



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie de la nutrition

Intitulé :

**Utilisation de plusieurs méthodes colorimétriques *in-vitro* pour
l'évaluation des activités biologiques de trois plantes médicinales**

Présenté et soutenu par :

Le : 27/06/2019

✓ ZAIDI Boutheina

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. MAAMERI Zineb (MCA-UFM Constantine)

Rapporteur : Dr. BENSOUICI Chawki (MRB-CRBt)

Co-Rapporteur : Dr. BOUHENNA Mustapha (MRB-CRAPC)

Examineur : Dr. KITOUNI Rachid (MCB-UFM Constantine)

Année universitaire
2018 - 2019

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience durant ces longues années d'études.

Je remercie très chaleureusement mon directeur de mémoire Docteur BENSOUICI Chawki, Maitre de recherche classe B, qui malgré ses nombreuses occupations, a accepté de prendre la direction de mon mémoire et de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, et m'a guidé pour mener à bien ce travail ainsi que pour sa gentillesse, sa disponibilité, et pour ses conseils constructifs et pour toutes ses qualités d'encadrant.

Un grand merci également à mon co-directeur BOUHENNA Mustapha, Maitre de recherche classe B, pour son accueil chaleureux au sein du CRAPC et pour nous avoir permis de réaliser les analyses de CPG/SM et CPL/SM de nos échantillons.

Par cette même occasion, je remercie les ingénieurs BOUMECHHOUR Abdnour et Abou Mustapha pour nous avoir aidés à l'interprétation de nos résultats par les deux logiciels d'analyse CPG/SM et CPL/SM dont ils nous ont permis l'utilisation.

Je tiens chaleureusement à remercier Madame MAAMERI Zineb, Maitre de conférence classe A à l'université Constantine 1 d'avoir accepté de présider le jury et évaluer mon travail. J'exprime aussi mes profonds remerciements à monsieur KITOUNI Rachid, maitre de conférence classe B à l'université Constantine 1 d'avoir accepté l'évaluation de mon travail.

Mes remerciements s'adressent également à l'équipe de recherche du laboratoire de biochimie au CRBt.

Un grand remerciement pour Pr. AZIOUNE Ammar, le Directeur du CRBt et Pr BECHARI Kaldoun, le Directeur du CRAPC qui m'ont ouvert les portes et qui m'ont offert l'occasion de réaliser ce travail au niveau de leurs établissements.

Je remercie tout spécialement l'ensemble des doctorants que j'ai côtoyés au laboratoire de Biochimie, et qui m'ont apporté leur aide par leur compétence. Je leur souhaite un avenir plein de succès.

Dédicace

Je dédie ce travail, qui est le couronnement de toutes les années d'étude à mes parents les plus chers à mon cœur, symbole de tendresse et de sacrifice pour son soutien morale et assistance inestimable pendant toutes mes longues années d'études, que DIEU les protège et les garde en santé.

À mon cher frère Housseem eddine, je lui souhaite une vie pleine de bonheur.

Ma chère sœur Dounia que j'aime du fond de mon cœur et mes petits frères dhyae eddine et wassim mes sources de joie.

À ma très chère tante Zaineb, merci pour ton écoute, ton soutien dans tous les moments de ma vie.

À tout membres de ma famille de près et de loin.

À mon cher fiancé HAOUARI Haouari que je remercie pour son soutien et sa patience, ainsi à tous les membres de sa famille.

À mes chers amis qu'on a étudiés ensemble et ceux que j'ai rencontré à Sétif, Berrouaghia (Media), Alger, Annaba, Béjaia, et Constantine avec vous j'ai passé de très beaux moments.

À tous ceux qui me sont chers.



Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)

AChE : Acétylcholinestérase

BHA : Hydroxyanisole butylé

BHT : Hydroxytoluène butylé

CUPRAC : Cupric Reducing Antioxidant Capacity

CPG /MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CPL /MS : Chromatographie en phase Liquide couplée à la spectrométrie de masse

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

DPPH : 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl

EACP : Extrait acétate de *Centaurea parviflora*

EALT : Extrait acétate de *Limonium thouini*

EBCP : Extrait butanolique de *Centaurea parviflora*

ECCP : Extrait chloroformique de *Centaurea parviflora*

EMCP : Extrait méthanolique de *Centaurea parviflora*

EMLT : Extrait méthanolique de *Limonium thouini*

EOA : espèce oxygénée activée

FCR : Réactif Folin Ciocalteu.

Fe⁺² : Fer ferreux.

Fe⁺³ : Fer ferrique.

GO• : Le radical galvinoxyle

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

Ir : Indices de rétention (Ir)

NO^\bullet : Monoxide d'azote.

$\text{O}_2^{\bullet+}$: Radical superoxide.

OH^\bullet : Radical Hydroxyle.

Liste des figures

Numéro	Titre	page
Chapitre I		
Figure 01	Types de fleurs des Asteraceae.	4
Figure 02	La plante <i>Centaurea parviflora</i> .	7
Figure 03	La plante <i>limonium thouinii</i> .	11
Figure 04	La plante <i>Cedrus atlantica</i> .	15
Figure 05	Transformation du radical DPPH [*] en DPPHH.	22
Figure 06	Mécanisme de la réaction de Galvinoxyl avec un antioxydant.	23
Figure 07	Réduction du complexe chromogène de Cu ⁺² -Nc.	24
Figure 08	Réduction de fer (III) en fer (II).	25
Figure 09	Formation du complexe Fe ⁺² -phenanthroline.	25
Figure 10	Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant.	27
Figure 11	piégeage du radical superoxyde (O ₂ ^{•-}) et formation du bleu de formazan.	28
Chapitre II		
Figure 01	Différentes étapes de l'extraction des Parties aériennes de <i>Centaurea parviflora Desf.</i>	42
Figure 02	Différentes étapes de l'extraction des Parties aériennes de <i>limonium thuinii</i> .	44
Chapitre III		
Figure 01	Chromatogramme de l'analyse CPG/SM de l'huile essentielle de <i>Cedrus atlantica</i> .	53
Figure 02	Spectre de masse de l' α -Pinène.	54
Figure 03	Les voies de fragmentations proposées pour l' α -Pinène.	54
Figure 04	Spectre de masse de la β -Pinene.	55
Figure 05	Fragmentations proposées pour la β -Pinene.	55
Figure 06	Spectre de masse du Bornyl Acetate.	56

Figure 07	Fragmentations proposées pour le Bornyl Acetate.	56
Figure 08	Spectre de masse de la D-Limonène.	57
Figure 09	Fragmentations proposées pour la D-Limonène.	57
Figure 10	Spectre de masse de l'Epimanol.	58
Figure 11	Fragmentations proposées pour l'Epimanol.	58
Figure 12	Spectre de masse du D-Verbenone.	59
Figure 13	Fragmentations proposées pour le D-Verbenone.	59
Figure 14	Spectre de masse du β -Myrcene.	60
Figure 15	Fragmentations proposées pour le β -Myrcene.	60
Figure 16	Spectre de masse de l' α -Pinene oxide.	61
Figure 17	Fragmentations proposées pour l' α -Pinene oxide.	61
Figure 18	Spectre de masse de l' α -Terpinéol.	62
Figure 19	Fragmentations proposées pour l' α -Terpinéol.	62
Figure 20	Chromatogramme de l'ionisation positive de l'extrait butanolique de <i>C.paviflora</i> .	67
Figure 21	Chromatogramme de l'ionisation négative de l'extrait butanolique de <i>C.paviflora</i> .	68
Figure 22	Chromatogramme du produit 1.	69
Figure 23	Spectre de masse du produit 1.	69
Figure 24	Chromatogramme des produits 2, 3, 4 et 5.	70
Figure 25	Spectre de masse des produits 2, 3,4 et 5.	70
Figure 26	Chromatogramme du produit 6.	71
Figure 27	Spectre de masse du produit 6.	71
Figure 28	Chromatogramme du produit 7.	72
Figure 29	Spectre de masse du produit 7.	72
Figure 30	Chromatogramme du produit 8.	73
Figure 31	Spectre de masse du produit 8.	73
Figure 32	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	75
Figure 33	Evaluation des polyphénols totaux des extraits de <i>Centaurea parviflora</i> et <i>limonium thouinii</i> .	76

Figure 34	Courbe d'étalonnage de la Quercétine.	77
Figure 35	Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de <i>Centaurea parviflora</i> et <i>limonium thouinii</i> .	77
Figure 36	Courbe d'étalonnage de la Quercétine.	78
Figure 37	Evaluation des flavonols totaux des extraits de <i>Centaurea parviflora</i> et <i>limonium thouinii</i> .	79
Figure 38	Valeurs CI_{50} du test DPPH.	80
Figure 39	Valeurs des CI_{50} du test radical galvinoxyl.	81
Figure 40	Valeurs des $A_{0.5}$ du test CUPRAC.	83
Figure 41	Valeurs des $A_{0.5}$ du test FRAP.	84
Figure 42	Valeurs des $A_{0.5}$ dans le test phénanthroline.	85
Figure 43	Valeurs des CI_{50} dans le test ABTS.	86
Figure 44	La capacité de piégeage du superoxide DMSO alcalin.	88

Liste des tableaux

Numéro	Titre	page
Chapitre I		
Tableau 01	Dénombrement des taxons de la famille des Astéracées en Algérie.	3
Tableau 02	Les genres et les espèces de la famille Plumbaginacées en Algérie.	4
Tableau 03	Quelques espèces de genre <i>Centaurea</i> utilisé en médecine.	9
Tableau 04	Quelques espèces de genre <i>Limonium</i> utilisé en médecine.	13
Tableau 05	Propriétés thérapeutique de quelque genre <i>Cedrus</i> .	17
Chapitre III		
Tableau 01	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cedrus atlantica</i> .	63
Tableau 02	Composés de l'extrait butanolique identifiés par CPL/SM.	74
Tableau 03	La teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols.	75
Tableau 04	Inhibition du radical DPPH.	80
Tableau 05	Inhibition du radical Galvinoxyl.	81
Tableau 06	Réduction du complexe néocoproine par la méthode CUPRAC.	82
Tableau 07	Réduction du fer par la méthode FRAP.	84
Tableau 08	Réduction du fer par la méthode phenanthroline.	85
Tableau 09	Inhibition du cation radical ABTS.	86
Tableau 10	Inhibition de l'anion superoxide.	87

Table des matières

Introduction générale	1
Références	2
Chapitre I : synthèse bibliographique	
I.1. Présentation botanique et géographique de la famille des Asteraceae, Plumbaginaciae et Pinaceae.....	3
➤ La famille des Asteraceae.....	3
➤ La famille des Plumbaginaciae.....	4
➤ La famille des Pinaceae.....	5
I.1.1. Intérêt pharmacologique, nutritionnel et commercial.....	5
➤ La famille des Asteraceae.....	5
➤ La famille des Plumbaginaciae.....	6
➤ La famille des Pinaceae.....	6
I.2. Le Genre <i>Centaurea</i>	6
I.2.1. La plante <i>Centaurea parviflora</i>	6
I.2.2. Synonymie de <i>Centaurea parviflora</i>	7
I.2.3. Description botanique	7
I.2.4. Place dans la systématique.....	8
I.2.5. Propriétés pharmacologique du genre <i>Centaurea</i>	8
I.3. Le Genre <i>Limonium</i>	9
I.3.1. La plante <i>Limonium thouini</i>	10
I.3.2. Synonymie de <i>Limonium thouini</i>	10
I.3.3. Description botanique.....	11
I.3.4. Place dans la systématique	12

