane et al.,2014</b> <b>Botineau, 2015</b> <b>Bruneton, 1987</b> <b>Bellakhdar et al., 1991</b> <b>Borris et al., 1998</b> <b>Nowik, 2005</b> <b>Ziyyat et al., 1997</b>

### 3-3- La plante *Thymelaea hirsuta* Endl.

#### 3-3-1-Description botanique

Plante vivace à Feuilles pubescentes en entier ou au moins sur une de leur face, très petites densément imbriquées, coriaces ovoïdes aiguës, glabres en dessous, pubescentes-laineuses en dessus ainsi que les tiges. Fleurs 2-5 au sommet des rameaux à calice rapidement caduc, jaunâtre, polygame. Périclype à 4-5 divisions en général persistant, verdâtre ou jaunâtre. Etamines 8-10 sur 2 rangs. Ovaire uniloculaire à 1 style. Fruit sec ou charnu, monosperme. Plante des Sables et pâturages. Elle est très commune en Algérie (**Quezel et Santa, 1962-1963**).

### 3-3-2-Classification classique

La plante *Thymelaea hirsuta* est classée comme suit :

**Tableau 11.** Classification systématique de l'espèce *Thymelaea hirsuta* (Tela botanica)

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Malvales</i>
Famille	<i>Thymelaeaceae</i>
Genre	<i>Thymelaea</i>
Nom binomial	<i>Thymelaea hirsuta</i>



**Figure 11:**Photo de la plante *Thymelaea hirsuta* (K.Rebbas, 3.3.2017)

### 3-3-3-Habitat et répartition géographique

*Thymelaea* est un genre comprenant environ 30 espèces appartenant à la famille des *Thymelaeaceae*, distribués dans les îles Canaries, la région méditerranéenne, le nord de l'Europe centrale et l'est de l'Asie centrale, dont l'espèce *Thymelaea hirsuta* est d'origine du nord d'Afrique (Kawano et al., 2007, Trigui et al., 2013). En Algérie, cette espèce est répartie dans les régions semi-arides (Ziani et al., 2015).

### 3-3-4-Propriétés et Utilisations

*Thymelaea hirsuta* est une plante vivace et fait partie de la famille des *Thymelaeaceae*, appelée «Methnane» en Algérie, cette plante possède une valeur économique importante en tant que plante médicinale et source des fibres (El-Keblawy et al., 1997). En médecine traditionnelle, la décoction de la partie aérienne de *Thymelaea hirsuta* est utilisée dans le traitement de la maladie de diabète, elle est utilisée également comme antiseptique et pour le traitement de l'hypertension, la toux et des problèmes respiratoires (Le Floc'h, 1983 ; Kawano et al., 2007; Amari et al., 2014 ; Azaizeh et al., 2003). De plus cette espèce est indiquée comme purgatif dans le traitement des maladies de peau (Said et al., 2002). En outre, nombreuses études scientifiques ont montré que l'espèce *Thymelaea hirsuta* a des propriétés biologiques à savoir : anti-mélanogénèse, hypoglycémique, anti-diabétique, anti-tumorale, antioxydante, anti-inflammatoire, anti-hémolitique et antimicrobienne (Kawano et al., 2007; El Amrani et al., 2010; Ziani et al., 2015, Djeridane et al., 2006 ;Miyamae et al., 2009 ; Zohra & Fawzia., 2014 ; Trigui et al., 2013).

3-3-5-Composition chimique

D'après la littérature, nombreuses recherches phytochimiques ont été effectuées sur la plante *Thymelaea hirsuta*. Les principales métabolites secondaires ont été isolés et identifiés dans les différents organes de cette plante comme les flavonoïdes (Nawwar et al., 1977 ; Garcia-Granados et Saenz de Buruaga, 1980), les terpénoïdes (Brooks et al., 1990), les coumarines (Saleh et al., 1965 ; Rizk et al., 1975 ; Garcia-Granados et Saenz de Buruaga, 1980) et les tanins (El-Beheiry, 2000) (fig. 12, 13 et 14).

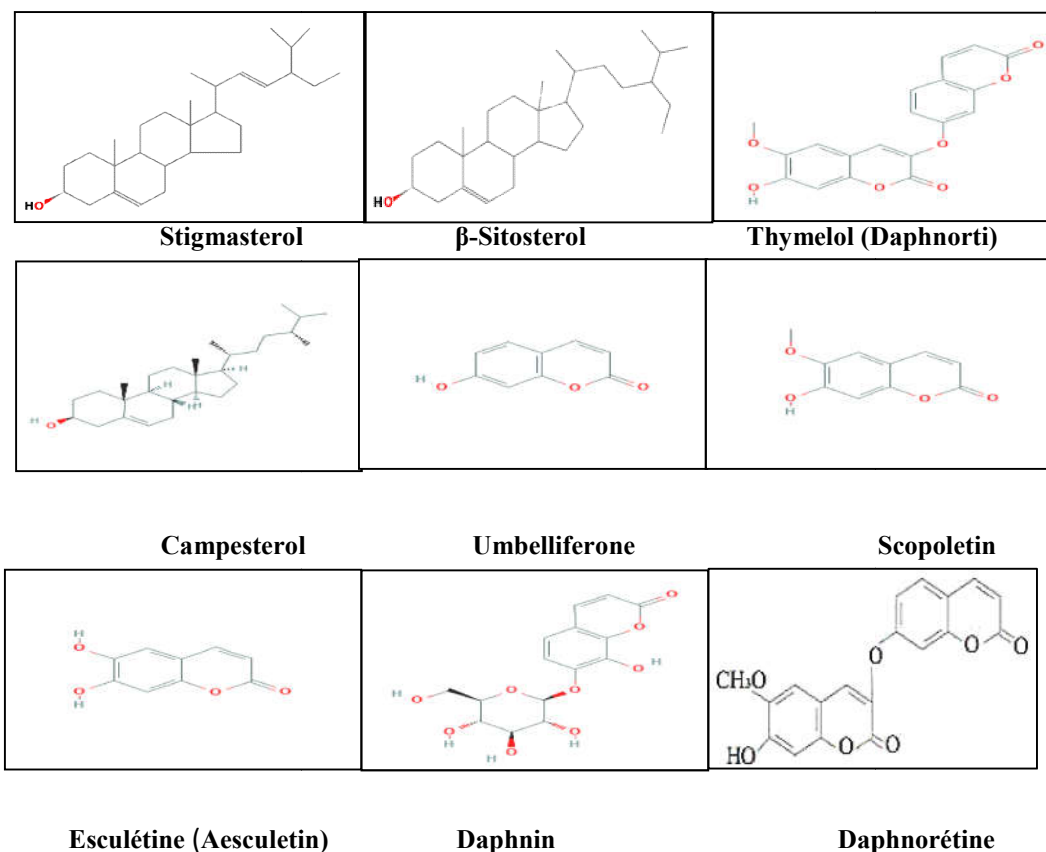


Figure12. Structure de quelques coumarines extraites de *Thymelaea hirsuta*.

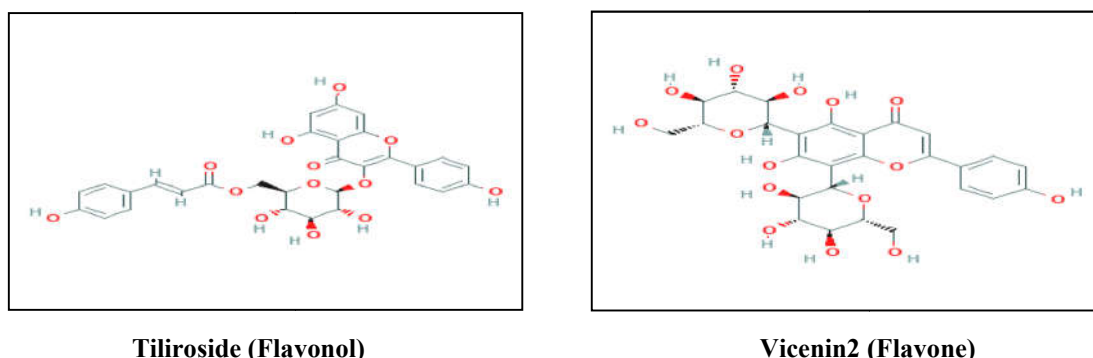


Figure 13. Structure de flavonoïdes extraits de *Thymelaea hirsuta*.

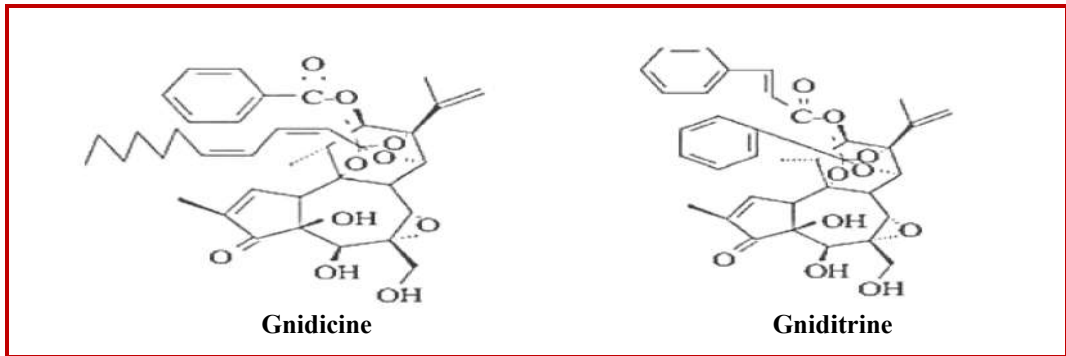


Figure 14. Structure de terpénoides extraits de *Thymelaea hirsuta*.

**CHAPITRE II: Activités  
biologiques et Substances  
bioactives**

## 1-Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'une molécule pure ou des extraits est déduite de ses efficacités à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber les processus de l'oxydation (Marc *et al.*, 2004).

### 1-1- Les radicaux libres

Les radicaux libres sont définis comme des espèces chimiques, un atome, parti de molécule ou molécule qui portent un ou plusieurs électron (s) célibataire (s) non appariés sur leur couche électronique externe (Goudable et Favier, 1999). Cela leur confère une grande instabilité énergétique et une grande réactivité et donc une durée de demi-vie très courte de l'ordre de  $10^{-9}$ - $10^{-6}$  secondes. En effet, ces radicaux auront toujours l'aptitude à remplir ses orbitales par des électrons pour devenir plus stabilisés et donc ils vont se réduire en oxydant des autres composés (Tessier et Marconnet, 1995 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les radicaux libres sont produits naturellement au sein de notre organisme au cours des fonctions physiologiques normales. Cependant, leur production peut être augmenté sous l'effet d'autres facteurs extérieurs tels que les microorganismes, les polluants de l'air (N, NO<sub>2</sub>), les métaux lourds, les pesticides, la fumée de cigarettes, l'exposition prolongée au soleil (les rayons ultra-violet), les rayonnements ionisants ainsi que les solvants organiques, les anesthésiques et les xénobiotiques (Desmier, 2016 ; De *et al.*, 2002 ; Feinendegen *et al.*, 1996 ; Foyer *et al.*, 1994 ; Baribeau, 2010 ; Tessier et Marconnet, 1995). Deux grands groupes d'espèces réactives dérivées d'oxygène moléculaire sont distingués et impliqués dans le stress oxydant : les espèces radicalaires et les espèces non-radicalaires (tab. 12).

Tableau 12. Les principaux types d'espèces réactives (Mercan, 2010)

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Hydroxyle	$\bullet\text{OH}$	Peroxynitrite	$\text{ONOO}^-$
Alkoxy	$\text{L(R)}\text{O}\bullet$	Hypochlorite	$^-\text{OCl}$
Hydroperoxy	$\text{HOO}\bullet$	Hydroperoxide	$\text{L(R)}\text{OOH}$
Peroxy	$\text{L(R)}\text{OO}\bullet$	Oxygène singulet	$^1\Delta\text{O}_2$
Oxide nitrique	$\text{NO}\bullet$	Peroxyde d'hydrogène	$\text{H}_2\text{O}_2$
Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\bullet-}$		

### 1-2- Le stress oxydant

Le stress oxydatif correspond à l'incapacité de l'organisme à résister aux attaques des espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou de l'azote (ERA) qui sont causées par le déséquilibre entre la surproduction de ces espèces et la capacité du système de défense antioxydant. (Kœchlin-Ramonatxo, 2006 ; Halliwell, 2001).

Les dommages oxydatifs cellulaires causés par le stress oxydatif dans l'ADN, les protéines et les lipides sont associés au développement de diverses pathologies graves, telles que le cancer, le diabète, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. (Favier, 2003-2006 ; Haleng et al., 2007).

### 1-3- Système de défense antioxydant

Un antioxydant est défini comme une substance capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation d'un substrat oxydable: protéines, hydrocarbures, acides gras (Dekkers et al, 1996).

### 1-4-Principaux systèmes antioxydants

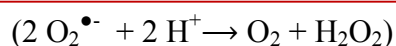
Le système antioxydant comporte un ensemble de composants qui interagissent entre eux, à différents niveaux : plasma, membrane ou cellule (Piquet et Hébuterne, 2007). Il existe deux classes de systèmes antioxydants :

#### 1-4-1-Systèmes antioxydants enzymatiques (les endogènes)

Les systèmes antioxydants enzymatiques comportent principalement les enzymes super oxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase.

#### a-Superoxyde dismutase (SOD)

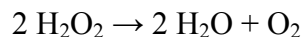
Les superoxydes dismutases sont des enzymes métalloprotéines qui représentent une des premiers maillons dans la lutte contre le stress oxydant, permettant par une réaction de dismutation de convertir l'anion super-oxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) en oxygène et en eau oxygénée.



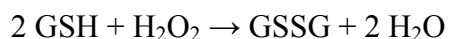
Il existe seulement trois formes de l'enzyme SOD chez l'homme selon le métal contenu dans sa structure : la SOD à cuivre et à zinc (Cu/Zn-SOD1) présente dans le cytosol et les érythrocytes, la SOD à manganèse (Mn-SOD2) dans la mitochondrie et la Cu/Zn-SOD3 extracellulaire, qui est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système de défense antioxydant majeur de la paroi artérielle. Ce système est différent selon la localisation chromosomique des gènes, le contenu métallique, la structure quaternaire et la localisation cellulaire (Johnson et Giulivi, 2005 ; Haleng et al.,2007; Goudable et Favier, 1997).

**b-Catalase**

La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée dans le cytoplasme et les peroxysomes, synthétisée surtout au niveau des globules rouges et du foie. Elle permet de réduire le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) généralement produit par la SOD en molécule d'eau (H<sub>2</sub>O) et en O<sub>2</sub> (Grune, 2002 ; Bouguerne, 2012).

**c-Glutathion peroxydase (GPx)**

Les glutathion peroxydases sont des enzymes tétramériques, présentes au niveau du cytoplasme et des mitochondries dont la structure comporte du sélénium (Sélénoprotéine). Elles permettent de réduire le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau (H<sub>2</sub>O), en utilisant le couple glutathion/ glutathion disulfure.



Elles permettent aussi de limiter des réactions radicalaires en chaîne en réduisant les peroxydes lipidiques instables en acides gras hydroxylés. Ce système ne fonctionne que si le glutathion sulfide formé est d'une manière continue réduite en glutathion, ce qui est assuré par la déshydrogénation du glutathion par la glutathion réductase en présence de NADPH, H<sup>+</sup> qui est utilisé comme donneur d'électrons, ce dernier pouvant être lui-même régénéré par l'intermédiaire d'un couplage métabolique avec la voie des pentoses phosphates.

La glutathion super oxydase est diminuée en cas de carence en sélénium. Leur dosage est donc ne peut être utilisé comme un marqueur d'une intoxication. Le facteur limitant sa synthèse est donc la teneur intracellulaire en sélénium. D'autres facteurs pouvant être agir sur sa teneur tels que l'insuffisance rénale et la cytolyse hépatique, car elle est surtout synthétisée au niveau des reins et du foie (Lacolley et al., 2007 ; Haleng et al., 2007 ; Goudable et Favier, 1997).

**1-4-2-Systèmes antioxydants non enzymatiques (Les exogènes)**

Les systèmes antioxydants non enzymatiques sont apportés de l'extérieur par exemple par la nutrition.

**a-Les vitamines**

Les vitamines sont des substances organiques actives à très faible dose, sans valeur énergétique propre, notre organisme étant incapable de les produire en quantité suffisante, elles doivent être apportées par l'alimentation sauf certaines qui sont synthétisées par la flore

digestives avec des quantités quelquefois suffisantes pour satisfaire les besoins quotidiens. (Larbier et Leclercq, 1992 ; Ferry, 2013). Les vitamines sont classées en deux groupes selon leur solubilité : les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles.

- **Les vitamines hydrosolubles** : sont solubles dans l'eau, comportent les vitamines du groupe B (B1 et B12) et la vitamine C, elles sont principalement des coenzymes.
- **Les vitamines liposolubles** : sont solubles dans les lipides, regroupent les vitamines A, D, E et K, elles ont des modes d'action très variés, plus complexes et moins connus que pour les vitamines hydrosolubles (Dupin et al., 1992 ; Berruex, 1998).

#### **b-Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des substances synthétisés par des végétaux. Il existe plusieurs types dans le groupe des caroténoïdes (plus de 600), mais les plus importants sont le bêta-caroténoïdes, l'alpha-caroténoïdes, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène, présentent particulièrement dans les fruits et les légumes colorés en rouge ou orangés (Causse, 2004). Ces substances sont bénéfiques pour la santé globale, notamment, pour améliorer le système immunitaire et l'activité antioxydant (Fink et Mikesky, 2018).

#### **c-Les oligoéléments**

Les oligoéléments sont des minéraux, qui n'ingèrent qu'à très faible concentration pour les réactions métaboliques des êtres vivants et ne sont présents dans notre organisme qu'en très faibles teneurs. Il s'agit des éléments qui doivent être fournis par l'alimentation, les plus importants pour le corps humain sont le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium, l'iode, le fluor et le chrome. Ils sont indispensables à son fonctionnement normal. La déficience en oligoéléments a des conséquences biologiques et cliniques (Razafimbelo, 2018 ; Ferry, 2013).

#### **d-Les polyphénols**

Les polyphénols, appelés également composés phénoliques, sont des substances proviennent spécifiquement des végétaux, regroupent un vaste ensemble d'espèces (plus de 8000), aux structures variées, dont l'élément structural de base est un cycle aromatique à 6 carbones, qui porte d'un nombre variable du groupements hydroxyles (OH), libres ou engagés dans une autre groupe chimique (glucide, ester, etherméthélique,...) (Vercauteren et al., 1998 ; Hennebelle et al., 2004).

Les polyphénols sont les antioxydants les plus présents dans la nature et aussi dans nos assiettes (Menat, 2006). Ces composés sont classés en plusieurs familles selon le nombre et la position des atomes de carbone du composé, la nature de leur squelette carboné et la longueur de la chaîne aliphatique attachée au noyau aromatique (Chira et al., 2008).

#### ✓ Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des pigments naturels responsables de couleurs variées des plantes, réparties en plusieurs familles (plus de 6000 composés), dont les plus intéressantes sont les flavones et les isoflavones. Ils sont retrouvés dans les plantes très colorées telles que les fruits rouges (notamment du genre *Citrus*) et les légumes verts foncés, des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière et aussi dans plusieurs plantes médicinales (Causse, 2004 ; Derbel et Ghedira, 2005).

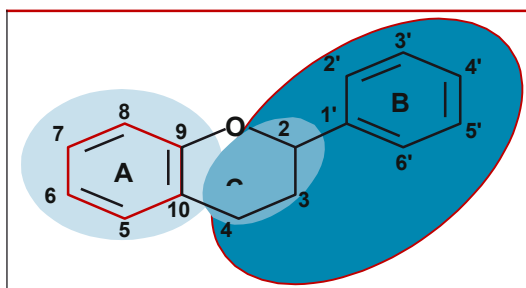


Figure 15. Structure de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont composés de cycles benzo- $\gamma$ -pyrone présentant plusieurs fonctions hydroxyles et pour cela sont aussi nommés polyphénols. Ils peuvent être classés en douze groupes variés en fonction de la nature des différents substituants présents sur les cycles du composé et en fonction du degré de saturation du noyau puranique central (Descheemaeker et Provoost, 1999 ; Hopkins, 2003 ; Ghedira, 2005).

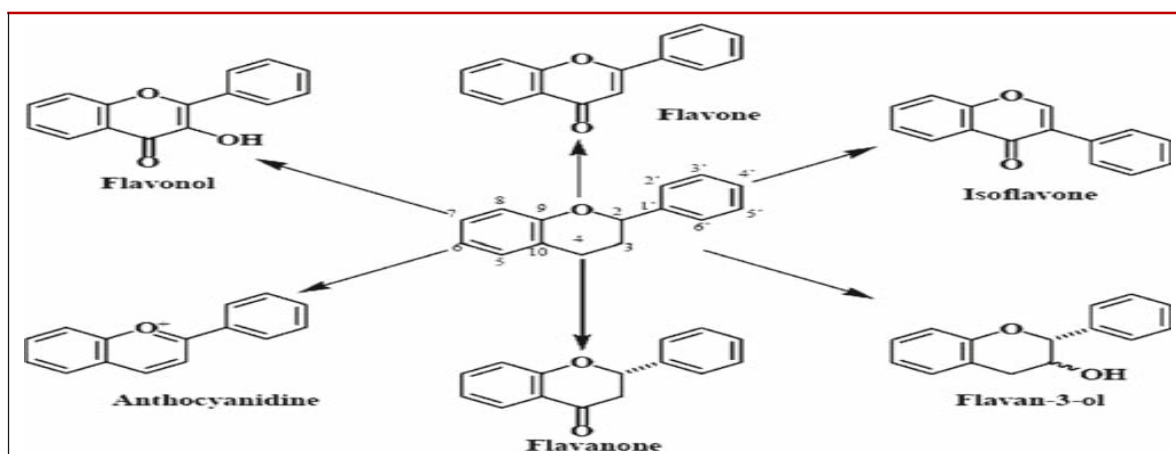


Figure 16. Structures de base des principaux flavonoïdes (Chira et al., 2008).

✓ **Les Tanins :**

Les tanins végétaux sont des substances poly phénoliques de structures variées, possédant des poids moléculaires variés entre 500 et 3000. Ils ont en commun la propriété de tanner la peau en cuir. En outre, ces substances ont certaines propriétés spéciales comme l'aptitude de se combiner avec les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (**Catier et Roux, 2007 ; Sereme et al., 2011**). Les tanins sont très abondants dans le règne végétal, on les trouve dans divers organes mais particulièrement sont plus accumulés dans les tissus âgés ou d'origine pathologique (**Catier et Roux, 2007**). Les tanins sont classés selon la nature des assemblages moléculaires en deux grandes catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Sereme et al., 2011**).

▪ **Les Tannins hydrolysables**

Les tannins hydrolysables, appelés également les acides tanniques, sont des polymères de l'acide gallique ou de l'acide éllagique, ayant un poids moléculaire compris de 500 à 3000. Ces composés peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique, libérant alors deux parties, une partie non phénoliques qui peut être un glucose ou un acide quinique et une partie phénolique qui peut être un acide gallique (cas des gallo tannins) ou un acide ellagique (cas des ellagitannins).

Les tannins hydrolysables sont répons chez les dicotylédones des prairies naturelles, notamment, dans les jeunes feuilles d'arbres ou d'arbustes comme les tannins de *Quercus* méditerranéens et tropicaux et les tannins d'*Acacia*, qui sont indiqués comme plantes fourragères. Cependant, ils sont présents avec des quantités faibles ou nulles chez les espèces fourragères herbacées (**Jarrige et Ruckebusch, 1995 ; Macheix et al., 2005**).

▪ **Les Tannins condensés**

Les tannins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères d'unités de flavan-3-ols reliées entre elles par des liaisons carboniques fortes (C-C) le plus souvent 4->8 ou 4->6. (**Bruneton, 2009**). Ces composés sont résistants à l'hydrolyse contrairement aux tannins hydrolysables, mais ils peuvent être dégradés par les acides forts libérant des pigments des anthocyanidines (**Hopkins, 2003**).

Les tannins condensés sont très répons dans certains végétaux consommés ou indiqués par l'homme, comme des fruits (pomme, prune, fraise ...) ou des boissons fermentées ou non (thé, vin, cidre). On peut aussi les trouver dans certains mutants de maïs des pigments rougeâtres ou phlobaphènes qui sont des polymères proches des tannins condensés mais dérivent dans ce cas de flavane-4-ols. (**Macheix et al., 2005**).

✓ Les acides phénoliques

▪ Les acides benzoïques : les acides benzoïques sont les plus connus, ils sont très répandus dans le règne végétal (Charnay et Tourmeau, 2006), leurs structures diffèrent selon les hydroxylations et les méthylations sur le cycle benzoïques (Collin et Crouzet, 2011).

▪ Les acides cinnamiques : ils sont très abondants chez les végétaux, particulièrement: l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide 3, 4, 5 trihydroxycinnamique (Charnay et Tourmeau, 2006).

✓ Les stilbenes :

Ce sont des composés phénoliques ayant une structure de base composée de deux noyaux benzéniques joints par un pont méthylène (C6-C2-C6) (fig. 17). Plus de 30 stilbènes et glucosides de stilbènes sont abondants naturellement dans le règne végétal, Ils sont fabriqués par les plantes en réponse a des attaques microbiennes (fongiques, bactériennes ou virales) (Collin et Crouz, 2011 ; Chira et al.,2008).

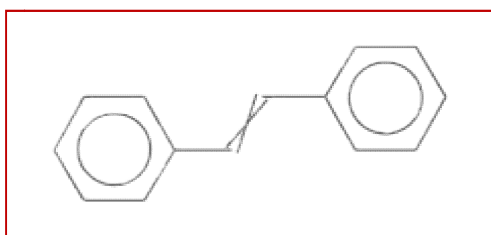
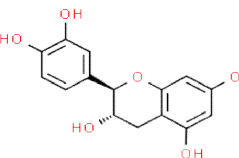
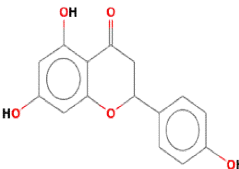
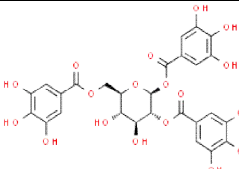
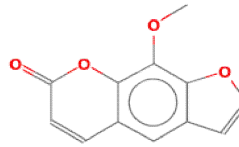
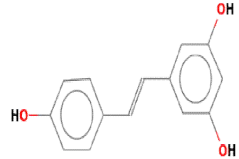


Figure 17. Structure de base de stilbene

Les activités antioxydants de quelques exemples de composés phénoliques, isolés chez certaines plantes et recensés dans la littérature, sont résumés dans le tableau 13.

Tableau 13. Exemples des composés phénoliques pourvus d'une activité antioxydant

Composés phénoliques		Formule	Exemple d'antioxydant	origine	Références
Flavonoïde	Flavone	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	<p>Apigénine</p>	Isolé de <i>Helichrysum graveolens</i> (Bieb.)	Süntar et al.,2013
	Flavonone	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	<p>Quercetin</p>	Isolé de <i>Bauhinia monandra</i> (Kurz)	Aderogba et al., 2006

Flavonoïde	Flavanol	$C_{15}H_{14}O_6$	 Catechin	Isolé de <i>Camellia sinensis</i>	Zhao et al., 2014
	Flavanone	$C_{15}H_{12}O_5$	 Naringenin	Isolé de <i>Eriobotrya japonica</i>	Rashed et Butnariu, 2014
Tannin		$C_{27}H_{24}O_{18}$	 1,2,6-Tri-O-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranose	Isolé de <i>Eucalyptus rostrata</i>	Okamura et al.,1993
Coumarine		$C_{12}H_8O_4$	 Xanthotoxin	Isolé de <i>Angelica officinalis L.</i>	Senol et al.,2011
Stilbene		$C_{14}H_{12}O_3$	 Resveratrol	Isolé de <i>Morus nigra L.</i>	Abbas et al.,2014

## 2-Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne *in vitro* est une mesure de l'efficacité d'un agent antibactérien dans une solution. Elle exprime la sensibilité d'un microorganisme à des principes actifs (médicaments) de concentrations connues (Jawetz et al., 1973).

### 2-1-Les microorganismes étudiés

#### 2-1-1-Bactéries

##### *a-Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), appelée également *Staphylococcus doré*, est une bactérie pathogène majeure pour l'homme. Elle est responsable de pathologies nosocomiales et épidémiques contractés en milieu hospitalier. Elle est retrouvée de façon constante sur la peau et

des muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud. Elle est donc aux premiers loges pour provoquer des toxémies telles que le syndrome de choc toxique, l'intoxications alimentaires et les infections opportunistes (par exemple, un simple furoncle, endocardite et septicémie). Ce large panel d'infection est lié au facteur de virulence de cette bactérie (**Le Loir et Gantier, 2009 ; Bisognano, 2001**).

#### ***b-Bacillus cereus***

*Bacillus cereus* (*B.cereus*) est une bactérie de forme bâtonnet à Gram positive, sporulée et aérobie-anaérobie facultatif, elle est fréquemment responsable d'intoxications alimentaires qui se caractérisent par des symptômes diarrhéiques et des symptômes émétiques (**Anese, 2011**). Elle est rencontrée fréquemment dans le sol et dans les denrées alimentaires (céréales et d'autres aliments). La conservation prolongée d'aliments cuits et chauds favorise, en milieu humide, la croissance et la division de ces germes qui se propagent et produisent ensuite des toxines en quantité suffisante pour déclencher une infection. Ainsi, *Bacillus cereus* est un germe qui peut déterminer deux manifestations cliniques d'une même toxi-infection alimentaire dont l'une ressemble à la maladie provoquée par *Clostridium perfringens* et l'autre à la toxi-infection provoquée par le staphylocoque (**Jacob, 1990**).

#### ***c-Escherichia coli***

*Escherichia coli* (*E.coli*) est un germe très courant dans le tube digestif de l'homme et des organismes à sang chaud. La majorité des souches sont inoffensives, contrairement à d'autres sont pathogènes, comme *E.coli* producteur de shigatoxines qui peuvent provoquer des maladies graves causés par des intoxications alimentaires comme le syndrome hémolytique et urémique (SHU). La contamination chez l'homme se fait principalement lors de l'ingestion des aliments contaminés tels que la viande hachée crue ou pas assez cuite, le lait cru, les légumes crus et les graines germées contaminés (**OMS, 2018**).

#### ***d-Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) est considéré comme un germe pathogène opportuniste, peu ou pas virulente chez les personnes sains, il provoque préférentiellement des infections chez les personnes hospitalisés immunodéficientes ou fragilisés (malades sous assistance respiratoire, hémopathies malignes, brûlés, greffés, âge extrême de la vie, cancéreux, malades en réanimation, dialysés, mucoviscidose...) (**Hamze et al., 2004 ; Amine et al., 2008**). Après *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* présente le troisième

germe responsable d'infection nosocomiale (**Berthelot et al., 2005**). Il est très répandu notamment dans les milieux hospitaliers, elle peut également survivre et se multiplier dans des environnements humides même en absence de nutriments (par exemple, Siphons, éviers et certaines solutions antiseptiques).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont connus par leur résistance aux antibiotiques anti-*Pseudomonas* (pénicillines/céphalosporines/monobactames, aminosides carbapénèmes et fluoroquinolones). La colistine (polymyxine E) présente fréquemment la dernière thérapie disponible vis-à-vis de *P.aeruginosa*, mais avec un risque non négligeable de la néphrotoxicité. Cependant, l'émergence actuelle d'isolats résistants à la colistine a accru les inquiétudes au développement d'une pandémie de résistance (**Barbier et Wolff, 2010**).

### 2-1-2-Champignons

#### a-*Candida albicans*

*Candida albicans* (*C.albicans*) est l'espèce de levure la plus fréquemment isolée et la plus étudiée parmi le genre *Candida*. Elle est responsable d'environ 50% des candidémies. Cette espèce est commensale des tubes digestifs et peut coloniser également les voies génito-urinaires et respiratoires. Elle provoque des infections mortelles notamment chez les sujets immunodéprimés (**Sabra, 2013 ; Kitahara et al., 2015**).

#### b-*Fusarium oxysporum*f. *Splycopersici*

*Fusarium oxysporum* f. *splycopersici* (*F.oxysporum*) c'est une espèce fongique largement répandue dans le monde. Elle est ubiquitaire, présente dans tous les types des sols et sous des divers climats (**Blancard, 2009, Si Mohamed, 2017**). Ce champignon cause des dégâts principalement au système racinaire de la tomate. Les formes infectieuses de ce champignon sont les spores qui pénètrent et envahissent les tissus des racines. Ils se transforment en mycélium et perturbent l'absorption d'eau et de minéraux par la plante. Le tissu vasculaire de la plante affectée est d'apparence rouge brun et les feuilles jaunissent, flétrissent et meurent.

### 2-2-Les antimicrobiens

Les antimicrobiens font partie des médicaments qui sont utilisés pour détruire ou ralentir la croissance des microorganismes.

### 2-2-1-Les antibiotiques

Les antibiotiques ont la capacité d'inhiber la croissance de microorganismes (bactériostatiques) ou les tuer (bactéricides) et que l'on peut administrer par voie générales sans affecter l'hôte (**Contrepois, 2006**). L'action des antibiotiques peut s'effectuer selon différents mécanismes qui dépendent de leur classe chimique (tab.17).

Les antibiotiques sont principalement fabriqués naturellement par les champignons, mais parfois également par les bactéries. Cependant, la plupart qui sont utilisables en clinique aujourd'hui sont semi-synthétiques (**Hnich, 2007**). Les antibiotiques sont classés en fonction de leur structure chimique ou leur mode d'action.

**Tableau 14.** Les principales familles d'antibiotiques

Famille	Sous famille	Exemple	Spectre d'activité	Mode d'action
Beta-lactamines	Pénicilline	Pénicilline M	Méticilline	Staphylocoques
		Pénicilline G et V	Pénicilline G Pénicilline V	Bactéries à G (+) et cocci à G (-)
		Pénicilline A	Amoxiciline	Bactéries à G (+), G (-) et cocci à G (-)
	Céphalosporine	Céphalosporine PG1	Céfatrizine	Cocci à G (+) et quelques Bacilles à G (-)
		Céphalosporine PG2	Cefuroxime	Bactéries à G (+) et à G (-)
		Céphalosporine PG3	Ceftazidine	Bactéries à G (+) et à G (-) y compris <i>Pseudomonas</i>
Tetra-cyclines	Tetracyclines	Oxytetracycline	Nombreuses Bactéries à G(+)	Inhibition de la synthèse des protéines au niveau des ribosomes.
			et à G (-) Chlamydia Mycoplasmes	
Aminosides	Aminosides	Netilmicine	Bactéries à G (+) (sauf streptocoques) et Bactéries à G (-)	Inducteur d'erreurs de decodage
Macrolides	Macrolides	Erythromycine	Bactéries à G (+) et (-) sauf <i>Enterobacter</i> et <i>Pseudomonas</i>	Inhibition de l'elongation par le site P
	Lincosamides	Lincomycine		
	Synergistines	Dalfapristine		
Quinolones	Quinolones	Péfloxacine	Bacilles à G (-) <i>Staphylococcus</i> <i>Neisseria</i> , <i>P. aëruginosa</i>	Bloquer la synthèse d'ADN

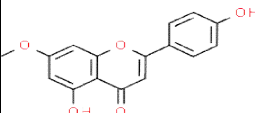
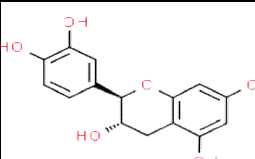
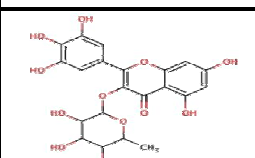
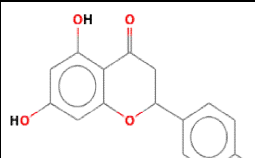
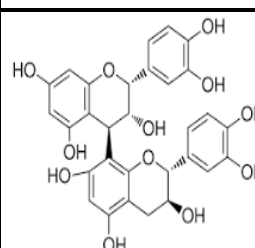
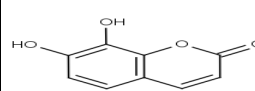
### 2-2-2-Phytomolécules antimicrobiennes

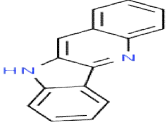
Actuellement, plusieurs phytomolécules antimicrobiennes (composés phénoliques, alcaloïdes, huiles essentielles) ont été décrites. Mais la plupart des études ont démontrées que les huiles essentielles représentent les phytomolécules antimicrobiennes par excellence.

✓ Composés phénoliques et alcaloïdes :

De nombreuses études ont montré que les composés phénoliques et les alcaloïdes présentes un potentiel significatif en tant qu'agent antimicrobiens. Le tableau 15 illustre quelques exemples isolés chez certaines plantes ayant une activité antimicrobienne.

Tableau15. Exemples des composés phénoliques et alcaloïdes à activité antimicrobienne

Composés	Formule	Exemple d'antimicrobien	origine	Références
Flavonoïde	Flavone	$C_{16}H_{12}O_5$  <b>Genkwanin</b>	Antibactérien et antifongique Isolé de <i>Daphne gnidium L.</i>	<b>Cottigli et al., 2001</b>
	Flavonone	$C_{15}H_{10}O_7$  <b>Quercetin</b>	Antiparasitaire Isolé de <i>Morinda morindoides</i>	<b>Cimanga et al., 2006</b>
	Flavonol	$C_{21}H_{20}O_{12}$  <b>Myricetrin-3-O-rhamnoside</b>	Antimicrobien Isolé de <i>Croton menyharthii</i>	<b>Aderogba et al., 2013</b>
	Flavanone	$C_{15}H_{12}O_5$  <b>Naringenin</b>	Antimicrobien Isolé de <i>Eriobotrya japonica</i>	<b>Rashed et Butnariu, 2014</b>
Tannin	$C_{30}H_{26}O_{12}$	 <b>Procyanidin B2</b>	Antibactérien isolé de <i>Vaccinium vitis-idaeaL</i>	<b>Ho et al., 2001</b>
Coumarine	$C_9H_6O_4$	 <b>Daphnetin</b>	Antibactérien et antifongique isolé de <i>Daphne gnidium L.</i>	<b>Cottigli et al., 2001</b>

Alcaloïdes	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub>	 Quindoline	Antibactérien Isolé de <i>Sida acuta</i>	Karou et al., 2005
------------	---------------------------------	---	--	-----------------------

✓ **Les huiles essentielles :**

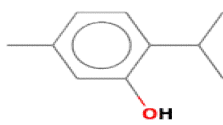

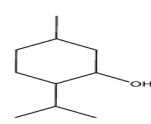
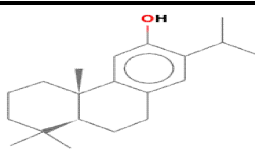
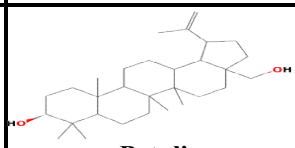
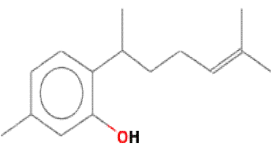
Les huiles essentielles, appelées également essences, sont un mélange de substances odorantes et très volatiles synthétisées par des plantes aromatiques. Elles sont présentes en petites quantités sous forme de minuscules gouttelettes dans différents organes végétaux : fleurs, feuilles, peau des fruits, écorces, racines, rhizomes, graines et bois (**Padrini et Lucheroni, 1996 ; Bruneton, 1999**).

