الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie

جامعة فرحات عباس سطيف 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET D'ECOLOGIE VEGETALE

N°……/SNV/2021

THÈSE

Présentée par :

RAHMOUNI MALIKA

Pour l'obtention du diplôme de

Doctorat en Sciences

Filière : BIOLOGIE

Spécialité : BIOLOGIE VÉGÉTALE

THÈME

ETUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE ET DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES ET D'EXTRAITS BRUTS DE *Ferula lutea* (Poir.) Maire

Soutenue publiquement le : **04/11/2021**

DEVANT LE JURY :

Président	**Khennouf Seddik**	**Pr. UFA Sétif 1**
Directeur	**Laouer Hocine**	**Pr. UFA Sétif 1**
Co-Directeur	**Dahamna Saliha**	**Pr. UFA Sétif 1**
Examinateurs	**Akkal Salah**	**Pr. U. Constantine 1**
	Zellagui Amar	**Pr. U. Oum El Bouaghi**
	Gherraf Noureddine	**Pr. U. Oum El Bouaghi**

Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles Biologiques

DÉDICACES

JE DÉDIE CE TRAVAIL À LA MÉMOIRE

DE MES CHERS ET REGRETTÉS PARENTS

ET MON UNIQUE CHER ET REGRETTÉ FRÈRE

JE REGRETTE QUE VOUS NE SOYEZ PAS PARMI NOUS EN CE MOMENT TANT ATTENDU. VOUS ÊTES DANS MON CŒUR ET MON ÉSPRIT EN TOUTE CIRCONSTANCE.

REMERCIEMENT

Mes premiers remerciements s'adressent à Dieu le tout puissant qui a donné à l'homme le pouvoir de raisonner et d'exploiter les vérités de l'univers. Dieu qui m'a permis d'être ce que je suis aujourd'hui. Seigneur, veuillez toujours diriger mes pas.

La rédaction de ces pages clôt une aventure de quatres années qui n'a pas toujours été facile. C'est avec une grande joie que j'ai débuté cette thèse, et un léger pincement au cœur que j'en arrive aujourd'hui à écrire ces remerciements car ils sont la conclusion finale de toutes ces années de travail. Ainsi, une page importante de ma vie se tourne.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de valorisation des ressources naturelles biologiques (LVRNB) et le laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques (LPAMC) de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Ferhat Abbas Sétif 1.

Je tiens à remercier du profond du cœur, mon directeur de thèse, Professeur Laouer Hocine pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité et son soutien. Il a su m'orienter de ses précieux conseils, je le remercie, également, pour ses grandes qualités humaines et son soutien moral, tout au long de ces années, qu'il trouve ici l'expression de mes sincères remerciements et ma profonde gratitude. Sa grande expérience et ses encouragements ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail de thèse, sans son accompagnement érudit rien n'aurait été possible.

Je suis particulièrement reconnaissante à ma co-directrice de thèse Madame le Professeur Dahamna Saliha. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance. Je vous prie Mme de trouver ici l'expression de ma très haute considération.

A notre Doyen et président du jury Professeur Seddik Khannouf. C'est un réel plaisir pour nous que vous avez accepté de présider notre jury de thèse. Votre rigueur scientifique, votre humilité et vos qualités humaines ne font l'ombre d'aucun doute. C'est pour nous un honneur et un privilège que vous présidez mon jury de thèse.

Je suis très sensible à l'honneur que me font Messieurs les professeurs en acceptant d'être les membres de jury de ma thèse malgré leurs innombrables obligations. Je les remercie vivement pour cette marque d'intérêt. Leurs présence et participation à ce jury me touche particulièrement. J'en suis très honorée. Qu'ils soient remerciés pour le plaisir et pour l'immense privilège d'avoir accepté de porter leurs jugements hautement qualifiés sur mon travail. Je les prie de bien vouloir trouver ici l'expression de ma plus grande estime.

Monsieur le professeur Salah Akkal, de l'université des frères Mentouri Constantine merci d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse, pour l'intérêt que vous portez à mon

travail et pour le temps consacré à fin de l'évaluer. Que vous trouvez ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Monsieur le professeur Amar Zellagui de l'Université Larbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi votre venue en tant qu'examinateur m'honore, je vous suis très reconnaissante et je vous adresse mes vifs remerciements. J'en suis très honorée. Que vous trouvez ici l'expression de ma sincère gratitude et reconnaissance.

Ma vive reconnaissance va au Professeur Gherraf Noureddine de l'Université Larbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de juger ce travail. Que vous trouvez ici l'expression de mon profond respect et ma sincère gratitude.

Je remercie Monsieur Chawki Bensouici, Docteur au laboratoire de Biochimie au CRBT de Constantine de m'avoir accueillie dans son laboratoire et pour les conditions techniques mises à ma disposition à fin de réaliser certaines activités. Mes sincères remerciements vont également à tout le personnel de ce laboratoire pour leurs diverses contributions.

Je suis également très redevable à Mr Amar Rouabhi Maitre de conférence au département d'agronomie UFA Sétif 1 pour son aide précieuse au niveau des traitements statistiques.

Je tiens à remercier le professeur GUIDO Flamini de l'université de Pisa (Italie) pour la réalisation des analyses chimiques des huiles essentielles de l'espèce étudiée.

Je reserve une mention particuliere à mon époux pour sa touchante inquiétude quant à l'avancée de mes travaux et moments d'incertitude et avant chaque grand combat.

Il est évident que je ne peux oublier de remercier ma famille qui a toujours répondu « présent » et ont été d'un grand secours quand le moral n'était pas au meilleur de sa forme.

Que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici mes sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Enfin, je finirai ces remerciements par une citation de Marcel PROUST : « Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur, elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries. »

SOMMAIRE

ملخص I
Resumé II
Abstract III
LISTE DES ABREVIATIONS V
LISTE DES FIGURES : VI
LISTE DES TABLEAUX VIII
Introduction 1

CHAPITRE I: LA FAMILLE DES APIACEAE

I. La famille des Apiaceae 6
I.1. Généralités 6
I.2.Distribution géographique 7
I.3. Les principaux genres des Apiaceae 8
I.4. Description botanique 9
I.5. Phytochimie 11
I.6. Phytothérapie 11
I.7.Toxicité 12
I.8. Le genre *Ferula* 13
I.8.1. Description botanique du genre *Ferula* 13
I.8.2. Position systématique du genre *Ferula* 14
I.8.3. Rappels botaniques sur *Ferula lutea* (Poir.) Maire 14
I.8.4. Propriétés thérapeutiques du genre *Ferula* 15
I.8.5. Propriétés anticancéreuses 16
I.8.6. Les principaux constituants chimiques du genre *Ferula* 17
I.8.7. Biogenèse des sesquiterpènes 19
I.9. Notion de chémotypes 22

CHAPITRE II: LES POLYPHENOLS

II. Les métabolites secondaires 25
II.1. Généralités 25
II.2. Rôles des métabolites secondaires 25
II.3. Classification des métabolites secondaires 26
II.3.1. Les composés phénoliques 26
II.3.1.1. Généralités 26
II.3.1.2. Classification des composés phénoliques 27
II.3.1.2.1. Les acides phénoliques 28
II.3.1.2.2. Les composés flavonoïdes 29
II.3.1.2.3. Les Quinones 29
II.3.1.2.4. Les tanins 30
II.3.1.2.5. Les Coumarines 31

II.3.1.2.6. Les alcaloïdes 31
II.3.1.3. Localisation des composés phénoliques 32

CHAPITRE III: LES HUILES ESSENTIELLES

III. Les huiles essentielles 35
III.1. Définition 35
III.2. Propriétés physiques des huiles essentielles 35
III. 3. Lieux de biosynthèse et accumulation des huiles essentielles 35
III.4. La composition chimique des huiles essentielles 37
III.4.1. Les terpènes 37
III.4.2. Classification des terpènes 38
III.4.2.1. Les Monoterpènes (C10) 38
III.4.2.1.1.Terpènes acycliques 39
III.4.2.1.2.Terpènes monocycliques 39
III.4.2.1. 3.Terpènes bicycliques 39
III.4.2.2.Les sesquiterpènes 41
III.4.2.2.1. Classification des sesquiterpènes 41
III.2.3. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane 42
III.4.2.4. Composés d'origines diverses 42
III.5. Les facteurs influençant la composition 42
III.6. Procédés d'extraction 43
III.6.1. L'hydro-distillation 43
III.6.2. L'entraînement à la vapeur d'eau 44
III.6.3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) 44
III.6.4. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM) 45
III.7. Propriétés biologiques des huiles essentielles 46
III.7.1. Activité antimicrobienne 46
III.7.2. Activité antioxydante 47
III.7.3. Activité anti-inflammatoire 47
III.7.4. Propriétés anti cancéreuses 47
III.7.5. Activité anticholinesterase 48

CHAPITRE IV: MATERIELS ET METHODES

IV. Matériel et Méthodes 52
IV.1. Matériel 52
IV.1.1. Matériel végétal 52
IV.1.2. Matériel et réactifs des activités biologiques 53
IV.1.3. Matériel du test de l'activité bactérienne 53
IV.1.3.1. Les souches bactériennes 53
IV.1.3.2. Milieux de culture 53
IV.2. Méthodes 53

IV.2.1. Extraction des huiles essentielles 53
IV.2.1.1. Calcul du rendement d'extraction 54
IV.2.1.2. Analyse des Huiles essentielles 54
IV.2.2. Préparation des extraits 55
IV.2.2.1. Préparation des extraits bruts par Extraction Solide - Liquide (ESL) 56
IV.2.2.2. Fractionnement de l'extrait brut hydrométhanolique par Extraction Liquide –Liquide (ELL) 56
IV.2.2.3. Calcul de rendement des extraits 58
IV.2.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols totaux 58
IV.2.2.5. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux 59
IV.2.3. Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne 60
IV.2.3.1. La méthode de diffusion sur gélose 60
IV.2.3.1.1. Etapes de la réalisation de l'activité bactérienne 60
IV.2.3.2. La Macro dilution en milieu solide 62
IV.2.4. Evaluation *in vitro* des activités antioxydantes 63
IV.2.4.1.Test DPPH 64
IV.2.4.2. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) 66
IV.2.4.3. Pouvoir réducteur du Fer 67
IV.2.5.Activité anticholinesterase 67

CHAPITRE V: RESULTATS ET DISCUSSIONS

V.1. Extraction des huiles essentielles 70
V.1.1.La densité 70
V.1.2. Le rendement 70
V.1.3. Composition chimique des huiles essentielles de *Ferula lutea* 73
V.2.Préparation des extraits 85
V.2.1. Rendement en extraits brut 85
V.2.2. Détermination de la teneur en polyphénols totaux 86
V.2.3.Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux 89
V.3.Activité bactérienne 91
V.3.1.Test de diffusion sur gélose 91
V.3.2. Macro-dilution en milieu solide 102
V.4.Activité antioxydante 105
V.4.1. Effet scavenger du radical DPPH 105
V.4.2. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) 108
V.4.3. Pouvoir réducteur du Fer 111
V.5.Conclusion sur les tests antioxydants 112
V.6.Activité anticholinesterase 113
Conclusion et perspectives 117
Références bibliographiques 122

ملخص

نظرا لازدياد ظاهرة المقاومة البيولوجية للسلالات البكتيرية، و للعدد المحدود للمضادات الجديدة التي هي في صدد الإنجاز والتطوير،فإن اكتشاف عوامل جديدة مضادة للبكتيريا أصبح أكثر من الضروري. كذلك من أجل تفادي عواقب الإجهاد التأكسدي،فمن الضروري إعادة التوازن بين العامل المسبب للأكسدة والعامل المضاد للأكسدة.

يسمح التحليل الكيميائي للمستخلصات النباتية باكتشاف مركبات طبيعية نشطة جديدة مضادة للبكتيريا ومضادة الأكسدة، و التي يمكن استعمالها كبديل للمضادات الحيوية ومضادات الأكسدة المتوفرة. و في هذا الإطار تمت دراسة نبات*Ferula lutea* *الذي* ينتمي إلى العائلة الخَيْمِيَّة (Apiaceae)، حيث تم جمع هذا االأخير من منطقتين بولاية سطيف (عين عباسة وعموشة).وقد أسفرت نتائج التحليل الكيميائي للزيت الأساسي للجزءالهوائي لهذا النبات(سيقان،أوراق ،أزهار وبذور) عن وجود مركبين أساسين هما: α-pinèneو δ-3-carène ، تراوحت نسبتهما على الترتيب في نبات المنطقتيين كالأتي 20,9%- 18,1%- 20.0%-20.5%- و(36,5%-27,0%- 33,0% -27,0%). كما أظهر كل من المستخلص ن-بيتانولي والمستخلص الخام الهيدورميثانولي أكبر قيمة للفينولات الكلية وهذا بالنسبة للنبات الذي تم جمعه من المنطقتين وكانت النتائج على الترتيب(483 ± 5.0 - 395 ± 1.17) و(696.5 ± 6,53- 4.15 ± 8.88 مغ المكافئ لحمض الغاليك(GAE) /غ من المستخلص.

في حين حقق مستخلص ن-بيتانولي ومستخلص أسيتات الإيثيل أكبر قيمة من الفلافونوييدات، وكانت النتائج (138.11 ± 0.83 -123.58 ± 7.37) و (111.56 ± 2.03 - 110.20 ± 4.59 مغ كرستين (EQ) مكافئ/غ من المستخلصات) على الترتيب.

كما أظهر هذين المستخلصين أكبر نشاطية مضادة للأكسدة لإزاحة جذرالـ DPPH بـ IC50 تقدر على الترتيب بـ (76,02±2,33 -21,31±0,70µg /ملل) و(26,75±0,28 -24,56±3,75 µg /ملل)، كما حقق نفس المستخلصين أكبر قوة إرجاع لأيونات النحاس بـ IC50 قدرت بـ(7,42 ± 0,13 ±0,69µg /ملل) (13,18± 0,33 ; 14,80±1,03µgو/ملل)، وقد بينت نتائج القدرة على إرجاع الحديد لمستخلص أسيتات الإيثيل لنبات منطقة عين عباسة و مستخلص ن-بيتانولي لنبات منطقة عموشة،أن هذين المستخلصين أظهرا أكبر قوة إرجاع ،حيث كانت النتائج على الترتيب (86 ,22± 1,36) و(µg 53,07±2,07/ملل). كما أظهرت الزيوت الأساسية لبذور النبات لكل من المنطقتين عين عباسة وعموشة تثبيط جيد لأنزيم الكولينستراز بقيمة IC50 ضعيفة،قدرت على الترتيب بـ (42,36± 1,36 و65,45±8.43µg /ملل).

بالنسبة للنشاطية المضادة للبكتيريا فكان الزيت الأساسي لأزهار نبات منطقة عموشة فعالا جدا ضد البكتيريا المختبرة سالبة الغرام (*E. coli* ، *P. mirabilis*) و موجبة الغرام (*B. Cereus*، *S. aureus*)، حيث قدرت مناطق التثبيط بالنسبة للبكتيريا سالبة الغرام بـ (13±2,12-12,83±0,28مم)،أما بالنسبة للبكتيريا موجبة الغرام فقد كانت مناطق التثبيط بـ(16,33±0,76 -10,16±0,57 مم).

كما أظهرت نتائج التركيز الأدنى المثبط(CMI) لكل من بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus*أنهما الأكثر حساسية، حيث قدر التركيز الأدنى المثبط(CMI)بـ 6,75 مغ/ملل و3,33 مغ/ملل .

الكلمات المفتاحية : العائلة الخَيْمِيَّة ،نبات*Ferula lutea* ، الزيوت الأساسية ,المستخلصات النباتية، نشاطية مضادة للأكسدة نشاطية مضادة للبكتيريا ، النشاطية المضادة الكولينستراز.

Resumé

Suite à la croissance vertigineuse du phénomène de bio résistance des souches bactériennes et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens est devenue plus qu'indispensable. Ainsi pour échapper aux conséquences du stress oxydatif, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant/antioxydant.

La composition chimique des extraits des végétaux permet de découvrir de nouveaux agents antibactériens et antioxydants qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques et des antioxydants conventionnels. Pour cet objectif, une espèce appartenant à la famille des Apiaceae, *Ferula lutea*, récoltée dans deux régions de Sétif a fait l'objet de cette étude. L'α-pinène et δ-3-carènes sont les composés majoritaires de l'HE de la partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs et graines) de *Ferula lutea* d'Ain Abessa et Amoucha : (20,9% - 18,1% - 20,0% - 20,5%) et (36,5% - 27,0% 33,0% -27,0%). L'extrait *n*-butanolique et l'extrait brut hydrométhanolique des deux stations de récolte accusent les teneurs les plus élevées en composés phénoliques avec ces valeurs respectives : (483±5,0 – 395±1,17) et (696,5±6,53 – 4,15±8,88 mg GAE/g extrait) par contre la prédominance des flavonoïdes est attribuée aux extraits *n*-butanolique et acétate d'éthyle, ils correspondent : (138,11±0,83 – 123,58±7,37) et (111,56±2,03 – 110,20±4,59 mgQE/g extraits) respectivement.

Les extraits *n*-butanolique et acétate d'éthyle des deux régions possèdent un grand pouvoir de piéger le radical DPPH avec des IC50 de l'ordre (76,02 ±2,33- 21,31±0,70 µg/ml) et (26,75±0,28 -24,56±3,75 µg/ml) respectivement. Les profils du pouvoir réducteur des ions de cuivres montrent que les extraits d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique des deux stations possèdent un puissant pouvoir réducteur avec des IC50 de l'ordre (7,42±0,13 ; 11,51±0,69 µg/ml) et (13,18±0,33 ; 14,80±1,03µg/ml). Les résultats de la technique du pouvoir réducteur du fer ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle d'Ain Abessa et l'extrait *n*-butanolique d'Amoucha sont les plus actif : (22, 86 ± 1,36) et (53,07± 2,07 µg/ml). Finalement les huiles essentielles des graines des stations d'Ain Abessa et d'Amoucha ont manifesté une bonne inhibition de l'enzyme Acétylcholinestérase avec des IC50 faibles, elles sont de l'ordre ; (42,36±1,36 et 65,45±8,43 µg/ml).

Le criblage de l'effet antimicrobien a révélé que les HEs des fleurs d'Amoucha ont témoigné la plus forte activité vis-à-vis de toutes les souches Gram négatif (*E. coli*, *P.mirabilis*) et Gram positif (*B.cereus*, *S.aureus*), les diamètres des zones d'inhibition sont (13±2,12-12,83±0,28) et (16,33±0,76-10,16±0,57) respectivement. Les résultats de CMI montrent que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus* cereus sont les plus sensibles avec des CMI situées entre 6,75 et de 3,33mg/m.

Mots clés: Apiaceae, *F.lutea*, huiles essentielles, extraits bruts, activité antioxydante, activité antibactérienne, anticholinesterase.

Abstract

Following the vertiginous progression of the phenomenon of bio-resistance of bacterial strains and the limited number of antibiotics in development, the discovery of new antibacterial agents has become more than essential.Thus, to avoid the consequences of oxidative stress, it is necessary to restore the oxidant/antioxidant balance.

The screening of plant extracts allowed the discovery of new antibacterial and antioxidant agents that could constitute an alternative to use of the antibiotics and conventional antioxidants. For this objective, a species belonging to the Apiaceae family, *Ferula lutea*, collected from two Setifian regions were the purpose of this study. The α-pinene and δ-3-carene are the majority compounds of the HE of the aerial part (stems, leaves, flowers and seeds) of *Ferula lutea* from Ain Abessa and Amoucha: (20.9% - 18.1% - 20.0% - 20.5%) and (36.5% - 27.0% - 33.0% - 27.0%).The *n*-butanolic and crude hydromethanolic extracts of the two collection stations showed the highest contents of phenolic compounds with these respective values: (483 ± 5.0 - 395 ± 1.17) and (696.5 ± 6.53 - 4.15 ± 8.88 mg GAE/g extract), on the contrary the predominance of flavonoids is attributed to the *n*-butanolic and ethyl acetate extracts, they correspond: (138.11±0.83 - 123.58± 7.37) and (111.56 ± 2.03 - 110.20 ± 4.59 mg QE/g extracts) respectively.

The *n*-butanolic and ethyl acetate extracts from both regions have a high power to scavenger the DPPH radical with IC50 of the order (76.02 ± 2.33- 21.31 ± 0.70 µg/ml) and (26.75 ± 0.28 -24.56 ± 3.75 µg/ml) respectively. The reducing power profiles of copper ions revealed that ethyl acetate and *n*-butanolic extracts from both stations showed strong reducing power with IC50 of the order (7.42 ± 0.13; 11.51 ± 0.69 µg/ml) and (13.18 ± 0.33; 14.80 ± 1.03 µg/ml).The results of the iron reducing power technique showed that the ethyl acetate extract of Ain Abessa and the *n*-butanolic extract of Amoucha are the most active: (22, 86 ± 1,36) and (53,07 ± 2,07 µg/ml). Finally, the essential oils of the seeds of the stations of Ain Abessa and Amoucha showed a good inhibition of the enzyme (Acethylcholinesterase) with low IC50, they are of the order: (42.36 ± 1.36 and 65.45 ± 8.43 µg/ml).

The screening of the antimicrobial effect revealed that the HE of Amoucha flowers showed the highest activity against all Gram-negative (*E. coli*, *P. mirabilis*) and Gram-positive (*B. cereus*, *S. aureus*) strains, the diameters of the inhibition zones are (13 ± 2.12 - 12.83 ± 0.28) and (16.33 ± 0.76 - 10.16 ± 0.57) respectively. The results of IMC showed that *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* are the most sensitive with IMC between 6.75 and 3.33 mg/ml

Key words: Apiaceae, *F.lutea*, essential oils, crude extracts, antioxidant activity, antimicrobial, anticholinesterase.

Abstract

Following the vertiginous progression of the phenomenon of bio-resistance of bacterial strains and the limited number of antibiotics in development, the discovery of new antibacterial agents has become more than essential.Thus, to avoid the consequences of oxidative stress, it is necessary to restore the oxidant/antioxidant balance.

The screening of plant extracts allowed the discovery of new antibacterial and antioxidant agents that could constitute an alternative to use of the antibiotics and conventional antioxidants. For this objective, a species belonging to the Apiaceae family, *Ferula lutea*, collected from two Setifian regions were the purpose of this study. The α-pinene and δ-3-carene are the majority compounds of the HE of the aerial part (stems, leaves, flowers and seeds) of *Ferula lutea* from Ain Abessa and Amoucha: (20.9% - 18.1% - 20.0% - 20.5%) and (36.5% - 27.0% - 33.0% - 27.0%).The *n*-butanolic and crude hydromethanolic extracts of the two collection stations showed the highest contents of phenolic compounds with these respective values: (483 ± 5.0 - 395 ± 1.17) and (696.5 ± 6.53 - 4.15 ± 8.88 mg GAE/g extract), on the contrary the predominance of flavonoids is attributed to the *n*-butanolic and ethyl acetate extracts, they correspond: (138.11±0.83 - 123.58± 7.37) and (111.56 ± 2.03 - 110.20 ± 4.59 mg QE/g extracts) respectively.

The *n*-butanolic and ethyl acetate extracts from both regions have a high power to scavenger the DPPH radical with IC50 of the order (76.02 ± 2.33- 21.31 ± 0.70 µg/ml) and (26.75 ± 0.28 -24.56 ± 3.75 µg/ml) respectively. The reducing power profiles of copper ions revealed that ethyl acetate and *n*-butanolic extracts from both stations showed strong reducing power with IC50 of the order (7.42 ± 0.13; 11.51 ± 0.69 µg/ml) and (13.18 ± 0.33; 14.80 ± 1.03 µg/ml).The results of the iron reducing power technique showed that the ethyl acetate extract of Ain Abessa and the *n*-butanolic extract of Amoucha are the most active: (22, 86 ± 1,36) and (53,07 ± 2,07 µg/ml). Finally, the essential oils of the seeds of the stations of Ain Abessa and Amoucha showed a good inhibition of the enzyme (Acethylcholinesterase) with low IC50, they are of the order: (42.36 ± 1.36 and 65.45 ± 8.43 µg/ml).

The screening of the antimicrobial effect revealed that the HE of Amoucha flowers showed the highest activity against all Gram-negative (*E. coli*, *P. mirabilis*) and Gram-positive (*B. cereus*, *S. aureus*) strains, the diameters of the inhibition zones are (13 ± 2.12 - 12.83 ± 0.28) and (16.33 ± 0.76 - 10.16 ± 0.57) respectively. The results of IMC showed that *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* are the most sensitive with IMC between 6.75 and 3.33 mg/ml

Key words: Apiaceae, *F.lutea*, essential oils, crude extracts, antioxidant activity, antimicrobial, anticholinesterase.

LISTE DES ABREVIATIONS

ACh: Acétylcholine

AChE: AcétylCholinEstérase (AChE)

AFNOR: Association Française de Normalisation

ANOVA: Analyse de la Variance

ATCC: American Type Culture Collection

BHA: Butylatedhydroxyanisole

BHT: Butylhydroxytoluène

CFU: Colony Forming Units

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CPG/SM: Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse.

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxidant Capacity

DMSO: Diméthylsulfoxide

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EAc : Extrait Acétate d'éthyle

EAq : Extrait Aqueux

Ebr : Extrait brut hydrométhanolique

EBu : Extrait *n*-Butanolique

EtOH : Ethanol

HE: Huile Essentielle

IC50: Concentration Inhibitrice à 50%

KI: Indice de Kovats

MeOH: Methanol

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standard

ROS: Reactive Oxygen Species

RP: Reducing Power

TCF : Teneur en Composés Flavonoïdes

TCP: Teneur en Composés Phénoliques

UFC: Unité Formant Colonies

µg EqAG/mg: Microgramme d'Equivalent Acide Gallique par milligramme d'extrait

µg EqQ/mg: Microgramme d'Equivalent Quercétine par milligramme d'extrait

LISTE DES FIGURES :

Figure 1: Répartition géographique mondiale des Apiaceae 7
Figure 2: Inflorescence des Apiaceae..... 9
Figure 3 : Appareil végétatif des Apiaceae 10
Figure 4: Structure générale d'un diakène 10
Figure 5: Structures de la Cicutoxine, l'Oenanthotoxine, la Coniine et de la γ- coniceine……. 12
Figure 6: *Ferula lutea* (Poir.) Maire 15
Figure 7 : Biogénèse des sesquiterpènes 18
Figure 8: Structure des tanins..... 18
Figure 9: Structure des coumarines..... 19
Figure 10 : Glandes sécrétrices 30
Figure 11: Structure de base de l'isoprène..... 31
Figure 12: Exemple de quelques monoterpènes acycliques..... 37
Figure 13 : Exemple de quelques monoterpènes monocycliques 38
Figure 14: Exemple de quelques monoterpènes bicycliques 40
Figure 15: Exemple de quelques sesquiterpènes..... 41
Figure16 : Exemple de quelques composés aromatiques..... 42
Figure 17: Appareil d'extraction type Clevenger..... 43
Figure 18 : Entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro diffusion 44
Figure 19: Mécanismes de neurotransmission cholinergique 49
Figure 20: Représentation photographique de différentes parties de *Ferula lutea*..... 53
Figure 21: Appareil de distillation type Clevenger 54
Figure 22: Schéma d'extraction 57
Figure 23: Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de trois essais) 59
Figure 24: Droite d'étalonnage de Quercétine (moyenne ± SD de trois essais)..... 60
Figure 25 : Les étapes de la technique de diffusion de disques 61
Figure 26: CMI par Technique de macro-dilution sur milieu solide 63
Figure 27 : Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec le DPPH• 65
Figure 28 : Réduction du complexe chromogène de Cu+2-Nc..... 66
Figure 29 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman 68
Figure 30 : Famille chimique des huiles essentielles des différentes parties de *F.lutea* récoltée à Ain Abessa..... 76
Figure 31 : Chromatogramme de l'HE des graines d'Ain Abessa..... 77
Figure 32 : Chromatogramme de l'HE des tiges d'Ain Abessa..... 77
Figure 33 : Chromatogramme de l'HE des fleurs d'Ain Abessa 78
Figure 34 : Chromatogramme de l'HE des feuilles d'Ain Abessa..... 78
Figure 35 : Famille chimique des HEs des différentes parties de *F.lutea* récoltée à Amoucha.. 80
Figure 36 : Chromatogramme de l'HE des graines d'Amoucha..... 81
Figure 37 : Chromatogramme de l'HE des tiges d'Amoucha..... 81
Figure 38 : Chromatogramme de l'HE des fleurs d'Amoucha 82
Figure 39 : Chromatogramme de l'HE des feuilles d'Amoucha..... 82

Figure 40: Comparaison de la teneur en polyphénols des différentes fractions issues de l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha. 88
Figure 41 : Comparaison de la teneur en flavonoïdes des différentes fractions issues de l'extrait hydrométhanolique (MeOH 70%) de la partie aérienne de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha 91
Figure 42: Photographies montrant l'effet des HEs (aux dilutions ½ v/v et 1/5 v/v) des différentes parties de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha sur la croissance des bactéries testées 94
Figure 43: Photographies montrant l'effet de la Gentamycine et DMSO sur la croissance des bactéries testées 95
Figure 44 : CMI en mg/ml 106
Figure 45: Comparaison des CI50 des différents extraits de *F. lutea* vis-à-vis du radical DPPH. Les données sont exprimées en (moyenne ± SD) 107
Figure 46: Réduction du complexe chromogène de Cu+2-Nc 110
Figure 47 : Le pouvoir réducteur des extraits de *Ferula lutea* via la réduction du Cuivre (test CUPRAC). Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3) 111
Figure 48 : Le pouvoir réducteur des extraits de *Ferula lutea* via la réduction du fer ferrique (Fe+3) en fer ferreux (Fe+2). 112
Figure 49: Les mécanismes chimiques de la méthode d'Ellman 115

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition mondiale des genres de la famille des Apiaceae 7
Tableau 2: Principaux genres et espèces de la famille des Apiaceae en Algérie 8
Tableau 3 : Espèces endémiques rencontrées dans quelques genres des Apiaceae 13
Tableau 4: Propriétés pharmacologiques de quelques espèces de Ferula 16
Tableau 5 : Principaux composants rencontrés dans les HEs du genre *Ferula* .....
Tableau 6: Classification des polyphénols 27
Tableau 7: Méthodes de détermination de l'activité antioxydante *in vitro* 64
Tableau 8 : Densité des huiles essentielles des différentes parties de *F. lutea* 71
Tableau 9: Rendements en huiles essentielles des différentes parties de *F. lutea* 72
Tableau 10: Variations des rendements en HE en fonction de différents facteurs dans des espèces de la famille les Apiaceae 74
Tableau11 : Composition chimique des huiles essentielles de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa.. 75
Tableau 12: Composition chimique des huiles essentielles de *F. lutea* récoltée à Amoucha..... 79
Tableau13 : Résumé sur la plupart des études bibliographiques sur les huiles l'essentielles obtenues à partir de différentes parties d'espèces de *Ferula* 85
Tableau 14 : Rendements des diverses fractions des extraits en pourcentage par rapport au poids total.....86
Tableau 15 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance bactérienne induite par l'huile essentielle des différentes parties de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha 93
Tableau 16 : Les diamètres des zonesd'inhibition (mm) induites par les extraits de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha 102
Tableau 17: Inhibition de l'acétylcholinestérase par les HE des différentes parties de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha 115

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes ont été privilégiées par toutes les civilisations mondiales pour développer une pharmacopée traditionnelle en réponse aux maladies qui les affectent. La pharmacologie prend son essor et par la suite, de nombreuses substances actives sont découvertes et caractérisées. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments.

La première substance pure dérivée des plantes qui a été extraite du pavot au début du 19 ème siècle était la morphine (Simmonds, 2003). Presque tous les médicaments étaient à base de plantes au début du 20ème siècle. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes : digitaline, quinine, morphine, colchicine, artémisinine. Environ 25 % des médicaments modernes sont développés à partir de plantes (Newman et Cragg, 2007 ; Liu et Wang, 2008).

Dans les pays tropicaux d'Afrique, plus de 200 000 espèces sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète ont des vertus médicinales (Millogo *et al.*, 2005). Des propriétés pharmacologiques très intéressantes sont attribuées aux plantes médicinales y compris leurs propriétés antalgiques, anti-inflammatoires, antiprolifératives, antiarthritiques, antimicrobiennes, anticholinestérasiques, protectrices des cellules hépatiques. Ces dernières années de nombreux secteurs industriels (cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire) se tournent de nouveau vers l'incorporation des molécules d'origine naturelle aux caractéristiques chimiques et biologiques originales, dans leurs formulations.

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique à cause de sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne ce qui crée un brassage entre les espèces qui constitue une véritable richesse qui doit être préservée et gérée rationnellement et durablement dans l'objectif de conserver notre diversité biologique et de maintenir les équilibres écologiques déjà fragiles (Pereira *et al*., 2003). On compte plus de 3000 espèces de plantes dont 15% sont des endémiques (Quezel et Santa, 1963).

Les plantes médicinales représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires (huiles essentielles, flavonoïdes, quinones, vitamines, saponines, caroténoïdes, terpènes, polyphénols, alcaloïdes, etc.) qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité structurale chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante, antivirale, ..) (Michel, 2011).

La médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. Certaines huiles essentielles, sont utilisées comme les antibiotiques ou d'autres préparations chimiques pour leurs fortes actions antimicrobiennes fongicides et virucides (Belaiche, 1979). En effet de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants de préparations pharmaceutiques, le thymol par exemple est employé en soins dentaires pour ses propriétés antiseptiques ou encore l'eugénol pour ses propriétés analgésiques (Pauli, 2001).

Les composés phénoliques ou polyphénols sont largement distribués dans le règne végétal et sont les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes, ils suscitent un intérêt considérable dans le domaine de l'alimentaire, de la chimie et de la médecine en raison de leur potentiel antioxydant prometteur (Kalia *et al*., 2008). Quelques antioxydants naturels issus du romarin et de la sauge par exemple sont déjà exploités et commercialisés en tant qu'additifs alimentaires comme antioxydants. La famille des Apiaceae est parmi les familles de plantes les plus utilisée comme source mondiale d'épices et d'extraits à proprieté médicale intéressante. Le genre *Ferula* L. comprend environ 150 espèces répandues dans l'Asie centrale, la région méditerranéenne et l'Afrique du Nord (Pimenov et Leonov, 1993). Plusieurs espèces sont connues en médecine traditionnelle pour traiter des troubles neurologiques, digestifs et de l'érection (Heywood, 1971).

L'accroissement vertigineux de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants de synthèse ont augmenté les effets néfastes des radicaux libres impliqués dans l'apparition des maladies neurodégénérative et cardiovasculaires. La lutte contre la résistance des microorganismes aux antibiotiques et les espèces réactives à l'oxygène (ROS) présentent un vrai challenge pour les chercheurs qui se sont orientés vers l'exploitation des plantes médicinales pouvant fournir une bonne alternative fiable et logique à la recherche de nouvelles substances bioactives avec un large éventail d'activités

Avec le vieillissement de la population, la maladie d'Alzheimer est devenue un problème majeur de santé publique. Elle est la principale cause de démence chez les personnes âgées. Les médicaments inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) augmentent le taux d'acétylcholine (neurotransmetteur) dans le cerveau, l'un des médicaments le plus prometteur à ce jour est un alcaloïde tout comme la galanthamine et la Rivastigmine®, mais malheureusement la plupart des médicaments provoquent un trouble du rythme cardiaque (bradycardie), du foie, de l'estomac et de l'intestine et causent des toxicités (Dokmeci, 2000). Ces raisons justifient le souci de développement de nouvelles molécules inhibitrices de l'acétylcholinestérase à partir de plantes, présentant à la fois une forte activité, une toxicité

moindre, ainsi qu'une demi-vie plus longue (Benamar, 2008). Par ailleurs les antioxydants naturels peuvent empêcher la progression de la maladie d'Alzheimer en ralentissant ou inhibant la dégénérescence neuronale.

Dans ce contexte de recherche de nouvelles molécules naturelles qui peuvent substituer les molécules synthétiques et en continuité aux travaux réalisés sur la famille des Apiaceae au sein de notre laboratoire nous avons fixés les objectifs suivants :

- Extraction des huiles essentielles par hydroditillation des tiges, feuilles, fleurs et graines de *Ferula lutea* récoltée dans deux régions différentes dans la wilaya de Sétif: (Ain Abessa et Amoucha).
- Analyse phytochimique des huiles essentielles par CPG/SM
- Détermination du contenu en polyphénols et en flavonoïdes des extraits hydrométhanolique brut et ses fractions : extrait acétate d'éthyle, extrait *n*-butanolique et extrait aqueux.
- Evaluation du pouvoir antibactérien des huiles essentielles et extraits par la méthode de diffusion et par macro dilution en milieu solide.
- Evaluation de l'effet antioxydant des HEs extraits en utilisant le test DPPH, CUPRAC et pouvoir réducteur.
- Evaluation de l'activité acétylcholinestérase des huiles essentielles et extraits.

Le présent manuscrit est divisé en trois parties : revue bibliographique, matériel et méthodes et résultats et discussion.

Dans la première partie, nous présentons une mise au point bibliographique décrivant les notions essentielles à la compréhension de notre travail (la famille des Apiaceae et particulièrement le genre Ferula, les métabolites secondaires à savoir les composés phénoliques et les huiles essentielles).

La seconde décrit la partie expérimentale, avec une présentation des techniques d'extraction, CPG/MS, des dosages spéctrophotométrique, des tests d'activités antioxydantes, antimicrobiennes et anticholinestérasique. La troisième partie consiste en une analyse des résultats obtenus et une discussion qui mettra l'emphase sur leur signification par rapport aux données de la littérature. Enfin, le manuscrit s'achéve par une conclusion qui permettra de tirer quelques perspectives de prolongement à ce travail.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
La Famille des Apiaceae

I. La famille des Apiaceae

I.1. Généralités

La famille des Apiaceae a été déjà connue depuis les anciennes civilisations chinoise et indienne du Mexique, ainsi que des Grecs et des Romains. Ce fut aussi le premier groupe de plantes faisant l'objet d'une étude systématique publiée par Robert Morison en 1672 (Heywood *et al*., 1996). Cette famille a été crée en 1789 par Antoine Laurent de Jussieu sous le nom d'Umbelliferae, puis nommée Apiaceae (basé sur le genre *Apium)* en 1836 par John Lindley (Botineau, 2010). Actuellement c'est la terminologie de Lindley (1836) qui fut autorisée. La famille des Apiaceae été largement étudiée, en raison notamment de son importance économique, c'est l'une des familles les plus connues parmi les plantes à fleurs par les botanistes vers la fin du XVIe siècle.

Ce sont des plantes aromatiques grâce à leurs secrétions d'huiles essentielles, comme son nom l'indique, elle est caractérisée par des rayons d'inflorescence disposés comme ceux d'une ombelle. L'inflorescence est la partie la plus importante de la plante car c'est grâce à elle que la famille des Apiaceae est facilement reconnue. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres c'est pourquoi leur détermination doit toujours porter sur des échantillons complets, présentant en particulier des fruits mûrs (Quezel et Santa, 1963).

De nombreuses plantes alimentaires et aromatiques appartiennent à la famille des Apiaceae comme les feuilles de persil (*Petroselinum crispum* L.), les racines de la carotte (*Daucus carota* L.) et le céleri, peuvent être consommées, d'autres sont utilisées comme des épices tel que les grains du cumin (*Cuminum cyminum*) et l'anis (*Pimpinella anisum*) ainsi le cerfeuil (*Anthriscus cerefolium* L.) est utilisé en tant que condiment (Botineau, 2010). On note également que l'*Angelica archangelica* (angélique), *Laserpitium gallicum* et plusieurs espèces d'*Heracleum* sont utilisées comme arômes pour les boissons (Olle et Bender, 2010).

Cette famille riche en métabolites secondaires présente des intérêts économiques et médicinaux, comportant des coumarines, des flavonoïdes, des composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques, ainsi qu'une grande richesse en huile essentielle dans la quasi-totalité de ses organes anatomiques

I.2.Distribution géographique

Une grande partie du globe et particulièrement les régions montagneuses tempérées est occupée par la famille des Apiaceae mais sa répartition est relativement rare en zone Tropicale (Heywood *et al*., 1996). (Fig. 1)

Figure 1: Répartition géographique mondiale des Apiaceae (Pimenov et Leonov, 1993).

Dans la flore algérienne la famille des Apiaceae occupe une place importante où elle est représentée par 55 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (Quézel et Santa, 1963). Environ 300 – 455 genres et 3000 – 3750 espèces caractérisent la famille des Apiaceae (Tabanca *et al.*, 2006). Les genres sont repartis dans les différents continents, particulièrement la prédominance est attribuée au continent asiatique (Pimenov et Leonov, 1993) et l'Asie constitue le centre de la biodiversité de cette famille qui est divisée en trois sous-familles ; Les Apioideae avec 250 genres, les Hydrocotyloideae avec 34 genres et les Saniculoideae avec 9 genres (Tab. 1).

Tableau 1 : Répartition mondiale des genres de la famille Apiaceae (Nemeth, 2006).

Continent	Genres	Espèces endémiques
Afrique	126	50
Amérique	197	52
Asie	256	159
Australie	36	11
Europe	139	29

Les genres se répartissent entre les continents, avec une prédominance pour le continent Asiatique (Pimenov et Leonov, 1993; Heywood *et al*., 1996).

I.3. Les principaux genres des Apiaceae

La famille des Apiaceae occupe une place importante dans la flore Algérienne où elle est représentée par 55 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (Tab 2) (Quezel et Santa, 1963). Une diversité générique algérienne de cette famille est évoquée dans ce tableau. Les genres *Bupleurum* et *Daucus* sont les plus riches au niveau spécifique avec respectivement 14 et 11 espèces, alors que la majorité est représentée par une ou deux espèces (Quézel et Santa, 1963).

Plusieurs genres caractérisent la famille des Apiaceae mais une dizaine qui constituent la classe principale : le genre Eryngium et Bupleurum sont prédominant avec un nombre d'espèces 230 et 180 respectivement le genre *Ferula* vient en troisième position avec un nombre d'espèces de 170 (Tab. 2).

Tableau 2: Principaux genres et espèces de la famille des Apiaceae en Algérie (Quezel et santa, 1963).

Genre	Nbre d'espèces	Genre	Nbre d'espèces	Genre	Nbre d'espèces
Ammi	2	*Heracleum*	1	*Ammoides*	2
Ammiopsis	1	*Hippomarathrum*	1	*Kundmannia*	1
Ammodaucus	1	*Hohenckria*	2	*Apium*	1
Hydrocotyle	1	*Anethum*	1	*Margotia*	1
Anthriscus	2	*Magydaris*	2	*Brachyapium*	2
Malabaila	1	*Balansaea*	1	*Peucedanum*	3
Bifora	1	*Oenanthe*	6	*Capnophyllum*	1
Orlaya	3	*Bunium*	7	*Pimpinella*	2
Bupleurum	14	*Petroselinum*	1	*Ridolfia*	1
Physocaulos	1	*Carum*	2	*Conium*	1
Caucalis	4	*Pituranthos*	4	*Coriandrum*	1
Chaerophyllum	1	*Reutera*	1	*Seseli*	4
Conopodium	1	*Sanicula*	1	*Daucus*	11
Scandix	3	*Crithmum*	1	*Thapsia*	3
Cumium	1	*Smyrnium*	2	*Eryngium*	7
Sison	1	*Echinophora*	1	*Torilis*	2
Elaeoselinum	2	*Tinguarra*	1	*Helosciadium*	3
Tordylium	1	*Ferula*	5		
Foeniculum	1	*Turgenia*	1		

I.4. Description botanique

La famille des Apiaceae est composée de 3000 à 3750 espèces répartie entre 300 et 455 genres (Bruneton, 2009). En Algérie les Apiaceae sont présentées par 55 genres, 130 espèces dont 24 sont endémiques et 26 sous espèces (Quezel et Santa, 1962). C'est une famille relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle. Les fleurs sont blanches ou, plus rarement, jaunâtres, verdâtres ou rosée, quelquefois rougeâtres comme la fleur centrale de l'ombelle de carotte, toujours de dimensions réduites et sont réunies en ombelles simples ou composées), presque toujours pourvues de bractéoles à la base appelées involucelles (Fig. 2) (Bach *et al.*, 1979).

Les fleurs des Apiaceae sont petites, pentamères, leur disposition en inflorescence relativement condensée explique qu'elles soient généralement de petite taille. Leur simplicité et leur régularité caractérisent les Apiaceae. Ainsi, la fleur à toujours la même formule florale: 5S+ 5P+ 5E+2C .

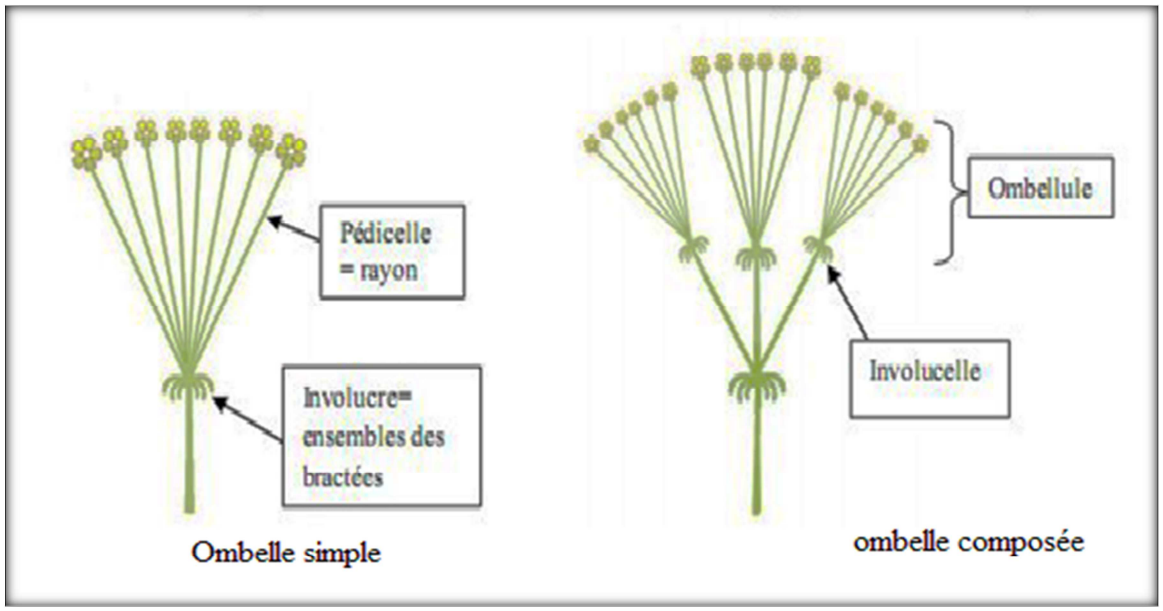


Figure 2 : inflorescence des apiaceae

La famille des Apiaceae appartient à la classe des Magnoliopsidae (Dicotylédones). Les Apiaceae sont des arbustes ou plantes sous-frutescentes ou herbacées. Il s'agit d'une famille de plantes herbacées annuelle, bisannuelle ou vivace, par fois arbustives. Les feuilles sont alternes, composées, rarement simples. Souvent, les pétioles sont élargis à leur base, engainant la tige (Fig. 3).

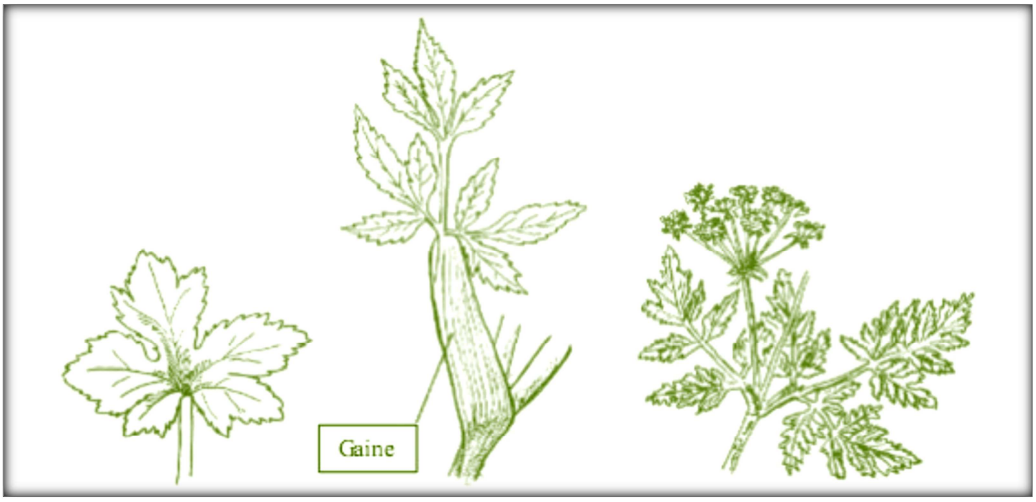


Figure 3 : Appareil végétatif des Apiaceae (Deyssong, 1979).

Les fruits sont formés de 2 méricarpes accolés à un axe central, le carpophore, se séparant à maturité. Chaque méricarpe présente deux faces : commissurale (plane) et dorsale (convexe). La face dorsale porte au moins 5 côtes séparées par 4 vallécules contenant des canaux sécréteurs courts (bandelettes) (Coste et Flahault, 1998 ; Dupont et Guignard, 2012). Le fruit des Apiaceae se forme après fécondation ou l'ovaire infère devient un Diakène double (méricarpe indéhiscent) (Fig. 4).

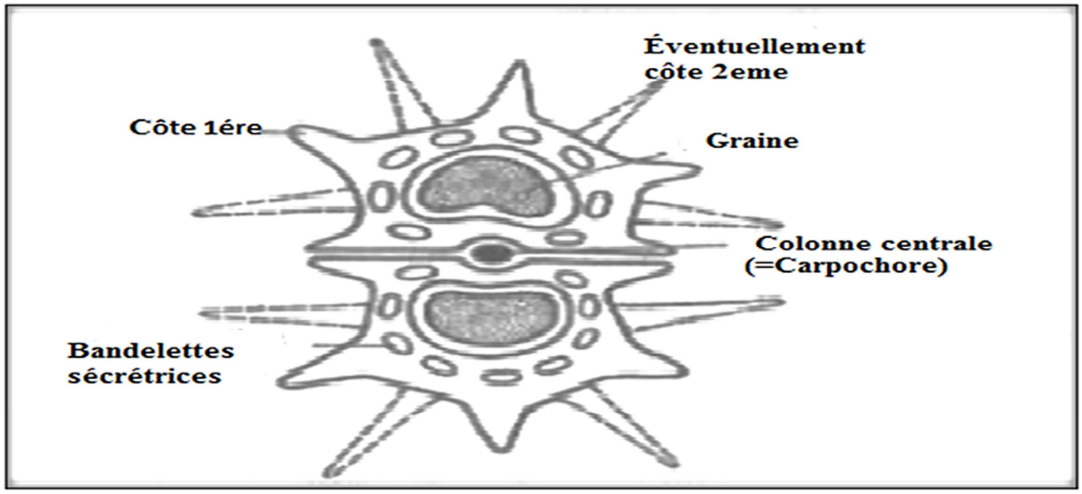


Figure 4: Structure générale d'un diakène (Deyssong, 1979).

La classification des différentes espèces au sein de cette famille se repose sur plusieurs critères à savoir : les différentes formes du fruit, la présence ou l'absence des bandelettes (des poches sécrétrices qui sont propres à la paroi du fruit), leur nombre et leur évolution. Le plus souvent la tige est creuse par résorption de la moelle. Certaines espèces possèdent une racine tuberculeuse, exemple la carotte ou même un véritable tubercule alors certaines possèdent un rhizome (angéliques).

Des canaux sécréteurs parcourent l'appareil végétatif sont le siège d'un mélange d'essence et de résines et sont situés au centre des organes de la plante et constitués d'une assise de cellules sécrétrices de forme allongée appelées poches sécrétrices. Une fois les essences secrétées elles vont être délivrées dans le canal central. Les canaux sécréteurs sont à l'origine de l'odeur forte qui se dégage des Apiaceae lorsqu'on les broie.