I.3.5. Propriétés pharmacologique du genre <i>Limonium</i>	12
I.4. Le Genre <i>Cedrus</i>	14
I.4.1. La plante <i>Cedrus atlantica</i>	14
I.4.2. Synonymie de <i>Cedrus atlantica</i>	14
I.4.3. Description botanique.....	14
I.4.4. Place dans la systématique	16
I.4.5. Propriétés pharmacologique du genre <i>Cedrus</i>	16
I.5. Généralité sur les huiles essentielles.....	17
I.5.1. Facteurs de variabilité des huiles essentielles	18
I.5.2. Intérêt pharmacologique, nutritionnel et commercial.....	18
I.5.3. CPG couplée à la masse (CPG/ SM).....	19
I.5.3.1. Principe de l'analyse CPG/ SM	19
I.5.3.2. Les applications de la CPG couplée à la masse (CPG/SM).....	19
I.5.4. HPLC couplée à la masse (CPL/SM).....	20
I.5.4.1. Principe de l'analyse CPL/SM	20
I.5.4.2. Les applications de la HPLC couplée à la masse (CPL/SM).....	20
I.6. Activité anti-oxydante	20
I.6.1. Introduction.....	20
I.6.2. Mise en évidence de l'activité anti-radicalaire	21
I.6.2.1. Activité antiradicalaire au DPPH.....	22
I.6.2.2 Activité du piégeage du radical Galvinoxyl	23
I.6.2.3. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC).....	23

I.6.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	24
I.6.2.5. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phenanthroline.....	25
I.6.2.6. Activité du piégeage du cation radical ABTS ⁺	26
I.6.2.7. Activité du piégeage du radical superoxyde (O ₂ ^{•-}).....	28
Références	29

Chapitre II : Matériel et méthodes

II .1. Matériel végétal	40
➤ <i>Centaurea parviflora</i>	40
➤ <i>Limonium thouini</i>	40
➤ <i>Cedrus atlantica</i>	40
II .1.1. Macération et extraction.....	40
➤ <i>Centaurea parviflora</i>	40
➤ <i>Limonium thouini</i>	43
➤ <i>Cedrus atlantica</i>	45
II .2. Analyse CPG/MS de l'huile essentielle.....	45
II .3. Analyse CPL/MS de l'extrait butanolique.....	45
II .4. Activités biologiques.....	46
II .4.1. Détermination du total en polyphénols, flavonoïdes et flavanols.....	46
II .4.1.1. Total phénolique	46
II .4.1.2. Total flavonoïdes	47
II .4.1.3. Total flavonols	48
II .4.2. Activité anti-oxydante	48
II .4.2.1. Activité antiradicalaire au DPPH.....	49
II .4.2.2. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl.....	49

II .4.2.3. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)	49
II .4.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	50
II .4.2.5. Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2-phenanthroline....	50
II .4.2.6. Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	50
II .4.2.7. Activité du piégeage du radical superoxyde (O ₂ ^{•-})	51
II .5. Analyses statistiques	51
Références	52

Chapitre III : Résultats et discussion

III .1.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cedrus atlantica</i>	53
III .1.2. Fragmentations proposées pour les neuf molécules majoritaires.....	53
III .1.3.1. Identification du produit majoritaire (1)	54
III .1.3.2. Identification du produit majoritaire (2)	55
III .1.3.3. Identification du produit majoritaire (3)	56
III .1.3.4. Identification du produit majoritaire (4)	57
III .1.3.5. Identification du produit majoritaire (5)	58
III .1.3.6. Identification du produit majoritaire (6)	59
III .1.3.7. Identification du produit majoritaire (7)	60
III .1.3.8. Identification du produit majoritaire (8)	61
III .1.3.9. Identification du produit majoritaire (9)	62
III .1.4. Interprétation des résultats d'analyse CPG/SM	65
III .2.1. Résultats d'analyses CPL/SM et interprétation.....	67
III .2.2. Modes d'ionisation positive et négative.....	67
III .2.2.1. Ionisation positive.....	67

III .2.2.2. Ionisation négative	68
III .2.3. Identification des composés phénoliques contenus dans l'EBCP.....	68
III .2.3.1. Identification du produit 1.....	69
III .2.3.2. Identification des produits 2, 3, 4 et 5	70
III .2.3.3. Identification du produit 6.....	71
III .2.3.4. Identification du produit 7	72
III .2.3.5. Identification du produit 8	73
III .2.4. Discussion	74
III.3.1. L'étude quantitative des deux plantes	75
III .3.1.1. Dosage des polyphénols totaux	75
III.3.1.2. Dosages des flavonoïdes	76
III.3.1.3. Dosages des flavonols	78
III.3.2. Les activités antioxydantes	79
III.3.2.1. Activité antiradicalaire DPPH	79
III.3.2.2. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl	81
III.3.2.3. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)	82
III.3.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	83
III.3.2.5. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phenanthroline... ..	85
III.3.2.6. Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{*+}	86
III.3.2.7. Piégeage du radical superoxide par la méthode DMSO-alcalin.....	87
Références	90
Conclusion générale.....	91

Introduction générale

Introduction générale

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a trouvé dans la nature et particulièrement, chez les plantes des solutions à ses problèmes quotidiens et surtout pour traiter et soigner toutes sortes de maladies [1].

Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels, attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire [2].

Malgré l'utilisation croissante des plantes médicinales à travers le monde, il reste encore beaucoup de chose à comprendre sur les mécanismes de biosynthèse et de leurs vertus thérapeutiques [3].

L'Algérie par son emplacement géographique particulier et ces qualités climatiques très variées, présente une végétation riche et diverse. On compte plus de 3000 espèces de plantes, dont 15% endémiques, appartenant à plusieurs familles botaniques [4].

Dans ce contexte se présente ce travail de recherche dont le but principal est la valorisation de la richesse de l'Algérie en plantes médicinales, et de recherche de nouvelles molécules naturelles qui peuvent remplacer les molécules synthétiques, pour cela notre étude englobe deux aspects dont le premier est d'ordre phytochimique, le second aspect est consacré à une évaluation des activités antioxydantes.

Ce travail est divisé en trois chapitres dont le premier a été consacré à des généralités bibliographiques.

Le second chapitre concerne la description du matériel végétal et les méthodes d'extractions, séparations et analyse CPG/SM et CPL/SM ainsi que les méthodes d'évaluation des activités antioxydantes.

Le dernier chapitre de ce travail comprend la discussion des résultats de l'étude phytochimique des trois plantes : *Centaurea parviflora*, *Limonium thouini* et *Cedrus atlantica* ainsi que les composés identifiés par l'analyse CPG/SM de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica* et par l'analyse CPL/SM de l'extrait butanolique de *Centaurea parviflora* en plus les résultats des activités antioxydantes.

Introduction générale

Références

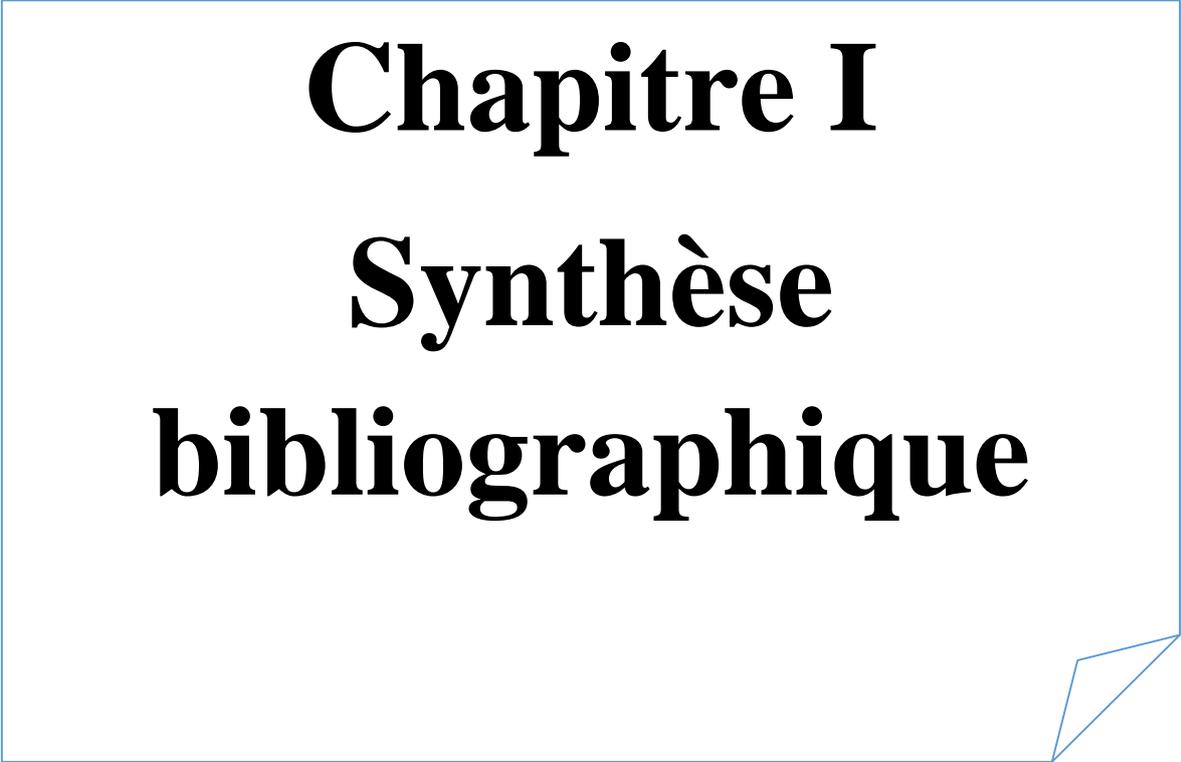
[1] Lee, K.H. (2004). Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product lead. *Journal of Natural Products* 67: 273-283.

[2] World Health Organization. (2002). WHO traditional medicine strategy 2002-2005.

[3] Gao, H., lamusta J., Zhang W.F., Salmonsén R., liu Y., Oconel E., Evan J. E., Burstein S., Chen, J.J. (2011). Tumor cell selective cytotoxicity and apoptosis induction by an Herbal preparative from *Brucea javanica*. *North American journal of medicine and science*. 4: 62-66.

[4] Gaussen, H., Leroy H. F. (1982). *Précis de botanique, végétaux supérieurs*. 2eme Ed., 426.

Chapitre I
Synthèse
bibliographique



I. 1. Présentation botanique et géographique de la famille des Asteraceae, Plumbaginaciae et Pinaceae

➤ La famille des Asteraceae

Les Asteraceae constituent la plus grande famille d'angiospermes, appelées aussi Composées (Compositae) ou, plus rarement des Composacées, avec 1600 à 1700 genres et 24 000 espèces réparties dans le monde [1]. Le sol algérien compte environ 109 genres et plus de 408 espèces divisées en deux sous-familles [2].

Tableau 01. Dénombrement des taxons de la famille des Astéracées en Algérie [2].

Famille des	Sous familles	Groupes	Genres	Espèces
Astéracées	Tubuliflores	06	82	299
	Liguliformes	-	27	109

Elles s'acclimatent bien aux régions tropicales, subtropicales et semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Elle est adaptée à tous les écosystèmes [3].

Les Asteraceae sont très majoritairement des plantes herbacées, même si la famille comprend aussi des arbres, des arbustes ou des lianes, et ils ont des formes de croissance telles que des géophytes, des épiphytes et des plantes grimpantes [4].

Les Astéracées sont caractérisées par la disposition des fleurs en capitule. Les capitules sont constitués du regroupement de fleurs sessiles sur un même réceptacle. Les fleurs sont de deux types (figure 01) : fleurs tubulées (tubuliflores) et fleurs ligulées (liguliflores). Le tout donnant à l'ensemble l'apparence d'une seule fleur. Le capitule est entouré à la base généralement par 1 à 6 séries de bractées dont l'ensemble forme l'involucre [5].