Les principales familles des plantes capables de produire des huiles essentielles sont : les *Abiétacées*, les *Cupressacées*, les *Lamiacées*, les *Myrtacées*, les *Lauracées*, les *Rutacées*, les *Ericacées*, les *Astéracées*, les *Poacées* et les *Rosacées* (**Milpied, 2009**). Elles sont souvent localisées sur ou à la proximité de la surface de la plante : cellules (*Lauraceae* ou *Zingibéraceae*), poils sécréteur (*Lamiaceae*), poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*), canaux sécréteurs (*Apiaceae* ou *Asteraceae*).

Les huiles essentielles renferment deux groupes : les terpènes et les composés aromatiques beaucoup moins fréquents. Elles peuvent aussi renfermer des composés divers non volatils. Les monoterpènes et les sesquiterpènes représentent les terpènes les plus volatils et les principaux constituants des huiles essentielles (**Bruenton, 1999**). Les huiles essentielles ont de nombreuses propriétés : antiseptiques, anti-inflammatoires, antihistaminique, circulatoires, antihématomes, cicatrisantes, antalgiques, relaxantes ...etc. (**Amand et Langlois, 2009**). L'activité antimicrobienne est la propriété la plus spécifique, elles ont un large spectre d'action vis-à-vis des virus, des mycoplasmes et chlamydiae, des bactéries, des champignons y compris leurs spores, les protozoaires, les mites et les insectes. Cependant, il a été noté que la forte activité est exercée spécifiquement vis-à-vis des champignons filamenteux, les protozoaires et les mites en comparaison à celle des bactéries et des levures (**Inoye et Abe, 2007**). Les composés des huiles essentielles avec la plus grande efficacité et le plus large spectre antibactérien sont des phénols comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol, suivi par les alcools avec 10 atomes de carbone (ou monoterpénols) dont les plus connus et les plus utiles dans de nombreuses infections bactériennes sont les géraniols, linalool, thujanol, myrcénol, terpinéol, menthol et pipéritol. Les aldéhydes sont aussi faiblement bactéricides, les plus fréquents utilisés sont le néral, le géraniol,

le citronnellal et le cuminal. Les principales activités des huiles essentielles (terpènes) collectées de la littérature figurent dans le tableau 16.

**Tableau16.** Exemple des terpènes à activité antimicrobienne

Terpène	Formule	Exemple d'antimicrobien	Origine	Références
Mono terpène	$C_{10}H_{14}O$	 <p><b>Thymol (phénol)</b></p>	Antibactérien isolé de <i>Thymus kotschyanus</i> Boiss.	Mohammed et al., 2009 Al-Bayati, 2009
	$C_{10}H_{18}O$	 <p><b>Citronellal (Aldehyde)</b></p>	Antibactérien isolé de <i>Eucalyptus globulus</i> Labill	Mulyaningsih et al., 2011
	$C_{10}H_{20}O$	 <p><b>Menthol (Alcool)</b></p>	Antimicrobien Isolé de <i>Mentha longifolia</i> L.	Al-Bayati, 2009
Diterpene	$C_{20}H_{30}O$	 <p><b>Ferruginol</b></p>	Antibactérien isolé de <i>Cryptomeria japonicabark</i>	Li et al., 2008
Triterpene	$C_{30}H_{50}O_2$	 <p><b>Betulin</b></p>	Antibactérien et anti- fongique isolé de <i>Croton macrostachys</i>	Tene et al., 2009
Sésquiterpene	$C_{15}H_{22}O$	 <p><b>Curcuphenol</b></p>	Antibactérien Isolé de <i>Pseudopterogorgia rigida</i>	McEnroe et Fenical, 1978

### 3-Activité anti-Alzheimer

#### 3-1-La maladie d'alzheimer

La maladie d'Alzheimer est définie comme une pathologie multifactorielle neuro-dégénérative du système nerveux central qui entraîne une perte progressive des fonctions mentales comme la mémoire, les compétences cognitives et comportementales (**Jia et al., 2009 ; Goshadrou et al., 2018**).

#### 3-2- Diagnostic

##### 3-2-1-Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique de la maladie d'Alzheimer (MA) ne pouvait être que probable, il repose sur des critères cliniques du NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association). Il est généralement établi qu'à un stade évolué de la maladie (stade de démence) (**Tillement et al., 2012**).

##### 3-2-2-Examens paracliniques

- L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) :

Il s'agit d'une imagerie structurale, qui permet de voir le cerveau et donc une évaluation d'une manière plus sensible de la zone temporale interne appelée «hippocampe», qui est la zone la plus sévèrement touchée dans la MA, elle permet également d'évaluer l'implication des vaisseaux sanguins aux déficiences psychointellectuelles et de visualiser ces changements, en outre, pour la matière blanche est très spécifique, sa signification sera envisager plus loin. (**Laterre, 2008 ; Selmès et Derouesné, 2004**).

- La Tomographie par émission de positons (TEP) :

Il s'agit d'une imagerie fonctionnelle qui présente un excellent outil d'observation de processus métaboliques du cerveau (**Laterre, 2008**). Elle consiste en réalité à l'injection des substances biologiques radioactives chez le patient (glucose par exemple marquée par le fluore 18) (**Selmès et Derouesné, 2004 ; Marieb et Hoehn, 2014**). Elle permet de mettre en évidence un hypo-métabolisme et de visualiser des dépôts amyloïdes. Ce marquage lésionnel montre une avancée intéressante dans le diagnostic de la MA. (**Selmès et Derouesné, 2004 ; Tillement et al., 2012**).

- L'analyse du Liquide Céphalo rachidien (LCR) :

C'est une analyse réalisée par la méthode de dosage ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) à partir d'un prélèvement de la ponction lombaire. Cette méthode permet de mesurer la concentration du peptide A $\beta$ 42, la protéine T-tau et la protéine P-tau en position 18.

(Sarazin *et al.*, 2011).

- Examen de laboratoire :

Un bilan d'examen biologique simple est recommandé à réaliser : un dosage de la TSH, un ionogramme sanguin, une calcémie, une créatinine, et une numération formulaire sanguine (FNS). Ce bilan peut être complété par d'autres examens selon le contexte clinique, il s'agit de l'albumine plasmatique, le dosage de la vitamine B12 et vitamine B9, sérologie syphilitique et sérologie VIH. (Belmin *et al.*, 2016).

### 3-3-Traitement médicamenteux de la maladie d'Alzheimer

#### 3-3-1-Traitements actuels

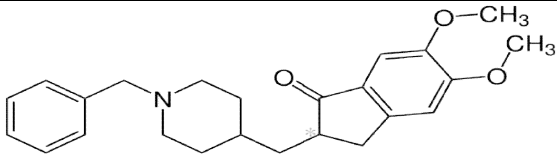
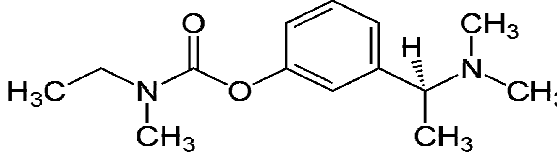

Les anti-cholinestérasiques ou inhibiteurs des cholinestérasés (Acétyl- cholinestérase et butyrylcholinestérase) représentés par le donépézil, la rivastigmine et la galantamine et les antagonistes des récepteurs de la N-méthyl-D-aspartate (NMDA) représentés par la mémantine sont les seules médicaments qui ont été actuellement approuvés pour un traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer, ils ont été étudiés dans de nombreux essais cliniques (Parnetti *et al.*, 2007 ; Hommet *et al.*, 2016).

#### a-Les anticholinestérasiques

L'Alzheimer c'est une maladie qui se caractérise par des lésions au niveau du cerveau (plaques amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires). Ces lésions s'accompagnent par une diminution de l'acétylcholine. L'acétylcholine est un neurotransmetteur, son rôle est de permettre aux neurones de la mémoire de communiquer.

Les substances anticholinestérasiques sont pour action d'inhiber de cette molécule (tab.17). Elles sont utilisées chez les patients dans les formes légères à modérément sévères, elles ont montré leur efficacité dans le domaine de la cognition. L'entourage du patient remarque généralement une amélioration globale du comportement et des gestes quotidiens. En revanche, il n'ya pas d'amélioration significative de la mémoire. Cependant, les médicaments anti cholinestérasés ont souvent des effets indésirables sur le système digestif (nausées, perte d'appétit, diarrhée) (Brugman *et Cotard*, 2016).

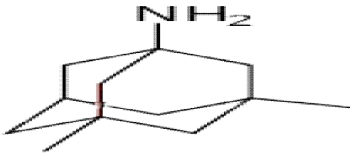
Tableau 17. Anticholinésrasiques utilisés dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (Afect, 2011).

Anticholinésrasiques	Identification/Prppriétés chimiques
 <p style="text-align: center;"><b>Donépézil</b></p>	2-[(1benzylpipéridin-4-yl)]-5,6-diméthoxy-2-3-dihydro-1H-inden-1-one Base: C <sub>24</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>3</sub> M <sub>r</sub> : 379,5 g/mol CAS: RN: [120014-06-4]
 <p style="text-align: center;"><b>Rivastigmine</b></p>	Ethylméthylcarbamate de 3-[(1S)-1 (diméthylamino) éthyl] phényle Base : C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> M <sub>r</sub> : 250,3 g/mol CAS RN: [123441-03-2]
 <p style="text-align: center;"><b>Galantamine</b></p>	4aS,6R,8aS)- 5,6,9,10,11,12- hexahydro- 3-méthoxy-11-méthyl- 4aH-[1]benzofuro[3a,3,2-ef][2] benzazépin- 6-ol Base : C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub> M <sub>r</sub> : 287.35 g/mol CAS RN: [357-70-0]

### b-Les Antiglutamates

Cette catégorie thérapeutique est apparue en 2002 et ne contient qu'un seul médicament : la mémantine, Ils sont utilisés chez les patients âgés au stade modérément sévère de la maladie d'Alzheimer, et visent à bloquer les récepteurs du glutamate, molécule responsable de la stimulation toxique du système nerveux. Ils ont pour effet de retarder la perte de la fonction cognitive et parfois même d'améliorer la fonction cognitive de certains patients. Ils ont également un effet positif sur les activités quotidiennes et les troubles du comportement. La mémantine est également bien tolérée par les patients (Brugman et Cotard, 2016).

Tableau 18: Antagoniste utilisée dans la maladie d'Alzheimer (Afect, 2011).

Antagoniste	Identification/Propriété
 <p style="text-align: center;"><b>Mémantine</b></p>	1-amino-3,5-diméthyladamantane Base : C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> N M <sub>r</sub> : 179,3018 mol/l CAS RN: [19982-08-2]

### 3-3-2- Phytomolécules

La plupart des médicaments utilisés actuellement dans le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer peuvent avoir des effets secondaires indésirables et être potentiellement toxiques (Gali et Badjou, 2019). Pour cette raison, des recherches sur des nouveaux traitements pour la MA se basent actuellement sur des inhibiteurs naturels soit de la BChE et/ou de l'AChE à

qui sont généralement moins ou sans effets indésirables (Oh et al., 2004 ; Eldeen et al., 2005 ; Mukherjee et al., 2007 ; Kivrak et al., 2009 ; Bekir et al., 2013).

### a-Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont les premiers produits naturels d'origine végétale, utilisés comme inhibiteurs de l'AChE telles que la galanthamine (isolé à partir de plantes appartenant à la famille des *Amaryllidaceae*) et l'huperzine A (isolé à partir du *Clubmoss Huperzia serrata, Lycopodiaceae*) qui fait actuellement l'objet d'essais cliniques pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (Brühlmann et al., 2004). Ces produits naturels agissent en inhibant l'AChE, ce qui corrigera la carence en acétylcholine et améliorera ses niveaux dans le cerveau. Par conséquent, le niveau d'acétylcholine augmente, ce qui est le premier signe du traitement de la maladie d'Alzheimer (Heinrich et Theoh, 2004).

### b-Les polyphénols

Nombreuses études bibliographiques ont montrés que des produits naturels non alcaloïdes, il s'agit des polyphénols et en particulier les flavonoïdes isolés à partir des extraits des plantes et des algues ont des effets inhibiteurs efficaces vis-vis l'acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE). Le tableau 19 résume les principaux résultats obtenus dans ce domaine.

**Tableau 19.** Exemples des poly phénols à activité anti-Alzheimer

Composés	Sources	L'enzyme cible	Références
50-géranyl-5,7,20, 40-tétra- hydroxyflavone Kuwanon U Kuwanon E Morusine Morusinol Néocyclomorusine kuwanon C	Isolé de <i>Morus lhou L</i>	l'acétylcholinestérase la butyrylcholinestérase	Kim et al.,2011
Xanthones Qercetine Gossypetine Myricetine Epicatechin-3-gallate	Isolé de Plantes	l'acétylcholinestérase	Brühlmann et al., 2004
Sophoflavescenol	Isolé de <i>Sophora flavescens</i>	l'acétylcholinestérase la butyrylcholinestérase	Jung et al.,2010
Hisperdine Hespertine Narengine Rutine Lutéoline Rosmarinique Quercétine/ Apégénine Kampférol/7-hydroxy flavone	Isolé de <i>Taonia atomaria</i>	l'acétylcholinestérase la butyrylcholinestérase	Aly et al.,2016

## 4 -Activité anti-diabète

### 4-1- Le diabète sucré

Le diabète sucré est une maladie définie comme une situation hyperglycémie chronique. Elle est due à une déficience absolue de la sécrétion d'insuline ou à des effets insuliniques insuffisants. Malgré les progrès de son traitement, elle provoque des complications tels que les lésions dégénératives qui peuvent affecter de nombreux tissus, les gros et petits vaisseaux artériels, les reins, l'œil, le système nerveux et le système immunitaire (**Hennen, 2001 ; Dupin, 1992**). Selon l'OMS, le diagnostic de diabète peut être retenu dans trois situations :

- Présence des symptômes de diabète (polyurie, polydipsie et amaigrissement) et glycémie mesurée à n'importe quel moment de la journée  $\geq 2\text{g/l}$  ;
- Glycémie à jeun  $\geq 1,26\text{ g/l}$  ;
- Glycémie deux heures après ingestion de 75g de Glu  $\geq 2\text{g/l}$  (**Philippe, 2014**).

Il existe deux principales catégories de diabète sucré, le type 1 et le type 2 :

**4-1-1- Le diabète de type 1(DT1)** : il est également appelée diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile. Il touche surtout les sujets jeunes (avant 20 ans). C'est une maladie d'origine auto-immune qui représente environ 10% des cas de diabète. Elle se caractérise par une hyperglycémie assez élevée, associée avec d'autres signes ; une glycosurie, une soif intense, une diurèse importante et un amaigrissement malgré une hyperphagie (**Artigou et al., 2007 ; Camelot et al., 2012**). Dans ce type de diabète, les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans productrices d'insuline sont détruites totalement ou partiellement par le système immunitaire (**Opsomer et de Leval, 2011 ; Camelot et al., 2012**). Le traitement se base donc sur des injections régulières d'insuline avec des doses devant être adaptées au régime alimentaire et à l'activité physique du malade afin d'assurer une glycémie normale (**Camelot et al., 2012**).

**4-1-2- Le diabète de type 2 (DT2)** : il est également appelée diabète non insulino-dépendant ou insulino-résistant ou diabète de la maturité. Il touche surtout les sujets adultes (après 40 ans) en situation de surpoids dans la plupart des cas de la maladie. C'est le type du diabète le plus fréquent, représente environ 90% des cas de diabétiques. Il se caractérise par une hyperglycémie n'est pas chronique au début de la maladie, mais elle va le devenir avec le temps. Autres signes sont aussi fréquemment observés ; une hypertension artérielle et une hypertriglycéridémie (**Camelot et al., 2012; Artigou et al., 2007**). Dans ce type du diabète la cause majeure de la maladie est la résistance des cellules cibles des tissus et organes périphériques à l'insuline à cause de l'absence ou l'insuffisance de récepteurs membranaires à l'hormone. Donc, la quantité d'insuline produite par les cellules  $\beta$ -pancréatique n'est pas en cause (**Camelot et al., 2012**). En

plus, ce type du diabète est très souvent associé à l'obésité (Vaccine et Licensed, 2010). Le traitement ne peut donc compter sur des injections d'insuline, mais il consiste en une adaptation du régime éventuellement assistée d'un traitement médicamenteux afin d'obtenir une glycémie normale (Camelot et al., 2012).

#### 4-2-Diagnostic du diabète sucré

Le diabète est jusqu'à présent défini par une glycémie à jeun à 1,4 g/l (7,7mmol/l) ou une glycémie à n'importe quel moment de la journée supérieur à 2g/l (11,1mmol/l) et ce à 2 reprises ou une glycémie à la 2<sup>e</sup> heure de l'hyperglycémie provoquée orale (HGPO)  $\geq 2$ g/l. Cette définition a été remise en question en 1997. Des nouveaux critères de diagnostic ont été proposés par les experts de l'American Diabète Association (l'ADA) :

- Glycémie à jeun  $\geq 1,26$  g / l (7 mmol / l) et mesuré deux fois.
- Symptômes du diabète (polyurie, polydipsie, perte de poids inexpliqué) + glycémie quelle que soit l'heure du prélèvement compris post-prandiale  $\geq 2$ g/l (11,1mmol/l).
- Glycémie 2 h après 75g de Glu per os  $\geq 2$ g/l.
- L'hémoglobine glycosylée (HbA1c) n'est pas officiellement reconnue comme un indicateur de dépistage du diabète (Kotzki et al., 2001).

#### 4-3-Traitements du diabète sucré

Le traitement médicamenteux du diabète sucré dépend du type du diabète et du degré de déficience d'insuline.

##### 4-3-1-Traitements médicamenteux

###### a-L'insulinothérapie

Le traitement du diabète sucré de type 1 est basé sur l'insuline en administration strictement contrôlée (Thiebault et Sprumont, 2012). Le but de l'insulinothérapie est d'ajuster la glycémie dans des valeurs normales afin de minimiser ou retarder les complications nocives de la maladie sur les tissus et les organes cibles. Souvent, de nombreux ajustements sont nécessaires pour trouver un équilibre entre la glycémie optimale et l'hypoglycémie. D'autres effets, métaboliques ou non, sont contribuent aussi aux bénéfices cliniques de l'insulinothérapie (Ingels et al., 2006). L'insuline a un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie du métabolisme; il active la glycogénèse, la glycolyse, la lipogenèse et la synthèse protéique, et il inhibe la gluconéogenèse et la lipolyse (Zerriouh, 2015).

**b-Les antidiabétiques oraux**

Les antidiabétiques oraux sont le plus fréquemment responsable au traitement des maladies diabétiques de type 2. Ce traitement est basé sur quatre supports qui doivent être mis à jour via une plateforme éducative (hygiène alimentaire, exercice physique, antidiabétiques oraux, insuline et correction des facteurs de risque vasculaire) (Hirszowski et al., 2001). Les classes médicamenteuses disponibles dans le monde sont :

- Les biguanides avec un seul principe actif, la metformine
- Les insulinosécreteurs avec deux classes : Les sulfamides hypoglycémiantes et les glindines
- Les inhibiteurs des alphaglucosidases : Acarbose et Miglitol
- Les thiazolidinediones (glitazones)
- Les Inhibiteurs des DPP-4 (Gliptines)

**4-3-2-Phytothérapie antidiabétique.**

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), on estime plus de 425 millions de personnes atteintes de diabète dans le monde en 2014. La prévalence de cette maladie progresse très rapidement dans les pays à revenu faible ou intermédiaire. L'OMS prévoit qu'en 2030, le diabète sera la 7<sup>e</sup> cause de décès dans le monde (OMS, 2020).

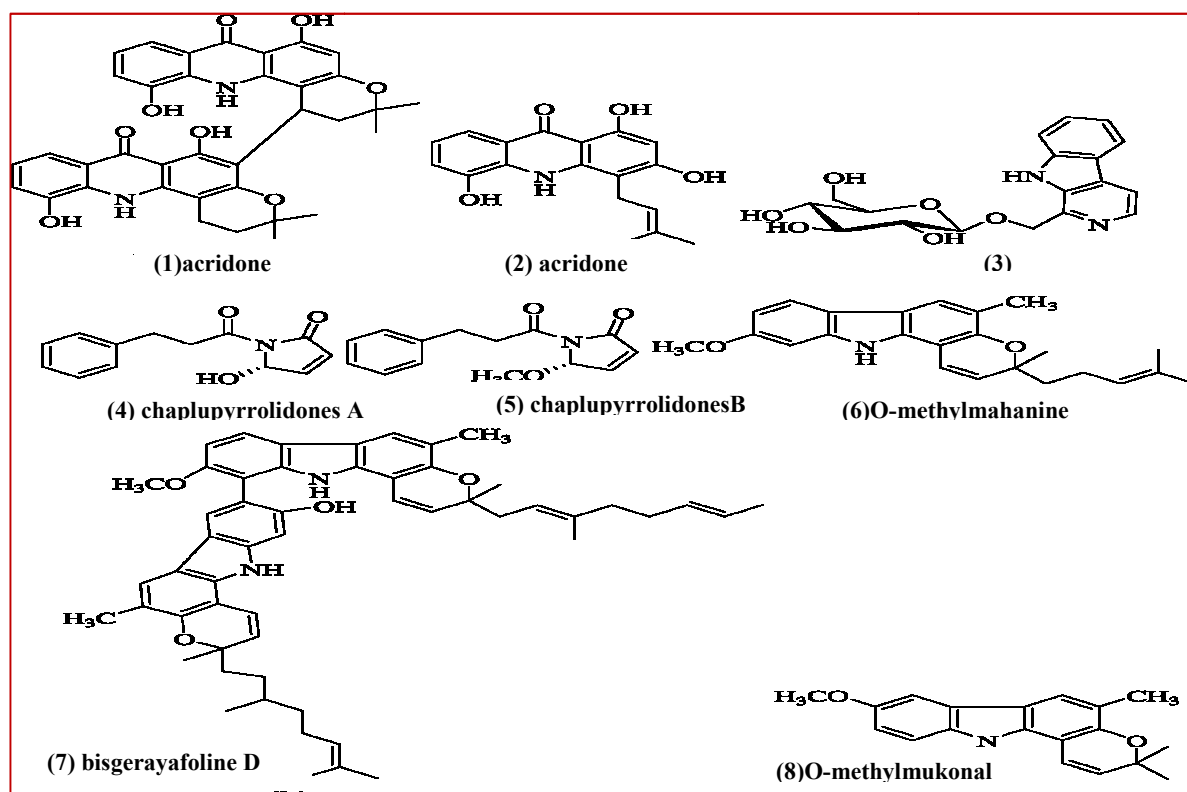
En Algérie, le nombre de malades diabétiques dépasse un million en 1993, plus de 2,5 millions en 2007 et peut atteindre 4.2 millions de la population en 2025 (Mesbah, 2010 ; Dali-Sahi et al., 2012).

Un régime alimentaire sain, l'activité physique, des médicaments, un dépistage régulier et le traitement des complications permettent de traiter le diabète et d'éviter ou de retarder les conséquences qu'il peut avoir (OMS, 2020). Cependant, les coûts élevés des soins pour la population des pays pauvres, qui accèdent difficilement aux médicaments modernes, orientent les malades vers les remèdes traditionnels à base des plantes médicinales (Benkhigue et al., 2014).

Nombreuses recherches ethnobotaniques ont été menées à travers le monde sur les plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel de la maladie du diabète. De même beaucoup des travaux ont été réalisés sur des substances bioactives purifiées issues de plantes à activité antidiabétique. Dans le tableau 19 et les figures 18, 19 et 20 sont résumés les activités antidiabétique de quelques substances bioactives.

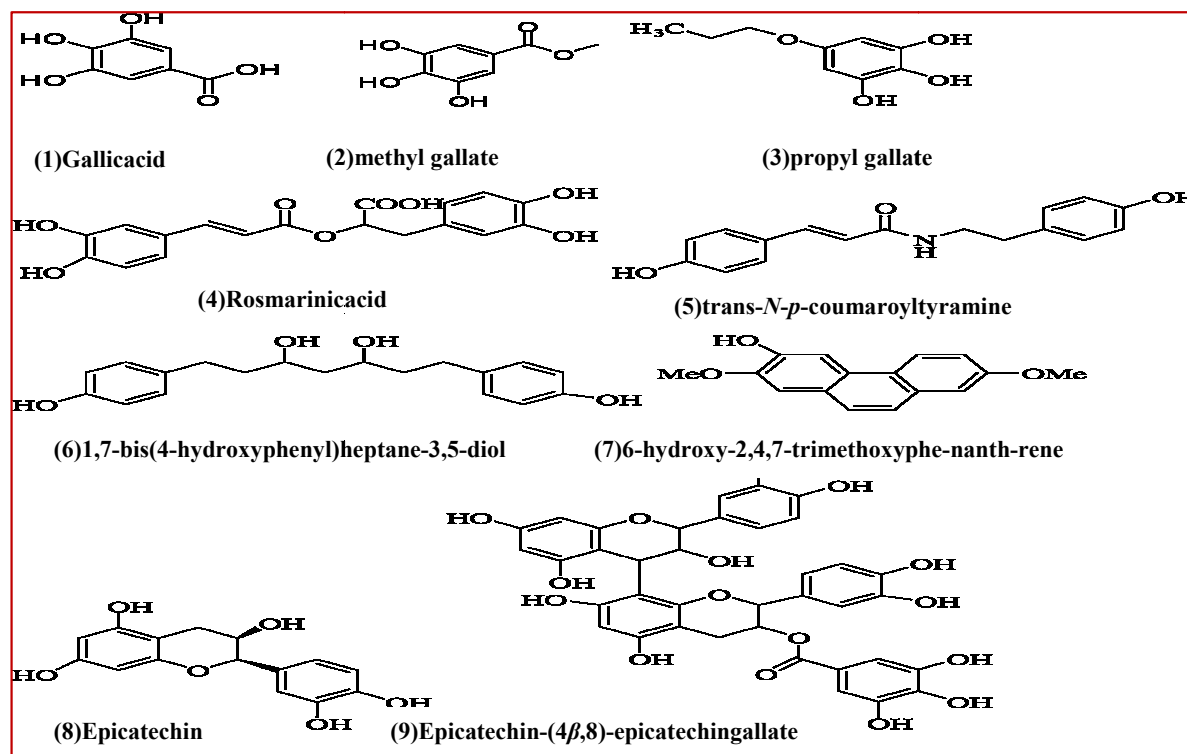
Tableau 20. Quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète

Non scientifiques	Famille	Partie utilisé	Références
<i>Ajugaiva</i> (L.) Schrebr. <i>Calamintha officinalis</i> Moench (CO)	<i>Lamiaceae</i>	Plante sans racine Parties aériennes	Rebbas et al.,2012 Eddouks et al.,2017
<i>Artemisia herba-alba</i> <i>Cynara cardunculus</i>	<i>Astéraceae</i>	Partie aérienne	El Amrani et al.,2010
<i>Thymelaea hirsuta</i> <i>Daphne gnidium</i> L.	<i>Thymelaeaceae</i>	Partie aérienne Feuilles	El Amrani et al.,2010 Eddouks et al.,2017
<i>Anabasis articulata</i> (Forssk) Moq, <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. Mkhinza	<i>Chenopodiaceae</i>	Feuilles Feuilles, fleurs	Kambouche et al.,2009 Eddouks et al.,2017
<i>Momordica charantia</i> L. <i>Citrullus colocynthis</i> (L.) Schrad	<i>Cucurbitaceae</i>	Fruits	Rammal et al.,2009 Eddouks et al.,2017
<i>Lepidium sativum</i> L. <i>Eruca Sativa</i> Mill.	<i>Brassicaceae</i>	Graine Parties aériennes	El Amrani et al.,2010 Eddouks et al.,2017
<i>Allium cepa</i> <i>Allium sativum</i>	<i>Liliaceae</i>	Bulbes	Goetz & Ghedira.,2012
<i>Zingiber officinale</i> L.	<i>Zingiberaceae</i>	Rhizomes	Akhani et al.,2004
<i>Citrus limon</i> L. <i>Ruta graveolens</i>	<i>Rutaceae</i>	Partie aérienne, Racines	Eddouks et al.,2017
<i>Hammada scoparia</i>	<i>Amaranthaceae</i>	La partie aérienne	Zerriouh,2015



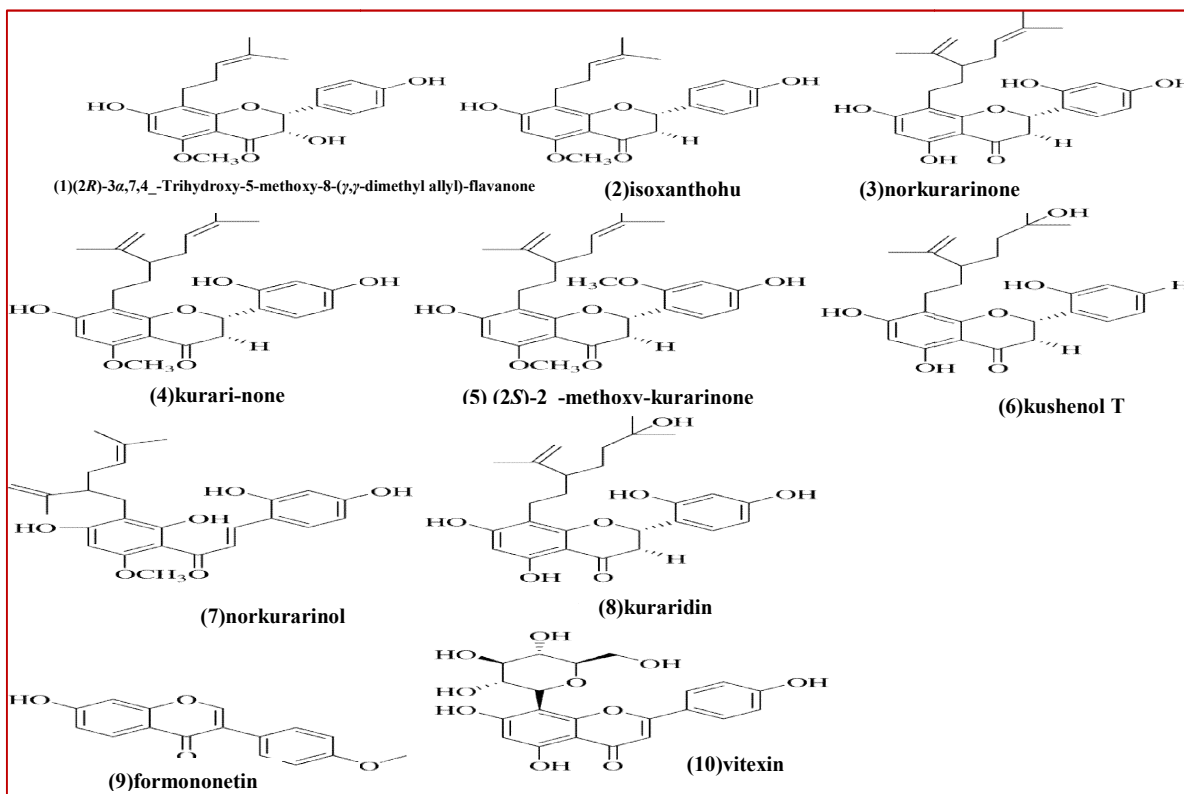
Les composés sont isolés de : (1,2) *Oriciopsis glaberrima* ENGL, (3) *Buthus martensii* Karsch, (4,5) *Pipersarmentosu oldhamiana*, (7-8) *Murrayakoenigii*.

Figure 18. Exemples des alcaloïdes à activité antidiabétique (Yin et al., 2014)



Les composés sont isolés de : (1) plusieurs espèces, (2) *Terminalia superba*, (3) green tea, (4) *P. madagascariensis*, (5,6,7) *Dioscorea opposita*, (8,9) *Rhodiola crenulata*

Figure 19: Exemples des phénols à activité antidiabétique (Yin et al., 2014)



Les composés sont isolés de : (1-9) *Sophora flavescens*, (10) *Microctis folium*  
**Figure 20.** Exemples des flavonoïdes à activité antidiabétique (Yin et al., 2014)

**DEUXIÈME PARTIE**

**PARTIE**

**EXPERIMENTALE**

# **CHAPITRE I : Matériel et Méthodes**

## 1-Rappel des objectifs

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés à étudier trois plantes médicinales et fourragères en réalisant une extraction des huiles essentielles et son caractérisation par GC/MS et une préparation des extraits à l'aide des solvants aqueux et organiques ainsi que des dosages des polyphénols et des flavonoïdes de ces extraits. Ensuite, nous avons évalué ses activités biologiques *in vitro* : activité antioxydante, antimicrobienne, anti-Alzheimer et antidiabétique.

## 2-Matériel

### 2-1-Matériel végétal

Le matériel végétal retenu dans le présent travail est représenté par trois plantes médicinales et fourragères récoltées pendant la période de floraison au Nord-Sud algérien par le professeur Rebbas de l'université de M'sila : la plante *Pulicaria arabica* a été récoltée le 7 juin 2018, en amont du village Ghafsitaine (Nord de Maâdid, Bordj Bou Arreridj) à 1049 m d'altitude ; la plante *Erucaria uncata* a été collectée dans la région de Bou Saada (M'sila) le 6 mars 2018 et la troisième plante *Thymelaea hirsuta* a été récoltée dans la région de Hammam Dalaa (M'sila) le 3 mars 2018. Les plantes fraîchement récoltées sont séchées pendant plusieurs jours dans un endroit sec, aéré à l'abri de la lumière et à température ambiante puis coupées en petits morceaux et broyées finement et conservées jusqu'à l'utilisation.

### 2-2-Appareillage et produits chimiques

Les principaux appareils et produits utilisés au cours de notre travail sont :

#### ▪ Appareils

Hydrodistillateur de type Clevenger, Rotavapeur de type (BUCHI, R215, Switzerland), Lyophilisateur de type CHRIST alpha 1-4 LD PLUS, Lecteur de microplaque (Perkin Elmer, Enspire), Etuve, Balance de précision, Vortex, Balance, Autoclave, Appareil de GC/MS (Agilent 7890A GC/5975C MSD).

#### ▪ Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans ce travail proviennent de plusieurs firmes : les sels et les réactifs de grade analytique proviennent tous de Sigma alors que les solvants sont obtenus auprès de Biochem, Fluka, pharmacia, Merck, Panreac et prolabo : Méthanol, Dichlorométhane, acétone, éthanol, FCR, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acide gallique, (Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 9H<sub>2</sub>O), (CH<sub>3</sub>COOK), quercetin, DPPH, α-tocopherol, BHA, BHT, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, ABTS, FeCl<sub>2</sub>, ferrozine, EDTA, TCA, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, FeCl<sub>3</sub>,

Chloroforme,  $\beta$ -carotène, linoleic acid, Tween 40, Acétate d'ammonium, (Cu Cl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O), Neocupronin, (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,2H<sub>2</sub>O), NaHCO<sub>3</sub>, NaOH, DTNB, ACI (Acetylthiocholineiodide), BuCI (S-Butyrylthiocholineiodide), AChE, BChE, Galantamine, alpha-glucosidase, Acarbose.

### **2-3-Les souches testées**

Les souches microbiennes ciblées pour évaluer l'activité antimicrobienne sont fournies par l'institut Pasteur (Alger) et le laboratoire de mycologie du centre de recherche en biotechnologie (Crbt) de Constantine. Elles sont choisies pour leur résistance à différents types d'agents antimicrobiens, pour leur grande capacité à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité.

- Bactérie à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Bacillus cereus* (ATCC 10876)
- Bactérie à Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
- Champignons: *Candida albicans* (ATCC 10231) et *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*

### **2-4-Les milieux de cultures utilisés**

- Bouillon nutritif pour la réactivation des souches conservées à 4°C
- L'eau physiologique stérile pour préparer les suspensions bactériennes
- Bouillon Mueller-Hinton pour déterminer la CMI
- Gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes
- Gélose Mueller-Hinton pour tester la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes
- Gélose sabouraud pour tester la sensibilité de levure aux différents extraits de plantes
- Gélose PDA pour tester la sensibilité du champignon aux différents extraits de plantes

## **3-Méthodes**

### **3-1-Préparation des extraits bruts et des huiles essentielles**

#### **3-1-1-Préparation des extraits bruts**

20 g de la matière végétale de chaque plante sont mises en contact de 200 ml du solvant. Les solvants utilisés sont : dichlorométhane, acétone, eau/méthanol (30 :70) et eau. L'extraction est réalisée par macération sous agitation pendant trois jours à l'abri de la lumière et à température ambiante. Les extraits obtenus sont filtrés sur papier filtre et sous pression. Les différents filtrats obtenus sont concentrés à sec par évaporation rotative dans un rotavapeur et

lyophilisés dans un lyophilisateur de type CHRIST alpha 1-4 LD PLUS. Les résidus obtenus sont conservés à 4°C dans des flacons en verre fumé pour une utilisation ultérieure.



**Figure 21.** Photo de rotavapeur utilisé pour concentrer sous vide les différents extraits des plantes.



**Figure 22.** Photo de lyophilisateur utilisé pour sécher les différents extraits aqueux des plantes.



**Figure 23.** Les différents extraits de plantes obtenus.

### 3-1-2-Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles des plantes est faite par la méthode d'hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. 100 g de la matière végétale est introduit dans un ballon en verre et imprégné avec une quantité d'eau distillée suffisante pour recouvrir la matière, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 4 heures à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées des huiles essentielles traversent le réfrigérant se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile sont séparées par différence de densité. Les huiles essentielles obtenues sont déshydratées par le sulfate de magnésium ( $MgSO_4$ ) et conservées à 4°C dans des flacons en verre opaques, hermétiquement fermés.



Figure24. Appareil de Clevenger.