I.5. Phytochimie

Des intérêts économiques et médicinaux sont attribués aux Apiaceae, elles sont riches en métabolites, et particulièrement en huiles essentielles (HEs) qui sont secrétées au niveau des canaux schizogènes dans la quasi-totalité de leurs organes anatomiques. Elles comportent aussi des coumarines, des flavonoïdes, des composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques. Plusieurs molécules ont été identifiées dans les HEs des Apiaceae tel que le Carvone qui a été isolé au début dans l'HE de *Carum carvi* (Nemeth, 2006).

I.6. Phytothérapie

La famille des Apiaceae est la famille botanique la plus intéressante en phytothérapie pour le traitement des troubles fonctionnels digestifs (Filliat, 2012). Les métabolites secondaires qu'elle contient doivent certainement trouver leurs applications dans la médecine populaire ou dans la médecine moderne. Certaines espèces ont été utilisées comme toniques, diurétiques, stimulants cardiovasculaires, etc. (Heywood, 1971 ; Rodriguez *et al*., 1976 ;Evans et Schmidt, 1980). Egalement d'autres espèces sont réputées par des propriétés antibactériennes, comme l'induction de l'apoptose, activités antibactériennes, hépato protectrices, vaso-relaxantes et antitumorales (Oroojalian *et al*., 2010). les graines d'*Ammi visnaga* ont déjà été utilisées en Egypte ancienne pour leur action de stimulation de la pigmentation de la peau (Valente *et al*., 2015).

Les graines d'*Ammi visnaga* ont une activité spasmolytique (Sofowara, 2010). Cependant, l'*Anethum graveolens* (Aneth) a des propriétés analogues à celle de l'anis et du fenouil, autrement dit antispasmodique digestif, eupeptique, carminatif et diurétique (Boullard, 2001). Les souches et le pétiole d'angélique (*Angelica archangelica* L.) sont utilisés en confiserie (sous forme confite) car riches en glucides et principalement ont des propriétés digestives (Botineau, 2009; Bruneton, 2010).

I.7.Toxicité

La famille des Apiaceae renferme des espèces très toxiques pouvant entrainer la mort par ingestion tel que la grande Cigüe (*Conium maculatum* L.), elle contient de alcaloïdes dérivés de la pipéridine exemple coniine (Fig. 5) est très abondante dans les fruits tandis que l'appareil végétal est riche en conicéine, son intoxication peut entrainer éblouissement, mydriase, vertige, soif intense, sensation de refroidissement progressif, baisse de la sensibilité et de la motilité, paralysé du diaphragme provoquant l'arrêt respiratoire (Boitineau**,** 2010). La ciguë aquatique (*Cicuta virosa* L.) renferme la cicutoxine. L'intoxication se manifeste par: salivation, vertige, brulure de la bouche, vomissement, convulsion. Ainssi l'oeinanthe safranée (*Oenanthe crocata* L.) est très toxique, elle renferme un isomère de la cicutoxine : l'oenanthotoxine), les symptomes sont identiques à ceux de l'ingestion de la Cigüe vireuse. Contrairement à la petite Cigüe (*Aethusa cynapium*) qui est moins toxique, les racines renferment des polyines.

Le contact avec certaines plantes alimentaires de la famille des Apiaceae comme l'angélique (*Angelica archangelica* L.), le Céleri (*Apium graveolens* L.), le fenouil (*Foeniculum* Mill.), le persil (*Petroselium crispum* L.), la Livéche (*Levisticum officinale* L.) la grande berce (*Heracleum sypondylium* L.) la panais (*Pastinacca saliva* L.) ainsi que la ferule (Ferule sp.) et l'exposition aux ultra violets (UV) peut déclencher une dermite (érythème, brulures, bulles, vésicules) et qui peuvent être accompagnés de maux de tête voire de fièvre. Elles contiennent des furanocoumarines qui sont des agents photo sensibilisants pouvant entrainer une photo toxicité après exposition au soleil.

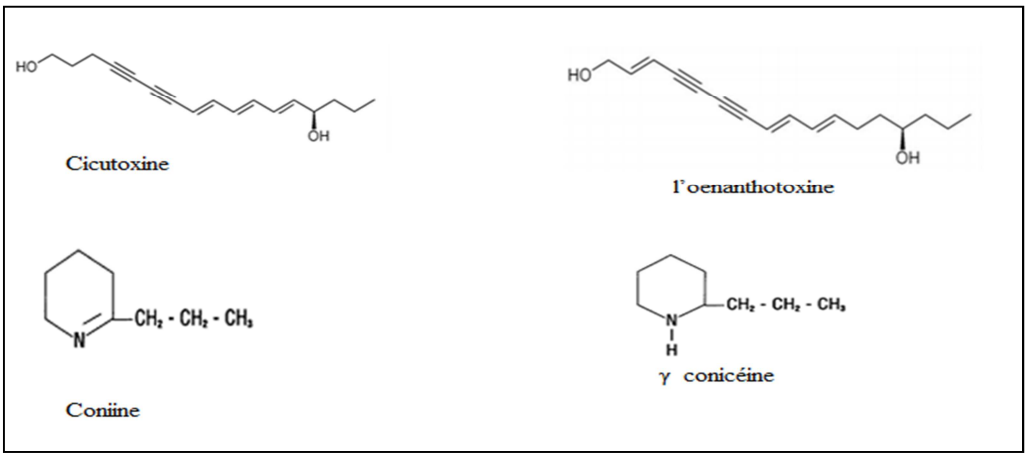


Figure 5 : Structures de la cicutoxine, l'oenanthotoxine, la coniine et de la $_{\gamma}$- coniceine

I.8. Le genre *Ferula*

Les espèces du genre *Ferula* L. croissent souvent dans les régions arides, ce genre comporte environ 150 espèces présentes du bassin méditerranéen jusqu'à l'Asie centrale (Pimenov et Leonov, 1993). En Algérie le genre *Ferula* est représenté par cinq espèces à savoir : *F. lutea* (Poir.) Maire, *F. cossollialla* Batt. et Trab/, *F. communis* L., *F. tingitana* L. et *F. vesceritensis* Coss et DR (Tab. 3).

Tableau 3 : Espèces endémiques rencontrées dans quelques genres des Apiaceae (Quezel et Santa, 1962).

Genre	Espèces endémiques
Ammoides	*A. atlantica*
Balansaea	*B. glaberrima*
Bunium	*B. fontanesii, B. chaberti, B. elatum, B. crassifolium*
Bupleurum	*B. plantagineum, B. atlanticum, B. montanum, B. balansae, B. oligactis*)
Carum	*C. montanum, C. foetidum*
Caucalis	*C. bifrons*)
Daucus	*D. reboudii*
Ferula	*F. cossoniana, F. vesceritensis*
Oenanthe	*O. virgata*
Peucedanum	*P. munbyi*
Pimpinella	*P. battandieri*
Pituranthos	*P. reboudii, P. scoparius, P. battandieri, P. chloranthus*

I.8.1. Description botanique du genre *Ferula*

Le genre Ferula possède les caractéristiques botaniques suivantes : Arbrisseau vivace pouvant atteindre deux mètres de haut, à croissance très rapide (quelques semaines), tige érigée, cylindrique et creuse, feuilles souples pennées et linéaires apparaissant après la floraison, grandes ombelles à 10-15 rayons, jaune d'or à étamines saillantes, fruits grands, lisses, méricarpes à côtes fortement épaissies, saillantes 2 × l cm, feuilles à divisions fines et courtes, linéaires aiguës (Quezel et Santa, 1963). Les férules peuvent mettre plusieurs années avant de fleurir et meurent souvent après la fructification (Brickell, 2004). Parmi les espèces les plus connus des l'antiquité comme une source de résine : *assa- foetida*, *sagapenum, galbanum*, *sumbul* et *ammoniacum* (Renata *et al*., 2008). Les caractéristiques des fruits et des feuilles basales sont essentielles pour l'identification de *Ferula* (Sagiroglu, 2005).

I.8.2. Position systématique du genre *Ferula*

Le genre *Ferula* se rattache à la famille des Apiaceae qui appartient à l'embranchement des spermatophytes ou phanérogames (plantes à graines) et à la classe des Magnoliopsida (Dicotylédones). Selon la troisième version de la classification botanique des angiospermes établie par l'Angiospermes Phylogeny (la classification phylogénétique APG III 2009). Le genre Ferula est classé comme suit :

Règne	**planteae**
Division	Magnoliophyta (angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Clade	Campanulidées ou Euastéridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	*Ferula*

I.8.3. Rappels botaniques sur *Ferula lutea* (Poir.) Maire

Ferula Lutea (Poir.) Maire, est une plante herbacée, à feuilles très divisées (en folioles) et ont une base engainante et à limbe. Méricarpes à côtes filiformes non saillantes, pédicelles des fruits mûrs égalant environ 2 fois leur longueur (2-3 cm), feuilles à divisions fines et courtes, linéaires et aiguës d'un vert cendré, scabres, courtement hispides. Les fleurs sont jaunes comme toutes les ombellifères, hermaphrodites et toujours très petites, sont généralement réunies au sommet en une inflorescence très caractéristique qui adonné son nom à toute la famille, l'«ombelle ». La fleur elle -même porte cinq sépales, cinq pétales et cinq étamines, deux carpelles qui donnent à maturité un "diachaine ", ou fruit double, très reconnaissable à tige élevée de 1-3 mètres. Les ombelles ont de 10 à 15 rayons (Quezel et Santa, 1963).

Figure 6: *Ferula lutea* (Poir.) Maire (Rahmouni, 2017).

I.8.4. Propriétés thérapeutiques du genre *Ferula*

Les résines du genre *Ferula* ont été utilisées depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle chinoise comme remède, contre la malaria, la dysenterie et même comme un insecticide. Les plantes de ce genre sont également connues pour leur propriété sédative, antispasmodique, anti hystérique. Elles sont utilisées dans le traitement des maladies digestives et les rhumatismales (Habibi *et al*., 2006). *F. gummosa* possède des propriétés antispasmodique, expectorante et anticonvulsante ainsi un effet antimicrobien grâce à la présence de l'α- pinène et β- pinène de l'huile essentielle de ses fruits (Ghasemi *et al.*, 2005; Talebi *et al.*, 2008).

Depuis l'antiquité deux espèces du genre *Ferula* sont connue comme source de gommes-oléorésines (des sécrétions obtenues par entailles répétées de la partie supérieure des racines il s'agit du galbanum et l'ase fétide cette dernière est carminative et spasmolytique (Bruneton, 2009). Dans l'Asie occidentale, *Ferula gummosa* est employée pour aromatiser les plats à base de viande ainsi que le poisson frais ou salé (Teuscher *et al.*, 2005).

Il faut noter que les racines et les résines des espèces de *Ferula* sont souvent les parties les plus utilisées en médicine traditionnelle. Beaucoup d'espèces du genre *Ferula* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des infections cutanées (Appendino *et al*., 2002) et les troubles neurologiques et digestifs (Heywood, 1971).

Tableau 4: Propriétés pharmacologiques de quelques espèces de *Ferula*.

Noms d'espèces	Utilisations traditionnelles	Références
***F. alliacea* Boiss.**	Traitement de l'épilepsie, de l'hystérie et de la piqûre de scorpion.	Heywood, 1971
***F. assa-foetida* L.**	Traitement de la grippe et du cancer.	Heywood, 1971 Lee *et al*., 2009 Lee *et al*., 2010
F. badrakema* Kos. &Pol. syn. *F. gummosa	Traitement de l'épilepsie, de l'hystérie et des maux d'estomac	Heywood, 1971
F. communis* L.var. *breviedia* var. *communis	Autrefois utilisée pour traiter l'hystérie et la dysenterie. Utilisée pour son latex, pour traiter les infections de la peau	Heywood, 1971 Rubiolo *et al*., 2006
***F. diversivittata* Regel & Schmalh**	Prévention des convulsions et de l'hystérie	Iranshahi *et al*., 2008a
F. ferulaeoides* (Steud) Korovin syn. *F. ferulioides	Utilisée pour traiter les muscles raides.	Nagatsu *et al*., 2002
***F. galbaniflua* Boiss. & Buhse syn. *F. gummosa* Buhse**	Traitement de l'aménorrhée et de l'hystérie.	Heywood, 1971
***F. hermonis* Boiss.**	Utilisée au Moyen-Orient comme aphrodisiaque.	Lhuilier *et al*., 2005
***F. jeaschkeana* Vatke**	Traitement des maladies et problèmes de peau.	Heywood, 1971
***F. kuhistanica* Eug. & Kor.**	Traitement des maladies et problèmes de peau.	Tamemoto *et al*., 2002
***F. persica*Willd.**	Antidiabétique, utilisée aussi contre les douleurs dorsales et les rhumatismes.	Heywood, 1971
***F. sumbul* Hooksyn. *F. moschata*(Reinsch) Koso-Pol**	Source de gommes-oléorésines. Pour traiter les problèmes de système nerveux.	Heywood, 1971
***F. szowitsiana* DC syn.*F. microloba* Boiss.**	Source de gommes-oléorésines. Utilisée contre les rhumatismes.	Heywood, 1971
***F. teterrima* Kar. & Koro.**	Utilisée en médecine traditionnelle chinoise contre les rhumatismes et les maladies de l'estomac.	Yang *et al*., 2006
F. varia* Borszcz syn *F. schair	Traitement contre la fièvre, les parasites intestinaux et pour rincer la bouche. Source de galbanum.	Suzuki *et al*., 2007

I.8.5. Propriétés anticancéreuses

Des huiles essentielles, des extraits bruts et des produits purs obtenus de plantes du genre *Ferula* ont révélé la présence de certains composés qui ont montré des activités chimio préventives ou cytotoxiques vis-à-vis de plusieurs lignées cancéreuses. Dans cette partie, nous présenterons les composés, étudiés pour les activités chimio préventive et cytotoxique. Pour la première fois Saleem *et al*. (2001) ont mis en évidencel'efficacité de la résine de l'ase fétide

(*F. narthex*) riche en terpènes-coumarines, comme agent chimio préventif contre les carcinogénèses cutanées chez les souris. Il faut noter également que l'auraptène, de l'umbelliprénine et leur unité prényle avaient un rôle très important dans la prévention du cancer selon des entretenues récentes, soit en empêchant les premières altérations au niveau de l'ADN soit en inhibant l'activation de l'antigène EA du virus d'Epstein-Barr (EBV-EA) responsable de la promotion du cancer (Iranshahi *et al*., 2008b ; Soltani *et al*.,2009 ; Soltani *et al*., 2010). L'extrait chloroformique des racines de *F. persica* a été également testé pour son activité inhibitrice de l'activation de métallo protéinases matricielles (MMPs) qui jouent un rôle important dans l'invasion tumorale et les inflammations de même l'isolement de persicasulphide B et de l'umbelliprénine issus du fractionnement bioguidé de cet extrait semblent impliqués dans cette activité (Shahverdi *et al*., 2006).

Parmi les composes isolés de *F. diversivittata* la diversine (CI50 7,7 nM) est le composé le plus actif il a été testé *in vivo*, ce produit a apporté une protection contre la propagation tumorale chez les souris, comparable à celle de la curcumine et de la quercétine (Iranshahi *et al*., 2008c ; Iranshahi *et al*., 2010). Des activités antitumorales ont été également montrées par les dérivés coumariniques. L'umbelliprénine isolée de *F. szowitsiana* s'est révélée sélective sur le mélanome métastatique malin pigmenté (M4Beu) (CI50 12,4 µM) (Barthomeuf *et al*., 2008) tandis que le conférol était actif sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses humaines du foie : HepG2, Hep3B et du sein MCF-7 avec des CI50 0,51, 2,6 et 3,4 µg/mL, respectivement (Lee *et al.*, 2009).

I.8.6. Les principaux constituants chimiques du genre *Ferula*

Nombreuses études phytochimiques ont été réalisées sur les métabolites secondaires synthétisés par les différentes parties des espèces appartenant au genre *Ferula*. Les composés isolés et qui ont été identifiés dont la majorité appartiennent au terpenoïdes, plus précisément aux dérivés sesquiterpéniques (Elkhatib, 2010). Le germacrène, humulanes, carotènes, himachalanes et guaianes sont les sesquiterpènes majoritaires identifiés (Gonzalez et Barrera, 1995; El-Razeh *et al*., 2003). Les férules sont connues par leur toxicité et leur pharmacologie.

Les monoterpènes les plus fréquents sont l'*α*-pinène, le *β*-pinène, le myrcene et limonène, les monoterpènes oxygénés sont représentés par le linalol, l'*α*-terpineol et l'acétate de néryle, les sesquiterpènes hydrocarbonés sont *β*-caryophyllène, le germacrène B, le germacrène D et l'*δ*-cadinène, les sesquiterpènes oxygénés sont l'oxyde caryophyllène, l'α-cadinol, le guaiol et le spathulenol, enfin les composés soufrés sont représentés par le sec-

butyl- (Z) - propényl disulfure sec-butyle et (E), et le disulfure de –propényl (Eftekhar *et al*., 2004).

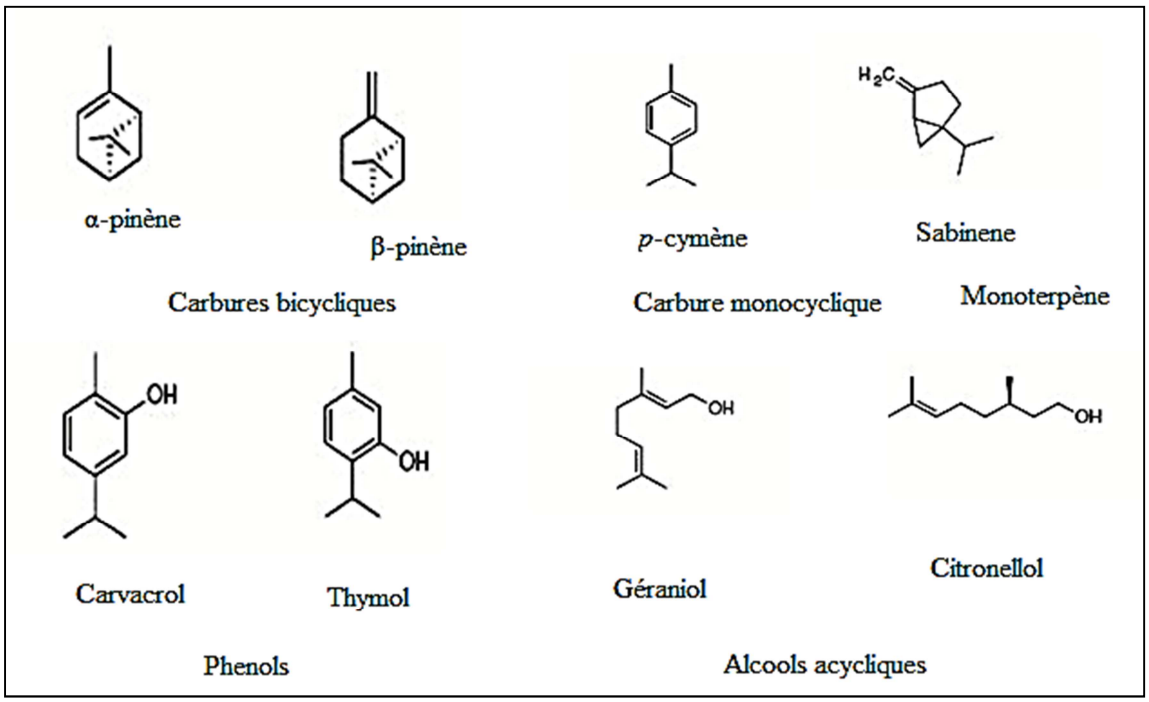


Figure 7 : Structure chimique de certains monoterpènes

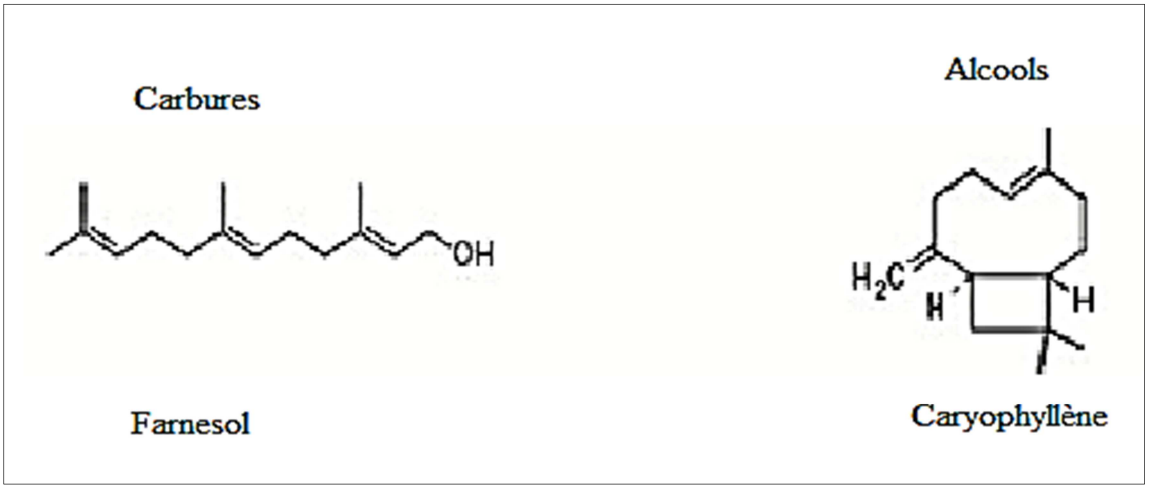


Figure 8 : Structure chimique de certains sesquiterpènes

I.8.7. Biogenèse des sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des molécules dont le point commun est d'être formé de trois unités isoprènes. La cyclisation du précurseur, le farnésylpyrophosphate (FPP) donne une variété de squelette de 15 carbones qui peut contenir 1 à 2 cycles. La cyclisation de FPP peut conduire à l'humulane et aussi au cation germacrandiényle, susceptible de donner naissance à de nombreux composés bicycliques (daucane, eudesmane, guaiane,…) (Drew *et al*., 2009 ; Bruneton, 2009). Le genre *Ferula* est connu pour les dérivés de daucane, germacrane, eudesmane, humulane et guaiane.

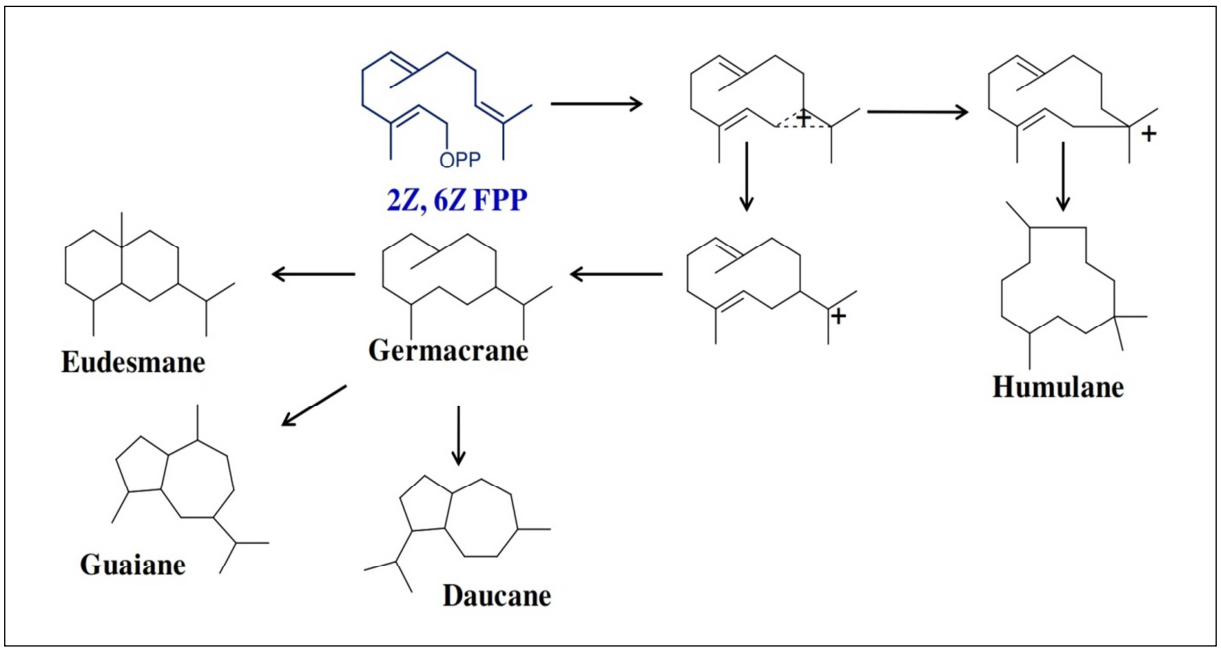


Figure 9: Biogénèse des sesquiterpènes

Les constituants majoritaires des huiles essentielles sont généralement les monotérpenes et les sesquiterpènes, le tableau ci-dessous (Tab. 5) montre les composés majoritaires des HEs des especes du genre *Ferula*.

Tableau 5 : principaux composants rencontrés dans les huiles essentielles du genre *Ferula*.

Espèces *Ferula*	Composants majoritaire≥5%	pourcentage	Origine	références
F. arrigonii	*α*-Phellandrène, Germacra -1(10) ,5-dièn-11- ol Linalool Sabinène Linalyl acetate	16.6 15.4 12.5 5.6 5.5	France (Corse)	Filippini *et al.*,2000
F. badra-kema	*α*-Pinène *β*-Pinène	45.8 10.9	Iran	Asili *et al*., 2009
F. communis	Myrcène Aristolène	53.5 8.5	France Corce	Ferrari *et al*., 2005

	α-Pinène	6.6		
	Aristolène	47.1		Rubiolo *et al*., 2006
	(*E,E*)-Farnesol	21.2	Italie	
	β-Gurjunene	7.6		
F. elaeochytris	Nonane	27.1		Baser *et al*., 2000
	α-pinène	12.7	Turquie	
	Germacrène B	10.3		
F. ferulioides	Guaiol	58.8	Ouest de la	Shatar, 2005
	(*E*)-Nerolidol	10.2	Mongolie	
F. flabelliloba	δ-Cadinène	13.2		Rustaiyan *et al*., 2001
	α-Cadinol	12.0		
	Cadina-4,1(10)-dien-8 *β*-ol	10.9		
	α-Pinène	10.0		
	α-Bisabolol	7.5	Iran	
	Roslfollol	6.0		
	Limonène	5.0		
	(*E*)- *β*-Ocimene	5.0		
	10-*epi*-g -Eudesmol	14.1		Maggi *et al*., 2009
	β-Dihydroagarofurane	13.3		
	α-Bisabolol	9.9	Iran	
F. glauca	(*E*)-Caryophyllène	24.9		Maggi *et al*., 2009
	Caryophyllène oxide	14.3	Italie	
	α-Humulène	6.8		
F. glauca **(Fleurs)**	Germacrène D	14.2		Maggi *et al*., 2009
	Myrcène	13.6	Italie	
	α-Pinène	11.7		
	β-Pinène	5.1		
F. glauca **(Fruits)**	*α*-Pinène	24.2		Maggi *et al*., 2009
	β-Pinène	14.7	Italie	
F. glauca **(Racines)**	(*E*)-*β*-Farnesène	10.0		Maggi *et al.,* 2009
	Elemicine	9.0		
	Myristicin	7.4		
	epi-Zonarene	7.1	Italie	
	δ-Cadinène	6.8		
	β-Barbatène	6.1		
	β-Bisabolène	5.1		
F. gummosa	*β*-Pinène	50.1	Iran	Sayyah *et al*., 2001
	α-Pinène	18.3	(Téhéran)	
	δ-3-Carène	6.7		
F. gummosa **(Fruits)**	*β*-Pinène	43.8	Iran	Talebi *et al*., 2008
	α-Pinène	27.3	(Isfahan)	
	β-Pinène	26.85-69.1		Talebi *et al*., 2008
	α-Pinène	51.42- 33.9	Plusieurs	
	δ-3-Carène	10.59 -11.80	régions d'Iran	
	Limonène	1.06 - 9.15		
F. gummosa **(Latex)**	*β*-Pinène	58.8		Ghannadi et Amree, 2002
	δ-3-Carène	12.1	Iran	
	α-Pinène	5.7		
F. gummosa **(Olegum resin**	Limonène	14.0		Sadraei *et al*., 2001
	α-Pinène	13.0		
	Myrcène	10.0		

	Terpinolène Linalool δ-3-Carène δ-Terpinène Phellandral	10.0 9.0 9.0 6.0 5.0	Iran	
F. gummosa **(Tiges et racines**	*β*-Pinène *cis*-Chrysanthenyl acétate (*E*)-Nérolidol	46.4-58.8 6.1 5.2	Iran	Rustaiyan et Monfared, 2002
F. hirtella	*α*-Pinène thymol Spathulenol Citronéllol *β*-Pinène Limonène	15.4 14.9 6.5 6.4 5.9 5.1	Iran	Akhgar *et al*., 2005
F. macrocolea	*β*-Pinène *α*-Pinène (*Z*)- *β*-Caryophyllène *Cis*-Sesquisabinène hydrate (*E*)- *β*-Caryophyllène	15.9 10.4 8.6 5.9 5.2	Iran	Rustaiyan *et al*., 2005
	α-Pinène Nonane *β*-Pinène Limonène	19.2 13.2 13.0 5.4		Akhgar *et al*., 2005
F. orientalis	*β*-Phellandrène (*E*)-*β*-Ocimène *α*-Pinène *α*-Phellandrène Dehydro-sesquicineole	23.6 13.8 12.5 11.5 10.1	Turquie	Kartal *et al*., 2007
F. ovina **(Fruits)**	*α*-pinène *β*-phellandrène Isobornyl acétate *α*-Fenchene Myrcène	37.4 10.8 9.2 8.9 5.8	Iran (Khorasan)	Iranshahi *et al*., 2008.
F. ovina **(Parties aériennes)**	Carvacrol *α*-Pinène Limonène Carotol	9.0 8.2 6.7 6.5	Iran (Khorasan	Iranshahi *et al*., 2008.
	Carvacrol *α*-Pinène Géranyl isovalerate Géranyl propionate Limonène Carotol	9.0 8.2 7.2 7.0 6.7 6.5	Iran (Isfahan	Ghannad et Amre, 2002
	α-Pinène Limonène *β*-Pinène *α*-Fenchyl acetate Bornyl acetate	50.0 11.5 9.7 7.4 6.0	Iran (Azerbaijan)	Rahmani *et al*., 2008
F. stenocarpa	*α*-Pinène *β*-Pinène	48.8 30.1	Iran	Rustaiyan *et al*., 2001
	Neryl acétate	33.0	Iran	Dehghan *et al*.,

	β-Caryophyllène *α*-Pinène *β*-Pinène	8.9 8.0 6.7		2007
***F. szowitsiana* (Feuilles et Tiges**	*β*-Eudesmol *α*-Eudesmol *α*-Pinène *α*-Caryophyllene Guaiol	29.5-32.0 16.6-18.2 6.4-8.6 5.6 5.3-5.0	Turquie	Ozek *et al*., 2008
F. assafoetida	(*E*)-1-Propenyl *sec*-butyl disulfide (*Z*)-1-Propenyl *sec*-butyl disulfide Germacrène B *α*-Pinène *β*-Pinène	40.0 8.7 7.8 5.9 5.0	Iran	Khajeh *et al*., 2005
	sec-butyl-(*E,Z*)-1-propényl disulfide 1-(methylthio) propyl-(*E,Z*)-1-propényl disulfide	37.9 36.8	Pakistan	Takeoka *et al*., 2001
F. latisecta	*sec*-butyl-(*Z*)-propényl disulfide *sec*-butyl-(*E*)-propényl disulfide	65.2 6.8	Iran	Iranshahi *et al*., 2008
F. persica	Dill-apiole Elemicine	57.3 5.6	Iran	Javidnia *et al*., 2005
F.vesceritensis	9, 9-Tetradecadiyne Germacrène D Farnesène α-Bisabolène	24.7 24.5 8.5 8.5	Algérie (Ghardaïa)	Zellagui *et al*., 2012

Les différences observées dans la composition chimique des huiles pourraient être attribuées à plusieurs facteurs tels que les changements climatiques géographiques, la composition de sol, la méthode d'extraction, la partie de la plante (les fleurs, les graines, les feuilles, les tiges, l'écorce, les fruits ou les racines), l'âge de la plante et l'étape de croissance (Masotti *et al*., 2003 ; Angioni *et al*.,2006).

I.9. Notion de chémotypes

L'α-pinène et le β-pinène sont des chémotypes du genre Ferula dans trois espèces, de *F. lycia* (Antalya, distribués en Turkey) (Kose *et al*., 2010), de *F.gummosa* (Isfahan) (Abedi *et al*., 2008) et *F. gummosa* Boiss. (Ploor, Tehran) distribuées en Iran (Sayyah *et al*., 2001) respectivement. Le 1-propenyl sec-butyl disulfure est un chémotype pour l'espèce *F. assa-foetida*(Darab, Fars), distribuée au centre d'Iran (Kavoosi *et al*., 2012) et on remarque que ce

composé se trouve uniquement pour cette espèce dans la plupart des régions. Le guaiol est un chémotype de l'espèce *F. ferulaoides* (distribuée à l'ouest de Mongolie) (Shatar, 2005).

Les huiles de *F. assa foetida, F. fukanensis, F. latisecta, F. persica et F. sinkiangensis* ont été trouvées pour contenir des composés de soufre tandis que d'autres huiles sont dépourvues de ces composés. Parmi leurs composants identifiés le *sec*-Butyl-(*Z*)-propenyl disulfure et le *sec*-butyl-(*E*)-propenyl disulfure se sont révélés être les composés soufrés qui se produisent dans les huiles essentielles d'espèces de *Ferula.* En 2012, une étude de la production de bioéthanol à partir des tiges et des feuilles de *F. glauca* (sub-espèce de *F.communis*) signale que cette espèce peut être considérée comme une usine de production d'énergie dans les régions arides (Polycapros, 2012).

CHAPITRE II
Les Polyphénols

II. Les métabolites secondaires

II.1. Généralités

Contrairement aux animaux, les plantes médicinales produisent des métabolites secondaires qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Le terme «métabolite secondaire» a été introduit en 1891 par Albrecht Kossel, il s'agit d'une vaste gamme de composés chimiques élaborés par les plantes, ces dernières ont une capacité présque illimitée de synthétiser des métabolites secondaires, au moins 12 000 ont été isolés. Ce sont des substances naturelles produites en faible quantité dans les plantes (Ali *et al.*, 2013).

Les métabolites secondaires ont une répartition limitée dans l'organisme de la plante et sont produits en faible quantité, sont d'une variété structurale extraordinaire, plus de 200.000 structures ont été définies. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Hartmann, 2007). Selon l'espèce les métabolites secondaires sont localisés dans certaines parties des végétaux, ils présentent un grand intérêt économique dans des domaines aussi divers que la pharmacie, les arômes, les pigments, les additifs alimentaires et les pesticides (Ayad, 2008).

II.2. Rôles des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires jouent un rôle très important notamment, en réponse au stress biotique et abiotique qu'ils peuvent subir tels que, les changements de température, la sécheresse, la salinité, la radiation, les herbivores, les infections pathogènes, la défense contre l'attaque des organismes compétitifs dont les bactéries, les champignons, les insectes, les animaux et les autres plantes (Kliebenstein, 2012; Costa *et al.*, 2013). Cependant, le rôle écologique le plus important est lié à la fonction reproductrice qui garantit le succès évolutif de toutes les espèces vivantes, les pigments et les composés volatils de ces métabolites peuvent attirer les pollinisateurs et ainsi favoriser la dispersion des graines et la fécondation (Iriti, 2013).

Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections. Ils sont importants, non seulement en raison de leur rôle dans la défense contre la prédation par les micro-organismes comme les insectes et les herbivores mais aussi pour leurs propriétés biologiques comme antioxydant, antimicrobien et anti-cancérigènes ainsi leurs effets thérapeutiques contre plusieurs maladies à

savoir l'hypertension, le diabète et l'obésité (Aires *et al.*, 2013). Certains, composés comme les terpènes, donnent aux plantes leurs odeurs, d'autres comme les quinones et des tanins sont responsables de pigments végétaux. De nombreux composés sont également responsables de la saveur de la plante par exemple les terpènes du piment (Cowan, 1999).

II.3. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003).

II.3.1. Les composés phénoliques

II.3.1.1. Généralités

Ils sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Le terme polyphénols est introduit en 1980, il remplace le terme ancien de tanin végétal.

Les composés phénoliques sont présents dans touts les organes des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques telles que la croissance cellulaire, la rhizogénése, la germination des graines et la maturation des fruits. Différents facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que le génotype des plantes, la composition du sol, le degré de maturité et l'état des cultures peuvent influencer la qualité et la quantité des polyphénols dans les plantes (Faller et Fialho, 2010).

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés sont impliqués dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix *et al*., 2005). Ils pourraient aussi prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer (Brown *et al*., 1998) , les maladies dégénératives et cardio-vasculaires (Paganga *et al*., 1999).

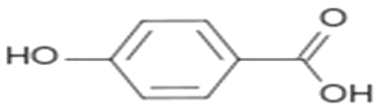
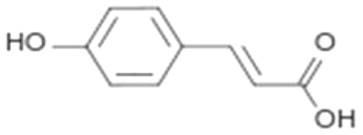
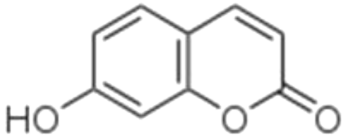
L'une des principales recommandations en santé publique est l'encouragement à la consommation d'aliments d'origine végétale riche en polyphénols, parmi les antioxydants naturels, les polyphénols apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (Gee et Johnson, 2001).

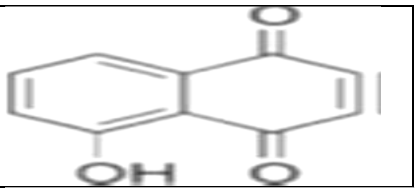
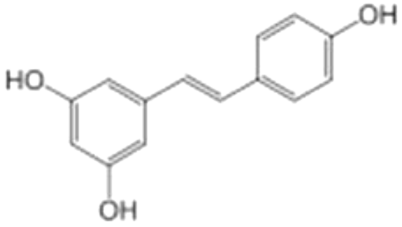
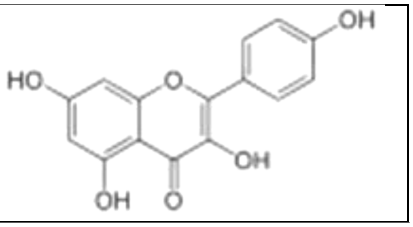
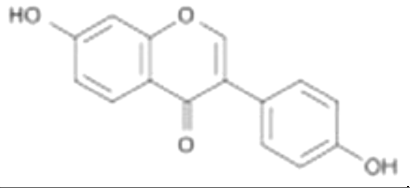
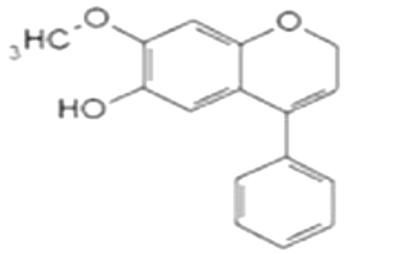
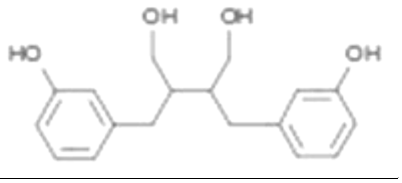
II.3.1.2. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes (Bruneton, 2009) et représentent plus de 8000 espèces moléculaires connues. Ils regroupant un vaste ensemble de substances chimiques, avec un noyau aromatique ou benzoïque auquel sont liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester,...).

Le phénol est le composé de base de ce groupe et les dérivés portant plusieurs cycles sont appelés les polyphénols. Les polyphénols sont divisés en plusieurs catégories, en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et les fonctions chimiques liées à ces cycles (Pérez-Pérez *et al*., 2013) à savoir: les acides phénoliques, les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols et les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes et les coumarines (Luthria *et al*., 2006). En se basant sur la structure carbonée de base, on peut dégager quelques principales classes de composés phénoliques suivantes (Tab. 6).

Tableau 6: Classification des polyphénols (Bensouici, 2015).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule
C6	Phénols simples	hydroquinone	
C6-C1	Acides hydrox benzoïques	acide parahydroxybenzoïque	
C6-C3	Acides hydrox cinnamiques	acide p-coumarique	
	Coumarines	Ombelliférone	

C6-C4	Naphtoquinones	Juglon	
C6-C2-C6	Stilbénoïdes	trans-resvératrol	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol	
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	
	anthocyanes	Dalphiniol	
(C6-C3)2	Lignanes	Entérodiol	

II.3.1.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques (phénols simples) sont parmi les formes les plus simples des composés phénoliques, sont caractérisés par la présence d'une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature, sont présents dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, ils sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone (Psotovà *et al*., 2003). Ils se divisent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3).

II.3.1.2.2. Les composés flavonoïdes

Le nom flavonoïde provient du terme (flavus, ‹‹jaune›› en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Ils ont été isolés par le scientifique Chervreul en 1814, mais réellement ont été découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Nijveldt *et al*., 2001).

Les flavonoïdes sont des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002), se rencontrent généralement dans toutes les plantes vasculaires, sont localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits et jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1993). C'est une grande famille constituée de plus de 4000 variétés de métabolites secondaires ubiquitaires des végétaux (Fang *et al.*, 2007). Dans la plante, les flavonoïdes sont très souvent liés avec des sucres, on parle alors d'hétérosides constitués d'une partie phénolique aglycone ou génine associée à un sucre.

De nombreuses études ont suggéré que les flavonoïdes présentent des activités biologiques y compris la principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être « *veino-actifs* », c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance. Les propriétés cicatrisantes et anti-infectieuses de la propolis étaient entre autre utilisées par les civilisations égyptienne, romaine, grecque et inca (Bruneton, 1999). Les flavonoïdes sont subdivisés en six sous-groupes : les flavanones, les flavones, les flavonols, flavan-3-ols, lesanthocyanes et les isoflavones (Balasuriya et Rupasinghe, 2011).

II.3.1.2.3. Les Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont ubiquitaire dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactives (Cowan, 1999). Ces composés, étant colorés, sont responsables de la réaction de brunissement des fruits (coupés ou blessés) et des légumes. Il y a plus de 1200 quinones chez les Angiospermes, les Gymnospermes, les- 9 -champignons, les lichens et très rarement chez les fougères. Ces

molécules se trouvent, également, dans le règne animal, en particulier chez les Arthropodes et les echinodermes (Cowan, 1999).

II.3.1.2.4. Les tanins

Les tannins (ou tanins) sont des polymères phénoliques solubles dans l'eau et ayant un poids moléculaires (PM) entre 500 et 3000. Ils ont l'aptitude à précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines (Sereme *et al*., 2010). Les tanins sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir **(**Bruneton, 1999). Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau. Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvent dans toutes les parties de la plante: l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Scalbert, 1991). On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique et sont subdivisées en deux groupes : tanins hydrolysables et non hydrolysables ou condensés (Fig. 10) (Okuda et Ito, 2011; Adamczyk *et al*., 2013).

Grâce à leurs fonctions phénoliques, les tannins sont d'excellents piégeurs de radicaux libres, ainsi, des activités antimutagènes et anticancéreuses ont été attribuées à certains tannins en raison de leur propriété anti-oxydante (Richelle *et al*., 2001). Certaines drogues à tannins présenteraient des effets antimicrobiens, antifongiques ou antiviraux (Chung *et al*., 1998 ;Song *et al*., 2006).

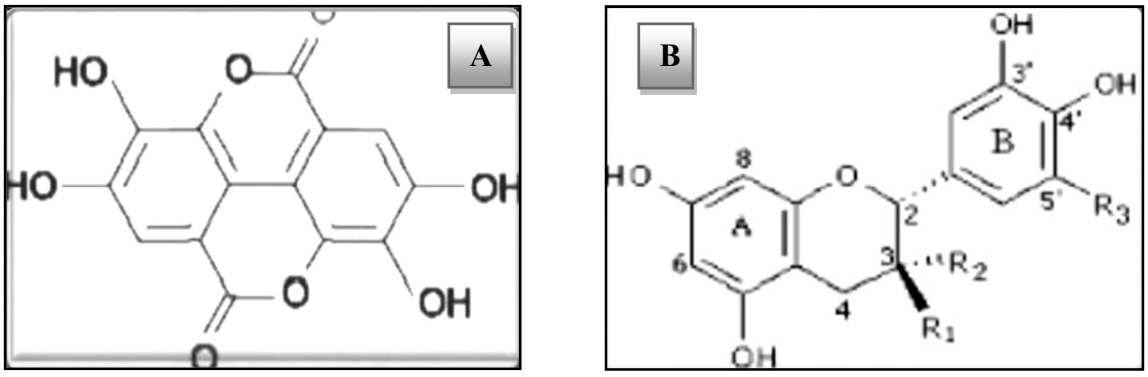


Figure 10 : A : Structure chimique des tanins hydrolysable**s**
B : Structure chimique des tanins condensés

II.3.1.2.5. Les Coumarines

Les coumarines sont des lactones des acides cinnamiques. Ils sont largement distribués dans tous le règne végétal et possèdent des propriétés très diverses. Les coumarines du Mélilot et du Marronnier d'Inde contribuent à fluidifier le sang (anti-thrombotique) et les furanocoumarines comme le bergaptène, contenu dans le Céleri, soignent les affections cutanées (Iserin, 2001). Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford *et al*., 2001).

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives elles manifestent différentes activités : anti-agrégation plaquettaires, anti-inflammatoires, anticoagulantes, antitumorales, diurétiques, antimicrobiennes, antivirales et analgésique (Chen et HO, 1997; Ojala *et al*., 2000) . La coumarine, connue pour ses propriétés anti-œdémateuses, a fait l'objet d'études cliniques chez des patients atteints de cancers avancés, elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique (Bruneton, 1999). Elles sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés avec lesquels on peut les extraire. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau. Ces molécules possèdent la structure de base suivante (Fig.11) (Bruneton, 1999).

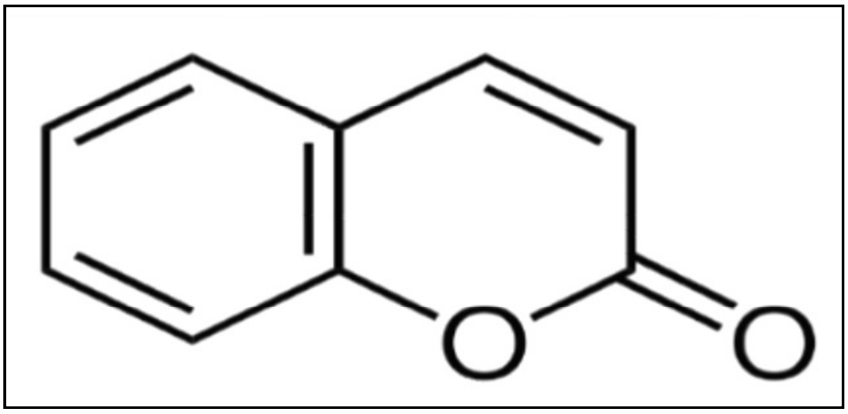


Figure 11: Structure des coumarines (Bruneton, 1993)

II.3.1.2.6. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés, basiques, d'origine naturelle ont des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorées (Rakotonanahary, 2012). 15% à

30% des alcaloïdes sont extraits des plantes à fleurs. Ils sont généralement synthétisés dans les tissus périphériques des plantes, puis sont stockés dans des compartiments tels que les vacuoles.

Le rôle des alcaloïdes dans les plantes est assez peu connu. Certains pourraient intervenir dans les relations de défense plantes-prédateurs (Wichtl et Antone, 1999). Les alcaloïdes en raison de leurs propriétés toxiques ou médicamenteuses, ont toujours présenté pour le pharmacien un intérêt exceptionnel (caféine, cocaïne…) (Guignard et Consson, 1985). Il y a plus de 10000 alcaloïdes connus (Bruneton, 1999).

Les alcaloïdes ont des effets sur la conscience et la motricité car ils agissent directement sur le système nerveux et à cet effet ils peuvent avoir une action antispasmodique, mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique (Scoulles, 2006). Les alcaloïdes ont une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Badiaga, 2011). Généralementils sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (Krief, 2003).

La synthèse des alcaloïdes s'effectue le plus souvent au niveau des racines en croissance, cellules spécialisées de laticifères et chloroplastes, ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage (Rakotonanahary, 2012). Les alcaloïdes sont faiblement solubles dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorf, deWasicky, de Bouchardat). Ils possèdent en générale de puissantes actions pharmacologiques.

II.3.1.3. Localisation des composés phénoliques

A l'échelle cellulaire les composés phénoliques s'accumulent principalement au niveau de la paroi cellulaire où sont présentes les lignines (et quelquefois certains flavonoïdes et des molécules associées aux lignines comme l'acide férulique) et au niveau de la vacuole où sont stockés les phénols solubles (acide chlorogénique, anthocyanes, flavonols, tanins…) (Le Bourvellec, 2005). En effet, certains flavonoïdes comme la quercétine et le kaempférol peuvent être également présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique mais toujours à très faible concentration (Peer *et al*., 2001) .

Ce sont des molécules issues du métabolisme secondaire et qui sont ubiquitaires du règne végétal et notamment des Angiospermes. Les composés phénoliques interviennent dans différents aspects de la vie de la plante, ils sont ainsi impliqués dans sa physiologie (lignification, interactions symbiotiques…), dans les mécanismes de défenses (interactions

biotiques et abiotiques) ou encore dans la coloration des fleurs. Par ailleurs ils sont bénéfiques pour l'homme vis-à-vis de certaines maladies de par leur action sur le métabolisme humain et leur propriété antioxydante (Macheix *et al*., 2005).

CHAPITRE III
Les Huiles Essentielles et leurs Activités Biologiques

III. Les huiles essentielles

III.1. Définition

Les huiles essentielles (HEs) sont un mélange complexe de substances volatiles extraites à partir des herbes aromatiques et d'épices (Garnero, 1996 ; AFNOR, 2000). Sont d'aspect huileux, ont une odeur et une saveur caractéristiques,

Anciennement les huiles essentielles étaient utilisées en médecine, cuisine, parfumerie etc.… Elles possèdent une composition moléculaire complexe, leurs confèrent des vertus uniques, elles sont dépourvues de protéines, de lipides, de glucides, et également de minéraux et de vitamines, pratiquement n'ont aucune valeur nutritionnelle (Couic-Marinier et Lobstein, 2013). Elles sont obtenues à partir d'une matière première végétale, par différents procédés citons par exemple, entraînement à la vapeur d'eau (hydrodistillation).

III.2. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles doivent avoir certaines propriétés physiques en suivant les normes internationales : liquides à température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques cas (cannelle, sassafras et vétiver), volatiles, insolubles dans l'eau, solubles dans les huiles végétales, dans l'éther et dans l'alcool jusqu'à un certain pourcentage, peu polaires (Durvelle, 1893 ; Durvelle, 1930), rarement colorées, et il convient de les conserver à l'abri de l'air et de la lumière (Duval, 2012).

En présence de la lumière les huiles essentielles s'oxydent facilement et se résinifient en absorbant de l'oxygène, également, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (Duraffourd *et al*., 1990). L'origine botanique, le cycle végétatif, le site producteur et les conditions géographiques et climatiques sont des paramètres qui affectent la qualité des huiles essentielles (Merghache *et al*., 2014).