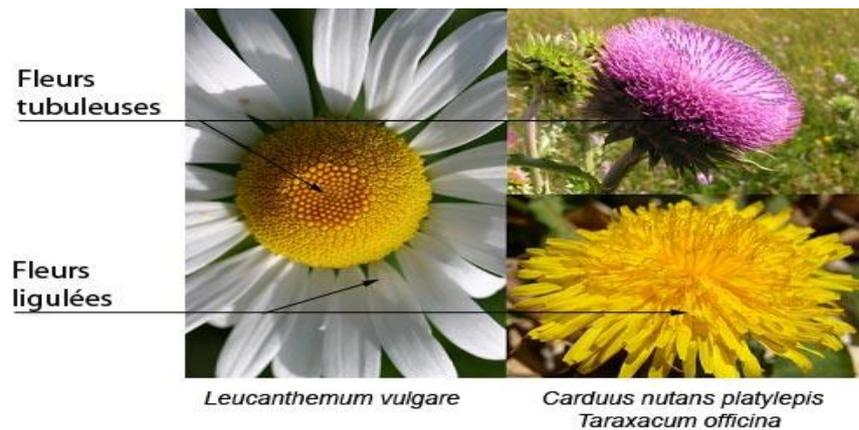


Figure 01. Types de fleurs des Asteraceae.

Les feuilles sont le plus souvent alternes. Elles peuvent aussi être opposées ou réunies en rosette principale (Pâquerette). Les fruits sont des akènes généralement surmontées d'une aigrette de poils (Pappus) apparaissant sous la forme d'écailles, de soies, d'arêtes ou d'une couronne qui favorise leur dispersion par le vent [6].

➤ La famille des Plumbaginaceae

Les Plumbaginaceae sont une famille cosmopolite, largement répandue dans les régions tempérées du nord. Elle se compose de 27 genres et 650 espèces [7].

Les Plumbaginaceae sont représentées en Algérie par quatre genres sont respectivement présentés dans le tableau ci-dessous [2].

Tableau 02. Les genres et les espèces de la famille Plumbaginacées en Algérie [2].

Le genre	Nombre d'espèces
<i>Arméria Willd</i>	6
<i>Plumbago Tourn</i>	1
<i>Limoniastrum Moench</i>	3
<i>Limonium Tourn</i>	23

Ce sont des plantes herbacées la plupart du temps, des arbustes ou des lianes. Les plantes de cette famille se rencontrent dans de nombreuses régions climatiques mais sont généralement associées aux steppes riches en sel, à la côte et aux marais [8].

Les fleurs sont actinomorphes, pentamères en général en épillets munis des bractées. Les feuilles sont alternes ou en rosette basale sans stipules en général. L'inflorescence est en cyme ou en capitule (Staicoideae), rarement spiciforme (Plumbagoideae). Le fruit est un akène ou une capsule à une graine à déhiscence irrégulière, entouré par calice persistant [9].

➤ **La famille des Pinaceae**

La famille des Pinaceae compte 220 à 250 espèces réparties en 11 genres (Abies, Cedrus, Larix, Picea, Pinus, Pseudolarix, Pseudotsuga, Tsuga, Cathaya, Keteleeria, Nothofagus) [10]. En Algérie, on trouve trois genres qui sont : Abies (le Sapin), Cedrus (le Cèdre), Pinus (le Pins) [11].

Cette famille est exclusivement distribuée dans l'hémisphère nord à l'exception d'une (01) espèce équatoriale de Pinus à Sumatra. Les espèces rares se rencontrent dans les habitats de montagne, en particulier dans les forêts de conifères des régions tempérées à froides ; moins fréquemment, ils se produisent dans les régions semi-arides et sous les latitudes tropicales et subtropicales [12]. Ce sont des arbres ou plus rarement des arbustes persistants, monoïques, aux rameaux régulièrement verticillés [13]. Les espèces ont des feuilles persistantes en forme d'aiguilles [14].

Les fleurs sont réunies en ombelles simples ou composées, munies de bractées appelées involucrelles à la base. Elles comptent 5 pétales et 5 étamines et un ovaire à deux loges. Les fruits sont formés de 2 méricarpes accolés à un axe central (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) [15].

I .1.1. Intérêt pharmacologique, nutritionnel et commercial

➤ **La famille des Asteraceae**

Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, ...etc.) [16]. En effet, il a été rapporté que les fleurs et les feuilles de ces plantes possèdent des activités antibactériennes, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires et une activité antiproliférative, anti-leishmaniose [1,17]. La diversité en métabolite secondaire des Astéracées explique leurs multiples activités

pharmacologiques, de ce fait, de nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle [18].

➤ **La famille des Plumbaginaceae**

De nombreuses espèces et genres des Plumbaginaceae ont fait partie de la médecine traditionnelle de plusieurs populations mondiales. Pour le traitement des bronchites et des infections intestinales et aussi utilisé comme antidote contre les piqûres d'insectes et le traitement des douleurs [19,20].

➤ **La famille des Pinaceae**

Leur majeure partie du bois résineux utilisé dans le monde, pour la construction navale, l'industrie papetière et l'industrie chimique et pharmaceutique. De nombreuses espèces et leurs variétés sont utilisées comme plantes décoratives. Les Pinacées ont aussi des utilisations alimentaires [21].

I .2. Le Genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* comprend plus de 500 espèces, dont 45 se développent spontanément en Algérie, dont 7 sont localisées dans le désert du Sahara [22]. Les *Centaurea* sont des plantes à résine ou à essence sans latex, ils se multiplient par touffes ou par semis, généralement au printemps. Elles se rencontrent sur différents types d'habitats [23]. Le genre *Centaurea* est connu pour produire des lactones sesquiterpéniques et les principaux métabolites secondaires des espèces de *Centaurea* sont représentés par les triterpènes, les flavonoïdes, les lignanes [24, 25, 26,27]. Ils sont isolés à partir des feuilles, des parties aériennes et parfois des racines [28].

I.2.1. La plante *Centaurea parviflora*

Centaurea parviflora Desf, une espèce endémique de l'Algérie et de la Tunisie [2], l'étude phytochimique faite par Ramos-Dorantes sur les parties aériennes de *Centaurea parviflora Desf* a montré qu'elle contient 13 métabolites secondaires parmi lesquels: huit (8) flavonoïdes, deux (2) lactones sesquiterpènes, un (1) phénylpropanoïde glucoside, un (1) alcane glycoside et un β -lactone glucosylé qui sont : 5-hydroxy-6,7,3', 4' tétraméthoxyflavone (1), eupatiline (2), eupatorine (3), cirsilinéol(4), jaceosidin (5), 5H α , 6H β , 7H α -15-hydroxy-8 α - (1', 2'-dihydroxyéthylacryloxy) -elema-1 (2), 3 (4), 11 (13) -

trien6,12-olide (6), genkwanin (7), thevetiaflavone (8), cnicine (9), éthyl-O-L-arabinofuranoside (10), cornicinine (11), syringine (12) et nicotiflorine (13) [29].

I.2.2. Synonymie de *Centaurea parviflora*

- *Centaurea polyphylla* Pomel
- *Centaurea pomeliana* Batt
- *Centaurea pterocaulos* Coss

I.2.3. Description botanique

Appendice des bractées sans partie scarieuse blanchâtre ou à partie scarieuse peu marquée ; à 8-12 laciniures latérales. Plantes suffrutescentes à la base, de 40-60 cm, très rameuses, formant des buissons serrés, intriqués. Feuilles supérieures non décurrentes sur la tige. Petits capitules de 5 mm de large sur 15mm de long, solitaires. Appendices à épine médiane fortement recouverte. Fleurs supérieures. Akènes pubescents, ventrus, noirs, à 4 stries marquées. Aigrette également le 1/3 de l'akène. Assez rare : en sol algérois, Oran et Tlemcen, Constantine, Hauts plateaux.



Figure 02. La plante *centaurea parviflora*.

I .2.4. Place dans la systématique

Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Astérales
Famille	Compositae
Sous famille	Tubiflores
Tribus	Cynarées
Genre	<i>Centaurea</i>
Espece	<i>Parviflora</i>

I.2.5. Propriétés pharmacologique du genre *Centaurea*

De nombreuses espèces du genre *Centaurea* ont été utilisées en médecine traditionnelle pour soigner divers maux et pour le traitement de plusieurs maladies. Ces espèces du genre sont utilisés comme : anticancéreux, anti-inflammatoire, anti-affection urogénitale, anti-nociceptif, antipyrétique, anti-artérioscléreux, antinéoplasique, antiulcérogène et anti-infection microbienne. Elles sont aussi utilisées contre les douleurs rhumatismales, les problèmes cardiovasculaires, les maux de tête, les symptômes gastro-intestinaux, les parasites et comme soulageant de la fièvre, remède stimulant et cicatrisation des plaies [22,29, 30, 31, 32, 33].

Elles présentent une activité élevée dans les systèmes vivants, ont donc un fort intérêt pharmacologique ce qui explique l'utilisation à long terme du genre dans la médecine traditionnelle [34].

Tableau 03. Quelques espèces de genre *Centaurea* utilisé en médecine.

Espèces	Propriétés thérapeutiques ou usages médicinales	Références
<i>C. amaena et C. aksoyi</i>	Antioxydants, antibactériens	[35]
<i>C. drabifolia et C. lycopifolia</i>	Antioxydants , anti microbienne, anti alzheimer , anti diabétique	[36]
<i>Centaurea albonitens</i>	Agent anticancéreux potentiel et /ou un activateur de la sensibilité chimiothérapeutique.	[37]
<i>Centaurea pungens</i>	l'activité antimicrobienne	[35]
<i>Centaurea maroccana</i>	Protecteur contre l'hépatotoxicité	[38]
<i>Centaurea chamaerhaponticum Ball</i>	Contre les palpitations, et elle est utilisée pour le traitement des maladies du foie, de l'estomac et de l'intestin	[24]
<i>Centaurea montana</i>	En cas de dyspepsie (difficulté de digestion), et comme diurétique, le refroidissement	[27,38]
<i>Centaurea pullata, et Centaurea grisebachu (Nyman)</i>	Effet analgésique contre des douleurs abdominales, atténuer la douleur inflammatoire	[39]
Autre	Activités antimicrobienne, antivirale, antifongique, cytotoxique, anticancéreuse.	[40,41,42,43,44]

I.3. Le Genre *Limonium*

Le genre *Limonium* comprend 400 espèces réparties dans le monde [45]. Dans la flore Algérienne on recense environ 23 espèces [2].

Le genre est le mieux représenté dans les régions méditerranéennes d'Europe et d'Asie, mais également dans les régions côtières d'Amérique du Nord et du Sud, d'Afrique du Sud et d'Australie [46].

Les *Limonium* sont très caractéristiques des zones vaseuses salées ou des régions subdésertiques de l'hémisphère Nord. Les fleurs ont un périanthe imbriqué, dont les écailles sont placées les unes sur les autres, la corolle est en forme d'entonnoir à leur base, mais larges et étendus au sommet, la fleur a cinq étamines en forme d'alène, plus courtes que la corolle et dont les sommets sont tombants, avec un germe très menu, qui soutient cinq styles minces, éloignés et couronnés par des stigmates aigus, le calice de la fleur se resserre ensuite au cou par l'expansion du limbe, et renferme les semences [47]. La détermination des espèces du genre *Limonium* est rendue difficile par la forte variabilité qui s'observe chez de nombreuses espèces [48].

La composition chimique des espèces de *Limonium* comprend des acides aminés, des éléments inorganiques, des vitamines, des flavonoïdes, des tanins, des polysaccharides, des alcaloïdes et des acides organiques utilisés comme traitement antimicrobien, substance anti-inflammatoire et antioxydante [49].