### 3-2-Préparation des concentrations des extraits

Les concentrations des extraits sont préparées à partir d'une solution mère de 8mg/ml pour l'activité antioxydant et 4mg/ml pour l'activité enzymatique. Le solvant est choisi selon l'extrait ; Le méthanol pour les extraits organiques (EMeOH/H<sub>2</sub>O, EACT, EDCM), l'eau distillée pour les extraits aqueux (EH<sub>2</sub>O) et le DMSO pour les huiles essentielles (EHes). Une série de 7 dilutions ont été préparés comme suit :

- (1/1) —→ 8 mg ou 4mg (extrait) + 1000µl du solvant
- (1/2) —→ 500µl solvant+ 500µl de (1/1)
- (1/4) —→ 500µl solvant+ 500µl de (1/2)
- (1/8) —→ 500µl solvant+ 500µl de (1/4)
- (1/16) —→ 500µl solvant+ 500µl de (1/8)
- (1/32) —→ 500µl solvant+ 500µl de (1/16)
- (1/64) —→ 500µl solvant+ 500µl de (1/32)

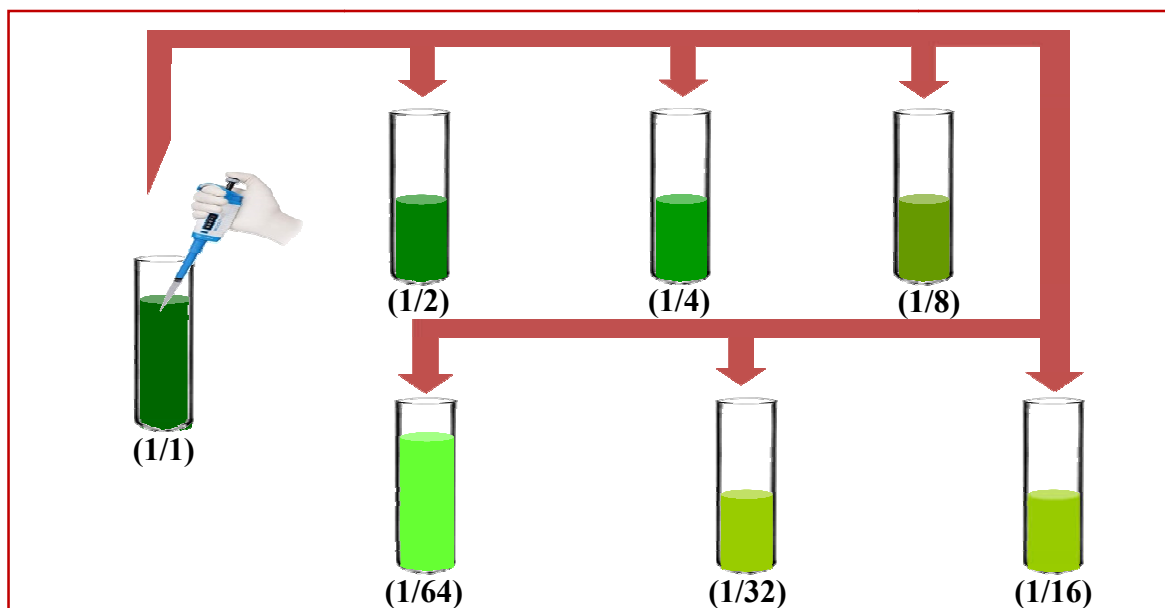


Figure 25. Préparation des dilutions des extraits

### 3-3-Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

#### 3-3-1-Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée par une méthode de dosage sur microplaque décrite par **Muller et al. (2010)**. La méthode consiste à déposer 20  $\mu\text{l}$  de l'extrait (Une masse de 1 mg d'extrait dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée ou méthanol) dans une microplaque à 96 puits, ensuite 75  $\mu\text{l}$  de la solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5% et 100  $\mu\text{l}$  du réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1: 10) sont respectivement ajoutés. Le mélange obtenu est incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 2 heures. L'absorbance est ensuite mesurée à 765 nm dans un lecteur de microplaque. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). Une courbe étalon est réalisé en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations (25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 75  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 150  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 175  $\mu\text{g}/\text{ml}$  et 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait.

#### 3-3-2-Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux est évaluée selon la procédure de dosage sur microplaque décrite par **Topçu et al. (2007)** avec quelques modifications. La méthode consiste à transférer 50  $\mu\text{l}$  d'extrait de plante (1 mg d'extrait dissoute dans 1 ml d'eau distillée ou de méthanol), 130  $\mu\text{l}$  de méthanol (MeOH), 10  $\mu\text{l}$  d'acétate de potassium 1M ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) et 10  $\mu\text{l}$  de nitrate

d'aluminium 10% ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_2, 9\text{H}_2\text{O}$ ) respectivement dans une microplaque 96 puits. Le mélange obtenu est incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 40 min. L'absorbance est ensuite mesurée à 415 nm dans un lecteur de microplaque. Une courbe étalon est réalisé en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant la quercétine comme standard à différentes concentrations (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 175  $\mu\text{g}/\text{ml}$  et 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de quercétine (EQ) par gramme d'extrait.



Figure 26. Lecteur de microplaque (Perkin Elmer, Enspire).

### 3-4-Analyse des huiles essentielles par GC/MS

La caractérisation chimique des huiles essentielles est réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GC/MS).

Les analyses en CPG couplée à la spectrométrie de masse sont faites avec un chromatographe de type GC 7890 B (HP Agilent Technologies), équipé d'une colonne capillaire de type HP 5-MS (30 m x 250 $\mu\text{m}$  x 0,25 $\mu\text{m}$ ) couplé à un spectromètre de masse de type MS-5977 A (HP Agilent Technologies) avec un détecteur scan à impact d'électrons. Les conditions d'analyse sont les suivants : le gaz vecteur utilisé est l'hélium dont le débit est réglé à 1ml/mn, la température de l'injecteur est de 250°C. L'Injection, effectuée en mode split (1/100), est de 0,2  $\mu\text{L}$  d'huile essentielle pour la plante *Erucaria uncata* et de 1  $\mu\text{L}$  pour la plante *Pulicaria arabica* et la plante *Thymeleae hirsuta*. La température du détecteur est de 250°C. La température du four est programmée comme suit : pour la plante *Erucaria uncata*, la température initiale a été fixée à 50°C pendant 10 min, puis progressivement augmentée à 260°C avec un gradient de 5°C/min, pour la plante *Thymeleae hirsuta*, la température initiale a été fixée à 35°C pendant 3 min, puis élevée avec un gradient de 5°C/min à 250°C pendant 10 min. Tandis que pour la plante *Pulicaria arabica*, la température initiale est programmée à 60°C pendant 4 min puis élevée avec un gradient de 4°C / min à 260°C .

L'identification des composés des huiles essentielles est effectuée par la comparaison des indices de rétention des composés inconnus et de leurs spectres de masse à ceux des composés fournis par la base de données NIST11 et wiley 9 et la littérature Adams (2007).



Figure 27. Appareil de GC/MS (Agilent 7890A GC/5975C MSD)

### 3-5-Evaluation de l'activité antioxydante

Dans la présente étude, le pouvoir antioxydant *in vitro* des extraits (dichlorométhanique, acétonique, hydrométhanolique et aqueux) et des huiles essentielles des trois plantes est évalué selon 7 procédés : piégeage du radical libre DPPH, piégeage des radicaux-cation ABTS, chélation du fer, réduction de l'ion ferrique, blanchissement du beta-carotène/acide linoléique, réduction du cuivre CUPRAC et réduction du ligand phénanthroline.

#### 3-5-1-Méthode de piégeage du radical libre DPPH

##### ▪ Principe

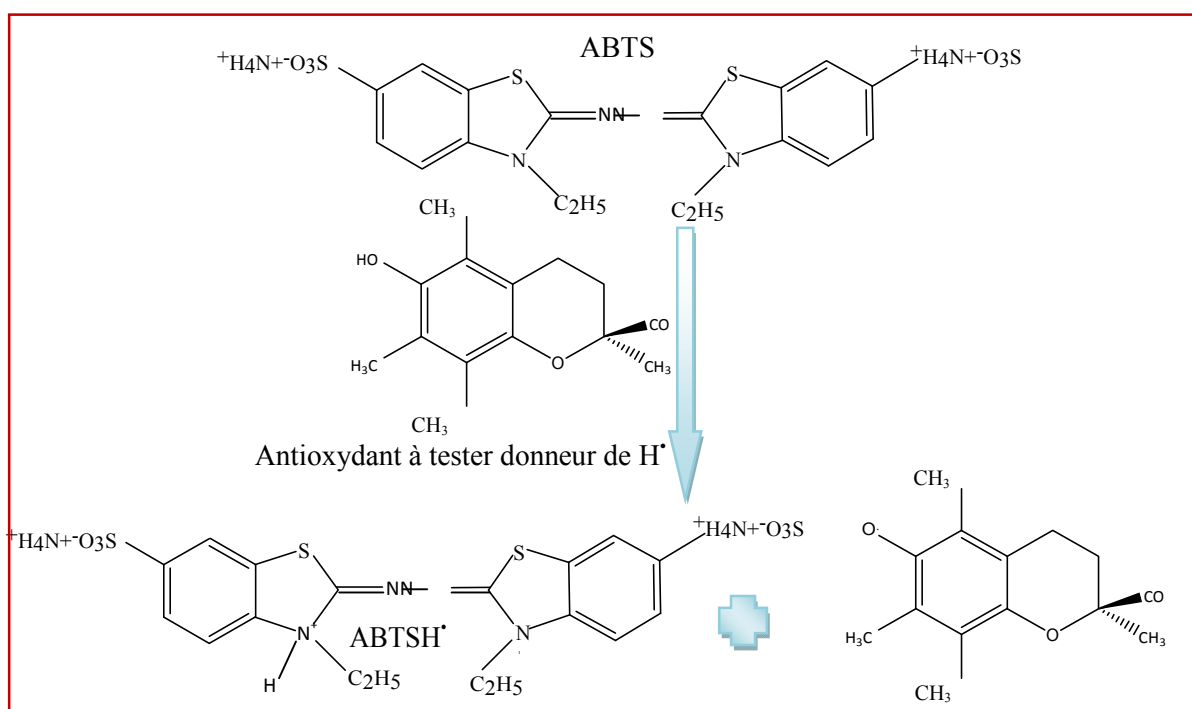
Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres DPPH. Le  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable, de couleur violette. Ce radical est capable de réagir en présence d'un composé antioxydant donneur d'atome d'hydrogène, il se réduit et devient jaune. Le changement et l'intensité de la coloration du violet au jaune est inversement proportionnel à l'activité antioxydante.



### 3-5-2-Méthode de réduction des radicaux-Cation ABTS

#### ▪ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de la réduction des radicaux-cations ABTS. L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) ABTS est un cation radicalaire stable prend la couleur bleu verte. Lorsqu'il est en présence d'un antioxydant classique de type phénols et thiols mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron, il se réduit et donne un composé incolore ABTS-H<sup>+</sup> (Re et *al.*,1999 ; Rice-Evans et Miller, 1994; Rice-Evans et *al.*,1995 ; Antolovich et *al.*, 2002).



**Figure 30.** Réduction du radical ABTS avec un antioxydant donneur de H<sup>+</sup>  
(Marc et *al.*, 2004)

#### ▪ Protocole expérimentale

L'activité antioxydant des extraits des plantes par la réduction des radicaux- Cation ABTS (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique) est déterminée par la méthode décrite par Re et *al.* (1999). Un volume de 160 µl de la solution d'ABTS<sup>+</sup> est ajouté à 20 µl d'extrait de plante à différentes concentrations dans une microplaque à 96 puits. L'absorbance est ensuite lue à 734 nm après 10 min d'incubation à l'obscurité dans un lecteur de microplaque. Le BHA et le BHT sont utilisés comme des standards antioxydants. Le pourcentage de l'activité scavenger du radical d'ABTS<sup>+</sup> est exprimé en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$$I (\%) = (A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{test}} / A_{\text{Contrôle}}) \times 100$$

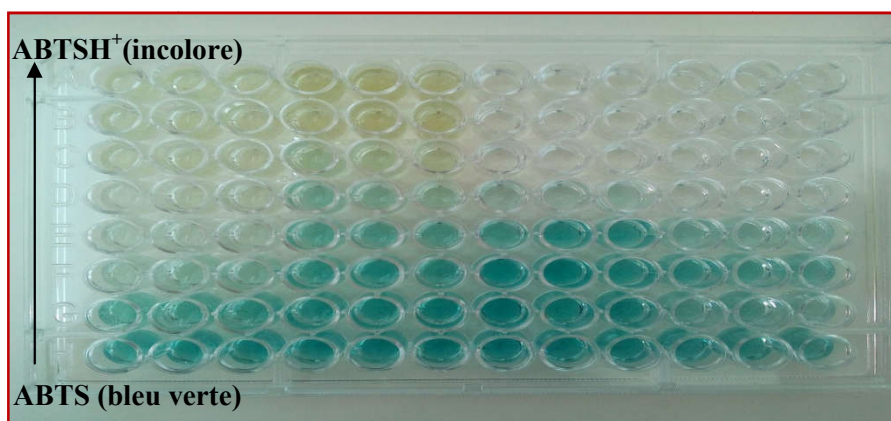


Figure 31. Résultat du test ABTS sur microplaque.

### 3-5-3-Méthode de réduction de l'ion ferrique

#### ▪ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de la capacité d'un composé réducteur dans l'extrait testé à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe ferricyanure ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) ou le complexe 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,2,5-triazine (TPTZ) (fig. 33) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (Thaipong *et al.*, 2006 ; Bentabet *et al.*, 2014). Dans un milieu acide, le ferricyanure de potassium qui prend la couleur jaune forme des complexes ferreux verts après sa réduction et le TPTZ forme des complexes ferreux bleus dont l'intensité de la couleur dépend de la capacité de réduction des antioxydants présents dans le milieu. Cette méthode est simple, rapide, peu coûteuse, robuste et ne nécessite pas un équipement spécial. Elle peut être effectuée manuellement (Prior *et al.*, 2005).

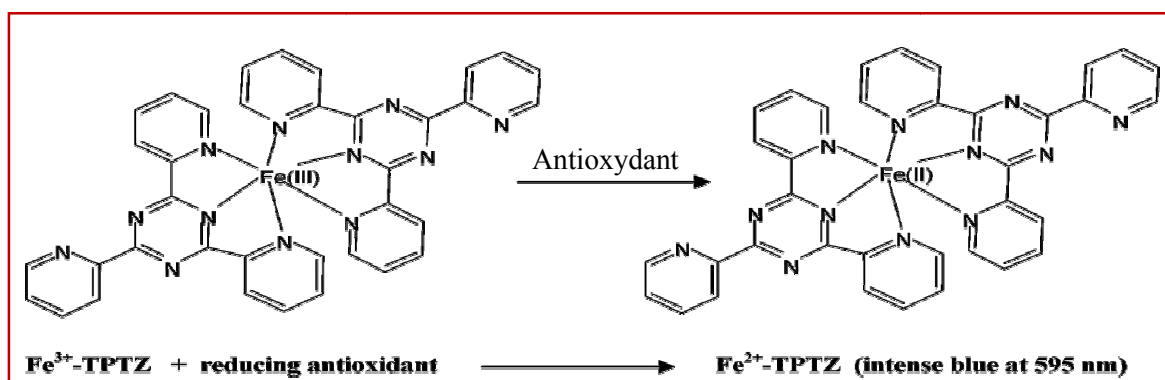


Figure 32. Réduction de l'ion ferrique par un antioxydant (Prior *et al.*, 2005 ; Nadal, 2009).

#### ▪ Protocole expérimentale

Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) des extraits des plantes est déterminé selon la méthode décrite par Oyaiz (1986) avec des légères modifications. Un volume de 10  $\mu\text{l}$  d'extrait de plante à différentes dilutions est mélangé avec 40  $\mu\text{l}$  d'une solution tampon phosphate (pH=6,6) et 50  $\mu\text{l}$  d'une solution de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) à 1% (1 g de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  dans 100 ml

H<sub>2</sub>O). L'ensemble est incubé à l'étuve à 50<sup>0</sup>C pendant 20mn. Après l'incubation, 50 µl d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% (1 g de TCA dans 10 ml H<sub>2</sub>O) sont ajoutés avec 40 µl de l'eau distillée et 10 µl d'une solution aqueuse de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 0,1% (0,1 g de FeCl<sub>3</sub> dans 100 ml H<sub>2</sub>O). La lecture des absorbances du mélange sont enregistrées à 700 nm dans un lecteur de microplaque. Le standard est représenté par l'antioxydant BHA dont l'absorbance est estimée dans les mêmes conditions expérimentales que les extraits. Une augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel correspond à une augmentation de la capacité de réduction des extraits testés.

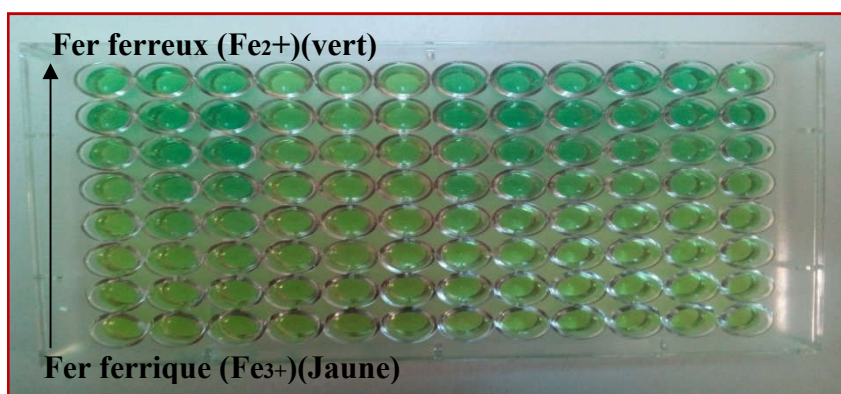


Figure 33. Résultat du test du pouvoir réducteur sur microplaque.

### 3-5-4-Méthode de blanchissement du beta-carotène/acide linoléique

#### ▪ Principe

Le principe de cette technique consiste à mesurer le blanchissement du  $\beta$ -carotène par un système d'émulsion contenant l'acide linoléique. Ce dernier génère des radicaux peroxydes qui vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène hautement insaturé, ce qui entraîne la perte de sa couleur jaune. La présence des antioxydants standards ou d'extraits de plantes réduit la cinétique de réaction en neutralisant les radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes et permet donc la prévention de l'oxydation et la décoloration du  $\beta$ -carotène (Unten et al., 1997 ; Bourkhiss et al., 2010).

#### ▪ Protocole expérimentale

L'évaluation de la capacité des extraits des plantes à inhiber le blanchissement de l'émulsion du  $\beta$ -carotène/acide linoléique est réalisé par la méthode de Marco (1968). Une émulsion du  $\beta$ -carotène/acide linoléique est préparée en dissolvant une masse de 0,5 mg de  $\beta$ -carotène dans 1 ml de chloroforme, cette solution est additionnée à 20 µl d'acide linoléique et 200 µl de Tween 40. Après l'élimination du chloroforme par évaporation dans un évaporateur

rotatif, un volume de 50 ml d'eau oxygéné  $H_2O_2$  sont ajoutées avec agitation vigoureuse et l'absorbance est ajustée à 0,8-0,9 à 470 nm. Ensuite, 160  $\mu$ l de cette émulsion sont mélangés à un volume de 40  $\mu$ l de chaque extrait de plante pour les différentes concentrations dans une microplaque. La lecture de l'absorbance est estimée en utilisant un lecteur de microplaque à 470 nm à 0 min. Après la microplaque est incubée dans une étuve à 45°C et les valeurs d'absorbance sont enregistrées après 120 min. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standards. Le pourcentage d'inhibition I (%) des extraits testés est déterminé selon la formule suivante:

$$I \% = 1 - (A_{t=0} - A_{t=120} / A_{0t=0} - A_{0t=120}) \times 100$$

Où :

I (%): Pourcentage d'inhibition

$A_{t=0}$  et  $A_{t=120}$ : Valeur des Absorbances des échantillons testés à 0mn et 120mn respectivement

$A_{0t=0}$  et  $A_{0t=120}$ : Valeur des Absorbances du control positif à 0mn et 120mn respectivement

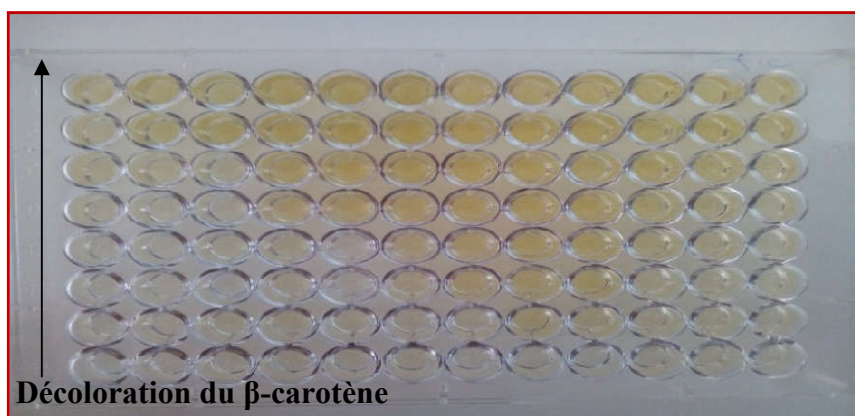


Figure 34. Résultat du test du beta-carotène sur microplaque

### 3-5-5-Méthode de réduction du cuivre CUPRAC

#### ▪ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de  $Cu(II) \rightarrow Cu(I)$  en présence d'un agent antioxydant donneur d'électron. En effet, le complexe cuivre-neocuproène ( $Cu(II)-Nc$ ) est réduit en un complexe chromogène de couleur jaune orangé ( $\lambda_{max} = 450$  nm) par réception d'un électron des antioxydants de type polyphénols, thiols ou vitamines. Cette méthode est largement utilisée actuellement dans les principaux centres de recherche mondiaux en sciences alimentaires et pour des recherches sur les antioxydants (Bensouci, 2014 ; Apak *et al*, 2018).

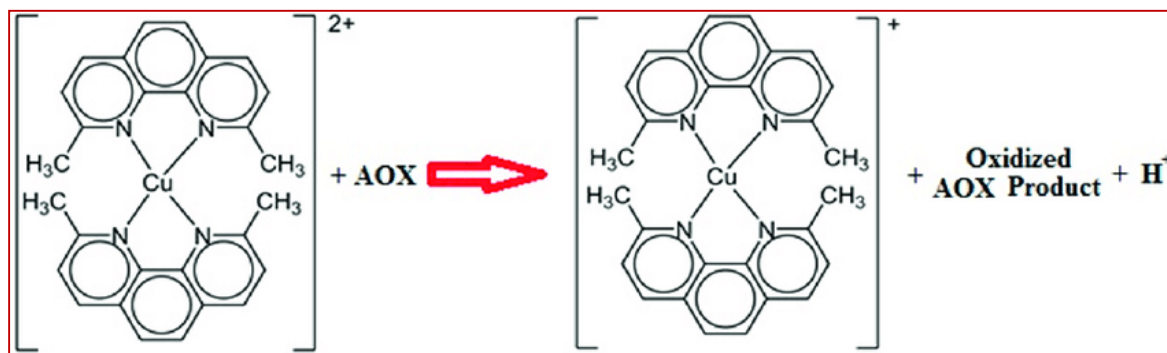


Figure 35. Réduction de l'ion cuivrique ( $\text{Cu}^{2+}$ ) par un antioxydant. (Apak *et al.*, 2018).

#### ▪ Protocole expérimentale

Le pouvoir réducteur des ions de cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) par les extraits des plantes est évalué par la méthode CUPRAC décrite par Apak *et al.* (2004). Un volume de 40  $\mu\text{l}$  d'extrait de plante à différentes concentrations est déposé dans une microplaque de 96 puits. Par la suite, un volume de 50  $\mu\text{l}$  de  $\text{CuCl}_2$  (10 mM), 50  $\mu\text{l}$  de Neocuprine (7,5 mM), et 60  $\mu\text{l}$  de solution tampon  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  (1 M, pH = 7,0) sont ajoutés. Les microplaques sont à l'abri de la lumière pendant 1h. Après incubation, l'absorbance est mesurée à 450 nm dans un lecteur de microplaque. La capacité de réduction du cuivre par les extraits est comparée à celles des antioxydants standards BHA et BHT dont les absorbances sont estimées en suivant le même protocole. Les résultats sont calculés à titre de A0,5 ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

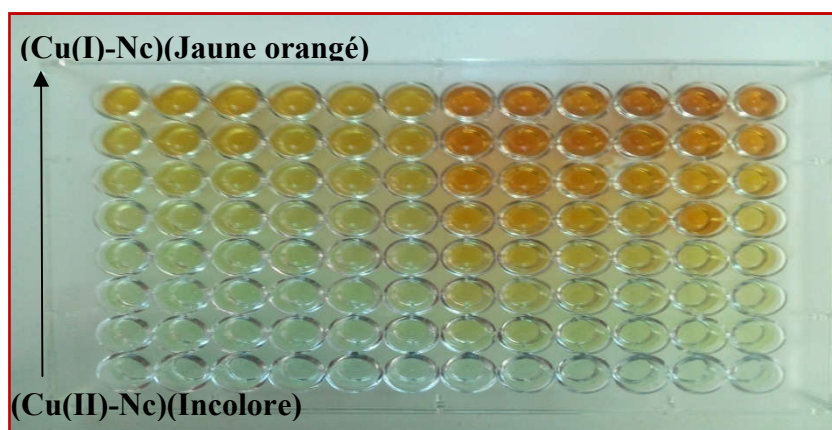


Figure 36. Résultat du test du CUPRAC sur microplaque

### 3-5-6-Méthode de chélation du fer

#### ▪ Principe

Le principe de cette méthode est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrosine après le traitement des échantillons avec les ions  $\text{Fe}^{2+}$  (Le *et al.*, 2007).

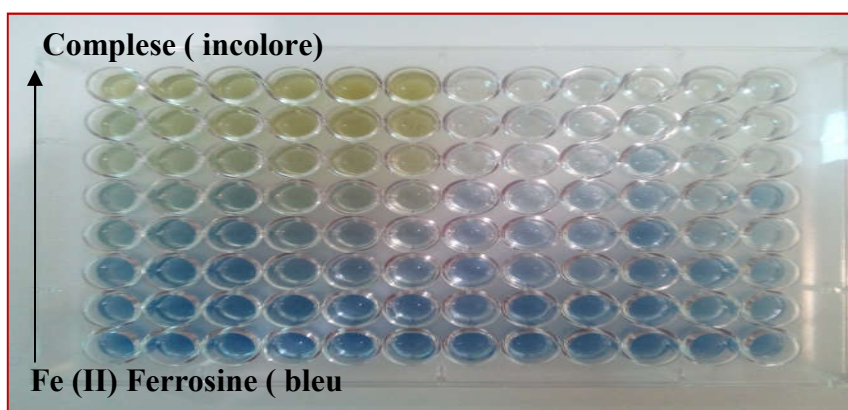
### ▪ Protocole expérimentale

L'activité de chélation du fer par les extraits des plantes est déterminée selon la méthode de **Decker et Welch. (1990)**. Le protocole consiste à ajouter 40 µL de méthanol à 40 µl d'extrait de plante à différentes dilutions dans une microplaque à 96 puits auxquels sont ajoutés 40 µl de la solution de chlorure de fer (0,2 mM) et 80 µl de Ferene (0,5mM). La réaction nécessite 10 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. La lecture de l'absorbance est faite à 593 nm dans un lecteur des microplaques. Le control est le mélange de FeCl<sub>2</sub> et de Ferene. L'activité de chélation des extraits est comparée à un standard de chélation ; Éthylène diamine tétra acétique(EDTA). L'effet de l'alkylation des ions de fer est évalué par l'équation suivante :

$$I(\%) = [(A_S - A_C) / A_C] * 100$$

A<sub>S</sub> : Absorbance du control blanc

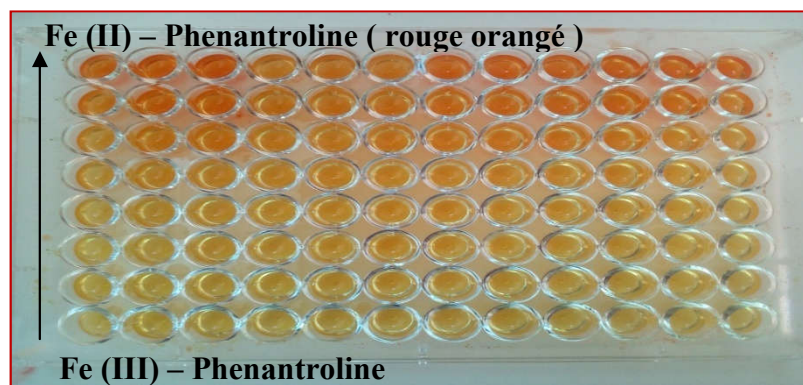
A<sub>C</sub> : Absorbance des solutions d'extrait



**Figure 37.** Résultat du test de chélation du ferre sur microplaque.

### 3-5-7-Méthode de réduction du ligand phénanthroline

La capacité de réduction du ligand phénanthroline par les extraits des plantes est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniaka (2008)**. La méthode consiste à mélanger 10µl d'extrait de plante à différentes concentration (de 12,5µg/ml à 800µg/ml) ou de BHT comme standard avec 50 µl de chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> (0,2%), 30 µl de phénanthroline (0,5%) et 110µl de MeOH et en mesurant les absorbances à 510 nm après l'incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C. Les valeurs A<sub>0,5</sub> sont estimées à partir des courbes d'absorbance.



**Figure 38.** Résultat du test phénanthroline sur microplaque.

### 3-6-Evaluation de l'activité antimicrobienne

Dans la présente étude, l'évaluation de l'activité antimicrobienne de nos extraits est déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé ou méthode des disques, la méthode des puits, la méthode de dilution en milieu liquide et la méthode de contact direct.

#### 3-6-1- Méthode de diffusion en milieu gélosé

- **Préparation des suspensions bactériennes**

Chaque espèce bactérienne conservée est d'abord inoculée dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 24 h pour enrichissement, ensuite un repiquage par stries est réalisé dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive pour obtenir des cultures jeunes de 18h à 37°C. À partir de ces cultures jeunes et à l'aide d'une anse de platine 4 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques sont chargées dans des tubes contenant 9 ml de l'eau physiologique stérile NaCl à 0,9%. La densité des suspensions bactériennes obtenues doit être équivalente à la densité du standard Mac Farland 0,5 (DO comprise entre 0,08 et 0,10 lu à 625 nm équivalent à environ  $10^8$ UFC/ml) (SFM, 2012-2013).

- **Protocole expérimentale**

La technique utilisée est celle décrite par **Rios et al., (1988)** avec des modifications. Les boîtes de Pétri de 9 cm de diamètres sont coulées aseptiquement par la gélose de Muller Hinton à une épaisseur de 4 mm par boîte. Après solidification et à l'aide d'un écouvillon stérile, 100µl de suspension bactérienne de concentration d'environ  $10^8$ UFC/ml sont inoculés sur la totalité de la surface de la gélose séchée. Ensuite des disques du papier Wattman N°4 sont déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose inoculée, puis imprégnés à l'aide d'une micropipette par 15µl de chaque extrait de plante à concentration de 8mg/ml. Les boîtes de pétri

sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 15 min puis incubées à l'étuve pendant 24h à 37°C. L'expérience est répétée en triplet pour chaque extrait et pour chaque bactérie pour minimiser les erreurs expérimentales. La lecture des résultats est faite par la mesure du diamètre des halos d'inhibitions autour des disques. D'après **De Billerbeck (2007)**, les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité :

- résistant (-) ( $\emptyset < 6\text{mm}$ ),
- intermédiaire (+) ( $6\text{mm} < \emptyset < 13\text{mm}$ ),
- et sensible (++) ( $\emptyset > 13\text{mm}$ ).

### **3-6-2-Méthode des puits**

Le principe et le mode opératoire de cette méthode sont les mêmes que ceux de la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Elle est réalisée selon la méthodologie mentionnée par **Berghe et Vlietinck (1991)** avec certaines modifications. D'abord, des boîtes de Pétri, coulées avec la gélose de Muller Hinton à une épaisseur de 6mm, sontensemencées par écouvillonnage en utilisant un volume de 100 $\mu\text{l}$  d'une suspension de concentration d'environ ( $10^8\text{ufc/ml}$ ) du microorganisme à tester. Par la suite, des puits de 6mm de diamètre sont réalisés dans la gélose inoculée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile (6 puits par boîtes). Après, un volume de 50  $\mu\text{l}$  de chaque extrait (8 mg diluée dans 1 ml de DMSO) est introduit dans chaque puits pour chaque bactérie. Un puit contenant le DMSO est utilisé comme control négatif. Enfin, les boîtes de Pétri sont laissées à une température ambiante sous la hôte pendant 30 min afin que l'extrait diffuse dans la gélose puis incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. L'activité antimicrobienne est évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des puits. Les tests ont été effectués en triple et les valeurs estimées sont les moyennes de ces trois répétitions.

### **3-6-3-Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La méthode de dilution en milieu liquide en microplaque est utilisée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les différents extraits de plantes étudiées sont dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). Par la suite des dilutions de moitié sont préparées dans une microplaque stérile à 96 puits en utilisant le bouillon Muller Hinton comme diluant. Un volume de 50 $\mu\text{l}$  de la suspension bactérienne à  $10^7\text{ UFC/ml}$  est ajouté dans chaque puits contenant 50 $\mu\text{l}$  de chaque dilution de chaque extrait testé. La concentration bactérienne dans le volume final est de  $5 \times 10^6\text{ UFC/ml}$ . Enfin, la microplaque est couverte et incubée à 37°C pendant 24h. La CMI est définie par la plus faible concentration de l'extrait à laquelle le microorganisme

ne présente pas une croissance visible par rapport au contrôle (réduction de la croissance à 80%). La croissance bactérienne est révélée par la formation d'un culot blanc au fond des cupules. Un contrôle ne contenant pas l'échantillon testé est réalisé. La gentamicine est utilisée comme composé de référence. Chaque extrait est également testé en triplet.

### 3-6-4-Détermination de la concentration minimale Bactéricide (CMB)

Des spots de chaque bactérie à partir des puits positives de la CMI de chaque extrait testé sont déposés sur des boîtes de Pétri coulées par la gélose Muller Hinton. Les boîtes sont ensuite portées à l'incubation à 37°C pendant 24 heures. L'absence de croissance après 24 heures d'incubation présente un effet bactéricide.

### 3-6-5-Méthode de contact direct

L'activité antifongique de différents extraits vis-à-vis du champignon phytopathogène *F.oxysporum* est déterminée par la méthode de contact direct en mesurant la croissance mycélienne du champignon sur le milieu PDA contenant l'extrait testé. Ainsi, un volume de 1 ml de solution de DMSO contenant 5 mg de l'extrait est ajouté à 100 ml de milieu PDA à 60°C, préalablement stérilisé puis distribué en 3 boîtes de Pétri. De même, 1 ml de DMSO est ajouté à 100 ml de milieu PDA et considéré comme un contrôle positif. Le contrôle négatif contient seulement le milieu PDA (Song et al., 2004). Un disque de 5 mm de diamètre est prélevé d'une culture jeune de champignon et déposé aseptiquement au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA et l'extrait à tester. L'expérience est répétée 4 fois pour chaque extrait. Après 7 jours d'incubation à 28°C, la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène est mesurée à l'échelle millimétrique. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance de champignon par chaque extrait. Ainsi, l'activité d'inhibition est exprimée en pourcentage et calculée selon la formule de Dennis et al. (1971) :

$$I = (C - T / C) \times 100$$

Où : I : Taux d'inhibition en%

C : Croissance radiale du champignon en mm sur le milieu PDA avec DMSO (contrôle)

T : Croissance radiale du champignon en mm sur le milieu PDA contenant l'extrait à tester.

## 3-7-Evaluation de l'activité enzymatique

### 3-7-1-Activité anti-Alzheimer

L'activité inhibitrice d'acétylcholinestérase et de butyrylcholinestérase des extraits est effectuée par une méthode spectrophotométrique décrite par Ellman et al. (1961) avec certaines

modifications. Elle consiste à mélanger 150  $\mu\text{l}$  de tampon phosphate de sodium (0,1M, pH=8) à 10  $\mu\text{l}$  d'une solution méthanolique d'extrait de plante à différentes concentrations et 20  $\mu\text{l}$  de solution de l'enzyme acétylcholinestérase ( $5,32 \times 10^{-3}$  UI) ou de l'enzyme butyrylcholinestérase ( $6,85 \times 10^{-3}$  UI) dans une microplaque de 96 puits. La microplaque est ensuite incubée dans une étuve à 25°C pendant 15 min puis un volume de 10  $\mu\text{l}$  de solution de DTNB [5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)] (0,5 mM) et 20  $\mu\text{l}$  d'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM) ou de chlorure de butyrylthiocholine (0,2 mM) sont additionnés. Les réactions de ces substrats sont suivies par lecture de l'absorbance à 412 nm pendant 20 min à un intervalle de 5 min. La galantamine est utilisée comme standard.

Le pourcentage d'inhibition de l'AChE ou de la BChE est évalué par comparaison des vitesses de réaction des extraits par rapport au témoin (méthanol au lieu d'enzyme dans du tampon phosphate, pH 8) en utilisant la formule suivante :

$$(E - S) / E \times 100$$

Où : E : Activité de l'enzyme sans extrait

S : Activité de l'enzyme avec l'extrait

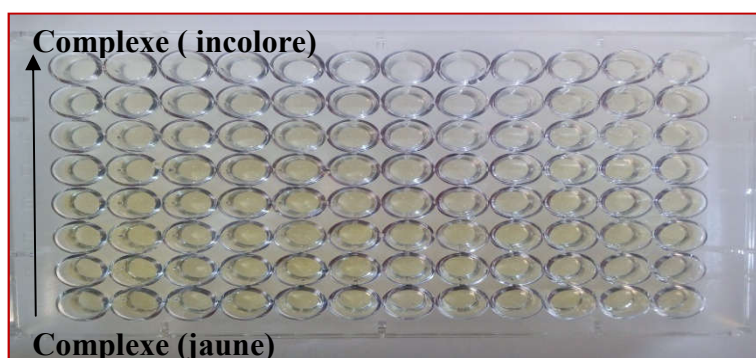


Figure 39. Résultat de l'effet inhibiteur de l'AChE ou BChE sur microplaque.

### 3-7-2-Activité antidiabétique

L'activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase est déterminée *in vitro* selon la méthode de **Lordan et al., (2013)**. Le test est réalisé dans une plaque multi-puits en mélangeant dans chaque puits 50 $\mu\text{l}$  de solution de substrat de p-nitrophényl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (5mM) à 50 $\mu\text{l}$  d'extrait de plante ou de solvant comme un témoin. Ensuite, le mélange est incubé dans une étuve à 37°C pendant 10 min. Après l'incubation, un volume de 100  $\mu\text{l}$  de solution de l'enzyme préparée dans du tampon phosphate (100 mM, pH =6,9) est chargé dans chaque puit et l'absorbance est lue à 405 nm par un lecteur de microplaques de 96 puits. L'acarbose est utilisée comme contrôle positif en surveillant le même protocole de dosage de l' $\alpha$ -glucosidase ci-dessus. Pour chaque extrait l'activité inhibitrice a été calculée comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs de l'extrait} - \text{Abs de Blanc}) / \text{Abs de control} \times 100$$

Où : Control : Enzyme + Substrat + Solvant de l'extrait.