III. 3. Lieux de biosynthèse et accumulation des huiles essentielles

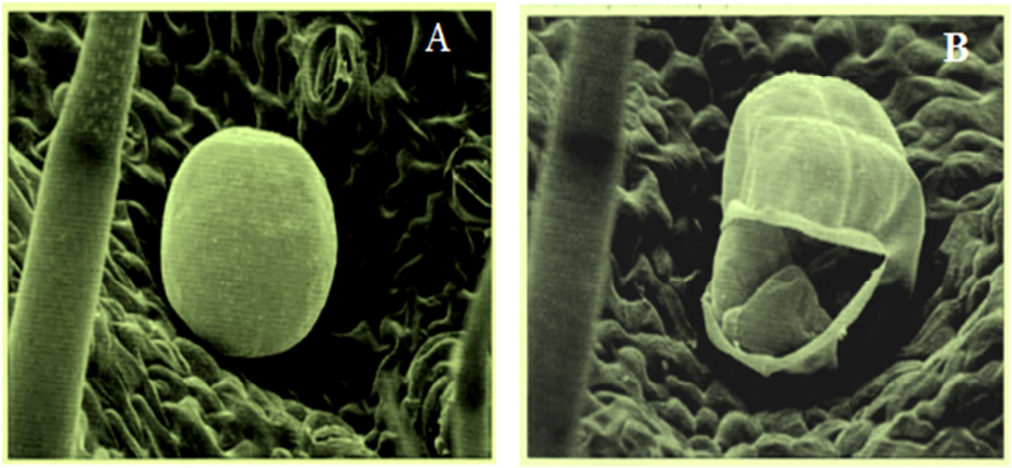
Parmi les 1500000 espèces végétales seulement 10% synthétisent les huiles essentielles avec des infimes quantités. Ces espèces végétales sont qualifiées par plantes aromatiques, parmi ces familles de plantes on note particulièrement les Myrtacées, Lauracées,

Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiaceae, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc. (Bruneton, 1999; Benayad, 2008; Degryse *et al*., 2008).

Les huiles essentielles se rencontrent pratiquement dans tous les organes de la plante à savoir : racines, feuilles, fleurs et graines et de façon exclusive chez les spermaphytes : familles des Conifères, Lamiacées, Myrtacées, Apiaceae, Lauracées, Rutacées et Astéracées. Elles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices spécialisées, qui se situent dans un ou plusieurs organes de la plante (Loupy, 2006).

Il existe de diverses structures histologiques spécialisées au niveau desquelles les huiles essentielles sont élaborées, il faut noter que le nombre et les caractéristiques de ces structures sont très variables exemple, chez les Myrtacées et Aurantiacées ces structures sont sous forme de poches sécrétrices schizogènes ou, schizolyzigènes ou bien sous forme de poils sécréteurs chez les Lamiacées, les Astéracées, les Conifères et chez les Apiaceae ces structures sont sous la forme de canaux sécréteurs et enfin chez les Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées sont des cellules sécrétrices isolées (Belaiche, 1979; Paris et Hurabielle,1981 ; Bruneton, 1999 ; Ghestem *et al*., 2001). Le lieu de stockage des huiles essentielles est en fonction de l'espèce et l'organe.

Chez les plantes aromatiques, la majorité des huiles essentielles sont localisées au niveau des glandes sécrétrices qui se répartissent sur l'ensemble de la plante, on note que ces glandes sont rares sur les faces supérieures des feuilles et des tiges (Fig. 12) (Garneau, 2004), ces glandes servent à synthétiser les huiles essentielles, afin de les stocker de façon durable. Le nombre des canaux sécréteurs est extrêmement variable dans les fruits des Apiaceae, par exemple, six pour *Carum capticum* et une dizaine pour *Crithmum maritimum* (Gersbach et Reddy, 2002). Chez les Apiaceae ces structures histologiques ne sont pas seulement liées à la production et l'accumulation des HEs (Sarafis *et al*., 1990) mais aussi sont des lieux de la synthèse de substances biologiquement actives, comme les coumarines, les furanocoumarines et les flavonoïdes (Zobel et March, 1993). Il faut noter qu'au sein d'une même plante plusieurs organes peuvent être le siège de ces structures sécrétrices (Belaiche, 1979).



A : Glande sécrétrice de l'épiderme d'une feuille avec cuticule intact ; **B** : rupture de la cuticule montrant les cellules sécrétrices

Figure 12 : Glandes sécrétrices

III.4. La composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe et variable, le nombre des constituants peut atteindre environ des milliers. Plus de 300 constituants connus dans l'HE de Rose Bulgare. La complexité de leurs composition chimique rend souvent difficile la mise en évidence de leurs activités (Bruneton, 2009). Les constituants des HEs appartiennent exclusivement à deux principaux groupes: les terpènes et les composés aromatiques (Bakkali *et al*., 2008). Elles peuvent également renfermer de divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

III.4.1. Les terpènes

Les terpènes sont les constituants majeurs des huiles essentielles, sont construit d'un monomère à 5 atomes de carbones appelé isoprène de formule C_5H_8 (fig.13) (Malecky, 2008). Sont des hydrocarbones naturels leur formule brute est $(C_5H_8)n$ dont le n est variable en fonction du degré d'instauration de la molécule et ne peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). On distingue les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20), les triterpènes (C30), les tetraterpènes (C40) et les polyterpènes (~4000) (Lafont et Duval, 2001; Dubey *et al*., 2003). Seuls les terpènes les plus volatils (masse moléculaire faible) confèrent aux huiles essentielles le caractère volatil qui est à la base de leurs propriétés olfactives.

Les HEs sont presque exclusives de l'embranchement des Spermaphytes (Bruneton, 1987). La plus grande partie d'entités chimiques présentes dans les HEs est représentée pat les monoterpènes, les sesquiterpènes et les dérivés oxygénés (Raut et Karuppayil, 2014).

La famille des terpènes comprend des hormones (gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes (carotène et xanthophylle), des stérols (ex. ergostérol, sitostérol, cholestérol), des dérivés de stérols (ex. des hétérosides digitaliques), le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel) ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles confèrent aux plantes leur parfum ou leur goût (Hopkins, 2003). Les terpènes non cycliques sont en grande partie responsable de l'odeur suave des plantes et des fleurs et dont quelques-unes sont employées en parfumerie.

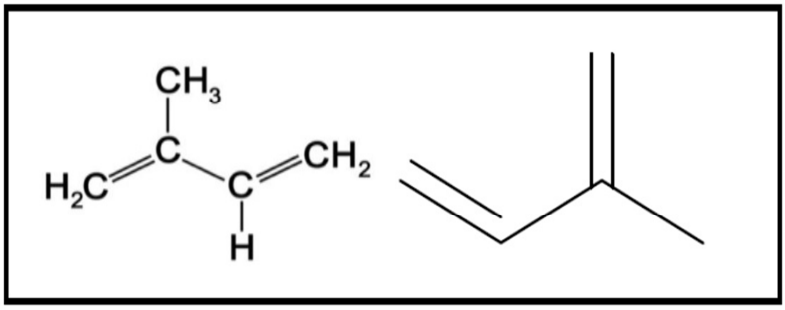


Figure 13 : Structure de base de l'isoprène (Khenaka, 2011).

Il convient de souligner que la synthèse des terpènes n'est pas propre aux végétaux. Le squalène, ainsi que son nom l'indique est un terpène abondant chez les requins. Des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent également chez les spongiaires et les coelentérés (Guignard, 2003). Il n'est pas certain que les phéromones monoterpéniques connus chez les insectes soient toutes élaborées à partir de monoterpènes végétaux apportés à ces insectes par leur alimentation (Bruneton, 1987).

III.4.2. Classification des terpènes

III.4.2.1. Les Monoterpènes (C10)

90% des constituants des huiles essentielles sont des monoterpènes, sont les plus simples des composés terpéniques, (Bakkali *et al.*, 2008). Ils sont formés par le couplage de deux unités isoprèniques ($C_{10}H_{16}$). Plus de 900 monoterpènes sont connus et sont classés selon leur structures en trois catégories principales: linéaires (acyclique): (myrcène, ocimènes), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) : (α- et γ-terpinène, *p*-cymène) et ceux avec deux cycles (bicycliques) : (pinènes, δ-3-carène, camphène, sabinène) (fig. 14) (Allen *et al*., 1977). La réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de

nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

III.4.2.1.1.Terpènes acycliques

On distingue :

a. Hydrocarbures : Myrcéne, à ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.

b. Alcools : Le géraniol se rencontre dans les essences de rose, de Citronnelle, de Géranium rosat, Géraniol

c. Aldéhydes : Le citral, correspondant au géraniol, se trouve dans les essences de Citron, Lemon-grasse, Mélisse, Verveine Mélisse, Verveine odorante.

III.4.2.1.2.Terpènes monocycliques

On distingue :

a. Les dérivés des hydrocarbures en $C_{10}H_{16}$ contenant deux doubles liaisons.

Ils sont tous liquides, dans ce groupe, on rencontre le d-limonène de l'essence de Citron et d'autres Rutacées, le limonène inactif ou dipentène des aiguilles de Pin, les phellandrènes de l'Angélique, du Fenouil amer, de certains Eucalyptus, les terpinènes, et la carvone, dérivé cétonique, un constituant des essences de Carvi, de Menthe douce.

b. Les dérivés des hydrocarbures en $C_{10}H_{18}$

Les terpinéols sont très répandus à l'état libre et estérifié dans les huiles essentielles (Néroli, Petitgrain, Camphrier), la pulégone (cétone de la Menthe Polliot), la pipéritone (de divers Eucalyptus).

c. Les dérivés des hydrocarbures en $C_{10}H_{20}$: Les menthanes, hydrocarbures saturés, n'existent pas à l'état naturel, mais on trouve les dérivés correspondants : Le menthol (le menthol naturel est le l-menthol). La menthone (cétone) dans les essences de Menthe.

A ce groupe des terpènes monocycliques, on peut rattacher un oxyde : Le cinéol ou eucalyptol, très abondant dans les essences d'Eucalyptus, de Cajeput, de Niaouli, et très répandu dans le règne végétal.

III.4.2.1. 3.Terpènes bicycliques

Ils sont présents dans un grand nombre d'essences surtout chez les Conifères. Les pinènes alpha et beta sont les constituants principaux des essences de térébenthines. Les fenchènes, le camphène, le bornéol, alcool secondaire, se trouvent dans les essences d'Aspi de Romarin, de Muscade, etc.

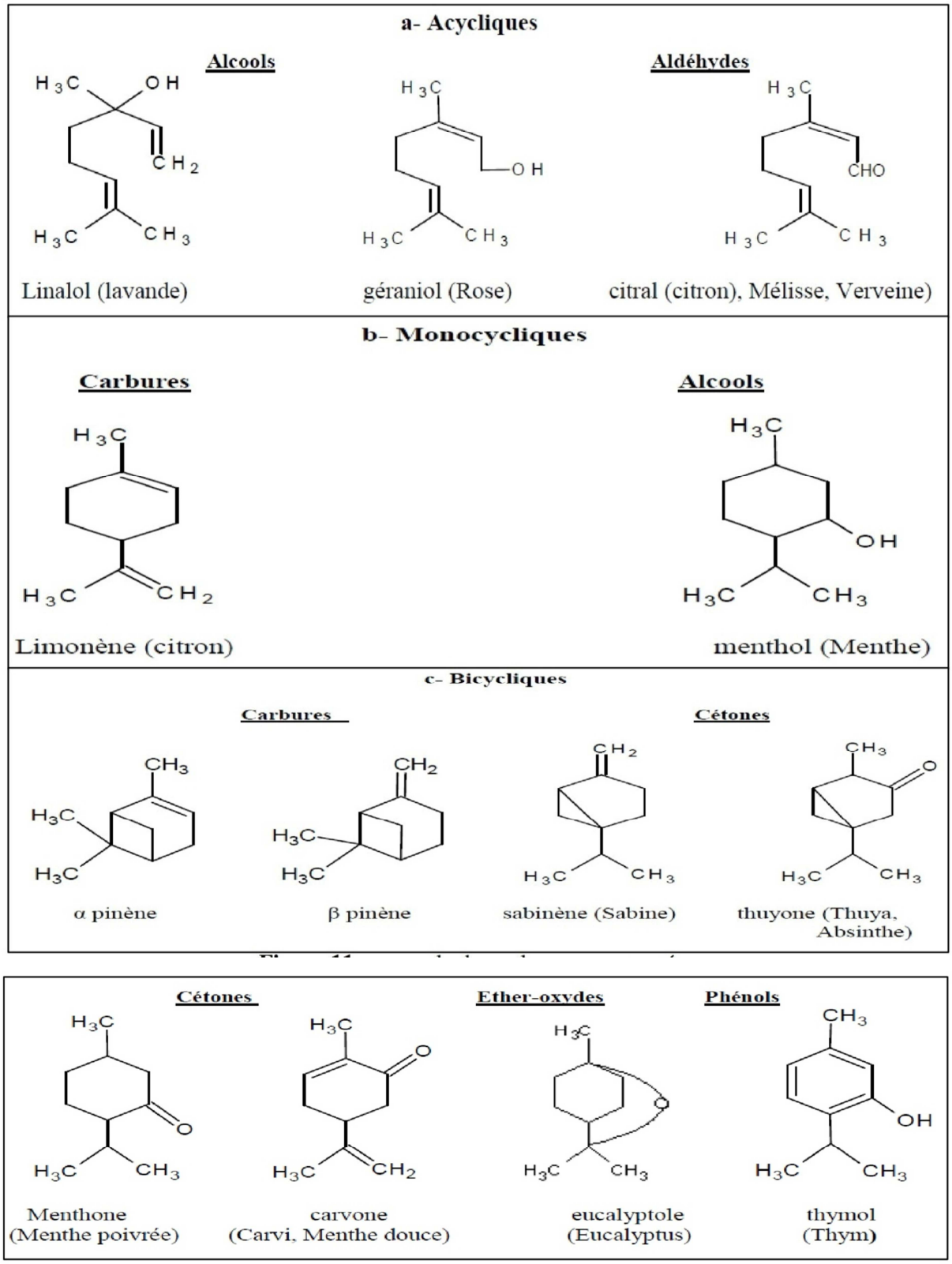


Figure 14: Exemple de quelques monoterpènes

III.4.2.2. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont formés de l'assemblage de 03 unités isoprènes (C15), leur formule est $C_{15}H_{24}$, les variations structurales dans cette série sont de même nature que les monoterpènes), carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents (Fig. 15) (Bruneton, 1999).

III.4.2.2.1. Classification des sesquiterpènes

Les sesquiterpènes comme les monoterpènes, ils peuvent être :

a-Composés acycliques : On peut citer le farnésène et le farnésol (alcool correspondant du farnésène, essence de Tilleul, baumes du Pérou et de Tolu). Le nérolidol, isomère du farnésol (essence de Néroli, baume du Pérou).

b-Composés monocycliques : Le zingibérène (du Gingembre), l'humulène (du Houblon).

c -Composés tricycliques : Les santalènes (du Santa), les santalols, alcools correspondants des santalènes. On peut rattacher aux sesquiterpènes, en raison de leur structure, des lactones comme la santonine, l'hélénine, substances non volatiles mais sublimables.

Il existe un groupe particulier de sesquiterpènes qui représente les azulènes dont le nom vient de leur coloration bleue, ce sont des composés instables, non saturés constitués par deux cycles penta- et heptacarbonés; on trouve dans ce groupe le guaïazulène (du Gaïac), les vétivazulènes, le chamazulène (des essences de Camomille et de Matricaire. Les azulènes sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires.

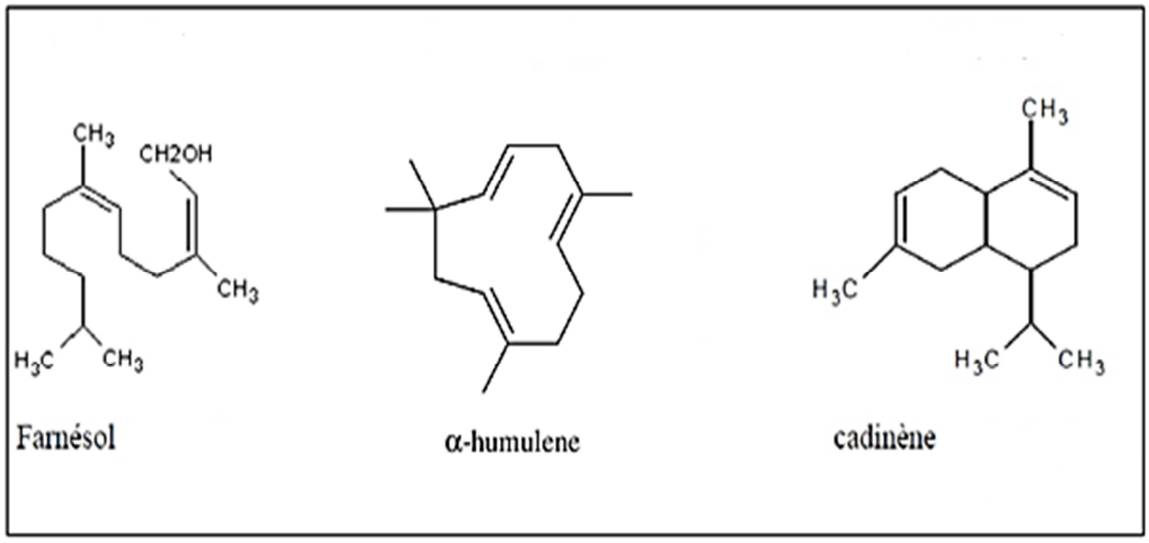


Figure 15: Exemple de quelques sesquiterpènes

III.2.3. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les huiles essentielles peuvent renfermer des composés moins fréquents que les terpènes et dont la biogénèse est totalement différente, il s'agit des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3) (Paris et Hurabielle, 1981). Egalement ils peuvent contenir des aldéhydes comme le cinnamaldehyde, des alcools comme alcool cinnamique, des phénols comme chavicol et eugenol, des dérivés méthoxy comme l'anethol, elemicine et des dérivés dioxymethylène comme l'apiole, myristicine et safrole (Bakkali *et al*., 2008).

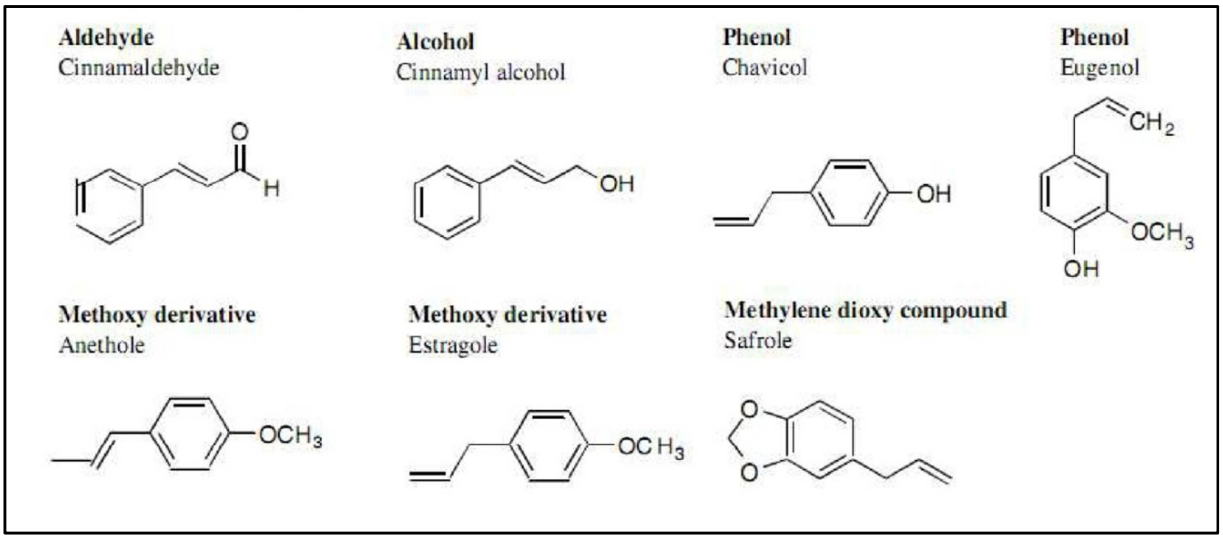


Figure 16 : Exemple de quelques composés aromatiques

III.4.2.4. Composés d'origines diverses

Certains composés entrent dans la constitution des huiles essentielles mais en faible proportion. Il s'agit de produits issus de la dégradation des acides gras et des terpènes. Des composés azotés et soufrés peuvent également se rencontrer dans les huiles essentielles mais d'une manière très rare (Bruneton, 1999; Svoboda et Hampton, 1999). Certaines huiles essentielles contiennent des composés terpéniques renfermant l'élément nitrogène, parmi ces composés on cite l'indole, extrait de l'huile essentielle de Citron et des fleurs de Jasmin.

III.5. Les facteurs influençant la composition

La composition chimique des huiles essentielles peut être affectée par plusieurs facteurs externes tel que la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol, par exemple chez *Mentha piperita*, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celles du menthofuranne (Bruneton, 1999). Ainsi la composition chimique des huiles essentielles est une fonction du

cycle circadien et des saisons (Assad *et al*., 1997; Lopes *et al*., 2008). L'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants, à titre d'exemple, il a été démontré que, la composition de l'huile essentielle de feuilles d'*Origanum gratissimum*, varie considérablement en fonction de l'heure de la récolte (Tab. 2) (Vasconcelos *et al*., 1999). Ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle, les Citrus par exemple ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (Bruneton, 1999). Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* sont plus riches en huile essentielle sous l'effet de fertilisants (Alvaez-Castellanos et Pascal-Villabos, 2003)

III.6. Procédés d'extraction

III.6.1. L'hydro-distillation

L'hydro-distillation est la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée pour extraire les composés volatiles des plantes, elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un ballon rempli d'eau, l'ensemble est porté à ébullition (Fig.17). La vapeur d'eau chargée d'essence libérée par le matériel végétal forme un mélange non miscible. La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) au cours de la distillation peut être à l'origine des modifications de l'odeur, la couleur et la composition de l'huile essentielle (Chalchat *et al*., 1997). Egalement la durée de la distillation influe sur le rendement et sur la composition de l'extrait.

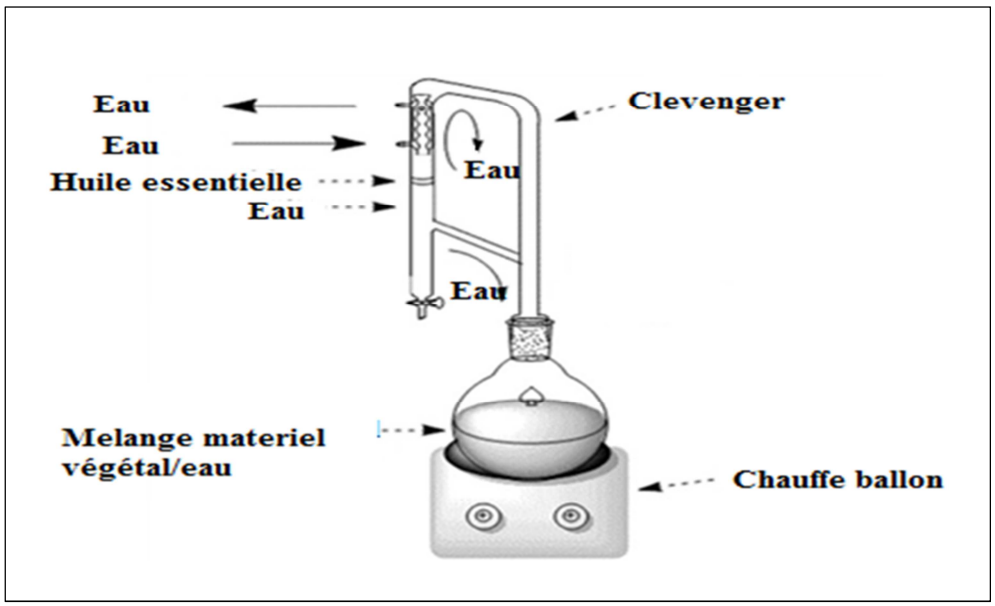


Figure 17: Appareil d'extraction type Clevenger

III.6.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

Contrairement à l'hydro distillation, dans cette méthode l'eau n'est pas en contact direct avec la matière végétale à traiter (Fig. 18). Le passage de la vapeur à travers le matériel végétal placé au-dessus d'une grille, provoque l'éclatement des cellules végétales qui libèrent l'huile essentielle et qui sous l'action de la chaleur l'huile est vaporisée pour former un mélange «eau + huile essentielle». Par condensation les vapeurs d'eau chargées ainsi d'essence retournent à l'état liquide, il existe d'autres méthodes pour extraire les HEs, tels que l' hydro diffusion, extraction par micro-ondes, l'enfleurage, CO2 supercritique …etc.

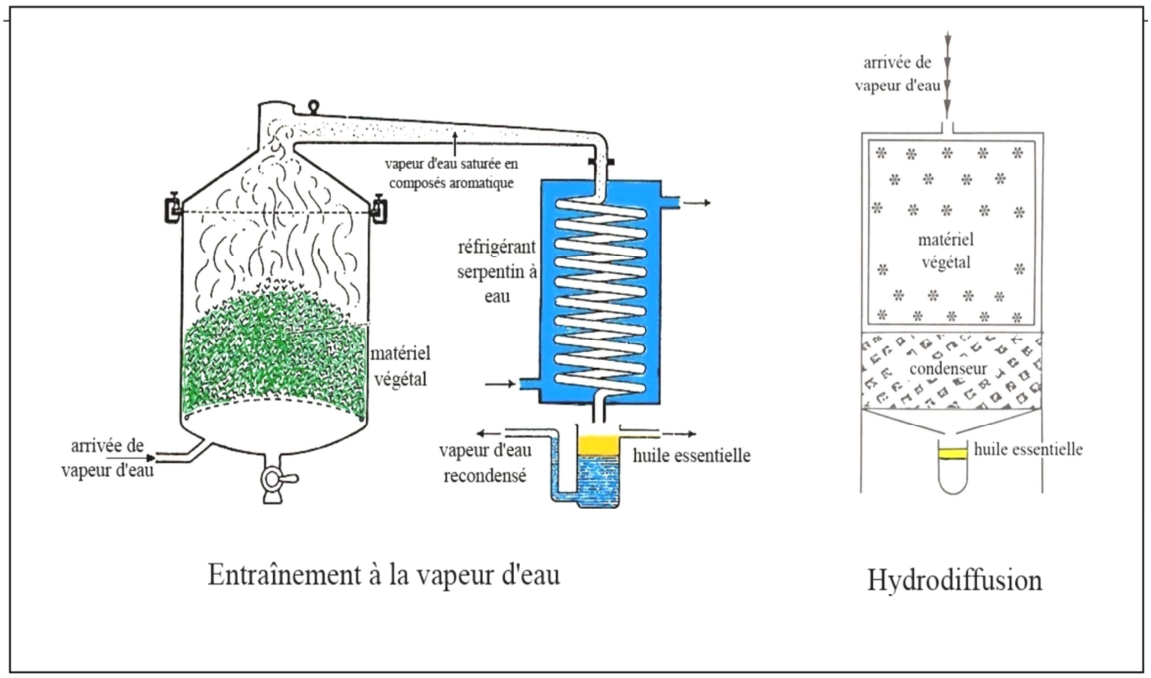


Figure 18 : Entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro diffusion (Lucchesi, 2005)

III.6.3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est utilisée pour l'analyse quantitative elle permet de séparer les différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Elle s'applique à l'analyse de molécules de faible poids moléculaire et/ou à caractère hydrophobe facilement volatilisables. Elle est utilisée notamment dans les principaux domaines de la chimie et reste la méthode la plus adaptée pour l'analyse des huiles essentielles à cause de la volatilité de leurs constituants (Arpino *et al*., 1995).

Dans la CPG la phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur, à l'entrée de la colonne le mélange à analyser est vaporisé, la phase stationnaire dans la colonne peut être solide ou liquide, le mélange est transporté à travers celle-ci à l'aide

d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange se séparent et sortent de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps dépendant de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules. A la sortie de la colonne, les composés rencontrent un élément essentiel le détecteur, il évalue en continu la quantité de chacun des constituants séparés au sein du gaz porteur grâce à la mesure de différentes propriétés physiques du mélange gazeux et envoie un signal électronique vers un enregistreur.

Grâce à une série d'alcanes (C7-C18), on arrive à calculer les indices de Kovats d'un composant x (indice de rétention), la valeur sera ensuite comparée à celle proposée par la banque de données (NIST,Wiley) et vérifiée en accord avec les tables d'Adams (Adams, 1995) et en tenant compte du type de colonne utilisée (Van Den Dool et Kratz, 1963 ; Kováts, 1965) et d'autres données de la littératures (McLafferty et Tureček, 1993).

III.6.4. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

Pour une bonne identification des différents constituants, la chromatographie en phase gazeuse doit être un couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). La combinaison de ces deux techniques complémentaires est applicable à l'analyse d'un grand nombre de substances organiques aussi bien gazeuses que liquides. C'est une technique de référence dans le domaine des huiles essentielles (Constantin, 1996; Paolini, 2005). La CPG/SM permet non seulement de séparer les différents constituants d'un mélange complexe mais aussi leur analyse (Paolini, 2005). C'est une technique qui permet de connaitre dans la majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation.

Après leur séparation par chromatographie en phase gazeuse les composés sont transférés vers le spectromètre de masse par le gaz vecteur (la phase mobile) ou ils vont être fractionnés en ions de masse variables, ils vont être distribués suivant leur rapport masse / charge, ces ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées, les données provenant du spectromètre de masse sont enregistrées par un logiciel puis convertit en valeurs de masses et d'intensités de pics puis en courant ionique total.

Enfin les spectres de masse obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles commerciales (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library) à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Bruneton, 1999; Bouderdara, 2013)

III.7. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent agissent directement sur l'organisme et leur confère une vertu thérapeutique (Iserin, 2001). Ces molécules servent à l'adaptation et prédation de la plante à son environnement et également à sa défense contre des prédateurs ou des agents pathogènes, les terpènes font partie des composés chimiques responsables de plusieurs activités comme: cholérétique, cicatrisante, neurosédative, spasmolytique, digestive, stomachique, antimicrobienne, anti-inflammatoire (Bruneton, 1999), désinfectante du système respiratoire (Inouye *et al*., 2001a ; Inouye *et al*., 2001b), antioxydante (Dorman et Deans, 2000), en médecine dentaire (la listerine) (Kato *et al*., 1990)

III.7.1. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles sont réputées par leur l'activité antimicrobienne dont certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (Gachkar *et al*., 2007; Rasooli *et al*., 2008). Elles ont un spectre d'action très étendu, elles agissent sur les Gram négatif et Gram positif y compris celles qui développent des résistances, par exple les huiles d'agrumes, de lavande, de menthe, de genévrier, de l'arbre à thé, de thym et d'eucalyptus se révèlent particulièrement efficaces contre les staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (SARM) (May *et al*., 2000 ; Tohidpour *et al*., 2010). Ainsi les huiles essentielles d'Origan, du Thym, de la Sauge, du Romarin et du clou de Girofle sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol qui possèdent un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries: *Escherichia coli, Bacillus creus, Listeria monocytogenes, Salmonella enterica*, *Clostridium jejuni, Lactobacillus sake*, *Staphylococus aureus* et *Helicobacter pyroli* (Pauli, 2001; Fabian *et al*., 2006).

Certains alcools, aldéhydes et cétones mono terpéniques (géraniol, linalol, menthol, nérol, camphre, carvone, etc.), des phénylpropane (cinnamaldehyde) et des monoterpènes (γ-terpinéne, *p*-cyméne) sont également de très bons agents antifongiques. Du fait du caractère hydrophobe de leurs composants, les HEs peuvent empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (Gachkar *et al*., 2007; Rasooli *et al*., 2008). Ces composés provoquent une perturbation des membranes cellulaires des bactéries et des mitochondries qui deviennent plus perméables et par conséquent à la mort cellulaire.

III.7.2. Activité antioxydante

Les composés phénoliques comme les HEs ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (Braga *et al*., 2006). Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (Edris, 2007). Un exemple frappant des composés à activité antioxydante puissante est celui du thymol et carvacrol. On peut attribuer l'activité antioxydante des HEs à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques: le linalool, le 1,8-cinéoIe, le géranial/néral, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes: α-terpinène et γ-terpinène (Edris, 2007).

III.7.3. Activité anti-inflammatoire

En milieu clinique les huiles essentielles sont également utilisées pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Murayama *et al*., 2005). Les composés actifs réduisent la production de médiateurs de l'inflammation ou bien empêchent la libération d'histamine, il est avéré que l'huile essentielle de géranium ainsi que le linalol et son acétate ont montré une activité anti-inflammatoire sur des œdèmes de pattes de souris induit par le carraghénane (Peana *et al*., 2002; Maruyama *et al.*, 2005).

III.7.4. Propriétés anti-cancéreuses

Les huiles essentielles agissent au niveau de la prévention du cancer ainsi qu'au niveau de sa suppression. Des composés volatils ont montrés une activité cytotoxique contre diverses lignées cellulaires cancéreuses (gliomes, cancer du côlon, du poumon, du foie, du sein, etc.) (Edris, 2007). Le géraniol est un alcool monoterpénique très fréquent dans les huiles essentielles, il potentialise l'effet inhibiteur de la croissance tumorale du 5-fluorouracil en diminuant la résistance des cellules cancéreuses du colon (TC118) envers le 5-fluorouracil, un agent anticancéreux (Carnesecchi *et al*., 2002; Carnesecchi *et al*., 2004). L'α-bisabolol, un alcool sesquiterpénique présent dans un grand nombre d'huiles essentielles son activité anticancéreuse a été découverte en 2004 par une équipe de chercheurs en Italie (Cavalieri *et al*., 2004). Ces chercheurs ont mis en évidence l'effet apoptotique de l'α-bisabolol sur des cellules tumorales au niveau du système nerveux central.

III.7.5. Activité anticholinesterase

La maladie d'Alzheimer (MA) est caractérisée par un déséquilibre neurodégénérative et irréversible qui détruit progressivement les cellules nerveuses du cerveau, l'acétylcholinestérase est une enzyme impliquée dans l'étiologie de cette maladie (Wang *et al*., 2007). La détérioration des cellules nerveuses se traduit par la libération d'une substance appelée Acétylcholine (ACh), dont le rôle est de transmettre les messages entre les cellules du cerveau. Le déficit en Acétylcholine chez les malades est aggravé par l'action d'une enzyme, l'acétylcholinestérase (AChE), qui décompose rapidement l'Acétylcholine. L'AChE est une protéine exprimée au sein des synapses dites cholinergiques qui utilisent le neurotransmetteur ACh. De telles synapses sont retrouvées au niveau des jonctions neuromusculaires, ainsi que dans les zones du cortex en charge des fonctions cognitives (mémoire, orientation, jugement, etc.). L'AChE hydrolyse le neurotransmetteur ACh terminant ainsi la transmission de l'influx nerveux et restaurant, de fait, l'excitabilité de ces synapses (Colletier, 2006).

Il n'existe aucun traitement guérissant la maladie d'Alzheimer, ni même permettant d'arrêter son évolution, il existe cependant des traitements permettant d'atténuer les troubles cognitifs, sans empêcher la progression de la maladie. La plupart agissent sur l'activité cholinergique (Pepin et Delwaide, 1999). L'une des solutions pour augmenter le taux d'acétylcholine au niveau synaptique consiste à diminuer sa dégradation, ceci en inhibant l'effet de l'enzyme d'acétylcholinestérase (Fig. 19). La galanthamine, un alcaloïde obtenu à partir d'une plante (*Galanthus nivalis* L. Amaryllidaceae) fournit une biodisponibilité orale complète, il est autorisé en Europe pour le traitement de cette maladie, il est bien toléré et améliore de manière significative la fonction cognitive chez les patients (Lopez *et al*., 2002). Des constituants monoterpéniques de nombreuses huiles essentielles ont été étudiés pour leurs effets sur l'AChE, par exemple, les huiles essentielles de *Melissa officinalis* L. et de *Rosmarinus officinalis* L. inhibent l'AChE érythrocytaire *in vitro* (Howes *et al*., 2003). Ainsi des monoterpènes tels que le géraniol, le δ-3-carène, le α-caryophyllène et le limonène inhibent l'acétylcholinestérase (Aazza *et al*., 2011).

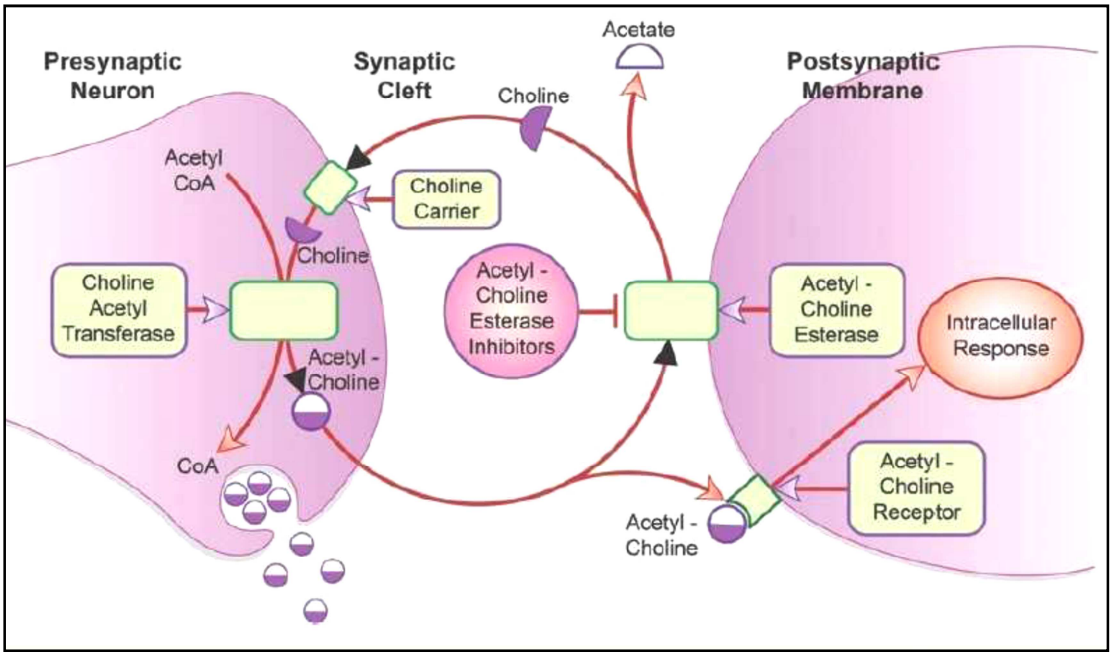


Figure 19: Mécanismes de neurotransmission cholinergique (Pepin et Delwaide, 1999).

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV
Matériel et Méthodes

IV. Matériel et Méthodes

IV.1. Matériel

IV.1.1. Matériel végétal

Les parties aériennes de *F. lutea* ont été récoltées dans la région d'Ain Abessa et Amoucha dans la wilaya de Sétif. La récolte est effectuée en période de floraison (maturité) et fructification en mois de Mai et juin 2017. Les parties aériennes ont été débarrassées des impuretés et conservées dans un endroit sec et à une température ambiante, la plante a été identifiée par le professeur Laouer Hocine, membre du laboratoire de valorisation des substances naturelles biologiques. Un Voucher spécimen (Chifa DZUMCAPPV00027) a été déposé dans l'herbier du laboratoire. Les parties de la plante utilisées sont les feuilles, les tiges, les fleurs, les fruits et la partie aerienne entiere (Fig. 20).

Figure 20: Représentation photographique de différentes parties de *Ferula lutea*
A : fleurs, B : feuilles, C : tiges, D : graines, E : partie aérienne

IV.1.2. Matériel et réactifs des activités biologiques

Les réactifs utilisés dans les tests antioxydant et l'acétylcholinestérase sont achetés du laboratoire Sigma Aldrich sauf l'acétylthiocholine iodide qui provient du labo Biochemica. Cependant, ceux utilisés dans le dosage des polyphénols et flavonoïdes proviennent de Sigma Aldrich et Fluka. Le spectrophotomètre est d'une marque Spectra Max 340PC384, il est un lecteur de microplaques à 96 puits et il est doté du logiciel PRO *v*5.2 software.

IV.1.3. Matériel du test de l'activité bactérienne

IV.1.3.1. Les souches bactériennes

L'activité antibactérienne des HEs des différentes parties (feuilles, fleurs, tiges et graines) et de l'extrait brut hydrométhanolique de la partie aérienne ainsi que ses fractions a été évaluée sur quatre souches bactériennes Gram négatif et Gram positif appartenant à l'American Type Culture Collection (ATCC), ce sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 11778. *S. aureus* provient du laboratoire de microbiologie appliqué, département de pharmacie Sétif, *E.coli* provient du laboratoire de bactériologie CHU Sétif par contre *P. mirabilis* et *B. cereus* sont fournis par l'institut Pasteur de M'sila.

IV.1.3.2. Milieux de culture

Le Mueller Hinton agar (MHA) a été utilisé comme un milieu de culture des souches bactériennes testées, d'autres milieux de culture ont été également utilisés comme, le Bouillon Nutritif (BN) et gélose nutritive (GN). Le MHA a pour provenance (Fluka) par contre BH et GN proviennent de l'institut Pasteur.

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Extraction des huiles essentielles

Le matériel végétal coupé en parties fines est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un appareil Clevenger (Fig. 21). Elle consiste à mettre un poids du végétal dans un ballon en verre avec une quantité suffisante d'eau distillée, sans pouvoir autant remplir tout à fait le récipient afin d'éviter le passage du liquide dans le tube vertical lors du chauffage. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile qui se dégagent passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura

lieu la condensation. La densité des huiles essentielles étant plus faible que celle de l'eau, elles surnagent à la surface de cette dernière. L'huile essentielle ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile. L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition. Les huiles essentielles obtenues doivent être conservées à température basse (4-5 Cº) et à l'abri de la lumière.

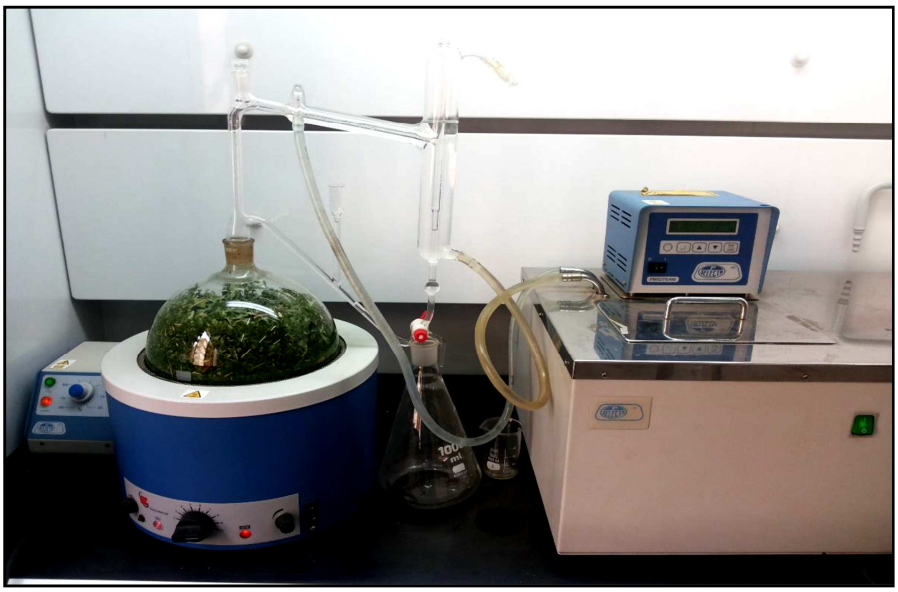


Figure 21 : Appareil de distillation type Clevenger

IV.2.1.1. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement en huiles essentielles (RHE), est étant le rapport entre le poids de l'HE obtenue après extraction (M_{HE}) et le poids de la matière végétale utilisée (M) (AFNOR, 1986). Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$RHE\ \% = (M_{HE}/M) \times 100$$

Dont :

RHE : rendement de l'HE en %.

MHE : masse de l'HE obtenue en gramme.

M : masse de la plante en gramme.

IV.2.1.2. Analyse des Huiles essentielles

Les analyses GC/EL-MS ont été effectuées avec un appareil Varian CP-2800 équipé d'une colonne capillaire D8-5 (30m x 0 25 mm id, épaisseur de film 0,25 µm) et d'un détecteur de masse à piège ionique Varian Saturne 2000. La température du four a été

programmée en passant de 60 C° à 240°C à 3°C/min, la température de l'injecteur est 220°C, température de la ligne de transfert 240°C, Gas vecteur He (ml/min). Les paramètres d'acquisition etaient les suivants : scan complet ; plage de balayage : 35-300m/Z ; temps de scan : 1,0 sec ; seuil : 1 complet. L'identification des constituants a été basée sur la comparaison de leurs indices de rétention (IR) déterminés par rapport au Tr d'une série de n-alcanes. Les spectres de masse comparés à ceux répertoriés dans les bibliothèques commerciales NIST 14 et ADAMS et dans une bibliothèque de spectre de masse maison constituée de substances pures et de composants d'huiles connues et des données de la littérature MS **(**Massada, 1976 ; Swigar et Silverstein, 1981 ; Jenning et Shibamoto, 1982 ; Davies NW, 1990 ; Adams, 1997).

IV.2.2. Préparation des extraits

Le but de l'extraction est la désorption des molécules d'intérêt des sites actifs de la matrice végétale, elle détermine la nature et la quantité des molécules extraites, elle est primordiale car elle détermine le succès des étapes suivantes (Michel, 2011).

Plusieurs auteurs ont critiqué l'influence des méthodes de caractérisation et les conditions d'extraction des composés phénoliques. Un rapport de 70% de méthanol est utilisé généralement dans l'extraction des flavonoïdes (catéchines ou épicatéchines), des acides-phénols et leurs dérivés et plusieurs autres sous groupes de flavonoïdes (Santos-Buelga et williamson, 2003; Tabart *et al*., 2007 ; Al-Farsi et Lee, 2008).

La polarité du solvant affecte la solubilité des composés phénoliques, les solvants apolaires sont recommandés pour récupérer sélectivement les acides tanniques de haut poids moléculaire. Les arômes dérivés des acides hydrox cinnamiques sont habituellement extraits par des solvants apolaires tels que le chloroforme et le diéthyléther (Collin et Crouzet, 2011).
Il faut noter également que la solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés.

La diversité structurale des composés phénoliques est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (Koffi *et al*., 2010 ; Mahmoudi *et al*., 2013), donc il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (Garcia-Salas *et al*., 2010 ; Jokić *et al*., 2010 ; Mahmoudi *et al*., 2013).

IV.2.2.1. Préparation des extraits bruts par Extraction Solide - Liquide (ESL)

100 g de la partie aérienne de la matière végétale sèche préalablement nettoyée, broyées sont extraites par macération trois fois dans un mélange méthanol/eau (70%) pendant 24h/ fois à température ambiante, le mélange MeOH (70%) a été choisi de manière à solubiliser un maximum de composés. Le volume de solvant doit être suffisant pour que la matrice reste immergée pendant la totalité de la période de l'extraction. Les fractions sont réunies et évaporées à sec sous pression réduite pour obtenir l'extrait brut hydrométhanolique (EBr). L'extrait brut est repris par la suite avec de l'eau bouillante (1 kg de matière végétale sèche pour 600 ml de l'eau distillée). Une décantation pendant trois nuits a permit l'élimination de la chlorophylle.

IV.2.2.2. Fractionnement de l'extrait brut hydrométhanolique par Extraction Liquide –Liquide (ELL)

Dans l'optique de séparer l'extrait brut hydrométhanolique en fractions de polarités différentes, nous avons opté pour un fractionnement ELL qui permet de partager les molécules selon leurs propriétés physico-chimiques entre deux phases liquides non miscibles. Cette méthode est résumée par la Fig. 22.

Le fractionnement est réalisé selon la méthode de Markham (1982), en utilisant une série de solvants à polarité croissante, l'extrait brut est initialement fractionné trois fois avec le *n*-hexane pour se débarrasser des cires, des lipides et de la chlorophylle. Les fractions sont réunies et évaporées à sec pour obtenir l'extrait *n*-hexane (EHx). La phase aqueuse est soumise à un autre fractionnement 3 fois par l'acétate d'éthyle (pour extraire les mono-glycosides) pour donner l'extrait acétate d'éthyle (EAc). La phase aqueuse est soumise à un dernier fractionnement 3 fois par le *n*-butanol (pour solubiliser les di- et les tri-glycosides) pour donner l'extrait *n*-butanolique (EBu). La fraction aqueuse est évaporée à sec, très polaire résiduelle qui est également soumise à un séchage pour obtenir l'extrait aqueux (EAq), et conservé avec les autres extraits.

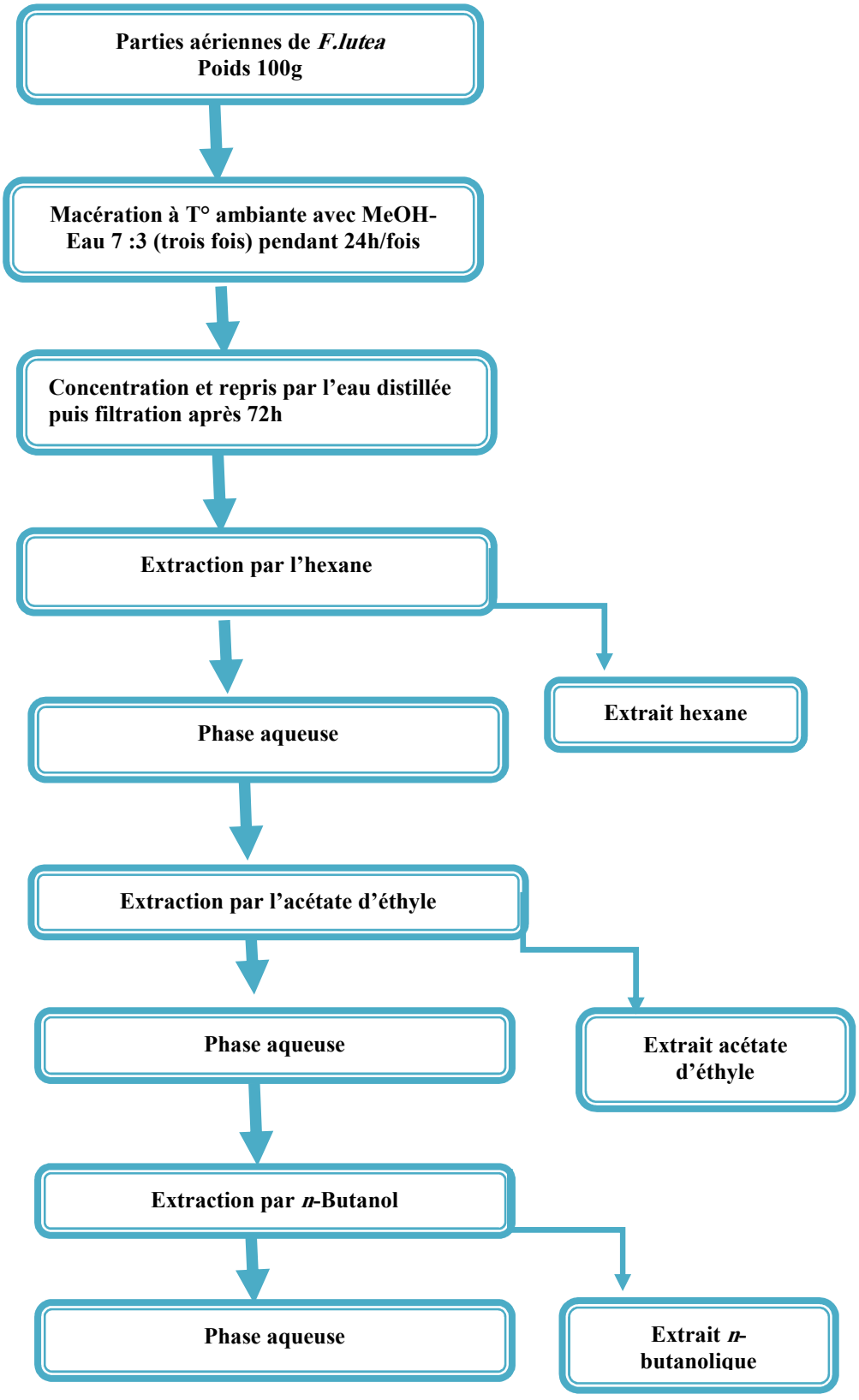


Figure 22 : Schéma d'extraction

IV.2.2.3. Calcul de rendement des extraits

Le rendement d'extraction a été calculé par rapport au poids total de la poudre végétale. Le rendement en pourcentage (%) est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

Rdt = (PB / PA) × 100

PB : poids d'extrait brut.

PA : poids de la plante sèche en poudre.