I.3.1. La plante *Limonium thouini*

Limonium thouini est un élément saharo-sindien typique. Cette plante est présente dans les pays suivants : Espagne, Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine et Cyrénaïque (Libye), Égypte, Sinaï, Palestine, Mésopotamie et Perse [50]. En Algérie l'espèce *Limonium thouinii* (Viv) O. Kuntze est souvent connu sous les noms Khedda et Zahim [2].

Limonium thouinii est une plante capable l'inhibition de la corrosion de l'acier au carbone en solution acide [51].

I.3.2. Synonymie de *Limonium thouini*

- *Limonium lobatum* (L.f.) Kuntze
- *Statice thouinii* Viv
- *Statice aegyptiaca* Pers

- *Taxantheme aegyptiaca* (Pers.) Sweet
- *Statice cuneata* Sm. Ex Link
- *Taxantheme alata* Sweet
- *Statice lobata* L. f
- *Taxantheme thouinii* (Viv.) Sweet

I.3.3. Description botanique

Plante annuelle de 10-20 cm [9], feuilles confiné à une rosette, étroitement oblongues oblancéolées.

Fleurs grandes, cyme hélicoïdales peu de fleurs latérales et terminales, calice blanche ou bleuté, corolle jaune.

Les feuilles de *Limonium thouinii* (Viv.) O. Kuntze sont fréquemment utilisées en tant que légumes dans l'alimentation humaine.



Figure 03. La plante *limonium thouini*.

I.3.4. Place dans la systématique

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Plumbaginales
Famille	Plumbaginaceae
Genre	<i>Limonium</i>
Espèce	<i>Limonium thouinii</i> (Viv)

I.3.5. Propriétés pharmacologique du genre *Limonium*

Plusieurs espèces du genre *Limonium* sont largement utilisées en médecine traditionnelle. La plante a été considérée comme une plante vivace endémique rare et d'importance commerciale dans la médecine chinoise car elle est utilisée comme remède pour saignements, fièvre, hépatite, diarrhée, bronchite et autres troubles. Récemment, il a été démontré que l'espèce *limonium sinense* possédait une action hépatoprotectrice contre l'intoxication au tétrachlorure de carbone (CCl₄) et à la D-galactosamine (D-GalN) [52].

Tableau 04. Quelques espèces de genre *Limonium* utilisé en médecine.

Espèces	Médecine traditionnelle	Propriété thérapeutique	Références
<i>Limonium brasiliense</i> (Boiss) Kuntze	Les hémorragies, les troubles menstruels, les rhumatismes	Cardioprotective Anti-inflammatoire Antioxydante Bactériostatique	[53]
<i>Limonium sinense</i> (Girard) Kuntze	La fièvre, les hémorragies, les troubles menstruels, l'hémostase sanguine	Antivirale Antioxydante Hepatoprotective	[54] [55]
<i>Limonium wrightii</i> (Hance) Kuntze	La fièvre, l'arthrite	Antioxydante Hepatoprotective Cardioprotecteur	[54] [56]
<i>Limonium gmelinii</i> (Willd) Kuntze	Les maladies intestinales, les maladies des voies respiratoires	Antibactérienne Antifongique Anti-leishmania Antiproliférative Anti-exsudative	[54] [57]
<i>Limonium axillare</i> (Forssk) Kuntze	Le diabète, les blessures, les inflammations, Tamer	Anti inflammatoire Antitumorale	[55] [58]
<i>Limonium vulgare</i> P. Mill	La tuberculose, remède, hémorragie, la diarrhée, action astringente, la dysenterie	Cytotoxique Antitumorale	[59] [60] [61]

I.4. Le Genre *Cedrus*

Le genre *Cedrus* (Cèdre) compte quatre (04) espèces végétales appartenant à la famille des Pinacées originaires d'Afrique du nord, du Moyen-Orient et de l'Himalaya [62] les forêts de cèdres couvrent une superficie de plus de 130 000 ha distribués au Maroc (Rif, Moyen Atlas et nord-est du Haut Atlas) et en Algérie (Aurès, Belezma, Hodna, DjbelBabor, Djurdjura, Blida et Ouarsenis) [63]. Ce sont des grands arbres "gymnospermes" conifère pouvant mesurer jusqu'à 40m, développe des fleurs mâles jaune clair et des fleurs femelles verdâtres à rougeâtres [62].

I.4.1. La plante *Cedrus atlantica*

Cedrus atlantica (Pinaceae) distribué uniquement dans les montagnes du Maroc et de l'Algérie, elle a une activité antimicrobienne intéressante et aussi l'huile essentielle de *C. atlantica* a été déjà étudiée et a démontré qu'elle possédait des propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antimicrobiennes. Elle est également utilisée dans le traitement de la chute des cheveux [64]. L'inhalation d'huile essentielle de *Cedrus atlantica* induit un effet anti hyperalgésique dans un modèle de douleur postopératoire et des propriétés antiseptique. Elle est utilisée dans le traitement des bronchites, de la toux et des indigestions [65,66,67]. *C. atlantica* a un fort potentiel de croissance lorsqu'un approvisionnement en eau suffisant est disponible mais est plus sensible à la sécheresse des sols [68].

I.4.2. Synonymie de *Cedrus atlantica*

- *Cedrus libani* (Cèdre du Liban)

I.4.3. Description botanique

L'arbre du cèdre est de grande taille susceptible de dépasser 50 m de hauteur. Sa longévité est très remarquable et peut dépasser 1000 ans [69,70]. Son port pyramidal au stade juvénile présente des ramifications de premier ordre souvent redressées. A l'âge adulte, il prend une forme tabulaire [71]. Son écorce est divisée en petites écailles d'une couleur jaune brune puis grisâtre et crevassée profondément avec une couleur foncée à un âge [72,70].

Le cèdre de l'Atlas possède deux sortes de rameaux (longs et courts) et un feuillage sous forme d'aiguilles isolées sur les jeunes rameaux et sur les pousses de l'année, rigides à apex aigu et mesurant 1 à 2 cm [73].



Figure 04. La plante *Cedrus atlantica*.

I.4.4. Place dans la systématique

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Vectrices
Ordre	Coniférales
Sous Ordre	Abiétales
Famille	Pinacées
Sous famille	Abiétées
Genre	<i>Cedrus</i>
Espèce	<i>Cedrus atlantica</i>

I.4.5. Propriétés pharmacologique du genre *Cedrus*

Cedrus est largement utilisé en médecine traditionnelle au Liban pour le traitement de différentes maladies infectieuses [74].

Tableau 05. Propriétés thérapeutique de quelque genre *Cedrus*.

genres	Propriété thérapeutique	Références
<i>Cedrus libani</i>	Effet inhibiteur de l' α -amylase, activité biologique contre le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1), anti-inflammatoires,	[74, 75,76]
<i>Cedrus deodara</i>	Insectifuge, effet inhibiteur de l' α -amylase, Activités antisécrétoire et anti-ulcéreux	[77, 78,79]
<i>Cedrus atlantica</i>	anti-inflammatoires, antifongiques, antimicrobiennes	[64]

I.5. Généralité sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des liquides huileux aromatiques et volatils obtenus à partir de plantes. De nombreux types d'huiles essentielles végétales sont connus pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydants et de modulation biologique [80].

L'huile essentielle, est un liquide hydrophobe concentré, n'existe quasiment que chez les végétaux supérieurs, il contient majoritairement des métabolites secondaires de la plante naturelle, composée de terpènes, de terpénoïdes oxygénés, d'aromatiques, de phénoliques, d'acétonides, etc [81,82].

Il existe plusieurs méthodes d'extraction qui sont utilisées, telles que l'extraction assisté par micro-onde, extraction par des solvants organiques et l'extraction par les gaz supercritiques [83].

Ces techniques d'extraction reposent toutes sur le même principe, sont basées sur l'entraînement à la vapeur d'eau, l'expression, la solubilité et la volatilité [84].

Selon l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et la pharmacopée européenne l'hydro-distillation est la méthode la plus indiquée pour l'extraction d'une huile essentielle et le contrôle de sa qualité, C'est la méthode la plus ancienne, la plus utilisée et la plus rentable [85].

I.5.1. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

La composition en huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs qui influencent également la composition et le rendement des huiles essentielles. En effet, les facteurs d'environnements (dépend du sol et de ses paramètres, du climat et techniques sylvicoles, la pluviométrie [83,86,87], l'influence du cycle végétatif [87] (une variation selon l'âge de la plante et la période de récolte ou la saison), l'organe de la plante [88], et Les conditions culturales telles que l'emploi d'engrais, les traitements phytosanitaires, le procédé d'extraction aussi même le temps d'extraction [89,90,91,92,87].

I.5.2. Intérêt pharmacologique, nutritionnel et commercial

Les huiles essentielles sont progressivement étudiées à des fins d'utilisation industrielle (chimique, cosmétique, alimentaire, parfumant et pharmaceutique) en raison de leur potentiel bioactif ; antioxydant, répulsif, antibactérien, antifongique, analgésique, anti-inflammatoire, antihypertenseur et inhibiteur de l'AChE. L'origine de l'espèce pourrait avoir un impact sur la variabilité chimique des huiles essentielles [93]. Et avec l'attention croissante portée à la sécurité alimentaire grâce à des alternatives naturelles, l'utilisation des huiles essentielles de plantes a été mise en évidence en raison de son potentiel élevé en tant qu'agent de conservation, tout en étant généralement reconnue comme étant sans danger (GRAS) par l'OMS (Organisation mondiale de la santé) et beaucoup ont encore une activité antimicrobienne contrôlant à la fois les agents pathogènes et les bactéries alimentaires [94].

I.6. Techniques d'analyse CPG couplée à la masse (CPG/ SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) est une méthode d'analyse couramment reconnue dans la communauté scientifique pour sa reproductibilité et ses capacités quantitatives [95].

I.6.1. Principe de l'analyse CPG/SM

La spectrométrie de masse (SM) est l'étude des systèmes par un processus de formation d'ions gazeux, avec ou sans fragmentation, ensuite caractérisés par leur rapports masse/charge (m/z) et leurs abondances relatives. Typiquement lors du couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse (CPG/SM), Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur rapport masse/charge [96,97].

L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (I_r) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres [98,99].

I.6.2. Les applications de la CPG couplée à la masse (CPG/SM)

La technique CPG/SM est efficace pour obtenir des informations structurales sur les composés volatils en comparant des fragments de composés cibles avec ceux de références standard de la base de données disponible dans le système CPG/SM. Elle est couramment utilisée pour l'analyse des arômes, telle que l'odeur / le goût désagréable des aliments et les composés organiques volatils présents dans l'environnement (air, eau potable, sol, etc.). Jusqu'à présent, plus de 10 000 composés volatils ont été identifiés dans différents aliments [100]. Et pour déterminer les Composés organiques hydrosolubles présents dans les aérosols à biomasse en Amazonie [101] Analyses par CPG-SM de lipides méthylés directs dans des liants utilisés dans des intérieurs peints de manière traditionnelle du XVIIIe siècle à Hälsingland, en Suède [102] ...

I.7. Techniques d'analyse HPLC couplée à la masse (CPL/SM)

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (CPL/SM) est la combinaison de deux techniques sélectives permettant d'analyser et de mesurer le ou les analytes d'intérêt dans des mélanges très complexes [103].

I.7.1. Principe de l'analyse CPL/SM

La spectrométrie de masse est une technique très sensible et est largement considérée comme ayant une bonne sélectivité.