Blanc : Substrat + Extrait + Tampon de l'enzyme.

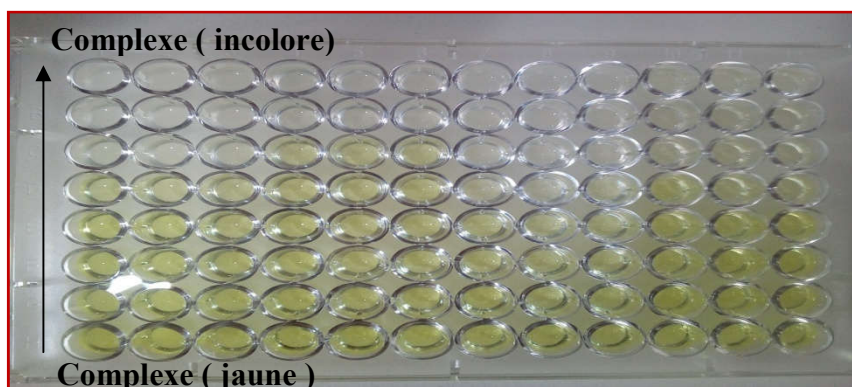


Figure 40. Résultat de l'effet inhibiteur de l'alpha-glucosidase sur microplaque

### 3-8-Analyse statistique

Une analyse descriptive des résultats obtenus est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007 en déterminant les moyennes et les écarts types. De plus, une analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur est réalisée. Les groupes homogènes sont caractérisés par le test de Tukey. Les résultats sont considérés différents pour un seuil  $\alpha = 5\%$ . Les calculs sont réalisés à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 5 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA).

# **CHAPITRE II:**

## **Résultats et Discussion**

## 1-Etude chimique des huiles essentielles

### 1-1- Rendement d'extraction

L'extraction des huiles essentielles de plantes est réalisée par la méthode d'hydrodistillation et le rendement en huiles essentielles est estimé par rapport à 100 g de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante utilisée. Les résultats de rendement obtenus sont illustrés dans la figure 41.

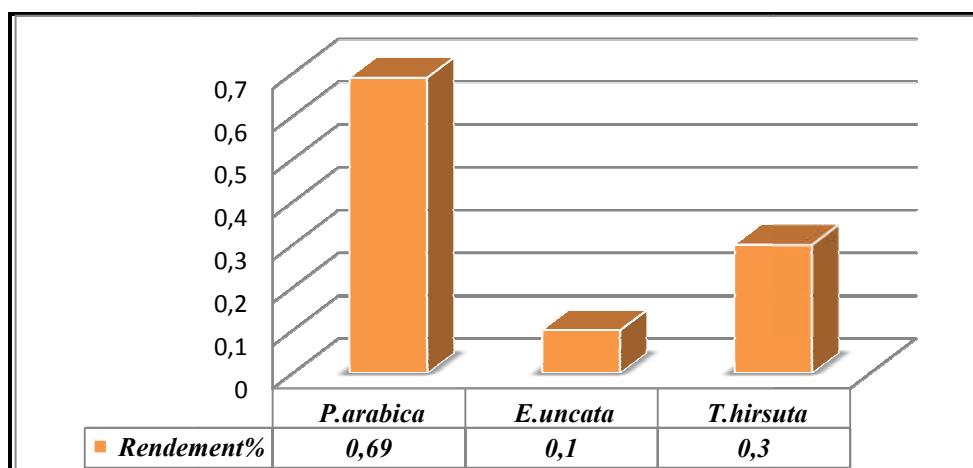


Figure 41. Rendement en huiles essentielles de plante.

Les rendements en huiles essentielles obtenus varient de 0,1 et 0,69%. Le rendement en HE de *Pulicaria arabica* est de l'ordre de 0,69%. Ce taux est plus élevé à celui obtenu pour la même espèce mais récoltée d'une région différente de la nôtre (M'sila) (0,30%) (**Djermane et al., 2016**) et pour d'autres espèces du genre *Pulicaria* telles que *Pulicaria gnaphalodes* (0,10%) (**Kazemi et al., 2013**), *Pulicaria dysenterica* (0,40%) (**Mumivand et al., 2010**), *Pulicaria vulgaris* (0,22%) (**Casiglia et al., 2016**) et *Pulicaria undulata* (0,50%) (**Rav et al., 2011**). La partie aérienne de *Thymelaea hirsuta* a fourni un rendement de 0,30%, ce rendement est légèrement supérieur à celui trouvé par **Kadri et al. (2011)** (0,26%) pour la même espèce cultivée dans la Tunisie. L'extraction des huiles essentielles d'*Erucaria uncata* est réalisée pour la première fois, elle a révélé un rendement de 0,1%, cette teneur est différente par rapport à celle d'autres espèces d'*Erucaria* telles que *Erucaria microcarpa* (0,15%) (**Hashem et Saleh, 1999**) et *Erucaria hispanica* (0,04%) (**Marzouk, 2016**). Cette différence en rendement d'extraction des huiles essentielles de nos espèces entre-elles et avec d'autres espèces appartenant au même genre peut être expliquée par la différence de la nature de l'espèce, les conditions climatiques de la région de récolte, la période de séchage et la méthode d'extraction.

### 1-2-Composition chimique des huiles essentielles

La détermination de la composition chimique des huiles essentielles est réalisée par CG/MS.

#### 1-2-1-Huile essentielle de *Pulicaria arabica*

Le chromatogramme de l'huile essentielle de *Pulicaria arabica* est représenté dans la figure 42 et les résultats d'identification de la composition chimique de cette huile sont consignés dans le tableau 21 et la figure 42.

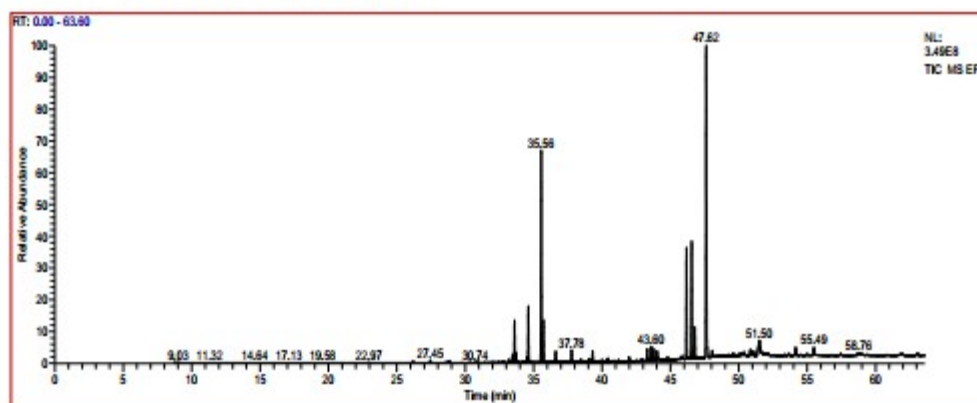
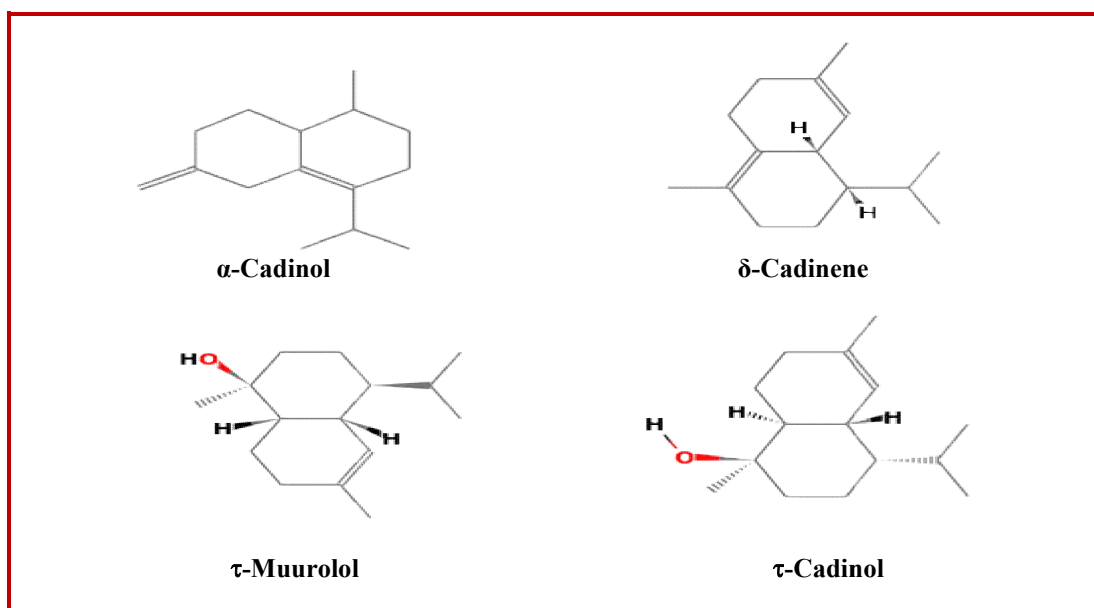


Figure 42. Chromatogramme de l'huile essentielle de *P. arabica*.

Tableau 21. Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Pulicaria arabica*

N°	Composé	Formule	IR <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	TR (min)	%
1	Germacrane-D	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	1483	1485	33.60	4.37
2	α-Muurolene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1501	1500	34.61	5.92
3	γ-Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1512	1513	35.56	4.37
4	δ-Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1521	1523	35.72	22.53
5	τ-Cadinol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1640	1640	46.18	11.78
6	τ-Muurolol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1641	1642	46.56	12.62
7	α-Muurolol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1644	1646	46.79	3.31
8	α-Cadinol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1655	1654	47.62	35.05
Total						99.95



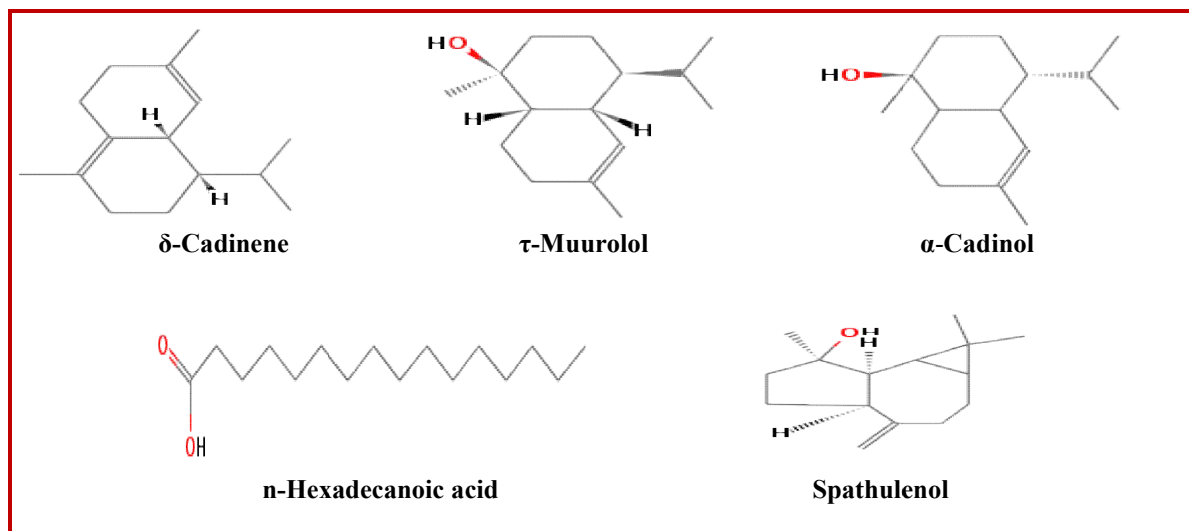
**Figure 43.** Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Pulicaria arabica*

Cette analyse a permis d'identifier 8 composés représentant 99,95% de l'hydrodistillat total. Deux classes de composés sesquiterpéniques sont distinguées dont les sesquiterpènes oxygénés (4 composés, 62,76%) et les sesquiterpènes non oxygénés (4 composés, 37,19%).  $\alpha$ -Cadinol (35,05%), Delta.-Cadinene (22,53%),  $\tau$ -Muurolol (12,62%) et  $\tau$ -Cadinol (11,78) sont les constituants majeurs.

Ces résultats sont différents de ceux rapportés dans nos travaux antérieurs dans lesquels 24 composés sont identifiés et les composés principaux sont représentés par le Bicyclo (4,4%) Dec-1-ene.2-Isopropyl-5-methyl-9-methylene (17%),  $\alpha$ -cadinene (13%), 1H-Indene, 1-ethylideneoctahydro (13,24%),  $\beta$ -Bourbonene (7,34%),  $\alpha$ -Murolene (5,94%) et  $\beta$ -Ocimene (5,89%) (**Djermane et al., 2016**). Cette variation quantitative et qualitative pourrait être due à la perte des autres composés volatils en raison de la période longue entre la collecte et l'extraction et aux conditions d'analyse chromatographique de l'huile et aussi à la région de la récolte. Le phénomène de variation de la composition chimique des huiles essentielles en fonction de la période de séchage a été déjà signalé dans la littérature (**Baritiaux et al., 1992 ; Dabire et al., 2011**). **Moussa et al. (1987)** ont pu identifier dans l'huile essentielle de *Pulicaria arabica* récolté en Arabie saoudite 71 composés essentiellement des sesquiterpéniques (41,9%). De même, une autre étude menée par **El-Abed et al. (2010)** sur l'huile essentielle de *Pulicaria arabica* originaire de la Tunisie a permis d'identifier 95 composés dont les sesquiterpènes constituent aussi les composés majoritaires. Ce qui corrobore parfaitement avec les résultats de notre analyse. En plus, une différence de la composition chimique entre ces huiles est notée pour



16	Palmitic acid	C16H32O2	1984	1988	41.61	7.92
17	Linoelaidic Acid	C18H32O2	2152	2155	43.77	0.77
18	Methyl 11,14,17-eicosatrienoate	C21H36O2	2290	2295	44.93	0.16
19	Methyl 8,11,14-heptadecatrienoate	C18H30O2	2525	2527	45.89	1.04
<b>Total</b>						<b>99.99</b>



**Figure 45.** Les composés majoritaires de l'huile essentielle d'*Erucaria uncata*

Les résultats de l'analyse de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Erucaria uncata* ont montré 19 composés représentant 99,99% de l'essence totale dont les sesquiterpènes oxygénés enregistrent le pourcentage le plus élevé (51,2%) suivis par les sesquiterpènes hydrocarbonés (33,95%). Il est à noter également l'absence totale des composés monoterpéniques. Cette huile essentielle est caractérisée par la présence majoritaire du  $\alpha$ -Cadinol (24,69%), de Delta.-Cadinene (18,39 %) et de tau.-Muurolol (18,28 %), acide palmitique (7,92%) suivis par Spathulenol (4,21%). Les autres composés tels que l' $\alpha$ -Amorphene (3,48%),  $\beta$ -Cubebene (3,62%),  $\alpha$ -Muurolene (3,48%), Gamma-Cadinene (3,85%) et le reste représente les composés minoritaires et totalise environ 30,71% de la composition chimique totale. D'après ces résultats, cette huile est caractérisée par la dominance des sesquiterpènes.

Selon la bibliographie, aucune étude n'a été réalisée sur la composition chimique des huiles essentielles d'*Erucaria uncata*. Cependant, des études réalisées sur des espèces de la même famille et genre d'*Erucaria* ont été publiées comme celles de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Erucaria hispanica* récolté en Arabie saoudite qui a montré que cette huile a une teneur notable en acide palmitique (36,7%), cyclohexanoldodecyl (11,2%), 1, 14, 17-

Eicosatrienoic acidmethyl ester (9,1%), suivis d'acide linoléique (7,5%), d'acide myristique (6,4%) et de phytol (5,6%), ce qui signifie la dominance des acides gras dans cette HE (Al-Mazroa *et al.*, 2015). En outre, l'analyse chimique des huiles essentielles extraites à partir de la partie aérienne d'*Erucaria microcarpa* poussant en Egypte met en évidence que l'Isopropyl isothiocyanate (26,49%), le Butenyl isothiocyanate (26,87 %), l'Anethole (11,34%) et limonène (6,88%) sont les constituants majeurs (Hashem et Saleh, 1999). Cette différence de la composition peut être due au variation des conditions géographiques qui peuvent influencer sur la composition de l'HE (Tounsi *et al.*, 2011).

### 1-2-3-Huile essentielle de *Thymelaea hirsuta*

La composition en huiles essentielles de la partie aérienne de la plante *Thymelaea hirsuta* et les composés identifiés sont présentés dans les figures 46,47 et le tableau 23.

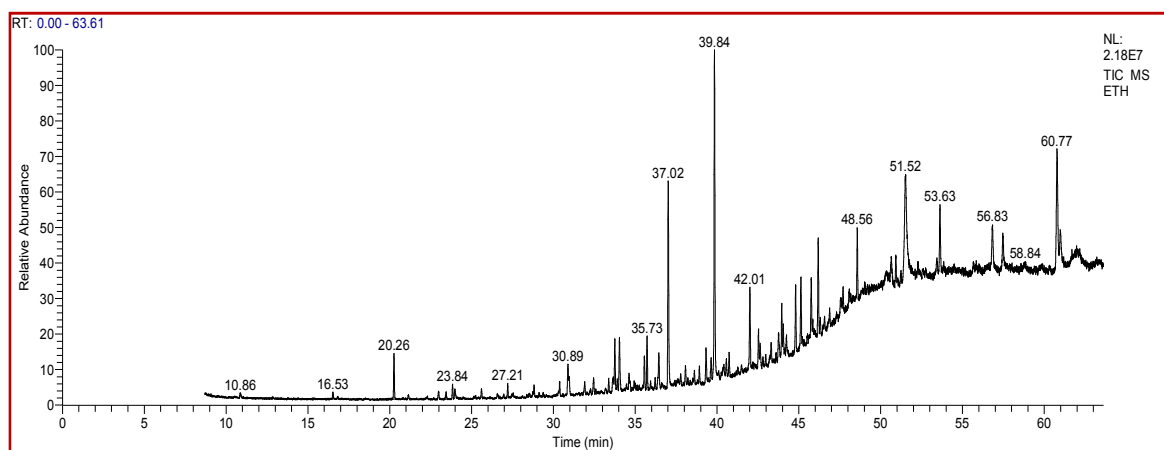


Figure 46. Chromatogramme de l'huile essentielle de *Thymelaea hirsuta*

Tableau 23. Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Thymelaea hirsuta*

No	Composé	Formule	IR <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	TR (min)	%
01	cis1,2-Cyclododecanediol	C12H24O2	1156	1161	20.26	1.95
02	Carvone	C10H14O	1242	1245	30.33	1.70
03	Tetradecane	C14H30	1399	1401	30.89	1.67
04	Dodecanal	C12H24O	1407	1410	33.75	2.21
05	$\alpha$ -Terpinyl propionate	C13H22O2	1431	1437	34.04	2.21
06	Aromadendrene	C15H24	1439	1442	35.56	1.84
07	Geraniol vinyl ether	C12H20O	1490	1497	35.73	1.93
08	Tridecanal	C13H26O	1511	1516	36.44	8.64
09	$\alpha$ -Cadinene	C15H24	1538	1542	37.02	1.20
10	Caryophyllene oxide	C15H24O	1581	1585	42.01	3.66

11	Tetradecanal	C14H28O	1615	1620	44.84	12.83
12	$\delta$ -Cadinol	C15H26O	1636	1641	46.18	3.64
13	Deisopropylatrazine	C5H8ClN5	1647	1652	47.80	2.70
14	7-Methyl-Z-tetradecen-1-ol acetate	C17H32O2	1785	1789	48.54	1.43
15	Pentadecanoic acid	C15H30O2	1851	1855	49.75	2.47
16	Hexadecadienoic acid, methyl ester	C17H30O2	1926	1931	50.64	0.93
17	Triethylene glycol monododecyl ether	C18H38O4	1957	1959	51.95	1.91
18	Palmitic acid	C16H32O2	1984	1987	52.56	9.97
19	2,5-Octadecadiynoic acid, methyl ester	C19H34O2	2092	2095	55.13	5.90
20	24,25-Dihydroxycholecalciferol	C27H44O3	2098	2110	57.05	6.33
21	Dodecyltetraglycol	C20H40O5	2121	2129	60.77	7.77
22	6, 9,12-Octadecatrienoic acid, methyl ester	C19H32O2	2199	2210	62.63	4.71
23	Tetraneurin- $\alpha$ -diol	C15H20O5	2494	2497	64.74	3.99
24	15,15'-Bi-1, 4, 7, 10, 13-pentaoxacyclohexadecane	C22H42O10	2504	2507	65.76	4.61
25	2,2'Bis[1,4,7,10,13-pentaoxacyclopentadecane]	C20H38O10	2543	2549	66.83	3.79
<b>Total</b>						<b>99.99</b>

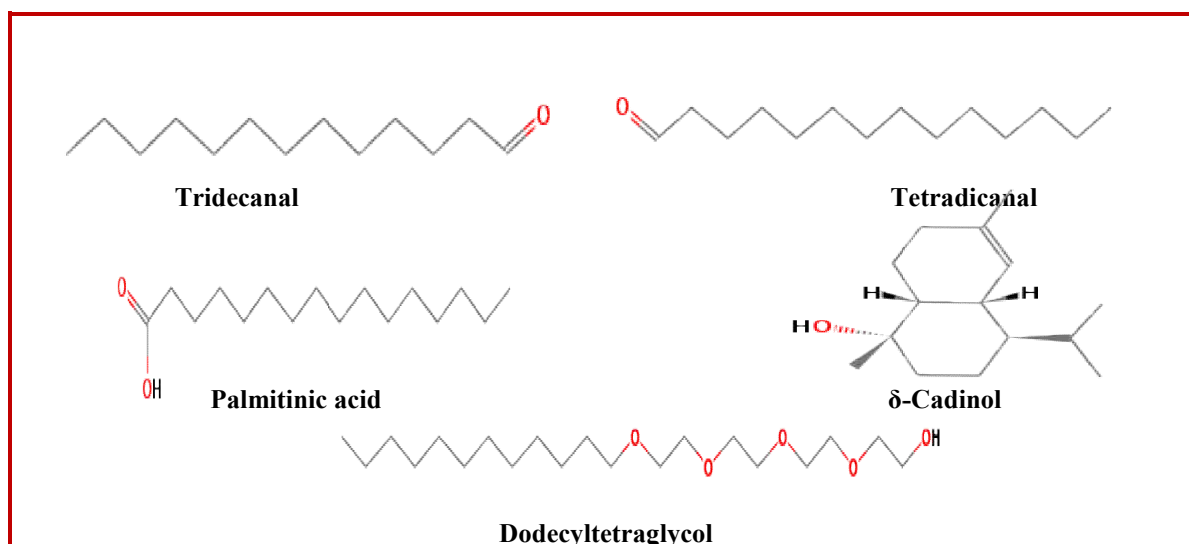


Figure 47. Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Thymelaea hirsuta*.

L'analyse spectrale des huiles essentielles de la partie aérienne de *Thymelaea hirsuta* provenant de la région de Hammam Dalaa (M'sila) a permis d'identifier 25 composants qui représentent 99,99% de la composition chimique globale (tab. 26). Cette huile est caractérisée par un mélange de composés ; éthers, esters, monoterpènes, sesquiterpènes, acides gras, aldéhydes et alcanes avec des proportions différentes dont le Tetradécanal (12,83%), acide palmitique (9,97%), Tridicanal (8,64%) et Dodécyltétraglycol (7,77%) et  $\delta$ -Cadinol (3,64%) sont des composés dominants. Alors que les autres composés ne sont présents qu'avec des faibles teneurs.

La composition chimique de l'HE de *Thymelaea hirsuta* a été déjà rapportée par la littérature, une investigation menée par **kadri et al. (2011)** a démontré que les huiles essentielles de la partie aérienne de *Thymelaea hirsuta* poussant en Tunisie est constituée principalement des composés sésquiterpéniques (40,73%) avec l'heptane (28,34%), Germacrene D (12,98%), Bêta-udesmol (11,81%) et formiate de citronellyle (9,98%) suivi du trans caryophyllène (3,25%) cyclopentasiloxanedécaméthyle (2,59%), alpha-cadinène (2,55%) et borbonène (2,43%) comme constituants majoritaires. L'examen de ces résultats montre qu'il ya une variation qualitative et quantitative entre l'HE de *Thymelaea hirsuta* cultivée en Tunisie et l'HE de notre étude. En effet, nous notons la présence seulement un composé commun et avec un pourcentage différent (Aromandendrene 0,36%). D'autre part, **Bounab et al. (2019)** ont rapporté la composition de l'huile essentielle de *Thymelaea hirsuta* collectée de différents sites en Algérie. L'huile est principalement composée d'aldéhydes et d'acides avec une moyenne de  $23,25 \pm 9,67\%$  et  $20,25 \pm 5,12\%$ , respectivement. Cette différence de composition peut être attribuée à l'emplacement géographique de la plante qui peut grandement influencer sur la composition de l'HE ainsi que d'autres facteurs tels que la période de récolte, la méthode d'extraction et la procédure d'identification par GC/MS (**Tounsi et al., 2011**). De plus, **Bounab et al. (2019)** ont rapporté la présence de monoterpènes dans l'huile essentielle de *Thymelaea hirsuta* récoltée de différents sites de la région de M'sila avec des pourcentages compris entre 13,16 et 16,83% alors qu'un seul composé de cette classe (carvone 1,7%) est identifiée dans l'huile essentielle de notre étude. Cela peut être expliqué par leur perte lors de la procédure d'extraction ou lors de l'analyse par GC/MS.

## 2-Rendement d'extraits bruts et teneurs en PT et FT

Dans notre étude, l'extraction est effectuée par macération des parties aériennes des plantes dans des différents solvants (eau, méthanol, acétone et dichlorométhane). Le rendement de ces extraits est exprimé en pourcentage ( $R(\%) = \text{Masse en g de l'extrait sec résultant (M) / Masse en g du matériel végétal utilisé (M}_0) \times 100$ ).

Les teneurs en phénols totaux de nos extraits sont déduites de l'équation de la régression linéaire :  $y = 0,003x + 0,104$  et  $R^2 = 0,997$  (fig. 48). Tandis que, les concentrations en flavonoïdes totaux sont calculées à partir de la courbe d'étalonnage :  $y = 0,004x$  et  $R^2 = 0,997$  (fig. 49).

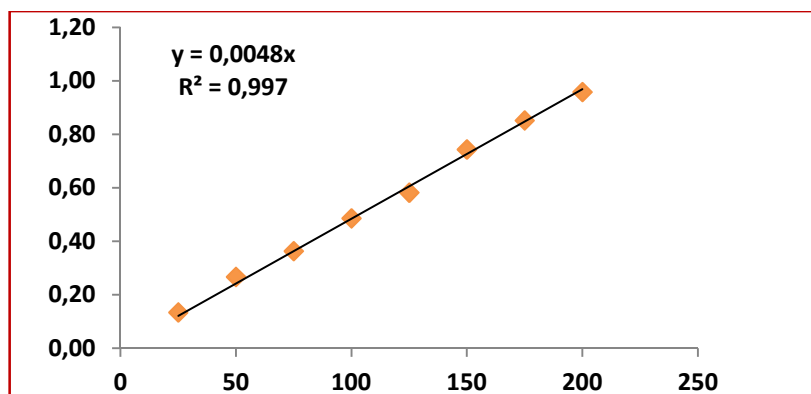


Figure 48. La courbe d'étalonnage de la quercétine.

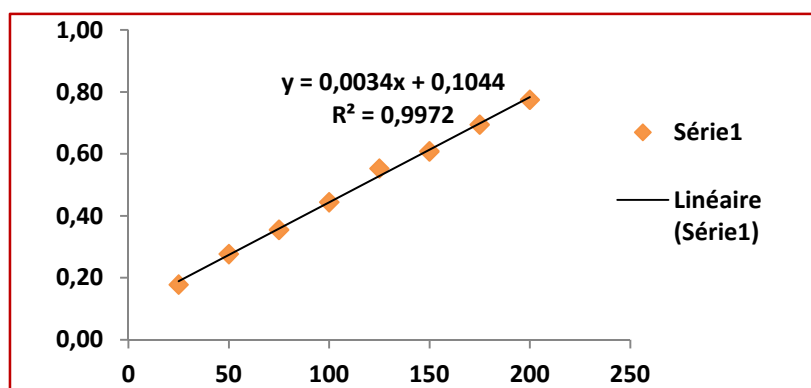


Figure 49. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats de rendement d'extraction ainsi que les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux de nos extraits de trois plantes sont présentés dans le tableau 27. Il ressort que les composés phénoliques sont mieux extraits par les solvants organiques que l'eau distillée et que le rendement d'extraction est augmenté avec la polarité du solvant organique utilisé. Les rendements d'extraction de trois plantes avec le méthanol 70% sont supérieurs à ceux de l'acétone et de DCM. Selon **Seidel (2005)**, les solvants alcooliques sont capables de faciliter la perméabilité des composés à travers les parois cellulaires en augmentant ainsi l'extraction d'un plus grand nombre de composés polaires, de moyenne et de faible polarité. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Akowuah et al. (2005)** et **Lapornik et al. (2005)**.

**Tableau 24.** Rendement d'extraction, teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits de *Pulicaria arabica*, *Erucaria uncata* et *Thymelaea hirsuta*

Extrait	Rendement %	Polyphénols totaux $\mu\text{g EAG/mg}$	Flavonoïdes totaux $\mu\text{g EQ/mg}$
<i>Pulicaria arabica</i>			
Extrait aqueux	8.2	98.74 $\pm$ 3.44 <sup>c</sup>	30.41 $\pm$ 1.76 <sup>b</sup>
Extrait MeOH/H <sub>2</sub> O	13.88	185.91 $\pm$ 3.11 <sup>a</sup>	62.86 $\pm$ 1.98 <sup>a</sup>
Extrait Acetone	3.9	128.7 $\pm$ 3.32 <sup>b</sup>	60.52 $\pm$ 1.94 <sup>a</sup>
Extrait DCM	2.27	83.63 $\pm$ 1.14 <sup>d</sup>	24.68 $\pm$ 1.62 <sup>c</sup>
<i>Erucaria uncata</i>			
Extrait aqueux	8.35	44.36 $\pm$ 3.01 <sup>c</sup>	42.81 $\pm$ 2.50 <sup>a</sup>
Extrait MeOH/H <sub>2</sub> O	7.96	51.5 $\pm$ 3.53 <sup>b</sup>	35.52 $\pm$ 2.79 <sup>b</sup>
Extrait Acetone	2.5	38.85 $\pm$ 1.87 <sup>d</sup>	9.58 $\pm$ 2.06 <sup>c</sup>
Extrait DCM	2.35	60.61 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	4.64 $\pm$ 0.37 <sup>d</sup>
<i>Thymelaea hirsuta</i>			
Extrait aqueux	8.20	286.5 $\pm$ 0.62 <sup>b</sup>	29.11 $\pm$ 1.69 <sup>b</sup>
Extrait MeOH/H <sub>2</sub> O	14.89	326.27 $\pm$ 2.80 <sup>a</sup>	54.68 $\pm$ 3.97 <sup>a</sup>
Extrait Acetone	4.98	163.11 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup>	24.14 $\pm$ 1.14 <sup>c</sup>
Extrait DCM	3.35	25.69 $\pm$ 3.84 <sup>d</sup>	6.25 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SD. Les valeurs notées sur la même ligne avec différentes lettres en minuscule (a-d) sont significativement différentes à  $p < 0,05$  selon le test Tukey. EGA: Equivalent Acide galique, EQ: Equivalent Quercétine. DCM: Dichlorométhane, MeOH: Méthanol.

Les quantités en phénols totaux des extraits de la partie aérienne de la plante *Pulicaria arabica* varient entre 83,63 $\pm$ 1,14 $\mu\text{g EAG/mg}$  et 185,91 $\pm$ 3,11  $\mu\text{g EAG/mg}$  respectivement pour les extraits aqueux et hydro-méthanolique. Par contre, le dosage des flavonoïdes a montré que l'extrait dichlorométhane contient la teneur la plus faible (24,68 $\pm$ 1,62  $\mu\text{g EQ/mg}$ ) et celui du méthanol/eau donne la valeur la plus élevée (62,86 $\pm$ 1,98 $\mu\text{g EQ/mg}$  extrait). Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par d'autres autres pour le genre *Pulicaria* (Gherib et al., 2016 ; Touati et al., 2018).

Pour la plante *Erucaria uncata*, l'extrait DCM a donné la teneur la plus élevée en composés phénoliques avec une valeur de 60,61 $\pm$ 0,62  $\mu\text{g EAG/mg}$ , suivi par l'extrait MeOH/eau avec une valeur de 51,5 $\pm$ 3,53  $\mu\text{g EAG/mg}$ . Les teneurs en flavonoïdes d'*Erucaria uncata* varient de 4,64  $\pm$  0,37  $\mu\text{g EQ/mg}$  (extrait DCM) et 42,81 $\pm$  2,50  $\mu\text{g EQ/mg}$  (extrait aqueux). L'extrait MeOH/eau a également donné une valeur importante en flavonoïdes (35,52 $\pm$ 2,79 $\mu\text{g EQ/mg}$ ). Selon la littérature, aucune étude n'a été signalée sur la composition phénolique des extraits d'*Erucaria uncata*. Cependant, de nombreux flavonoïdes ont été isolés et identifiés dans d'autres espèces du genre *Erucaria*. Quatre composés de flavonoïdes ont été isolés de la plante *Erucaria microcarpa* (Hashem, 1999) et 13 composés ont été isolés de la partie aérienne de la plante *Erucaria hispanica* (Marzouk, 2016).

La plante *Thymelaea hirsuta* présente des teneurs élevées en phénols totaux et en flavonoïdes totaux par rapport à la plante *Erucaria uncata*. Les teneurs totales en phénols totaux

des extraits de *Thymelaea hirsuta* varient entre  $25,69 \pm 3,84$   $\mu\text{g}$  EAG/mg pour l'extrait DCM et  $326,27 \pm 2,80$   $\mu\text{g}$  EAG/mg pour l'extrait MeOH/eau. Tandis que les teneurs en flavonoïdes varient de  $6,25 \pm 0,00$   $\mu\text{g}$  EQ/mg et  $54,68 \pm 3,97$   $\mu\text{g}$  EQ/mg respectivement pour les extraits DCM et MeOH/eau. La concentration en PT de nos extraits de *Thymelaea hirsuta* est supérieure à celle notée par **Djeridane et al. (2006)**. Ces auteurs ont enregistré des teneurs faibles en phénols totaux et en flavonoïdes totaux ( $6,81 \pm 0,40$   $\mu\text{g}$  EAG/mg et  $4,95 \pm 0,81$   $\mu\text{g}$  EQ/mg, respectivement). En revanche, elles sont comparables à celles notées par **Trigui et al. (2013)** ; **Amari et al. (2014)** et ; **Ziani et al. (2015)**. Néanmoins, des teneurs faibles en flavonoïdes ont été obtenues avec différents organes de la plante ( $2,61 \pm 0,13$  et  $5,70 \pm 0,06$   $\mu\text{g}$  EQ/mg) (**Amari et al., 2014**).

D'après les résultats obtenus, on peut conclure que le rendement et le taux en composés phénoliques varient selon le solvant utilisé. Plusieurs études ont montré l'effet du solvant sur le rendement d'extraction et la composition chimique d'extrait. **Do et al. (2014)** ont rapporté que l'utilisation de l'éthanol (100%) donne les meilleurs teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux tandis que le rendement le plus important est obtenu avec de l'acétone 50%.

Le rendement d'extraction ainsi que le taux en composés phénoliques peuvent être également influencés par d'autres facteurs, notamment, la température, le temps, la méthode d'extraction utilisée et le ratio matière végétale/solvant (**Stalikas, 2007** ; **Ćujić et al., 2016**). Cependant et dans notre cas, l'extraction des composés phénoliques totaux est meilleure en présence de DCM peut être expliquer par l'interférence des chlorophylles et d'autres composés avec le réactif de Folin-Ciocalteu. En outre, la teneur en flavonoïdes la plus élevée de l'extrait aqueux peut être attribuée à la structure des flavonoïdes qui peuvent être sous la forme de glycosides et ainsi plus solubles dans l'eau.

### 3-Activités biologiques

#### 3-1-Activité antioxydante

Les huiles essentielles et les différents extraits bruts de la partie aérienne de nos plantes ont été évalués pour leur activité antioxydant en utilisant sept tests différents procédés : DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, métalchélate, blanchissement de  $\beta$ -carotène, CUPRAC et la réduction de phénanthroline. Les résultats obtenus sont exprimés en terme de concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50) ou de concentration indiquant 0,5 d'absorbance d'échantillon ( $A_{0,5}$ ) et sont illustrés dans le tableau 25. Il indique que le pouvoir antioxydant exercé par les différents extraits de trois plantes varie selon l'extrait ainsi que le test utilisé

Plusieurs mécanismes d'action peuvent être exercés par les antioxydants comme l'activité anti-radicalaire, fixation des ions de transition comme le fer, rupture de la chaîne de soustraction d'hydrogène, etc... De ce fait, l'étude de l'effet antioxydant d'un extrait contenant plusieurs composés nécessite l'utilisation de plusieurs méthodes pour élucider le mécanisme d'action exercé par chaque composé (Li et al., 2008).