IV.2.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

a-Principe

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller *et al*. (2010), le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux.

b-Procédure

20 µl d'extrait de plante + 100µL du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué). (1 :10) + 75 µl de carbonate de sodium (7,5%), mettre le mélange à l'obscurité pendant 2h, lecture à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). La teneur en polyphénols totaux est estimée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (25-200 µg/ml) et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (Fig.23). Ce test ayant comme principe le phénomène d'oxydoréduction qui n'est pas spécifique à une classe de polyphénols et souffre d'interférences avec les amino-acides de type tyrosine et d'autres composés non phénoliques tels que l'acide ascorbique (Dykes et Rooney, 2006).

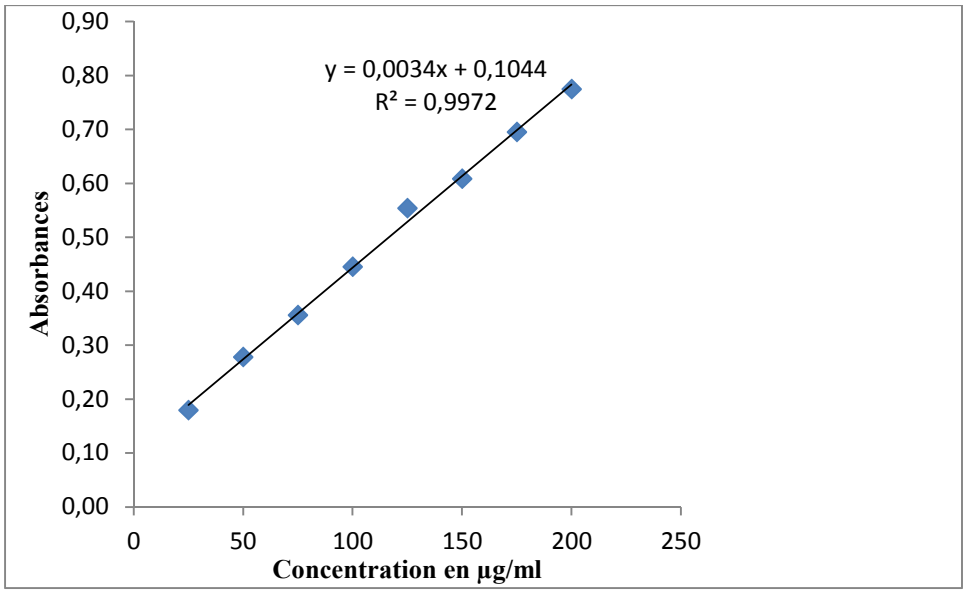


Figure 23 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de trois essais).

IV.2.2.5. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (TFC)

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits bruts et leurs différentes fractions a été déterminée selon la méthode décrite par Topçu *et al*. (2007) avec quelques modifications.

a-Principe

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes qui absorbe à 415 nm.

b-Procédure

Pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits : 50 µL de chaque extrait et du standard (dissous dans 130 µL le méthanol), 10 µl acétate de potassium CH3COOK (1M) et 10µL ALNO3 (10%). Le mélange a été vigoureusement agité à la température ambiante et l'absorbance à 415 nm a été lue après 40 minutes d'incubation. La quantification des flavonoïdes à été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire (y = a x + b) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (25-200 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg) (Fig.24).

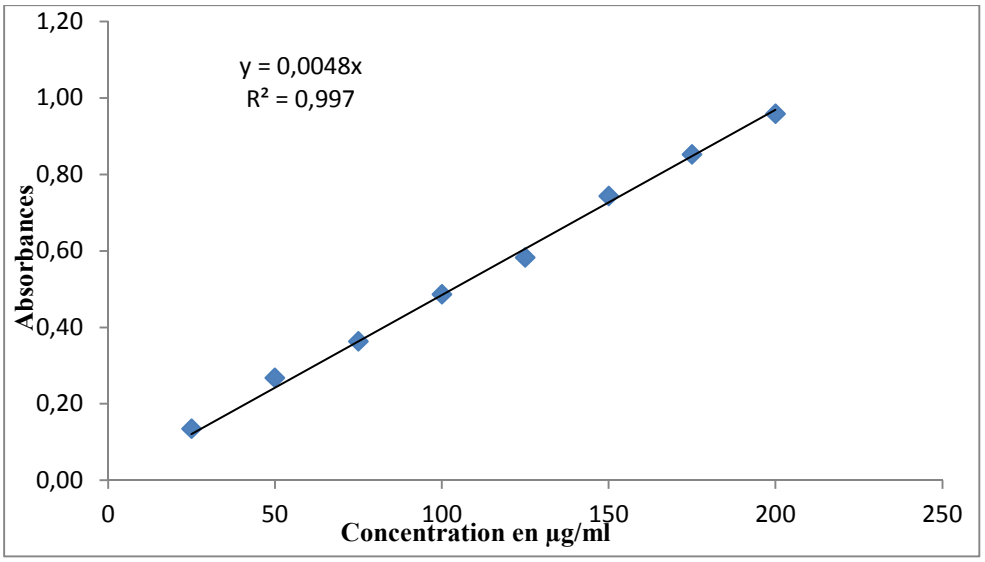


Figure 24 : Droite d'étalonnage de Quercétine (moyenne ± SD de trois essais).

IV.2.3. Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne

IV.2.3.1. La méthode de diffusion sur gélose

L'activité antimicrobienne des HEs et des différents extraits a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion ou méthode de disque, il s'agit d'une technique par contact direct, Elle permet de prévoir l'efficacité antimicrobienne *in vitro* des extraits, il s'agit en fait d'une appréciation de l'aspect qualitatif de l'activité. Son principe est basé sur la diffusion des extraits du disque vers le milieu de culture solide ensemencé par le germe à tester.

Initialement cette technique a été conçue pour tester les antibiotiques de synthèse, il s'agit de l'antibiogramme. Selon Belaiche (1979), l'aromatogramme inspiré de la méthode de Shroeder et Messing (1949) consiste à substituer les disques d'antibiotiques par des disques en papier filtre imprégnés d'huile essentielle ou d'extraits et les déposer sur la surface des géloses ensemencées par le germe à tester. Après incubation, les diamètres d'inhibitions sont mesurés en millimètres. Ces derniers correspondent aux zones où les germes avaient été inhibés ou détruits par la diffusion des extraits.

IV.2.3.1.1. Etapes de la réalisation de l'activité bactérienne

1. Préparation de l'inoculum : Les différentes souches bactériennes à tester doivent être repiquées par la méthode de stries, puis incubées à 37C° pendant 18h à 24h afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum, l'opacité de la suspension bactérienne doit avoir une densité optique de 0.08 – 0.1 à la longueur d'onde 625 nm. La densité optique (DO) peut être ajustée en ajoutant plus de culture ou de l'eau physiologique.

Il faut noter que la suspension bactérienne doit être utilisée dans les 15 minutes après sa préparation, car la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne.

2. Ensemencement : L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, le frottement de l'écouvillon sur la même boite de Pétri a été répété à trois reprises en tournant à chaque fois la boite d'un angle de 60°.

3. Application des disques : Des disques en papier filtre stérile sont imprégnés de 10 µl d'HE et d'extraits dilués dans le DMSO aux dilutions 1/2, 1/5 et 1/10 (v/v), après 4 à 5 minutes les disques sont déposés à la surface des géloses ensemencées. Les disques imprégnés de 10 µl DMSO servent de témoin négatif, ce choix a été fait parce que le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, Gachkar *et al.* (2007) qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien. Chaque 3 disque de concentrations similaires ont été déposés dans la même boite, afin de garantir les conditions expérimentales comparables. La gentamicine (GM=10mg) « antibiotique de référence » est utilisée comme standard

4. L'incubation : Les bactéries exigent un délai d'incubation de 24h pour la croissance des bactéries jusqu'au stade de colonies décelables à l'œil nu. Après incubation à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés (Fig. 25)

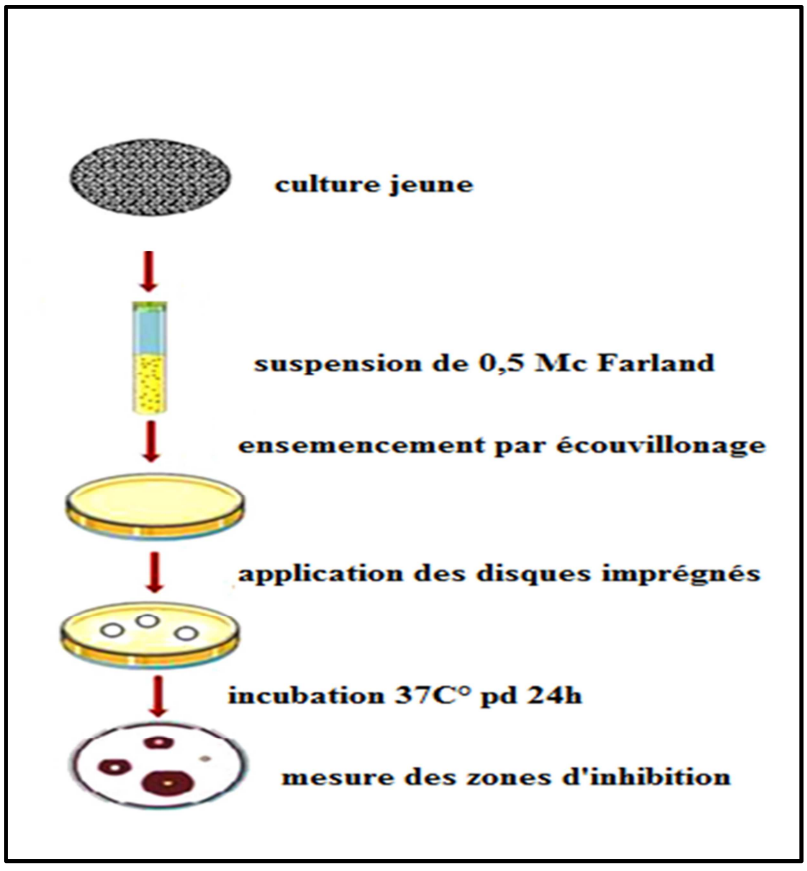


Figure 25 : Technique de diffusion sur gélose par disques

Selon Duraffourd *et al.* (1990), la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm, la sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm et pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

IV.2.3.2. La Macro dilution en milieu solide

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée par macro-dilution en milieu solide, elle consiste à préparer une gamme de concentration des huiles essentielles dans un milieu de culture gélosé. Le rapport huile essentielle HE/Tween 80 doit être 80% (v/v) pour cela une solution stérilisée de Tween 80 à 10 % dans de l'eau distillée est ajoutée à une quantité d'HE, ce mélange subit une agitation pendant 2 à 3 minutes à température ambiante pour disperser l'huile essentielle dans le Tween 80.

Une gamme de dilution à base de deux est préparée à partir de cette solution. Chaque tube à essai contient 18 ml de milieu gélosé stérilisé et maintenu en surfusion à 50°C au bain Marie, ensuite 50µl de la solution (S) ou de diverses dilutions (Fig. 26) sont ajoutés à chaque tube, après la solidification du milieu de culture un ensemencement en surface est réalisé à partir d'une suspension bactérienne d'une densité de 0.5 Mc Farland (Guinoiseau, 2010 ; CLSI, 2012). La croissance bactérienne nécessite un temps d'incubation de 37C° pour qu'elle soit décelable à l' œil nu. Il faut noter que pour chaque souche la CMI est la plus petite concentration pour laquelle aucun développement n'est visible.

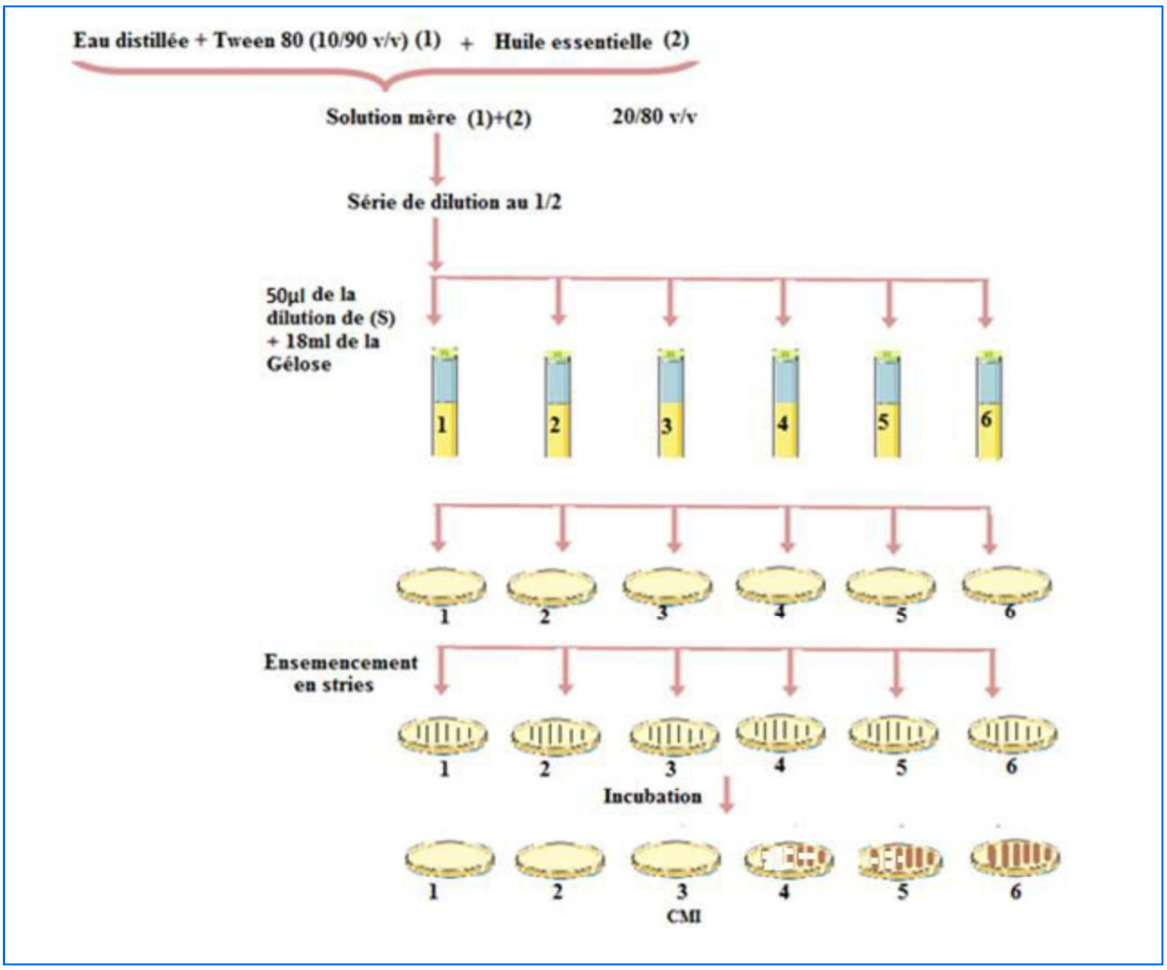


Figure 26 : CMI par Technique de macro-dilution sur milieu solide

IV.2.4. Evaluation *in vitro* des activités antioxydantes

La capacité antioxydante des extraits naturels peut être évaluée soit *in vivo*, soit *in vitro*, différentes méthodes ont été développées (Tab. 7). Les méthodes basées sur le transfert d'atome d'hydrogène mesurent la capacité globale d'un antioxydant à réprimer les radicaux libres par donation d'un atome d'hydrogène, par contre les méthodes basées sur le transfert d'électron mesurent la capacité d'un antioxydant à transférer un électron qui réduira n'importe quel composé, incluant les métaux, les carbonyles et les radicaux. Vu la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. Il faut donc combiner les réponses obtenues à l'aide de tests différents et complémentaires. C'est pourquoi notre choix s'est porté sur l'utilisation de trois tests chimiques, à savoir : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), CUPRAC et pouvoir réducteur. Le principe de ceux-ci repose sur un changement de couleur qui a été suivi par la lecture de l'absorbance à des longueurs d'ondes spécifiques.

Tableau 7 : Méthodes de détermination de l'activité antioxydante *in vitro* (Huang *et al*., 2005 ; Karadag *et al*., 2009)

Classes de methods	Equation du mécanisme spécifique	Exemples
Transfert d'atome d'hydrogène	**AH + X• → XH + A•** AH : antioxydant (donneur d'atome d'hydrogène) X• : radical libre (accepteur d'atome d'hydrogène) XH : radical libre inhibé A• : antioxydant stable	- Capacité d'absorption des radicaux libres (test ORAC) ; - Capacité de piégeage des radicaux libres (test TRAP) ; - Inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique
Transfert d'électron	**M (III) + AH → AH• + M (II)** M (III) : antioxydant (donneur d'un électron) AH : radical libre (accepteur d'un électron) AH•: radical libre inhibé M (II): antioxydant stable	- Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (test FRAP) ; - Analyse des phénols totaux (test au Folin-Ciocalteu)
Analyses basées sur les deux mécanismes	Les réactions semblent plus complexes et suivent un des deux mécanismes selon la structure des antioxydants ou la nature du milieu réactionnel	- Piégeage du radical DPPH• - Réduction du radical-cation ABTS●+ ou détermination de la capacité antioxydante en équivalents trolox (TEAC)

IV.2.4.1.Test DPPH

a-Principe

La molécule de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH˙) est caractérisée comme un radical relativement stable grâce à la délocalisation de l'électron célibataire de la molécule, cette délocalisation donne naissance à une couleur violette qui se caractérise par une bande d'absorption dans une solution de méthanol à 517 nm. Quand une solution de DPPH˙ est mélangée avec un composé antioxydant donneur d'atomes d'hydrogène, ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune (forme réduite, 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazine) (Brand-Williams *et al*., 1995). Lors de sa réduction par un antioxydant, son absorption diminue (Fig.27).

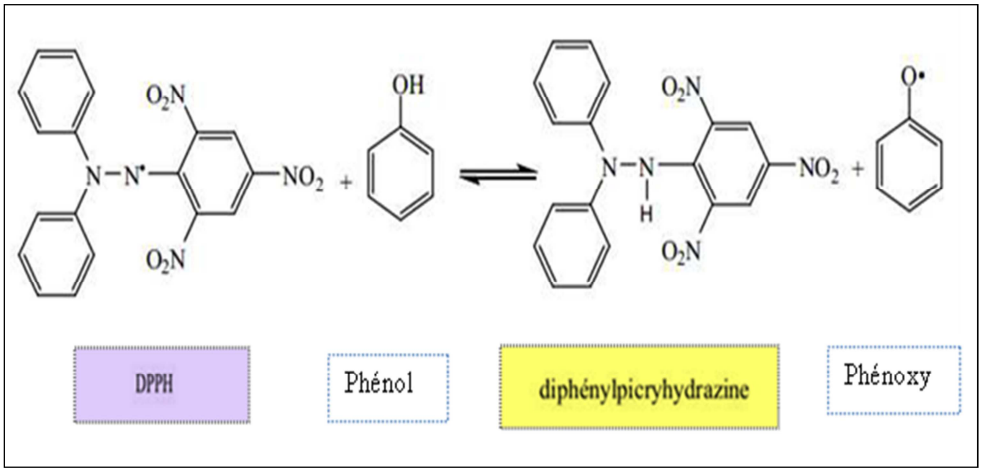


Figure 27 : Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec le DPPH• (Molyneux, 2004)

b-Procédure

L'activité du DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Blois (1958), une solution de 0,4 mM de DPPH préparée dans le méthanol et 160 µL de cette solution ont été ajoutés à 40 µL d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol à des concentrations différentes. Trente minutes plus tard, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Pour la comparaison de l'activité avec les extraits le BHA et le α-tocophérol ont été utilisés comme des standards antioxydants dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

La faible valeur d'absorbance de la réaction du mélange indique une activité de piégeage des radicaux libres supérieure. La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante :(I%) = (ABlanc - Aextrait / ABlanc) x 100

ABlanc : Absorbance de la réaction témoin contenant tous les réactifs sauf l'extrait.

AExtrait : Absorbance de la réaction contenant de l'extrait.

Le dosage spéctrophotométrique a été effectué dans des microplaques de 96 puits utilisant le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) comme réactif.

Les résultats sont la moyenne des analyses en triplicata, ils sont enregistrés en moyenne± écart type. La concentration d'extrait fournissant 50% d'activité de piégeage des radicaux (IC50) a été calculée à partir du graphe de DPPH. Le contrôle négatif est composé de 2 ml de la solution méthanolique au DPPH et de 2ml de méthanol.

IV.2.4.2. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

L'activité antioxydante par réduction cuprique (CUPRAC) des extraits a été déterminée selon la méthode décrite par Apak et ces co-auteurs (2004). Le terme CUPRAC est comme « *CUPric ion Reducing Antioxidant Capacity"*.

Ce test antioxydant est simple et polyvalent, il est appliqué pour une variété de composés polyphénoliques y compris les acides phénoliques, les acides hydroxy-cinnamiques, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les anthocyanes, les thiols, les antioxydants synthétiques et les vitamines C et E. C'est un test qui ressemble beaucoup au FRAP uniquement le cuivre (Cu) est utilisé au lieu de fer (Fe).

a-Principe

La présence des composés réducteurs dans les extraits provoque la réduction de Cu(II) dans le complexe Cu(II)-Nc afin de donner la forme réduite Cu(I)-Nc. La couleur jaune-orange est due au composé Cu(I)-Nc formé (Fig. 28). Elle permet de mesurer la réduction des ions cuivriques Cu(II) en ions cuivreux Cu(I).

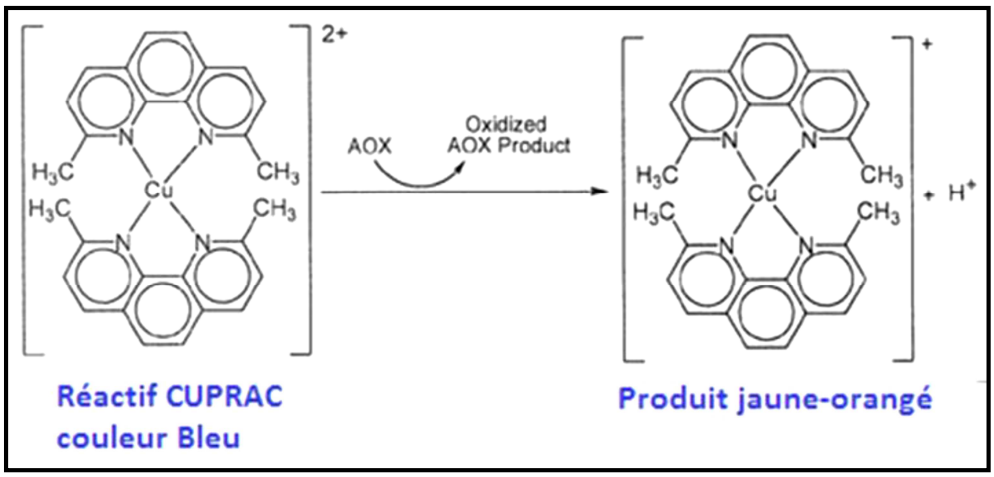


Figure 28 : Réduction du complexe chromogène de Cu+2-Nc

b-Protocole

Une solution est préparée avec le mélange des volumes suivants de : 50 µl de chlorure de cuivre Cucl2 (10 mM), 50 µL neocuprine (7,5 mM), et 60 µL de solution tampon d'acétate d'ammonium NH4Ac (1 M, pH = 7,0). Différentes concentrations d'extraits ont été ajoutées au mélange initial afin de rendre le volume final de 200 µL. Les microplaques de 96 puits ont été mises à l'abri de la lumière, et après une heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 450 nm. La capacité de réduction des extraits a été comparée à celles de l'α-tocophérol et du BHT. Les résultats ont été calculés à titre de A0.5 (µg / ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

IV.2.4.3. Pouvoir réducteur du Fer

a-Principe

En présence de substances ayant un potentiel réducteur, le ferricyanure de potassium $Fe^{3+}(CN^{-})_6$ se transforme en ferrocyanure de potassium $Fe^{2+}(CN^{-})_6$, qui réagit à son tour avec le chlorure ferrique pour donner lieu à un complexe qui a une absorption maximale à 700 nm (Jayanthi et Lalitha, 2011).

b-Protocole

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986) avec quelques modifications. 10 µL de chaque extrait ou de l'antioxydant standard (BHA et Quercétine) dans le méthanol à différentes concentrations sont mélangés avec 40 µl de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 50 µL de ferricyanure de potassium [K3Fe(CN)6] à 1%. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Après l'incubation le mélange est acidifié en ajoutant 50 µL de TCA (acide trichloracétique) à 10% ensuite un volume de 40 µL d'eau distillée et 10 µL d'une solution aqueuse $FeCl_3$ (0.1%) sont ajoutés au mélange. L'absorbance du mélange réactionnel est lue à 700 nm contre un blanc qui contient tous les réactifs sauf le $FeCl_3$. Une diminution de l'absorbance du milieu réactionnel indique une forte capacité réductrice.

IV.2.5.Activité anticholinesterase

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) a été mesurée en utilisant la méthode spéctrophotométrique décrite par Ellman et ses collaborateurs (1961) avec une légère modification. Cette activité nécessite les composés suivants : L'enzyme AChE de l'anguille électrique de sérum de cheval, l'iodure d'acétylthiocholine a été utilisé comme substrat de la réaction, le DTNB [5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)] a été utilisé pour la mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase, l'éthanol a été utilisé comme solvant pour dissoudre les composés d'essai et les contrôles.

a-Principe

L'hydrolyse du substrat (l'iodure d'acétylthiocholine) par l'enzyme (AChE) libère thiocholine qui réagit avec DTNB pour former d'anion 5-thio-2-nitrobenzoate de méthyle ceci se traduit par l'apparition d'une couleur jaune dont l'absorbance est suivie par spectrophotométrie (Fig. 29).

b-Protocole

150 µL de tampon phosphate de sodium (100Mm, pH 8,0), 10 µL d'une solution d'échantillon dissoute dans de l'éthanol à différentes concentrations et un volume de 20 µL l'AChE (5,32 × 10-3 U) ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 25 C° puis 10 µL de DTNB (0,5 mM) ont été ajoutés, ensuite, la réaction a été initiée par l'addition de 10 µL l'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM). L'hydrolyse du substrat est suivie par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 412 nm. Le pourcentage d'inhibition de l'enzyme AChE a été déterminé par comparaison de la réaction de l'échantillon comportant l'extrait par rapport à l'échantillon à blanc (EtOH dans du tampon phosphate (pH = 8) à l'aide de la formule suivante :

I (%) = (E – S)/E x 100

E : l'activité de l'enzyme sans extrait

S : l'activité de l'enzyme en présence d'extrait

Les expériences ont été réalisées en triplicata en utilisant la galanthamine comme composé de référence.

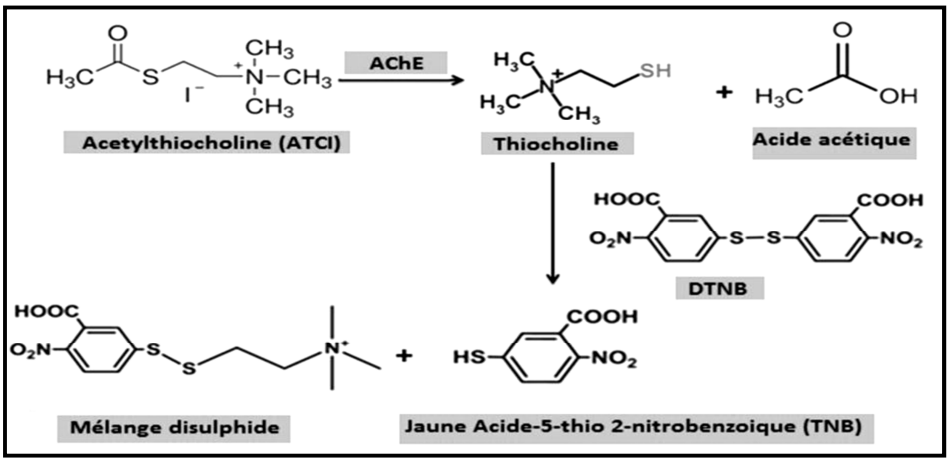


Figure 29 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman

Analyse statistique

Tous les échantillons ont été analysés en triplicata et les données ont été exprimées en (moyenne ± SEM). L'analyse de variance (ANOVA) one way a été utilisée pour tester les différences entre les groupes. Le test de comparaison multiple de Tukey a été utilisé pour déterminer la signification des différences entre les valeurs moyennes des groupes de traitement au niveau de $p \leq 0,05$ et le test Student a été utilisé pour les comparaisons simples en utilisant le logiciel Graph pad prism 7. Vu l'absence d'homogeneité de variance pour certains échantillons, nous avons utilisé le Test Mann Whitney pour les comparaisons multiples en utilisant le logiciel IBM SPSS Statistics Version 21.

CHAPITRE V
Résultats et Discussion

V.1. Extraction des huiles essentielles

V.1.1. La densité

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 8 on remarque que la densité des huiles essentielles des feuilles, des graines, et des fleurs de *F. lutea* récoltées à Amoucha est supérieure à celle des mêmes parties récoltées à Ain Abessa. Les valeurs de la densité sont respectivement : (0,91, 0,84, 0,82) et (0,79, 0,82, 0,76). Contrairement aux tiges récoltées à Ain Abessa dont la densité de l'huile essentielle est supérieure à celles récoltées à Amoucha avec ces valeurs respectives : (0,85 et 0,65).

La densité nous renseigne selon Garnero (1996) sur la composition chimique: ainsi une densité inférieure à 0,9 indique la présence, dans cette huile de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 signifie une composition très riches en composés terpéniques polycycliques, ceci est en accord avec nos résultats, lorsqu'on examine la composition chimiques de nos huiles essentielles on remarque qu'elles ne sont pas très riches en composés terpéniques polycycliques.

Tableau 8 : Densité des huiles essentielles des différentes parties de *F.lutea*

Différentes parties	**Densité**	
	Ain Abessa	Amoucha
Graines	0,82	0,84
Tiges	0,85	0,65
Fleurs	0,76	0,82
Feuilles	0,79	0,91

V.1.2. Le rendement

La première quantification à réaliser est celle du rendement en huile essentielle obtenue par la technique d'hydrodistillation. D'après les résultats mentionnés dans le Tab. 9, on remarque que les graines et les fleurs récoltées dans les deux régions possèdent le rendement en HE le plus élevé (1,65%, 2,48%) et (1,67%, 1,24%) parapport aux tiges et feuilles qui possèdent un rendement faible (0,03%, 0,02%) et (0,14%, 0,21%). D'une manière particulière le rendement en HE des feuilles récoltées dans les deux régions est supérieur à celui des tiges des deux régions.

Nos résultats concernant le rendement en HE des fruits de *F. lutea* sont en accords avec ceux de Talebi *et al*. (2008), où le rendement de *F. gummosa* originaire d'Iran est de 1,66 à 3,85 %. Mais le rendement de l'HE des feuilles de *F. lutea* reste faible paraport à celui

des feuilles de *F. vesceritensis* collectée dans la région de Ghardaïa qui est de 1,82% (Zellagui *et al*., 2012) et les racines de *F. ferulaoides* collectée à la Mongolie qui varie de 2.4 à 3.2 % (Shatar, 2005).

Tableau 9 : Rendements en huiles essentielles des différentes parties d e *F. lutea*

Différentes parties	Rendement%	
	Ain Abessa	Amoucha
Graines	1,656	2,484
Tiges	0,037	0,025
Fleurs	1,671	1,248
Feuilles	0,149	0,213

Nos valeurs restent toujours faibles paraport à ceux de Chibani et ses colaborateurs (2011), où le rendement en HE des parties aériennes (à l'état frais) de *F. lutea* récoltée dans la région de Constantine a donné un rendement de 1,0% (w/w) tandis que le rendement des racines de la même espèce est de 1,84% (Jabrane *et al*. 2008). Egalement, le rendement en huiles essentielles des feuilles et tiges à l'état frais et à l'état sec de *F. vesceritensis* collectée à Ghardaïa est superiuer à nos resultats, les valeurs sont dans l'ordre : 1,8%-1,6% et 1,6% - 1,4% respectivement (Labed, 2015). Nos résultats sur le rendement concernant les feuilles de *F. lutea* récoltées dans les deux régions sont inferieurs à ceux obtenu par Labed, (2015) qui est de 1,6%. De même notre rendement en HE des tiges de *F. lutea* collectée à Ain Abessa et Amoucha est inferieur (0,037 et 0,025) à celui des résultats du même auteur sur les tiges de *F. vesceritensis* (1,4%) et ceux d'Oughlissi-Dehak et ses collaborateurs, (2008) ou le rendement de la partie aérienne de *F. vesceritensis* est de 2%.

En fin on signale que le rendement en huiles essentielles des fleurs fraiches de *Ferula communis* L et de *Ferula lutea* L est identique à nos resultats il est de l'ordre de 1.0% (m/m) (Chibani, 2012).

La teneur en huile essentielles dépend de plusieurs facteurs, par exemple les Citrus ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (Bruneton, 1999). Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* sont plus riches en HE sous l'effet de fertilisants (Alvaez-Castellanos et Pascal-villabos, 2003). La teneur en huiles essentielles dépend aussi du moment de la récolte, les sommités fleuries et les feuilles doivent être récoltées avant la floraison, car selon Salle et pelletier (1991), après la floraison, 70% des huiles essentielles s'évaporent dans l'air, par contre la plante entière est généralement récoltée pendant la floraison (Flück, 1942). Le rendement et la composition des huiles essentielles varient selon les différents organes végétaux. Fellah *et al*. (2006) et Staniszewska *et al*.

(2005) ont montré que la plus forte concentration d'huiles de la carotte sauvages (*Daucus carota* L. ssp. Carota) a été observé en ombelles matures (1,06% v/w). Les ombelles fleuries contenaient 0,65% (v/w) par contre le reste de la partie aérienne contenait seulement 0,09% (v/w), ceci est en accord avec nos résultats où les ombelles matures d'Ain Abessa et d'Amoucha avaient le rendement le plus fort (1,65- 2,48), les ombelles fleuries avaient un rendement de (1,67-1,24) et les tiges avaient le rendement le plus faible (0,037-0,025). Il semble en fait que la teneur maximale en huile essentielle obtenue quand toutes les fleurs atteignent leur pleine maturité, parce que les calices contiennent le plus grand nombre de glandes sécrétrices par unité de surface (Rahman *et al*. 1999).

Selon Sandberg et Corrigam (2004), les plantes qui sont riches en HE (jusqu'à 10%) se trouvent dans environ 30% des familles botaniques. Certaines en sont hautement riches tel que les Apiaceae, les Lamiacées, les Lauracées, les Myrtacées, les Pinacées, les Rutacées et les Zingiberacées.

La teneur en HE provenant d'une espèce peut dépendre du sol, du climat, de l'ensoleillement, de la technique de séchage et du stockage (Naghdi Badi *et al*., 2004 ; Sandberg et Corrigam, 2004). L'origine de la plante peut influencer le rendement, *Salvia officinalis* récoltée dans deux régions différentes du Maroc à donné deux rendements différents 2,55% et 1,80% (w/w). La technique d'extraction joue également un rôle important dans le taux de rendement en HE. Ainsi une extraction au carbone supercritique a donné un rendement de *C. capticum* allant jusqu'à 5,8% (w/w) et celui par hydrodistilation 2,8% (v/w) (khajeh*et al*., 2004). Ainsi dans le cas des fruits de *D. carota* L., le rendement le plus élevé (1,17%) a été obtenu par le carbone supercritique alors que celui obtenu par hydrodistilation est de 0,69% (Glisic *et al*., 2007). Zheljazkov *et al*. (2013) ajoutent que le temps d'extraction a également une influence sur le rendement.

Tableau 10 : variations des rendements en HE en fonction de différents facteurs dans des espèces de la famille les Apiaceae.

Espèces	Cycle végétatif	Technique d'extraction	Organe utilisé	origine	rendement	références
F. lutea	Période floraison	Hydrodistillation // // //	Graine Tige Fleur Feuille	Ain Abessa	1,65% 0,03% 1,67% 0,14%	Présent travail
F. lutea	Période floraison	Hydrodistillation // // //	Graine Tige Fleur Feuille	Amoucha	2,48% 0,02% 1,24% 0,21%	Présent travail
F .lutea			Racine		1,84%	Jabrane *et al* ., 2008
F. lutea	Période floraison	hydrodistillation	Fleurs fraiches	Constantine	1,0%	Chibani, 2012
F. gummosa			Fruits	Iran	1,66-3,85%	Talebi *et al*., 2008
F. vesceritensis	Période floraison	hydrodistillatio	Fruits	Ghardaïa	1,38%	Rahmouni ,2014
F. vesceritensis	Période de floraison	hydrodistillation	Feuille	Ghardaïa	1,82%	Zellagui *et al*., 2012
F. vesceritensis	Période de floraison	hydrodistillation	Feuille fraiche Tige fraiche Feuille seche Tige seche	Ghardaia	1,8% 1,6% 1,6% 1,4%	Labed , 2015
F. ferulaoides			Racine	Mongolie	2,4-3,2%	Shatar, 2005
D. carota		CO2 supercritique hydrodistillation	Fruits	Serbie	1,17% 0,69%	Glisic *et al*., 2007
D. carota		hydrodistillation	Fleur Tige Feuille Racine	Chine	0,27% 0,07% 0,01% (v/w)	Yin *et al.*, 2006
D. carota		Distillation a la vapeur	Partie aérienne	Corse	0,6%	Gonny *et al* .,2004
D. gingidum		Hydrodistillation	Fruits Feuilles	Italie	0,21% 0,04% (w/w)	Flamini *et al.,*2007
D. sahariensis	Floraison développement de la plante floraison-fructification	Hydrodistillation	Feuille Fleur		0,27% 0,63% 0,68%	Flamini *et al.*, 2013

V.1.3. Composition chimique des huiles essentielles de *Ferula lutea*

L'examen des résultats des analyses (Tab.11) fait apparaître que l'huile essentielle des différentes parties (graines, tiges, fleurs et feuilles) de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa est

constituée de 42 composés dont : 32, 29, 29 et 31 sont identifiés ce qui correspond respectivement à 98,6- 99,1,-97,8 et 98,2% de la totalité des huiles (Fig. 30)

Tableau11 : Composition chimique des huiles essentielles de *F.lutea* récoltée à Ain Abessa

N0	Constituants (%)	l.r.i.	Graines	Tiges	Fleurs	Feuilles
1	α-thujene	933	0,4	0,4	0,4	0,3
2	α-pinene	941	**20,5**	**20,9**	**20,0**	**18,1**
3	camphene	955	0,3	0,3	0,3	0,3
4	thuja-2,4(10)-diene	959	0,1	0,1	-	-
5	sabinene	977	0,7	1,2	0,8	0,9
6	β-pinene	982	1,1	0,8	1,0	0,5
7	myrcene	993	**4,8**	**3,3**	**4,6**	**2,7**
8	mesitylene	996	0,8	0,2	1,3	0,9
9	δ-2-carene	1002	0,1	-	-	-
10	*(E)*-2-(1-pentenyl) furan	1003	-	-	-	0,2
11	α-phellandrene	1006	**5,0**	**5,6**	**3,3**	**4,9**
12	δ-3-carene	1013	**34,6**	**36,5**	**33,0**	**27,0**
13	α-terpinene	1020	0,1	-	-	-
14	*p*-cymene	1028	**0,8**	**10,2**	**3,8**	**4,6**
15	limonene	1032	**6,7**	**11,8**	**8,3**	**12,0**
16	*(Z)*-β-ocimene	1042	0,4	0,4	0,4	0,4
17	*(E)*-β-ocimene	1052	0,3	0,2	0,3	0,4
18	γ-terpinene	1063	1,0	0,3	0,7	0,2
19	isoterpinolene	1088	0,8	0,5	0,8	0,3
20	terpinolene	1090	3,0	1,1	3,5	0,9
21	6-camphenone	1092	-	0,2	-	-
22	*cis*-limonene oxide	1134	-	0,3	0,5	-
23	*trans*-verbenol	1147	0,2	-	0,3	-
24	*cis*-chrysanthenol	1163	0,2	-	-	-
25	4-terpineol	1179	0,1	0,2	0,3	0,2
26	cryptone	1184	-	-	-	0,2
27	verbenone	1207	-	0,2	0,1	-
28	4-methyleneisophorone	1220	0,3	-	0,7	0,2
29	*cis*-chrysanthenyl acetate	1263	**9,7**	**2,0**	**3,9**	**4,9**
30	bornyl acetate	1287	0,1	0,4	0,1	0,3
31	*trans*-pinocarvyl acetate	1298	0,1	-	-	-
32	2,3,4-trimethylbenzaldehyde	1315	0,5	-	0,5	-
33	δ-elemene	1340	0,1	-	-	-
34	2,3,6-trimethylbenzaldehyde	1354	**4,7**	**0,7**	**6,7**	**9,2**
35	α-copaene	1377	0,5	0,2	0,4	1,4
36	β-bourbonene	1385	-	-	-	0,6
37	β-cubebene	1391	-	0,1	0,2	0,6
38	β-caryophyllene	1419	0,2	0,2	0,2	0,8
39	germacrene D	1482	0,4	0,6	1,1	4,0
40	δ-cadinene	1524	-	-	-	0,3
41	spathulenol	1577	-	-	-	0,2
42	caryophyllene oxide	1582	-	0,2	-	0,7
Monoterpènes hydrocarbonés (%)			80,7	93,6	81,2	73,5
Monoterpènes oxygénés (%)			10,4	3,3	5,5	5,4
Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)			1,2	1,1	1,9	7,7
Sesquiterpènes oxygénés (%)			0,0	0,2	0,0	0,9
Apocarotenes (%)			0,3	0,0	0,7	0,2
Derivés non-terpeniques(%)			6,0	0,9	8,5	10,5
Total identifié **(%)**			98,6	99,1	97,8	98,2

Iri : indice de rétention

Les HEs des graines, tiges, fleurs et feuilles sont caractérisées par une fraction importante de monoterpènes hydrocarbonés, leurs pourcentages sont respectivement 80,7- 93, 6- 81,2 et 73,5%, donc le pourcentage de la famille chimique des différentes parties est dans cet ordre décroissant : monoterpènes hydrocarbonés > monoterpènes oxygénés > sesquiterpènes hydrocarbonés > sesquiterpènes oxygénés, sachant que ces derniers sont pratiquement absents dans les HEs des graines et fleurs (Fig.30).

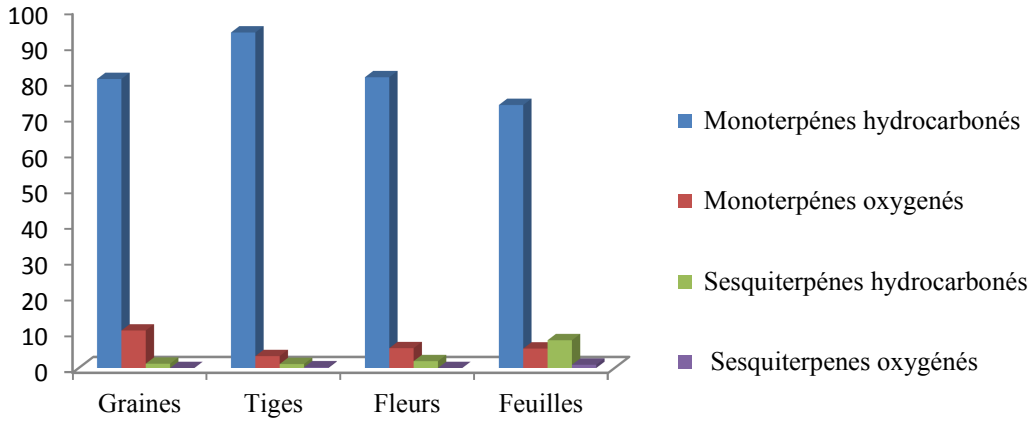


Figure 30 : Famille chimique des HEs des diferentes parties de *F. lutea* recoltée à Ain Abessa

Les composés majoritaires pour les tiges, fleurs et feuilles récoltées à Ain Abessa sont l'α-pinène, δ-3-carène et limonène, leurs pourcentages sont respectivement (20,9%- 20% - 18,1%) ; (36,5%- 33,0%- 27,0%) et (11,8%- 8,3% - 12,0%). Mis à part l'α-pinène et δ-3-carène qui soient les composés majoritaires des HEs des graines (20,5%- 34,6%), le *Cis*-chrysanthenyl acétate est également majoritaire (09,7%). Le représentant majoritaire des sesquiterpènes hydrocarbonés pour les graines, tiges, fleurs et feuilles est le germacrène D avec ces pourcentages respectifs (0,4% ; 0,0% ; 0,9% et 2,5%) (Fig. 31, 32, 33 et 34).

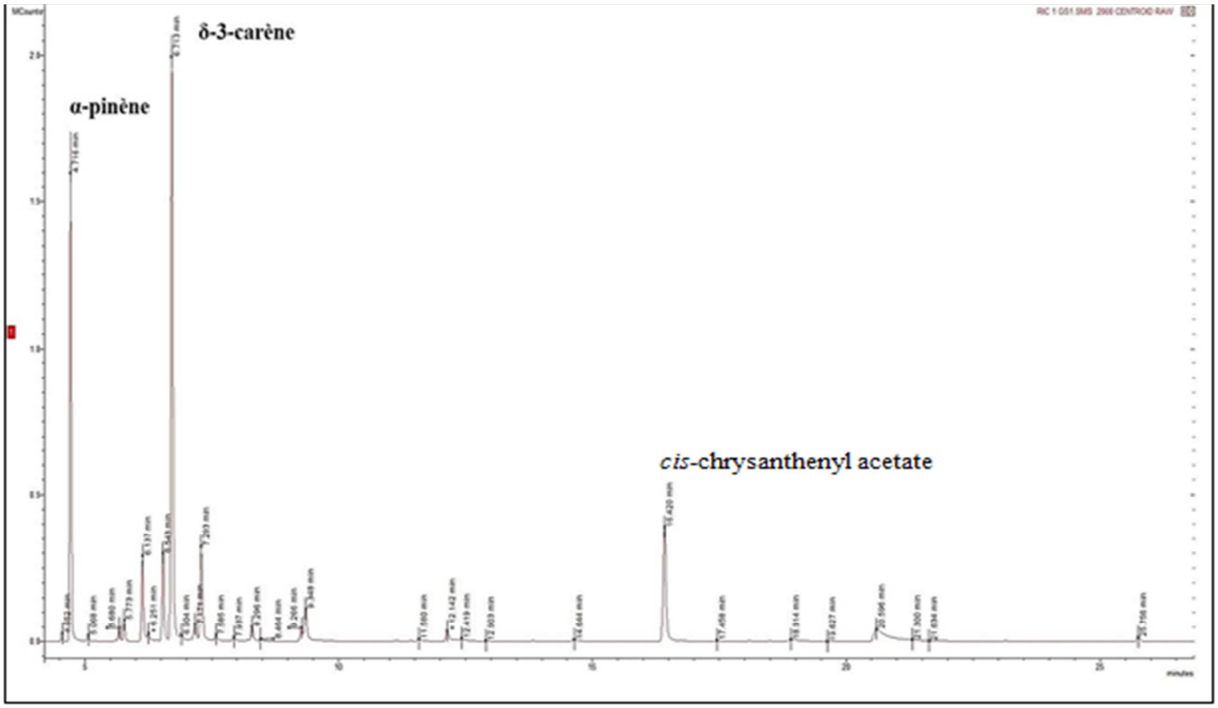


Figure 31 : Chromatogramme de l'HE des graines d'Ain Abessa

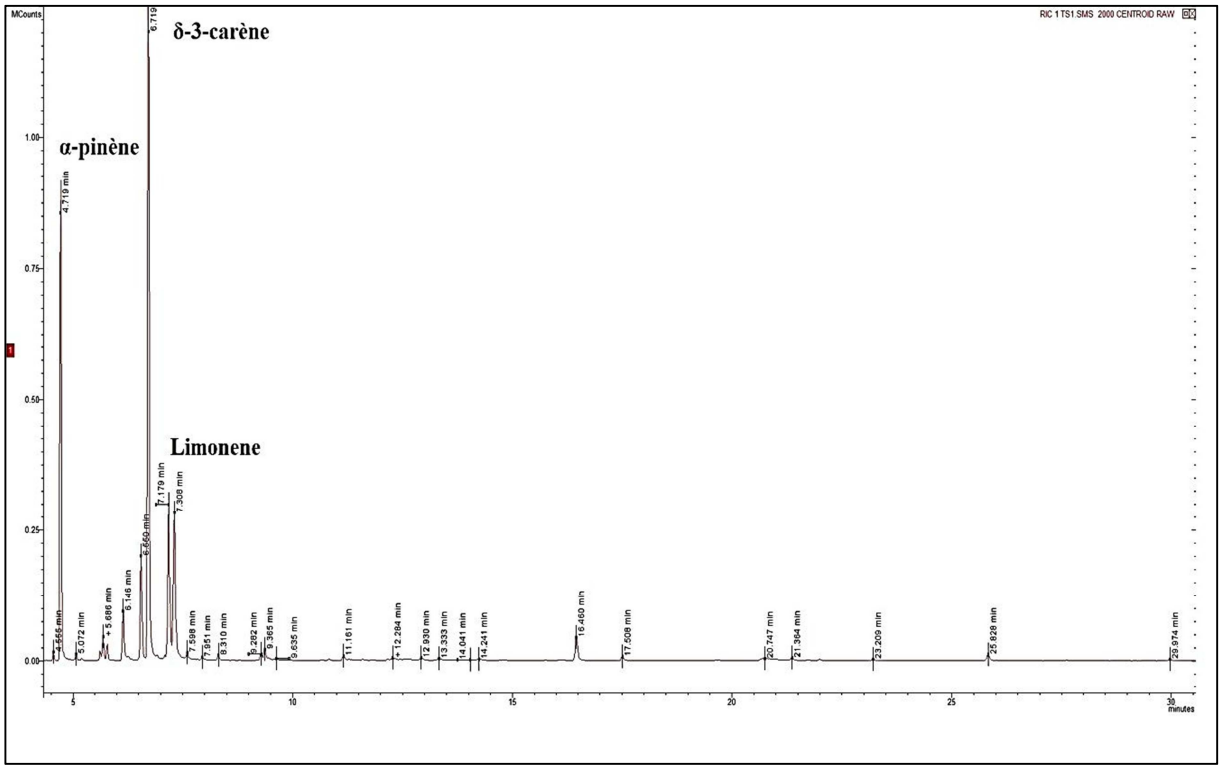


Figure 32 : Chromatogramme de l'HE des tiges d'Ain Abessa

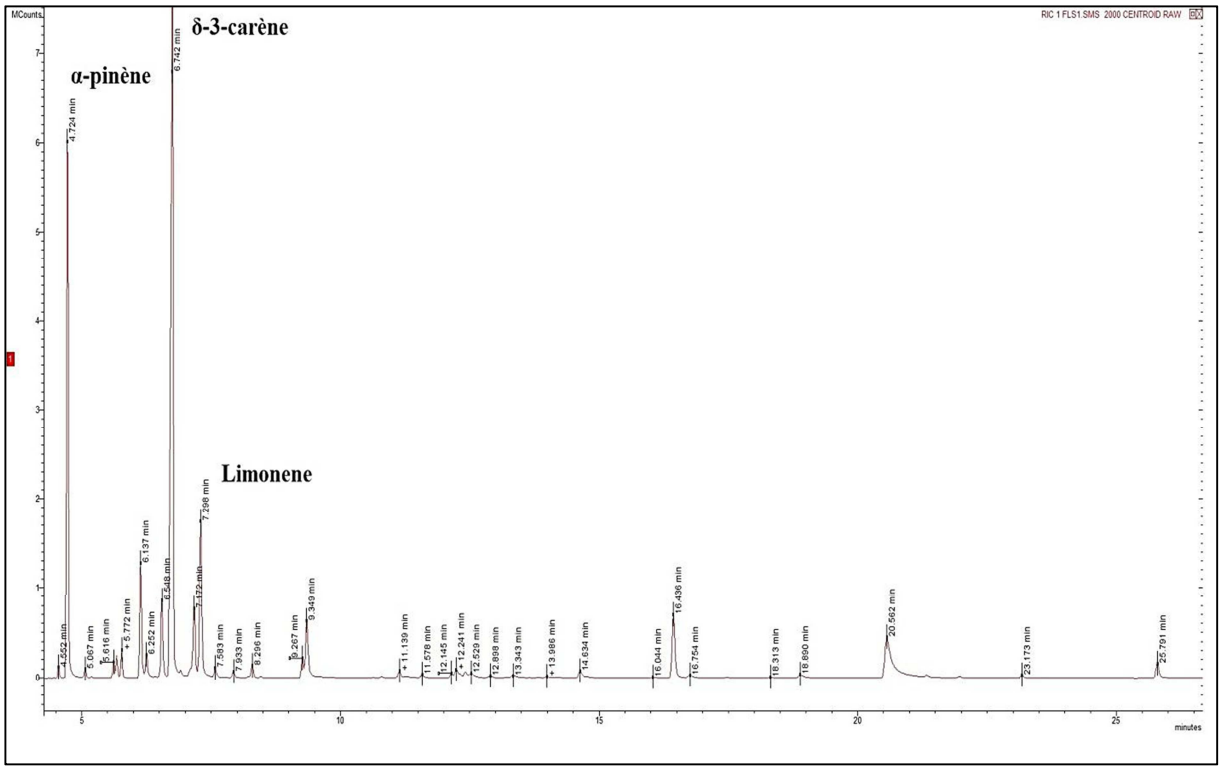


Figure 33 : Chromatogramme de l'HE des fleurs d'Ain Abessa

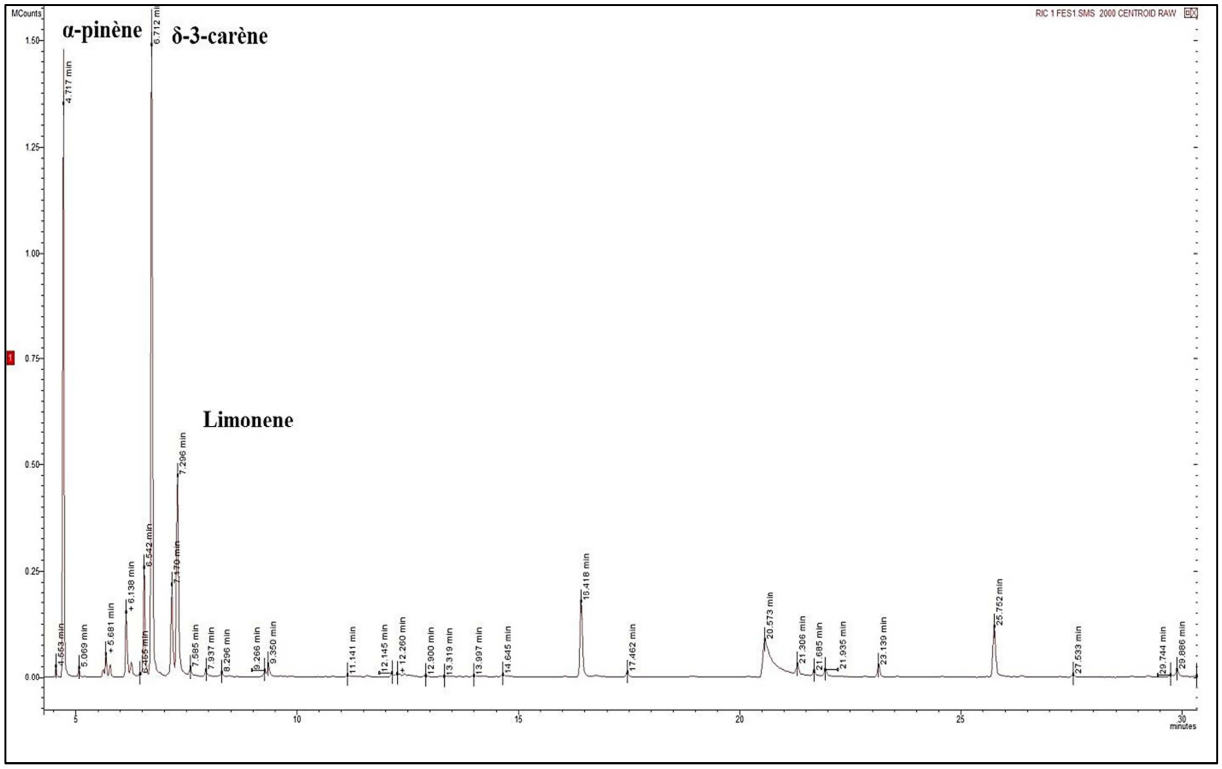


Figure 34 : Chromatogramme de l'HE des feuilles d'Ain Abessa

On remarque que le germacrène D est pratiquement absent dans les HEs des tiges. Par ailleurs l'huile essentielle des différentes parties (graines, tiges, fleurs et feuilles) de *F. lutea* récoltée à Amoucha est constituée de 46 composés dont : 31, 25, 29 et 29 sont identifiés respectivement ce qui correspond à 98,7, 98,4%, 98,5% et 97,5% respectivement de la totalité de l'huile (Tab.12).