La CPL différencie les composés par leurs propriétés physico-chimiques et la SM différencie les composés en masse (en particulier leur rapport masse sur charge). C'est cette double sélectivité qui fait de la CPL/SM un outil d'analyse extrêmement puissant.

Le spectromètre de masse sert non seulement de « détecteur LC », mais, au moins en principe, il permet d'identifier l'espèce correspondant à chaque pic chromatographique grâce à son spectre de masse unique [103].

I.7.2. Les applications de la HPLC couplée à la masse (CPL/SM)

La CPL/SM comprend plusieurs domaines d'application tels que le développement des médicaments biopharmaceutiques, la quantification des médicaments dans des fluides biologiques (plasma, urine, tissus, etc.), les études de pharmacocinétique, les études de biodisponibilité, contrôle du dopage, quantification des amines biogènes, surveillance thérapeutique des médicaments et les études environnementales [104, 105].

I.8. Activité anti-oxydante

I.8.1. Introduction

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) [99].

Le stress oxydatif est causé par un déséquilibre entre l'homéostasie pro-oxydant et antioxydant qui conduit à la génération d'espèces radicalaires toxiques. Différents types de stress oxydatif dans les organismes aérobies endommagent les macromolécules, telles que

les lipides membranaires, les protéines et l'ADN, responsables du développement de divers troubles chroniques, tels que le diabète de type 2, l'inflammation, le vieillissement, les maladies neurodégénératives et le cancer [106]. La réduction univalente de l'oxygène résulte dans la formation d'espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres (anion superoxyde, radical hydroxyle), le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet [107].

Dans les systèmes biologiques, un antioxydant est une substance qui, en faible concentration comparativement à la quantité des substances oxydables, retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, les DNA et les carbohydrates. Son rôle est d'intercepter les radicaux libres avant qu'ils ne réagissent avec le substrat [108].

I.8.2. Mise en évidence de l'activité anti-radicalaire

Les plantes sont depuis longtemps une source d'antioxydants et ont une capacité innée à biosynthétiser des antioxydants non enzymatiques. Les plantes synthétisent et accumulent des vitamines (C, E, caroténoïdes, etc.), des flavonoïdes (flavones, isoflavones, flavonols, anthocyanes et catéchines), des polyphénols (acide ellagique, acide gallique et tanins) et possèdent une puissante activité antioxydante [110].

Les principes généraux de l'évaluation de l'AOA d'objets biologiques reposent sur des réactions d'oxydoréduction : mesure directe ou indirecte de la vitesse de réaction ou de complétude de la réaction via l'application de différentes techniques chimiques et physico-chimiques. Les plus courantes sont deux approches : l'utilisation de radicaux libres comme réactifs, y compris les radicaux générés, et / ou l'utilisation de réactifs chimiques non radicalaires pouvant altérer le fonctionnement optique, propriétés électrochimiques et autres propriétés du milieu lorsqu'il interagit avec les antioxydants de l'échantillon testé [109]. L'évaluation de l'activité antioxydante a été largement adoptée avec différentes méthodes analytiques, telles que l'acide DPPH (acide 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle), ABTS^{•+} (acide 2,2'-azino-bis 3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique), ORAC (capacité d'absorption des radicaux oxygénés), tests de la capacité antioxydante cuivrique réductrice (CUPRAC), capacité réductrice totale et inhibition des lipoprotéines de faible densité (LDL) [110].

I.8.2.1. Activité antiradicalaire au DPPH

Le dosage au 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle est l'un des plus largement utilisés. Au cours de cet essai, le radical chromogène violet est réduit par les composés antioxydants / réducteurs (antioxydants donneurs d'hydrogène) en hydrazine jaune pâle correspondante et la réaction est contrôlée à 517 nm (voir Figure 05). La méthode DPPH offre des avantages par rapport aux tests classiques, elle est basée sur la rapidité, la sensibilité, la facilité et la faible consommation de réactifs [111].

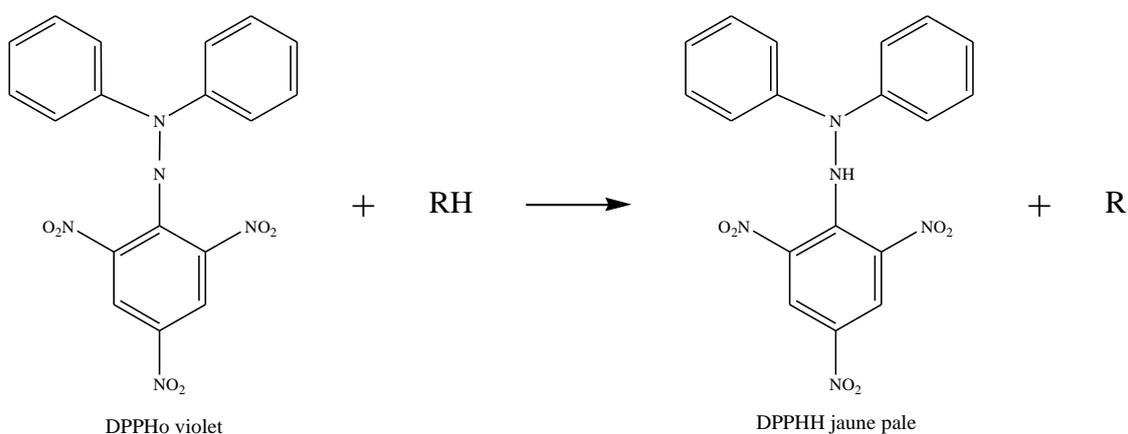


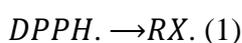
Figure 05. Transformation du radical DPPH^{*} en DPPHH.

La méthode DPPH peut être utilisée pour des échantillons solides ou liquides et elle n'est pas spécifique à un composant antioxydant particulier, mais s'applique à la capacité antioxydante globale de l'échantillon [112].

Ce type de test est recommandé pour les composés contenant des groupes SH, NH et OH.

Deux mécanismes connus sont utilisés dans la littérature pour décrire les réactions antioxydants :

1) le mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène (HAT) et 2) le transfert d'électron unique suivi du mécanisme de transfert de proton (SET-PT). Le premier mécanisme peut être exprimé comme suit :



Où X est un atome de O, S, N ou C et Y est DPPH. La vitesse de réaction de l'antioxydant (RXH) avec le ROS dépend de la barrière d'énergie d'un transfert d'atome d'hydrogène.

Le deuxième mécanisme comprend trois étapes :



I.8.2.2 Activité du piégeage du radical Galvinoxyl

Le radical Galvinoxyl ou "Coppinger" a été synthétisé pour la première fois par Galvin M. Coppinger 1957 [114].

Le radical galvinoxyle (GO^\bullet) est un radical phénolique relativement stable, il est largement utilisé pour évaluer l'activité anti-radicalaire des composés phénoliques et déterminer leur capacité à transférer des protons H labiles aux radicaux libres. Il peut être réduit de manière irréversible, en raison de son électron impair, le radical galvinoxyle présente une bande d'absorption puissante à 428 nm, dans son état radical et à une faible concentration, une solution de galvinoxyle apparaît en jaune. Sa couleur est dégradée du jaune foncé en jaune pâle en présence d'un antioxydant et son absorbance diminue [115].

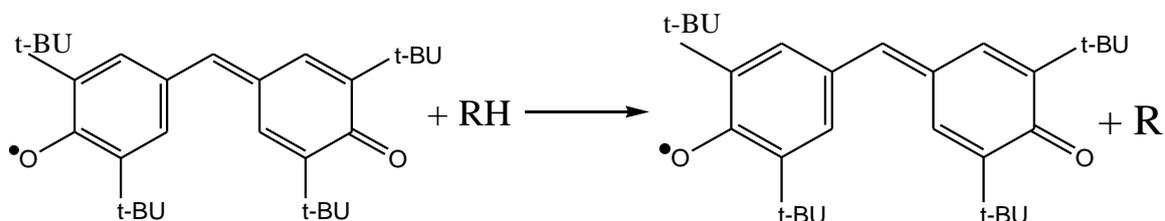


Figure 06. Mécanisme de la réaction de Galvinoxyl avec un antioxydant [115].

I.8.2.3. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)

Le test CUPRAC ayant un potentiel rédox de 0,6 V pour la réduction de $Cu(Nc)_2^{2+} / Cu(Nc)_2$ peut oxyder sélectivement la plupart des composés antioxydants, y compris les polyphénols en solution neutre, en raison de la stabilisation sélective de la néocuproïne cuivreuse vis-à-vis du cuivre. Néocuproïne [116].

Le réactif CUPRAC est beaucoup plus stable et facilement accessible que les réactifs radicalaires chromogènes (par exemple, ABTS et DPPH). L'espèce colorée produisant la réaction rédox est réalisée à un pH presque physiologique (pH 7 du tampon d'acétate d'ammonium), Dans des conditions plus acides que le pH physiologique, la capacité de réduction peut être supprimée du fait de la protonation sur des composés antioxydants, alors que dans des conditions plus alcalines, la dissociation des phénols par des protons augmenterait la capacité de réduction de l'échantillon [117].

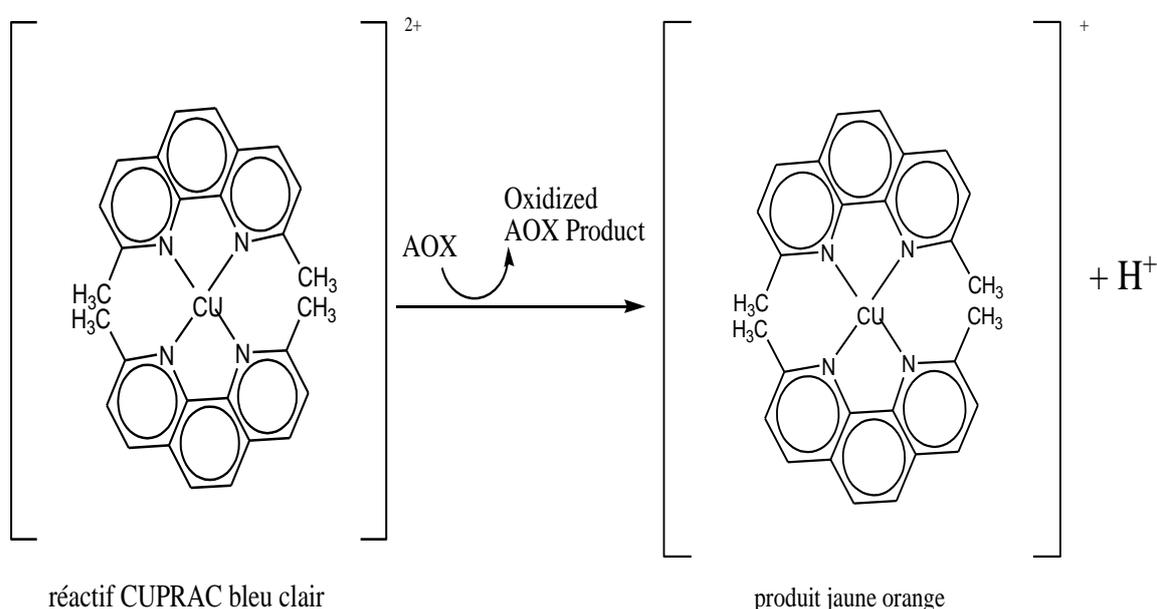


Figure 07. Réduction du complexe chromogène de Cu^{+2} -Nc [118].

La méthode de mesure des antioxydants CUPRAC (capacité de réduction d'antioxydant CUPric), est basée sur la mesure d'absorbance du chélate de Cu (I) -Néocuproïne (Nc) formé à la suite de la réaction d'oxydo-réduction des antioxydants briseurs de chaîne avec le réactif CUPRAC. Cu (II) -Nc, où l'absorbance est enregistrée à la longueur d'onde d'absorption maximale de la lumière de 450 nm [118].