**Tableau 25.** Activité antioxydante des extraits de *Pulicaria arabica*, *Erucaria uncata* et *Thymelaea hirsuta*

Extraits	DPPH IC <sub>50</sub> (µg/mL)	ABTS IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Pouvoir réducteur A <sub>0,5</sub> (µg/mL)	Metalchelaté IC <sub>50</sub> (µg/mL)	B-carotène IC <sub>50</sub> (µg/mL)	CUPRAC IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Phenanthroline A <sub>0,5</sub> (µg/mL)
<i>Pulicaria arabica</i>							
<b>EH2O</b>	64.84±0.06 <sup>d</sup>	87.23±0.64 <sup>d</sup>	>200	41.88±1.77 <sup>b</sup>	195.81±3.46 <sup>a</sup>	71.40±0.28 <sup>d</sup>	278.82±2.75 <sup>c</sup>
<b>MeOH/H2O</b>	53.97±0.71 <sup>c</sup>	33.63±2.03 <sup>b</sup>	158.14±1.09 <sup>a</sup>	38.22±2.30 <sup>a</sup>	516.60±4.86 <sup>d</sup>	17.61±1.50 <sup>a</sup>	216.67±5.35 <sup>b</sup>
<b>EACT</b>	10.37±0.15 <sup>a</sup>	6.42±0.86 <sup>a</sup>	>200	127.59±0.21 <sup>d</sup>	312.67±3.45 <sup>c</sup>	40.70±3.29 <sup>b</sup>	194.17±8.25 <sup>a</sup>
<b>EDCM</b>	49.43±2.0 <sup>b</sup>	75.59±1.8 <sup>c</sup>	198.17±2.59 <sup>b</sup>	265.25±1.57 <sup>c</sup>	258.06±2.24 <sup>b</sup>	71.13±0.58 <sup>c</sup>	599.86±0.99 <sup>d</sup>
<b>EHEs</b>	>800	>800	>200	72.89±1.38 <sup>c</sup>	>800	>800	>800
<i>Erucaria uncata</i>							
<b>EH2O</b>	436,04±2.78 <sup>c</sup>	27.35±1.39 <sup>a</sup>	>200	83.35±0.60 <sup>a</sup>	2.67±0.11 <sup>a</sup>	230.58±1.82 <sup>d</sup>	>800
<b>MeOH/H2O</b>	51,88±3.02 <sup>a</sup>	48.45±1.30 <sup>b</sup>	158.14±1.09 <sup>a</sup>	389.78±3.64 <sup>b</sup>	67.85±3.04 <sup>b</sup>	113.18±0.94 <sup>b</sup>	491,83±6,84 <sup>a</sup>
<b>EACT</b>	792,88±2.71 <sup>d</sup>	49.57±2.94 <sup>c</sup>	>200	583.55±0.19 <sup>d</sup>	236.71±0.12 <sup>c</sup>	139.06±4.65 <sup>c</sup>	>800
<b>EDCM</b>	187,04±0.19 <sup>b</sup>	49.6±0.10 <sup>d</sup>	198.17±2.59 <sup>b</sup>	>800	280.48±4.86 <sup>d</sup>	52.83±5.16 <sup>a</sup>	573,50±0,71 <sup>b</sup>
<b>EHEs</b>	>800	>800	>200	369.96±0.72 <sup>c</sup>	>800	526.93±4.75 <sup>c</sup>	>800
<i>Thymelaea hirsuta</i>							
<b>EH2O</b>	70.82±3.31 <sup>b</sup>	18.69± 1.97 <sup>a</sup>	160.42±4.36	80.12±3.25 <sup>a</sup>	14.46±3.09 <sup>a</sup>	34.39±0.27 <sup>a</sup>	206,92±0,50 <sup>b</sup>
<b>MeOH/H2O</b>	47.02±1.82 <sup>a</sup>	24.45 ±1.93 <sup>b</sup>	>200	97.20±1.49 <sup>b</sup>	38.32±1.76 <sup>b</sup>	48.85±1.37 <sup>b</sup>	143,23±3,86 <sup>a</sup>
<b>EACT</b>	233.81±8.52 <sup>d</sup>	87.76 ±2.92 <sup>c</sup>	>200	>800	36.93±1.45 <sup>b</sup>	96.86±5.94 <sup>c</sup>	507,00±1,41 <sup>d</sup>
<b>EDCM</b>	645.61±3.32 <sup>c</sup>	179.43±2.17 <sup>d</sup>	>200	>800	30.25±1.89 <sup>c</sup>	118.09±2.46 <sup>d</sup>	426,77±5,57 <sup>c</sup>
<b>EHEs</b>	126.28±2.34 <sup>c</sup>	>800	>200	>800	>800	>800	>800
<b>Standards</b>							
<b>BHA</b>	6.14±0.41	1.81±0.10	9.29 ± 0.22	NT	1.05±0.03	5.35±0.71	NT
<b>BHT</b>	12.99±0.41	1.29±0.30	NT	NT	0.91±0.01	8.97±3.94	5.28 ± 0.34
<b>EDTA</b>	NT	NT	NT	8.57 ± 0.14	NT	NT	NT

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD. Les valeurs notées sur la même ligne avec différentes lettres en minuscule (a-e) sont significativement différentes à  $p < 0.05$  selon le test Tukey. MeOH: Methanol, ACT :Acetone, DCM: Dichloromethane, HES: Huile essentielle. NT: Non testé.

### 3-1-1-La plante *Pulicaria arabica*

Les extraits bruts de *Pulicaria arabica* ont montré que l'extrait acétone est plus efficace dans la neutralisation des radicaux DPPH et ABTS avec des valeurs IC<sub>50</sub> de 10,37±0.15 µg/ml et

6,42±0.86µg/ml respectivement. Tandis que, l'extrait MeOH/H<sub>2</sub>O a montré l'effet le plus élevé dans la chélation du fer (IC<sub>50</sub>:38,22±2.30 µg/ml) et dans la réduction des ions du fer, du cuivre, et de la phénanthroline avec des valeurs A<sub>0,5</sub> de 158,14 ±1.09µg/ml, 17,61±1.50 µg/ml et 194,17±8.25µg/ml, respectivement. En revanche, il a une activité très faible pour l'oxydation de la β-carotène. L'extrait aqueux se distingue par sa capacité élevée à prévenir l'oxydation du β-carotène (IC<sub>50</sub>:195,81±3.46µg/ml).

L'huile essentielle de *Pulicaria arabica* montre une activité antioxydant faible avec presque tous les tests utilisés comparativement aux autres extraits. Toutefois, cet extrait exerce une activité remarquable dans la chélation du fer avec une valeur IC<sub>50</sub> de 72,89 µg/ml.

En général, l'extrait acétone et l'extrait méthanol/eau exercent l'effet antioxydant le plus important ce qui peut être liée à leurs teneurs en composés phénoliques. Plusieurs études ont montré une forte corrélation entre le taux des polyphénols et l'activité antioxydant (**Abdille et al., 2005 ; Gali et Bedjou, 2019**).

L'effet antioxydant faible de l'huile essentielle pourrait être dû à sa composition chimique pauvre en constituants phénoliques comme le thymol et le carvacrol qui ont été rapportés auparavant d'avoir une intéressante capacité antioxydant (**Aeschbach et al., 1994 ; Ruberto et Baratta, 2000 ; Kulisic et al., 2004; Amarti et al.,2011**).

Des études antérieures ont montré également un effet antioxydant modéré de l'huile essentielle issue de différentes espèces du genre *Pulicaria*. *Pulicaria jaubertii* a donné une valeur IC<sub>50</sub> de 280 µg/ml avec le radical DPPH (**Al-Fatimi et al., 2015**). *Pulicaria gnaphalodes* exerce un effet anti-radicalaire contre le DPPH avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 147 µg/ml et protège l'oxydation du β-carotène avec une valeur IC<sub>50</sub> de 50,11 µg/ml (**Shariatifar et al., 2014**). Cet effet est lié à la présence des monoterpènes oxygénés tel que le chrysanthone et le borneol qui sont aussi connus par leur potentiel antioxydant (**Al-Fatimi et al., 2015**).

### 3-1-2-La plante *Erucaria uncata*

Les extraits bruts d'*Erucaria uncata* ont montré une activité importante de piégeage du radical ABTS avec des valeurs IC<sub>50</sub> de 27,35±1,39 µg/ml et 49,6±0,10 µg/ml enregistrés respectivement avec les extraits aqueux et DCM. Cependant, une activité de piégeage faible est obtenue contre le radical DPPH.

Les extraits MeOH/eau et DCM ont montrés des effets les plus efficaces dans la réduction des ions du fer avec des valeurs A<sub>0,5</sub> de 158,14±1,09 µg/ml et 198,17±2,59µg/ml respectivement. Ces extraits ont également donné les valeurs A<sub>0,5</sub> les plus faibles dans la réduction des ions du cuivre (113,18 ± 0,94 µg / ml pour l'extrait MeOH/eau et 52,83±5,16

µg/ml enregistrés avec l'extrait DCM). L'extrait aqueux a montré une activité chélatante intéressante avec une valeur IC50 de  $83,35 \pm 0,60 \mu\text{g} / \text{ml}$  suivi par l'extrait de l'HE qui a donné une valeur IC50 de  $369,96 \pm 0,72 \mu\text{g/ml}$ . Tandis que l'extrait DCM a présenté l'activité chélatante la plus faible ( $\text{IC}_{50} > 800 \mu\text{g/mL}$ ).

La forte inhibition du blanchissement de  $\beta$ -carotène par les extraits d'*Erucaria uncata* est enregistrée par l'extrait aqueux avec une valeur IC50 de  $2,67 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$  suivi par l'extrait MeOH/eau avec une valeur IC50 de  $67,85 \pm 3,04 \mu\text{g/ml}$ . HE a montré la plus faible inhibition ( $\text{IC}_{50} > 800 \mu\text{g/ml}$ ).

### 3-1-3-La plante *Thymelaea hirsuta*

Les extraits bruts de *Thymelaea hirsuta* ont également montré une activité antiradicalaire remarquable contre le radical ABTS avec des valeurs IC50 comprises entre  $18,69 \pm 1,97 \mu\text{g/ml}$  et  $179,43 \pm 2,17 \mu\text{g/ml}$ . Cependant, un effet intéressant de la neutralisation du radical DPPH et de la chélation des ions du fer a été observé avec les extraits aqueux et MeOH/eau présentant des valeurs IC50 comprises entre  $47,02 \pm 1,82 \mu\text{g/ml}$  et  $97,20 \pm 1,49 \mu\text{g/ml}$ .

Tous les extraits de *Thymelaea hirsuta* ont montré une faible capacité à réduire les ions du fer. Cependant, ils ont été plus efficaces dans la protection de l'oxydation du  $\beta$ -carotène et dans la réduction des ions du cuivre. La valeur IC50 la plus basse est enregistrée avec l'extrait aqueux ( $14,46 \pm 3,09 \mu\text{g/ml}$ ) dans le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène. Dans ce cas aussi, l'HE a montré une faible activité ( $\text{IC}_{50} > 800 \mu\text{g/ml}$ ). L'extrait aqueux est plus efficace dans la réduction des ions du cuivre avec une valeur A0,5 de  $34,39 \pm 0,27 \mu\text{g} / \text{ml}$  suivi par l'extrait MeOH/eau (A0,5 de  $48,85 \pm 1,37 \mu\text{g/ml}$ ). Ces résultats corroborent parfaitement avec d'autres études précédentes réalisées pour évaluer l'activité antioxydant des extraits de *Thymelaea hirsuta*. Ainsi, les extraits de chloroforme et d'acétone ont donné une activité élevée dans la protection de l'oxydation du blanchissement du  $\beta$ -carotène ( $\text{IC}_{50}: 1,7 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$  et  $4,9 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$  respectivement). Cependant, des valeurs élevées d'IC50 ont été obtenues avec le test DPPH (Trigui et al., 2013). De plus, une faible activité antioxydant des extraits d'éthanol à 50% évaluée par le test de DPPH, le pouvoir réducteur et le blanchissement du  $\beta$ -carotène a été signalée par Akrouf et al. (2011) ; Ziani et al. (2015). En outre, une étude rapportée par Kadri et al. (2011) a montré que l'huile essentielle de la plante *Thymelaea hirsuta* présente une activité antioxydant importante réalisée par le test de DPPH, le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène et le test du pouvoir réducteur avec des valeurs IC50 de  $80,75 \mu\text{g/ml}$ ,  $20,30 \mu\text{g/ml}$  et  $58,50 \mu\text{g/ml}$ , respectivement.

En général, les extraits bruts de trois plantes ont montré une meilleure activité antioxydante par rapport aux huiles essentielles. Cette activité est due à la présence des composés phénoliques dans ces extraits qui contribuent à leur effet antioxydant. Alors que les huiles essentielles possèdent une composition chimique caractérisée par la présence de composants non phénoliques. Ces derniers sont des composés issus du métabolisme secondaire des plantes et qui assurent plusieurs fonctions chez la plante. Ces composés sont considérés comme molécules bioactives (effets thérapeutiques) pour leurs activités : anti-inflammatoire, anti-cancéreuse, antibactérienne, et antioxydant. En effet, la plupart des effets pharmacologiques exercés par les polyphénols sont liées à leur potentiel antioxydant agissant comme des agents scavenger des radicaux libres, des chélateurs des ions de transition et des agents réducteurs puissants (**Jang et al., 2007**).

### **3-2-Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne des différents extraits de nos plantes est évaluée en utilisant deux types d'antibiogramme de diffusion: la méthode des disques et la méthode des puits. La sensibilité des souches testées est estimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition de chaque extrait. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricides (CMB) sont également estimées pour confirmer l'effet antimicrobien et déterminer les niveaux d'efficacité des extraits des plantes étudiées. Cependant, l'activité antifongique vis-à-vis le champignon phytopathogène *Fusarium* est évaluée en utilisant la méthode de contact direct.

#### **3-2-1-La plante *Pulicaria arabica***

Les résultats des tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits bruts de la partie aérienne de la plante *Pulicaria arabica* sont présentés dans la figure 50 et les tableaux 26 et 27.

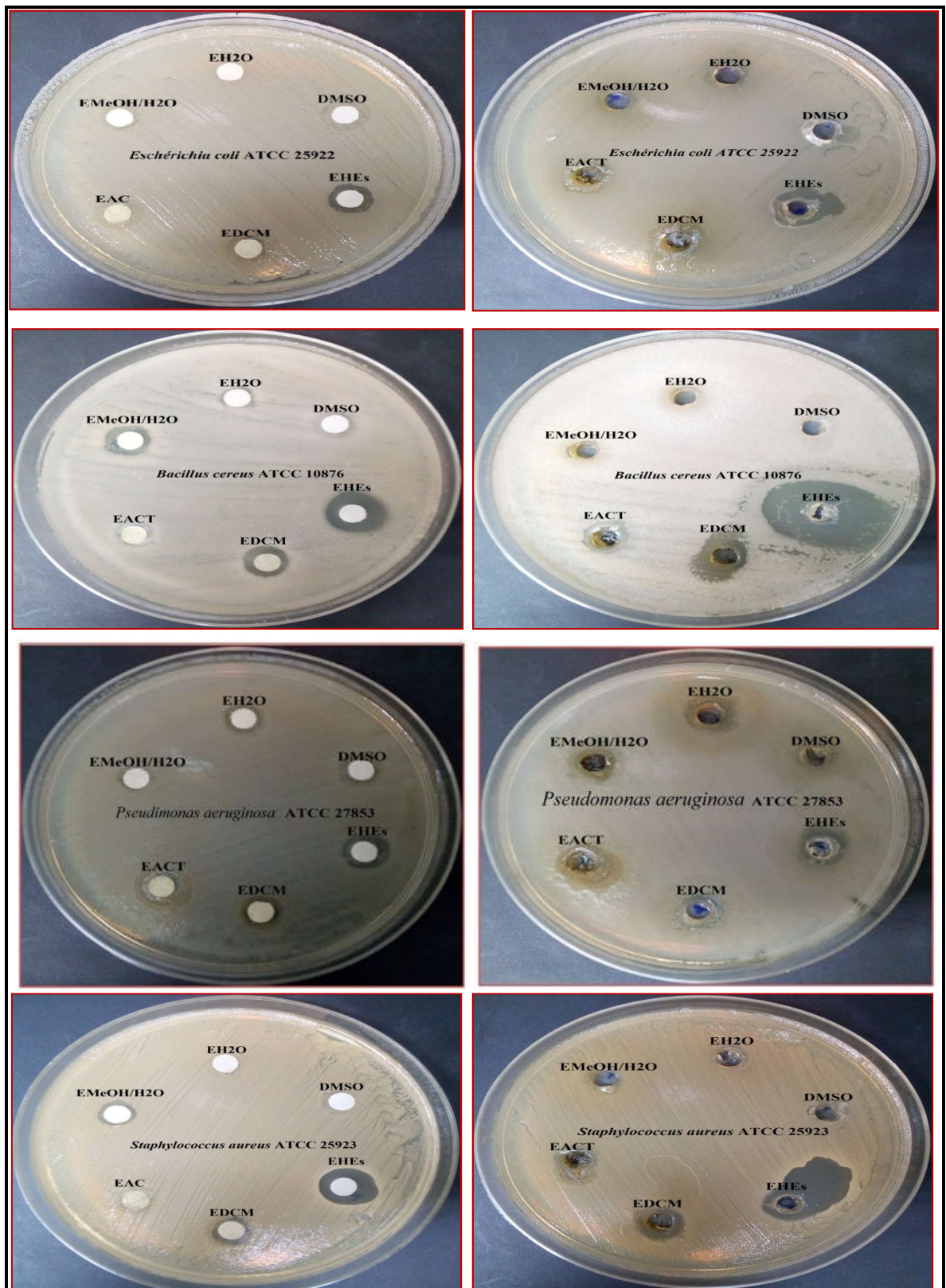




Figure 50. Effet de différents extraits de *Pulicaria arabica* sur les souches microbiennes testées

Tableau 26. Diamètre des zones d'inhibition des extraits de la plante *Pulicaria arabica*

Souches microbiennes	Diamètre de la zone d'inhibition en mm									
	EH2O		EM/H2O		EACT		EDCM		HEs	
	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	9.33±0.57	12±1.00
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	10±0.0	12±1.00	-	-	-	-	9±0.00	9±0.00	10±1.00	10.33±0.58
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	-	-	11.16±0.28	-	9±0.00	10±0.58	7±1.00	10±1.00	13.3±0.26	24±1.00
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	-	8±0.00	-	-	8±0.00	8.33±0.58	10.66±1.15	13±0.00	12±0.57
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	-	-	10.66±0.57	9.33±0.58	11.66±0.57	11.33±0.57	10,33±0.57	10±1.00	19.33±0.57	14.75±0.53

(-) : pas de zone d'inhibition, chaque valeur représente la moyenne de trois essais±écart-type(SD), D : Disque, P : Puits, (-) : pas de CMI ou pas de CMB

Tableau 27. CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante *Pulicaria arabica*

Souches microbiennes	CMI (mg/ml)					CMB (mg/ml)				
	EH2O	EM/H2O	EACT	EDCM	HEs	EH2O	EM/H2O	EACT	EDCM	HEs
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	C/2	-	-	-	-	C
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	C/64	-	-	C/16	C/16	C	-	-	C	C
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	-	C/2	C/4	C/2	C/32	-	-	-	-	C/16
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	C/2	C/2	-	C/16	-	-	C	-	C/2
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	-	C/2	C/4	C/2	C/4	-	-	-	-	-

Il ressort dans la figure 50 et le tableau 26 que toutes les souches microbiennes testées soit par la méthode des disques ou la méthode des puits sont sensibles à l'huile essentielle de *Pulicaria arabica* dont le diamètre de la zone d'inhibition est variable selon le germe ciblé. Le spectre d'inhibition est plus important contre les souches *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec des diamètres d'inhibition de 12 à 24 mm, et intermédiaire contre les souches *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres de 9 à 12 mm. En ce qui concerne les extraits brut, l'extrait dichlorométhanique est modérément actif contre les

germes testés suivi par les extraits acétonique et hydrométhanolique qui sont moins actifs. Par contre, l'extrait aqueux est inactif vis-à-vis de toutes les souches testées sauf la bactérie *P. aeruginosa* (zone d'inhibition de 10 mm). Cela signifie que l'effet antimicrobien des extraits varie d'un solvant à un autre et d'une souche à une autre.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Djermane et al. (2016)**. Ces auteurs ont évalué l'effet antimicrobien de l'huile essentielle et des extraits organiques (méthanolique, chloroformique et hexanique) de la partie aérienne de la même espèce et ils ont trouvé des diamètres des zones d'inhibition variables selon la souche cible et le solvant d'extraction utilisé.

Les résultats du tableau 27 montrent les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Pulicaria arabica* en présence de cinq souches de références. Il est à noter que toutes les souches testées sont sensibles à l'action antimicrobienne de l'huile et des dilutions différentes. Ainsi, on peut relever que *Bacillus cereus* présente la souche la plus sensible. L'huile essentielle montre une efficacité antimicrobienne vis-à-vis de cette espèce avec une CMI à une dilution de C/32 et CMB à une dilution de C/16. Cependant pour les extraits bruts, certaines souches sont résistantes à l'action antimicrobienne et autres sont sensibles. La souche *Escherichia coli* est la plus résistante vis-à-vis de tous les extraits.

L'activité inhibitrice de l'huile essentielle et des extraits bruts de la plante *Pulicaria arabica* vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum* est représenté dans la figure 51 et le tableau 28. Les résultats montrent que l'activité inhibitrice de l'huile essentielle de *Pulicaria arabica* est plus importante que les autres extraits (EH<sub>2</sub>O, EMeOH/H<sub>2</sub>O, EACT et EDCM) avec un taux d'inhibition de 48,21%.

Il a été signalé que la forte activité des huiles essentielles est exercée spécifiquement vis-à-vis les champignons filamenteux, les protozoaires et les mites en comparaison à celle des bactéries et des levures (**Inoye et Abe, 2007**). Cette hypothèse est confirmée par notre résultat et par plusieurs investigations qui relient le pouvoir antifongique par des huiles essentielles. Il est à mentionner particulièrement l'activité antifongique contre le champignon *Fusarium oxysporum*, comme, par exemple, l'HE d'*Artimesia herba alba* (**Kolai et al., 2012**), l'HE d'*Ocimum gratissimum* (**Soro et al., 2011**), l'HE d'*Origanum syriacum* L. (**Daouk et al., 1995**), l'HE de *Thymus vulgaris* et *Cymbopogon citratus* (**Lee et al., 2007**), et l'HE de *Xylopia aethiopica* (**Soro et al., 2010**).

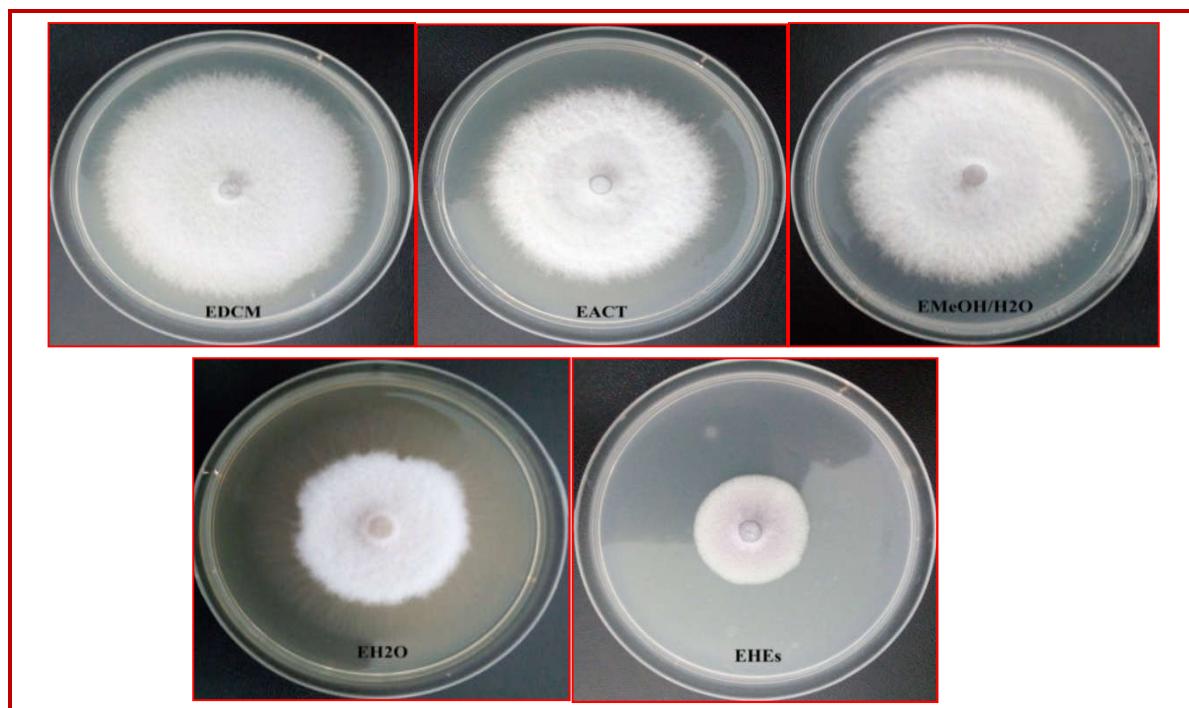


Figure 51. Effet de différents extraits de *Pulicaria arabica* sur *Fusarium oxysporum*

Tableau 28. Résultats de l'activité inhibitrice de *Fusarium oxysporum* par les extraits de *Pulicaria arabica*

Extrait	EH2O	EMeOH /H2O	EACT	EDCM	HEs
%d'inhibition	19,64	-1,78	5,35	-14,28	48,21

De plus et selon **Zhiri (2006)**, les composés avec les plus puissantes activités antibactériennes principalement les phénols comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol suivi par les alcools avec 10 atomes de C (ou monoterpénols) sont également des antifongiques efficaces mais ils doivent être utilisés sur de plus longues périodes. Les alcools et les lactones sesquiterpéniques ayant également une activité antifongique. En revanche, une étude réalisée par **Chang et al. (2008)** a montré que les composés sesquiterpéniques de l'HE de *Calocedrus macrolepis* sont plus efficaces contre les champignons phytopathogènes (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis funerea*, *Ganoderma australe* et *Fusarium solani*.) comparativement aux composés monoterpéniques, en particulier, les deux composés T-muurolol et l'alpha-cadinol. Cela signifie que le sesquiterpène alcoolique alpha-cadinol (35.05%) qui est le composé majoritaire de notre HE est responsable de l'activité antifongique enregistrée vis-à-vis de l'espèce fongique *Fusarium oxysporum*.

3-2-2-La plante *Erucaria uncata*

Les résultats du test antimicrobien de l'huile essentielle d'*Erucaria uncata* et des différents extraits bruts sont regroupés dans la figure 52 et les tableaux 29 et 30.

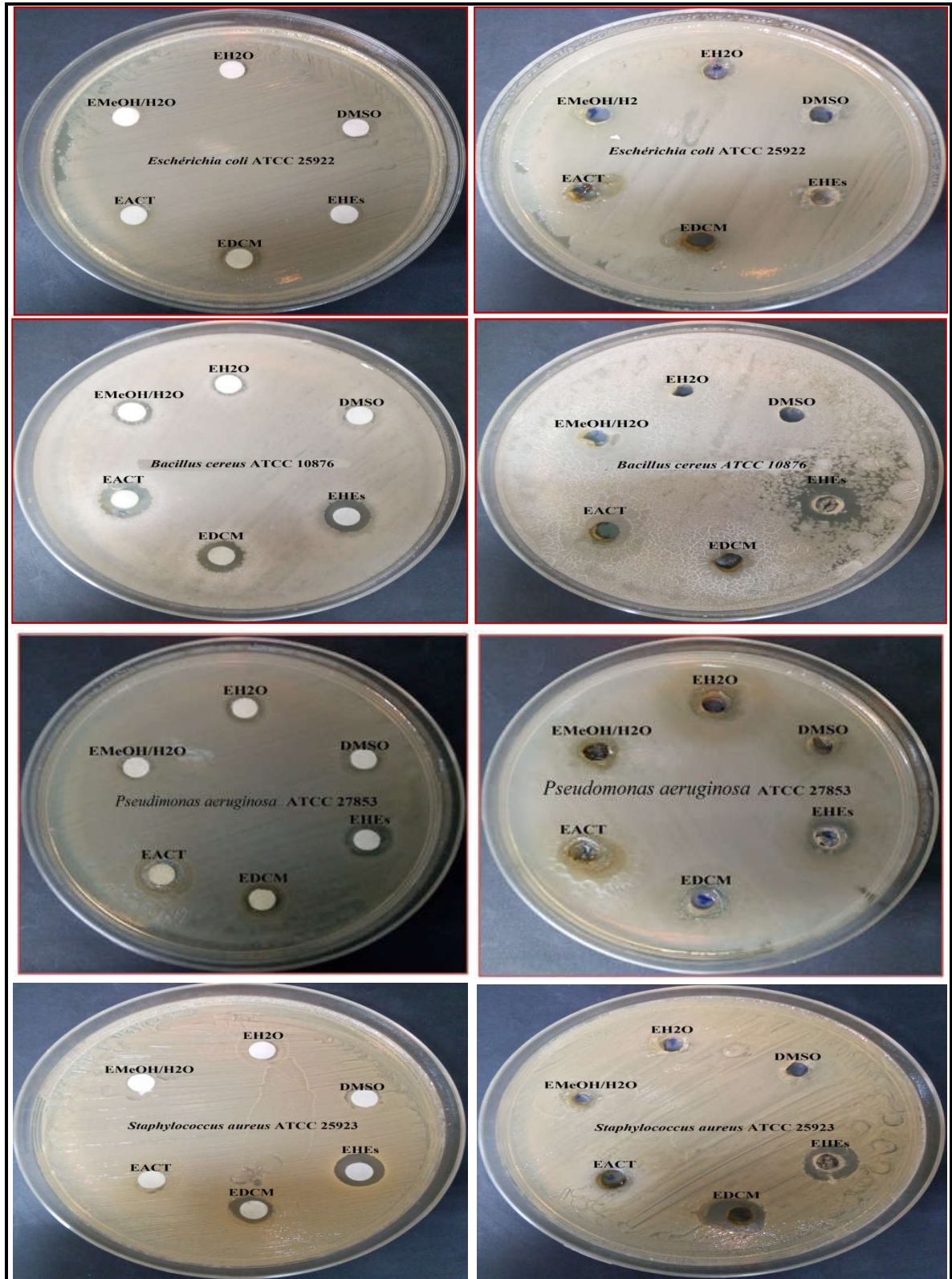




Figure 52. Effet de différents extraits d’*Erucaria uncata* sur les souches microbiennes testées

Tableau 29. Diamètre des zones d’inhibition des extraits de la plante *Erucaria uncata*

Souches microbiennes	Diamètre de la zone d’inhibition en mm										
	EH2O		EM/H2O		EACT		EDCM		HEs		
	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	8±0.00	-	-	-	-	-	10±0.00	-	9.66±1.15	-	
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	-	-	8.16±0.28	-	10.66±0.57	-	9.00±0.00	-	9.66±0.58	11.00±0.00	
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	9.66±0.58	10.33±1.15	10.66±1.15	10.33±0.58	
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	11.33±0.58	10.33±1.15	10.66±1.15	10±0.00	10.33±0.57	10±0.00	

(-) : pas d’inhibition, chaque valeur représente la moyenne de trois essais±écart-type(SD), D : Disque, P : Puits

Tableau 30. CMI et CMB de l’activité antimicrobienne des extraits de la plante *Erucaria uncata*

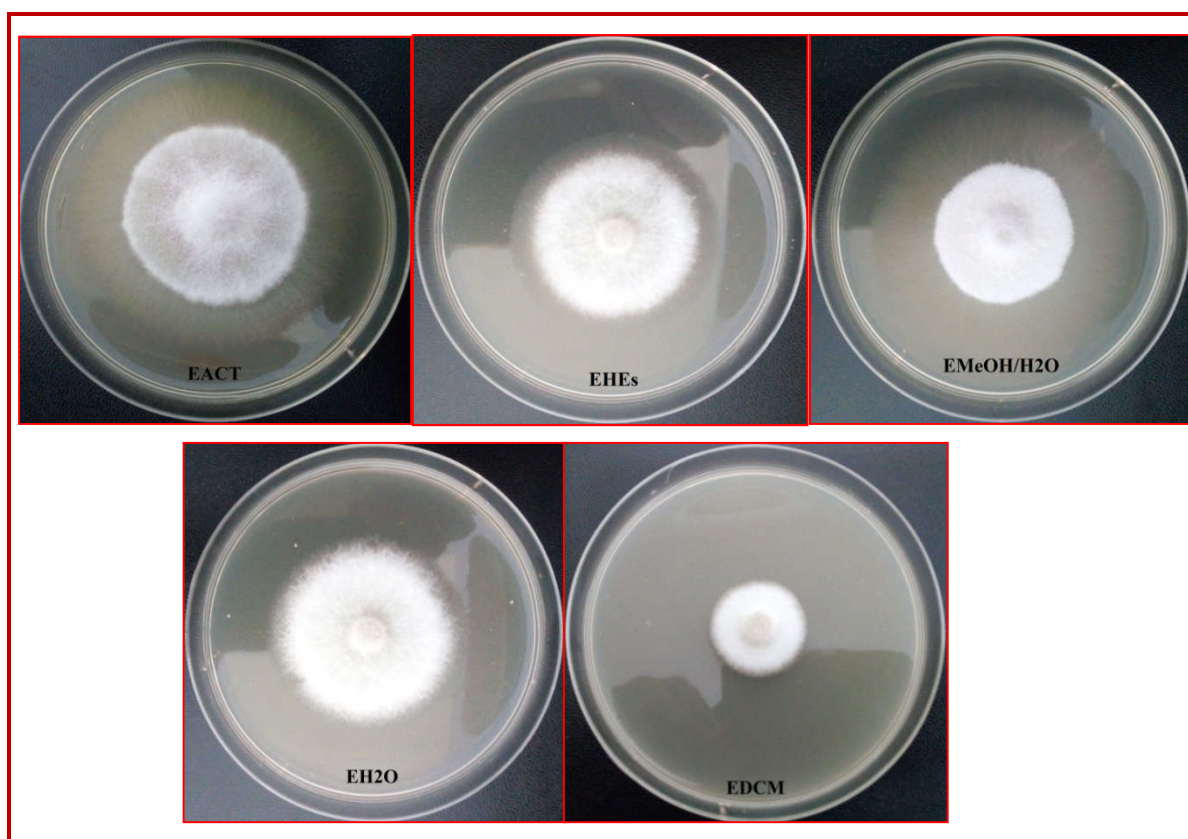
Souches microbiennes	CMI					CMB				
	EH2O	EM/H2O	EACT	EDCM	HEs	EH2O	EM/H2O	EACT	EDCM	HEs
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	C/2	-	-	C/16	C/8	-	-	-	-	C
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	-	C/2	C/2	C/4	C/8	-	-	-	-	C
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	C/4	C/2	-	-	-	C	C/2
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	-	-	C/4	C/4	C/4	-	-	C/4	-	C/4

Les tests des activités antimicrobiennes de l’huile essentielle et des différents extraits bruts de la plante *Erucaria uncata* vis-à-vis des souches : *E.coli*, *B.cereus*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* et *C.albicans* sont évalués par la présence ou l’absence de zones d’inhibition et la détermination des valeurs de la CMI et la CMB. Selon les résultats obtenus, les extraits de la plante *Erucaria*

*uncata* présentent une activité antimicrobienne intermédiaire contre les souches testées par la méthode des disques ou la méthode des puits (Les zones d'inhibition situées entre 8 et 11,33mm).

Tous les extraits sont inactifs vis-à-vis de la bactérie *Escherichia coli*. Cependant, *Bacillus cereus* représente la bactérie la plus sensible. Les concentrations minimales inhibitrices sont observées surtout avec l'HE et l'extrait DCM. Les valeurs les plus faibles sont enregistrées contre *Pseudomonas aeruginosa* (C/16 µg/ml de l'extrait DCM et C/8µg/ml de l'HE). Les concentrations minimales bactéricides sont enregistrées essentiellement avec l'HE et la valeur la plus faible est notée contre *Candida albicans* (C/4µg/ml). Il est également à signaler que l'efficacité inhibitrice des extraits vis-à-vis des souches testées est observée enregistrée contre les Gram positif plus que les Gram négatif.

L'activité inhibitrice de l'huile essentielle et les extraits de la plante *Erucaria uncata* vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum* est représenté dans la figure 53 et le tableau 31.



**Figure 53.** Effet de différents extraits d'*Erucaria uncata* sur *Fusarium oxysporum*

**Tableau 31.** Résultats de l'activité inhibitrice de *Fusarium oxysporum* par les extraits d'*Erucaria uncata*

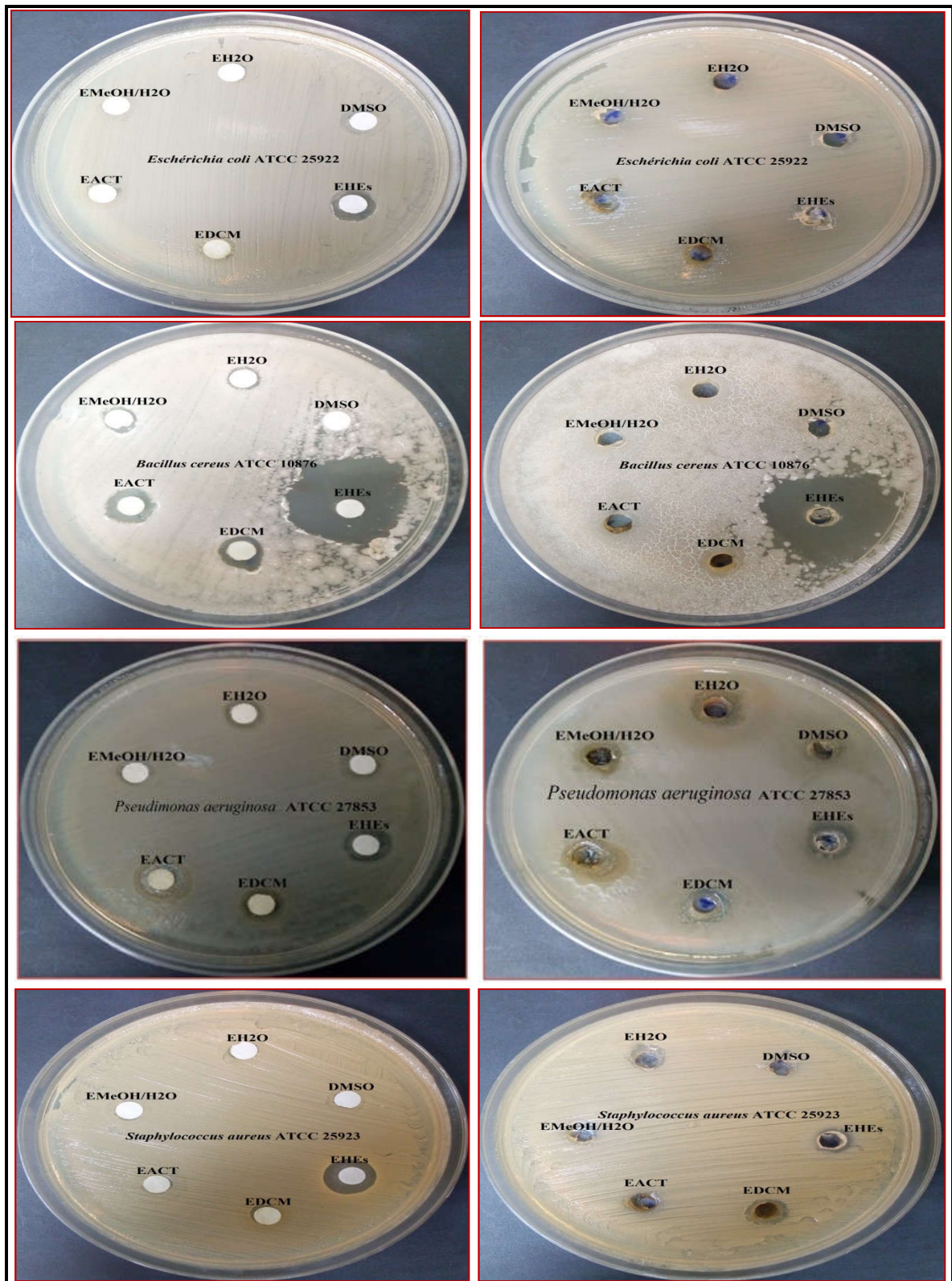
Extrait	EH <sub>2</sub> O	EMeOH /H <sub>2</sub> O	EACT	EDCM	HEs
%d'inhibition	28,57	41,07	23,21	60,71	30,35

Les résultats montrent que tous les extraits testés d'*Erucaria uncata* ont un pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne de l'espèce fongique *Fusarium oxysporum*. L'activité inhibitrice de l'extrait DCM est plus importante que les autres extraits. Le taux d'inhibition le plus élevé est de 60,71%, suivi par l'extrait hydrométhanolique avec un pourcentage de 41,07%, puis l'huile essentielle avec un pourcentage d'inhibition de 30,35% et en dernier l'extrait aqueux et acétonique avec un pourcentage d'inhibition de 28,57% et 23,21% respectivement. Ce qui montre que l'activité antifongique mise en évidence dépend du solvant d'extraction utilisé.