Tableau 12 : Composition chimique des huiles essentielles de *F.lutea* récoltée à Amoucha

No	Constituants (%)	l.r.i.	Graines	Tiges	Fleurs	Feuilles
1	*(Z)*-3-hexen-1-ol	857	-	-	-	-
2	1-hexanol	869	-	-	-	-
3	α-thujene	933	0,3	0,4	0,3	0,3
4	α-pinene	941	**16,5**	**27,0**	**19,6**	**16,1**
5	camphene	955	0,2	0,2	0,2	0,2
6	thuja-2,4(10)-diene	959	0,1	0,1	-	-
7	sabinene	977	0,5	0,9	0,7	1,2
8	β-pinene	982	0,8	1,0	0,8	0,5
9	myrcene	993	**4,5**	**2,3**	**4,0**	**5,3**
10	mesitylene	996	0,7	0,6	0,7	1,0
11	δ-2-carene	1002	0,1			
12	*(E)*-2-(1-pentenyl) furan	1003	-	-	-	0,2
13	α-phellandrene	1006	**5,2**	**0,8**	**5,1**	**5,5**
14	δ-3-carene	1013	**27,4**	**30,2**	**33,1**	**20,6**
15	α-terpinene	1020	0,1	-	-	-
16	*p*-cymene	1028	**0,4**	**9,7**	**1,4**	**5,1**
17	limonene	1032	**5,2**	**9,5**	**7,8**	**10,5**
18	*(Z)*-β-ocimene	1042	0,2	-	0,4	0,3
19	*(E)*-β-ocimene	1052	0,1	-	0,1	.-
20	γ-terpinene	1063	0,8	-	0,5	0,2
21	isoterpinolene	1088	0,6	0,1	0,6	0,2
22	terpinolene	1090	2,3	0,2	2,8	0,8
23	*p*-cymenene	1091	-	0,2	-	-
24	6-camphenone	1092	-	0,3	-	-
25	*cis*-limonene oxide	1134			0,1	
26	*trans*-verbenol	1147	0,1	-	0,1	-
27	*cis*-chrysanthenol	1163	-	0,8	-	-
28	4-terpineol	1179	0,2	0,4	0,2	0,3
29	*p*-cymen-8-ol	1185	-	-	0,1	-
30	myrtenal	1193	0,1	-	-	-
31	verbenone	1207	-	0,2	-	-
32	4-methyleneisophorone	1220	0,2	-	0,4	0,2
33	*cis*-chrysanthenyl acetate	1263	**14,9**	**8,6**	**6,9**	**9,5**
34	bornyl acetate	1287	0,2	0,2	0,1	0,2
35	*trans*-pinocarvyl acetate	1298	0,2	-	-	-
36	2,3,4-trimethylbenzaldehyde	1315	1,6	-	0,5	-
37	δ-elemene	1340	0,2	-	-	-
38	2,3,6-trimethylbenzaldehyde	1354	**14,4**	**3,2**	**9,6**	**11,7**
39	α-copaene	1377	-	1,1	1,2	1,8
40	β-bourbonene	1385	-	-	-	0,8
41	β-cubebene	1391	-	-	0,2	0,9
42	β-caryophyllene	1419	0,2	0,1	0,1	0,5
43	germacrene D	1482	0,4	-	0,9	2,5
44	δ-cadinene	1524	-	-	-	0,2
45	spathulenol	1577	-	-	-	0,2

46	caryophyllene oxide	1582	-	0,3	-	0,7
Monoterpenes hydrocarbonés (%)			65,3	82,6	77,4	66,8
Monoterpenes oxygénés (%)			15,7	10,5	7,5	10,0
Sesquiterpenes hydrocarbonés (%)			0,8	1,2	2,4	6,7
Sesquiterpènes oxygénés (%)			0,0	0,3	0,0	0,9
Apocarotenes (%)			0,2	0,0	0,4	0,2
Derivés non-terpeniques (%)			16,7	3,8	10,8	12,9
Total identifié **(%)**			98,7	98,4	98,5	97,5

RI: indice de rétention

Les huiles essentielles des graines, des tiges, des fleurs et des feuilles sont caractérisées par une fraction importante de monoterpènes hydrocarbonés, leurs pourcentages sont respectivement (65,3- 82,6- 77,4 et 66,8%. Le pourcentage de la famille chimique des différentes parties est comme suit monoterpènes hydrocarbonés> monoterpènes oxygénés> sesquiterpènes hydrocarbonés> sesquiterpènes oxygénés (Fig. 35). Sachant que ces derniers sont pratiquement absents dans les HEs des graines et fleurs.

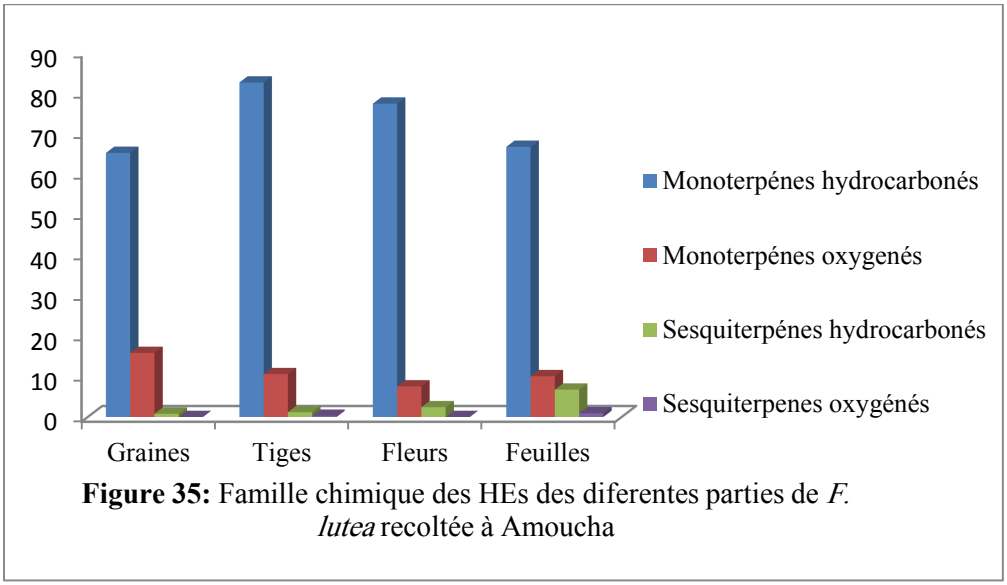


Figure 35: Famille chimique des HEs des diferentes parties de *F. lutea* recoltée à Amoucha

Les composés majoritaires des monoterpènes pour les graines, tiges, fleurs et feuilles récoltées à Amoucha sont l'α-pinène et δ-3-carène leurs pourcentages sont respectivement : 16,5% - 27,%- 19,6% - 16,1% et 27,4%- 30,2% - 33,1% - 20,6%. Par contre, le *P*-cymene et le composé majoritaire des HEs des tiges (9,5%) et *Cis*-chrysanthenyl acétate est le majoritaire des HEs des graines (14,9%), enfin 2-3-6-trimethylbenzaldehyde est majoritaire des HEs des fleurs et feuilles (9,6% et 11,7%). Par ailleurs, le représentant majoritaire des sesquiterpènes hydrocarbonés est le germacrène D avec ces pourcentages respectifs (0,4%-0,0% -0,9% et 2,5%) (Fig. 36, 37, 38 et 39).

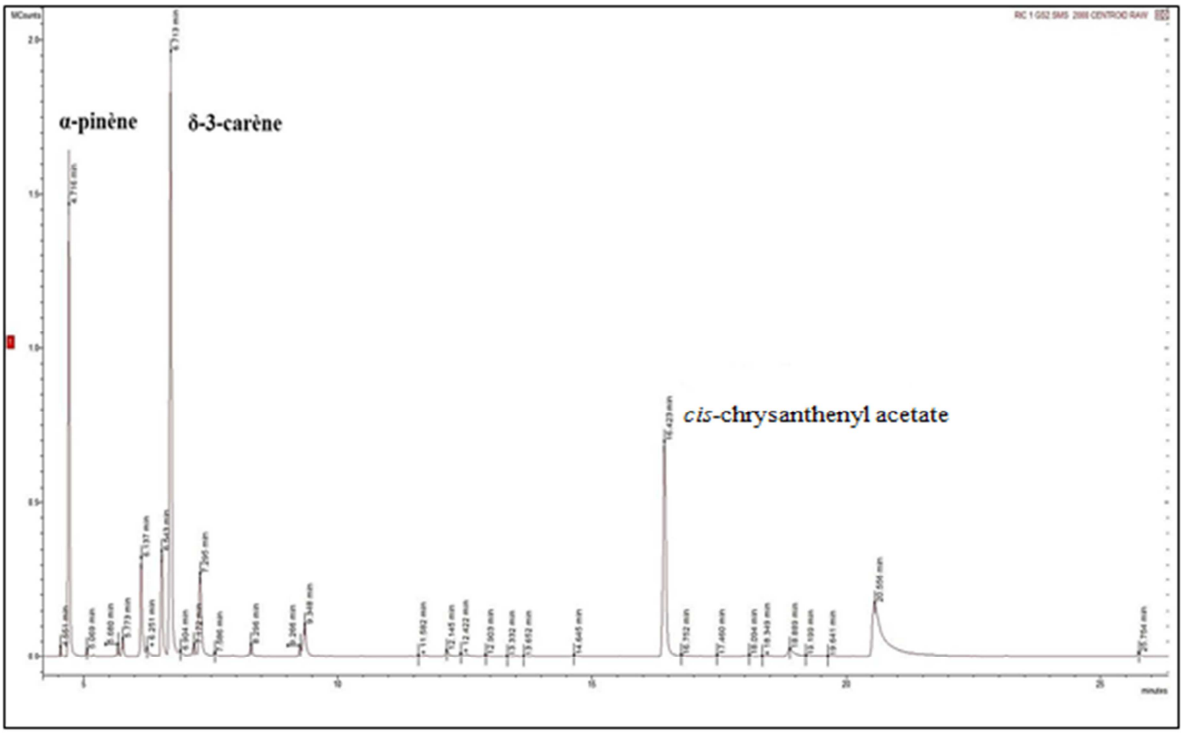


Figure 36 : Chromatogramme de l'HE des graines d'Amoucha

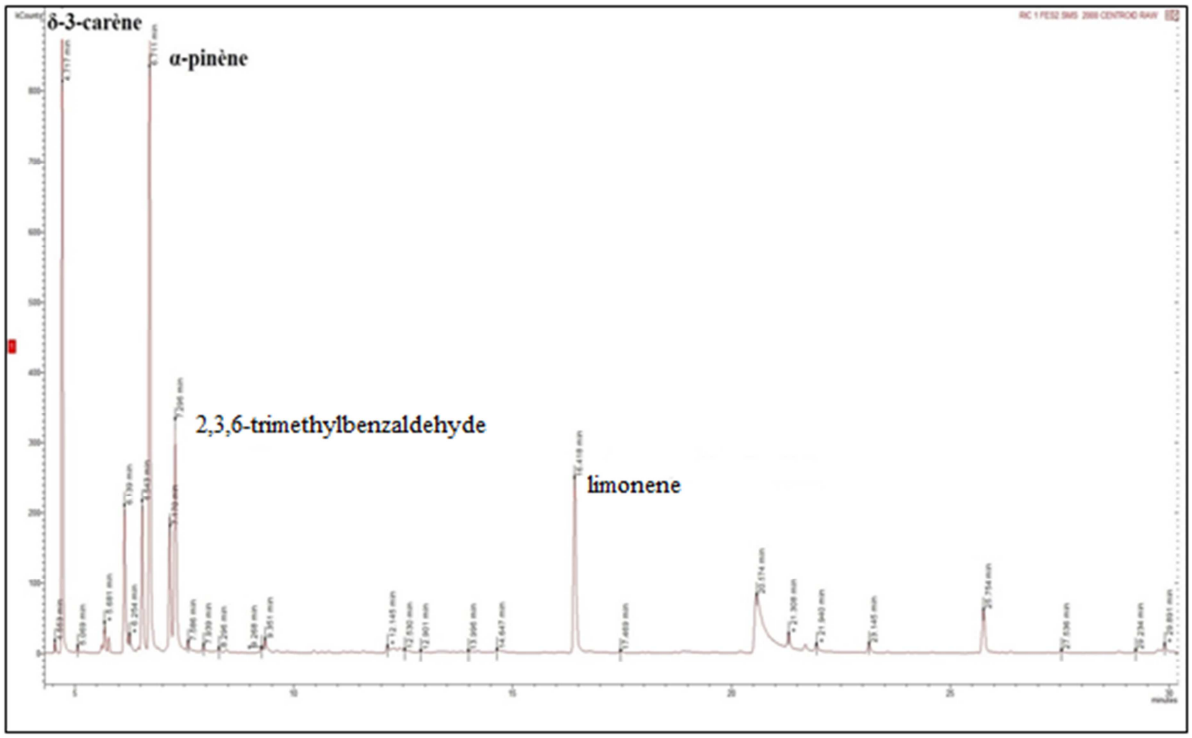


Figure 37 : Chromatogramme de l'HE des tiges d'Amoucha

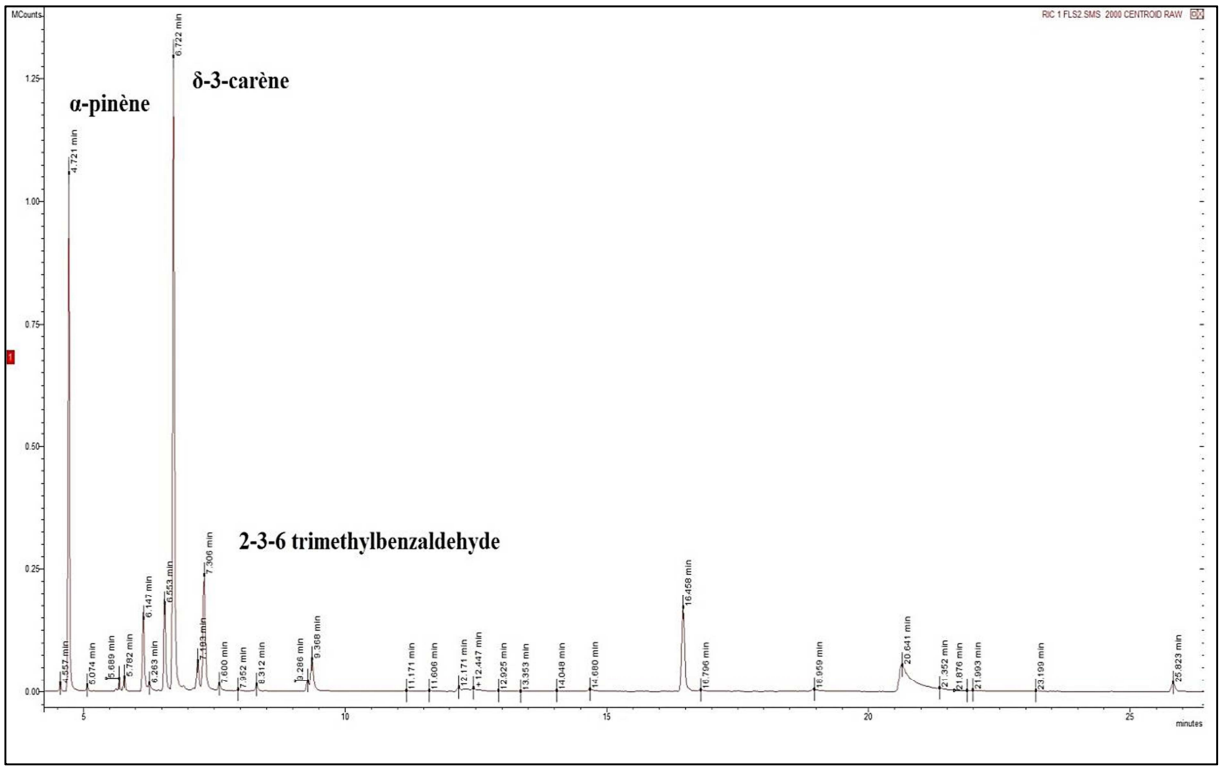


Figure 38 : Chromatogramme de l'HE des fleurs d'Amoucha

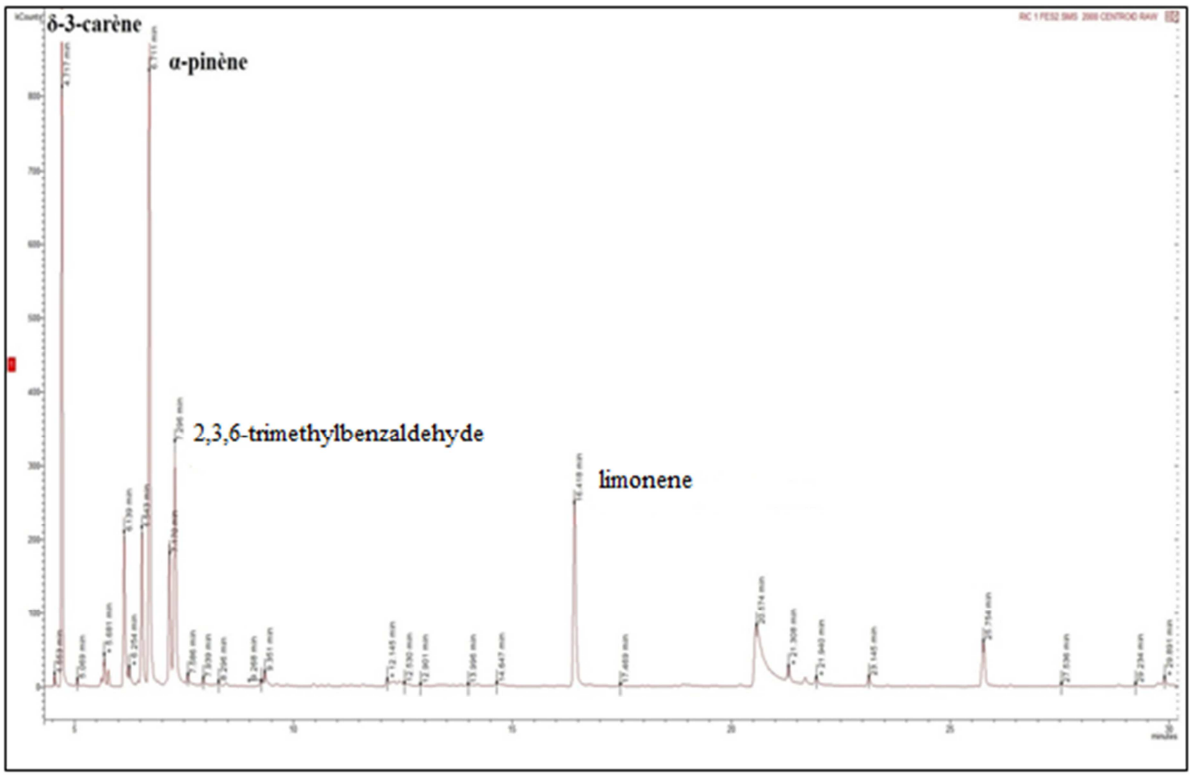


Figure 39 : Chromatogramme de l'HE des feuilles d'Amoucha

A la lumière des résultats mentionnés dans les (Tab.11 et 12) on constate que le germacrène D est pratiquement absent dans les HEs des tiges. D'une manière générale le pourcentage des composés majoritaires des différentes parties récoltées à Ain Abessa est supérieur par rapport à ceux d'Amoucha. On note que le pourcentage du phelandrene dans les tiges (5,6%) d'Ain Abessa est 07 fois supérieur à celui des tiges (0,8%) d'Amoucha. Contrairement aux 2-3-6 trimethylbenzaldehyde et *cis*-chrysanthenyl acétate leurs pourcentages dans les différentes parties (graine, tige, fleur et feuille) récoltées à Amoucha sont supérieurs par rapport à ceux d'Ain Abessa. Leurs pourcentages sont respectivement : 14,4%- 3,2% -9,6% - 11,7%; 14,9%-8,6%-6,9% - 9,5% ; 4,7%- 0,7% -6,7% - 9,2% et 9,7%- 2,0% -3,9% et 4,9%.

Le pourcentage de l'α-pinène est le meilleur dans les différentes parties (graines, fleurs et feuilles) récoltées à Ain Abessa par rapport à celui d'Amoucha avec ces valeurs respectives : 20,5- 20,0- 18,1% et 16,5- 19,6 et 16,1%, mais c'est le contraire pour les tiges récoltées à Amoucha où l'α-pinène présente un taux élevé de 27,0% par rapport à celui des tiges récoltées à Ain Abessa, son taux est de 20,9%, mais toutefois le taux de l' α-pinène reste faible dans les feuilles.

Nos résultats sont en accords avec ceux de plusieurs travaux sur des espèces du genre Ferula, l'α-pinène est le composé majoritaire de l'HE des fleurs de *F. lutea* récoltée à Constantine, son pourcentage est de 25,8% (Znati *et al*., 2012). L'HE des fruits de *F. vesceritensis* récoltée dans le Sud algérien (Ghardaïa) est caractérisé par un taux élevé d' α-pinène égal à 28,57% (Rahmouni, 2014). L' α-pinène est également le composé majoritaire (27,27%) de l'HE des fruits de *Ferula gummosa* originaire d'Iran (Ghasemi *et al*., 2005) et l'HE de *F. badrakema* originaire d'Iran, son taux est égal à 45,8%, et *F .elaeochytris* originaire de Turquie ou son pourcentage est de 12,7% (Baser *et al*., 2000). Enfin L'HE des fruits de *F. glauca* originaire d'Italie son taux d'α-pinène est égal à 24,2%.

Mais nos résultats sur l'α-pinène ne sont pas en accord avec ceux de Bensalem *et al.* (2016) où l'HE des racines de *F. lutea* récoltée à Constantine est caractérisée par un taux faible d' α-pinène de 5,8% même les résultats de Chibani, (2012) le taux d' α-pinène dans les parties aériennes fraiches est de 10,9%. Le taux de myrcene de l'HE des feuilles récoltées à Amoucha est deux fois supérieur (5,3%) à celui des feuilles récoltées à Ain Abessa (2,7%), ces pourcentage sont présque identiques à ceux obtenu par Bensalem *et al*., (2016) sur les racines de *F. lutea* ou le taux de myrcene est de 5,1%. Toutefois ces taux restent trop faibles comparativement à ceux de *F. communis* originaire de France (Corce) ou le pourcentage de myrcene est égal à 53,5% (Ferrari *et al*., 2005).

D'une manière générale le taux δ- 3-carène des différentes parties (graines, tiges, fleurs et feuilles) récoltées à Ain Abessa (34,6-36,5-33,0- et 27,0%) est supérieur à celui des différentes parties récoltées à Amoucha (27,4-30,2-33,1 et 20,6%) toutefois les tiges récoltées à Ain Abessa possèdent le taux le plus élevé qui est de 36,5%. Nos résultats sont en accord avec ceux de Bensalem *et al*. (2016) réalisés sur l'HE des racines de *F. lutea* qui est caractérisée par un taux élevé de δ- 3-carène égal à 72,6%, même l'HE des fleurs de *F. lutea* récoltée à Constantine possède un taux de δ- 3-carène de 31,2% (Znati *et al*., 2012) et restent supérieur à ceux de *F. gummosa* originaire d'Iran, son taux est de 6,7% (Talebi *et al*., 2008).
Le pourcentage de *p*-cymène des huiles essentielles des graines et fleurs récoltées à Ain Abessa est deux fois supérieur à celui de celles récoltées à Amoucha, les valeurs sont respectivement (0,8 et 3,8%), (0, 4 et 1,4%), par contre les huiles essentielles des tiges récoltées dans les deux régions sont présque identique (10,2 et 9,7%). Les huiles essentielles des feuilles récoltées dans les deux régions possèdent le pourcentage le plus élevé de limonène (12,0 et 10,5%). Le limonène des fruits de *F. gummosa* originaire de plusieurs régions d'Iran varie de 1,06 à 9,15%. Limonène d'olegum résine de *F. gummosa* originaire d'Iran est égal à 14,0%.

Le pourcentage du 2-3-6 trimethylbenzaldehyde au niveau des graines récoltées à Amoucha est trois fois supérieur (14,4%) à celui des graines récoltées à Ain Abessa (4,7%), même son pourcentage au niveau des tiges récoltées à Amoucha est cinq fois supérieur (3,2%) à celui des tiges récoltées à Ain Abessa (0,7%). les tiges possèdent le pourcentage le plus faible de 2-3-6 trimethylbenzaldehyde son taux varie de 0,7% a 3,2%. Nos résultats sont en accord avec ceux de Chibani, (2012) ou les parties aériennes fraiches possèdent un taux de 20,8%.

Le pourcentage de l'α-phelandrene au niveau des tiges récoltées à Ain Abessa est sept fois supérieures (5,6%) à celui des tiges récoltées à Amoucha (0,8%). Nos résultats sont presque proches à ceux de Bensalem *et al*. (2016) où l'HE des racines de *F. lutea* récoltée à Constantine est caractérisée par un taux d'α-phelandrene égal à 4%. Le pourcentage du *Cis*-chrysanthenylacetate dans l'HE des tiges récoltées à Amoucha est quatre fois supérieures (8,6%) à celui des tiges récoltées à Ain Abessa (2,0%). Le pourcentage de ce composé dans les tiges et racines de *F. gummosa* originaire d'Iran est de 6,1% (Rustaiyan *et al*., 2005). Le taux de germacrène D est identique pour les graines récoltées dans les deux régions, il est égal à 0,4% et pratiquement nul (0,0%) dans les tiges récoltées à Amoucha, mais ce résultat est très faible par rapport à celui obtenu par Zellagui *et al*. (2012) où le germacrène des feuilles

de *F. vesceritensis* récoltée à Ghardaïa est de 24,51%. L'HE des fleurs de *F. glauca* originaire d'Italie est de 14,2% (Maggi *et al*., 2009).

Les résultats obtenus montrent quil y a des différences dans la composition chimique des huiles étudiées qui pourraient être attribuées aux changements climatiques et géographiques aussi bien qu'aux différences de la composition du sol, la méthode d'extraction, la partie de la plante (les fleurs, les graines, les feuilles, les tiges, l'écorce, les fruits ou les racines), l'âge de la plante et l'étape de croissance (Masotti *et al*., 2003 ; Angioni *et al*., 2006).

Il apparait que l'α-pinène est un marqueur du genre *Ferula* puisqu'il est trouvé en quantité majoritaire dans un très grand nombre d'espèces citées dans le (Tab.13). On peut considérer que l'α-pinène et le β-pinène sont des chémotypes des huiles essentielles du genre *Ferula*

Tableau 13 : résume la plupart des études bibliographiques sur les huiles l'essentielles obtenues à partir de différentes parties d'espèces de *Ferula*

Espèces	Parties	Composés majoritaires	%	Origine	Références
F. gummosa	fruits	α –pinene β-pinene	27,27 43,78	Iran	Ghasemi *et al*., 2005
F. gummosa		α –pinene β-pinene	27,27 43,78	Isfahan	Talebi *et al*., 2008
F. badra-kema		α –pinène β-pinène	45,8 10,9	Iran	Asili *et al*., 2009
F. communi		α –pinène myrcene	6,6 53,5	France (corse)	Ferrari *et al*., 2005
F. elaeochytris		α –pinène	12,7	Turquie	Baser *et al*., 2000
F. flabelliboba		α –pinène limonene	10,0 5,0	Iran	Rustaiyan *et al*., 2001
F. glauca	fleurs	α –pinene β-pinene myrcene Germacrene D	11,7 5,1 13,6 14,2	Italie	Maggi *et al*., 2009
F. glauca	fruits	α –pinene β-pinene	24,2 14,7	Italie	Maggi *et al*., 2009
F. gummosa		α –pinene β-pinene δ-3-carene	18,3 50,1 6,7	Iran (téhéran)	Talebi *et al*., 2008
F. gummosa	fruits	α –pinene β-pinene limonene γ-3-carene	26,85-69,1 51,42-33,9 1,06-9,15 10,59-11,80	Plusieurs regions d'iran	Talebi *et al*., 2008
F.gummosa	(Olegum resin)	α –pinene myrcene limonene	13,0 10,0 14,0	Iran	Sadraei *et* ***al.,*** 2001
F.gummosa	Tiges et racines	β-pinene Cis-chrysanthenyl acétate	46,4-58,8 6,1	Iran	Rustaiyan *et al*., 2005
F. hirtella		α –pinene β-pinene limonene	15,4 5,9 5,1	Iran	Akhgar *et al*., 2005

F. macrocolea		α –pinene β-pinene	10,4 15,9	Iran	Rustaiyan *et al*., 2005
F. vesceritensis	feuilles	9-9-tetradecadiyne Germacrene D Farnesene α -Bisaboléne	24,7 24,5 8,5 8,5	Algerie Ghardaia	Zelagui *el al*., 2012
F. vesceritensis	fruits	α –pinene	28,57%	Algerie Ghardaia	Rahmouni, 2014
F. lutea	Graine Tige Fleurs Feuille	α pinène,δ-3-carene, limonene	20,5;34,6;6,7 20,9;36,5;11,8 20,0;33,0;8,3 18,1;27,0;12,0	Algerie Ain Abessa	Présent travail
F. lutea	Graine Tige Fleurs Feuille	α pinène,δ-3-carene, limonene	16,5;27,4;5,2 27,0;30,2;9,5 19,6;33,1;7,8 16,1;20,6;10,5	Algerie Amoucha	Présent travail

V.2.Préparation des extraits

V.2.1. Rendement en extraits brut

Les pourcentages massiques ainsi que les couleurs des fractions obtenues à partir des extraits bruts hydrométhanoliques de la partie aérienne de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha sont mentionnés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Rendements des diverses fractions extraites en pourcentage par rapport au poids total.

		Extrait d'hexane	Extrait acétate d'éthyle	Extrait *n*-butanolique	Extrait aqueux	Extrait brut
Rendement d'extraction en %	Ain Abessa	0,24	0,84	1,34	4,18	16,46
Couleur aspect des extraits		marron, pâteux	acajou, cristallisé	Jaune verdâtre, pâteux	marron caramélisé	vert pâteux
Rendement d'extraction en %	Amoucha	0,7	0,82	2,0	5,22	19,1
Couleur aspect des extraits		marron, pâteux	acajou, cristallisé	Jaune verdâtre, pâteux	Marron caramélisé	vert pâteux

Le rendement des différents extraits est dans l'ordre décroissant suivant : Ebr>EAq>EBu>EAc>EHx. Mais toutes fois les rendements des fractions de l'extrait brut hydrométhanolique de *F. lutea* récoltée à Amoucha sont supérieures à ceux de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa. En général, le rendement d'extraction augmente avec l'augmentation de polarité des solvants utilisés. Cette constatation a été observée dans les extraits aqueux d'Ain Abessa et d'Amoucha (4,18 et 5,22) et extraits brut hydrométhanolique (16,46 et 19,1).

Par ailleurs l'extrait d'hexane a représenté le rendement le plus faible (0,24 et 0,7) cela est probablement du à la faible solubilité des molécules. Un rendement plus élevé dans la fraction hexanique (0,7%) se justifie par la présence d'une quantité non négligeable d'acides gras (Tahiri *et al*., 2011).

Les rendements d'extraction observés dépendent à la fois de la région de la plante et aussi du solvant d'extraction, le rendement d'extraction obtenu avec le mélange hydrométhanolique est toujours le plus élevé, cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau est un solvant fortement polaire connue pour extraire une large gamme de molécules dont une quantité importante de composés non phénoliques comme les glucides et les protéines (Bonnaillie *et al*., 2012).

V.2.2. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

L'évaluation du contenu en composés phénoliques dans divers extraits obtenus par fractionnement de l'extrait brut hydrométhanolique (MeOH 70/%) de la partie aérienne de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha peut-être un indicateur très pertinent de changements d'états dus aux différentes conditions environnementales ou une réponse à des conditions de traitement particulier.

Les résultats représentés dans la Fig. 40, montrent que les différents extraits renferment des taux en polyphénols décroissants : extrait *n*-butanolique > extrait brut > extrait acétate d'éthyle > extrait aqueux. Les extraits *n*-butanolique, hydrométhanolique et acétate d'éthyle d'Ain Abessa et Amoucha possèdent la meilleur teneur en polyphénols (483,00± 5,00 - 696,5± 6,53) ; (395,00± 1,16 - 415,00±8,88mg) et (377,44± 9,5 - 414,00± 7,42) mgEAG/g MS) (***$p < 0.05$), comparé avec les extraits aqueux.

Les teneurs les plus faibles ont été enregistrées dans les extraits aqueux (99,5± 6,36 et 190,5± 6,36 mgEAG/g MS) respectivement. Ceci pourrait être dû au fait que le méthanol solubilise la majorité des constituants de la plante alors que l'eau extrait les substances très polaires. Les extraits brut hydrométhanolique et acétate d'éthyle d'Ain Abessa et d'Amoucha présentent une différence non significative ($p> 0,05$) dans leurs teneurs en polyphénols, contrairement aux extraits *n*-butanolique d'Ain Abessa et d'Amoucha qui présentent une différence hautement significative (***$p < 0.05$). En fin on signale que tout les extraits d'Ain Abessa ainsi d'Amoucha présentent une différence hautement significative P***<0,05 dans leurs teneurs en polyphénols

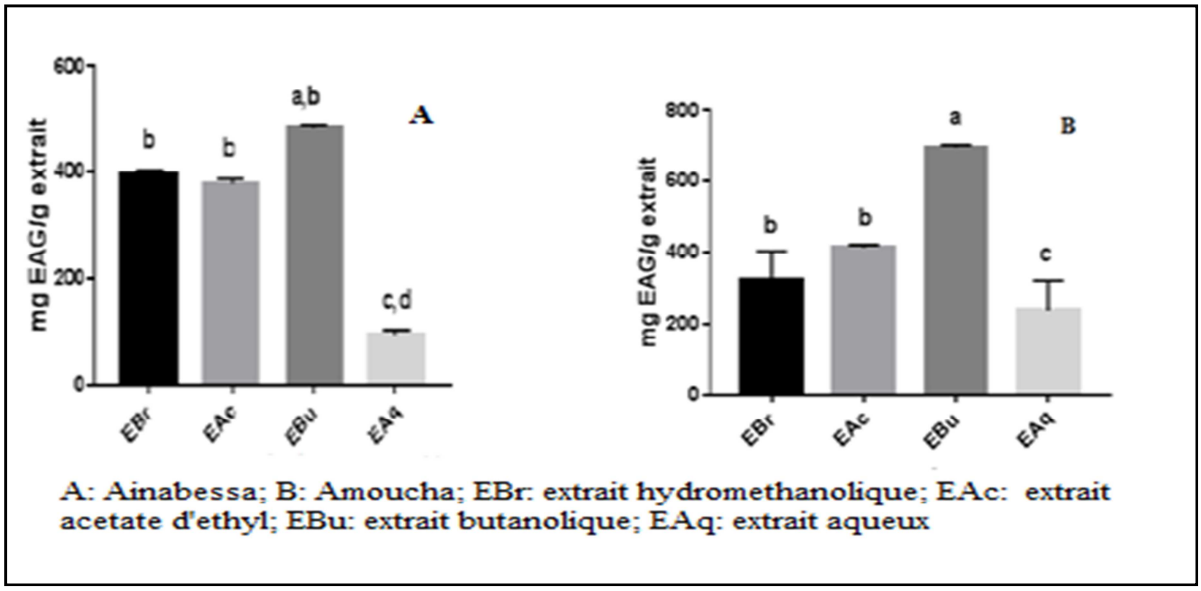


Figure 40: Comparaison de la teneur en polyphénols des différentes fractions issues de l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha. Les données sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3) de mg d'équivalents d'acide gallique par g d'extrait.

En fait, la solubilité des polyphénols est gouvernée par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation ainsi leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Pour une plus haute récupération de polyphénols, le méthanol est le solvant approprié (Falleh *et al*., 2008). Cette différence dans les teneurs en polyphénols résulte aussi du fait que le dosage par le réactif Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés organiques non phénoliques peuvent réagir avec ce réactif comme dioxyde de soufre, acide ascorbique, les sucres, les amines aromatique, les acides organiques (Medina-Remón *et al.*, 2009). Le dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha *et al*., 2007).

La répartition inégale des polyphénols dans les différents extraits a été rapportée par plusieurs auteurs. Dans un travail de Bouchouka *et al*. (2012) sur les fruits de *Ferula vesceritensis,* les teneurs en composés phénoliques de la fraction d'acétate d'éthyle obtenue par extraction liquide-liquide des extraits hydrométhanolique MeOH 80% est 61,91 mg EAG/g d'extrait. Une autre étude menée par le même auteur et ses collaborateurs (2016) sur les fruits de *Ferula vesceritensis* où le taux des polyphénols totaux de l'extrait brut méthanolique est de 07,38±0,10 mg EAG/g MS.

Boulacel *et al*. (2019) rapportent des teneurs en polyphénols totaux des fractions d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique de l'extrait hydrométhanolique (MeOH 70/%) de la partie aérienne de *Ferula lutea* récoltée dans la région de Sétif avaient ces valeurs respectives : (199,10± 2,05 et 184,02±2,84 mg EAG/g MS). Dans une autre étude portant sur les fruits de *Ferula lutea*, Znati *et al*. (2014) rapportent des teneurs en polyphénols totaux de la fraction d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique obtenues par extraction hydrométhanolique (MeOH 70%) des fleurs de *Ferula lutea* récoltée à Béja (Tunisie) (52,3±0,4 et 40,7±0,2 mg EAG/g MS).

Même le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al*., 2006**)**. Un travail mené par Bouaziz *et al*. (2009) sur 25 espèces collectées au sud de la Tunisie, montre que l'extrait d'hexane, d'acétate d'éthyle et de méthanol obtenus par extraction au Soxhlet et l'extrait aqueux obtenu par macération des parties aériennes d'une plante de la famille des Apiaceae (*P. chloranthus*) donnent respectivement des teneurs en phénols totaux de l'ordre de 175 ± 57 ; 380 ± 46 ; 314 ± 38 et 372 ± 45 mg EAG/100 g d'extrait, ceci est en accord avec nos résultats.

Une étude phytochimique réalisée par Bensalem *et al*. (2013) sur les racines de *Ferula lutea* (Poir.) Maire originaire de Tunisie qui a permis l'isolement et l'identification de deux nouveaux inséparable isomères, ainsi que huit produits connus. Ainsi une étude phytochimique réalisée sur les parties aériennes (fleurs) révèlent la présence de nouvelles molécules qui dévoilent les activités : antimicrobienne, antioxydante, antidiabétique, cytotoxique et anti acétylcholinestérase (Znati *et al*., 2014). A la lumiere de ces résultas, il est probable que nos extraits contiennent des composés qui peuvent avoir une activité antidiabétique et cytotoxique.

Des études précédentes montrent que le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques (Sahreen *et al*., 2010; Xia *et al*., 2010; Bouzid et *al*., 2011) et l'obtention d'une meilleure activité antioxydante (Borros *et al*., 2010).

Au vu des résultats présentés ci-dessus, il ressort que l'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation des principes actifs, elle dépend à la fois du solvant d'extraction et de la nature de l'organe étudié. Pour cela, la sélection d'un système de solvant approprié reste l'une des étapes les plus importantes dans l'optimisation d'extraction des polyphénols, des flavonoïdes et d'autres composés antioxydants (Zhao *et al*., 2006b).

Il est important de souligner que l'utilisation de plante d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les deux études. La variété, la saison de culture, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (Park et Cha, 2003) et la durée de conservation (Ozgüven et Tansi, 1998). Le type de standard utilisé peut également changer les résultats (Djeridane *et al*., 2010).

La solubilité élevée des polyphénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus (Stanković, 2011). L'utilisation d'un mélange hydroalcoolique comme solvant donne des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction (Perva-Uzunalic *et al*., 2006).

De même le contenu phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que, les facteurs climatiques, la maturité, les pratiques culturales et les conditions de stockage après la récolte (Bourgou *et al*., 2008). Le contenu en composés phénoliques est aussi sous très forte influence génétique.

V.2.3.Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

Les différentes extraits d'Ain Abessa et d'Amoucha renferment des taux en flavonoïdes décroissants : extrait *n*-butanolique > extrait acétate d'éthyle > extrait brut> extrait aqueux. Les extraits *n*-butanolique et acétate d'ethyl d'Ain Abessa et d'Amoucha possèdent la meilleur teneur en flavonoïdes (***p < 0.05) (138,11±0,83 ; 111,56±2,03) et (123,58±7,37; 110,20±4,59 mgEQ/g extrait) comparés aux extraits hydrométhanolique et aqueux qui possèdent les teneurs les plus faibles : (34,75± 1,56 et 77,75± 2,93 mgEAG/g extrait) respectivement. Les extraits hydrométhanolique et aqueux d'Ain Abessa présentent une différence non significative (p> 0,05) dans leurs teneurs en flavonoïdes (46,45±1,26 et 34,75±1,56 MgQE/gextract). Les extraits hydrométhanolique et aqueux d'Amoucha possèdent les meilleurs teneurs en flavonoïdes (***p < 0.05) comparés à ceux d'Ain Abessa (77,75±2,93 et 89,78±1,04), le contraire est observé pour l'extrait *n*-butanolique d'Ain Abessa (138,11±0,83) qui possède les meilleures teneurs en flavonoïdes (***p < 0.05) comparé à l'extrait *n*-butanolique (111,56±2,03) d'Amoucha. Toutefois les extraits acétate d'éthyle d'Ain Abessa et d'Amoucha (123,58±7,37 et 110,20±4,59) présentent une différence non significative (p> 0,05) dans leurs teneurs en flavonoïdes. Enfin, on signale que la teneur en flavonoïdes des tous les extraits d'Ain Abessa et ceux d'Amoucha n'est pas significatives p<0,05. (Fig.41).

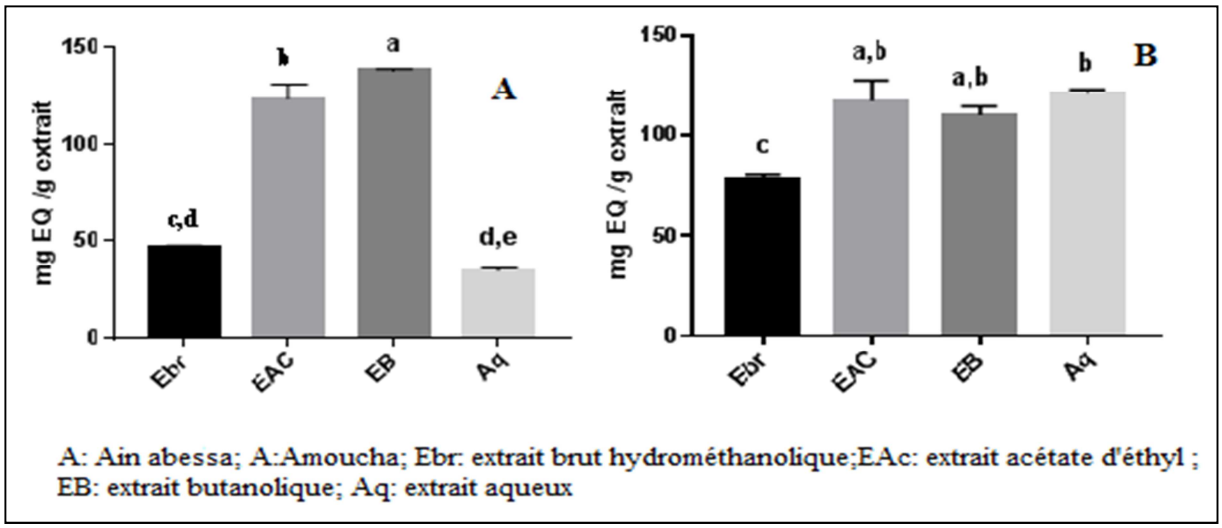


Figure 41 : Comparaison de la teneur en flavonoïdes des différentes fractions issues de l'extrait hydrométhanolique (MeOH 70%) de la partie aérienne de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha. Les données sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3) de mg d'équivalent de quercétine par g d'extrait

Les résultats mentionnés dans la Fig. 41 montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différentes fractions. La grande distinction entre les fractions étudiées apparait au niveau de la richesse de certaines et la pauvreté des autres.

Boulacel *et al*. (2019) ont rapporté des teneurs en flavonoïdes de la fraction d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique obtenus par l'extrait hydrométhanolique (MeOH 70%) de la partie aerienne de *F. lutea* a donné des teneurs de 70,24±0,87 et 65,95±1,25 mg EQ/g d'extrait. Presque nos résultats sur les teneurs en flavonoïdes sont deux fois supérieurs à ces derniers. Par contre les travaux réalisés par Znati *et al*. (2014) sur la même espèce où la fraction d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique obtenue par l'extrait hydrométhanolique (MeOH 70%) des fleurs renferment ces taux respectifs : (12,4±0,1 et 14,7±0,1 mg EQ/g d'extrait).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants (Stanković, 2011). Le type de standard utilisé peut également changer les résultats (Djeridane *et al*., 2010). En fait, l'utilisation d'un matériel sec est recommandée du moment que les flavonoïdes (particulièrement les glycosides) peuvent être soumis à une dégradation enzymatique quand le matériel végétal est frais ou non séché (Marston et Hostettmann, 2006).

Le séchage de la plante à l'obscurité prévient les transformations chimiques telles que, l'isomérisation et la dégradation causées par les 62 radiations ultraviolettes de la lumière solaire (Jones et Kinghorn, 2005). L'utilisation du matériel végétal sous la forme d'une

poudre à pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage. Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (Seidler-Lozykowska, 2013).

Selon Seidler-Lozykowska (2013), l'eau et le méthanol sont deux solvants polaires qui extraient particulièrement les flavonoïdes glycosylés et les tannins. Tandis que les flavonoïdes aglycones sont extraits par les alcools ou les mélanges eau-alcool (Marston et Hostettmann, 2006). Cela explique en grande partie la richesse de l'extrait méthanolique de la santoline par rapport à l'extrait aqueux. Néanmoins, ceci n'est pas toujours le cas, car Ozen et ses collaborateurs (2011) ont trouvé que l'extrait aqueux de *Thymus praecox* était plus riche en polyphénols que l'extrait méthanolique. Cela est expliqué par la présence d'un grand nombre de molécules solubles dans l'eau est non solubles dans l'alcool.

V.3.Activité antibactérienne

V.3.1.Test de diffusion sur gélose

a- Les huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été testées sur quatre souches bactériennes de références, il s'agit de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Les valeurs de diamètres des zones d'inhibitions sont répertoriées dans le tableau 15.

Pour caractériser l'activité antibactérienne nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques. C'est une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition apparents autour des disques chargés d'extraits végétaux, c'est une technique facile à mettre en œuvre et donne des résultats rapides, en plus cette technique est recommandée avant toute procédure de quantification. Il est à noter que le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité antimicrobienne des extraits car les différents constituants ne diffusent pas tous de la même manière dans le milieu gélosé (Hulin *et al*., 1998).

Selon Duraffourd *et al*. (1990), la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm, la sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm et pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

Tableau 15 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance bactérienne induite par l'huile essentielle des différentes parties de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha.