I.8.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) repose sur la capacité des antioxydants à réduire le fer (III) en fer (II). L'évaluation est basée sur la réaction de réduction du (Fe^{+3}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en (Fe^{+2}), la réaction

est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{+3}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{+2}), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à 700 nm. Le test FRAP est appliqué à une large gamme d'antioxydants, mais sa vitesse de réaction et son rendement final peuvent varier pour chaque composé antioxydant [119,120,121].

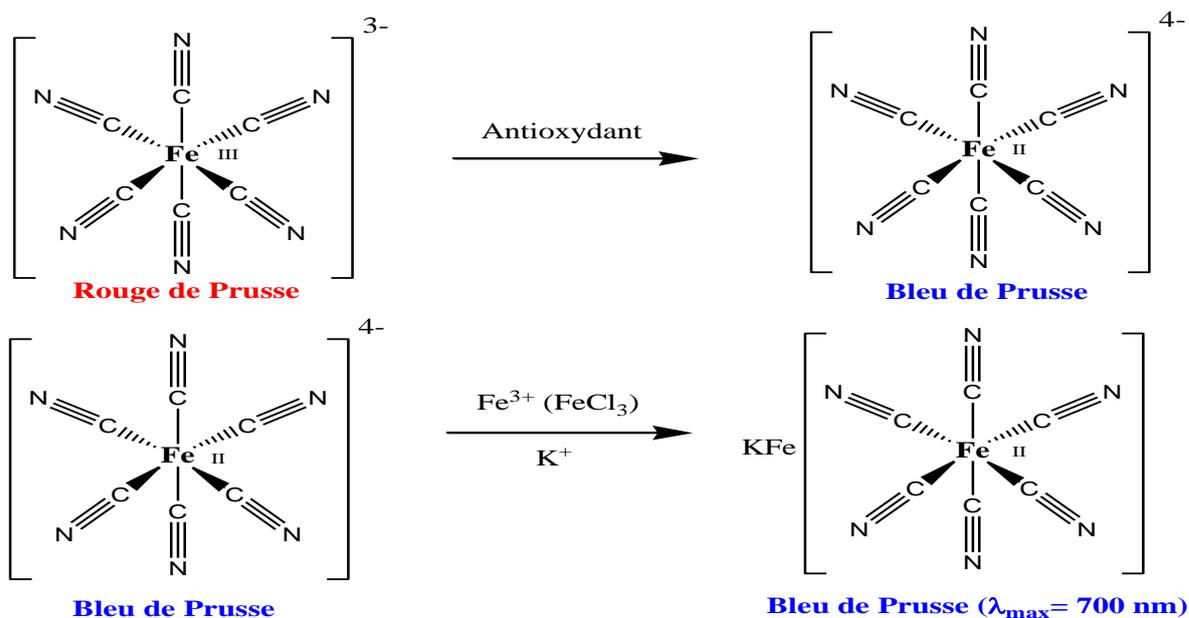


Figure 08. Réduction de fer (III) en fer (II).

I.8.2.5. Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline

Le fer aqueux, sous sa forme ferreuse réduite (Fe^{+2}), peut être déterminé par spectrophotométrie à partir de son complexe intensément coloré avec la 1,10-phénanthroline en solution acide (pH 3-4), par la réaction suivante :

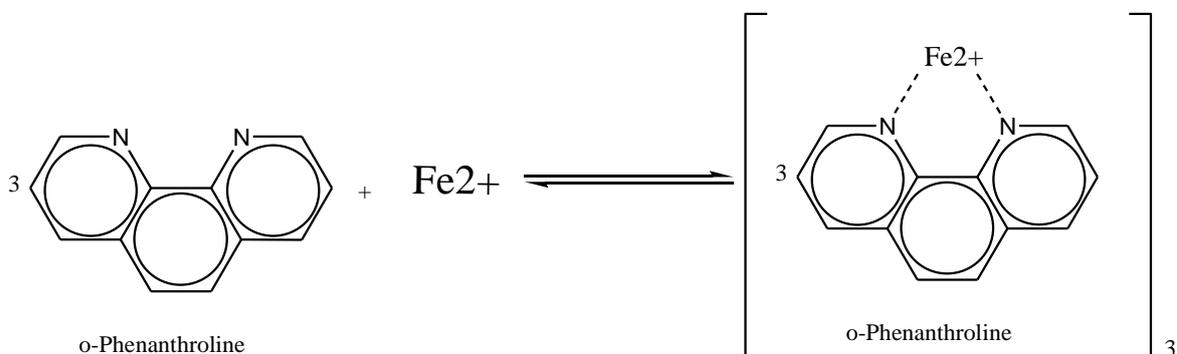


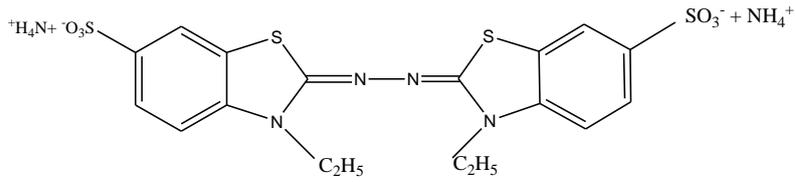
Figure 09. Formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline [122].

Seul le fer ferreux Fe(II) ou Fe²⁺ forme un complexe stable avec l'orthophénantroline et donne une couleur orangée. On nomme ce complexe ferroïne et il se quantifie photométriquement à une longueur d'onde de 510 nm [123].

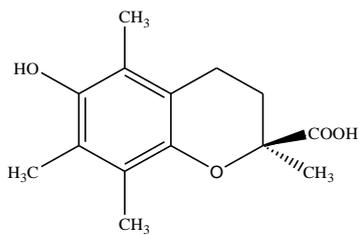
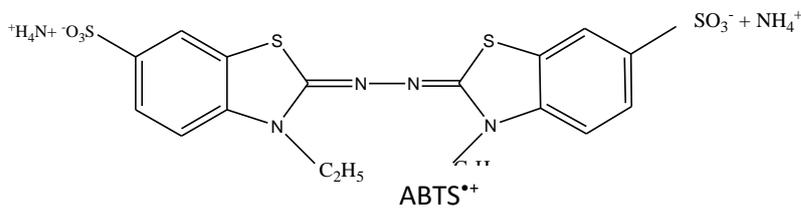
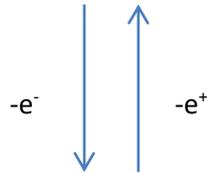
I.8.2.6. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

Le test ABTS détermine la capacité de piégeage de l'activité antioxydante basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation ABTS^{•+}, (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline) -6-sulfonique), qui peut être mesuré par spectrophotométrie à 414, 660 ou 734 nm. Le radical est formé par oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés, Ce test est une approche plus simple et plus fréquente [124,125].

Cette méthode est comme le dioxyde de manganèse [126], la myoglobine [127], le peroxyde d'oxygène [128] ou le persulfate de potassium [125]. Le composé à tester est ajouté au radical préformé. L'activité des composés est alors exprimée par la Capacité Antioxydante Equivalente Trolox (TEAC) qui correspond à la capacité antioxydante d'une solution de Trolox® (1 mM) (analogue hydrophile de la vitamine E). Ainsi, plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace [129]. Le radical ABTS^{•+} (absorbant à 734nm) est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS. En présence de Trolox (ou d'antioxydant donneur de H[•]), le radical d'azote concerné piège un H[•], conduisant à l'ABTSH⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution, Par ce test, nous déterminons à un temps de réaction donné (1, 4 ou 6 minutes) un pourcentage d'inhibition à 734 nm (correspondant à une diminution de la coloration de la solution) en fonction de la concentration en agent réducteur [130].



ABTS : sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)



(Ou antioxydant à tester donneur de

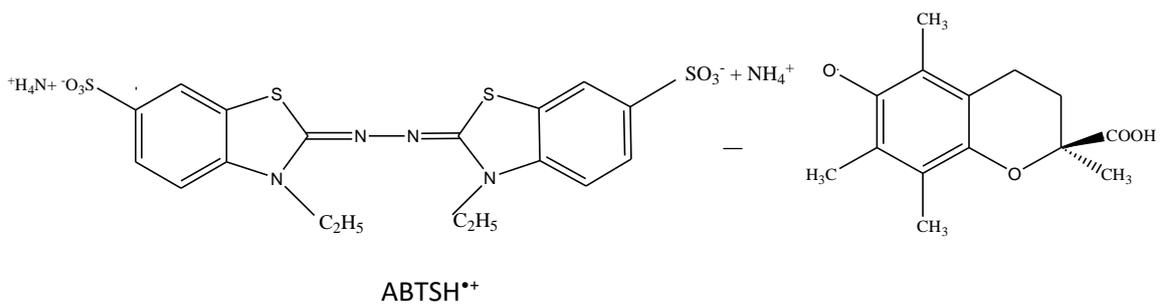


Figure 10. Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant.

I.8.2.7. Activité du piégeage du radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

Cet essai évalue la capacité d'un produit à capturer un radical libre, l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$. Ce radical est généré in vitro par le système hypoxanthine/xanthine oxydase. Dans cette méthode, le radical réduit le NBT^{2+} (Nitro-Blue Tétrazolium) de couleur jaune, en bleu de formazan de couleur pourpre qui absorbe à 560 nm. Ainsi, un composé antioxydant capable de capturer l'anion superoxyde empêchera la formation du bleu de formazan et la solution restera jaune. Les absorbances obtenues permettent de calculer un pourcentage de la réduction du NBT^{2+} par rapport à un témoin constitué du milieu réactionnel dépourvu de composé antioxydant [131].

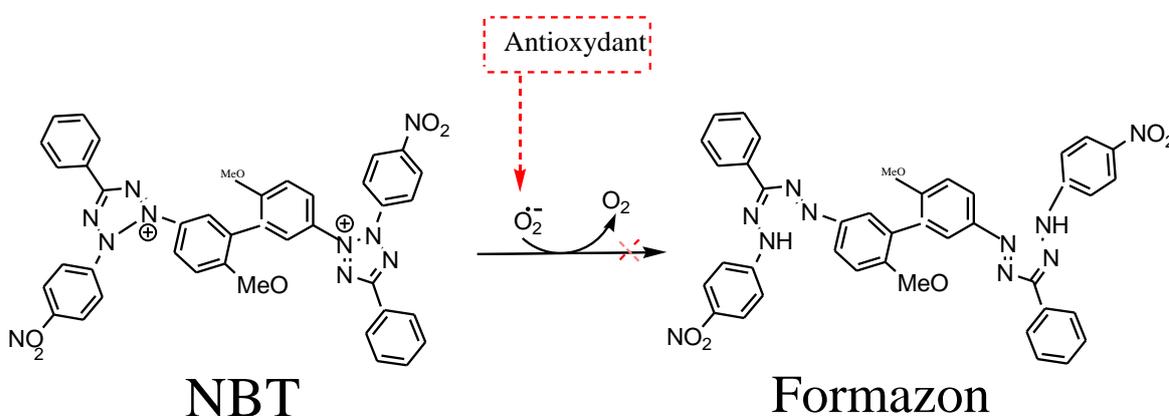


Figure 11. piégeage du radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et formation du bleu de formazan.