D'après une étude réalisée par **Kamelé et al. (2019)** dans le but de rechercher d'autres alternatives de lutte biologique contre les champignons responsables de la pourriture des fruits tropicaux (papaye et tomate). Ces auteurs ont effectué des tests du pouvoir antifongique des extraits de trois solvants de polarité différente de cinq espèces de plantes (*Nesogordonia papaverifera*, *Cola gigantea*, *Triplochiton scleroxylon*, *Trichilia heudelotii* et *Celtis mildbraedii*) vis-à-vis trois espèces fongiques (*Colletotrichum higginsianum*, *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifer*). Leurs résultats ont révélé que *Fusarium oxysporum* est la souche la plus sensible des souches sélectionnées aux extraits dichlorométhane, méthanoliques suivis par les extraits aqueux des organes de toutes les plantes. Cela confirme notre résultat. De plus, Il est noté que la présence de l'alpha-cadinol et T-muurolol dans la composition d'une HE confirme l'activité antifongique de celle-ci et en particulier contre le champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* (**Chang et al., 2008**). Ainsi, le  $\alpha$ -Cadinol (24,69%) et le T-Muurolol (18,28 %) qui sont parmi les composés majoritaires de l'HE d'*Erucaria uncata* sont probablement responsables de leur activité antifongique vis-à-vis ce champignon.

### 3-2-3-La plante *Thymelaea hirsuta*

Les résultats des tests de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits (eau, méthanol/Eau, acétone et dichlorométhane) de la partie aérienne de *Thymelaea hirsuta* vis-à-vis des cinq souches de références sont présentés dans la figure 54 et les tableaux 32 et 33.



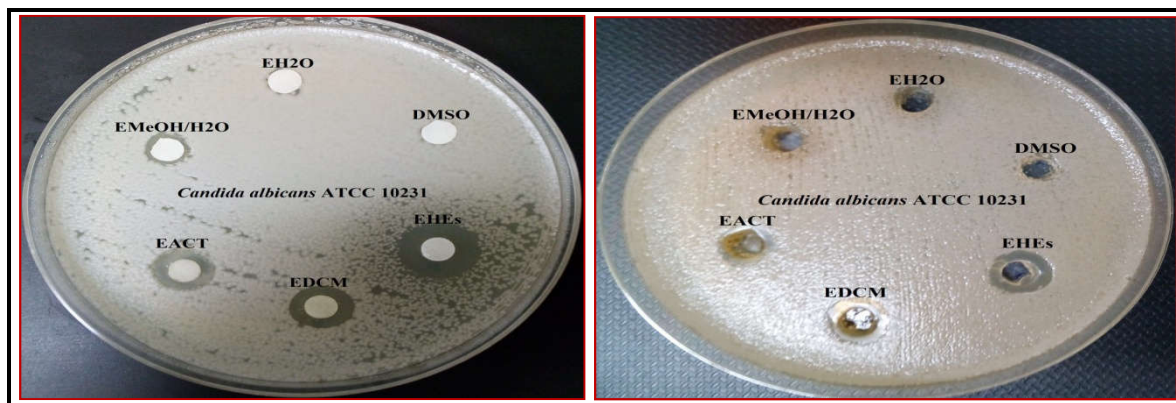


Figure 54. Effet des différents extraits de *Thymelaea hirsuta* sur les souches microbiennes testées

Tableau 32. Diamètre des zones d’inhibition des extraits de la plante *Thymelaea hirsuta*

Souches microbiennes	Diamètre de la zone d’inhibition en mm									
	EH2O		EM/H2O		EACT		EDCM		HEs	
	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	10±0.00	-
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	7±0.00	-	8±0.00	-	7±0.00	-	-	-	9±0.00	-
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	7±0.00	-	7±0.00	-	10.33±0.58	-	9.33±0.58	9±0.00	23.16±1.04	27.50±0.57
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	-	11.66±0.58	8±0.00
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	-	-	7.66±0.57	-	10.66±0.58	9±0.00	11±0.00	11±0.00	13±0.00	10.33±0.58

(-) : pas de zone d’inhibition, chaque valeur représente la moyenne de trois essais±écart-type(SD), D : Disque, P : Puits

Tableau 33. CMI et CMB de l’activité antimicrobienne des extraits de la plante *Thymelaea hirsuta*

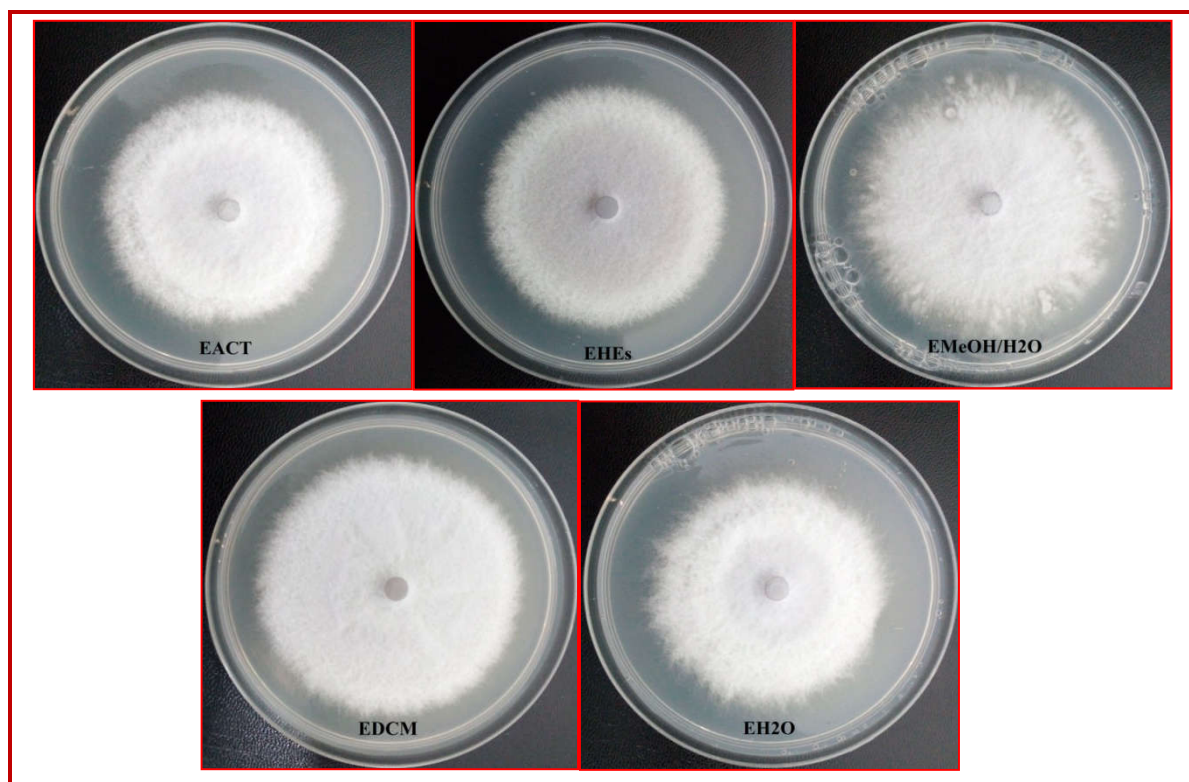
Souches microbiennes	CMI					CMB				
	EH2O	EM/H2O	EACT	EDCM	HEs	EH2O	EM/H2O	EACT	EDCM	HEs
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	C/4	-	-	-	-	C
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	C/8	C/8	C/2	-	C/8	-	-	-	-	-
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	C	C	C/2	C/4	C/4	-	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	C/2	-	-	-	-	C
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	-	C/2	C/2	C/2	C/4	-	-	-	-	-

L’étude de la sensibilité des bactéries et de la levure testées aux huiles essentielles et aux différents extraits bruts de la partie aérienne de la plante *Thymelaeahirsuta* a montré une absence du pouvoir inhibiteur sur la croissance de la bactérie *Escherichia coli*. Cependant, l’efficacité d’action antimicrobienne de ces extraits est positive sur les autres souches testées (*Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*), avec des diamètres des

zones d'inhibition qui varient entre 7 et 27,5 mm, selon la méthode d'antibiogramme utilisée, l'extrait testé et la souche ciblée.

Sur les 5 souches testées, l'activité antimicrobienne est enregistrée pour tous les types d'extraits sur l'espèce *Bacillus cereus* dont l'huile essentielle a présenté l'inhibition la plus importante ( $23,16 \pm 1,04$  et  $27,50 \pm 1,15$ ) respectivement pour la méthode des disques et la méthode des puits. Cette efficacité antimicrobienne vis-à-vis des souches citées est inversement proportionnelle aux concentrations minimales inhibitrices (CMI). Cette observation apparaît clairement avec l'huile essentielle ; Elle a enregistrée une zone d'inhibition de  $23,16 \pm 1,04$  et  $27,50 \pm 1,15$  et une CMI à une dilution de C/4 vis-à-vis la souche *Bacillus cereus*, cependant, elle a montrée une zone d'inhibition de  $9 \pm 0,00$  mm de diamètre et une CMI à une dilution de C/8 vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa*. Il est également à noter que parmi les extraits testés, excepté l'huile essentielle à un effet bactéricide contre deux souches : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Selon **De Billerbeck (2007)**, les extraits de *Thymelaea hirsuta* ont montré une activité antimicrobienne modérée avec la concentration utilisée (8 mg/ml). En outre, une étude sur l'activité antimicrobienne de différents extraits de *Thymelaea hirsuta* montre un effet intermédiaire contre certaines souches bactériennes et fongiques (**Trigui et al. 2013**). Cependant, (**Felhi et al. 2017**) ont signalé une forte activité enregistrée par l'HE de *Thymelaea hirsuta* avec des zones d'inhibition allant de 14 mm à 27 mm contre certaines souches bactériennes *E.coli*, *S.aureus*, *B.cereus* et d'autres. Ces différences peuvent être attribuées à la variation de la composition chimique de l'huile essentielle.

Les résultats des tests de l'activité antifongique de l'huile essentielles et des différents extraits (eau, méthanol/Eau, acétone et dichlorométhane) de la partie aérienne de *Thymelaea hirsuta* vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum* sont mentionnés dans la figure 55 et le tableau 34.



**Figure 55.** Effet de différents extraits de *Thymelaea hirsuta* sur *fusarium oxysporum*.

**Tableau 34.** Résultats de l'activité inhibitrice de *fusarium oxysporum* par les extraits de *Thymelaea hirsuta*

Extrait	EH2O	EMeOH /H2O	EACT	EDCM	HEs
%d'inhibition	3,57	-5,35	1,78	-12,5	-3,57

Les résultats obtenus ont révélé que l'activité antifongique de différents extraits de *Thymelaea hirsuta* vis-à-vis de l'espèce fongique *Fusarium oxysporum* est très faible ou nulle. Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de ce champignon a été enregistré seulement avec deux extraits et avec des pourcentages très faibles, l'extrait aqueux (3,57%) et l'extrait dichloroformique (1,78%). La nature des composés chimiques présente dans l'huile essentielle et les extraits organiques de cette plante expliquerait ce résultat. Comme par exemple, l'huile essentielle est pauvre en monoterpénols comme le thymol et le carvacrol, et en alcools sesquiterpéniques comme l'alpha-cadinol et T-murrolol. Ces derniers sont signalés déjà comme des composés responsables de l'activité antifongique et, particulièrement, l'activité contre le champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum*. Ce qui concorde avec les résultats de notre résultat.

## 3-3-Activité enzymatique

L'impact de l'huile essentielle et des extraits bruts de la partie aérienne de *Pulicaria arabica*, *Erucaria uncata* et *Thymelaea hirsuta* a été examiné *in vitro* sur les activités de l'AChE, BChE et  $\alpha$ -Glucosidase sur la base de tests colorimétriques en système de microplaques. Les résultats obtenus sont exprimés en termes d'IC<sub>50</sub> et sont représentés dans le tableau 35.

**Tableau 35.** Effet de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Pulicaria arabica*, *Erucaria uncata* et *Thymelaea hirsuta* sur les activités de l'AChE, BChE et  $\alpha$ -glucosidase.

Extraits	AChE IC <sub>50</sub> (µg/mL)	BChE IC <sub>50</sub> (µg/mL)	$\alpha$ -glucosidase IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<i>Pulicaria Arabica</i>			
EH2O	NA	117.27±0.14	>1000
MeOH/H2O	NA	21.71±1.09	42.45±4.67
EACT	NA	5.53±0.66	>1000
EDCM	NA	0.97±0.34	>1000
EHEs	NA	20.22±0.67	39.74±1.91
<i>Erucaria uncata</i>			
EH2O	NA	20.81±3.02 <sup>c</sup>	NA
MeOH/H2O	NA	14.85±0.98 <sup>b</sup>	820.14±8.68 <sup>c</sup>
EACT	NA	12.81±1.18 <sup>b</sup>	NA
EDCM	NA	2.98±0.86 <sup>a</sup>	NA
EHEs	NA	78.26±4.71 <sup>c</sup>	77.45±0.22 <sup>a</sup>
<i>Thymelaea hirsute</i>			
EH2O	NA	37.89±1.91 <sup>b</sup>	312.02±1.42 <sup>d</sup>
MeOH/H2O	NA	86.37±2.44 <sup>d</sup>	33.11±3.54 <sup>b</sup>
EACT	NA	71.95±1.43 <sup>c</sup>	908.31±0.35 <sup>c</sup>
EDCM	NA	14.29±1.86 <sup>a</sup>	>1000
EHEs	NA	13.57±1.70 <sup>a</sup>	15.42±2.77 <sup>a</sup>
<b>Standards</b>			
Galanthamine	6.27±1.15	34.75±1.99 <sup>d,b</sup>	NT
Acarbose	NT	NT	275.43±1.59 <sup>b,c</sup>

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SD. Les valeurs notées sur la même ligne avec différentes lettres en minuscule (a-e) sont significativement différentes à  $p < 0.05$  selon le test Tukey. MeOH: Methanol, ACT :Acetone, DCM: Dichloromethane, HES: Huile essentielle. NA: Non actif.

### 3-3-1-La plante *Pulicaria arabica*

Comme précédemment, l'effet inhibiteur des extraits de *Pulicaria arabica* est examiné contre l'acétylcholinestérase, la butyrylcholinestérase, impliquées respectivement dans les maladies d'Alzheimer et de diabète de type 2. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 35. Il ressort que tous les extraits de la plante sont inactifs contre l'AChE alors qu'ils exercent une activité inhibitrice importante contre la BChE. Cet effet est plus prononcé pour l'extrait de Dichlorométhane ( $IC_{50}$  de  $0,97 \pm 0,34 \mu\text{g/ml}$ ) suivi par l'extrait acétone, l'huile essentielle et l'extrait de méthanol/eau ( $IC_{50}$  :  $5,53 \pm 0,66 \mu\text{g/ml}$ ,  $20,22 \pm 0,67 \mu\text{g/ml}$  et  $117,27 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$  respectivement). Les effets des différents extraits sont plus efficaces que le standard (galanthamine,  $IC_{50} = 34,75 \pm 1,99 \mu\text{g/ml}$ ). De même, un effet inhibiteur remarquable de l' $\alpha$ -glucosidase est observé avec l'huile essentielle ( $IC_{50} = 39,74 \pm 1,91 \mu\text{g/ml}$ ) et l'extrait méthanol/eau ( $IC_{50} = 42,45 \pm 4,67 \mu\text{g/ml}$ ) comparativement à celui noté pour l'acarbose utilisé comme standard ( $IC_{50} = 275,43 \pm 1,59 \mu\text{g/ml}$ ). En revanche, les autres extraits sont inactifs.

D'après les résultats obtenus, les extraits testés ont montré une sélectivité vis-à-vis de la BChE que l'AChE. Ces observations corroborent avec celles de la littérature qui montre que l'AChE et la BChE sont complètement inhibées par les alcaloïdes et les composés terpéniques (Murray et al., 2013). Ainsi, l'activité inhibitrice élevée de l'extrait de dichlorométhane contre la BChE pourrait être liée à la présence des composés terpéniques étant donné que les alcaloïdes n'ont pas été rapportés dans cette espèce. D'autre part, l'huile essentielle a montré un effet inférieur à celui de l'extrait de dichlorométhane qui pourrait être expliqué par la nature des composés terpéniques présents dans cette huile.

L'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase, constatée pour l'huile essentielle et l'extrait méthanol/eau, n'a pas été décrite auparavant pour la plante *Pulicaria arabica*. Néanmoins, des travaux antérieurs ont décrit l'effet inhibiteur de l' $\alpha$ -glucosidase par d'autres extraits d'espèces du genre *Pulicaria* ; L'HE des feuilles de *Pulicaria inuloïdes* et celle de la partie aérienne de *Pulicaria incisa*, et l'extrait méthanolique des feuilles de *Pulicaria wightinia* sont avérés très efficaces dans l'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase avec des valeurs d' $IC_{50}$  égales à : 140,49, 218,32 et 140  $\mu\text{g/ml}$  respectivement pour Al-Hajj et al. (2016) ; Chaib, (2017) ; Alluri et Satla (2017).

### 3-3-2-La plante *Erucaria uncata*

Tous les extraits d'*Erucaria uncata* s'avèrent plus efficaces contre BChE. Cet effet inhibiteur varie entre  $IC_{50} = 2,98 \pm 0,86 \mu\text{g/ml}$  et  $78,26 \pm 4,71 \mu\text{g/ml}$  enregistrée respectivement avec l'extrait de DCM et l'HE. Alors qu'un effet inhibiteur modéré de l' $\alpha$ -glucosidase est enregistrée pour l'huile essentielle ( $IC_{50} = 77,45 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$ ) et l'extrait MeOH/eau ( $IC_{50} =$

glucosidase est enregistrée pour l'huile essentielle ( $IC_{50} = 77,45 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$ ) et l'extrait MeOH/eau ( $IC_{50} = 820,14 \pm 8,68 \mu\text{g/ml}$ ). Cependant, les extraits aqueux, DCM et acétone sont inactifs vis-à-vis de la même enzyme. Une même tendance a été signalée pour une autre espèce du même genre d'*Erucaria* (*Erucaria hispanica*) pour laquelle aucun effet sur l' $\alpha$ -glucosidase n'a été enregistré (Hamdan et Afifi, 2008).

### 3-3-3-La plante *Thymelaea hirsuta*

Tous les extraits testés de la plante *Thymelaea hirsuta* ont montré une activité inhibitrice importante vis-à-vis de la BChE alors qu'ils sont inactifs vis-à-vis l'AChE. Les valeurs d' $IC_{50}$  enregistrées varient de  $13,57 \pm 1,70 \mu\text{g/ml}$  avec l'HEs et  $86,37 \pm 2,44 \mu\text{g/ml}$  avec l'extrait de MeOH/eau. L'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase est observée pour les différents extraits de *Thymelaea hirsuta*, notamment, les huiles essentielles avec une valeur d' $IC_{50}$  de  $15,42 \pm 2,77 \mu\text{g/ml}$  suivi par l'extrait MeOH/ eau ( $IC_{50} = 33,11 \pm 3,54 \mu\text{g/ml}$ ). Tandis que l'extrait de DCM a présenté l'effet inhibiteur le plus faible ( $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$ ). Cette activité antidiabétique de *Thymelaea hirsuta* a été signalée antérieurement dans la littérature pour l'extrait méthanolique. En effet, dans leurs travaux *in vivo* sur des rats diabétiques hypertendus Bnouham et al. (2007 ; 2010 ; 2012) ont montré que cet extrait méthanolique possède un effet antidiabétique en diminuant les niveaux de glucose dans le sang. L'un des mécanismes proposé pour illustrer cette inhibition (effet anti-hyperglycémique) est l'inactivation de l' $\alpha$ -glucosidase et de l' $\alpha$ -amylase dans l'intestin grêle, ce qui bloque la dégradation des glucides complexes et donc leur absorption.

# *Conclusion générale*

## Conclusion générale

---

L'approche vers les substances naturelles d'origine végétale comme alternatives aux médicaments et agents chimiques reste une solution de premier choix dans le contrôle et dans le traitement de différentes pathologies qui affectent l'homme, l'animal ou la plante elle-même. Ainsi, les vertus médicinales de plusieurs plantes ont été étudiées. Dans cette optique, cette étude a visé la caractérisation phytochimique et biologique de trois plantes médicinales et fourragères présentes et collectées dans la région Nord-Sud de l'Algérie. A travers cette étude, nous avons tenté d'élucider surtout les activités biologiques des métabolites secondaires (huiles essentielles et extraits bruts) de ces plantes à savoir : activité antioxydant, antimicrobienne, anti-Alzheimer et antidiabétique et de les lier (activité biologique) à la composition chimique en phénols totaux, flavonoïdes et huiles essentielles.

Les résultats de ce présent travail indiquent des teneurs élevées en polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits des trois plantes, en particulier, les extraits hydro-méthanoliques et aqueux. La composition chimique des huiles essentielles révèle une différence quantitative et qualitative entre les plantes sélectionnées ; L'huile essentielle de *Pulicaria arabica* (8 composés) montre la prédominance de sesquiterpènes :  $\alpha$ -Cadinol,  $\delta$ -Cadinene,  $\tau$ -Muurolol et  $\tau$ -Cadinol, l'huile essentielle de *Thymeleae hirsuta* (25 composés) est riche : Tétradécanal, Acide palmitique, Tridicanal, Dodecyltetraglycol et  $\delta$ -Cadinol. Alors que l'huile essentielle d'*Erucaria uncata* (19 composés) est caractérisée par la présence majoritaire du  $\alpha$ -Cadinol,  $\delta$ -Cadinene, tau.-Muurolol, et acide palmitique.

L'activité antioxydant des extraits des trois plantes, déterminée par des tests différents (DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, chélation du fer, blanchissement du  $\beta$ -Carotène, CUPRAC et Phénanthroline), indique que l'extrait hydro-méthanolique représente l'activité la plus élevée comparativement aux autres extraits pour toutes les plantes et les différents tests réalisés.

En ce qui concerne l'activité enzymatique, l'évaluation des effets inhibiteurs de nos extraits vis-à-vis de l'acétylcholinestérase, la butyrylcholinestérase et l'alpha-glucosidase montre que les différents extraits sont inactifs vis-à-vis de l'enzyme AChE. Cependant, l'activité des enzymes BChE et l' $\alpha$ -Glucosidase est modulée par les différents extraits ; La plus forte inhibition est observée en présence des huiles essentielles. En outre dans le volet caractérisation biologique, l'activité antimicrobienne des différents extraits et des huiles essentielles a été recherchée *in vitro* pour 4 bactéries, une levure et un champignon phytopathogène. Les résultats montrent que les différents extraits inhibent la croissance de toutes les bactéries excepté la souche *Escherichia coli*, de la levure (*Candida albicans*) et du champignon (*Fusarium oxysporum*).

## ***Conclusion générale***

---

De ce qui précède, l'usage traditionnel des trois plantes étudiées est confirmé. En outre, il est important de signaler leur capacité dans la prise en charge de diverses pathologies infectieuses liées au stress oxydant. Mais, ces résultats devraient être confortés par d'autres études complémentaires et plus approfondies. Ainsi et en perspective, il faut envisager de :

- séparer, isoler et identifier les substances bioactives de ces espèces qui sont responsables des activités biologiques réalisées par usage de différentes techniques de séparation et d'analyse,
- évaluer la toxicité de ces substances,
- mener d'autres travaux *in vivo* et *in vitro* sur les activités biologiques comme les activités : anti-méthanogènes, anti inflammatoire, et autres.
- et chercher un effet de synergie entre les extraits de ces espèces pour confectionner un complément alimentaire ou un phytomédicament.

# *Références bibliographiques*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbas, G. M., Abdel Bar, F. M., Baraka, H. N., Gohar, A. A., & Lahloub, M. F. (2014). A new antioxidant stilbene and other constituents from the stem bark of *Morus nigra* L. *Natural product research*, 28(13), 952-959.

Abdelshafeek, K. A., Daboob, A. M., Abou-Setta, L. M., & Zarkon, A. M. (2011). Study of Lipids, Glucosinolate-derived isothiocyanates and their antimicrobial Activity of *Erucaria Pinnata*. *JASMR*, 6(2), 135-142.

Abdille, M. H., Singh, R. P., Jayaprakasha, G. K., & Jena, B. S. (2005). Antioxydant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. *Food chemistry*, 90(4), 891-896.

Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Vol. 456). Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.

Aderogba, M. A., Ndhkala, A. R., Rengasamy, K. R., & Van Staden, J. (2013). Antimicrobial and selected in vitro enzyme inhibitory effects of leaf extracts, flavonols and indole alkaloids isolated from *Croton menyharthii*. *Molecules*, 18(10), 12633-12644.

Aderogba, M. A., Ogundaini, A. O., & Eloff, J. N. (2006). Isolation of two flavonoids from *Bauhinia monandra* (Kurz) leaves and their antioxidative effects. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 3(4), 59-65.

Aeschbach, R., Löliger, J., Scott, B. C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B., & Aruoma, O. I. (1994). Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology*, 32(1), 31-36.

Afect (Association Francaise des Enseignants de Chimie Thérapeutique 2011). *Traité de chimie thérapeutique Volume 7: Médicaments actifs sur le système nerveux central*, Lavoisier.

Akhani, S. P., Vishwakarma, S. L., & Goyal, R. K. (2004). Anti-diabetic activity of *Zingiber officinale* in streptozotocin-induced type I diabetic rats. *Journal of pharmacy and Pharmacology*, 56(1), 101-105.

Akowuah, G. A., Ismail, Z., Norhayati, I., & Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry*, 93(2), 311-317.

Akrout, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H., & Madrid, P. C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 342-347.

Al-Bayati, F. A. (2009). Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 8(1), 1-6.

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

Algabr, .M.N., Benayache, F., Mekkiou, R., Ameddah, S., Menad, A., Boumaza, O., Seghiri, R., Benayache, S.(2010). Antioxydant activities from the aerial parts of *Pulicaria jaubertii*, *Advances in Natural and Applied Sciences*, 4(1): 63-70.

Al-Hajj, N. Q. M., Sharif, H. R., Aboshora, W., & Wang, H. (2016). In vitro and in vivo evaluation of antidiabetic activity of leaf essential oil of *Pulicaria inuloides*-Asteraceae.

Al-Hazimi, H. M. G., & Al-Khathlan, H. Z. (1992). Chemistry of various *Pulicaria* species (Asteraceae). *JOURNAL-CHEMICAL SOCIETY OF PAKISTAN*, 14, 233-233.

Al-Mazroa, S. A., Al-Wahaibi, L. H., Mousa, A. A., & Al-Khathlan, H. Z. (2015). Essential oil of some seasonal flowering plants grown in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(2), 212-217.

Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A., & Kellogg, E. A. (2006). Systematics and phylogeny of the *Brassicaceae* (Cruciferae): an overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259(2), 89-120.

Aly, H.F., Ibrahim, E.A., Abou Baker, D.H., Mahmoud,K., EL-BAZ., F.K.(2016) Evaluation of antioxydant, Anti-Inflammatory, anti-alzheimers and anticancer activities of *Taonia atomaria* . *Int J Pharm Bio Sci*, 7(3),421-429.

Alluri, R., & Satla, S. (2017). Comparative In vitro antidiabetic and antioxidant activity of *Pulicaria wightinia*, *Curcuma inodora*, *Derris scandens* leaf extracts. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(6), 1615-1620.

Amari, N. O., Bouzouina, M., Berkani, A., & Lotmani, B. (2014). Phytochemical screening and antioxidant capacity of the aerial parts of *Thymelaea hirsuta* L. *Asian Pacific journal of tropical disease*, 4(2), 104-109.

Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., ... & Chaouch, A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9(3), 149.

Amand, L., & Langlois, N. (2009). *Agriculture biologique: les grands principes de production et l'environnement professionnel*. Educagri Editions.

Amine, I. L., Salord, H., Gille, Y., Roure, C., Tigaud, S., Bajou, T., ... & L'KASSMI, H. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolée à l'imipénème: clone émergent en milieu hospitalier?. *Les technologies de laboratoire*, 3(11).

Anese .(2011). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments /*Bacillus cereus*, Agence nationale de sécurité sanitaire, alimentation, environnement, travail.

Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.

Apak, R., Demirci Çekiç, S., Üzer, A., Çelik, S. E., Bener, M., Bekdeşer, B., ... & Erçağ, E. (2018). Novel spectroscopic and electrochemical sensors and nanoprobe for the characterization of food and biological antioxidants. *Sensors*, 18(1), 186.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.

Artigou, J. Y., & Monsuez, J. J. (2007). *Cardiologie et maladies vasculaires*. Elsevier Masson.

Avato, P., D'Addabbo, T., Leonetti, P., & Argentieri, M. P. (2013). Nematicidal potential of Brassicaceae. *Phytochemistry Reviews*, 12(4), 791-802.

Azaizeh, H., Fulder, S., Khalil, K., & Said, O. (2003). Ethnobotanical knowledge of local Arab practitioners in the Middle Eastern region. *Fitoterapia*, 74(1-2), 98-108.

**B**arbier, F., & Wolff, M. (2010). Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: towards a therapeutic dead end?. *Medecine Sciences: M/S*, 26(11), 960-968.

Baribeau, H.(2010). Pouvoir antioxydant, Ed, Passeport Santé.net.

Baritoux, O., Richard, H., Touche, J., & Derbesy, M. (1992). Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil. Part I. Basil, *Ocimum basilicum* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 7(5), 267-271.

Baynes, J. W. (1991). Rôle of oxydative stress in développement of complications in diabètes. *Diabetes*, 40(4), 405-412.

Bekir, J., Mars, M., Souchar, J. P., & Bouajila, J. (2013). Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leaves. *Food and chemical toxicology*, 55, 470-475.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.

Bellakhdar, J. (1997). *Pharmacopée marocaine traditionnelle*. Ibis press.

Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J., & Younos, C. (1991). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *Journal of ethnopharmacology*, 35(2), 123-143.

Beltrame, C. (2007). Problèmes posés par le concept d'espèce en biologie de la conservation: exemple des centaurees de la section *Maculosae* dans les régions méditerranéennes et alpines de l'Europe occidentale (Doctoral dissertation, Paris 6).

Belmin, J., Chassagne, P., Friocourt, P., Gonthier, R., Jeandel, C., Nourhashemi, F., Pfitzenmeyer, P. (2016). *Gériatrie: pour le Praticien*, Elsevier Health Sciences.

Benkhnigue, O., Ben Akka, F., Salhi, S., Fadli, M., Douira, A., & Zidane, L. (2014). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *J Anim Plant Sci*, 23(1), 3539-68.

Bensouici, C. (2014). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sedum* (*Crassulaceae*). Université Mentouri-Constantine.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.

Berghe, V.A. et Vlietinck, A.J. (1991). Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from 568 Higher Plants. *Meth Plant Biochem*. 6:47-68.

Berruex, J. C. (1998). *La forme à votre portée*. Jean-Claude Berruex.

Berthelot, P., Grattard, F., Mallaval, F. O., Ros, A., Lucht, F., & Pozzetto, B. (2005). Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie*, 53(6), 341-348.

Bisognano, C. (2001). Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de " *Staphylococcus aureus*": étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires (Doctoral dissertation, University of Geneva).

Blancard, D. (2009). *Les maladies de la tomate: identifier, connaître, maîtriser*. Quae.

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

Bnouham, M., Merhfour, F. Z., Legssyer, A., Mekhfi, H., Maâllem, S., & Ziyat, A. (2007). Antihyperglycemic activity of *Arbutus unedo*, *Ammoides pusilla* and *Thymelaea hirsuta*. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(8), 630-632.

Bnouham, M., Merhfour, F. Z., Ziyat, A., Aziz, M., Legssyer, A., & Mekhfi, H. (2010). Antidiabetic effect of some medicinal plants of Oriental Morocco in neonatal non-insulin-dependent diabetes mellitus rats. *Human & experimental toxicology*, 29(10), 865-871.

Bnouham, M., Benalla, W., Bellahcen, S., Hakkou, Z., Ziyat, A., Mekhfi, H., ... & Legssyer, A. (2012). Antidiabetic and antihypertensive effect of a polyphenol-rich fraction of *Thymelaea hirsuta* L. in a model of neonatal streptozotocin-diabetic and NG-nitro-l-arginine methyl ester-hypertensive rats. *Journal of diabetes*, 4(3), 307-313.4

Bonnefont-Rousselot, D. (2014). Obesity and oxidative stress: potential roles of melatonin as antioxidant and metabolic regulator. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 14(3), 159-168.

Borris, R. P., Blaskó, G., & Cordell, G. A. (1988). Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the *Thymelaeaceae*. *Journal of ethnopharmacology*, 24(1), 41-91.

Botineau, M., 2015. Fruit rouge à maturité, Garou. In : Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. Paris : Lavoisier.

Bouguerne, B. (2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et études de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose) (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

Boukef, M.K.(1986). Médecine traditionnelle et pharmacopée. Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne [Traditional medicine and pharmacopoeia. Plants in Tunisian traditional medicine]. Ed. Paris: Agence de coopération culturelle et technique.

Boulos, L.(1999). Flora of Egypt. Al Hadara Publishing. Cairo. Vols.1-4.

Bounab, S., Lograda, T., Ramdani, M., & Chalard, P. (2019). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Thymelaea hirsuta* from Algeria. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(10).

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

Brooks, G., Evans, A. T., Aitken, A., Evans, F. J., Rizk, A. F. M., Hammouda, F. M., ... & Ismail, S. E. (1990). Daphnane diterpenes of *Thymelaea hirsuta*. *Phytochemistry*, 29(7), 2235-2237.

Brugman ,S et Cotard ,C.(2016).Sur les chemins d'Alois.The Book Edition.

Brühlmann, C., Marston, A., Hostettmann, K., Carrupt, P. A., & Testa, B. (2004). Screening of non-alkaloidal natural compounds as acetylcholinesterase inhibitors. *Chemistry & biodiversity*, 1(6), 819-829.

Bruneton, J.(1999). Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier.

Bruneton, J.(1987). Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie. Paris : Lavoisier.

Bruneton J (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. TEC DOC., 4th edition, Paris France.

**C**amelot, S., Mesguich, L., & Vasina, B. (2012). Concours Kiné Le tout-en-un Épreuves écrites. Elsevier Masson.

Casiglia, S., Riccobono, L., Bruno, M., Senatore, F., & Senatore, F. (2016). Chemical composition of the essential oil from *Pulicaria vulgaris* var. *graeca* (Sch.-Bip.) Fiori (Asteraceae) growing wild in Sicily and its antimicrobial activity. *Natural product research*, 30(3), 259-267.

Catier, O., Roux, D.(2007). Botanique Pharmacognosie Phytothérapie ,3èmeédition, Wolters Kluwer.

Causse, C. (2004). Les secrets de santé des antioxydants: plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants. Alpen Editions sam.

Chaabane, F., Krifa, M., Matera, E., Loussaeif, A., Dijoux-Franca, M. G., Ghedira, K., ... & Chekir-Ghedira, L. (2014). In vitro antileukaemic activity of extracts from *Daphne gnidium* leaves against sensitive and multidrug resistant K562/R7 cells. *Tumor Biology*, 35(9), 8991-8998.

Chaib, F., Allali, H., Bennaceur, M., & Flamini, G. (2017). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from the aerial parts of *Asteriscus graveolens* (Forssk.) Less. and *Pulicaria incisa* (Lam.) DC.: Two Asteraceae herbs growing wild in the Hoggar. *Chemistry & biodiversity*, 14(8), e1700092.

Chang, H. T., Cheng, Y. H., Wu, C. L., Chang, S. T., Chang, T. T., & Su, Y. C. (2008). Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus*

macrolepis var. formosana Florin leaf against plant pathogenic fungi. Bioresource technology, 99(14), 6266-6270.

Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissède, P. L. (2008). Les poly phénols du raisin. Phytothérapie, 6(2), 75-82.

Cimanga, R. K., Kambu, K., Tona, L., Hermans, N., Apers, S., Totte, J., ... & Vlietinck, A. J. (2006). Cytotoxicity and in vitro susceptibility of Entamoeba histolytica to Morinda morindoides leaf extracts and its isolated constituents. Journal of Ethnopharmacology, 107(1), 83-90.

Collin, S., & Crouzet, J. (2011). Poly phénols et procédés: transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier.

Contrepois, A. (2006). Les jeunes enfants et la crèche: une histoire: à travers l'histoire de la crèche laïque du Quartier Saint-Fargeau (Paris 20ème). Éditions des archives contemporaines

Cottigli, F., Loy, G., Garau, D., Floris, C., Caus, M., Pompei, R., & Bonsignore, L. (2001). Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of Daphne gnidium L. Phytomedicine, 8(4), 302-305.

Coutinho, A. P., Aguiar, C. F., Da Bandeira, D. S., & Dinis, A. M. (2011). Comparative pollen morphology of the Iberian species of *Pulicaria* (Asteraceae, Inuleae, Inulinae) and its taxonomic significance. Plant systematics and evolution, 297(3), 171-183.

Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. Food chemistry, 194, 135-142.

Cuvier, F. (1826). Dictionnaire Des Sciences Naturelles. Éd., F. G. Levrault, Strasbourg.

**D**abire, C., Nebie, R. H. C., Belanger, A., Nacro, M., & Sib, F. S. (2011). Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 5(3).

Daouk, R., Dagher, S. and Sattout, E.(1995). Antifungal Activity of the Essential Oil of *Origanum syriacum* L. Journal of Food Protection, 58(10), 1147-1149.