Diamètres des zones d'inhibition en mm					
Région Ain Abessa					
Parties aériennes	Dilution	*E. coli* ATCC 25922	*B. cereus* ATCC 11778	*P. mirabilis* ATCC 35659	*S. aureus* ATCC 25923
Tiges	1 :2	10.66±0.57	11.00±0.00	8.33±0.57	9.00±0.08
	1 :5	9.33±0.25	9.00±0.00	8.00±0.00	8.16±0.28
	1 :10	8.16±0.25	(-)	8.00±0.00	8.00±1.00
Feuilles	1 :2	11.66±0.57	(-)	7.66±0.57	12.83±0.76
	1 :5	10.83±0.76	(-)	7.33±0.57	10±0.00
	1 :10	9.00±0.00	(-)	7.00±0,00	7.00±0.00
Fleurs	1 :2	14.00±1.32	16.66±1.52	8.00±0,00	12.16±1.04
	1 :5	11.83±0.28	14±0.57	7.66±0.57	10.5±0.86
	1 :10	10.33±0.57	10±0 .25	(-)	9.33±0 .25
Graines	1 :2	9.83±1.04	24.66±2.02	9.00±0.00	11.5±0.00
	1 :5	09.00±0.00	14.33±2.51	8.00±0.00	10.0±0.50
	1 :10	8.33±0.57	10±0.00	(-)	8.66±0.57
Région Amoucha					
Tiges	1 :2	11.33±0.57	13.00±2.00	8.66±0.28	12.00±0.0
	1 :5	10.33±0.28	9.66±0.57	8.16±0.28	10.33±0.57
	1 :10	9±0.00	8.16±0.28	7.66±0.57	9±0.00
Feuilles	1 :2	10.66±0.57	12.00±0.00	8.66±0.57	10.33±0.57
	1 :5	9.41±0.72	9.00±0.00	7.83±0.28	10.08±0.14
	1 :10	8.83±0.28	8.00±0.00	7.66±0.28	9.33±0.14
Fleurs	1 :2	13±2.12	16.33±0.76	12.83±0.28	10.16±0.57
	1 :5	11.83±0.28	11.66±1.15	8.83±0.28	8.83±0.28
	1 :10	10.08±0.14	9.83±0.28	7.83±0.28	8.00±1.00
Graines	1 :2	11.33±1.15	9.83±0.76	8.0±0.00	15.66±0.57
	1 :5	9.16±0.28	8.33±0.57	7.33±0.57	11.00±0.86
	1 :10	8.83±0.76	7±0.00	(-)	10.5±0.50
DMSO		(-)	(-)	(-)	(-)
Gent		30	33	29	38

DMSO : control négatif ; Gent : control positif ; (-) pas d'activité

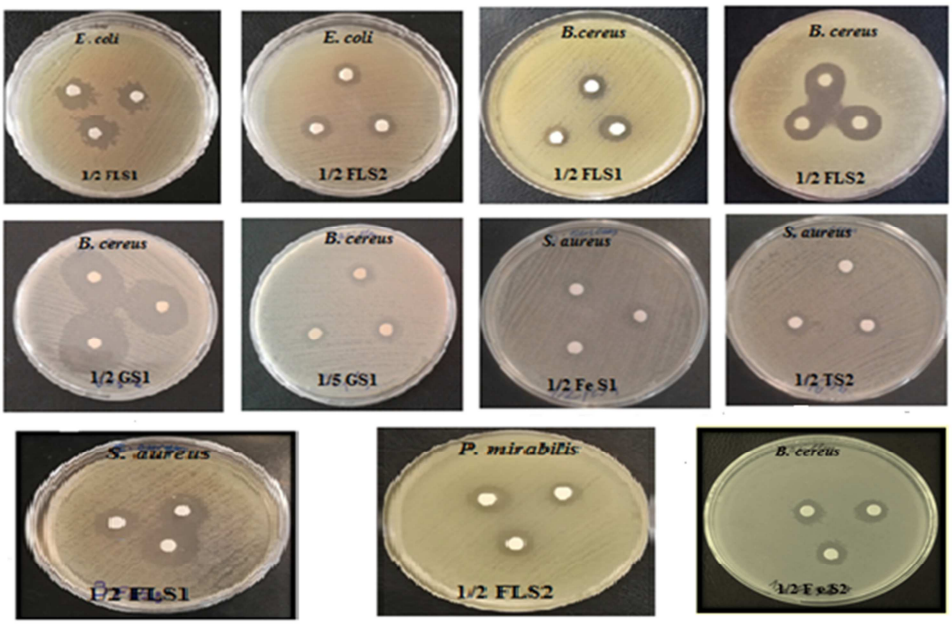
En se référant à ces données, on peut dire que l'activité antibactérienne des HEs des différentes parties de *F. lutea* d'Ain Abessa et d'Amoucha a permis de révéler une activité limitée sur la croissance d' *E.coli* et *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition entre 8 et 14 mm sauf l'huile essentielle des graines récoltées à Amoucha qui ont exercé une sensibilité moyenne sur la croissance de *S. aureus*, les diamètres des zones d'inhibition aux dilutions ½ et 1/5 sont respectivement 15,66 et 11 mm.

Toutefois *P. mirabilis* s'est montré résistant à l'encontre de toutes les huiles testées, les diamètres des halos d'inhibition varient de 6 à 8 mm, exception faite pour les HEs des graines récoltées à Ain Abessa et les fleurs récoltées à Amoucha qui ont induit une sensibilité limitée, les diamètres des zones d'inhibition à la dilution ½ sont 9 et 12,83 mm respectivement. L'huile essentielle des graines de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa a manifesté la plus grande aptitude à inhiber la croissance de *B. cereus* avec une zone d'inhibition de

24,66±2,02 à la faible dilution. Mais *B. cereus* reste moins sensible comparativement à la gentamycine qui a induit un diamètre de 33mm.

Généralement les HEs des fleurs récoltées à Ain Abessa et Amoucha présentent une différence non significative dans leurs effets inhibiteurs $p < 0.05$, sur la croissance des souches bactériennes testées mais cette activité reste significativement inférieure à celle de la gentamycine. Mais par rapport aux huiles des fleurs récoltées dans les deux régions *B. cereus* apparait moins sensible avec des diamètres de 16 mm à la dilution 1/2 et reste résistant aux huiles essentielles des feuilles récoltées à Ain Abessa et graines récoltées à Amoucha, les diamètres des zones d'inhibition à la dilution ½ sont respectivement 6 et 9 mm.

D'après ces résultats, on constate que *B. cereus* semble être la souche la plus sensible et n'a développé de résistance qu'envers les huiles essentielles des graines d'Amoucha et les feuilles d'Ain Abessa. Egalement les HEs des feuilles et tiges des deux régions ont manifesté une différence significative dans leur pouvoir inhibiteur (***$p< 0.05$) de la croissance de toutes les souches testées.



S1: Ainabessa; S2: Amoucha; FL: fleurs; Fe: feuilles; T: tiges; G: graines

Figure 42: Photographies montrant l'effet des HEs (aux dilutions ½ et 1/5) des différentes parties de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha sur la croissance des bactéries testées.

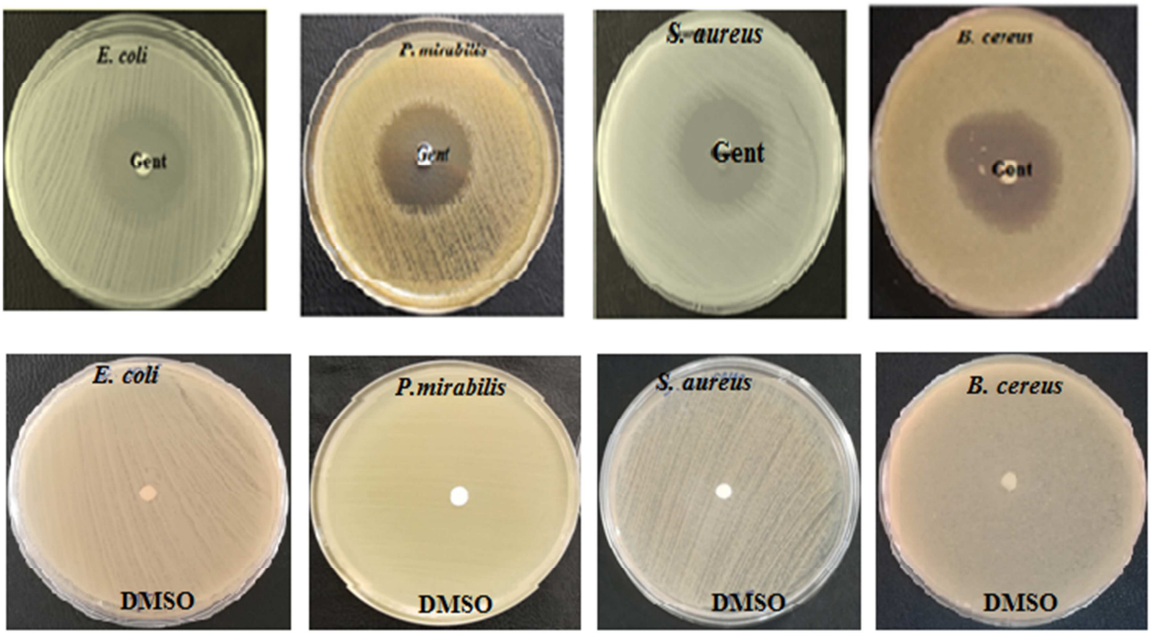


Figure 43: Photographies montrant l'effet de la Gentamycine et DMSO sur la croissance des bactéries testées.

La sensibilité des souches Gram positif comme *S. aureus et B. cereus* a été constatée par Glisic *et al*. (2007). Baldemir *et al.* (2006) ont testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *F. halophila* et ont trouvé que cette huile est active vis-à-vis des bactéries Gram (+) testés (*S. aureus*, *B. subtilis* et *B. cereus*), cependant cette huile n'a montré aucune activité à l'encontre des bactéries Gram (-) : *E. coli*, *P. eruginosa* et *E. faecalis*, ceci est en accord avec nos résultats. Ghasemi *et al*. (2005) ont indiqué que l'huile essentielle des fruits de *F. Gummosa* a montré une large activité sur les bactéries Gram (+) et Gram (-) testées (*S. aureus*, *S. epidermis*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. typhi* et *P. aeruginosa*). De même, Eftekhar *et al.* (2004) ont signalé que l'HE des fruits de cette espèce a montré une activité remarquable contre *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 465, *E. coli* ATCC 25922 et *E. faecalis* ATCC 29212, cependant cette activité a été moindre à l'encontre de *P. aeruginosa* ATCC 85327.

Habibi *et al.* (2006) ont prouvé que l'huile essentielle de *F. latisecta* a été active vis-à-vis des bactéries Gram (+), cette activité est exprimée par des zones d'inhibition de 14 mm pour *S. aureus* et 15 mm pour *B. subtilis*. De même cette huile a présenté une forte activité sur *E. faecalis* (19mm), *E. coli* (13 mm) et *K. pneumoniae* (10 mm), toutefois cette huile a été complètement inactive à l'encontre de *P. aeruginosa.*

Mirsalehian *et al*. (2006) ont montré que l'huile essentielle de *F. gummosa* a présenté une activité modérée sur *S. aureus*, ceci est en accord avec nos résultats où l'activité est modérée pour *Staphylococcus aureus.* El-Bassuony *et al.* (2007) ont testé l'activité

antibactérienne de deux coumarines sesquiterpéniques isolées de l'huile essentielle de *F. sinaica*, ces auteurs ont signalé que le ferusinol possède une forte activité vis-à-vis des bactéries Gram (+) et plus particulièrement sur *Bacillus cereus,* cette activité est traduite par un diamètre de18 mm. Ce dernier constituant s'est également montré actif à l'encontre des bactéries Gram (-) testées (*Serratia* sp. *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli*). Par contre le deuxième constituant qui est le samarcandine diastereomère, n'a montré aucune activité vis-à-vis des bactéries Gram (+), mais il a manifesté une forte activité sur des bactéries Gram (-). Cette activité est traduite par des zones d'inhibition de 19 mm pour *Serratia* sp et *E. coli*.

La sensibilité de *B. cereus* envers des HEs du genre Daucus a été aussi constatée par d'autres auteurs, d'après El koli, (2016) les huiles de *D. gracilis* et *carum montanum* se sont montré active sur *B.cereus*, qui était aussi sensible à l'HE de *C. montanum* (16mm), ce qui était le cas de l'HE de *C. carvi* qui a agit d'une façon très forte sur la même souche (De martino *et al*., 2009). Toutefois, *S. aureus* s'est montrée moyennement sensible à l'HE de *C. carvi*, provenant de 17 régions différentes (Seidler-Lozykowska *et al.*, 2013).

Nos huiles ont exercé une activité limitée vis-à-vis *E. coli* et *S. aureus*, ainsi les diamètres des zones d'inhibition varient de 15 à 9 mm ou la plus forte inhibition de la croissance bactérienne est attribuée aux HEs des graines d'Amoucha par contre la plus faible inhibition est celle des HEs des tiges d'Ain Abessa, cela est en accord avec les résultats de Shahverdi *et al*. (2005) où l'activité de l'umbelliprénine (une coumarine) de l'huile essentielle de *F. persica* est traduite par un diamètre d'inhibition de 12 mm et 10 mm sur *S. aureus* et *E. coli* respectivement. Cette coumarine a montré aussi une activité modérée sur *K. pneumoniae* et *S. typhi* par un diamètre d'inhibition de 12 mm. Contrairement aux résultats de Lamamra, (2017), ou *B. cereus* s'est révélé résistant aux huiles de *D. aristidis*, cette résistance est aussi constatée par l'étude de Bendiabdellah, (2014) sur l'huile de *D. carota ssp hispanicus* et *D. crinitus*. De même, Fekih *et al.* (2014) ont également montré l'inactivité de l'huile de *Pinus halepensis* vis-à-vis cette souche. Ainsi, Zaibet (2016) a obtenu des valeurs entre 10 et 13mm avec l'huile de *D. aureus* d'Oum El Bouaghi et Sétif. Aussi l'huile de *D. crinitus* a donné un diamètre de 13.5 mm à l'encontre de la souche *E. coli* (El kolli, 2016). Cependant cette bactérie s'est montrée résistante vis-à-vis de l'huile des racines et de la partie aérienne de *D. aureus* (Meliani *et al.*, 2013). De même, Askari *et al.* (2010) ont signalé que l'huile de *Pimpinella barbata* est inactive à l'encontre d'*E. coli* mais ceci n'est pas en accord avec nos résultats où toute nos huiles ont exercé une sensibilité limitée vis-à-vis *E.coli* ou l'HE des graines récoltées à Amoucha induisent un diamètre de la zone d'inhibition contre *S. aureus* qui varie de 10 à 15mm.

Les différences dans les résultats pourraient être attribuées à la nature de la composition chimique de l'huile essentielle, à titre d'exemple les terpènes possèdent un large spectre d'activité biologique, ils semblent être un moyen de défense des plantes (Matejić *et al.*, 2014), parce qu'ils ont une activité antibactérienne de forte à modérée contre les bactéries à Gram (+) et faible contre les bactéries à Gram (-) (Tepe *et al*., 2004). Les monoterpènes qui sont connus par leur célébrité d'activité antimicrobienne, ils possèdent des effets délétères sur les membranes mitochondriales et provoquent une inhibition du métabolisme énergétique mitochondrial, ce qui entraîne des perturbations dans un large éventail des processus physiologiques et biochimiques dans la cellule (Shama *et al*., 2011).

Hajji *et al*. (2010) ont montré que la présence de monoterpènes oxygénés, des hydrocarbures monoterpèniques et des aldéhydes dans les HEs ont la capacité d'inhiber le processus de la respiration et la circulation des ions et par conséquent la destruction de la cellule bactérienne. Selon Duke, (2015) le géranyl acétate, l'α-pinène, l'α-terpinéol, le géraniol, le limonène, le myrcène, le néral, le α-phellandrene, le géranial, le dillapiol, le α-terpinéol, le linalool, le 1,8-cinéol et le *p*-cymene, sont des molécules à potentiel antibactérien. Les molécules oxygénées qui entrent dans la composition des huiles essentielles sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées qui sont connues pour leurs faibles pouvoirs antimicrobiens (Kalemba et kunicka, 2003).

En effet, une grande variété des composés biologiquement actifs a une activité directe vis-à-vis de nombreuses souches bactériennes, l'action antibactérienne de ces composés, tel que les terpènes et une variété d'hydrocarbures aliphatiques (alcools, aldéhydes et les cétones) est due principalement au caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et le caractère hydrophile de leurs groupes fonctionnels (Bendiabdellah, 2014).

L'effet des huiles essentielles est souvent lié à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. L'α-pinène et β-pinène, sont déjà connus par leur effet antibactérien (Knobloch *et al*., 1989 ; Znati *et al*., 2012). Le caractère hydrophile des parois cellulaires des bactéries à Gram-négatif bloque la pénétration des composants hydrophobes des huiles essentielles testées, pour cette raison les bactéries à Gram-positifs semblent plus sensibles vis-à-vis des huiles essentielles *(*Rustaiyan *et al*., 2001). Ce monoterpène qui est l'α-pinène exerce son activité antimicrobienne sur les microorganismes par la perturbation de l'intégrité de la membrane des bactéries (Knobloch *et al*., 1989).

De ce fait l'activité antibactérienne des huiles des différentes parties de *F. lutea* peut être du à la quantité élevée des monoterpènes tel que l'α-pinène qui a un taux élevé dans les

différentes parties et particulièrement dans les tiges d'Ain Abessa et d'Amoucha (20,9 et 27%).

Sieniawska *et al.* (2014) ont également attribué l'activité antimicrobienne de l'huile de *Mutellina purpurea* vis-à-vis *Staphylococcus epidermis* à la présence de l'α-pinène. De même, les résultats de Dai *et al*. (2013) ont prouvé le grand pouvoir antimicrobien de l'α-pinène testé seul et comme constituant majoritaire de l'huile de *Wedelia prostrata* à l'encontre des microorganismes testés.

Selon Taran *et al*. (2010), l'huile essentielle des parties aériennes de *Ferulago angulata* subsp. *Carduchorum* est plus active que l'HE des graines à cause de la présence de la plus grande quantité des pinènes dans l'huile des parties aériennes. Cependant, Amarti *et al*. (2010) attribuent la faible activité de l'huile de *Thymus algeriensis* à la présence de l'α-pinène (20,5%), du β-pinène (8,02 %) et du limonène (4,85%). L'α-pinène s'est montré également inactive vis-à-vis *S. aureus, E. coli, P. aeruginosa* et *C. albicans* testées par Angioni *et al*., (2003).

L'activité de l'huile essentielle de *F. lutea* vis-à-vis les bactéries testées peut être également attribuée à son constituant majeur δ-3-carène qui est classé selon Duke, (2009) parmi les substances antibactériennes. Par contre Pichette *et al*. (2006) ont rapporté que ce constituant est inactif vis-à-vis *S. aureus* et *E. coli*. Ceci nous conduit à conclure que l'activité n'est pas attribue au δ-3-carène seul, mais aux autres terpènes (γ- terpinène, myrcène, limonène, α-pinene…etc.) qui ont une activité antibactérienne (Anthikomkulchai *et al.*, 2008; Duke, 2009).

Aussi, il est probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique, additive et antagonistique (Bakkali *et al*., 2008), et donc la valeur d'une huile essentielle tienne à l'intégralité de ses composants (majoritaires et minoritaires) et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004). Certaines études ont conclu que les HEs entières ont une activité antibactérienne supérieure à celle des composants principaux mixte ce qui suggère que les composants mineurs sont critiques pour l'activité et peuvent avoir un effet synergique (Burt, 2004). L'antagonisme entre les constituants ne doit pas être exclu lors de l'évaluation des bioactivités des huiles (Nemeth et Bernath, 2008). L'effet antagoniste lui-même peut affecter l'activité antimicrobienne.

Selon Wright *et al*. (2007), le γ-terpinene et le *p*-cymène sont capable de réduire l'effet antibactérien du terpinen-4-ol. Ces derniers sont présents dans l'HE de *Mentha rotundifolia*, ce qui peut expliquer leur activité moyenne sur les bactéries.

Ces résultats sont en accord avec la littérature selon laquelle les bactéries à Gram+ montrent la plus grande sensibilité par rapport aux bactéries à Gram négatif (Holley et Patel, 2005; Bakkali *et al.*, 2008).

Le mode d'action principal des HEs consiste en la lyse de la paroi bactérienne du fait de leurs propriétés lipophiles. Chez les bactéries à Gram négatif la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace, le lipopolysaccharide, grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion des molécules hydrophobes (Nikaido, 2003), alors que les bactéries à Gram+ sont moins protégées parce que la paroi est formée d'une couche de peptidoglycane seulement qui n'entrave que la diffusion des poids moléculaires à 50 KD.

La résistance des souches peut être expliquée soit par l'absence des molécules fortement antimicrobiennes soit par la faible capacité des composés antibactériens présents dans les différents extraits à diffuser de manière uniforme à travers l'agar (Rauha *et al*., 2000). Il est aussi connu que les souches bactériennes n'ont pas la même sensibilité vis-à-vis d'un agent antibactérien. De même dans une population bactérienne, il peut exister des différences individuelles de sensibilité. Ainsi l'action antibactérienne est parfois partielle et après une diminution du nombre de bactéries, il y a une reprise de la croissance bactérienne (Zaibet, 2016).

Belaiche (1979) rapporte également qu'un germe dont le pouvoir pathogène est élevé, offre des résistances quasi constantes. Plus le germe est virulent, plus ses chances de résistances aux essences sont grandes à méthode de diffusion sur gélose. La sensibilité de certaines bactéries (*E. coli*, *L. inocula*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *S. typhimurium*) varie d'une méthode à une autre, ce qui confirme que la méthode utilisée pour étudier l'effet antibactérien d'une huile peut être considérée comme un facteur influant les résultats (Fazeli *et al.*, 2007). De même, on peut dire que la matière organique du milieu de culture peut modifier l'efficacité d'un agent antibactérien en se combinant avec lui pour former des composés inactifs, en l'adsorbant et en diminuant sa concentration, ou en le précipitant et en l'éliminant purement.

L'inactivité des souches microbiennes testées peut être du, d'une part, à l'effet antagoniste de quelques composés présents dans les huiles essentielles (Calo *et al*., 2015) qui peuvent influencer l'activité biologique de quelques substances actives et d'autre part à la faible concentration de l'huile essentielle utilisée (Boussaada *et al.*, 2008). Evalués séparément les monoterpènes sous forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable (Pibiri, 2006).

Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude qui puisse nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des huiles essentielles. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des huiles possédait son propre mécanisme d'action. La perturbation de la membrane plasmique, la rupture de la force ionique, la coagulation du contenu cytoplasmique sont quelques mécanismes impliqués dans les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles (Carson *et al.*, 2002).

Les mécanismes par lesquels les huiles essentielles peuvent inhiber les micro-organismes impliquent la production d'enzymes inactivant les antibiotiques et / ou l'altération de sites cibles des β- lactamines et certains groupes d'aminosides et la faible perméabilité de la membrane externe (Sahu *et al*., 2012). De même, en bibliographie, il est à noter que nombreux chercheurs ont rapporté l'effet antimicrobien des HEs, les substances qui ont des propriétés antibactériennes sont celles qui ont une tendance à traverser la couche phospholipidique, substances liposolubles, endommagent la paroi et augmentent sa fluidité, ce qui conduit à une fuite d'ions et de contenu cytoplasmique (Russo *et al*., 2015).

Pour conclure, les résultats de l'activité antibactérienne d'une huile essentielle peuvent être influencés par trois facteurs principaux : la composition et la solubilité de l'huile, les microorganismes ciblés, la méthode utilisée et l'énumération des bactéries survivantes (Friedman *et al*., 2002; Özkalp et Özcan, 2009).

b-Les extraits bruts

Nous rapportons dans Tab.16 les diamètres des zones d'inhibition induites par les extraits bruts hydrométhanolique de la partie aérienne de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha ainsi leurs différentes fractions relatives aux souches microbiennes testées, de plus, l'inactivité du solvant utilisé pour dissoudre les extraits (DMSO) a été vérifiée. Tous les extraits ne semblent pas avoir une influence sur le développement des souches bactériennes Gram négatif (*E. coli* et *P.mirabilis*) cela est exprimé par les faibles zones d'inhibitions aux différentes concentrations, les diamètres des zones d'inhibitions sont égals ou inférieurs à 8 mm (Durafourd, 1990).

En revanche les souches bactériennes à Gram positif : *B. cereus et S. aureus* ont montré une sensibilité limitée, le diamètre de la zone d'inhibition aux différentes concentrations (0, 5, 1, 2 et 4 mg/ml) varie entre 8 et 9,66 mm vis-à-vis de tous les extraits sauf les extraits aqueux qui ont été totalement inactif pour toutes les souches testées, le diamètre est inferieur à 8mm. L'extrait d'acétate d'éthyle d'Ain Abessa et d'Amoucha a

enregistré le diamètre le plus élevé à la concentration (4mg/ml), les valeurs des diamètres d'inhibition sont respectivement (9±1,0 et 9,66±0,57 mm).

Boulacel *et al*. (2019) ont testés l'activité antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique de la partie aérienne de *F. lutea* sur des souches cliniques comme *S.aureus*, une souche du genre *Bacilus* et *E. coli*, ils ont trouvé que l'extrait acétate d'éthyle n'a aucun effet sur la croissance de *S. aureus*, ceci est expliqué par l'absence de la zone d'inhibition (6,0±0,0 mm), Par contre *B. cereus* est la souche la plus sensible à toutes les concentrations (0,25, 0,5, 1 et 2 mg/ml) le diamètre de la zone d'inhibition est respectivement : (15-15-16 et 17,33 mg/ml). *E.coli* s'est montré très sensible aux extraits d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique, les diamètres des zones d'inhibition à la faible concentration (0,25 mg/ml) et de 12 et 16,66 mg/ml et aux fortes concentrations sont dans l'ordre : 17 et 18,80 mm.

La sensibilité de *S. aureus* ATCC 25923 a été constatée par Bouchouka *et al.* (2012) où l'extrait d'hexane des fruits de *F. vesceritensis* a montré une activité limitée vis-à-vis de *S. aureus* ATCC 25923, le diamètre de la zone d'inhibition varie de 12 à 15 mm ceci est en accord avec nos résultats. Znati *et al*. (2014) ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits d'acétate et *n*-butanolique des fleurs de *Ferula lutea* et ils ont trouvé que l'extrait d'acétate d'ethyle exerce une inhibition modérée, alors que l'extrait *n*-butanolique possède un effet inhibiteur sur la croissance de *S. aureus* et *E. coli*.

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité (Cowan, 1999), il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteur de microorganismes (Scalbert, 1991).

Finalement, l'activité antibactérienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, y compris les huiles essentielles, les flavonoïdes, les tanins et les triterpenoids, ainsi que d'autre composés de nature phénolique qui possedent les groupes hydroxyle libre sont classés comme composés antibiotique très actif. La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antibactérienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes.

L'inactivité de nos extraits peut être due à l'absence des oligomères phénoliques. Selon karou *et al.* (2005) le mécanisme de toxicité des polyphénols vis-à-vis des microorganismes se fait soit par la privation des ions métalliques tel que le fer, soit par des interactions non spécifiques tels que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires les ahdésines (ou les enzymes).

Tableau 16 : Les diamètres des zones d'inhibition (mm) induites par les extraits de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha.

Diametres des zones d'inhibition en mm					
	[C] mg/ml	***E. coli* ATCC 25922**	***B. cereus* ATCC 11778**	***P. mirabilis* ATCC 35659**	***S. aureus* ATCC 25923**
Extraits Ain Abessa					
EBr	0,5	(-)	(-)	(-)	7,33±0,57
	1	(-)	(-)	(-)	8±0,0
	2	(-)	7,0±0,0	(-)	8,66±0,57
	4	(-)	7,0±0,0	(-)	9±1,0
EAc	0,5	(-)	(-)	(-)	7±0,0
	1	(-)	(-)	(-)	7±0,0
	2	7±0,0	(-)	(-)	8±0,0
	4	7,33±0,57	7±1,73	7±0,0	9±1,00
EBu	0,5	(-)	(-)	(-)	(-)
	1	(-)	(-)	(-)	7±0,0
	2	(-)	(-)	(-)	7±0,0
	4	(-)	(-)	(-)	7±0,0
EAq	0,5	(-)	(-)	(-)	(-)
	1	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)
	4	(-)	(-)	(-)	(-)
Extraits Amoucha					
EBr	0,5	(-)	(-)	(-)	7,33±3,69
	1	(-)	(-)	(-)	7,33±3,69
	2	7,0±0,0	(-)	(-)	8,0±0,0
	4	7,66±0,57	6,66±0,57	7,0±0,0	9,0±0,0
EAc	0,5	(-)	(-)	(-)	7,66±0,57
	1	7,0±0,0	(-)	(-)	8,66±0,57
	2	7,0±0,0	7,0±0,0	(-)	9,33±4,69
	4	8,0±0,0	8,33±0,57	7,0±0,0	9,66±0,57
EBu	0,5	(-)	(-)	(-)	7,66±0,57
	1	(-)	(-)	(-)	7,00±0,0
	2	6,66±0,57	(-)	(-)	8,0±,00
	4	7,66±0,57	(-)	(-)	8,66±0,57
EAq	0,5	(-)	(-)	(-)	6,66±0,57
	1	(-)	(-)	(-)	7,66±0,57
	2	(-)	(-)	(-)	7,0±0,0
	4	(-)	(-)	(-)	8,0±0,0
Gent		30	33	29	38
DMSO		(-)	(-)	(-)	(-)

DMSO : control négatif ; Gent : control positif ; (-) : pas d'activité

Cependant, un important facteur qui régit l'activité antimicrobienne des polyphénols est leur poids moléculaire, les monomères sont trop petits pour établir assez de pont hydrogènes tandis que les polymères de haut poids moléculaire sont trop grands pour traverser la paroi bactérienne, le poids moléculaire idéal serait donc celui des oligomères. La différence dans la sensibilité des espèces microbiennes suggère également la susceptibilité des différents microorganismes aux effets de composants différents des extraits.

V.3.2. Macro-dilution en milieu solide

L'objectif du criblage initial étant de différencier les organes en fonction de leur potentiel antimicrobien respectif. La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait capable d'inhiber toute croissance visible du germe. Elle mesure donc, un effet bactériostatique et ne renseigne pas sur l'état de la population bactérienne si elle a été tuée en partie ou totalement ou si elle a seulement cessé de se multiplier (Bergogne-Bérézin et Brogard, 1999).

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) constitue l'étape de l'évaluation quantitative de l'activité antimicrobienne sur laquelle se base les prescriptions médicales. C'est une approche quantitative qui nous renseigne sur le niveau d'efficacité des HEs testées. En réalité la CMI des extraits végétaux *in vitro* est loin d'être comparée à celle *in vivo* à cause des différents paramètres pharmacocinétiques au niveau des êtres vivants. Les CMI ne sont évaluées que sur les souches sensibles (sensibilité moyenne et très forte) aux HEs c'est-à-dire celles qui ont donné des diamètres d'inhibition égales à 16 et 28 mm (Fig. 44). Sachant que la valeur de la CMI ne peut pas être déterminée avec précision du fait qu'on test des concentrations espacées. Cependant, on peut dire que la CMI se situe dans un intervalle où la valeur minimale est supérieure à la plus grande concentration où il y a eu le développement bactérien et inférieure ou égale à la plus petite concentration où il y a eu une absence totale de développement bactérien.

Les résultats obtenus montrent que l'HE des fleurs récoltées à Amoucha exerce une forte activité contre *B. cereus* avec une CMI de 3,33 mg/ml suivie par l'HE des graines récoltées à Amoucha qui a inhibé la croissance de *S. aureus* avec une CMI de 6,75 mg/ml. Cependant les HEs des fleurs et des graines récoltées à Ain Abessa ont exercé une faible activité contre *B. cereus*, les valeurs des CMI sont respectivement 12,25 et 13 mm.

En comparaison avec une étude sur l'huile essentielle extraite des feuilles de *F. vesceritensis*, Labed, (2015) a montré que l'huile essentielle des différentes parties (feuilles et tiges) de *F.vesceritensis* à l'état frais et à l'état sec ont induit des CMI contre *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 43300 avec ces valeurs respectives : (40-40 µg/ml) et (80-40 µg/ml) pour *S. aureus* les valeurs de CMI sont dans l'ordre suivant : feuilles et tiges fraiches : (40- 40 µg/ml) et (16-16µg/ml). En comparaison avec d'autres espèces du genre Ferula on constate que l'huile essentielle extraite des feuilles de *F. szowitsiana,* possède une activité antimicrobienne contre *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* et aux souches résistantes à la méthicilline *S. aureus* et *S. epidermidis* à une

CMI de 0,156 à 1,25 µg / ml (Ozek *et al*., 2008). Les résines de *Ferula assa-fotida* originaire d'Inde ont inhibé *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* à des CMI= 5 µg /Ml (Divya *et al*., 2014). L'huile essentielle de *F. heuffelii* présente une activité antimicrobienne contre *Micrococcus luteus* (CMI = 13,7 µg / mL), *Staphylococcus epidermidis* (CMI = 17,6 µg / mL), *Bacillus subtilis* (CMI = 21,1 µg/mL) et *Micrococcus flavus* (CMI = 28,2 µg / mL) (Pavlovic *et al*., 2012).

Maggi *et al.* (2009) ont testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *F. glauca* à l'encontre des bactéries Gram (+) (*S. aureus* ATCC 25923, *S. mutans* DSM 20523 et *B. subtilis* ATCC 6633), ainsi que vis-à-vis des bactéries Gram (-) (*E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 13706), ces auteurs ont trouvé que *B. subtilis* a été la bactérie la plus sensible par une CMI évaluée à 38 µg/ml pour l'huile des fleurs et 310 µg/ml et pour l'huile des fruits, cependant *S. aureus* a été la bactérie la plus résistante à cette huile (CMI entre 625et 1250 µg/ml. Egalement Unasho, (2005) a testé l'activité des huiles essentielles de *F. communis* sur deux souches bactériennes Gram (+) à savoir *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes*, cette huile a été active à l'encontre de ces deux souches par une CMI évaluée à 500 µg/ml. Rahman *et al*. (2008) ont signalé que la CMI de l'huile essentielle de *F. assafoetida* testée sur *S. aureus* a été de 0,18 mg/ ml. Par ailleurs Abedi *et al.* (2008) ont trouvé que l'huile essentielle de *F. gummosa* a manifesté une forte activité vis-à-vis *S. aureus* avec une CMI évaluée à 0,003 mg/ml. Selon Demirci *et al.* (2007), l'huile essentielle de *Chaerophyllum libanoticum* (Apiaceae) a été active vis-à-vis *S. aureus* à partir de 0,25mg/ml. De même Özer (2007) a trouvé que la CMI de l'huile de *Hippomarathrum microcarpum* (Apiaceae) dont l'activité vis-à-vis *S. aureus* a été démontrée, s'élève à 0,25mg/ml. Mulaudzi *et al.* (2009) ont trouvé que l'huile essentielle des rhizomes d'*Alepidea natalensis* (Apiaceae) a montré une activité remarquable vis-à-vis *S. aureus* (CMI=0,78mg/ml).

Nos valeurs de CMI sont inférieures à ceux de Mulaudzi *et al.* (2009) qui ont montré que l'huile des feuilles d'*Alepidea natalensis* (Apiaceae) a une activité moindre (CMI=12,5mg/ml). L'huile essentielle de *F. lutea* a été active vis-à-vis d'*E. faecalis* à partir d'une concentration de 1,36 mg/ml. Il est à noter que cette concentration est supérieure à celle obtenue avec l'huile des feuilles et des fruits *F. glauca* avec une CMI de 0,31mgl/ml. Cependant la CMI de l'huile des fleurs et des racines a été de 0,62mg/ml. Le ß-pinène et le (E)-caryophyllène isolés de cette huile avaient un effet similaire vis-à-vis *E. faecalis* avec une CMI de 2,5mg/ml (Maggi *et al*., 2009).

Selon Özer (2007), l'huile de *Hippomarathrum microcarpum* (Apiaceae) a été active à l'encontre d'*E. faecalis* à partir d'une concentration de 0,12 mg/ml. La CMI de l'huile de *F.*

lutea testée sur *K. pneumoniae* a été supérieure à 5mg/ml. Cette concentration est considérée comme forte par apport à nos résultats, de même l'huile essentielle de *F. lutea* a été active vis-à-vis *S. enteritidis* à partir d'une concentration de 5mg/ml. Cette CMI est supérieure à celle de l'huile de *F. gummosa* qui a été active à l'encontre de *S. enteritidis* à partir d'une concentration de 0,006 mg/ml (Abedi *et al*., 2008).

Maggi *et al*. (2009) ont trouvé que *B. subtilis* a été la bactérie la plus sensible à l'huile essentielle de *F. glauca* par une CMI évaluée à 38 µg/ml pour l'huile des fleurs et 310 µg/ml pour l'huile des fruits. Cependant *S. aureus* a été la bactérie la plus résistante à cette huile (CMI entre 625 et 1250 µg/ml).

La différence observée dans les valeurs de la CMI ne peut pas être considérée comme une différence significative de l'activité en raison des variations connues habituellement et observées dans ces techniques, même en utilisant des méthodes, standardisées (Berahou *et al*., 2007). A titre d'exemple, en comparant la technique de micro-dilution avec celle de l'E-test. Mayrhofer *et al*. (2008) ont trouvé des valeurs différentes des CMI, ils ont conclu que ce phénomène peut être expliqué par la forte fréquence des mutations spontanées et par la perte de l'activité des agents antimicrobiens instables pendant l'incubation, ce qui peut entraîner des concentrations inhibitrices que pourrait favoriser l'émergence de souches résistantes. En fait, le choix de la méthode à appliquer se fait selon les avantages et les inconvénients de chacune.

La macro-dilution est économique en matériel ainsi qu'en extraits mais délicate, la macro-dilution en gélose est rapide et permet de tester plusieurs souches à la fois et les contaminations peuvent être directement reconnues mais nécessite de grandes quantités d'extraits. Enfin, pour les CMB, on ne peut pas les déterminer du moment que les effets observés sont, tous, bactériostatiques.

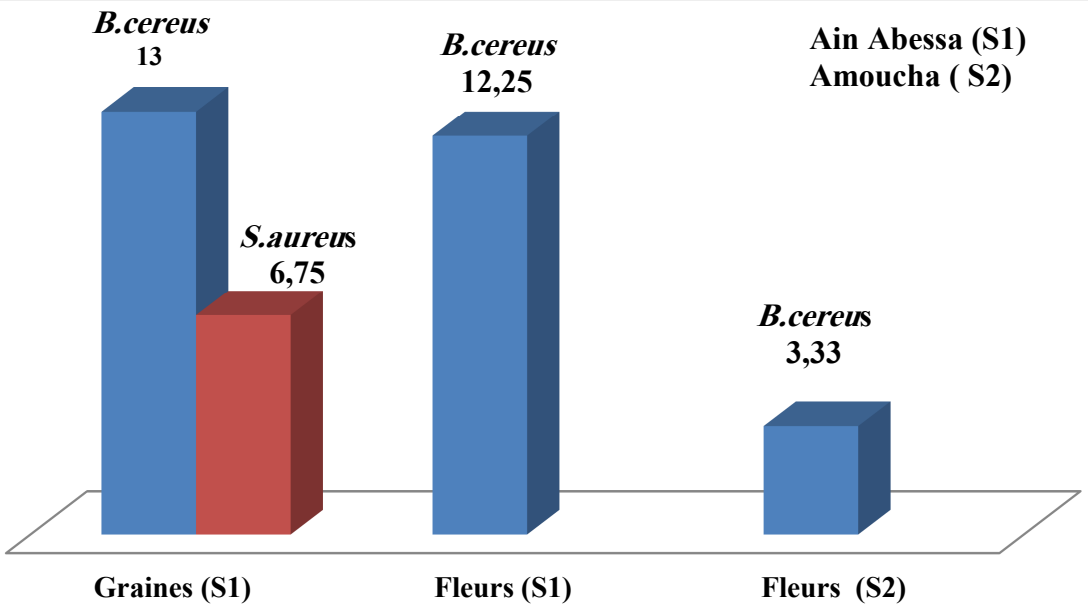


Figure 44 : CMI en mg/ml

V.4.Activité antioxydante

V.4.1. Effet scavenger du radical DPPH

Il existe de nombreuses méthodes qui diffèrent sur le plan de leurs principes d'analyse, les conditions expérimentales et les antioxydants aux contributions différentes au potentiel antioxydant totale (Wojdyło *et al*., 2007). Pour cette raison, l'utilisation de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits (Ksouri *et al*., 2009). Dans ce travail, nous avons utilisé trois méthodes pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* à savoir : DPPH, Cuprac et pouvoir réducteur du Fer qui sont parmi les tests les plus cités dans la littérature.

Dans un souci de comparaison, nous avons fait le choix d'exprimer les résultats découlant des différents tests de façon homogène en microgramme d'équivalent de l'antioxidant (antioxydant de référence) par gramme de matière sèche. Pour tester la capacité d'un extrait à donner un atome d'hydrogène ou un électron et donc de sa capacité antiradicalaire ou antioxydante le radical DPPH est le plus souvent utilisé (Oyaizu, 1986 ; Soares *et al*., 1997). En présence de capteurs de radicaux libres le DPPH·de couleur violette vire au jaune c-à-d se réduit en 2.2 diphényl 1 picryl hydrazine, ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Une diminution de l'intensité de la couleur du DPPH explique la présence de substances antiradicalaires dans le milieu réactionnel. Parallèlement aux différents extraits, le BHA, BHT et α-tocophérol ont été utilisés comme témoins positifs.

Les activités antioxydantes varient considérablement entre les différents extraits (d'Ain Abessa et d'Amoucha), l'ordre d'inhibition du radical DPPH était : EAc> EBu> EBr > EAq avec des IC50 respectives de (21,31±0,70 - 22,5±0,55 -76,02±2,33 et 135,25±2,55**)** µg/ml ; (24,56±3,75 -26,75±0,25 - 62,40±1,43 et 81,4±3,84) µg/ml. Trois standards utilisés dans cette étude à savoir BHA, BHT et α-tocophérol, dont les valeurs d'EC50 sont respectivement 6,14±0,41- 12.99±0,41 et 13.02±5,17 µg/ml.

Les résultats représentés dans la figure 45, montrent que l'extrait *n*-butanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle d'Ain Abessa possèdent la meilleure activité anti radicalaire (*** p < 0.05) comparés aux extraits hydrométhanolique et aqueux, cette activité reste significativement inférieure à celle du BHT, BHA et α tocophérol (p< 0.05). Exceptionnellement, l'extrait *n*-butanolique présente une différence non significative p>0,05 dans son pouvoir à neutraliser le radical DPPH comparé aux standards BHT et α-tocophérol.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Hossain et ses collaborateurs (2013) qui ont montré que le pouvoir piégeur, mesuré par le test DPPH, est dans l'ordre : EBu >EAc>EAq.

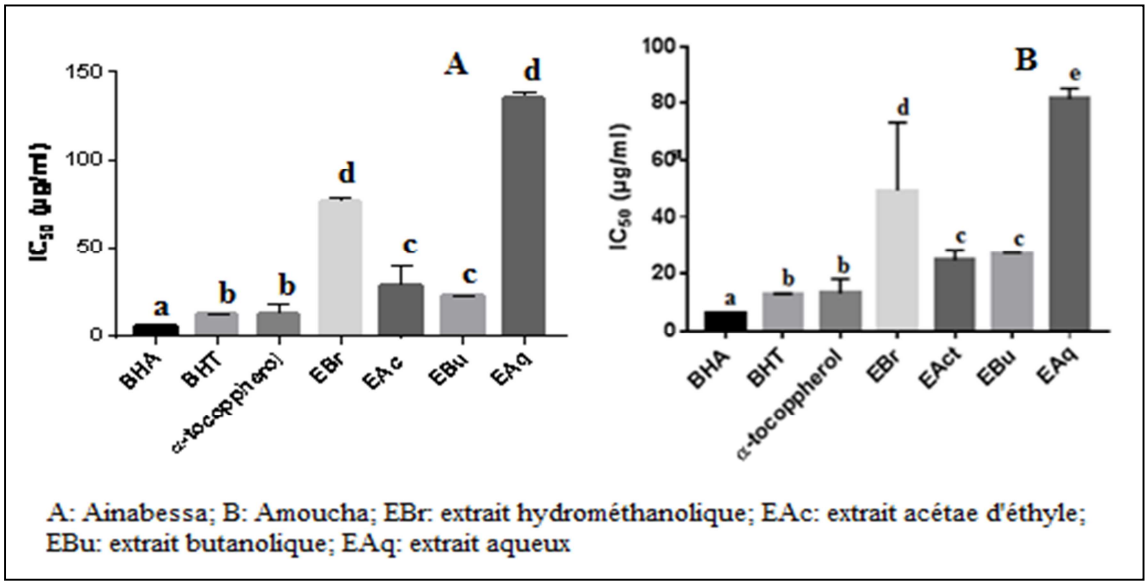


Figure 45: Comparaison des CI_{50} des différents extraits de *F.lutea* vis-à-vis du radical DPPH

Les données sont exprimées en (moyenne ± SD), les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 (P<0,05), BHA, BHT et α-tocophérol sont utilisés comme standards, les extraits ayant de différentes lettres sont significativement différents.

Les profiles d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les extraits testés possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante et montrent de grandes différences entres les différents extraits, cette activité est due au fait que *F. lutea* possède un potentiel antioxydant

et une capacité de capter les radicaux libres, en raison de sa teneur en polyphénols et en flavonoïdes. Les extraits aqueux renferment moins de polyphénols et de flavonoïdes et présentent des activités antioxydantes moins prononcées.

L'extrait aqueux de la partie aérienne d'Ain Abessa et d'Amoucha présente une très faible activité antiradicalaire avec une IC50 de 135,25±2,55 et 81,4±3,84 µg/ml respectivement, ce qui montre que les antioxydants apolaires sont inactifs vis-à-vis le DPPH. La capacité antioxydante des extraits est proportionnelle à la polarité des solvants utilisés, les extraits des solvants polaires, et moyennement polaire qui sont le *n*-butanolique et l'acétate d'éthyle ont donné les meilleurs résultats suivis par les extraits du solvant faiblement polaire, l'extrait brut et l'extrait aqueux dont le pouvoir antiradicalaire est le plus faible. Ceci est en accord avec les résultats de Kintzios et ses collaborateurs (2010) qui ont trouvé que les extraits méthanoliques de quelques plantes médicinales ont des effets piégeurs de radicaux DPPH plus grands que ceux de leurs extraits aqueux. Ces résultats sont en accord avec ce qui est annoncé dans la littérature par plusieurs auteurs que le potentiel d'activité antioxydante d'un extrait dépend de sa teneur en composés phénoliques (Stagos *et al*., 2012 ; Amri *et al*., 2015 ; Guettaf *et al*., 2016).

Il est évident que la forte activité antioxydante enregistrée dans certains de nos extraits est attribuée à leur richesse en composés phénoliques. De plus, le nombre d'hydroxyles est l'élément structural qui détermine la capacité des composés à piéger le radical DPPH, comme cela est classiquement observé pour un certain nombre de composés (Halbwirth, 2010). Il est difficile de prédire le mode d'action impliqué dans ce cas précis car il existe une grande diversité dans le contenu en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits. Kang et son équipe (2003) ont suggéré que les extraits des végétaux qui contiennent des molécules polaires montrent une activité antiradicalaire élevée.

Au fait, Il est à rappeler que dans les travaux réalisés par Bouchouka, (2016) une corrélation positive a été établie entre les teneurs en composés phénoliques des extraits et leurs capacités antioxydantes. Il faut noter également que la grande différence entre les valeurs d'EC50 enregistrées pourrait, au moins en partie, être dû à l'utilisation du solvant mixte méthanol-eau dans la macération qui s'avère très avantageux car la présence d'eau augmente la polarité du solvant qui a pour effet d'extraire des molécules polaires, d'habitude non extractibles par des solvants organiques purs comme dans le cas de l'extraction au Soxhlet, tels que les polyphénols glycosylés ou hautement hydroxylés.

Des travaux cités dans la littérature confirment nos suggestions et qui rapportent que la présence d'eau dans les solvants mixtes augmenterait la perméabilité des tissus végétaux et

favoriserait le phénomène de diffusion de masse dans l'étape d'extraction (Moure *et al*., 2000; Trabelsi *et al*., 2010 ; Arimboor et Arumughan, 2011). L'étude de la relation structure/activité a montré aussi que l'action antioxydante augmente avec la présence des groupement 6-hydroxyl et caffeoyl (Es-Safi *et al*., 2006). Plusieurs études ont rapporté que l'activité antiradicalaire des extraits des plantes dépend de la quantité de composés polyphénoliques dans ces derniers (Surveswaran *et al*., 2007) mais Falleh *et al*. (2008) ont montré que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait.

L'activité antioxydante dépend de plusieurs facteurs, par exemple : la concentration des extraits, la méthode d'évaluation, la sensibilité des antioxydants à la température de l'essai et la nature hydrosoluble ou liposoluble de l'antioxydant (Kadri *et al*., 2011 ; Ghedadba *et al*., 2014). Étant donné que la quantité des composés phénoliques est un facteur important mais ce n'est pas toujours suffisant, il y a un autre critère relatif aux composés phénoliques à prendre en considération dans l'interprétation de l'activité antioxydante, c'est le critère qualité.

V.4.2. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

La méthode du CUPRAC (cupric reducing antioxidant capacity) est utilisée pour la détermination de la capacité antioxydante des extraits en utilisant le complexe Cu2+-Neocuproine (Cu2+-Nc) comme réactif oxydant chromogène, la réaction se produit à un PH=7. La réduction de Cu2+ en Cu+ est quantifiée spectrophotometriquement à une longueur d'onde de 450 nm (Apak *et al*., 2004).

Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu+2-Nc (Fig. 46). La densité de la couleur produite a une relation directe avec la concentration de l'antioxydant. Ce procédé est capable de mesurer à la fois des antioxydants hydrophiles et hydrophobes.

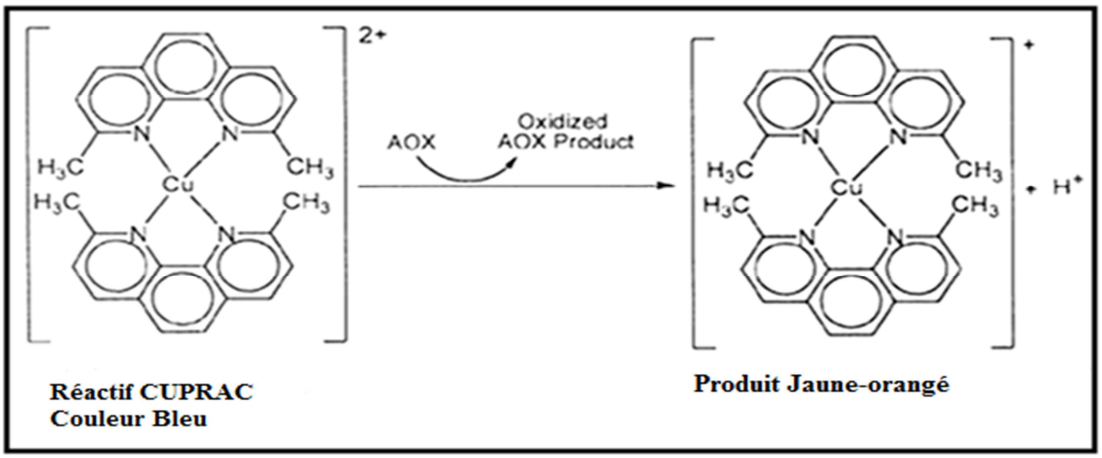


Figure 46 : Réduction du complexe chromogène de Cu+2-Nc

La valeur EC50 est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et est calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon. Les valeurs des EC50 d'Ain Abessa sont dans l'ordre croissant : EAc> EBu > EBr > EAq. Elles correspondent aux valeurs suivantes : (7,42 ± 0,13 > 11,51 ± 0,69 > 74,99 ± 0,66 > 92,61 ± 6,68 µg/ml. Les résultats représentés dans la figure ci-dessous (Fig. 47) montrent que les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanolique d'Ain Abessa et d'Amoucha possèdent une forte activité anti antioxidante *** p < 0.05) (7,42±0,13-11,51±0,69) et (13,18±0,33-14,80±1,03) µg/ml comparés aux extraits bruts hydrométhanolique et aqueux (74,99-92,61) et (25,72-45,21) µg/ml, mais les extraits d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique d'Ain Abessa présentent une différence non significative p>0,05 dans leur pouvoir antioxidant comparés aux standard BHT et BHA (5,35±0,71 et 8,97±3,94 µg/ml). Les extraits aqueux des deux régions montrent l'activité la plus faible, les valeurs IC50 correspondent à 92,61±6,68 et 45,21±1,66 µg/ml respectivement.