Références

- [1] Da Silva, A. C. N., do Nascimento R. M. C., Rodrigues D. C. do N., Ferreira, P. M. P., Pessoa, C., Lima, D. J. B., ... do Nascimento, A. M. (2019). In vitro activity evaluation of seven Brazilian Asteraceae against cancer cells and *Leishmania amazonensis*. *South African Journal of Botany*, 121, 267–273.
- [2] Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris.1023.
- [3] Bremer, K. (1994). *Asteraceae cladistics and classification*. Portland, Oregon : Timber Press. 752 p.
- [4] Sánchez-Chávez, E., Rodríguez, A., Castro-Castro, A., Angel Pérez- Farrera, M., & Sosa, V. (2019). Spatio-temporal evolution of climbing habit in the *Dahlia-Hidalgoa* group (Coreopsidae, Asteraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 135, 166–176.
- [5] Barkely, T.M., Brouillet, L., Strother, J.L. (2006). *Flora of North America- Asteraceae* 19, 3-69.
- [6] Usher, G. (1966). *A dictionary of botany, including terms used in biochemistry, soil science and statistics constable & Co Ltd, London*
- [7] Moharrek, F., Kazempour Osaloo, S., & Assadi, M. (2014). Molecular phylogeny of *Plumbaginaceae* with emphasis on *Acantholimon* Boiss. Based on nuclear and plastid DNA sequences in Iran. *Biochemical Systematics and Ecology*, 57, 117–127.
- [8] Ghosh, D., Mondal, S., & Ramakrishna, K. (2017). Pharmacobotanical, physicochemical and phytochemical characterisation of a rare salt-secreting mangrove *Aegialitis rotundifolia* Roxb., (*Plumbaginaceae*) leaves : A comprehensive pharmacognostical study. *South African Journal of Botany*, 113, 212–229.
- [9] Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walter, S.M. et Webb, D.A., (1972). *Flora Europea*. Ed. Cambridge University Press.
- [10] Mathilde, M., (2002). *Larousse Agricole (le monde agricole au XXIe siècle)*, 550p.

- [11] Quezel, P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. C.N.R.S., Paris, 860 p.
- [12] Ramos-Dorantes, D. B., Villaseñor, J. L., Ortiz, E., & Gernandt, D. S. (2017). Biodiversity, distribution, and conservation status of Pinaceae in Puebla, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(1), 215–223.
- [13] Farjon, A. (1990). Pinaceae, Drawings and Descriptions of the Genera : Abies, Cedrus, Pseudolarix, Keteleeria, Nothotsuga, Tsuga, Cathaya, Pseudotsuga, Larix and Picea. Koeltz Scientific Book, 330p.
- [14] Mathilde, M., (2002). Larousse Agricole (le monde agricole au XXIe siècle), 550p.
- [15] Coste, H., Flahault, CH., (1998). Flore Description et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Tome II (Librairie scientifique et technique, Paris).
- [16] Lawrence, G.H.M., (1973). Taxonomy of Vascular Plants. Oxford and IBM Publishing Co., Rakes Press, New Delhi, India.
- [17] Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchida, I., Harima, S., Yoshikawa, M. (2002). Chemical and Pharmaceutical Bulletin 50 : 972.
- [18] Sarembaud, A., Poitevin B. (1996). Médicament à usage homéopathique, Ed. Masson, 256 p. Paris.
- [19] Cheriti, A. (2000). Plantes médicinales de la région de Bechar, Sud-ouest Algérien : étude ethnopharmacologique, Rapport CRSTRA, Algérie, 1-12.
- [20] Ghosh, D., Mondal, S., & Ramakrishna, K. (2017). Pharmacobotanical, physicochemical and phytochemical characterisation of a rare salt-secreting mangrove *Aegialitis rotundifolia* Roxb., (Plumbaginaceae) leaves : A comprehensive pharmacognostical study. *South African Journal of Botany*, 113, 212–229.
- [21] L'essence d'aiguilles de pin contient un fort pourcentage de monoterpènes (40 % d' α -pinène, 13 % de β -pinène, 25 % de limonène). (2002). Cf (en) *Pines of Silvicultural Importance*, CABI, p. 363.
- [22] Labeled, F., Masullo, M., Mirra, V., Nazzaro, F., Benayache, F., Benayache, S., Piacente, S. (2019). Amino acid-sesquiterpene lactone conjugates from the aerial parts of *Centaurea pungens* and evaluation of their antimicrobial activity. *Fitoterapia* 133, 51–55

- [23] Hellwig, F. H., (2004). Centaureinae (Asteraceae) in the Mediterranean history of ecogeographical radiation. *Plant Syst. Evol.* 246:137-162.
- [24] Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires - Saint –Etienne, Edit. Ibis Press, 764 pp.
- [25] Formisano, C., Formisano, C., Sirignano, C., Rigano, D., Chianese, G., Zengin, G., Seo, E.J., Efferth, T., Tagliatalata-Scafati, O. (2017). Antiproliferative activity against leukemia cells of sesquiterpene lactones from the Turkish endemic plant *Centaurea drabifolia* subsp. *detonsa*, *Fitoterapia* 120, 98–102.
- [26] Shakeri, A., Amini, E., Asili, J., Masullo, M., Piacente, S., & Iranshahi, M. (2017). Screening of several biological activities induced by different sesquiterpene lactones isolated from *Centaurea behen* L. and *Rhaponticum repens* (L.) Hidalgo. *Natural Product Research*, 32(12), 1436–1440.
- [27] Adekenov, S. M. (2017). Sesquiterpene lactones with unusual structure. Their biogenesis and biological activity. *Fitoterapia*, 121, 16–30.
- [28] Ayaz, F. A., Ozcan, M., Kurt, A., Karayigit, B., Ozogul, Y., Glew, R., & Ozogul, F. (2017). Fatty acid composition and antioxidant capacity of cypselas in *Centaurea* s.l. taxa (Asteraceae, Cardueae) from NE Anatolia. *South African Journal of Botany*, 112, 474–482.
- [29] Belkacem, S., Belbache, H., Boubekril, C., Mosset, P., RachedMosbah, O., Marchioni, E., Benayache, S., Benayache, F. (2014). Biological and Chemical Sciences Chemical Constituents from *Centaurea parviflora* Desf. *Research Journal of Pharmaceutical*. 0975-8585.
- [30] Baharfar, R., Khalilzadeh, MA., Gheibi, S., Jazayeri, O., Azimi, R., Tajbakhsh M. (2009). Antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extract of *Centaurea zuvandica* Sosn. *Iranian Journal of Organic Chemistry* 3, 172-177.
- [31] Kilic, O. (2013). Essential oil compounds of three *Centaurea* L. taxa from Turkey and their chemotaxonomy. *J Med Plants Res* ; 7(19) : 1344-1350.
- [32] Koca, U., Süntar, I. P., Keles, H., Yesilada, E., Akkol, E. K. (2009). In vivo anti-inflammatory and wound healing activities of *Centaurea iberica* Trev. ex Spreng. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(3), 551–556.
- [33] Leonardi, M.C., Ivaldi, G.B., Santoro, L., Lazzari, R., Ferrari, A., Morra, A., Caldarella, P., Burgoa, L., Bassi, F.D., Sangalli, C. (2011). Long-term side effects and cosmetic outcome in a pool of breast cancer patients treated with intraoperative radiotherapy with electrons as sole treatment, *Tumori* 98 (3) 324–330.

- [34] Grafakou, M.E., Djeddi, S., Tarek, H., & Skaltsa, H. (2018). Secondary metabolites from the aerial parts of *Centaurea papposa* (Coss.) Greuter. *Biochemical Systematics and Ecology*, 76, 15–22.
- [35] Albayrak, S., Atasagun, B., Aksoy, A. (2017). Comparison of phenolic components and biological activities of two *Centaurea* sp. obtained by three extraction techniques. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(6), 599–606.
- [36] Zengin, G., Zheleva-Dimitrova, D., Gevrenova, R., Nedialkov, P., Mocan, A., Ćirić, A., ... Mahomoodally, M. F. (2018). Identification of phenolic components via LC–MS analysis and biological activities of two *Centaurea* species : *C. drabifolia subsp. drabifolia* and *C. lycopifolia*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 149, 436–441.
- [37] Bahmani, F., Esmaeili, S., Bashash, D., Dehghan-Nayeri, N., Mashati, P., & Gharehbaghian, A. (2018). *Centaurea albonitens* extract enhances the therapeutic effects of Vincristine in leukemic cells by inducing apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99, 598–607.
- [38] Schauenberg et Paris. (2006). « *Centaurea maroccana* Ball. Endémique d’Afrique du Nord ».
- [39] Djeddi, A., karioti, M., Sokovic, C., Koukoulitsa, et H. Skaltsa. (2008). « A novel sesquiterpene lactone from *Centaurea pullata* : structure elucidation, antimicrobial activity, and prediction of pharmacokinetic properties », *Bioorg. Med. Chem.*, vol.16, n°7, p.3725-3731, avr.
- [40] Toribio, M.S., Oriani, D.S., Skliar, M.I. (2004). Actividad antimicrobiana de *Centaurea solstitialis* , *Ars. Pharm*, 45(4), 335-341.
- [41] Berrin, O., Ilhan, G., Taner, K., Erdem, Y. (2007). Antiviral and antimicrobial activities of three sesquiterpene lactones from *Centaurea solstitialis* L., *Microbiol. Res*, 1-8.
- [42] Skaltsa, H., Lazari, D., Panagouleas, C., Georgiadou, E., Garcia, B., Sokovic, M. (2000). Sesquiterpene lactones from *Centaurea thessala* and *Centaurea attica*. antifungal activity, *Phytochemistry*, 55(8), 903-908.
- [43] Medjroubi, K., Benayache, F., Bermejo, J. (2005). Sesquiterpene lactones from *Centaurea musimomum*. antiplasmodial and cytotoxic activities, *Fitoterapia*, 76,744-746.
- [44] Shoeb, M., Jaspars, M., MacManus, S.M., Celik, S., Nahar, L., Thoo-Lin, P.K., Sarker, S.D., (2007). Anti-colon cancer potential of phenolic compounds from the aerial parts of *Centaurea gigantea* (Asteraceae), *Journa of Naural Medicines*, 61, 164-169.
- [45] Aparicio A. (2005). *Limonium silvestrei* (Plumbaginaceae), a new agamospecies from southern Spain. *Annales Botanici Fennici*, 42(5):371-377 .

- [46] Demir, S., Karaalp, C., Bedir, E. (2017). Specialized metabolites from the aerial parts of *Centaurea polyclada* DC. *Phytochemistry*, 143, 12–18.
- [47] Miller, P. H. (1785), *Dictionnaire des jardiniers*. Volume 4, Guillot, Paris, 439.
- [48] Strahm, S. (2005), *Le Top 50 des plantes menacées des îles méditerranéennes* Bertrand de Montmollin. IUCN, 110.
- [49] Gancedo, N. C., Medeiros, D. C. de, Milaneze-Gutierrez, M. A., & Mello, J. C. P. de. (2018). Morpho-anatomical characters of *Limonium brasiliense* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28(5), 513–519.
- [50] Boyko, H. (1947). On the Role of Plants as Quantitative Climate Indicators and the Geo-Ecological Law of Distribution. *The Journal of Ecology*, 35(1/2), 138.
- [51] Benahmed, M., Lafhal, N., Djeddi, N. H., Laouer, S. (2012). Inhibition of the corrosion of carbon steel in acid solution by the extract of *Limonium thouinii* (Plumbaginaceae), *Advances in Environmental Biology*, 6(12) : 4052-4056, 2012 ISSN 1995-0756.
- [52] Ding, G., Zhang, D., Yu, Y., Zhao, L., & Zhang, B. (2012). Phylogenetic relationship among related genera of Plumbaginaceae and preliminary genetic diversity of *Limonium sinense* in China. *Gene*, 506(2), 400–403.
- [53] Murray, A. P., Rodriguez, S. (2004). Antioxidant Metabolites from *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze. *Zeitschrift Naturforsch C*, 59(7-8): 477-480.
- [54] Quattrocchi, U. (2012). *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology*. Volume 5, CRC Press, 3960.
- [55] Xinhui, T., Jing, G., Jin, C., Lizhi, X., Yahong, T., Huan, D., Wen, Y., Xiaoning, Z. (2007). Expression of VDAC Regulated by Extracts of *Limonium sinense* Ktze root Against CCl₄induced Liver Damage. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(3):204-213.
- [56] Aniya, Y., Miyagi, C., Nakandakari, A., Kamiya, S., Imaizumi, N., Ichiba, T. (2002). Free radical scavenging action of the medicinal herb *Limonium wrightii* from the Okinawa islands. *Phytomedicine*, 9(3): 239-244.
- [57] Korul'kina, L. M., Zhusupova, G. E., Shul'ts, E., Erzhanov K B. (2004). Fatty-acid composition of two *Limonium* plant species. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(5):417-419.
- [58] Mahmoud, T., Sanjay, G. (2013) Eastern Desert of Egypt : a case study from Wadi ElGemal National Park. *Medicinal Plants and Studies*, 1(6):10-17.
- [59] Chandler, R. F., Freeman, L., Hooper, S. N. (1979). Herbal Remedies of the Maritime Indians. *Journal of Ethnopharmacology*, 1(1) :49-68.