Dali-Sahi, M., Benmansour, D., Aouar, A., & Karam, N. (2012). Type 2 dans des populations endogames de l'ouest algérien. Leban Sci J, 13(2), 17.

De Billerbeck, V. G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie, 5(5), 249-253.

Decker, E. A., & Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 38(3), 674-677.

Dekkers, J. C., van Doornen, L. J., & Kemper, H. C. (1996). The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Medicine*, 21(3), 213-238.

Dennis, C. and Webster, J.(1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(3), 363-IN2.

Derbel, S., & Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 3(1), 28-34.

Descheemaeker, K., Provoost, CH.(1999).L'impact de la nutrition sur la santé,Ed,Louvain-Garant.

Desmier, T. (2016). Les Antioxydants de nos jours: Définition et applications (Doctoral dissertation, éditeur inconnu).

De, T. L., Vandermeiren, K., D'Haese, D., Bortier, K., Asard, H., & Ceulemans, R. (2002). Ozone effects on trees, where uptake and detoxification meet. *Dendrobiology*, 47.

Djermane, N., Gherraf, N., Arhab, R., Zellagui, A., & Rebbas, K. (2016). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. *D Phar Let*, 8, 1-6.

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

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.

Dohou, N., Yamni, K., Gmira, N. and Idrissi Hassani, L.(2004). Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Acta Botanica Malacitana*, 29, p.233.

Dupin, H. (1992). *Alimentation et nutrition humaines*. ESF éditeur.

Dupont.F. Guinard. J- L.(2007). *Botanique*. ELSEVIER MASSON. France.24

**E**ddouks, M., Hebi, M., Ajebli, M., El Hidani, A., Sulpice, T., & Burcelin, R. (2017). Étude de l'activité antidiabétique de *Capparis spinosa* L. et de *Calamintha officinalis* Moench chez la souris diabétique. *Phytothérapie*, 1-9.

Eddouks, M., Ouahidi, M. L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., & Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5(4), 194-203.

El-Abed, N. E., Harzallah-Skhiri, F., & Boughalleb, N. (2010). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. from Tunisia. *Agric Segment*, 1, 1530-1534.

El Amrani, F., Rhallab, A., Alaoui, T., El Badaoui, K. H. A. L. I. D., & Chakir, S. (2010). Étude ethnopharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Meknès-Tafilalet (Maroc). *Phytothérapie*, 8(3), 161-165.

El-Beheiry, M. (2000). Evaluation of the organic composition of *Thymelaea hirsuta* populations in Egypt. *Bull. Fac. Sci., Assiut Univ*, 29(1), 375-383.

Eldeen, I. M. S., Elgorashi, E. E., & Van Staden, J. (2005). Antibacterial, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and mutagenic effects of extracts obtained from some trees used in South African traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(3), 457-464.

El-Haci, I. A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., & Didi, M. A. (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10(5), 280-285.

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

Elmann, A., Telerman, A., Mordechay, S., Erlank, H., & Ofir, R. (2012). Antioxydant and astroprotective effects of a *Pulicaria incisa* infusion. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012.

El-Negoumy, S. I., Mansour, R. M., & Saleh, N. A. (1982). Flavonols of *Pulicaria arabica*. *Phytochemistry*, 21(4), 953-954.

El-Keblawy, A., Shaltout, K. H., Lovett-Doust, J., & Ramadan, A. (1997). Population dynamics of an Egyptian desert shrub, *Thymelaea hirsuta*. *Canadian Journal of Botany*, 75(12), 2027-2037.

Fakhfakh, N., Zouari, S., Zouari, M., Loussayef, C., Zouari, N. (2012). Chemical composition of volatile compounds and antioxidant activities of essential oil, aqueous and ethanol extracts of wild Tunisian *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae). *Journal of Medicinal Plants Research* 6(4), 593-600.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, (11/12), 108-117.

Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

Feinendegen, L. E., Bond, V. P., Sondhaus, C. A., & Muehlensiepen, H. (1996). Radiation effects induced by low doses in complex tissue and their relation to cellular adaptive responses. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 358(2), 199-205.

Felhi, S., Chaaibia, M., Bakari, S., Mansour, R. B., Békir, A., Gharsallah, N., & Kadri, A. (2017). Anti-microbial screening and cytotoxic activity of aerial part of *Thymelaea hirsuta* L. essential oil growing in south-west Tunisia. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 30(1).

Ferrari, J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: "Gnidia involucrata" Steud. ex A. Rich (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences).

Ferry, M. (2013). Les micronutriments chez le sujet vieillissant. *Les cahiers de l'année gérontologique*, 5(4), 308-317.

Fink, H. H., & Mikesky, A. (2018). Nutrition du sport. De Boeck Supérieur.

Filleul, E. (2019). *Les astéracées: description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxiques* (Doctoral dissertation).

Fonkeng, L. S., Mouokeu, R. S., Tume, C., Njateng, G. S. S., Kamcthueng, M. O., Ndonkou, N. J., & Kuate, J. R. (2015). Anti-Staphylococcus aureus activity of methanol extracts of 12 plants used in Cameroonian folk medicine. *BMC research notes*, 8(1), 1-6.

Foyer, C., Lelandais, M. and Kunert, K.(1994). Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 92(4),696-717.

Gharabi Z. Sand Rl.(2008).Artemisia herba Alba asso. A guide to Medicinal Plants in North Africa: 49-49.

Gali, L., & Bedjou, F. (2019). Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanol extract fractions and total alkaloids from the cultivated *Ruta chalepensis*. *South African Journal of Botany*, 120, 163-169.

Galicía-Herbada, D. (2006). Origin and diversification of *Thymelaea* (*Thymelaeaceae*): inferences from a phylogenetic study based on ITS (rDNA) sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 257(3), 159-187.

García-Granados, A., & de Buruaga, A. S. (1980). Thymeleaceae photochemistry. I. Diterpenes, triterpenes and sterols of *Thymelea hirsuta* L. leaves. *Anales Quim., Ser. C: Quim. Org. Bioquim*, 76(1), 94-95.

Gaussen, H., Leroy, F.(1982).Précis de botanique (Végétaux supérieurs), 2ème édition,424- 426.

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

Gherib, M., Bekhechi, C., Bekkara, F., Bighelli, A., Casanova, J. and Tomi, F.(2016). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Aerial Parts of Algerian *Pulicaria mauritanica*. *Natural Product Communications*, 11(1), 1934578X1601100.

Gilbert, T., Drai, J., & Bonnefoy, M. (2013). Stress oxydant et maladie d'Alzheimer. In *Traité sur la maladie d'Alzheimer* (pp. 175-194). Springer, Paris.

Goshadrou, F., Oskouie, A. A., Eslami, M., & Ghoochani, B. F. N. M. (2018). Effect of ghrelin on serum metabolites in Alzheimer's disease model rats; a metabolomics studies based on 1H-NMR technique. *Iranian journal of basic medical sciences*, 21(12), 1245.

Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Allium sativum* L.(Alliaceae): ail. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 211-220). Springer, Paris.

Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.

Grune, T.(2002). Oxidants and antioxidative defense. *Human & Experimental Toxicology*, 21(2),61-62.

Guignard, J.L., Dupont, F.(2004). Botanique systématique moléculaire.13ème Edition, Masson, Paris.

Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

**H**ashem, F. A., & Saleh, M. M. (1999). Antimicrobial components of some cruciferae plants (*Diplotaxis harra* Forsk. and *Erucaria microcarpa* Boiss.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 13(4), 329-332.

Haleng, J., Pincemail, J., Defaigne, J.O., Chalrier, C., Chapelle, J.P.(2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège* 62(10):628-638.

Hamdan, I. I., & Afifi, F. U. (2008). Screening of Jordanian flora for  $\alpha$ -amylase inhibitory activity. *Pharmaceutical Biology*, 46(10-11), 746-750.

Hamze, M., Dabboussi, F., and Izard, D. (2004) [A 4-year study of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to antibiotics (1998-2001) in northern Lebanon]. *Med Mal Infect* 34: 321-324.

Hafez, S., Sarg, T. M., El-Domiaty, M. M., Ahmed, A. A., Melek, F. R., & Bohlmann, F. (1987). Caryophyllene derivatives from *Pulicaria arabica*. *Phytochemistry*, 26(12), 3356-3358.

Hennen, G.(2001). *Endocrinologie*.Éditeur, De Boeck Supérieur.

Halliwell, B. (2001). Free radicals and other reactive species in disease. e LS.

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

Hashem, F. A. (2007). Phenolic compounds of *Erucaria microcarpa* Boiss. and their effect as scavengers for singlet oxygen. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 12(3), 27-41.

Hashem, F. A., & Saleh, M. M. (1999). Antimicrobial components of some cruciferae plants (*Diplotaxis harra* Forsk. and *Erucaria microcarpa* Boiss.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 13(4), 329-332

Heinrich, M., & Teoh, H. L. (2004). Galanthamine from snowdrop—the development of a modern drug against Alzheimer’s disease from local Caucasian knowledge. *Journal of ethnopharmacology*, 92(2-3), 147-162.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.

Hirszowski, F., Diez, F., & Boureau, F. (2001). *La douleur, le réseau et le médecin généraliste*. John Libbey Eurotext.

Hnich, H.(2017).*La résistance bactérienne: Médecine et méthodes de détection au laboratoire*. Thèse de doctorat, université sidi Mohamed ben Abdellah, Maroc.

Ho, K. Y., Tsai, C. C., Huang, J. S., Chen, C. P., Lin, T. C., & Lin, C. C. (2001). Antimicrobial activity of tannin components from *Vaccinium vitis-idaea* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(2), 187-191.

Hommet, C., Novella, J. L., Auriacombe, S., Vercelletto, M., Berrut, G., Belliard, S., ... & Ceccaldi, M. (2016). Symptomatic treatments in Alzheimer's disease in 2016: a study from Memory centers in France. *Geriatric et psychologie neuropsychiatrie du vieillissement*, 14(3), 274-286.

Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.

Houmani, M., Houmani, Z., & Skoula, M. (2004). Intérêt de *Artemisia herba alba* Asso dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes. *Acta Botanica Gallica*, 151(2), 165-172.

[https://www.plantes-botanique.org/famille\\_brassicaceae](https://www.plantes-botanique.org/famille_brassicaceae) Données éditées le 30 juillet 2006.

[https://www.plantes-botanique.org/famille\\_thymelaeaceae](https://www.plantes-botanique.org/famille_thymelaeaceae) Données éditées le 22 août 2016.

Ihara, Y., Toyokuni, S., Uchida, K., Odaka, H., Tanaka, T., Ikeda, H., & Hiai, H. (1999). Pancreatic (B-Cells of GK Rats, a Model of Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 48.

Inouye, S., & Abe, S. (2007). Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie*, 5(1), 2-4.

Ingels, C., Vanhorebeek, I., Langouche, L., & Van den Berghe, G. (2006). Rôle de l'insuline et du contrôle de la glycémie en réanimation. *Réanimation*, 15(6), 474-480.

Jacob, M., & World Health Organization. (1990). Sécurité dans la manipulation des aliments: guide pour la formation des responsables d'établissements de restauration. Genève: Organisation mondiale de la Santé

Jang, H. D., Chang, K. S., Huang, Y. S., Hsu, C. L., Lee, S. H., & Su, M. S. (2007). Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. *Food chemistry*, 103(3), 749-756.

Jarrige, R., Ruckebusch, Y. (1995). Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion, Editions Quae.

Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (1973). Microbiologie médicale. Presses Université Laval.

Janda, E., Isidoro, C., Carresi, C., & Mollace, V. (2012). Defective autophagy in Parkinson's disease: role of oxidative stress. *Molecular neurobiology*, 46(3), 639-661.

Jia, P., Sheng, R., Zhang, J., Fang, L., He, Q., Yang, B., & Hu, Y. (2009). Design, synthesis and evaluation of galanthamine derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 44(2), 772-784.

Johnson, F., & Giulivi, C. (2005). Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Molecular aspects of medicine*, 26(4-5), 340-352.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., & Stevens, P. (2002). Botanique systématique: une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur.

Jung, H. A., Jin, S. E., Park, J. S., & Choi, J. S. (2011). Antidiabetic complications and anti-alzheimer activities of sophoflavescenol, a prenylated flavonol from *Sophora flavescens*, and its structure–activity relationship. *Phytotherapy Research*, 25(5), 709-715.

**K**adri, A., Zarai, Z., Chobba, I. B., Gharsallah, N., Damak, M., & Bekir, A. (2011). Chemical composition and in vitro antioxidant activities of *Thymelaea hirsuta* L. essential oil from Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 10(15), 2930-2935.

Kamelé, K., Clémentine, K., Carole, K., Mesmin, K., Honora, T. and Kablan, T. (2019). Activité Antifongique In Vitro des Extraits de Cinq Plantes Locales sur *Colletotrichum Higginsianum*, *Fusarium Oxysporum* et *Rhizopus Stolonifer*, Agents Pathogènes de la Papaye (*Carica Papaya* L.) et de la Tomate (*Solanum Lycopersicum* L.). *European Scientific Journal ESJ*, 15(9).

Kambouche, N., Merah, B., Derdour, A., Bellahouel, S., Benziane, M. M., Younos, C., ... & Soulimani, R. (2009). Étude de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata* (Forssk) Moq, plante utilisée traditionnellement en Algérie. *Phytothérapie*, 7(4), 197-201.

Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpre, J., ... & Traore, A. S. (2005). Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African journal of biotechnology*, 4(12), 1452-1457.

Kawano, M., Matsuyama, K., Miyamae, Y., Shinmoto, H., Kchouk, M. E., Morio, T., ... & Isoda, H. (2007). Antimelanogenesis effect of Tunisian herb *Thymelaea hirsuta* extract on B16 murine melanoma cells. *Experimental Dermatology*, 16(12), 977-984.

Kazemi, M., Nagafi, G. R., & Azad, A. (2013). Constituents, antimicrobial and antioxidant activities of *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Bioss. volatile oil from Iran. *Asian Journal of Chemistry*, 25(6), 3215.

Kitahara, N., Morisaka, H., Aoki, W., Takeda, Y., Shibasaki, S., Kuroda, K., & Ueda, M. (2015). Description of the interaction between *Candida albicans* and macrophages by mixed and quantitative proteome analysis without isolation. *Amb Express*, 5(1), 1-12.

Kim, J. Y., Lee, W. S., Kim, Y. S., Curtis-Long, M. J., Lee, B. W., Ryu, Y. B., & Park, K. H. (2011). Isolation of cholinesterase-inhibiting flavonoids from *Morus lhou*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(9), 4589-4596.

Kivrak, I., Duru, M. E., Öztürk, M., Mercan, N., Harmandar, M., & Topçu, G. (2009). Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food Chemistry*, 116(2), 470-479.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

Kolai, N., Saiah, F., Boudia, A.(2012). Effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle d'artimesia herba alba sur deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Algerian Journal of Arid Environment "AJAE", 2(1), 6-6.

Kotzki, N. (2001). Diabète et médecine physique (Vol. 42). Elsevier Masson.

Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I. P., Simporé, J., & Nikiéma, J. B. (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* JF Gmel (Combretaceae). Science et technique. Sciences de la santé, 32(1-2), 9-23.

Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food chemistry, 85(4), 633-640.

Lacolley, P. (2007). Biologie Et Pathologie Du Coeur Et Des Vaisseaux. Ed. John Libbey Eurotext, Paris.

Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. Journal of food engineering, 71(2), 214-222.

Larbier, M., & Leclercq, B. (1992). Nutrition et alimentation des volailles. Quae.

Laterre, E. C. (2008). Sémiologie des maladies nerveuses. De Boeck Supérieur.

Lee, S. O., Choi, G. J., Jang, K. S., Lim, H. K., Cho, K. Y., & Kim, J. C. (2007). Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. The Plant Pathology Journal, 23(2), 97-102.

Le Floch, E. (1983). Contribution a une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, Tunis, 402.

Le, K., Chiu, F., & Ng, K. (2007). Identification and quantification of antioxydants in *Fructus lycii*. Food Chemistry, 105(1), 353-363.

Lei, Z. H., Jin, Z. X., Ma, Y. L., Tai, B. S., Kong, Q., Yahara, S., & Nohara, T. (1998). Cardiac glycosides from *Erysimum cheiranthoides*. Phytochemistry, 49(6), 1801-1803.

Le Loir, Y., Gantier, M. (2009). *Staphylococcus aureus*, Lavoisier ,ppxiii.

Leurquin, J. (2008). Etude des Crucifères (*Brassicaceae*) de la Belgique et des régions voisines, Lotissement Coputienne, 10 - 6920 Wellin.

Longuo, H. F., Chehma, A., & Oulad Belkhir, A. (1989). Quelques aspects botaniques et nutritionnels des pâturages du dromadaire en Algérie. Option méditerranéenne, série séminaires, 2, 47-53.

Lordan, S., Smyth, T. J., Soler-Vila, A., Stanton, C., & Ross, R. P. (2013). The  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. Food chemistry, 141(3), 2170-2176.

Li, W. H., Chang, S. T., Chang, S. C., & Chang, H. T. (2008). Isolation of antibacterial diterpenoids from *Cryptomeria japonica* bark. Natural product research, 22(12), 1085-1093.

**M**acheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

Malek, F. R., El-Ansari, M. A., Hassan, A., Regaila, A., Ahmed, A. A., & Mabary, T. J. (1988). Methoxylated flavonoid aglycones from *Pulicaria arabica*. Rev Latinoamer Quim, 19, 119.

Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. and Fritsch, P.(2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. médecine/sciences, 20(4),458-463.

Marco, G. J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. Journal of the American Oil Chemists' Society, 45(9), 594-598.

Marieb, E., Hoehn, K.(2014). Anatomie et physiologie humaines, Pearson Education France.

Marzouk, M. M. (2016). Flavonoid constituents and cytotoxic activity of *Erucaria hispanica* (L.) Druce growing wild in Egypt. Arabian Journal Of Chemistry, 9, S411-S415.

McEnroe, F. J., & Fenical, W. (1978). Structures and synthesis of some new antibacterial sesquiterpenoids from the gorgonian coral *Pseudopterogorgia rigida*. Tetrahedron, 34(11), 1661-1664.

Menat, É. (2006). Les polyphénols de thé, du vin et du cacao. Phytothérapie, 4(1), hs40-hs45.

Mercan.D.(2010).Le stress oxydatif, Ed, Unilabs, Lausanne.

Mesbah, S.(2010).Relative à la célébration de la journée mondiale du diabète Ministère de la santé de la population et de la reforme Hospitalière. Direction de la prévention. Instruction N° 07 du 31 OCT.

Mohamed, M. J., & Al-Bayati, F. A. (2009). Isolation and identification of antibacterial compounds from *Thymus kotschyanus* aerial parts and *Dianthus caryophyllus* flower buds. Phytomedicine, 16(6-7), 632-637.

Mohamed Vall, A. (2009). Contribution à l'étude des plantes médicinales de Mauritanie. *Ann. Univ. Lomé (Togo)*, 17, 9-27.

Mossa, J. S., Hifnawy, M. S., Al-Yahya, M. A., Al-Meshal, I. A., & Mekkawi, A. G. (1987). Aromatic Plants of Saudi Arabia-Part 8-\* GC/MS Analysis of Essential Oils of *Pulicaria arabica* and *P. undulata*. *International Journal of Crude Drug Research*, 25(2), 113-119.

Milpied, H. (2009). *Progrès en Dermato-Allergologie*, Ed, Johnlbbeey Eurotext, p126, 128.

Miyamae, Y., Villareal, M., Abdrabbah, M., Isoda, H. and Shigemori, H. (2009). Hirseins A and B, Daphnane Diterpenoids from *Thymelaea hirsuta* That Inhibit Melanogenesis in B16 Melanoma Cells. *Journal of Natural Products*, 72(5), pp.938-941

Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., & Houghton, P. J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14(4), 289-300.

Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.

Mulyaningsih, S., Sporer, F., Reichling, J., & Wink, M. (2011). Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharmaceutical biology*, 49(9), 893-899.

Mumivand, H., Rustaii, A. R., Jahanbin, K., & Dastan, D. (2010). Essential oil composition of *Pulicaria dysenterica* (L.) Bernh from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(6), 717-720.

Murray, A. P., Faraoni, M. B., Castro, M. J., Alza, N. P., & Cavallaro, V. (2013). Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. *Current neuropharmacology*, 11(4), 388-413.

**N**adal, B. (2009). Synthèse et Evaluation de nouveau agents de protection contre les rayonnements ionisants (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).

Nawwar, M. A., Ishak, M. S., El-Sherbieny, A. E. A., & Meshal, S. A. (1977). Flavonoids of *Reaumuria mucronata* and *Thymelaea hirsuta*. *Phytochemistry*.

Nowik, W. (2005). HPLC-PDA characterisation of *Daphne gnidium* L. (*Thymelaeaceae*) dyeing extracts using two different C-18 stationary phases. *Journal of separation science*, 28(13), 1595-1600.

**O**h, M. H., Houghton, P. J., Whang, W. K., & Cho, J. H. (2004). Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. *Phytomedicine*, 11(6), 544-548.

Okamura, H., Mimura, A., Yakou, Y., Niwano, M., & Takahara, Y. (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry*, 33(3), 557-561.

Olajire, A. A., & Azeez, L. (2011). Total antioxidant activity, phenolic, flavonoid and ascorbic acid contents of Nigerian vegetables. *African Journal of Food Science and Technology*, 2(2), 22-29.

Opsomer, R. J., & De Leval, J. (2011). *Incontinences urinaires de l'homme*. Springer Science & Business Media.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

OMS (Organisation mondiale de la santé).(2018). (<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>)

OMS (Organisation mondiale de la santé).(2020). (<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>)

Ozenda, P. (1977). *Flore du Sahara*: Editions CNRS.

**P**adrini, F., & Lucheron, M. T. (1996). *Le grand livre des huiles essentielles Guide pratique pour retrouver vitalité bien être et beauté avec les essences et l'aromassage énergétique avec plus de 100 photographies*. DeVecchi. 15p.

Parnetti, L., Mignini, F., Tomassoni, D., Traini, E., & Amenta, F. (2007). Cholinergic precursors in the treatment of cognitive impairment of vascular origin: ineffective approaches or need for re-evaluation?. *Journal of the neurological sciences*, 257(1-2), 264-269.

Philippe, B. (2014). *Parodontologie & dentisterie implantaire: Volume 1: médecine parodontale (Coll. Dentaire)*. Lavoisier.

Philippe C.(2008). *Astéraceae* Martinov, *Encyclopédie des Cactus, plantes grasses et succulentes*, <http://www.Cactus pro.com/encyclo>.

Piquet, M. A., & Hébuterne, X. (2007). *Nutrition en pathologie digestive*. Doin.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-43

Quezel, P. & Santa, S. 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome (I et II). CNRS, Paris.

Quezel P. et Santa S. 1963 "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales", Tome II, Paris France.

Rafael, F., Elena, C.(2005). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. *Phytochemistry*.66 (12), 175-185.

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

Rammal, H., Bouayed, J., Desor, F., Younos, C., & Soulimani, R. (2009). Validation et contribution à l'étude de l'effet antihyperglycémique d'une plante médicinale, le *Momordica charantia* L. *Phytothérapie*, 7(4), 191-196.

Rashed, K. N., & Butnariu, M. (2014). Isolation and antimicrobial and antioxidant evaluation of bio-active compounds from *Eriobotrya japonica* stems. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 4(1), 75.

Raven, P. H., Evert, R. F., Eichhorn, S. E., & Bouharmont, J. (2003). *Biologie végétale*, Traduction de la 7e édition américaine par J. Bouharmont avec la collaboration de CM Evrard, 1.

Razafimbelo,R.,2018. Les super antioxydants, Editions Solar, Paris.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, Y., & Alatou, D. (2012). Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie). *Phytothérapie*, 10(2), 131-142.

Rechinger,K.H.(1963). *Flora iranica*, Akademische Druck and Verlagsanstalt, Graz.

Ressigle, H., Danesch, E. et O.(1987). Flore méditerranéenne. Berne : Hallwag SA traduit de l'allemand par M. M. Duckert et C. Favarger, traduction française : Payot Lausanne n° 85-86-87.

Rios, J. L., Recio, M. C., & Villar, A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-149.

Rice-Evans, C., & Miller, N. J. (1994). [241 Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in enzymology*, 234, 279-293.

Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4), 375-383.

Rizk, A. M., AM, R., FM, H., & SI, I. (1975). PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION OF THYMELEA HIRSUTA. III. COUMARINS.

Ruberto, G., & Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 69(2), 167-174.

Sabra, A. (2013). Caractérisation moléculaire et phénotypique d'un mutant dpp3Δ déficient pour une pyrophosphate phosphatase chez la levure opportuniste *Candida lusitanae*: étude de l'interaction des levures avec l'hôte (Doctoral dissertation, Bordeaux 2).

Said, O., Khalil, K., Fulder, S., & Azaizeh, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of ethnopharmacology*, 83(3), 251-265.

Saleh, M., Haddad, D., & Sarg, T.(1965). Isolation of the crystalline principle, thymelol, from leaves of *Thymelaea hirsuta*. *U. Arab Rep. J. Pharm. Sci*, 4, 49-56.

Sarazin, M., Lamari, F., & Cruz de Souza, L. (2011). Diagnostic biologique de la maladie d'Alzheimer: apport des biomarqueurs du liquide céphalorachidien. *La Lettre du neurologue*, 15(9), 314-319.

Seidel, V. 2005. Initial and bulk extraction. In: S.D. Sarker, Z. Latif & A.I. Gray (eds.). *Natural products isolation*. Humana Press, New Jersey, pp. 27-46.

Selmès, J., & Derouesné, C. (2004). La maladie d'Alzheimer au jour le jour: guide pratique pour les familles et tous ceux qui accompagnent au quotidien une personne touchée par la maladie d'Alzheimer (Vol. 1). John Libbey Eurotext.

Sereme, A., Milogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., & Nacro, M. (2011). Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 15.

Senol, F. S., Woźniak, K. S., Khan, M. T. H., Orhan, I. E., Sener, B., & Głowniak, K. (2011). An in vitro and in silico approach to cholinesterase inhibitory and antioxidant effects of the methanol extract, furanocoumarin fraction, and major coumarins of *Angelica officinalis* L. fruits. *Phytochemistry Letters*, 4(4), 462-467.

SFM (Société Française de Microbiologie).2012-2013.Recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Shariatifar, N., Kamkar, A., Shamse Ardekani, M. R., Misagi, A., Akhonzade, A., & Jamshidi, A. H. (2014). Composition and antioxidant activities

of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* essential oil in Soybean oil. Pakistan journal of pharmaceutical sciences, 27(4).

Si Mohamed, A. (2017). Caractérisation et lutte vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*, these de doctorat, université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella.

Spichiger, R.E., Savolainen, V.V., Figeat, M., Jeanmonod, D. (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs. 3ème édition. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. Francia.

Skandrani, I., Ben Sghaier, M., Neffati, A., Boubaker, J., Bouhlel, I., Kilani, S., ... & Chekir-Ghedira, L. (2007). Antigenotoxic and free radical scavenging activities of extracts from *Moricandia arvensis*. Drug and chemical toxicology, 30(4), 361-382.

Smadi, A. (2006). Etude de l'extrait chloroformique d'*Oudneya africana*" mémoire de magister, Université El-Hadj Lakhdar, Batna, Algérie.

Song, W., Zhou, L., Yang, C., Cao, X., Zhang, L., & Liu, X. (2004). Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. Crop protection, 23(3), 243-247.

Soro, S., Ouattara, D., Zirih, G. N., Kanko, C., N'guessan, E. K., Kone, D., ... & Ake, S. (2010). Effet Inhibiteur in Vitro et in Vivo de l'extrait de Poudre et de l'huile Essentielle de *Xylopiya Aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae) sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici* (Forl), Champignon Parasite des Cultures de Tomate. European Journal of Scientific Research, 39(2), 279-288.

Soro, S., Abo, K., Kone, D., Coffi, K., Kouadio, J. Y., & Ake, S. (2011). Comparaison de l'efficacité Antifongique de l'huile Essentielle d'*Ocimum Gratissimum* L. et du Fongicide de Synthèse Mancozebe Contre le Mycopathogène Tellurique, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici* en Cultures de Tomate. Agronomie Africaine, 23(1), 43-52.

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Journal of separation science, 30(18), 3268-3295.

Su, B., Wang, X., Nunomura, A., Moreira, P. I., Lee, H. G., Perry, G., ... & Zhu, X. (2008). Oxidative stress signaling in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, 5(6), 525-532.

Süntar, I., Akkol, E. K., Keles, H., Yesilada, E., & Sarker, S. D. (2013). Exploration of the wound healing potential of *Helichrysum graveolens* (Bieb.) Sweet: Isolation of apigenin as an active component. Journal of ethnopharmacology, 149(1), 103-110.

Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. Talanta, 76(4), 899-905.

**T**hiebauld, C.M., Sprumont, P.(2012). Le sport après 50 ans. Éditeur, De Boeck Supérieur.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 669-675.

Tessier, F., & Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & sports*, 10(1), 1-13.

Tela botanica (<https://www.tela-botanica.org/>).

Tene, M., Ndontsa, B. L., Tane, P., de Dieu Tamokou, J., & Kuate, J. R. (2009). Antimicrobial diterpenoids and triterpenoids from the stem bark of *Croton macrostachys*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(3).

Tillement, J-P, Hauw, J-J., Papadopoulos, V.(2012). Le déficit de la maladie d'Alzheimer, Éditeur, Lavoisier, Paris.

Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816-822.

Touati, N., Saidani, K., Boudries, H., Hammiche, H., Ouazene, N., & Bedjou, F. (2018). Antibacterial activity of phenolic compounds of *Pulicaria odora*, wild plant in northern Algeria. *International Food Research Journal*, 25(5), 2021-2030.

Tounsi, M. S., Wannes, W. A., Ouerghemmi, I., Msaada, K., Smaoui, A., & Marzouk, B. (2011). Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild *Ruta chalepensis* L. *Industrial crops and products*, 33(3), 617-623.

Trigui, M., Hsouna, A., Tounsi, S. and Jaoua, S.(2013). Chemical composition and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Thymelaea hirsuta* with special reference to its mode of action. *Industrial Crops and Products*, 41, 150-157.

Troyer, J. K., Stephenson, K. K., & Fahey, J. W. (2001). Analysis of glucosinolates from broccoli and other cruciferous vegetables by hydrophilic interaction liquid chromatography. *Journal of chromatography A*, 919(2), 299-304.

Twaij, H. and Al-Badr, A.(1988). Hypoglycemic activity of *Artemisia herba alba*. *Journal of Ethnopharmacology*, 24(2-3),123-126.

**U**nten, L., Koketsu, M., & Kim, M. (1997). Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on  $\beta$ -carotene. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(6), 2009-2012.

Vidal, V., Potterat, O., Louvel, S., Hamy, F., Mojarrab, M., Sanglier, J. J., ... & Hamburger, M. (2012). Library-based discovery and characterization of daphnane diterpenes as potent and selective HIV inhibitors in *Daphne gnidium*. *Journal of natural products*, 75(3), 414-419.

Vaccine, I., Licensed, N.(2010). Prevalence of Overweight and Obesity Among Adults With Diagnosed Diabetes -United States , 1988-1994.

Van der Bank, M., Fay, M. F., & Chase, M. W. (2002). Molecular phylogenetics of *Thymelaeaceae* with particular reference to African and Australian genera. *Taxon*, 51(2), 329-339.

Vercauteren, J., Chèze, C., & Triaud, J. (Eds.). (1998). Polyphenols 96: 18th International Conference on Polyphenols, Bordeaux (France), July 15-18, 1996 (No. 87). Editions Quae.

Yasser, K., Abdallah, M., & Abdelmadjid, B. (2018). Étude ethnobotanique de quelques plantes médicinales dans une région hyper aride du Sud-ouest Algérien «Cas du Touat dans la wilaya d'Adrar». *Journal of Animal & Plant Sciences*, 36(2), 5844-5857.

Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y. and Kang, W.(2014).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 3(3-4),136-174.

Yusufoglu, H. S. (2014). Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, hepatoprotective and nephritic effects of the aerial parts of *Pulicaria arabica* (Family: Compositae) on rats. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S583-S590.

Zakhary, N. I., El Gemeie, E. E., Youssef, A. K., & Metwaly, M. A. S. I. (2020). Flavonoids content of 70% methanolic extract of *Erucaria pinnata* (Viv.) and its effect as anticancer and antiangiogenic: in vitro, in vivo and docking study. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(1), 25-38.

Zhao, C., Li, C., Liu, S., & Yang, L. (2014). The galloyl catechins contributing to main antioxidant capacity of tea made from *Camellia sinensis* in China. *The Scientific World Journal*, 2014.

Zhiri, A. (2006). Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutra News Sci*.

Zerriouh, M. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de *Hammada scoparia* (Pomel)«Remth (Doctoral dissertation).

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

## *Références bibliographiques*

---

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

Zohra, M., & Fawzia, A. (2014). Hemolytic activity of different herbal extracts used in Algeria. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 5(8), 495-500.

# *Résumé*

## *Résumé*

Le présent travail a pour objectif la caractérisation phytochimique et biologique (activités biologiques) de trois plantes médicinales et fourragères : *Pulicaria arabica*, *Erucaria uncata* et *Thymelaea hirsuta*. Dans un premier temps, une analyse chimique quantitative des extraits bruts des parties aériennes, préparés à partir de différents solvants, a été réalisée par la détermination des teneurs en composés phénoliques et des flavonoïdes totaux. Les tests de dosage ont montré que les extraits aqueux et hydro-méthanoliques représentent les extraits les plus riches. Dans une seconde partie, l'analyse chimique des huiles essentielles par GC/MS indique que l'HE de *Pulicaria arabica* est caractérisé (8 composés) par la prédominance des sesquiterpènes. L'HE de *Thymelaea hirsuta* (25 composés) est riche en : Tétradécanal, acide palmitique, Tridécane et Dodécyltétraglycol. Cependant, l'HE d'*Erucaria uncata* est caractérisé par la présence majoritaire du  $\alpha$ -Cadinol, de Delta-Cadinene, et de tau-Muurolol et l'acide palmitique. Les activités biologiques ont concerné l'activité antioxydante, anti-Alzheimer et antidiabétique. Elles montrent que le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique est le plus élevé pour les différents tests et, comparativement, aux différents extraits. Pour les activités enzymatiques, il est à noter que les HE se distinguent par leur capacité d'inhiber les enzymes BChE ou l' $\alpha$ -Glucosidase avec des valeurs d'IC50 supérieures à celles des standards (galanthamine, acarbose). En revanche, tous les extraits s'avèrent inactifs vis-à-vis de l'acétylcholinestérase. L'activité antimicrobienne des extraits et des huiles essentielles, effectuée sur des souches de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231 et *Fusarium oxysporum*), fait ressortir que la souche *Escherichia coli* est résistante vis-à-vis des différents extraits à l'exception des HE de *Pulicaria arabica* et de *Thymelaea hirsuta*. Les autres souches s'avèrent sensibles avec des zones d'inhibition variant entre 7 et 27,5 mm. Cette inhibition est variable en fonction de l'extrait et de la plante étudiée. Les meilleures valeurs de la CMI et de la CMB sont enregistrées avec les huiles essentielles. De ce qui précède, nous pouvons conclure que ces plantes possèdent un potentiel phytochimique et pharmacologique pour des applications thérapeutiques dans le stress oxydant, la maladie d'Alzheimer, le diabète sucré et quelques cas d'infections.

**Mots clés** : *Pulicaria arabica*, *Erucaria uncata*, *Thymelaea hirsuta*, huiles essentielles, extraits phénoliques, flavonoïdes, acétylcholinestérase, butyrylcholinestérase,  $\alpha$ -glucosidase.

## *Abstract*

The objective of this work is the phytochemical and biological characterization (biological activities) of three medicinal and fodder plants: *Pulicaria arabica*, *Erucaria uncata* and *Thymelaea hirsuta*. First, quantitative chemical analysis of the crude extracts of the aerial parts, prepared from different solvents, was carried out by determining the contents of phenolic compounds and total flavonoids. The dosage tests have shown that the aqueous and hydro-methanolic extracts represent the richest extract. In a second part, the chemical analysis of essential oils by GC / MS indicates that the EO of *Pulicaria arabica* (8 compounds) is characterized by the predominance of sesquiterpenes. *Thymelaea hirsuta* (25 compounds) EO is rich in: Tetradecanal, palmitic acid, Tridicanal and Dodecyltetraglycol. However, *Erucaria uncata* EO is characterized by the predominant presence of  $\alpha$ -Cadinol, Delta-Cadinene, tau-Muurolol and palmitic acid. The biological activities concerned the antioxidant, anti-Alzheimer and anti-diabetic activities. They show that the antioxidant power of the methanolic extract is the highest for the different tests and, in comparison, with the different extracts. For enzymatic activities, it should be noted that EOs are distinguished by their ability to inhibit BChE or  $\alpha$ -Glucosidase enzymes with IC50 values higher than those of the standards (galanthamine, acarbose). In contrast, all extracts are found to be inactive against acetylcholinesterase. The antimicrobial activity of extracts and essential oils, carried out on reference strains (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231 and *Fusarium oxysporum*), shows that the *Escherichia coli* strain is resistant to the various extracts except for the EO of *Pulicaria arabica* and *Thymelaea hirsuta*. The other strains are found to be sensitive with zones of inhibition varying between 7 and 27.5-mm. This inhibition is variable depending on the extract and the plant studied. The best MIC and CMB values are recorded with essential oils. From the above results, we can conclude that these plants have phytochemical and pharmacological potential for therapeutic applications in oxidative stress, Alzheimer's disease, diabetes and some cases of infections.

**Key words:** *Pulicaria arabica*, *Erucaria uncata*, *Thymelaea hirsuta*, essential oils, Phenolic extracts, flavonoids, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase,  $\alpha$ -glucosidase.