Les valeurs des EC50 d'Amoucha sont dans l'ordre croissant : EAc> EBu > EBr > EAq. Elles correspondent aux valeurs suivantes :(13,18±0,33>14,80±3,28>25,72±0,72>45,21±1,66 µg/ml). D'après les résultats mentionnés dans la Fig. 47, on constate que l'extrait d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique d'Ain Abessa ont la meilleure activité inhibitrice du Cuprac (7,42±0,13 et 11,51±0,69µg/ml) (p< 0,05) et ne sont pas significativement différents (p< 0,05) aux standards BHA et BHT (5,35±0,71 et 8,97±3,94 µg/ml). EC50 de l'acétate d'éthyle et aqueux d'Ain Abessa sont deux fois supérieur (***p < 0.05) comparé aux extraits acétate d'éthyle et aqueux d'Amoucha.

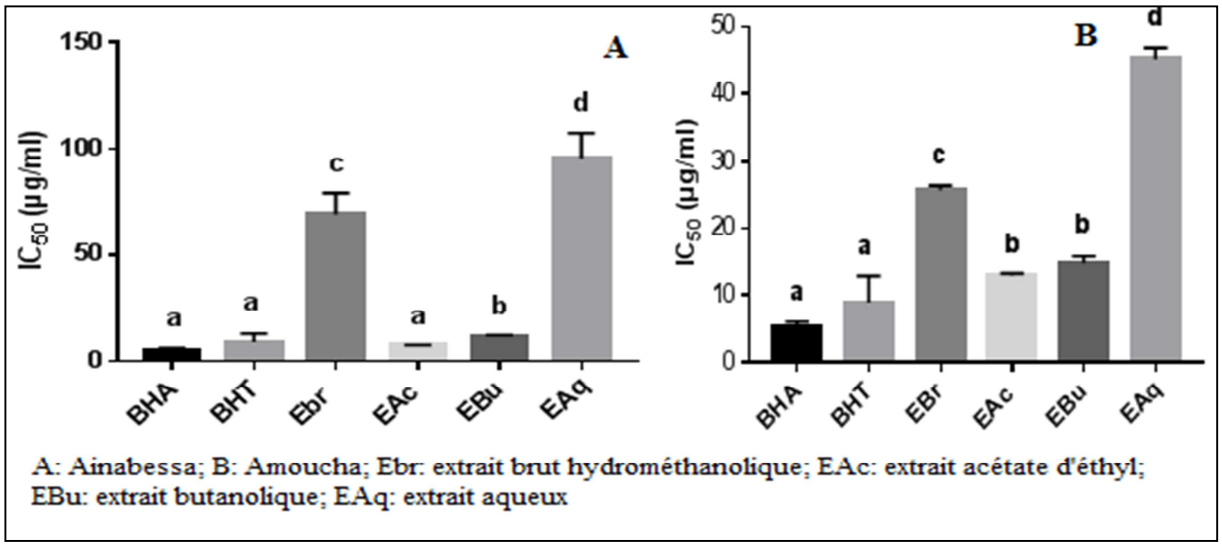


Figure 47 : le pouvoir réducteur des extraits de *Ferula lutea* via la réduction du Cuivre (test CUPRAC).Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3), les valeurs sont significativement différentes au seuil de P< 0.05).

On constate que les extraits qui possèdent les absorbances les plus élevées ont le pouvoir réducteur le plus élevé, contrairement aux extraits aqueux qui possèdent les absorbances les plus faibles. Cela démontre leur propriété de donation d'électrons et par conséquent leur capacité de neutraliser les radicaux libres.

L'activité antioxydante des extraits des plantes aromatiques est en relation directe avec leur composition chimique. Pour cette raison, la présence d'une haute teneur en composés phénoliques dans les extraits donne une forte capacité antioxydante (Sagdic *et al.*, 2011; Yavaşer *et al.*, 2015). Il faut noter qu'il est difficile d'attribuer l'activité à un seul composé puisque un effet de synergie entre les différents composés (minoritaires ou majoritaires) peut avoir lieu.

Le pouvoir réducteur des extraits est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurs d'électrons. Les extraits révèlent un pouvoir parfaitement dose dépendante, une augmentation en concentration des extraits dans le mélange réactionnel provoque une croissance en absorbance. Les propriétés réductrices sont généralement associées à la présence des agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux ROS et de les éliminer ce qui rompe la chaîne de radicaux libres en donnant un atome d'hydrogène. Selon notre littérature, il n y a pas des études sur le pouvoir réducteur des ions Cu2+ des extraits de *F. lutea*.

V.4.3. Pouvoir réducteur du Fer

La capacité de donation d'électrons dans une réaction d'oxydoréduction peut être aussi utilisée dans la mesure de l'activité antioxydante d'un composé. Cette capacité de donation d'électrons est appelée pouvoir réducteur.

Le pouvoir réducteur des différents extraits de la partie aérienne de *F. lutea* est mesuré dans cette étude par la réduction directe de Fe3+ (CN-)6 en une forme ferreuse Fe2+ (CN-)6 qui est déterminée par la détection spéctrophotométrique du complexe (Fe3+)4[Fe2+(CN-)6]3 ayant une forte absorption à 700 nm. La couleur jaune du milieu réactionnel change en vert dont l'intensité est en fonction du pouvoir réducteur de l'échantillon étudié (Zou *et al*., 2004).

La valeur EC50 est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et est calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon plus l'EC50 est faible plus le pouvoir réducteur est grand. Les valeurs des EC50 des différents extraits de la partie aérienne de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa sont dans l'ordre croissant : EAc>EBr > EBu> EAq, elles correspondent aux valeurs suivantes : (22,86 ±1,92>42,83±2,43>166±6,25>319±1,37µg/ml).

L'extrait acétate d'éthyle possède le meilleur pouvoir réducteur p ***< 0.05, comparé avec les autres extrait son activité est non significative p ns< 0.05, comparé aux standard BHA et Quercétine par contre l'extrait aqueux reste non actif la valeur EC50 est supérieure à 200 elle est de 319±2,37µg/ml (Fig.48).

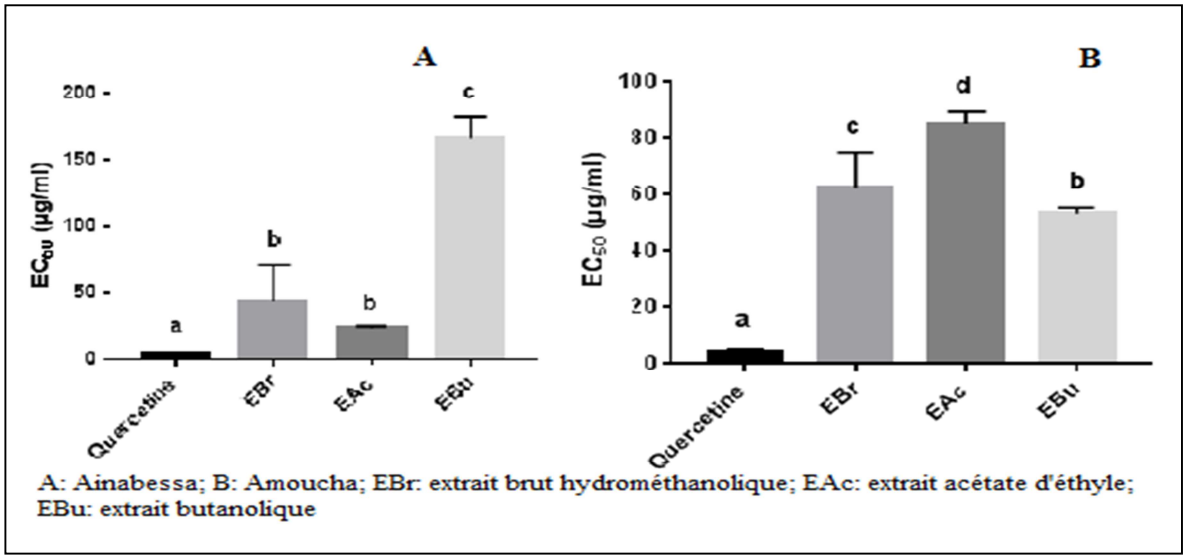


Figure 48 : le pouvoir réducteur des extraits de *Ferula lutea* via la réduction du fer ferrique (Fe+3) en fer ferreux (Fe+2). Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3).

Ces résultats montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle montre une forte activité réductrice, avec une valeur d'EC50 de 22,86±1,36µg/ml, mais cette dernière reste supérieure à celles de BHA et Quercétine dont les valeurs sont respectives : 9,29±0,22 et 4,31±0,64 µg/ml, par contre l'extrait aqueux n'a aucune activité réductrice, la valeur EC50 est supérieure à 200 µg/ml, elle correspond à 319±2,37 µg/ml. Egalement les valeurs des EC50 des différents extraits d'Amoucha sont dans l'ordre croissant : EBu> EBr > EAc, elles correspondent aux valeurs suivantes :(53±2,92>71,22±3,28>82,25±1,96µg/ml). Ces résultats montrent que l'extrait *n*-butanolique possède le meilleur pouvoir réducteur ($p < 0.05$), comparé à l'extrait brut hydrométhanolique et aux standards BHA et Quercétine par contre l'extrait aqueux reste inactif la valeur EC50 est supérieure à 200 µg/ml, elle correspond à 211±6,55 µg/ml.

Cela démontre leur propriété de donation d'électrons et par conséquent leur capacité de neutraliser les radicaux libres, contrairement aux extraits aqueux qui possèdent les EC50 les plus élevées. Les extraits révèlent un pouvoir parfaitement dose dépendante une augmentation en concentration des extraits dans le mélange réactionnel provoque une croissance en absorbance.

Les agents réducteurs réagissent avec certains précurseurs du peroxyde, empêchant ainsi la formation de ce dernier (Liu et *al*., 2011). Les composants dotés d'un pouvoir réducteur sont des donneurs d'électrons et peuvent réduire les intermédiaires oxydés du processus de la réaction de peroxydation des lipides, donc ils peuvent agir comme des antioxydants primaires ou secondaires (Narasimhan *et al*., 2013). Le pouvoir réducteur des extraits est probablement dû à la présence de groupement, hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurs d'électrons. Par conséquent, les antioxydants peuvent être considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Siddhuraju et Becker, 2007). Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Jeong *et al*., 2004).

V.5.Conclusion sur les tests antioxydants

Nous constatons une bonne corrélation positive entre les trois techniques utilisées dans le présent travail pour évaluer la capacité antioxydante. Cette observation a été faite par plusieurs auteurs (Ragaee *et al*., 2006 ; Wijngaard *et al*., 2009). En effet, les extraits qui possèdent les meilleurs pouvoirs piégeurs vis-à-vis des radicaux libres (DPPH) montrent également les meilleures capacités réductrices du Fe(III) et CUPRAC tel que les extraits

acétate d'éthyle et *n*-butanolique qui s'avèrent plus actifs en activité antiradicalaire et activité réductrice. Ceci peut être expliqué par la richesse de nos extraits en composés phénoliques et des flavonoïdes de structures chimiques différentes et que l'activité antioxydante étudiée par ces tests ne dépend pas obligatoirement de la concentration des ces composés, cela témoigne vraisemblablement de la présence dans nos extraits des molécules antioxydantes pouvant intervenir par deux types de mécanisme réactionnel. Ces résultats montrent clairement que les extraits ayant la même activité peuvent être composés des mêmes molécules.

Certains auteurs rapportent que la capacité antioxydante des substances naturelles pourrait avoir une corrélation réciproque avec leur capacité réductrice (Yen et Duh, 1995 ; Guettaf *et al*., 2016) et que cette dernière peut, à son tour, servir d'indicateur important de leur potentiel d'activité antioxydante (Liu *et al*., 2013). Au fait, les observations des chercheurs sur l'impact des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante des espèces végétales sont divergentes, cette divergence pourrait s'expliquer par le fait qu'une activité antioxydante d'un extrait dépend essentiellement de la nature des composés qu'il contient et de leur vulnérabilité au traitement qu'ils subissent lors d'un procédé d'extraction.

En conclusion, la détermination de l'activité antioxydante des extraits par la mesure de leur pouvoir piégeur du radical DPPH par donation de protons et leur aptitude à réduire l'ion ferrique et l'ion cuivrique par transfert d'électrons, permet de constater que les extraits des *Ferula lutea* semblent présenter un intérêt réel et potentiel par leurs activités antioxydantes qui ont été établies *in vitro*. En remarque qu'il y'a une proximité dans les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoides et il y a un rapprochement aussi dans le pouvoir antioxydant. Ces résultats montrent clairement que les extraits ayant la même activité peuvent être composés des mêmes molécules.

V.6.Activité anticholinesterase

Le pouvoir inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE) a été évalué par la méthode spéctrophotométrique d'Ellman et ses collaborateurs, cette activité est basée sur le clivage de l'acétylthiocholine par l'AChE, cette réaction produit alors de la thiocholine qui réagit à son tour, via ses groupements thiols -SH-, avec l'acide 5,5′-dithiobis[2-nitrobenzoïque] (DTNB) pour former un anion de couleur jaune dont l'intensité est fonction de l'activité de l'acétylcholinestérase (Ellman *et al*., 1961) (Fig. 49).

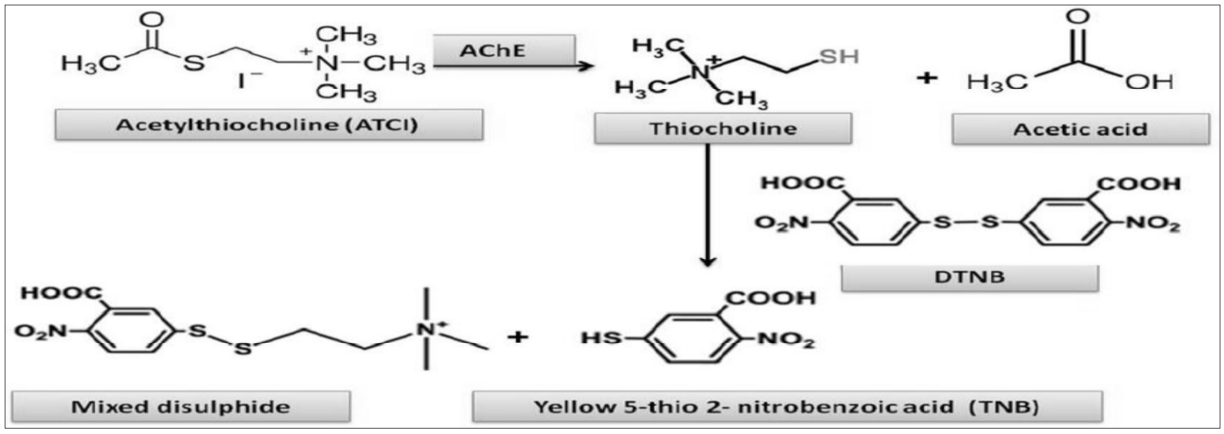


Figure 49 : Les mécanismes chimiques de la méthode d'Ellman (Ali-Shtayeh *et al.*, 2014).

Les résultats mentionnés dans le Tab. 17 montrent que l'huile essentielle des graines de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa a manifesté la plus grande aptitude à inhiber l'acétylcholinestérase avec une IC50 égale à 42,36±1,36µg/ml, suivie par l'HE des fleurs, feuilles et tiges (90,12±2,77-117,01±2,70 et 146,26±6,85 µg/ml) respectivement. Ces huiles présentent une différence très significative dans leur activité (***p< 0.05), mais cette activité reste significativement inférieure à celle de la Galantamine dont l'IC50 qui est de l'ordre de 6,27±1,15 µg/ml (***p< 0.05).

Les huiles essentielles des tiges et feuilles de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha ont montré la plus faible activité avec des IC50 de (146,26±6,88-117,01±2,70) et (159,63±8,56-126,58±3,98µg/ml). Par ailleurs les huiles essentielles des fleurs récoltées à Ain Abessa et Amoucha ont montré une différence hautement significative dans leurs activités (***p< 0.05), contrairement aux HEs des tiges récoltées dans les deux régions dont l'activité reste non significative p< 0.05).

Tableau 17: Inhibition l'acétylcholinestérase par les HEs des différentes parties de *F. lutea* récoltée à Ain Abessa et Amoucha

	Pouvoir inhibiteur de l'acetylcholinesterase (IC_{50} µg/ml)	
	Ain Abessa	Amoucha
Graines	42.36±1.36^{b}	65.45±8.43^{b}
Tiges	146.26±6.88^{e}	159.63±8.56^{e}
Fleurs	90.12±2.77^{c}	113.49±6.19^{c}
Feuilles	117.01±2.70^{d}	126.58±3.98^{d}
Galantamine	6.27±1.15^{a}	6.27±1.15^{a}

Chaque valeur représente la moyenne ±SD, Les valeurs avec des différentes lettres sont significativement différentes (p< 0.05). Galantamine est le standart.

L'activité inhibitrice modérée de l'AChE des HEs pourrait être due à l'activité de ses composants individuels, l'α-pinène et le β-pinène. Dans une étude de l'inhibition *in vitro* de l'AChE des érythrocytes humains par l'huile essentielle de *Salvia lavandulaefolia* et ses principaux monoterpènes, Perry *et al*. (2000) ont montré que l'α-pinène, le 1-8 cinéole et le camphre sont les inhibiteurs réversibles compétitifs de l'AchE. Dans une autre étude de Miyazawa et Yamafuji (2005) ont montré que l'α-pinène et le δ-3-carène sont des inhibiteurs puissants de l'AChE ceci est en accord avec les résultats de notre étude où nos HEs sont riches en α-pinène et δ-3-carène. De même, Kim *et al.* (2013) ont décrit que l'α-pinène avait l'activité d'inhibition de l'AChE la plus forte suivie par le β-pinène et le limonène sur les adultes du charançon de riz *Sitophilus oryzae*.

D'autre part, Orhan *et al*. (2008) ont suggéré que l'activité inhibitrice des extraits des plantes ne doit pas nécessairement être attribuée à un seul composé mais peut aussi dépendre de plusieurs composés qui agissent de manière synergique, ou des composés qui se régulent les uns les autres parce que les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composants qui montrent des activités généralement plus élevées que leurs composants isolés, leurs activités finales peuvent être dues aux effets combinés de plusieurs composants mineurs.

Selon Kunduhoglu *et al*. (2011) l'interaction synergique et antagoniste entre les composants majeurs et mineurs des huiles essentielles peut affecter l'activité anticholinesterase. En outre, les études sur la relation structure -activité des monoterpènes ont montré d'une part, que la présence des fonctions oxygénées dans les monoterpènes bicycliques diminue l'activité inhibitrice de l'AChE (Aazza *et al*., 2011) et d'autre part, la présence de ces fonctions oxygénées dans les sesquiterpènes augmente cette activité inhibitrice (Miyazawa *et al*., 2001).

CONCLUSION
et
PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les travaux présentés dans ce manuscrit s'inscrivent dans la continuité de recherche des molécules bioactives de la famille des Apiaceae en général et le genre Ferula en particulier. Cette étude comparative des effets des différentes parties de *F. lutea* (Poir.) Maire récoltées dans deux régions différentes dans la région de Sétif (Ain Abessa et Amoucha) et après son identification botanique a été l'occasion de mettre en œuvre les différentes facettes de l'analyse développée au cours de cette thèse, telle que l'extraction, composition chimique, et tests d'activités biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes) des huiles essentielles et des extraits brut hydrométhanoliques y compris leurs fractions. Dans un second volet abordé par cette étude une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase est effectuée.

Suite à l'extraction des HEs des différentes parties aériennes de *F. lutea* on a constaté que les graines et les fleurs récoltées dans les deux régions possèdent le rendement en HE le plus élevé (1,65%, 2,48%) et (1,67%, 1,24%) par apport aux tiges et feuilles qui possèdent un rendement faible (0,03%, 0,02%) et (0,14%, 0,21%).

L'analyse chimique des huiles essentielles par GC/MS a montré que les principaux constituants de la partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs et graines) de *Ferula lutea* d'Ain Abessa ont été établis comme : α-pinène (20,9% - 18,1% - 20,0% - 20,5%) et δ-3-carène (36,5% - 27,0% 33,0% -27,0%). Egalement les composés majoritaires des huiles essentielles des même différents organes récoltés à Amoucha sont qualitativement identiques mais quantitativement ils sont différents, ils ont été établis comme : α-pinène (27,0% - 16,1% - 19,6% - 16,5%) et δ-3-carène (30,2% - 20,6% 33,1% -27,4%). Particulièrement le *Cis*-chrysanthenyl acétate et le 2-3-6-trimethylbenzaldehyde sont les composés majoritaires des graines d'Amoucha, les valeurs sont respectivement (30,0% et 14,4%).

Au niveau des deux régions le pourcentage élevé des monoterpènes hydrocarbonés est attribué aux HEs des tiges (93,6% et 82,6%) par contre l'HE des graines possèdent le pourcentage le plus élevé en monoterpènes oxygénés (10,4% et 15,5%). Enfin les sesquiterpènes hydrocarbonés sont pratiquement absents dans les HEs des graines et fleurs (0,0%). En comparant les résultats de l'analyse chimique des huiles essentielles on constate beaucoup de ressemblances (qualité) et quelques différences (quantité) qui peuvent être attribuées aussi bien aux facteurs extrinsèques qu'aux facteurs intrinsèques.

Nous avons tenté d'extraire les composés phénoliques totaux par extraction solide-liquide en utilisant trois solvants choisis de manière à solubiliser un maximum de composés.

Un protocole d'extraction a été optimisé afin de concentrer les composés dans un extrait adapté en réalisant des extractions successives avec des solvants de polarité croissante. Nous avons d'abord éliminé tous les composés apolaires, cette première étape a permis de fragiliser les cellules végétales en laissant pénétrer le premier solvant d'extraction, puis de simplifier les extraits enrichis que nous avons obtenus avec le *n*-butanol et l'acétate d'éthyle.

Une rentabilité importante a été remarquée dans les extraits brut hydrométhanolique et aqueux des deux régions, les valeurs sont dans l'ordre (16,46 - 4,18) et (19,1 -5 ,22). Le dosage des polyphénols totaux, en équivalent d'acide gallique, de l'extrait brut hydrométhanolique ainsi que ses fractions a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, de même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode colorimétrique en équivalent à la quercétine.

Au sein des deux stations de récolte, les résultats révèlent que l'extrait *n*-butanolique et l'extrait brut hydrométhanolique accusent les teneurs les plus élevées en composés phénoliques avec ces valeurs respectives : (483±5,0 - 395±1,17) et (696,5±6,53 – 4,15±8,88 mg GAE/g extrait). Par contre la prédominance des flavonoïdes est attribuée aux extraits *n*-butanolique et Acétate d'éthyle, ils correspondent : (138,11±0,83 – 123,58±7,37) et (111,56±2,03 – 110,20±4,59 mgQE/g extract) respectivemnt.

Les huiles et les extraits ont été également soumis à un criblage pour leur possible activité antibactérienne *in vitro*, contre quatre souches de références : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Proteus mirabilis* ATCC 35659 et *Staphylococus aureus* ATCC 25923, en employant la méthode de diffusion sur disque et la méthode de macrodilution en milieu solide. Les huiles essentielles ont révélé des activités antimicrobiennes variables contre les différentes souches microbiennes testées. Les huiles des fleurs d'Amoucha ont témoigné une forte activité antimicrobienne vis-à-vis de toutes les souches Gram négatif (E. *coli*, *P. mirabilis*) et Gram positif (*B. cereus*, *S. aureus*) les diamètres des zones d'inhibition sont (13±2,12-12,83±0,28) et (16,33±0,76-10,16±0,57) respectivement. Par ailleurs l'HE des fleurs d'Ain Abessa a inhibée tous les germes sauf *P. mirabilis*, les zones d'inhibition de : *E. coli*, *B. cereus* et *S. aureus* sont respectivement (4,00±1,32, 16,66±1,52 et 12,16±1,04 mm). *Bacillus* est le germe le plus sensible il est inhibé par la plupart des huiles testées par contre *proteus* apparait le germe le plus résistant envers toutes les huiles. La fleur est l'organe le plus antimicrobien par ces huiles essentielle alors que les graines sont les moins actives par contre les feuilles et les tiges n'ont aucun effet inhibiteur de la croissance bactérienne.

Les souches sensibles comme *B. cereus* et *S.aureus* ont fait l'objet d'une étude antibactérienne approfondie par la détermination de leurs CMI par la méthode de macrodilution en milieu solide. Les CMI ont été déterminée à partir des huiles les plus actives en milieu gélosé. Les résultats les plus prometteurs obtenus sont ceux des HEs des fleurs et graines récoltées à Amoucha qui ont témoigné une forte activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec des CMI situées entre 6,75 et de 3,33mg/ml.

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des HEs et des extrait a été réalisée par différentes méthodes, à savoir : le piégeage du radical libre DPPH•, le pouvoir réducteur et CUPRAC. Les extraits d'acétate d'éthyle et *n*-butanolique possèdent une forte activité antioxydante prouvée au DPPH et au CUPRAC contrairement aux extraits aqueux qui présentent des activités antioxydantes moins prononcées, car ils renferment moins de polyphénols et de flavonoïdes. Les extraits *n*-butanolique et acétate d'éthyle des deux régions possèdent un grand pouvoir de piéger le radical DPPH avec des IC50 de l'ordre (76,02 ±2,33-21,31±0,70 µg/ml) et (26,75±0,28 -24,56±3,75 µg/ml) respectivement, mais ces activités restent relativement faible par rapport aux antioxydants standard, BHA, BHT et α-tocophérol dont les valeurs des IC50 sont l'ordre : 6,14±0,41 ; 12,99±0,41 et 13,02±5,17 µg/ml) respectivement. Cette activité DPPH est due au fait que *F. lutea* possède un potentiel antioxydant et une capacité de capter les radicaux libres, en raison de sa teneur en polyphénols et en flavonoïdes.

Le nombre d'hydroxyles est l'élément structural qui détermine la capacité des composés à piéger le radical DPPH. Mais du fait de la diversité du contenu en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits, il est difficile de prédire le mode d'action impliqué dans ce cas précis. Les profils pouvoir réducteur des ions de cuivres montrent aussi que les différents extraits de *Ferula lutea* interfèrent d'une manière dose-dépendante.

Les extraits d'acétates d'éthyle et *n*-butanolique des deux régions ont montré un puissant pouvoir réducteur avec des IC50 de l'ordre (7,42±0,13 ; 11,51±0,69 µg/ml) et (13,18±0,33 ; 14,80±1,03µg/ml). Particulièrement l'extrait d'acétate d'éthyle d'Ain Abessa a manifesté une activité spectaculaire avec une IC50 (7,42±0,13 µg/ml) inferieure à celle du standard BHT (8,97±3,94 µg/ml)

Les résultats de la technique du pouvoir réducteur basée principalement sur la capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe3+ à la forme Fe2+ ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle d'Ain Abessa est le plus actif et l'extrait *n*-butanolique est le moins actif les IC50 sont respectivement : (22,86±1,36 ; 155,66±6,35µg/ml), le contraire est observé dans station d'Amoucha où l'extrait *n*-

butanolique est le plus actif et l'extrait d'acétate est le moins actif (53,07±2,07 ; 84,43±4,47µg/ml). Finalement les extraits aqueux n'ont montré aucun pouvoir réducteur.

Les différences d'activités selon le test utilisé entre les différents extraits ont pu être corrélées avec les différences dans leurs teneurs en polyphénols. Les extraits les plus riches en polyphénols et flavonoïdes étant les plus actifs. Cependant, l'intensité de l'activité antioxydante ne dépend pas uniquement de la teneur globale en polyphénols et flavonoïdes mais également de leur nature.

Les huiles essentielles des différentes parties de *F. lutea* et les extraits de la partie aérienne ont été également testées *in vitro* pour leurs activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase (AChE). Les huiles essentielles des graines d'Ain Abessa et d'Amoucha ont manifesté une bonne inhibition de l'enzyme avec des IC50 faibles, elles sont de l'ordre ; (42,36±1,36 et 65,45±8,43 µg/ml) mais restent faibles par apport à la Galantamine (IC50= 6.27±1.15 µg/ml).

Ces derniers résultats présentés dans cette étude sont les premières informations sur l'activité inhibitrice de l'acethylcholinesterase. Du point de vue phytochimique, cette plante s'est révélée riche en composés phénoliques et en flavonoïdes. Ceci constitue une justification scientifique de l'usage traditionnel des plantes aromatiques et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreux maux et indiquent également une utilisation possible de cette plantes en phytothérapie. Mais ces résultats ne constituent qu'une ébauche dans le domaine de recherche de nouvelles molécules actives sur les maladies impliquées dans les stress oxydant, il serait intéressant d'étayer ce travail par :

- La purification et l'identification des principes actifs
- Activité antidiabétique
- L'étude de la toxicité de ceux-ci sur différentes lignées cellulaires (*in vitro*) et sur des modèles utilisant les animaux (*in vivo*) afin de déterminer les doses thérapeutiques et les doses létales car les remèdes traditionnels souffrent beaucoup du problème de dosages.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Aazza S., Lyoussi B. and Miguel M. G. (2011). Antioxidant and Antiacetylcholinesterase activities of Some Commercial Essential Oils and Their Major Compounds. *Molecules*, 16: 7672-7690.

Abedi D., Jalali M., Asghari G. and Sadeghi N. (2008). Composition and Antimicrobial Activity of Oleoguresin of *Ferula gummosa* Boiss. Essential oil Using Alamar Blue TM. *Research Pharmaceutical Sciences*, 3 (1): 41-45.

Adamczyk B., Kitunen V. and Smolander A. (2013). Response of Soil C and transformations to Condensed Tannins and Different Organic N-condensed Tannin Complexes. *Applied Soil Ecology*, 64: 163-170.

Adams R. P. (1995). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectroscopy. 2nd édition Carol Stream: Allured Publishing Corppration, Etats-Unis, 469p.

AdamsR. P., Zanoni T. A. , Cambil A. L., Barrero A. F. and Cool L. G. (1997). Comparisons among *Cupressus arizonica* Greene, *C. benthamii* Endl., *C. lindleyi* Klotz. ex Endl. and *C. lusitanica* Mill. using Leaf Essential Oils and DNA Fingerprinting. *Journal Essential Oil Research*, 9: 303-310.

AFNOR. (2000). Echantillonnage et Méthode d'Analyse, Monographies Relatives aux Huiles Essentielles. Tome I et II, 6ème édition, Paris.

Aires A., Marques E., Carvalho R., Rosa E. A. S. and Saavedra M. J. (2013). Evaluation of Biological Value and Appraisal of Polyphenols and Glucosinolates from Organic Baby leafsalads as Antioxidants and Antimicrobials against important Human Pathogenic Bacteria. *Molecules*, 18: 4651- 4668.

Akhgar M.R., Rustaiyan A., Masoudi S. and Bigdeli M. (2005). Essential Oils of *Ferula Microcolea* (Boiss.) and *Ferula hirtella* Boiss from Iran. *Journal of Essential Oil Resarch*, 17: 237-238.

AL-Farsi M.A. and Lee C.Y. (2008). Optimisation of Phenolics and Dietary Fibre Extraction from Date Seech. *Food chemistry*, 108: 977-985.

Ali M., Abbasi B. H. and Ul-haq I. (2013). Production of Commercially Important Secondary Metabolites and Antioxidant Activity in Cell Suspension Cultures of *Artemisia absinthium* L. *Industrial Crops and Products*,49: 400-406.

Ali-Shtayeh M.S., Majed Jamous R., Abu Zaitoun S.Y. and Basem Qasem I. (2014). *In-vitro* Screening of Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Extracts from Palestinian Indigenous Flora in Relation to the Treatment of Alzheimer's Disease. *Functional Foods in Health and Disease*, 4 (9): 381-400.

Allen K. G., Banthorpe D. V. and Charlwood B. V. (1977). Metabolic Pools Associated with, Monoterpene Biosynthesis in Higher Plants. *Phytochemistry*, 16: 79-83.

Alvaez-Castellanos P. P. and Pascal-Villabos M. J. (2003). Effect of Fertilizer on Yield and, Composition of Flower Head Essential Oil of *Chrysanthemum caronarium* (Asteraceae) Cultivated in Spain. *Industrial Crops and Products*, 17: 77-81.

Amarti F., Satrani B., Ghanmi M. Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. et Chaouch A. (2010). Composition Chimique et Activité Antimicrobienne des Huiles Essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, 14(1): 141-148.

Amri O., Elguiche R., Tahrouch S., Zekhnini A. and Hatimi A. (2015). Antifungal and Antioxidant Activities of Some Aromatic and Medicinal Plants from the Southwest of Morocco. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(7): 672-678.

Angioni A., Barra A., Russo M.T., Coroneo V., Dessiä S. And Cabras P. (2003). Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3073-3078.

Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S. and Cabras P. (2006). Chemical Composition, Seasonal Variability and Antifungal Activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Essential Oils from Stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4364 4370.

Apak R, Güçlü K, Ozyürek M and Karademir SE. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphénols 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: 7970-7981.

Appendino G., Spagliardi P., Cravotto G., Pocock V. and Milligan S. (2002). Daucane Phyto Estrogens: a Structure-Activity Study. *Journal of Natural Products*, 65: 1612- 1615.

Arimboor R. and Arumughan C. (2011). Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Proanthocyanidins Inhibit*in vitro* Enzymatic Hydrolysis of Protein. *Journal Food Science*, 76(6): 130-7.

Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A. et Witier P. (1995). Manuel Pratique de Chromatographie en Phase Gazeuse. 4ème édition. Masson, Paris, 700 p.

Asili J., Sahebkar A., Fazly Bazzaz B.S., Sharifi S. and Iranshahi M. (2009). Identification of Essential Oil Components of *Ferula badrakema* Fruits by GC-MS and 13CNMR Methods and Evaluation of its Antimicrobial Activity. *Journal Essential Oil-Bearing Plants*, 12: 7-15.

Askari F., Sefidkon F. and Teimouri M., (2010). Essential Oil Composition of the Different Parts of *Pimpinella barbata* (DC.) Boiss in Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 22: 605-608.

Assad y O., Torto B., Hassanali A., Njagi P. G. N., Bashir N. H. H. and Mahamat H. (1997) . Seasonal Variation in the Essential Oil Composition of *Commiphora quadricincta* and its Effect on the Maturation of Immature Adults of the Desert Locust, *Schistocerca gregaria*. *Phytochemistry*, 44: 833-841.

Athikomkulchai S., Watthanachaiyingcharoen R., Tunvichien S., Vayumhsuwan P., Karnsomkiet P., Sae-Jong P. and Ruangrungsi N. (2008). The Development of Anti-Acne Products from *Eucalyptus globulus* and *Psidium guajava* Oil. *Journal of Health Research*, 22 (3): 109-113.

Ayad R. (2008). Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum (zygophyllaceae)*. Mémoire de Magister. Option : Phytochimie, Université Mentouri, Constantine. 123p.

Bach D., Mascre M. et Deysson G. (1979). Organisation et Classification des Plantes Vasculaires, Cours de Botanique Générale, Quatrième Série. Tome 2, Ed. SEDES, Paris, 540p.

Badiaga M. (2011). Etude Ethnobotanique, Phytochimique et Activités Biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith, une Plante Médicinale Africaine Récoltée au Mali. Thèse de Doctorat. Option : Chimie Organique, Université Blaise Pascal – Clermont Ferrand II. 137p.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008). Biological Effects of Essential Oils–A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446–475.

Balasuriya B. W. N and Rupasinghe H. P. V. (2011). Plant Flavonoids as Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors in Regulation of Hypertension. *Functional Foods in Health and Disease*, 5:172-188.

Baldemir A., Coşkun M. and Yildiz S. (2006). Antimicrobial Activity of *Ferula halophila*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31: 57-61.

Barthomeuf C., Lim S., Iranshahi M. and Chollet P. (2008). Umbelliprenin from *Ferula szowitsiana* Inhibits the Growth of Human M4Beu Metastatic Pigmented Malignant Melanoma Cells Through Cell-Cycle Arrest in G1 and Induction of Caspase-Dependent Apoptosis. *Phytomedicine*, 15: 103-111.

Baser K.H.C., Ozek, T., Demirci B., Kurkcuolu M., Aytac Z. and Duman H. (2000). Composition of the Essential Oils of *Zosima absinthifolia* (Vent.) Link and *Ferula elaeochytris* Korovin from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 15 : 371-372.

Belaiche P. (1979). Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome 1: l'Aromatogramme. Ed. Maloine S. A., Paris, 201p.

Benamar H. (2008). Screening de Plantes pour leur Activité Inhibitrice de l'Acétylcholinestérase et Analyse Phytochimique. Mémoire de Magistère. Option: Biochimie Végétale Appliquée, Université Es-Senia, Oran. 137 p.

Benayad N. (2008). Les Huiles Essentielles Extraites des Plantes Médicinales Marocaines : Moyen Efficace de Lutte Contre les Ravageurs des Denrées Alimentaires Stockées. Rapport d'Etude. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63p.

Bendiabdellah A. (2014). Etudes Chimique et Biologique des Extraits de Trois *Daucus* (*D. crinitus, D. muricatus* et *D. carota* ssp *hispanicus*) de la Région de Tlemcen. Thèse de

Doctorat en Sciences. Option : Chimie Organique Appliquée, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen. 262p.

Bensalem.S., Jabrane.A., Harzallah S. F. and Benjannet H. (2013). New Bioactive Dihydrofurancoumarine from the Roots of the Tunisian *Ferula lutea (Poiret) Maire. Bioorganic& Medicinal chemistry*, 23: 4248-4252.

Bensalem S., Znati M., Jabran A., Casanova J. and Benjannet H. (2016). Chemical Composition, Antimicrobial, Antiacetylcholinesterase and Cytotoxic Activities of the Roots Essential Oil from the Tunisian *Ferula lutea (Poir.) Maire* (apiaceae). *TEOP*, 19 (4): 897-906.

Bensouici C. (2015). Etude Phytochimique et Evaluation des Activités Biologiques de Deux Plantes du Genre Sedum (Crassulaceae). Thèse Doctorat en sciences. Option phytochimie, Université frères Mentouri, Constantine. 221p.

Berahou A., Auhmanib A., Fdil N., Benharref A., Jana M. and Gadhi C.A. (2007). Antibacterial Activity of *Quercus ilex* Bark's Extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 426-429.

Bergogne-Bérézin E. et Brogard J. M. (1999). Bases Biologiques de l'Antibiothérapie. Ed. Masson, 280 p.

Blois M.S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.

Borros B., Jakabova S., Dornyei A., Horvath G., Pluhare Z., Kilar F. and Felingera A. (2010). Determination of Polyphenolic Compound by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry in Thymus species. *Journal of Chromatography A*, 1217 : 7972–7980.

Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E. et Saykova I. (2012). Etude de l'Extraction de Composés Phénoliques à partir de Pellicules d'Arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel*, 7 : 35-45.

Botineau M. (2010). Botanique Systématique et Appliquée des Plantes à Fleurs, Ed. Tec & Doc, Paris, 1335 p.

Bouakaz I. (2006). Etude Phytochimique de la Plante *Genista Microcephala*. Mémoire de Magister. Option : Phytochimie, Université El Hadj Lakhdar, Batna. 124p.

Bouaziz M., Dhouib A., Louki S., Boukhris, M. and Sayadi S. (2009). Polyphenols Content, Antioxidant and Antimicro-bial Activities of Extracts of Some wild Plants collected From the South of Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 8 (24): 7017-7027.

Bouchouka EL. M, Djilani A. and Bekkouche A. (2012). Antibacterial and Antioxidant Activities of Three Endemic Plants from Algerian Sahara. *ACTA Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 1(11): 61-65.

Bouchouka EL. (2016). Extraction des Polyphénols et Etude des Activités Antioxydante et Antibactérienne de Quelques Plantes Sahariennes. Thèse de Doctorat en Science. Option: Phytochimie, Universite Badji Mokhtar, Annaba, 114p.

Bouderdara N. (2013). Séparation et Détermination de Structures des Métabolites Secondaires de *Cachrys libanotis* L. Thèse de Doctorat Sciences. Option: Phytochimie, Université Mentouri, Constantine. 216 p.

Boulacel I., Harkati B., Ayad R., Demirtas I., Laouer H. and Akkal S. (2019). Phytochemical Studies Antibacterial and Antioxidant Activities of Aerial Parts of *Ferula lutea* (Poir.) Maire. *Acta Scientifica Naturalis*, 6(1): 6-7.

Boullard B. (2001). Plantes Médicinales du Monde, Réalités et Croyances, Ed. *ESTEM*, Paris, 636p.

Bourgou S., Ksouri R., Skandranf I., Chekir-Ghedira L. and Marzouk B. (2008). Antioxidant and Antimutagenic Activities of the Essential oil and Methanol Extract from Tunisian *nigella sativa* l. (Ranunculaceae). *Italian Journalof Food Science*, 20: 191-201.

Bousaada O., Ammar S., Saidana D., Chriaa J., Chraif I., Daami M., Helal A.N. and Mighri Z. (2008). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of volatile Components from Capitula and Aerial Parts of *Rhaponticum acaule* DC grow in wild in Tunisia. *Microbiology Research*, 163(1): 87- 95.

Bouzid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M. C. et Ayachi A. (2011). Evaluation de l'Activité Antioxydante et Antimicrobienne des Extraits de *L'Aubepine Monogyne. Lebanese Science Journal*, 12 (1): 59-69.

Braga P. C., Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M. X. and Guffanti E. E. (2006). Antioxidant Potential of Thymol Determined by Chemiluminescence Inhibition in Human Neutrophils and Cell-Free Systems. *Pharmacology*, 76 (2): 61-68.

Brand-williams W., Cuvelier M.E. and Berset C. (1995). Use of a Free Radical Method to evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel- Wissenschaft & Technologie*, 28 :25-30.

Brickell C. (2004). Encyclopédie Universelle des 15000 Plantes et Fleur de Jardin. Ed. Larousse, Paris, 1080 p.

Brown J. E., Khodr H., Hider R. C. and Rice-Evans C. (1998). Structural Dependence of Flavonoïd Interactions with Cu2+ ions. *Biochemical Journal*, 330: 1173-1178.

Bruneton J. (1987). Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 585p.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, Tec et Doc, Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Tec et Doc, Lavoisier, 4ème édition, Paris. 1292 p.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Tec et Doc, Lavoisier, 3ème édition, Paris, 1120p.

Burt S. (2004). Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods; A Review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223- 253.

Calo J. R., Crandall P. G., O'Bryan C. A. and Ricke S. C. (2015). Essential Oils as Antimicrobials in Food Systems - A review. *Food Control*, 54: 111–119.

Carnesecchi S., Bras-Gonçalves R., Bradaia A., Zeisel M., Gossé F., Poupon M. F. and Roul F. (2004). Geraniol a Component of Plant Essential Oils Modulates DNA Synthesis and Potentiates 5-fluorouracil Efficacy on Human Colon.*Cancer Letters*, 215: 53-59.

Carnesecchi S., Langle Y. K., Exinger F., Gossée F. and Roul F. (2002). Geraniol, a Component of Plant Essential Oils, Sensitizes Human Colonic Cancer Cells to 5-Fluorouracil Treatment. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301: 625-630.

Carson C. F., Mee B. J. and Riley T. V. (2002). Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46 (6): 1914-1920.

Cavalieri E., Mariotto S., Fabrizi C., Carcereri de prati A., Gottardo R., Leone S., Berra L.V., Louro G. M., Ciampa A. R. and Suzuki H. (2004). α-Bisabolol a Non-Toxic Natural Compound Strongly Induces Apoptosis in Glooma Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 315: 589-594.

Chalchat J. C., Garry R. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997). Correlation between Chemical Composition and Antimicrobial Activity. VI. Activity of Some African Essential Oils. *Journal of essential oil research*, 9 (1): 67-75.

Chen., J.H. and Ho C.T. (1997). Antioxidant Activities of Caffeic Acid and its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (7): 2374–2378.

Chibani S., Berhail-Boudouda H., Kabouche A., Aburjai T. and Kabouche Z. (2011). Analysis of the Essential Oil of *Ferula communis* L. from Constantine (Algeria). *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1: 41-44.

Chibani S. (2012). Etude Phytochimique et Biologique de six Plantes Médicinales de l'Est Algérien. Thèse de Doctorat Science, Option Phytochimie, Université Mentouri, Constantine. 199p.

Chung K.T., Wei CI. and Johnson M.G. (1998). Are Tannins a Double-Edged Sword in Biology and Health. *Trends Foo*d S*cience*. *Technology*, 9: 168-175.

CLSI. (2012). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard. Ninth 9èm édition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document M07-A9.

Colletier J.P. (2006). Etude des Relations Structure–Dynamique–Fonction au sein de l'Acétylcholinestérase. Thèse Doctorat, Spécialité : Cristallographie et RMN Biologiques, Université Joseph Fourier, Grenoble I. 190p.

CollinS. Et Crouzet J. (2011). Polyphénols et Procèdes: Transformation des Polyphénols au travers des Procédés Appliqués à l'Agroalimentaire. Lavoisier Tec et Doc. Paris. 336p.

Constantin E., Traldi P., Favretto D. et Schnell A. (1996). Spectrométrie de Masse, 2ème édition Tec & Doc Lavoisier, Paris. 280p

Costa F., Yendo A .C. A., Fleck J. D., Gosmann G. and Fett-Neto A. G. (2013). Accumulation of a Bioactive Triterpene Saponin Fraction of *Quillaja brasiliensis* leaves is Associated with Abiotic and Biotic Stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 6: 56-62.

Coste H. et Flahault C.H. (1998). Flore Descriptive et Illustrée de la France de la Corse et des Contrées Limitrophes, Tome II, Librairie Scientifique et Technique, Paris,

Couic-Marinier F. et Lobstein A. (2013). Les huiles Essentielles gagnent du Terrain à l'Officine. *Actualités pharmaceutiques*, 525: 12-21.

Cowan M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical microbiology reviews*, 12 (4): 564-582.

Dai J., Zhu L., Yang L. and Qiu J. (2013). Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential oil from *Wedelia Prostrata. EXCLI Journal*, 12: 479-490.

Davies N.W. (1990). Gas Chromatographic Retention Indices of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl Silicon and Carbowax 20 M phases. *Journal of Chromatography*, 503: 1- 4.

De Martino L., De Feoa V., Fratiannib F. and Nazzaro F. (2009). Chemistry Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Activities of Volatile Oils and their Components. *Natural Products Communication*, 4: 1741-1750.

Degryse A. C., Delpla I. et Voinier M. A. (2008). Risques et Bénéfices Possibles des Huiles Essentielles. Atelier Santé Environnement, Environnement des Ingénieurs du Génie Sanitaire (IGS), EHESP, France, 87p.

Dehghan G., Solaimanian R., Shahverdi A.R., Amin G., Abdollahi M., Shafiee A. (2007). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Ferula szovitsiana* D.C. *Flavour and Fragrance Journal*, 22: 224-227.

Demirci B., Demirci F., Dinç M. and Başer K. H. C. (2007). Antimicrobial and Antioxydant Activities of the Essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. *Food Chemistry*, 105 :1512–1517.

Deyssong. (1979). Organisation et Classification des Plantes Vasculaires, Cours de Botanique Générale, Quatrième Série, tome II, Paris, 529 p.

Djeridane A., Yousfi M. and Brunel JM. (2010). Isolation and Characterization of a New Steroid Derivative as a Powerful Antioxidant from *Cleome arabica* in Screening the in Vitro Antioxidant Capacity of 18 Algerian Medicinal Plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2599–606.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N.(2006). Antioxidant Activity of some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chemistry*, 97: 654-660.

Dokmeci I. (2000). Fundamentals of Pharmacology. Istanbul, Turkey. Nobel Tıp Kitabevi Press.

Dorman H. J. D. and Deans S. G. (2000). Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *Journal Applied Microbiology*, 88 (2): 308-316.

Drew D., Krichau N., Reichwald K. and Simonsen H.(2009). Guaianolides in Apiaceae: Perspectives on Pharmacology and Biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, 8: 581-599.

Dubey V. S., Bhalla R. and Luthra R. (2003). An Overview of the Non-Mevalonate Pathway for Terpenoid Biosynthesis in Plants. *Journal of Biosciences*, 28 (5): 637-646.

Duke J. (2015). Phytochemical and Ethnobotanical Databases. Agricultural Research Service of the US Department of Agriculture. (disponiblehttp://www.ars-grin.gov/duke) consulté le 13/02/2019)

Duke J. (2009). Phytochemical and Ethnobotanical Databases.Agricultural Research Service of Department of Agriculture, (disponible http://arsgrin.gove.duke) consulté le 20 /05/2016)

Dupont F. et Guignard J. L. (2012). Botanique, les Familles de Plantes. 16éme édition S Elsevier/ Masson, Paris. 336p.

Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. (1990). Cahiers de Phytothérapie Clinique. 1. Examens de Laboratoires Galénique. Eléments Thérapeutiques Synergiques. 2ème édition, Masson, Paris. 89p.

Durvelle J.P. (1930). Fabrication des Essences et des Parfums : Chimie des Parfums. Ed Desforges, Girardrot et Cie, Paris. 807p.

Durvelle J.P. (1893). Fabrication des Essences et des Parfums : Extraction des Essences et des Parfums par Distillation, par Expression et par les Dissolvants. Ed. J. FRITSCH Paris. 448p.

Duval L. (2012). Les Huiles Essentielles à l'Officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Rouen, France, 155p.

Dykes L. and Rooney W. (2006). Sorghum and Millet Phenols and Antioxidants, Rew. *Journal of Cereal Science*, 44: 236-251.

Edris A. E. (2007). Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and their Individual Volatile Constituents. A Review. *Phytotherapy Research*, 21 (4): 308-323.

Eftekhar F., Yousef zadi M. and Borhani, K. (2004). Antibacterial Activity of the Essential Oil from *Ferula gummosa* Seed. *Fitoterapia*, 75: 758-759.

El-Bassuony AA ., Gohar A A . and Kabbash A M.. (2007). Two New Sesquiterpene Coumarins, Ferusinol and Samarcandin Diastereomer, from *ferula sinaica*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 6 (3): 217-221

Elkhatib.R. (2010). Etude Phytochimique et Activité Cytotoxique des Métabolites Secondaires de *Ferula elaeochytris* Korovin et *Ferula lycia* Boiss (Apiacées).Thèse de doctorat. Option : Sciences du médicament, Université de Lille, Nord de France. 148p

El Kolli M. (2016). Composition Chimique et Activité Biologiques des Huiles Essentielles de Quelques Apiacées: *Carum montanum* Benth. et Hook. *Daucus gracilis* Stem. Thèse de Doctorat Science. Spécialité Microbiologie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 125p.

Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. and Featherstone R.M. (1961). A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochemistry Pharmacolology*, 7: 88–95

El-Razeh MH. Ohta S. and Hirata T. (2003). Terpenoid Coumarins of the Genus *Ferula.* Heterocycles. *Phytochemistry*, 60: 689-716.

Es-Safi N., Kollmanna A., Khlific S. and Ducrot PH. (2006). Antioxidative Effect of Compounds Isolated from *Globularia alypum* L. Structure–Activity Relation Ship. *Journal of Natural Products*, 40: 1246-1252.

Evans F.J. and Schmidt R.J. (1980). Plants and Plant Products that Induce Contact Dermatitis. *Plantas medicinales*, (38): 289-316.

Fabian D., Sabol M., Domaracká K. and Bujnáková D. (2006). Essential Oils-their Antimicrobial Activity against *Escharichia coli* and Effect on Intestinal Cell Viability. *Toxicology in vitro*, 20: 1435-1445.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C. (2008). Phenolic Composition of *Cynara cardunculus* L. Organs and their Biological Activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 372-379.