## الملخص

يهدف هذا العمل إلى التشخيص الفيتوكيميائي والبيولوجي (الأنشطة البيولوجية) لثلاثة نباتات طبية ورعوية نبات البوليكاريا, الاوريكاريا والمثان. أولاً، تم إجراء تحليل كيميائي كمي للمستخلصات الخام للأجزاء الهوائية المحضرة بواسطة مذيبات مختلفة، عن طريق تحديد محتويات المركبات الفينولية الكلية والمركبات الفلافونويدية الكلية. أظهرت اختبارات الفحص أن المستخلصات المائية والميثانولية تمثل أغنى المستخلصات. في الجزء الثاني، يشير التحليل الكيميائي للزيوت العطرية بواسطة طريقة ال GC/MS بأن الزيت الأساسي لنبات البوليكاريا يتميز بوجود (8 مركبات) حيث تمثل السيسكويتاربينات المركبات السائدة. الزيوت الأساسية لنبات المثان (25 مركباً) غنية بـ : Tetradécanal palmitique , Acide Tridicanal , و Dodécyltétraglycol , في حين يتميز نبات الاوريكاريا بغالبية T- $\alpha$ -Cadinol , و Delta.-Cadine, Muurolol , و acide palmitique. الأنشطة البيولوجية تتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة، المضاد لمرض الزهايمر والسكري. وقد أظهرت النتائج أن النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي أعلى من المستخلصات الأخرى وفي مختلف الاختبارات التي تم إجراؤها. بالنسبة للأنشطة الإنزيمية، تجدر الإشارة بان الزيوت الأساسية تتميز بقدرتها في تثبيط إنزيمات البيبتيريل كولينستيراز، والالفاغلو كوزيداز وهذا مع قيم ال (IC50) أعلى حتى من الجالونتامين والاكاربوز المستعملة كشواهد، في حين وجد أن جميع المستخلصات المختبرة غير نشطة ضد الاستيل كولينستيراز. يظهر النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات والزيوت الأساسية والذي تم اجراؤه ضد سلالات مرجعية ( *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *S.taphylococcus aureus* ATCC 25923, *Fusarium* , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231 *oxysporum*) أن سلالة الاوكولاي مقاومة لجميع المستخلصات ماعدا الزيوت الأساسية لنبات البوليكاريا ونبات المثان. أما السلالات الأخرى فقد أظهرت حساسيتها ضد المستخلصات مع مناطق تثبيط يتراوح قطرها ما بين 7 و 27.5 mm, وهذا التثبيط يختلف حسب المستخلص والنبات المدروس. وقد تم تسجيل أفضل قيم CMI و CMB مع الزيوت الأساسية. على ضوء هذه النتائج، نستنتج أن هذه النباتات يمكن أن تشكل قاعدة دوائية في علاج الأمراض المتعلقة بالإجهاد التاكسي، مرض الزهايمر، مرض السكري وبعض أمراض العدوى.

**الكلمات المفتاحية:** نبات البوليكاريا , نبات الاوريكاريا , نبات المثان , الزيوت الأساسية, المستخلصات الفينولية , الفلافونويدات , الاستيل كولينستيراز , البيبتيريل كولينستيراز , الالفاغلو كوزيداز .

# *Annexe*

# Annexe

**Annexe1** : Composition de différents milieux de culture utilisés

**1-Eau physiologique stérile :**

Chlorure de sodium (NaCl) 9g +Eau distillée1000ml

**2-Gélose nutritive (GN) (en g /l d'eau distillée) :**

Peptone10g+ Extrait de viande3g+Extrait de levure 3g +Chlorure de sodium 5g +Agar 18g  
+PH=7,4.

**3-Gélose Muller Hinton (MH)(en g /l d'eau distillée) :**

Extrait de viande 3g+Hydrolysa de caséine 17,5g +Amidon 1,5g+Agar 10g

**4-Gélose saboraud(en g /l d'eau distillée) :**

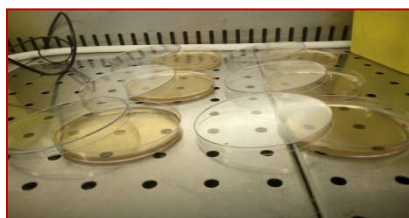
Peptone de caséine et de viande10g+ Glucose monohydraté 40g +Agar15g +pH final : 5,6  
à 25°C

**5- PDA (Potato Dextrose Agar):**

L'eau de la pomme de terre (340g de pomme de terre épluché etdécoupé en petits  
morceaux+1700ml d'eau distillé, bouillir à 100°) +34g de glucose + 34g d'agar.

**Annexe 2** :Les étapes de manipulation de l'activité antimicrobienne

Annexe 2.1.Méthodes des disques et des puits



Ecoulement de MH dans les boîtes de pétri



Ensemencement des bactéries sur MH



Dépôt des disques



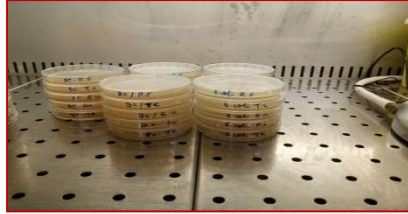
Préparation des puits



Application des différentes dilutions des Exts  
sur les disques



Application des différents dilutions des  
Exts sur les puits



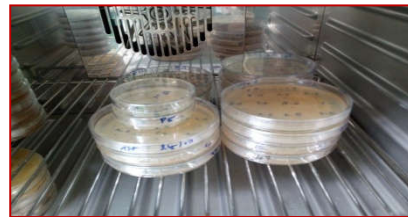
Diffusion des extraits à T° ambiante pendant  
15min

Incubation des échantillons à 37C°

### Annexe 2.2. Détermination de la CMI et la CMB



Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)



Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

### Annexe 2.3 : Activité antifongique vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum* f. *splycopersici*



Préparation du milieu PDAL'addition de l'agar



Coulage de (l'extrait + PDA) dans les  
Boites de pétri.

Dépôt des disques de champignon

### Annexe 3. *Pulicaria arabica*

#### Annexe 3.1. Test de DPPH

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub>
<b>EH20</b>	10,68±0,00	23,25±0,00	37,70±2,60	68,98±0,76	80,11±0,33	80,61±0,93	82,11±0,29	<b>64,84±0,06</b>
<b>EH20-MeOH</b>	13,87±0,94	27,01±1,46	52,62±1,46	76,67±1,32	82,24±0,78	82,99±1,03	83,93±0,47	<b>53,97±0,71</b>
<b>EACT</b>	32,64±2,92	50,09±0,56	67,91±1,17	74,73±1,25	76,61±1,78	79,67±1,15	82,36±0,38	<b>10,37±0,15</b>
<b>EDCM</b>	33,07±2,20	41,64±1,60	50,09±0,98	55,59±1,62	68,41±1,57	74,54±2,91	78,80±1,17	<b>49,43±2,01</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>BHA</b>	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	<b>6,14±0,41</b>
<b>BHT</b>	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	<b>12,99±0,41</b>

#### Annexe 3.2. Test d'ABTS

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>EH20</b>	10,37±2,26	17,57±3,01	29,43±0,87	66,32±1,84	90,13 ± 1,94	91,61±0,45	91,91±0,41	<b>87,23±0,64</b>
<b>EH20-MeOH</b>	12,30±3,69	19,72±2,63	48,01±1,55	74,12±1,84	89,78±0,72	90,07±1,00	91,08±0,37	<b>33,63 ±2,03</b>
<b>EACT</b>	13,24±1,13	49,86±0,12	80,09 ±1,70	85,91±1,70	89,42 ±1,90	91,67±0,47	92,38±0,31	<b>6,42±0,86</b>
<b>EDCM</b>	10,68±1,88	22,28±2,88	35,84±1,84	65,60±0,63	68,33±1,74	83,25±2,38	87,71±1,38	<b>75,59±1,84</b>
<b>HEs</b>	1,47±1,93	2,96±2,11	5,39±1,80	6,30±2,32	7,39±1,82	10,06±2,11	17,12±0,90	> <b>800</b>
<b>BHT</b>	69,21±0,40	78,23±1,34	88,12±1,28	88,76±3,07	90,85±1,74	90,95±0,51	96,68±0,39	<b>1,29±0,30</b>
<b>BHA</b>	92,83±1,42	94,68±0,42	94,95±0,90	95,32±0,25	95,59±0,47	95,83±0,15	95,86±0,10	<b>1,81±0,10</b>

#### Annexe 3.3. Test du Pouvoir réducteur

Extraits	3,125µg/ml	6,25µg/ml	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	A <sub>050</sub>
<b>EH20</b>	0,16±0,01	0,16±0,01	0,19±0,01	0,22±0,01	0,26±0,02	0,31±0,03	0,45±0,01	> <b>200</b>
<b>EH20-MeOH</b>	0,18±0,02	0,18±0,01	0,20±0,02	0,22±0,01	0,29±0,01	0,35±0,05	0,58±0,04	<b>158,14±1,09</b>
<b>EACT</b>	0,12±0,06	0,12±0,07	0,16±0,00	0,18±0,01	0,19±0,01	0,20±0,01	0,21±0,01	> <b>200</b>
<b>EDCM</b>	0,17±0,01	0,19±0,01	0,21±0,01	0,22±0,02	0,29±0,01	0,37±0,02	0,50±0,04	<b>198,17±2,59</b>
<b>HEs</b>	0,11±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01	0,13±0,01	0,17±0,03	0,17±0,02	0,20±0,01	> <b>200</b>
<b>BHA</b>	0,37±0,01	0,64±0,01	1,09±0,01	1,90±0,08	3,21±0,04	3,84±0,03	4,01±0,09	<b>9,29±0,22</b>

#### Annexe 3.4. Test de Chélation du fer

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub>
<b>EH20</b>	20,87±0,11	48,26±4,78	54,05±2,55	58,32±2,14	78,09±1,01	79,44±2,91	80,40±3,46	<b>41,88±1,77</b>
<b>EH20-MeOH</b>	31,47±2,48	35,53±0,72	59,04±4,14	70,91±2,79	75,30±4,94	76,81±4,85	79,81±3,40	<b>38,22±2,30</b>
<b>EACT</b>	14,73±1,37	23,81±2,05	29,72±3,07	45,36±2,79	51,70±2,26	58,25±1,37	65,68±2,84	<b>127,59±0,21</b>
<b>EDCM</b>	17,66±3,54	25,25±2,48	37,21±6,99	45,50±1,12	49,56±0,40	53,14±0,48	57,29±2,66	<b>265,25±1,57</b>
<b>HEs</b>	39,62±3,76	42,24±1,58	45,18±3,68	54,42±1,27	76,05±2,69	78,14±2,69	79,47±1,19	<b>72,89±1,38</b>
<b>EDTA</b>	73,55±0,45	78,89±0,25	82,73±0,11	85,18±0,11	88,13±0,16	89,36±0,18	91,14±0,00	<b>8,57 ± 0,14</b>

#### Annexe 3.5. Test du blanchiment du β-carotène

Extraits	6,25µg/ml	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	IC <sub>50</sub>
<b>EH20</b>	12,33±2,19	24,32±0,97	27,70±2,18	36,99±2,65	50,23±0,22	59,21±2,99	81,32±1,55	<b>195,81±3,46</b>
<b>EH20-MeOH</b>	6,13±1,87	6,72±5,22	11,69±0,62	27,17±3,22	41,67±0,91	45,10±1,25	58,59±0,99	<b>516,60±4,86</b>
<b>EACT</b>	15,63±2,00	20,27±3,47	20,37±0,85	27,89±0,20	43,64±2,59	57,91±0,86	66,27±3,09	<b>312,67±3,45</b>
<b>EDCM</b>	14,66±4,69	17,17±2,35	26,61±4,62	36,53±0,52	49,96±1,98	59,93±1,26	72,48±3,29	<b>258,06±2,24</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>BHT</b>	88,29±0,10	91,70±0,36	93,65±0,30	93,68±0,46	94,49±0,07	94,88±0,10	95,58±0,19	<b>0,91±0,01</b>
<b>BHA</b>	93,48±0,44	95,52±0,33	96,34±0,55	97,56±0,19	97,64±2,22	97,85±0,32	99,66±0,52	<b>1,05±0,03</b>

### Annexe 3.6. Test de CUPRAC

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	A <sub>05</sub>
<b>EH20</b>	0,40±0,00	0,69±0,01	1,09±0,06	1,86±0,30	2,59±0,03	3,70±0,18	4,31±0,22	<b>71,40±0,28</b>
<b>EH20-MeOH</b>	0,19±0,01	0,27±0,07	0,44±0,01	0,69±0,005	1,12±0,02	1,63±0,02	2,31±0,06	<b>17,61±1,50</b>
<b>EACT</b>	0,21±0,17	0,29±0,01	0,45±0,14	0,71±0,05	1,14±0,08	1,72±0,04	2,69±0,05	<b>40,70±3,29</b>
<b>EDCM</b>	0,25±0,0,2	0,38±0,0,13	0,64±0,0,6	1,13±0,13	2,04±0,0,4	2,77±0,17	4,15±0,15	<b>71,13±0,58</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>BHA</b>	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,58±0,42	3,35±0,20	3,77±0,19	3,92±0,13	<b>5,35±0,71</b>
<b>BHT</b>	1,41±0,03	2,22±0,05	2,42±0,02	2,50±0,01	2,56±0,05	2,86±0,07	3,38±0,13	<b>8,97±3,94</b>

### Annexe 3.7. Test de Phénantroline

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	A <sub>05</sub>
<b>EH20</b>	0,19±0,01	0,21±0,01	0,23±0,02	0,27±0,01	0,41±0,04	0,56±0,05	0,98±0,04	<b>278,82±2,75</b>
<b>EH20-MeOH</b>	0,22±0,02	0,23±0,02	0,27±0,01	0,33±0,01	0,45±0,01	0,73±0,01	1,25±0,21	<b>216,67±5,35</b>
<b>EACT</b>	0,23±0,03	0,24±0,01	0,28±0,01	0,35±0,03	0,48±0,03	0,75±0,05	1,25±0,07	<b>194,17±8,25</b>
<b>EDCM</b>	0,21±0,13	0,22±0,01	0,24±0,01	0,27±0,02	0,34±0,02	0,45±0,00	0,65±0,04	<b>599,86±0,99</b>
<b>HEs</b>	0,22±0,02	0,21±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,22±0,01	0,23±0,01	0,27±0,03	<b>&gt;800</b>
<b>BHA</b>	0,63±0,01	1,19±0,06	2,27±0,07	3,50±0,14	3,85±0,04	3,84±0,02	3,96±0,03	<b>5.28 ± 0.34</b>

### Annexe 3.8. Activité inhibitrice de l'α-glucosidase

Extraits	15,625µg/ml	31,25µg/ml	62,5µg/ml	125µg/ml	250µg/ml	500µg/ml	1000µg/ml	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>EH20</b>	3,89±2,23	5,30±2,85	7,22±1,98	4,91±1,73	5,77±1,37	2,89±2,70	24,23±0,72	<b>&gt;1000</b>
<b>EH20-MeOH</b>	20,63±1,83	46,50±1,34	47,07±2,92	57,68±2,11	63,14±0,05	68,24±2,32	73,25±2,12	<b>42,45±4,67</b>
<b>EACT</b>	3,931,76	4,49±2,31	5,60±1,63	8,36±0,70	15,05±4,91	15,90±1,11	17,97±1,83	<b>&gt;1000</b>
<b>EDCM</b>	2,45±0,41	4,94±7,38	7,50±6,58	6,20±6,36	9,27±1,63	9,41±1,12	10,94±1,46	<b>&gt;1000</b>
<b>HEs</b>	32,60±4,84	35,91±2,10	44,78±2,10	53,11±2,10	63,30±0,56	66,98±1,49	78,65±3,30	<b>39,74±1,91</b>
<b>Acarbose</b>	27,43±2,18	38,91±3,20	54,86±1,79	67,29±2,63	80,19±1,66	85,54±0,45	91,05±0,72	<b>275,43±1,59</b>

### Annexe 3.9. Activité inhibitrice de Butyrylcholinesterase

Extraits	Butyrylcholinesterase inhibitory activity							
	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg	100µg	200 µg	400 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>EH20</b>	33,92±2,38	43,46±4,20	48,52±1,73	47,03±0,44	48,69±1,05	54,19±1,48	61,26±3,46	<b>117,27±0,14</b>
<b>EH20-MeOH</b>	42,84± 1,36	45,99± 5,31	54,45± 1,05	58,81± 3,95	61,26± 0,49	63,23± 4,44	75,04± 3,95	<b>21,71±1,09</b>
<b>EACT</b>	50,19±0,09	59,25±2,10	73,07±1,02	76,61±4,94	79,93±3,49	87,96±4,53	94,85±1,85	<b>5,53±0,66</b>
<b>EDCM</b>	50,26±0,01	63,70±0,25	65,91±0,53	72,43±4,82	73,36±4,21	74,87±3,70	78,27±0,12	<b>0,97±0,34</b>
<b>HEs</b>	35,31± 3,53	40,31± 4,84	53,66± 1,31	56,20± 2,71	69,11± 1,43	71,38± 0,49	74,91± 3,15	<b>20,22±0,67</b>
<b>Galantamine<sup>b</sup></b>	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13± 2,60	63,87± 2,85	73,57± 0,77	78,95± 0,58	<b>34,75±1,99</b>

### Annexe 3.10. Activité inhibitrice de l'Acetylcholinesterase

Extraits	Acetylcholinesterase inhibitory activity							
	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg	100µg	200 µg	400 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>EACT</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>EDCM</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>EH20</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>EH20-MeOH</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>Galantamine<sup>b</sup></b>	35,93±2,28	43,77 ±0,00	68,50 ±0,31	80,69 ±0,41	85,78 ±1,63	91,80 ±0,20	94,77 ±0,34	<b>6,27±1,15</b>

## Annexe 4 : *Erucaria uncata*

### Annexe 4.1. Test de DPPH

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub>
EH20	5,48±1,43	7,17±1,38	11,29±0,89	14,29±0,76	26,41±0,47	53,71±1,96	76,01±0,19	<b>436,04±2,78</b>
EH20-MeOH	7,11±0,47	10,04±1,04	17,54±0,80	25,47±1,62	47,96±0,43	76,45±0,11	77,45±1,15	<b>51,88±3,02</b>
EAcet	3,39±2,25	5,36±0,00	7,36±3,19	7,70±0,40	16,14±0,40	28,32±0,66	50,00±0,00	<b>792,88±2,71</b>
EDCM	6,39±1,72	12,67±1,67	21,48±2,28	35,72±2,09	59,15±2,70	63,89±1,15	73,58±1,50	<b>187,04±0,19</b>
HEs	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;800</b>
BHA	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	<b>6.14±0.41</b>
BHT	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	<b>12.99±0.41</b>

### Annexe 4.2. Test d'ABTS

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
EH20	12,33±1,63	22,48±1,60	33,32±1,97	50,46±0,66	75,51±0,94	90,99±0,22	91,30±0,19	<b>27,35±1,39</b>
EH20-MeOH	18,13±3,42	37,22±0,66	49,99±3,08	79,71±0,76	90,73±0,66	91,18±0,72	91,62±0,11	<b>48,45±1,30</b>
EAcet	11,04±0,94	25,69±1,87	45,92±1,97	63,36±0,20	78,35±0,67	82,10±1,69	85,25±1,32	<b>49,57±2,94</b>
EDCM	17,81±1,76	34,20±2,48	53,01±1,47	74,03±1,42	75,80±0,27	87,46±3,08	88,21±2,40	<b>49,6±0,10</b>
HEs	5,39±1,80	9,35±1,80	9,75±0,26	13,82±0,74	20,97±1,47	25,04±4,12	42,41±0,90	<b>&gt;800</b>
BHT	69,21±0,40	78,23±1,34	88,12±1,28	88,76±3,07	90,85±1,74	90,95±0,51	96,68±0,39	<b>1.29±0.30</b>
BHA	92,83±1,42	94,68±0,42	94,95±0,90	95,32±0,25	95,59±0,47	95,83±0,15	95,86±0,10	<b>1.81±0.10</b>

### Annexe 4.3. Test de Pouvoir réducteur

Extraits	3,125µg/ml	6,25µg/ml	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	A <sub>050</sub>
EH20	0,16±0,01	0,16±0,01	0,19±0,01	0,22±0,01	0,26±0,02	0,31±0,03	0,45±0,01	<b>&gt;200</b>
EH20-MeOH	0,18±0,02	0,18±0,01	0,20±0,02	0,22±0,01	0,29±0,01	0,35±0,05	0,58±0,04	<b>158,14±1,09</b>
EAcet	0,12±0,06	0,12±0,07	0,16±0,00	0,18±0,01	0,19±0,01	0,20±0,01	0,21±0,01	<b>&gt;200</b>
EDCM	0,17±0,01	0,19±0,01	0,21±0,01	0,22±0,02	0,29±0,01	0,37±0,02	0,50±0,04	<b>198,17±2,59</b>
HEs	0,10±0,02	0,11±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01	0,11±0,02	0,11±0,02	0,13±0,01	<b>&gt;200</b>
BHA	0,37±0,01	0,64±0,01	1,09±0,01	1,90±0,08	3,21±0,04	3,84±0,03	4,01±0,09	<b>9,29±0,22</b>

### Annexe 4.4. Test de Chélation du fer

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub>
EH20	16,58±3,40	40,25±3,32	41,15±3,00	55,32±1,15	56,47±3,62	60,58±0,88	64,69±0,31	<b>83,35±0,60</b>
EH20-MeOH	14,73±4,58	15,00±3,43	25,52±4,54	28,15±4,80	37,96±4,99	50,43±4,99	63,84±2,54	<b>389,78±3,64</b>
EAcet	9,33±1,31	10,10±3,27	19,36±0,44	21,36±1,37	27,68±4,01	50,50±3,05	57,29±4,01	<b>583,55±0,19</b>
EDCM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;800</b>
HEs	11,41±3,75	19,94±4,10	20,60±0,06	38,29±3,38	45,48±3,80	52,40±2,24	56,97±1,61	<b>369,96±0,72</b>
EDTA	73,55±0,45	78,89±0,25	82,73±0,11	85,18±0,11	88,13±0,16	89,36±0,18	91,14±0,00	<b>8.57 ± 0.14</b>

### Annexe 4.5. Test du blanchiment du β-carotène

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub>
EH20	47,50±1,17	54,78±0,33	58,31±1,19	61,39±0,90	62,83±2,18	63,56±2,54	66,01±1,89	<b>2,67±0,11</b>
EH20-MeOH	24,31±2,68	37,58±0,82	47,79±2,28	58,56±2,90	63,09±1,64	65,08±2,53	67,84±0,72	<b>67,85±3,04</b>
EAcet	23,59±2,64	27,64±2,07	31,23±1,91	40,86±2,48	48,10±2,32	62,14±1,33	73,92±2,53	<b>236,71±0,12</b>
EDCM	6,47±0,79	12,99±1,70	21,80±0,97	34,35±1,87	48,28±1,51	55,09±0,88	63,66±0,33	<b>280,48±4,86</b>
HEs	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;800</b>
BHT	88,29±0,10	91,70±0,36	93,65±0,30	93,68±0,46	94,49±0,07	94,88±0,10	95,58±0,19	<b>0,91±0,01</b>
BHA	93,48±0,44	95,52±0,33	96,34±0,55	97,56±0,19	97,64±2,22	97,85±0,32	99,66±0,52	<b>1,05±0,03</b>

### Annexe 4.6. Test de CUPRAC

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	A <sub>050</sub>
EH20	0,14±0,00	0,20±0,01	0,21±0,01	0,32±0,01	0,46±0,04	0,66±0,07	1,02±0,14	<b>230,58±11,82</b>
EH20-MeOH	0,18±0,02	0,23±0,02	0,31±0,02	0,48±0,01	0,75±0,02	1,21±0,07	2,01±0,10	<b>113,18±0,94</b>
EAcet	0,20±0,01	0,21±0,01	0,43±0,02	0,45±0,01	0,61±0,09	0,90±0,07	1,26±0,08	<b>139,06±40,65</b>
EDCM	0,27±0,01	0,32±0,01	0,48±0,04	0,74±0,03	1,26±0,01	1,70±0,25	2,62±0,15	<b>52,83±5,16</b>
HEs	0,08±0,00	0,09±0,00	0,09±0,09	0,09±0,00	0,09±0,01	0,11±0,01	0,12±0,00	<b>&gt;800</b>
BHA	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,58±0,42	3,35±0,20	3,77±0,19	3,92±0,13	<b>5,35±0,71</b>
BHT	1,41±0,03	2,22±0,05	2,42±0,02	2,50±0,01	2,56±0,05	2,86±0,07	3,38±0,13	<b>8,97±3,94</b>

#### Annexe 4.7. Test de Phénoltroline

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	A <sub>05</sub>
<b>EH20</b>	0,22±0,00	0,22±0,00	0,23±0,00	0,25±0,01	0,29 ±0,02	0,37±0,00	0,43±0,06	>800
<b>EH20-MeOH</b>	0,24 ±0,01	0,24 ±0,01	0,25 ±0,01	0,27±0,02	0,33±0,01	0,45±0,03	0,63 ±0,02	<b>491,83±6,84</b>
<b>EAcet</b>	0,25±0,03	0,25 ±0,03	0,25 ±0,02	0,26 ±0,02	0,27±0,02	0,30±0,01	0,36 ±0,01	>800
<b>EDCM</b>	0,22 ±0,01	0,23 ±0,00	0,25±0,01	0,27 ±0,01	0,31 ±0,01	0,41±0,02	0,61±0,02	<b>573,50±0,71</b>
<b>HEs</b>	0,22±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,22±0,03	0,22±0,01	0,23±0,02	>800
<b>BHA</b>	0,63±0,01	1,19±0,06	2,27±0,07	3,50±0,14	3,85±0,04	3,84±0,02	3,96±0,03	<b>5,28 ± 0,34</b>

#### Annexe4.8. Activité inhibitrice de l'α-glucosidase

Extraits	15,625µg/ml	31,25µg/ml	62,5µg/ml	125µg/ml	250µg/ml	500µg/ml	1000µg/ml	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>EH20</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>EH20-MeOH</b>	14,28±5,61	24,11±5,61	28,59±7,79	34,54±3,61	37,01±1,22	38,69±1,75	49,85±0,66	<b>820,14±8,68</b>
<b>EAcet</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>EDCM</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>HEs</b>	13,11±1,76	18,93±0,19	29,76±0,32	75,23±0,45	77,47±1,32	81,61±1,06	82,21±0,84	<b>77,45±0,22</b>
<b>Acarbose</b>	27,43±2,18	38,91±3,20	54,86±1,79	67,29±2,63	80,19±1,66	85,54±0,45	91,05±0,72	<b>275,43±1,59</b>

#### Annexe 4.9. Activité inhibitrice de Butyrylcholinestérase

Extraits	Butyrylcholinestérase inhibitory activity							
	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg	100µg	200 µg	400 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>EH20</b>	44,85±3,09	47,64±1,43	50,96±0,52	54,28±1,97	55,41±1,11	57,18±0,27	65,79±3,21	<b>20,81±3,02</b>
<b>EH20-MeOH</b>	47,64±0,49	48,21±0,56	50,09±2,71	52,76±2,11	53,81±2,38	58,87±2,82	66,49±1,33	<b>14,85±0,98</b>
<b>EAcet</b>	38,48±0,12	53,66±0,37	54,45±0,00	60,12±0,62	62,30±1,97	63,48±0,97	69,34±1,66	<b>12,81±1,18</b>
<b>EDCM</b>	49,23±1,01	56,95±4,63	65,62±1,73	67,02±1,22	68,53±1,29	70,55±0,93	95,03±1,31	<b>2,98±0,86</b>
<b>HEs</b>	24,61±1,60	36,82±0,74	41,39±1,44	45,75±2,64	55,32±3,84	57,29±3,39	64,77±3,73	<b>78,26 ±4,71</b>
<b>Galantamine</b>	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13± 2,60	63,87± 2,85	73,57± 0,77	78,95± 0,58	<b>34,75±1,99</b>

#### Annexe4.10. Activité inhibitrice de l'Acetylcholinestérase

Extraits	Acetylcholinestérase inhibitory activity							
	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg	100µg	200 µg	400 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>EAcet</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>400
<b>EDCM</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>400
<b>EH20</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>400
<b>EH20-MeOH</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>400
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>400
<b>Galantamine<sup>b</sup></b>	35,93±2,28	43,77 ±0,00	68,50 ±0,31	80,69 ±0,41	85,78 ±1,63	91,80 ±0,20	94,77 ±0,34	6,27±1,15

## Annexe 5. *Thymeleae hirsuta*

### Annexe 5.1. : Test de DPPH

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub>
<b>EH20</b>	7,40±1,61	22,89±1,97	37,26±0,84	67,59±2,47	82,09±2,36	70,55±5,48	57,04±6,05	<b>70,82±3,31</b>
<b>EH20-MeOH</b>	20,91±2,63	31,94±0,32	52,49±1,58	76,07±1,52	83,20±0,23	82,85±0,55	79,91±0,35	<b>47,02±1,82</b>
<b>EAcet</b>	2,89±2,72	3,82 ±1,12	8,48±1,12	24,72±2,38	42,45±1,26	64,71±0,46	70,16±0,99	<b>233,81±8,52</b>
<b>EDCM</b>	7,26±3,83	10,24±2,05	13,78±6,44	24,66±11,79	42,27±1,62	46,37±0,53	52,03±0,26	<b>645,61±3,32</b>
<b>HEs</b>	9,11±0,34	12,89±1,28	20,67±0,43	43,86±1,71	75,39±2,99	78,69±2,49	82,63±1,88	<b>126,28±2,34</b>
<b>BHA</b>	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	<b>6,14±0,41</b>
<b>BHT</b>	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	<b>12,99±0,41</b>

### Annexe 5.2. Test d'ABTS

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>EH20</b>	18,18±3,23	28,90±1,18	46,72 ±0,62	83,93±0,44	86,62 ±0,40	90,98±0,86	91,79±0,66	<b>18,69± 1,97</b>
<b>EH20-MeOH</b>	26,70±0,43	43,46±1,26	72,22 ±4,41	85,81±3,86	87,99 ±5,40	89,05±5,80	91,48±2,25	<b>24,45 ±1,93</b>
<b>EACT</b>	15,37±2,26	24,57±3,01	34,05±0,18	48,04±0,97	67,25±2,59	84,44±0,70	84,79±3,04	<b>87,76 ±2,92</b>
<b>EDCM</b>	18,56±1,18	25,78±1,45	37,24±2,02	41,55±2,99	51,94±0,53	69,03±0,93	74,45±2,37	<b>179,43±2,17</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;800</b>
<b>BHT</b>	69,21±0,40	78,23±1,34	88,12±1,28	88,76±3,07	90,85±1,74	90,95±0,51	96,68±0,39	<b>1,29±0,30</b>
<b>BHA</b>	92,83±1,42	94,68±0,42	94,95±0,90	95,32±0,25	95,59±0,47	95,83±0,15	95,86±0,10	<b>1,81±0,10</b>

### Annexe 5.3. Test du Pouvoir réducteur

Extraits	3,125µg/ml	6,25µg/ml	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	A <sub>050</sub>
<b>EH20</b>	0,16±0,02	0,19±0,00	0,24±0,01	0,26±0,03	0,39±0,04	0,44±0,04	0,53±0,06	<b>160,42±4,36</b>
<b>EH20-MeOH</b>	0,15±0,01	0,15±0,03	0,19±0,02	0,27±0,03	0,34±0,02	0,39±0,05	0,49±0,03	<b>&gt;200</b>
<b>EACT</b>	0,15±0,01	0,15±0,01	0,16±0,01	0,18±0,02	0,20±0,03	0,25±0,06	0,34±0,07	<b>&gt;200</b>
<b>EDCM</b>	0,16±0,01	0,14±0,00	0,17±0,04	0,16±0,02	0,19±0,01	0,21±0,01	0,25±0,03	<b>&gt;200</b>
<b>HEs</b>	0,13±0,01	0,14±0,01	0,15±0,03	0,17±0,01	0,18±0,02	0,23±0,03	0,29±0,05	<b>&gt;200</b>
<b>BHA</b>	0,37±0,01	0,64±0,01	1,09±0,01	1,90±0,08	3,21±0,04	3,84±0,03	4,01±0,09	<b>9,29±0,22</b>

### Annexe 5.4. Test de Chélation du fer

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	IC <sub>50</sub>
<b>EH20</b>	13,03±2,46	24,04±0,35	35,46±3,46	57,90±1,94	74,29±3,35	74,33±3,93	75,75±2,30	<b>80,12±3,25</b>
<b>EH20-MeOH</b>	12,88±2,19	26,33±1,10	31,03±4,43	51,36±1,15	68,48±2,55	69,05±2,42	70,33±0,84	<b>97,20±1,49</b>
<b>EACT</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;800</b>
<b>EDCM</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;800</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;800</b>
<b>EDTA</b>	73,55±0,45	78,89±0,25	82,73±0,11	85,18±0,11	88,13±0,16	89,36±0,18	91,14±0,00	<b>8,57 ± 0,14</b>

### Annexe 5.5. Test du blanchiment du β-carotène

Extraits	6,25µg/ml	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	IC <sub>50</sub>
<b>EH20</b>	45,06±1,30	56,77±0,35	72,75±0,55	82,70±2,24	97,11±2,74	99,62±3,40	103,21±0,98	<b>14,46±3,09</b>
<b>EH20-MeOH</b>	33,10±0,62	39,83±1,31	50,92±2,34	55,81±1,71	75,62±2,91	83,10±1,86	86,18±0,33	<b>38,32±1,76</b>
<b>EAcet</b>	12,90±1,52	25,60±2,20	38,78±2,60	56,85±2,63	71,09±3,83	85,32±0,44	97,24±1,56	<b>36,93±1,45</b>
<b>EDCM</b>	32,56±3,34	46,65±1,53	55,64±5,39	68,15±0,88	83,79±0,61	94,28±0,67	101,59±0,48	<b>30,25±1,89</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>NA</b>
<b>BHT</b>	88,29±0,10	91,70±0,36	93,65±0,30	93,68±0,46	94,49±0,07	94,88±0,10	95,58±0,19	<b>0,91±0,01</b>
<b>BHA</b>	93,48±0,44	95,52±0,33	96,34±0,55	97,56±0,19	97,64±2,22	97,85±0,32	99,66±0,52	<b>1,05±0,03</b>

### Annexe 5.6. Test de CUPRAC

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	A <sub>050</sub>
<b>EH20</b>	0,28±0,01	0,42±0,01	0,65±0,02	1,07±0,04	1,59±0,04	2,29±0,13	2,79±0,03	<b>34,39±0,27</b>
<b>EH20-MeOH</b>	0,24±0,01	0,31±0,01	0,51±0,01	0,86±0,04	1,45±0,04	2,56±0,08	3,73±0,05	<b>48,85±1,37</b>
<b>EAcet</b>	0,17±0,01	0,22±0,01	0,31±0,02	0,51±0,04	0,81±0,06	1,35±0,14	2,21±0,16	<b>96,86±5,94</b>
<b>EDCM</b>	0,17±0,00	0,21±0,00	0,30±0,00	0,45±0,00	0,75±0,02	1,26±0,06	2,10±0,13	<b>118,09±2,46</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>NA</b>
<b>BHA</b>	0,63±0,01	1,19±0,06	2,27±0,07	3,50±0,14	3,85±0,04	3,84±0,02	3,96±0,03	<b>5.28 ± 0.34</b>

### Annexe 5.7. Test de Phénantroline

Extraits	12,5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	800µg/ml	A <sub>05</sub>
<b>EH20</b>	0,23 ±0,01	0,24 ±0,01	0,25±0,01	0,36±0,04	0,43 ±0,01	0,77 ±0,06	1,07±0,03	<b>206,92±0,50</b>
<b>EH20-MeOH</b>	0,26±0,02	0,28 ±0,02	0,30 ±0,02	0,40±0,03	0,58 ±0,05	0,85 ±0,04	1,42 ±0,08	<b>143,23±3,86</b>
<b>EAcet</b>	0,25±0,03	0,26 ±0,02	0,28±0,03	0,30 ±0,02	0,34±0,02	0,42 ±0,03	0,62±0,01	<b>507,00±1,41</b>
<b>EDCM</b>	0,22±0,00	0,22 ±0,00	0,23±0,01	0,26 ±0,01	0,33±0,02	0,49 ±0,02	0,70 ±0,06	<b>426,77±5,57</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;800</b>
<b>BHA</b>	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,58±0,42	3,35±0,20	3,77±0,19	3,92±0,13	<b>5,35±0,71</b>
<b>BHT</b>	1,41±0,03	2,22±0,05	2,42±0,02	2,50±0,01	2,56±0,05	2,86±0,07	3,38±0,13	<b>8,97±3,94</b>

### Annexe 5.8. Activité inhibitrice de l'α-glucosidase

Extraits	15,625µg/ml	31,25µg/ml	62,5µg/ml	125µg/ml	250µg/ml	500µg/ml	1000µg/ml	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<b>EH20</b>	15,93±5,53	18,06±0,05	20,09±2,35	34,84±1,29	49,03±3,30	53,76±3,13	54,71±1,47	<b>312,02±1,42</b>
<b>EH20-MeOH</b>	31,45±4,71	42,12±1,92	63,36±0,42	79,40±2,94	83,83±1,20	85,18±1,58	86,47±0,72	<b>33,11±3,54</b>
<b>EAcet</b>	5,33±0,80	7,60±0,17	10,25 ±1,49	24,77±7,68	28,38±3,13	46,25±2,07	47,33±2,49	<b>908,31±0,35</b>
<b>EDCM</b>	4,50±0,32	6,52±3,10	8,54±1,91	11,30±3,90	14,08±3,92	21,30±5,03	24,49±4,74	<b>&gt;1000</b>
<b>HEs</b>	51,46±3,71	62,13±1,82	73,36±0,42	92,40±2,84	96,85±1,22	98,18±1,68	98,49±0,75	<b>15,42±2,77</b>
<b>Acarbose</b>	27,43±2,18	38,91±3,20	54,86±1,79	67,29±2,63	80,19±1,66	85,54±0,45	91,05±0,72	<b>275,43±1,59</b>

### Annexe 5.9. Activité inhibitrice de Butyrylcholinestérase

Extraits	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg	100µg	200 µg	400 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>EAcet</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>EDCM</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>EH20</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>EH20-MeOH</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>HEs</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>&gt;400</b>
<b>Galantamine</b>	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13± 2,60	63,87± 2,85	73,57± 0,77	78,95± 0,58	<b>34.75±1.99</b>

### Annexe 5.10. Activité inhibitrice de l'Acetyl cholinestérase

Extraits	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg	100µg	200 µg	400 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>EH20</b>	34,21±1,69	37,38±0,12	45,76±1,43	54,80±2,56	56,98±1,02	58,90±1,89	63,29±1,22	<b>37,89±1,91</b>
<b>EH20-MeOH</b>	38,80±1,75	44,04±1,83	45,08±2,22	49,16±2,64	51,56±1,04	53,75±2,46	55,31±2,01	<b>86,37± 2,44</b>
<b>EAcet</b>	34,15±1,85	40,37±1,80	41,92±3,80	43,34±1,05	56,54±0,87	62,33±0,38	67,19±1,80	<b>71,95±1,43</b>
<b>EDCM</b>	47,57±0,92	49,76±1,55	53,20±1,83	54,88±3,66	59,31±0,86	62,10±1,85	66,52±4,24	<b>14,29±1,86</b>
<b>HEs</b>	44,59±0,72	48,66±1,59	51,10±1,75	53,89±3,88	57,21±0,85	61,11±1,86	65,52±3,20	<b>13,57±1,70</b>
<b>Galantamine</b>	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13± 2,60	63,87± 2,85	73,57± 0,77	78,95± 0,58	<b>34.75±1.99</b>