Faller A. L. K. and Fialho E. (2010). Polyphenol Content and Antioxidant Capacity in Organic and Conventional Plant Foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 561–568.

Fang F., Li J.M., Pan Q.H. and Huang W.D. (2007). Determination of Red wine Flavonoids by HPLC and Effect of Aging. *Food Chemistry*, 101: 428- 433.

Fazeli M. R., Amin G., Ahmadian-Attari M. M., Ashtiani H., Jamalifar H. and Samadi N. (2007). Antimicrobial Activities of Iranian Sumac and Avishane Shirazi (*Zataria multiflora*) Against Some Food-Borne Bacteria. *Food Control*, 18 (6): 646-649.

Fekih N., Allali H., Merghache S., Chaib F., Merghache D., Dib M.A., Djabou N., Muselli A., Tabti B. and Costa J. (2014). Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2): 97-103

Fellah S., Romdhane M. and Abderraba M. (2006). Extraction et Etude des Huiles Essentielles de *la Salvia officinalis.L* Cueillie dans Deux Regions Differentes de La Tunisie. *Journal de lasociété Algérienne de Chimie*, 16 (2) : 193-202.

Ferrari B., Tomi F. and Casanova J. (2005). Composition and Chemical Variability of *Ferula communis* Essential oil from Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, 20: 180-185.

Filippini M.H., Tomi, F. and Casanova J. (2000). Composition of the Leaf Oil of *Ferula arrigonii* Bocchieri. *Flavour and Fragrance Journal*, 15: 195-198.

Filliat Paloma. (2012). Les plantes de la Famille des Apiacées dans les Troubles Digestifs.Thèse de Doctorat. Option: Pharmacie, Université Joseph Fouries, France. 129p.

Flamini G., Cioni P. L., Maccioni S. and Baldini R. (2007). Composition of the Essential Oil of *Daucus gingidium* L. ssp. gingidium. *Journal of Food and Chemistry*, 103 (4): 1237-1240

Flamini G., Smaili T., Zellagui A., Gherraf N. and Cioni P. L. (2013). Effect of Growth Stage on Essential Oil Yield and Composition of *Daucus sahariensis*. *Chemistry and Biodiversity*, 10 (11): 2014-2020.

Flück H. (1942). Nos plantes Médicinales. Traduit par Weitzel R., librairie Payot, Lausanne, pp. 8-14.

Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C. and Api A.M. (2001). The *in vitro* Dermal Absorption and Métabolism of Coumarin by Rats and by Human Volunteers under Simulated Conditions of Use in Fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, 39: 153-162.

Friedman M., Henika P. R. and Mandrell R. E. (2002). Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of their Isolated Constituents against *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*, 65 (10): 1545-1560.

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Astaneh S. A. and Rasooli I. (2007). Chemical and Biological Characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils. *Journal of Food and Chemistry*, 102 (3): 898-904.

Garcia-SalasP., Morales-SotoA., Segura-Carretero A. and Fermandez-GutiérrezA. (2010). Phenolic Compounds-Extraction Systèmes for Fruit and Végétales Samples. *Molécules*, 15 :8813-8826.

Garneau F. X. (2004). Le Matériel Végétal et les Huiles Essentielles. Huiles Essentielles: de la Plante à la Commercialisation - Manuel Pratique. LASEVE-UQAC, Chicoutimi, Québec, pp. 1-16.

Garnero J. (1996). Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico, chimiques. Vol. Papier N°: K2.

Gee J.M. and Johnson I.T. (2001). Polyphenolic Compounds: Interactions with the Gut and Implications for Human Health. *Current Medicinal Chemistry*, 8: 1-182.

Gersbach P. V. and Reddy N. (2002). Non-Invasive Localization of Thymol Accumulation in *Carum capticum* (Apiaceae) Fruits by Chemical Shift Selective Magnetic Resonance Imaging. *Annals of Botany*, (90): 253-257.

Ghannadi A., Amree S. (2002). Volatile Oil Constituents of *Ferula gummosa* Boiss. From Kashan, Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 14: 420-421.

Ghasemi Y., Faridi P., Mehregan I. and Mohagheghzadeh A. (2005).*Ferula gummosa* Fruits: an Aromatic Antimicrobial Agent. *Chemistry of Natural Compounds*, 41:3

Ghedadba N., Bousselsela H., Hambaba L., Benbia S. and Mouloud Y. (2014). Évaluation de l'Activité Antioxydante et Antimicrobienne des Feuilles et des Sommités Fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12:15-24.

Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A. M. (2001). Le Préparateur en Pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. Tec et Doc, Paris, 273p.

Glisic S.B., Misic D.R., Stamenic M.D., Zizovic I.T., Asanin R.M. and Skala D.U. (2007). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carrot Fruit Essential Oil: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Food Chemistry*, 105 (1): 346-352.

Gonny M., Bradesi P. and Casanova J. (2004). Identification of the Components of the Essential Oil From Wild Corsican *Daucus carota* L. Using 13C-NMR Spectroscopy. *Flavour Fragrance Journal*, 19: 424-433.

Gonzalez AG. and Barrera JB. (1995). Chemistry and the Sources of Mono and Bicyclic. *Progress Chemistry of Natural Products*, 64: 1-92

Guettaf S., Abidli N., Kariche S., Bellebcir L. and Bouriche H. (2016). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Aqueous Extract of *Genista Saharae* (Coss. & Dur.). *Der Pharmacia Lettre*, 8 (1): 50-60.

Guignard J. L. (2003). Biochimie Végétale. 2ème edition, de l'abrégé Dunod, Paris, 274 p.

Guignard J.L., Cosson L. and Henry M. (1985). Abrégé de Phytochimie. Ed. Masson Paris, 155-174.

Guinoiseau E. (2010). Molécules Antibactériennes Issues d'Huiles Essentielles : Séparation, Identification et Mode d'Action. Thèse de Doctorat. Mention : Biochimie et Biologie Moléculaire, Université de Corse.143 p.

Habibi Z., Salehi P., Yousefi M., Hejazi Y., Laleh A., MozaffarianV. , Masoudiand S. and Rustaiyan A. (2006). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Ferula latisecta* and *Mozaffariania insignis* from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*, 42 (6): 689-691.

Hajji M., Masmoudi O., Souissi N., Triki Y., Kammoun S. and Nasri M. (2010). Chemical Composition, Angiotensin I-converting Enzyme (ACE) Inhibitory, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from *Periploca laevigata* root barks. *Food Chemistry*, 121(3):724-731.

Halbwirth H. (2010). The Creation and Physiological Relevance of Divergent Hydroxylation Patterns in the Lavonoids Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 595-621.

Hartmann T. (2007). From wasteproducts to Ecochemicals, Fifty Years Research of Plant Secondary Metabolism. *Phytochemistry*, 68: 2831–2846.

Havsteen B. H. (2002). The Biochemistry and Medical Significance of the Flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics Journal*, 96: 67– 202.

Heywood V. H. (1971). The Biology and Chemistry of the Umbelliferae. 1ère édition. Academic Press Inc. London, 438p.

Heywood V. H. (1996). Les Plantes à Fleurs: 306 Familles de la Flore Mondiale, Nathan (Farnand), Paris, 335p.

Holley R.A. and Patel D. (2005). Improvement in Shelf-Life and Safety of Perishable Foods by Plant Essential Oils and Smoke Antimicrobials. *Food Microbiology*, 22 (4): 273–292.

Hopkins W. G. (2003). Physiologie Végétale. 1ère édition Bruxelles : De Boeck & Larcier s.

Hossain M. A. 1, AL-Raqmi K.A.S, AL-Mijizy Z.H., Weli A.M., Al-Riyami Q. (2013). Study of Total Phenol, Flavonoids Contents and Phytochemical Screening of Various Leaves Crude Extracts of Locally Grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(9):705-10.

Howes M.R., Perry N.S.L. and Houghton P.J. (2003). Plants with Traditional Uses and Activities, Relevant to the Management of Alzheimer's Disease and Other Cognitive Disorders. *Phytotherapy Research*, 17: 1–18.

Huang D., Ou B., Prior R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:1841-1856.

Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L. (1998). Les Propriétés Antimicrobiennes des Huiles Essentielles et Composés d'Aromes, *Sciences des aliments*. 18: 563-582.

Inouye S., Takizawa T. and Yamaguchi H. (2001a). Antibacterial Activity of Essential Oilsand their Major Constituents Against Respiratory Tract Pathogens by GaseousContact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47 (5): 565-573.

Inouye S., Yamaguchi H. and Takizawa T. (2001b). Screening of the Antibacterial Effects of a Variety of Essential Oils on Respiratory Tract Pathogens, Using a Modified Dilution Assay Method. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 7 (4): 251-254.

Iranshahi M., Hosseini S.T., Shahverdi A.R., Molazade K., Khan S.S. et Ahmad V.U. (2008) Diversolides A-G, guaianaloides from the roots of *Ferula diversivittata*. *Phytochemistry*, 69, 2753-2757.

Iranshahi M., Hassanzadeh-Khayat M., Bazzaz B.S.F., Sabeti Z., Enayati F. (2008a). High Content of Polysulphides in the Volatile oil of *Ferula latisecta*. Fruits and Antimicrobial Activity of the Oil. *Journal of Essential Oil Resarch*, 20, 183-185.

Iranshahi M., Hosseini S.T., Shahverdi A.R., Molazade K., Khan S.S. and Ahmad V.U. (2008b). Diversolides A-G, Guaianolides from the Roots of *Ferula diversivittata*. *Phytochemistry*, 69: 2753-2757.

Iranshahi M., Sahebkar A., Hosseini S.T., Takasaki M., Konoshima T. and Tokuda H. (2008c). Cancer Chemopreventive Activity of Diversin from *Ferula diversivittata* in vitro and in vivo. *Phytomedicine*, 17: 269-273.

IranshahiM., Sahebkar A., Hosseini S.T., Takasaki M., Konoshima T. and Tokuda H. (2010). Cancer Chemopreventive Activity of Diversin from *Ferula diversivittata in Vitro* and *in Vivo*. *Phytomedicine* 17, 269-273.

Iriti M. (2013). Plant Neurobiology, a Fascinating Perspective in the Field of Research on Plant Secondary Metabolites. *International Journal Molecules Sciences*, 14(6): 10819-10821.

Iserin P. (2001). Encyclopédie Des Plantes Médicinales, Identification, Préparation Et Soins. Ed. Larousse, 319 p.

Jabrane A., BenJannet H., Harzallah-Skhiri F., Miyamoto T. and Lacaille-Dubois A. (2008). Phytochemical Study from the Roots of *Ferula lutea* L. in: Edition AFERP. Natural Products with pharmaceutical, Cosmetic, and Agrochemical interest, Athen: Grèce, 139p.

Javidnia K., Miri R., Kamalinejad M. and Edraki N. (2005). Chemical Composition of *Ferula* persica Wild. Essential Oil from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20:605-606.

Jayanthi P. and Lalitha P. (2011). Reducing Power of the Solvent Extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3: 126-128.

Jennings W.and Shibamoto T. (1982). Quantitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatils by Glass Capillary gas chromatography. Academic Press, New York, London, Sidney, Toronto, Sans Fransisco.

Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U. and Lee S.C. (2004). Effects of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 3389–3393.

Jokič S.,Velič D., Bilič M., Bucič-Kojič A., planinič M. and Tomas S.(2010). Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *Czech Journal of Food Sciences*, 28: 206-212.

Jones W. P. and Kinghorn A. D. (2005). Extraction of Plant Secondary Metabolites. *Natural Products Isolation*, 20: 323-351.

Kadri A., Zarai Z., Ben Chobba I., Békir A., Gharsallah N., Damak M. and Gdoura R. (2011). Chemical Constituents and Antioxidant Properties of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Cultivated from the South-Western of Tunisia. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(29): 6502-6508.

Kalemba D. and Kunicka A. (2003). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 813-829.

Kalia K., Sharma K., Singh HP. and Singh B. (2008). Effects of Extraction Methods on Phenolic Contents and Antioxidant Activity in Aerial Parts of *Potentilla atrosanguinea* Lodd. and Quantification of its Phenolic Constituents by RP-HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10129– 10134.

Kang D.G., Yun C.K. and Lee, H.S. (2003). Screening and Comparison of Antioxidant Activity of Extracts of Herbal Medicines Used in Korea. *Journal of Ethnopharmacol*, 87: 231-236.

Karadag A., Ozcelik B., Saner S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2: 41-60.

Karou D., Dicko M. H., Simporé J., Yameogo S., Sanon S. et Traoré A. S. (2005). Antioxidant and Antibacterial Activities of Polyphenols from Ethnomedicinal Plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4 (8): 823-828.

Kartal N., Sokmen M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M. and Sokmen A. (2007). Investigation of the Antioxidant Properties of *Ferula orientalis* L. Using a Suitable Extraction Procedure. *Food Chemistry*, 100: 584-589.

Kato T., Lijima H., Ishihara K., Kaneto T., Hirai K., Naito Y. and Okuda K. (1990). Antibacterial Effect Listerine on Oral Bacteria. *The Bulletin of Tokyo Dental College*, 31 (4): 301- 307.

Kavoosi G., Purfard A. M. and Aram F. (2012). Radical Scavenging Properties of Essential Oils from *Zataria multiflora* and *Ferula assafoetida*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S1351 S1356

Khajeh M., Yamini Y., Sefidkom F. and Bahramifar N. (2004). Comparison of Essential Oil Composition of *Carum copticum* obtained by Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Hydrodistillation Methods. *Food Chemistry*, 86: 587-591.

Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F. and Reza Pirmoradei M. (2005). Comparison of Essential Oils Compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Hydrodistillation Methods. *Food Chemistry*, 91 : 639-644

Khenaka K. (2011). Effet de Diverses Plantes Médicinales et de leurs Huiles Essentielles sur la MéthanogénèseRuminale chez l'Ovin. Diplôme de Magister en microbiologie appliquée. Option : Biotechnologies Microbiennes. Université Mentouri, Constantine. 81p.

Kim S.W., Kang J. and Park I.K. (2013). Fumigant toxicity of Apiaceae Essential Oils and their Constituents against *Sitophilus oryzae* and their Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. *Journal of Asia Pacific Entomology*, 16: 443–448.

Kintzios S., Papageorgiou K., Yiakoumettis I., Baricevic D. and Kusar A. (2010). Evaluation of the Antioxidants Activities of Four Slovene Medicinal Plant Species by Traditional and Novel Biosensory Assays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53: 773-776.

Kliebenstein D. J. (2012). Making New Molecules-Evolution of Structures for Novel Metabolites in Plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 16: 1-6.

Knobloch K., Pauli P., Iberl B., Weigand H. and Weis N. (1989). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential oil Components. *Journal of Essential Oil Research*, 1: 603- 608.

Koffi E., Sea T., Dodeh Y. And Soro S. (2010). Effect of Solvent type on Extraction of Polyphenols from Twenty Three Ivorian Plants. *Journal of Animal& plant sciences*. 5 (3): 550-558.

Kose E. O., Aktaş O., Deniz I. G. and Sarikürkçü C. (2010). Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oil of Endemic F*erula lycia* Boiss. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (17): 1698-1703.

Kovats E. (1965). Gas Chromatographic Characterization of Organic Substances in the Retention Index System. *Advances in Chromatography*, 1: 229-247.

Krief S. (2003). Métabolites Secondaires des Plantes et Comportement Animal. Thèse. Doctorat, Muséum National d'Histoire Naturelle. 32p

Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Mhamdi B., Chaieb K., Bakrouf A., Magné, C. and Abdelly C. (2009). Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Edible Medicinal Halophyte *Tamarix gallica* L. and Related Polyphenolic Constituents. *Food and Chemical Toxicology,* 47: 2083-2091.

Kunduhoglu B., Kurkcuoglu M., Duru M.E. and Baser K.H.C. (2011). Antimicrobial and Anticholinesterase Activities of the Essential Oils Isolated from *Salvia dicroantha* Stapf., *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Freyn and Bornm.) Bornm. And *Salvia wiedemannii* Boiss. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (29): 6484-6490.

Labed I. (2015). Composition Chimique et Evaluation des Activités Biologiques des Huiles Essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. et de *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. et Synthèse Catalytique de Nouveaux Dérivés Pipéridiniques. Thèse de Doctorat. Spécialité: Chimie pharmaceutiqu, Université Mentouri, Constantine, 254p.

Lafont O. et Duval D. (2001). Le Préparateur en Pharmacie. Dossier 1, chimie-biochimie. Ed Tec et Doc, Paris, pp. 126-146.

Lahlou M. (2004). Methods to Study Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils. *Fitoterapia Research*, 18(6): 435-448.

Lamamra M. (2017). Activités Biologiques et Composition Chimique des Huiles Essentielles d'*Ammiopsis aristidis* Coss. (Syn. *Daucus aristidis*Coss.) et d'*Achillea santolinoides* Lag. Thèse de Doctorat en Science. Specialité : Biologie Végétale, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 135p

Le Bourvellec C., Bouchet B. and Renard C.M. (2005). Non-Covalent Interaction between Procyanidins and Apple Cell wall Material. Part II: Quantification and Impact of Cell wall drying. *Biochimica and Biophysica Acta*, 1725: 1-9.

Lee J. H., Choi S., Lee Y., Lee H. J., kim K. H., Ahn k. S., Bea H., Lee H. J., Lee E. O., Ahn k.S., Rya S. Y., Lü J. and Kim S. H. (2010). Herbal Compound Farnesiferol C Exerts Antiangiogenic and Antitumor Activity and Targets Multiple Aspects of VEGFR1 (flt1) or (flk1) signaling cascade. *Molecular Cancer Therapeutics*, 9: 389-399.

Lee C., Chiang L., Cheng L., Liaw C., Abd El-Razek M. H., Chang F. and Wu Y. (2009). Influenza a H1N1 Antiviral and Cytotoxic Agents from *Ferula assa-foetida*. *Journal of Natural Products*, 72: 1568-1572.

Lhuillier A., Fabre N., Cheble E., Oueida F., Maurel S., Valentin A., Fourasté I. and Moulis C. (2005). Daucane Sesquiterpenes from *Ferula hermonis*. *Journal of Natural Products*, 68: 468-471.

Liu D.M., Sheng J.W., Qi H.M., Zhang W.F., Han C.M. and Xin X.L. (2011). Antioxidant Activity of Polysaccharides Extracted From *Athyrium multidentatum* (Doll) Ching. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14): 3061-3066.

Liu J., Jia L., Kan J. and Jin CH. (2013). *In vitro* and *in vivo* Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of white Button Mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and Chemical Toxicology*, 51: 310-316.

Liu Y. and Wang M.W. (2008). Botanical Drugs: Challenges and Opportunities – Contribution to Linnaeus Memorial Symposium 2007. *Life Science Journal*, 82: 445-449.

Lopes-Lutz D., Alviano D.S., Alviano C.S. and Kolodziejczyk P.P. (2008). Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Artemisia* Essential oils. *Phytochemistry*, 69 (8): 1732-1738.

Lopez S., Bastida J., Viladomat F. and Codina C. (2002). Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of some *Amaryllidaceae* Alkaloids and Narcissus Extracts. *Life Science*, 71: 2521 2529.

Loupy A. (2006). Microwaves in Organic Synthesis, 2ème édition WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Lucchesi M. E. (2005). Extraction sans Solvant Assistée par Micro-Ondes Conception et Application à l'Extraction des Huiles Essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences. Option : Chimie, Université de la Réunion, France, 143p.

Luthria D. L., Mukhopadhyay S. and Krizek D. T. (2006). Content of Total Phenolics and Phenolic Acids in Tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.)* Fruits as Influenced by Cultivar and Solar UV Radiation. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*: 771-777.

Macheix J J., Fleuriet A. et Jay–Allemand C. (2005). Les Composés Phénoliques des Végétaux : Un Exemple de Métabolites Secondaires d'Importance Economique. Ed Presses Polytechnologiques et Universitaires Romandes, pp.4-5.

Maggi F., Cecchini C., Cresci A., Coman M.M., Tirillini B., Sagratini G. and Papa F. (2009). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential oil from *Ferula glauca* L. (*F. communis* L. subsp. *glauca*) Growing in Marche (central Italy). *Fitoterapia*, 80: 68-72.

MahmoudiS., Khali M. et Mahmoudi N. (2013). Etude de l'Extraction des Composés Phenoliques de Differentes Parties de la Fleur d'Artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologi*, 9 :35-40.

Malecky M. (2008). Métabolisme des Terpenoïdes chez les Caprins. Thèse de Doctorat. Spécialité : Physiologie de la Nutrition Animale. Paris, Agro Paris Tech, 205p.

Markham K.R. (1982). Techniques of Flavonoid Identification (Chapter 1 and 2). Academic Press: London. pp 1-113.

Marston A. and Hostettmann K. (2006). Developments in the Application of Counter-Current Chromatography to Plant Analysis. *Journal of ChromatographyA*, 1112(1-2):181-194.

Maruyama N., Sekimoto N. and Ishibashi H. (2005). Suppression of Neutrophil Accumulation in Mice by Cutaneous Application of Geranium Essential oil. *Journal of inflammation*, 2: 1-11.

Masotti V., Juteau F., Bessière J.M. and Viano J. (2003). Seasonal and Phonological Variations of the Essential Oil from the Narrow Endemic Species *Artemisia molinieri* and its Biological Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7115-7121.

Massada Y. (1976). Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. John wiley & Son, Inc; NewYork, NY.

Matejić J. S., Džamić A. M., Mihajilov-Krstev T., Ranđelović V. N., Krivošej Z. Đ. and Marin P. D. (2014). Antimicrobial Potential of Essential Oil from *Pastinaca sativa* L. *Biologica Nyssana*, 5 (1): 31-35.

May J., Chan CH., King A., Williams L. and French GL (2000). Time-kill Studies of Tea Tree Oils on Clinical Isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45: 639-643.

Mayrhofer S., Domig K.J., Mair C., Zitz U., Huys G. and Kneifel W. 2008. Comparison of Broth Microdilution, Etest, and Agar Disk Diffusion Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Lactobacillus acidophilus* Group Members. *Applied and Environmental Microbiology*, 3745-3748.

McLafferty F. W. and Tureček F (1993). Interpretation of Mass Spectra, 4^{éme} édition. University Science Books, Sausalito, California, USA.

Meliani N., Dib M.A., Djaboua N., Costa J., Allali, Tabtia B. and Muselli A. (2013). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Daucus aureus* Essential Oils from Algeria. *Natural Product Communications*, 8 (6): 835-840.

Merghache D., Boucherit-Otmani Z., Merghache S., Chikhi I., Selles C. and Boucherit K. (2014). Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Activities of Algerian *Eryngium tricuspidatum* L. Essential Oil. *Natural Product Research-Taylor & Francis*, 28(11): 795-807.

Michel T. (2011). Nouvelles Méthodologies d'Extraction, de Fractionnement et d'Identification: Application aux Molécules Bioactives de l'Argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse de Doctorat. Option : Chimie Analytique-Phytochimie, Université d'Orléans, France, 288p.

Millogo H., Guisson I. P., Nacoulma O. et Traore A. S. (2005). Savoir Traditionnel et Médicaments Traditionnels Améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre Européen de Santé Humanitaire –Lyon.

Mirsalehian A., Tahmasbi G., Mirafshar S. M., Razaghi M. and Abrishmir A. (2006). Antibacterial Activity of Some Iranian Honey's. *Medical journal of Tabriz*, 3: 28-24.

Miyazawa M. and Yamafuji C. (2005). Inhibition of Acetylcholinesterase Activity by Tea ree Oil and Constituent Terpenoïdes. *Flavour and Fragrance Chemistry*, 20: 617-620.

Miyazawa M., Tougo H. and Ishihara M. (2001). Inhibition of Acetylcholine-Esterase Activity by Essential oil from *Citrus paradisi*. *Natural Products Letters*, 15: 205-210.

Molyneux P. (2004). The Use of the Stable Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity.*Songklanakarin Journal of Science and Technologie*, 26: 211-219.

Moure A., Franco D., Sineiro J., Domínguez H., Núñez M. J. and Lema J. M. (2000). Evaluation of Extracts from *Gevuina avellana* Hulls as Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (9): 3890–3897.

Mulaudzi R.B., Ndhlala A. R., Finnie J. F. and Van Staden J. (2009). Antimicrobial, Antiinflammatory and Genotoxicity Activity of *Alepidea amatymbica* and *Alepideanatalensis* (Apiaceae). *South African Journal of Botany*, 75: 436-437.

Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V.and Böhm V. (2010). Antioxidant Capacity and Related Parameters of Different Fruit Formulations. LWT. *Food Science and Technology*, 43: 992–999.

Nagatsu A., Isaka K., Kojima K., Ondognii P., Zevgeegiin O., Gombosurengyin P., Davgiin K., Irfan B., Iqbal C.M. and Ogihara Y. (2002). New Sesquiterpenes from *Ferula ferulaeoides*189 (Steud.) Korovin. VI. Isolation and Identification of Three New Dihydrofuro [2, 3-b] Chromones. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50: 675-677.

Naghdi Badi H., Yazdani D., Mohammad Ali S. and Nazari F. (2004). Effects of Spacing and Harvesting Time on Herbage Yield and Quality/Quantity of Oil In Thyme *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 19: 231-236.

Narasimhan M. K., Pavithra S. K., Krishnan V. and Chandrasekaran M. (2013). *In Vitro*Analysis of Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activity of *Enteromorpha antenna* Extracts. *Enteromorpha linza* and *Gracilaria corticata*, 8 (4): 151-159.

Németh E. and Bernath J. (2008). Biological Activities of Yarrow Species (*Achillea* spp.). *Current pharmaceutical design*, 14: 3151-67.

Nemeth E. (2006). Caraway: the Genus *Carum*. Ed. University of Horticulture and Food Industry Switzerland, 1-13

Newman D. J. and Cragg G. M. (2007). Natural Products as Sources of New Drugs Over the Last 25 Years. *Journal of Natural Products*, 70: 461-477.

Nijveldt R. J., Van Nood E., Van Hoorn D. E. C., Boelens P. G., Van Norren K. and Van Leeuwen P. A. M. (2001). Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74: 418-425.

Nikaido H. (2003). Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisites. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4): 593-656.

Ojala P.M., Yamamoto K., Castaños-Vélez E., Biberfeld P., Korsmeyer S.T., Mäkelä T. M. (2000). The apoptotic v-cyclin-CDK6 complex phosphorytates and inactivates Bcl-2. *Nature Cell Biology*, 2: 819-825.

Okuda T. and Ito H. (2011). Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins. *Molecules*, 16: 2191-2217.

Olle M. and Bender I. (2010). The Content of Oils in Umbelliferous Crops and its Formation, *Agronomy Research 8* (Special Issue III): 687-696.

Orhan I.E., Kartal M., Kan Y. and Sener B. (2008). Activity of Essential Oils and Individual Components against Acetyl- and Butyrylcholinesterase. *Journal of Biosciences: Zeitschrift für Naturforschung C*, 63:547–553.

Oroojalian F., Kasra-Kermanshahi R., Azizi M. and Bassami M.R. (2010). Phytochemical Composition of the Essential Oils from Three *Apiaceae* Species and Their Antibacterial Effects on Food-Borne Pathogens. *Food Chemistry*, 120: 765-770.

Oughlissi-Dehak K., Lawton P., Michalet CB., Darbour SN., Hadj-Mahammed M., Badjah Hadj A., Dijoux Franca MG and Guilet D. (2008). Sesquiterpenes from Aerial Parts of *Ferula vesceritensis*. *Phytochemistry*, 69:1933–1938.

Oyaizu M. (1986). Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307–315.

Ozek G., Ozek T., Iscan G., Baser K.H.C., Duran A. and Hamzaoglu E. (2008). Composition and Antimicrobial Activity of the Oils of *Ferula szowitsiana* DC. from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 20: 186-190.

Ozen T., Darcan C., Aktop O. and Turkekul I. (2011). Screening of Antioxidant, Antimicrobial Activities and Chemical Contents of Edible Mushrooms Wildly Grown in the Black Sea Region of Turkey. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 14: 72-84.

Özer H., (2007). Chemical Composition and Antimicrobial and AntioxidantActivities of the Essential Oil and Methanol Extract of *Hippomarathrum microcarpum* (Bieb.) fromTurkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (3):937-42.

Özgüven M. and Tansi S. (1998). Drug Yield and Essential oil of *Thymus vulgaris* L as in Influenced by Ecological and Ontogenetical Variation. *The Turkish journal of agriculture and forestry*, 22: 537-542.

Özkalp B. and Özcan M. (2009). Antibacterial Activity of Several Concentrations of Sater (*Satureja hortensis* L.) Essential Oil on Spoilage and Pathogenic Food – Related Microorganisms. *World Applied Sciences Journal*, 6 (4): 509-514.

Paena A.T., D'Aquila P.S., Panin F., Pippia P. and Moretti M.D.L. (2002). Anti inflammatory Activity of Linalool and Linaîyl Acetate Constituents of Essential Oils. *Phytomedicine*, 9: 721 726.

Paganga G., Miller N. and Rice-Evans C. A. (1999). The polyphenolic Content of Fruit and Vegetables and teir Antioxidant Activities. *Free Radical Research*, 30 : 62-153.

Paolini J. (2005). Caractérisation des Huiles Essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(IE et IC) Et RMN du Carbone-13 de *Cistus albidus* et de Deux Asteraceae Endémiques de Corse:

Eupatorium cannabinum subsp. Corsicum et *Doronicum corsicum.* Thèse de Doctorat. Option: Chimie Organique et Analytique. Université de Corse Pascal Paoli, 342p.

Paris M. et Hurabielle M. (1981). Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie) Tome. Ed. Masson. 339 p.

Park H. J. and Cha H. C. (2003). Flavonoids from Leaves and Exocarps of the Grape Kyoho. *Korean Journal of Biological Society*, 7:327-330.

Pauli A. (2001). Antimicrobial Properties of Essential Oil Constituants. *International Journal of Aromatherapy*, 11: 126-133.

Pavlovic I., Petrovic S., Radenkovic M., Milenkovic M., Couladis M., BrankovicS., Pavlovic Drobac M. and Niketic M. (2012). Composition, Antimicrobial, Antiradical and Spasmolytic Activity of *Ferula heuffelii* Griseb. ex Heuffel (Apiaceae). Essential Oil. *Food Chemistry*, 130: 310-315.

Peer W.A., Brown D.E., Tague B.W., Muday G.K., Taiz L. and Murphy A. S. (2001). Flavonoid Accumulation Patterns of Transparent Testa Mutants of Arabidopsis. *Plant Physiology*, 126: 536-548.

Pepin J.L. and Delwaide P. (1999). Actualités Thérapeutiques dans la Maladie d'Alzheimer. Médecine et Hygiène, 57:1546-1550.

Pereira R. C., P. Da Gama B. A., Teixeira V. L., Yoneshigue-valentin Y. Y. and Braz. (2003). Ecological Roles of Natural Products of the Brazilian red seaweed Laurencia Obtuse, Braz. *Journal of Biology*, 63 (4): 667-672.

Pérez-Pérez E., Vit P. and Huq F. (2013). Flavonoids and Polyphenols in Studies of Honey Antioxidant Activity.*International Journal of Medicinal Plant and Alternative Medicine*, 1(4): 63-72.

Perry N.S.L., Houghton P.J., Theobald A., Jenner P. and Perry E.K. (2000). *In vitro* Inhibition of Human Erythrocyte Acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* Essential Oil and Constituent Terpenes. *Journal of Pharmacy and Pharmacolology*, 52: 895-902.

Perva-Uzunalic A., Skerget M., Knez Z., Weinreich B., Otto F. and Grunner S. (2006). Extraction of Active Ingredients from Green Tea (*Camellia sinensis*): Extraction Efficiency of Major Catechins and Caffeine. *Food Chemistry*, 96 (4): 597-605.

Pibiri M.C. (2006). Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles. Thèse de Doctorat, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse, 177p.

Pichette A., Larouche P. L., Lebrun M. and Legault J. (2006). Composition and Antibacterial Activity of *Abies balsamea*. *Phytotherapy Research*, 20 (5): 371-373.

Pimenov M. G. and Leonov M. V. (1993). The Genera of the Umbelliferae: a Nomenclator. *Royal Botanic Gardens*, Kew, United Kingdom, 156 p.

Polycapros P. (2012). Ethanol Production from *Ferula communis. Biomass and Bioenergy*, 36: 289-292.

Psotova J., LasovskyJ. And Vičara J. (2003. Metal Chelating properties, Electrochemical Behavior, Scavenging and Cytoprotectives of Six Natural Phenolic. *Biomedical Papers*, 147 (2): 147-153

Quézel P. et Santa S. (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques et Méridionales. Tome 2, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 603p.

Quezel P. Santa S. (1962). Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques et Méridionales. Tome I, Ed. Centre Nationale de la Recherche Scientifique, Paris, 611p.

Ragaee S., Abdel-aal, El-S.M. and Noaman, M. (2006). Antioxidant Activity and Nutrient Composition of Selected Cereals for Food Use. *Food Chemistry*, 98: 32-38.

Rahman A., Choudhary M.I., Hayat S., Khan A.M., Ahmad A. and Malik S. (1999). Spatozoate and Varninasterol from the Brown Alga *Spatoglossum variabile*. *Phytochemistry*, 52: 495 499.

Rahman M. U., Gul S. and Odhano E. A. (2008). Antimicrobial Activities of *Ferula assafoetida* Oil against Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environment Sciences*, 4 (2): 203-206.

Rahmani B., Shiraz N.Z., Masnabadi N., Masoudi S., Monfared A., Larijani K. and Rustaiyan A. (2008). Volatile constituents of *Alococarpum erianthum* (DC) H. Riedl & Kuber. *Ferula ovina* (Boiss.) Boiss.and *Pimpinella affinis* Ledeb. Three umbelliferae herbs growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 20: 232-235.

Rahmouni M. (2014). Contribution à l'Etude de l'Activité Biologique et la Composition Chimique des Huiles Essentielles de deux Apiacées (*Ferula vesceritensis* Coss et DR et *B Balansea glaberrima* (Desf.) Lange. Mémoire de Magister. Option : Biologie et Physiologie Végétale. Université Ferhat Abbas Setif 1. 80p.

Rakotonanahary M. (2012). *Peumus boldus* M. : De la Botanique à la Thérapeutique : Etat des Connaissances en 2012. Thèse de Doctorat. Option : Pharmacie, Université Joseph Fourier, 96p.

Rasooli I., Fakoor M. H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A. and Rezaei M. B. (2008). Antimycotoxigenic Characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. Essential Oils. *International Journal of Food Microbiology*, 122 (1-2): 135-139.

Rauha J.P., Remes S., Heinonen M., Hopia A., Kähkönen M., Kujala T., Pihlaja K., Vuorela H. and VuorelaP.(2000). Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56: 3-12.

Raut J.S. and Karuppayil S.M. (2014). A Status Review on the Medicinal Properties of Essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62: 250-264.

Renata K.M, Oskolski A A, Downie S R, Kopacz R, Wojewódzka A, Spalik K. (2008). Phylogenetic Position of the Genus Ferula (Apiaceae) and its Placement in Tribe Scandiceae as Inferred from nrDNA ITS Sequence Variation. *Plant Systematics and Evolution*, 274: 47–66.

Richelle M, Tavazzi I, and Offord E. (2001). Comparison of the Antioxidant Activity of Commonly Beverages (Coffee, Cacao, and Tea) Prepared Per Cup Serving. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 3438-3442.

Rodriguez E., Towers G.H.N. and Mitchell J.C. (1976). Biological Activities of Sesquiterpene Lactones. *Phytochemistry*, (15): 1573-1580

Rubiolo P., Matteodo M., Riccio G., Ballero M., Christen P., Fleury-Souverain S., Veuthey J. L. and Bicchi C. J. (2006). Analytical Discrimination of Poisonous and non Poisonous Chemotypes of Giant Fennel (*Ferula communis* L.) Through their Biologically Active and Volatile Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7556-7563.

Russo R., Corasaniti M. T., Bagetta G. and Morrone L. A. (2015). Exploitation of Cytotoxicity of Some Essential Oils for Translation in Cancer Therapy. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.

Rustaiyan A., Assadian F., Monfared A., Masoudi S. and Yari M. (2001). Composition of the Volatile oil of *Ferula stenocarpa* Boiss. & Hausskn. *Journal of Essential Oil Research*, 13: 181-182.

Rustaiyan A. and Monfared A. (2002). Essential Oils of the Stem and Root of *Ferula galbaniflua* Boiss. et Buhse. From Iran. *Journal of Essential Oil Resarch*, 14: 286-287.

Rustaiyan A., Nadimi M., Mazloomifar H. and Massudi S. (2005). Composition of the Essential Oil of *Ferula macrocolea* (Boiss.) Boiss.from Iran. *Journal of Essential Oil Resarch*, 17: 55-56.

Sadraei H., Asghari G.R., Hajhashemi V., Kolagar A. and Ebrahimi M. (2001). Spasmolytic Activity of Essential Oil and Various Extracts of *Ferula gummosa* Boiss. On Ileum Contractions. *Phytomedicine*, 8: 370-376.

Sagdic O., Ozturk I., Ozkan G., Yetim H., Ekici L. and Yilmaz M. T. (2011). RP-HPLCDAD Analysis of Phenolic Compounds in Pomace Extracts from Five Grape Cultivars: Evaluation of their Antioxidant, Antiradical and Antifungal Activities in Orange and Apple Juices. *Food Chemistry*, 126 (4): 1749-1758.

Sagiroglu M. (2005). Révision de la Ferule L. Turque (Ombelliféres). These de Doctorat. Ecole Supérieure des Sciences Naturelles et Appliquées. Université de Gazi. Turquie, 338p.

Sahreen S., Khan M., KhanM. and Khan R. (2010). Leaf Epidermal Anatomy of the Genus Silene Caryophyllaceae from Pakistan. *Biyoloik Cestilikve Koruma*, 3 (1): 93-102.

Sahu M C., Debata N. K. and Padhy R. N. (2012). Antibacterial Activity of *Argemone mexicana* L. against Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*, Isolated from Clinical Samples. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, (2).S800 - S807.

Saleem M., Alam A. and Sultana S. (2001). Asafoetida Inhibits Early Events of Carcinogenesis: aChemopreventive Study. *Life Science*, 68 : 1913-1921.

Salle J.L. et Pelletier J. (1991). Les huiles Essentielles, Synthèse d'Aromathérapie et Introduction à la Sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45.

Sandberg and F. and Corrigan D. (2004). Natural Remedies; Their Origins and Uses. Ed. Taylor and Francis e-Library. London. 192p.

Santos-Buelga C. and Williamson G. (2003). Methods in Polyphenol Analysis. Eds. Royal Society of Chemistry. 383p.

Sarafis V., Rumpel H., Pope J. and Kuhn W. (1990). Non-Invasive Histochemistry of Plant Materials by Magnetic Resonance Microscopy. *Protoplasma*, 159 (1): 70-73.

Sayyah M. Kamalinejad M. Bahrami Hidage R. B. and Rustaiyan A. (2001). Antiepileptic Potential and Composition of the Fruit Essential Oil of *Ferula Gummosa* Boiss. *Iranian Biomed* Journal, 5 (2 et 3): 69-72.

Scalbert A. (1991). Antimicrobial Properties of Tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883.

Scoulles M. (2006). Partitioning and Distribution of Dissolved Copper, Cadmium and Organic Matter in Mediterranean Marine Coastal areas: The Case of a Mucilage Event. *Estuarine coastal and Shelf Sciences*, 67:484-490.

Seidler-Lozykowska K., Kedzia B., Karpinska E. and Bocianowski J. (2013). Microbiological Activity of Caraway (*Carum carvi* L.) Essential Oil Obtained from Different Origin. *Acta Scientiarum Agronomy*, 35(4): 495-500.

Sereme A., Millogo-Rasolodimby J., Guinko S. et Nacro M. (2010). Anatomie et Concentration des Tanins des Plantes Tanniferes du Burkina Faso. *Journal des Sciences*, 10 (2): 24-32.

Shahverdi A. R., Iranshahi M., Mirjani R., Jamalifar H., Amin G. and Shafiee A. (2005). Boiassay-Guided Isolation and Identification of an Antibacterial Compound from *Ferula persica* Roots. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13 (1): 17-19.

Shahverdi A.R., Saadat F., Khorramizadeh M.R., Iranshahi M. and Khoshayand M.R. (2006). Two Matrix Metalloproteinases Inhibitors from *Ferula persica* var. *persica*. *Phytomedicine*, 13: 712-717.

Shama H., Mohamed R., Zakaria H., Badr S., Mohamed G. H. et Mustapha E. L. A. (2011). Évaluation du Potentiel Antifongique des Huiles Essentielles de *Mentha pulegium et*

d'Eucalyptus camaldulensis dans la Lutte Biologique contre les Champignons Responsables de la Détérioration des Pommes en Conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80: 824-836.

Shatar S. (2005). Essential oil of *Ferula ferulaoides* from western Mongolia. *Chemistry of Natural Compounds*, 41: 607-608.

Siddhuraju P. and Becker K. (2007). The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Processed Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Seed Extracts. *Food Chemistry*, 101(1): 10-19.

Sieniawska E., Baj T., Kowalski R., Skalicka-Woźniak K. and Glowniak K. (2014). Chemical Composition and *in vitro* Antioxidant Activity of *Mutellina purpurea* Thell. Flowers Essential Oil. *Records of Natural Products*, 8 (2): 203-207.

Simmonds M.S.J. (2003). Novel Drugs from Botanical Sources. *Drug Discovery Today.* 8: 721-722.

Singleton V. L and Rossi J. A. J. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*: 144-58.

Soares JR., Dins TCP., Cunha AP. and Ameida LM. (1997). Antioxidant Activity of Some Extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*, *26*: 469-478.

Sofowara A. (2010). Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle d'Afrique, Ed Karthala, Paris, France. 384p.

Soltani F., Mosaffa F., Iranshahi M., Karimi G., Malekaneh M., Haghighi F. and Behravan J. (2009). Evaluation of Antigenotoxicity Effects of Umbelliprenin on Human Peripheral Lymphocytes Exposedto Oxidative Stress.Cell Biology and Toxicology, 25: 291-296.

Soltani F., Mosaffa F., Iranshahi M., Karimi G., Malekaneh M., Haghighi F. and Behravan. J. (2010). Auraptene from *Ferula szowitsiana* Protectes Human Peripheral Lymphocytes against Oxidative Stress. *Phytotherpy Research*, *24*: 85-89

Song JH, Kim SK, Chang KW, Han SK, Yi HK and Jeon JG. (2006). *In vitro* Inhibitory Effects of *Polygonum cuspidatum* on Bacterial Viability and Virulence Factors of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Archives Oral Biology.* 51 (12): 1131-1140.

Stagos D., SPortesis N., Chryssa Spanou C., Mossialos D., Aligiannis N., Chaita E., Panagoulis C., Reri E. and kaltsounis L. (2012). Correlation of Total Polyphenolic Content with Antioxidant and Antibacterial Activity of 24 Extracts from Greek Domestic Lamiaceae Species. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11):4115-24.

Staniszewska M., Kula J., Wieczorkiewicz M. and Kusewicz D. (2005). Essential Oils of Wildand Cultivated Carrots - the Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Journal of Essential Oil Research*, 17 (5): 579-583.

Stanković M. S. (2011). Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration and Antioxidant Activity of *Marrubium peregrinum* L. Extracts. *Kragujevac Journal Science*, 33: 63-72.

Surveswaran S., Cai YZ., Corke H. and Sun M. (2007). Systematic Evaluation of Natural Phenolic Antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102: 938-953.

Suzuki K., Okasaka M., Kashiwada Y., Takaishi Y., Honda G., Ito M., Takeda Y., Kodzhimatov O. K., Ashurmetov O., Sekiya M. and Ikeshiro Y. (2007). Sesquiterpene Lactones from the Roots of *Ferula varia* and their Cytotoxic Activity. *Journal of Natural Products*, 70: 1915-1918.

Svoboda K. P. and Greenaway R. I. (2003). Investigation of Volatile Oil Gland of *Satureja hortensis* L. (*Summer savory*) and Phytochemical Comparison of Different Varieties. *International Journal of Aromatherapy*, 13 (4): 196-202.

Svoboda k. P. and Hampton J. B. (1999). Bioactivity of Essential Oils of Selected Temperate Aromatic Plants: Antibacterial, Antioxidant, Anti-inflammatory and other Related Pharmacological Activities (http: // www.csl.gov.uv/ienica/seminars)

Swigar AA. and Silverstein RM. (1981). Monoterpenes.Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin.system, in Adv. *Chromatography*, 1965: 229-247.

Tabanca N., Demirci B., Ozek T., Kirimer N., Baser K.H.C., Bedir E., Khan I.A. and Wedge D.E. (2006). Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Analysis of Essential Oils from *Pimpinella* Species Gathered from Central and Northern Turkey. *Journal of Chromatography. A*, 1117: 194–205.

Tabart J., Kevers C., Sipel A., Paincemail J. Defraigne J. and Dommes J. (2007). Optimisation of Extraction of Phenolics and Antioxidant from Black Currant Leaves and Buds and Stability during Storage. *Journal of Food Chemistry*, 105:1268-1277.

Tahiri A., Amissa Adima A., Adjé F. A. et Amusant N. (2011). Effet Pesticide et Screening des Extraits de *Azadirachta indica* (A.) Juss sur le Termite *Macrotermes bellicosus* Rambur. *Bois et Forêts Destropiques*, 310 (4) : 79-88.

Takeoda GR., Guntert M., Engel K, eds. (2001). Aroma Active Compounds in Foods. Washington: *American Chemical Society*, 33-44.

Talebi K E., Naghavi M. R. and Alayhs M. (2008). Study of the Essential Oil Variation of *Ferula gummosa* Samples from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*, 44 (1): 124-126.

Tamemoto K. Takaishi Y., Kawazoe K., Honda G., Ito M., Kiuchi F. Takeda Y., Kodzhimatov O. K., Ashurmetov O., Shimizu K., Nagasawa H., Uto Y. and Hori H. O. (2002). An Unusual Sesquiterpene Derivative from *Ferula kuhistanica*. *Journal of Natural Products*, 65: 1323-1324.

Taran M., Ghasempour H.R. and Shirinpour E. (2010). Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Ferulago angulata* subsp. *Carduchorum* Jundishapur. *Journal of Microbiology*, 3(1): 10-14.

Tawaha K., Alali F. Q., Gharaibeh M., Mohammad M. and El-Elimat T. (2007). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Selected Jordanian Plant Species. *Food Chemistry*, 104: 1372-1378.

Tepe B., Daferera D., Sokmen M., Polissiou M. and Sokmen A. (2004). *In Vitro* Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils and Various Extracts of *Thymus eigii* M. Zohary et P.H. Davis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (5): 1132-1137.

Teuscher E., Anton R. et Lobstein A., (2005). Les plantes Médicinales: Aromates, Epices, Condiments et Huiles Essentielles. Ed TEC et DOC, Paris. 544p.

Tohidpour A., Sattari M., Omidbaigi R., Yadegar A. and Nazemi J. (2010). Antibacterial Effect of Essential Oils from two Medicinal Plants against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17: 142-145

Topçu G., Ay M., Bilici A., Sarıkürkcü C., Oztürk M. and Ulubelen A. (2007). A New Flavone from Antioxidant Extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103: 816–822.

Trabelsi N., Megdiche W., Ksouri R., Falleh H., Oueslati S., Soumaya B., Hajlaoui H. and Abdelly C. (2010). Solvent Effects on Phenolic Contents and Biological Activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food Science and Technology*, 43. 632-639.

Unasho A. (2005). Investigation of Antimicrobial Activities of *Albizia gummifera* and *Ferula communis* on *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* Causing Upperrespiratory Tract Infections in children. Thése de Master. Département of Biology, University Addis Ababa. 94p.

Valente J., Zuzartea M., Resende R., Goncalves M.J., Cavaleiro C., Pereira C.F., Cruz M.T.and Salgueiro L. (2015). *Daucus carota* subsp. *gummifer* Essential Oil as a Natural Source of Antifungal and Anti-inflammatory Drugs. *Industrial Crops and Products*, 65: 361-366.

Van Den Dool H. and Kratz P. D. (1963). A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. *Journal Chromatography*, 11: 463-471.

Vasconcelos Silva M. G., Craveiro A. A., Abreu Matos F. J., Machado M. I. L. and J. W. Alencar (1999). Chemical Variation during Daytime of Constituents of the Essential Oil of *Ocinum gratissimum*. *Fitoterapia*, 70: 32-34.

Wang H., Zhou G., Gao X., Wang Y. and Yao W. (2007). Acetylcholinesterase Inhibitory Active Components of *Rhodiola rosea* L. *Food Chemistry*, 105: 24-27.

Wichtl M. et Anton R. (1999). Plantes Thérapeutiques, Tradition, Pratique Officinale, Sciences et Thérapeutique, Tec et Doc. Ed. Lavoisier. 692p

Wijngaard H., Rößle C. and Brunto N. (2009). A Survey of Irish Fruit and Vegetable Waste and by-Products as a Source of Polyphenolic Antioxidants. *Food Chemistry*, 116: 202–207.

Wojdyło A., Oszmiański J. and Czemerys R. (2007). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in 32 Selected Herbs. *Food Chemistry*, 105: 940–949.

Wright B. S., Bansal A., Moriaritya D. M., Takaku S. and Setzer W. N. (2007). Cytotoxic Leaf Essential oils from Neotropical lauraceae: Synergistic Effects of Essential Oil Components. *Natural Product Communications*, 2 (12): 1241-1244

Xia E Q., Deng G F., Guo Y J. and Li H B. (2010). Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 622-646.

Yang J., A Z., Li Z., Jing S. and Qina H. (2006). Sesquiterpene Coumarins from the Roots of *Ferula sinkiangensis* and *Ferula teterrima*.*Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *54*: 1595-1598.

Yavaşer R., Erkuş H., Sunna Ç. and Karagözler A. A. (2015). Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Abies cilicica* (Ant & Kotschy) subsp. *isauricacoode & Cullen* resin. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 3 (10): 37-44.

Yen G.and Duh P. (1995). Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42: 629–632.

Yin W., Ze-Li X., Hong-jun L., Xiang-ying M., Yong-li B. and Yu-xin L. (2006). Components of Essential Oils in Different Parts of *Daucus carota L. var. sativa* Hoffm. *Chemical Researchin Chinese Universities*, 22 (3): 328-334.

Zaibet W. (2016). Composition Chimique et Activité Biologique des Huiles Essentielles de *Daucus aureus* (Desf.) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur Application comme Agents Antimicrobiens dans le Polyéthylène Basse Densité (PEBD). Thèse de Doctorat en Science. Département de Génie des Procédés, Université Ferhat Abbas Sétif 1. 130p.

Zellagui A., Gherraf N. and Rhouati S. (2012).Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential oils of *Ferula vesceritensis* Coss et Dur. Leaves, Endemic in Algeria. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2(31): 1-4.

Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., Shan L., Lin Y., Fan W. and Gu G. (2006b). Effect of Extraction Solvent Mixtures on Antioxidant Activity Evaluation and their Extraction Capacity and Selectivity for free Phenolic Compounds in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (19): 7277-7286.

Zheljazkov V D., Cantrell C. L., Astakie T. and Jeliazkova E. (2013). Distillation Time Effect of Lavender Essential Oil Yield and Composition. *Journal of Oleo Science*, 62 (4): 195-199.

Znati M., Jabrane A., Hajlaoui H., Harzallah-Skhiri F., Bouajila J., Casanova J., Ben Jannet H. (2012). Chemical Composition and *in vitro* Evaluation of Antimicrobial and Anti acetylcholinesterase Properties of the Fower Oil of *Ferula lutea. Natural Product Communication*, 7: 947-950.

Znati.M., Benjannet H., Cazaux S. and Bouajila J. (2014). Chemical Composition, Biologicaland Cytotoxic Activities of Plante Extracts and Compounds Isolated from *Ferula Lutea. Molecules*, 19: 2733-2747.

Zobel A. M. and March R. E. (1993). Autoflourescence Reveals Different Histological Localizations of Furanocoumarins in Fruits of Some Umbellifereae and Leguminosae. *Annals of Botany*, 71 (3): 251-255

Zou Y P., Lu Y H. and Wei D Z. (2004). Antioxidant Activity of a Flavonoid-rich Extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 5032-5039.