- [60] Burgess, J. G., Osinga, R., Wijffels, R., Tramper, J. (1999). Marine Bioprocess Engineering. Volume 5, Elsevier science B V, 413.
- [61] Lellau, T.F., Liebezeit, G., (2003). Cytotoxic and Antitumor Activities of Ethanolic Extracts of Salt Marsh Plants from the Lower Saxonian Wadden Sea, Southern North. Sea, Pharmaceuticla Biology, 41(4) :293-300.
- [62] Hans, W.k. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. In Texte édition, Toulouse. 978-2-35530-003-5
- [63] Cheddadi, R., Fady, B., François, L., Hajar, L., Suc, J.-P., Huang, K., ... Ortu, E. (2009). Putative glacial refugia of *Cedrus atlantica* deduced from Quaternary pollen records and modern genetic diversity. Journal of Biogeography, 36(7), 1361–1371.
- [64] Maya, B. M., Abedini, A., Gangloff, S. C., Kabouche, A., Kabouche, Z., & Voutquenne-Nazabadioko, L. (2017). A new δ -tocotrienolic acid derivative and other constituents from the cones of *Cedrus atlantica* and their in vitro antimicrobial activity. Phytochemistry Letters, 20, 252–258.
- [65] Emer, A. A., Donatello, N. N., Batisti, A. P., Oliveira Belmonte, L. A., Santos, A. R. S., & Martins, D. F. (2018). The role of the endocannabinoid system in the antihyperalgesic effect of *Cedrus atlantica* essential oil inhalation in a mouse model of postoperative pain. Journal of Ethnopharmacology, 210, 477–484.
- [66] Meftah, T. (2001). Connaissace, valorisation et contrôle de l'utilisation de la flore sauvage en médecine traditionnelle (plante médicinale). Programme U.I.C.N d'Afrique de nord-est.
- [67] Perrot, E., Paris, R. (1971). Les plantes médicinales. press universitaire de France. Paris
- [68] Ladjal, M., Deloche, N., Huc, R., Ducrey, M. (2007). Effects of soil and air drought on growth, plant water status and leaf gas exchange in three Mediterranean cedar species : *Cedrus atlantica*, *C. brevifolia* and *C. libani*. Trees, 21(2), 201–213.
- [69] Boudy, P. (1950). Economie forestière Nord-Africaine : monographie et traitement des essences forestières. Ed. Larose, Tome 2. pp : 529-619.
- [70] Toth, J. (1978). Contribution à l'étude de la fructification et de la régénération du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* M.) dans le sud de la France. Thèse. Doc. Ing. Fac. St. Jérôme. Marseille, France, 136p.
- [71] Gaussen, H. (1967). Les gymnospermes actuelles et fossiles. Faculté des sciences de Toulouse, Fasc. 7, 477p.

[72] Toth, J. (1971), Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* en France). Bulletin de la vulgarisation forestière. 4 : 5-19.

[73] Arbez M., Ferrandes P. et Uyar N. (1978). Contribution à l'étude de la variabilité géographique des cèdres. Ann. Sci. For. 35(4): 265–284.

[74] Loizzo, M. R., Saab, A., Tundis, R., Statti, G. A., Lampronti, I., Menichini, F., ... Doerr, H. W. (2008). Phytochemical analysis and in vitro evaluation of the biological activity against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) of *Cedrus libani* A. Rich. Phytomedicine, 15(1-2), 79–83.

[75] Loizzo, M. R., Saab, A. M., Statti, G. A., & Menichini, F. (2007). Composition and α -amylase inhibitory effect of essential oils from *Cedrus libani*. Fitoterapia, 78(4), 323–326.

[76] Tumen, I., Akkol, E. K., Süntar, I., & Keleş, H. (2011). Wound repair and anti-inflammatory potential of essential oils from cones of Pinaceae : Preclinical experimental research in animal models. Journal of Ethnopharmacology, 137(3), 1215–1220.

[77] Buner, I. D., Yousuf, M., Attaullah, M., Afridi, S., Anjum, S. I., Rana, H., ... Ansari, M. J. (2017). A comparative toxic effect of *Cedrus deodara* oil on larval protein contents and its behavioral effect on larvae of mealworm beetle (*Tenebrio molitor*) (Coleoptera : Tenebrionidae). Saudi Journal of Biological Sciences.

[78] Xu, F., Gu, D., Wang, M., Zhu, L., Chu, T., Cui, Y., ... Yang, Y. (2017). Screening of the potential α -amylase inhibitor in essential oil from *Cedrus deodara* cones. Industrial Crops and Products, 103, 251–256.

[79] Kumar, A., Singh, V., & Chaudhary, A. K. (2011). Gastric antisecretory and antiulcer activities of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. In Wistar rats. Journal of Ethnopharmacology, 134(2), 294–297.

[80] Zhou, Y., Sun, S., Bei, W., Zahi, M. R., Yuan, Q., & Liang, H. (2018). Preparation and antimicrobial activity of oregano essential oil Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals. International Journal of Biological Macromolecules, 112, 7–13.

[81] Pandit, J., Aqil, M., Sultana, Y. (2015). Terpenes and Essential Oils as Skin Penetration Enhancers, Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement. Springerpp. 173–193.

[82] Lawrence, B.M. (1995). Essential oils. Allured publishing corporation. Carol Stream.

[83] Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. Tec. Et Doc.Lavoisier. 3ème édition, Paris.

[84] RICHARD, H.M.J., ETIEVANT, P. (1997). Représentativité des extraits d'arômes réalisés au laboratoire, Rivista Italiana EPPOS, Numero spécial, p. 306-325.

- [85] Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd., revue et augmentée, Tec et Doc. Éditions médicales internationales, Paris : 1288
- [86] Olle, M., Bender, I. (2010). The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *AgronomyResearch* 8 (3), pp.687-696.
- [87] Aprotosoiaie, A.C., Spac, A.D., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V.F., Dorneanu, V., Stanescu, U. (2010). The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare Mill.*). *FARMACIA*, Vol. 58 (1) ; pp. 46-54.
- [88] Chowadhury, J. U., Bhuiyan, M. N. I., Begum, J. (2009). Constituents of Leaf and Fruits Essential Oil of *Carum Roxburghianum Benth.* *J. Sci. Res.*, 1(1) : 160-163.
- [89] Barry, N. (2001). Art d'extraire les huiles essentielles. De parfum à faire soi-même, pp. 125-128.
- [90] Lahlou, M. (2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18 : pp. 435-448.
- [91] Stefanini, M. B., Ming, L.C., Marques, M.O.M., Meireles, M.A., Moura, A. L. S., Marchese, J.A., (2006). Seed productivity, yield and composition of the essential oil of fennel *Foeniculum vulgare var. dulcis* in the season of the year. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, Vol.8, pp.86-90.
- [92] Benini, C. (2007). Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, 109p.
- [93] Popović-Djordjević, J., Cengiz, M., Ozer, M. S., & Sarikurkcü, C. (2019). *Calamintha incana* : Essential oil composition and biological activity. *Industrial Crops and Products*, 128, 162–166.
- [94] Dutra, T. V., Castro, J. C., Menezes, J. L., Ramos, T. R., do Prado, I. N., Machinski, M., ... Filho, B. A. de A. (2019). Bioactivity of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil against *Alicyclobacillus* spp. *Industrial Crops and Products*, 129, 345–349.
- [95] Lennert, E., & Bridge, C. (2018). Analysis and classification of smokeless powders by GC-MS and DART-TOFMS. *Forensic Science International*. S0379-0738(18)30724-2
- [96] Agarwal, P., Goyal, A. (2017). A review on analyzers for mass spectrometry, *Int. J. Pharma Bio Sci.* 8 (4).

- [97] Desjobert, J.M., Bianchini, A., Tommy, P., Costa, J., Bernardini, A.F., (1997), Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse, *Analysis* 25 (6) : 13- 16.
- [98] Bruneton, J. (1999). Pharmacognose. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition technique et documentation Lavoisier.
- [99] Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007). Le stress oxydant, *Rev Med Liege*, 62, 10 : 628-638.
- [100] Song, H., Liu, J. (2018). GC-O-MS technique and its applications in food flavor analysis. *Food Research International*, 114, 187–198.
- [101] Graham, B. (2002). Water-soluble organic compounds in biomass burning aerosols over Amazonia1. Characterization by NMR and GC-MS. *Journal of Geophysical Research*, 107(D20).
- [102] Fors, Y., Isaksson, S. (2019). GCMS analyses of direct methylated lipids in binders used in 18th–19th century folk painted interiors in Hälsingland, Sweden. *Journal of Archaeological Science : Reports*, 23, 127–136.
- [103] Sargent (Ed.), M. (2013). Guide to achieving reliable quantitative LC-MS measurements, RSC Analytical Methods Committee. ISBN 978-0-948926-27-3.
- [104] Büyükköroğlu, G., Dora, D. D., Özdemir, F., & Hızıl, C. (2018). Techniques for Protein Analysis. *Omics Technologies and Bio-Engineering*, 317–351.
- [105] Rožman, M., Petrović, M. (2016). Bquant – Novel script for batch quantification of LCMS data. *MethodsX*, 3, 520–524.
- [106] Lim, S., Choi, A.H., Kwon, M., Joung, E.J., Shin, T., Gil Lee, S., ... Kim, H.R. (2018). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components. *Food Chemistry*.
- [107] Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, J.O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4, (5).
- [108] Tiwari, A. K. (2004). Antioxydants : New-generation therapeutic base for polygenic disorders. *Curr. Sci.*, 86(8), 1092-1102.
- [109] Brainina, K., Stozhko, N., Bukharinova, M., Khamzina, E., Vidrevich, M. (2018). Potentiometric method of plant microsuspensions antioxidant activity determination. *Food Chemistry*. S0308-8146(18)32045-4.

- [110] Kandia, S., Linton Charles, A. (2019). Statistical comparative study between the conventional DPPH% spectrophotometric and dropping DPPH% analytical method without spectrophotometer : Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. *Food Chemistry* 287, 338–345
- [111] Musa, K. H., Abdullah, A., & Al-Haiqi, A. (2016). Determination of DPPH free radical scavenging activity : Application of artificial neural networks. *Food Chemistry*, 194, 705–711.
- [112] Nithya, P., Madhavi, C. (2017). Antioxidant activity of 3-arylidene-4-piperidones in the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl scavenging assay. *Journal of Taibah University for Science*, 11(1), 40–45.
- [113] Hamlaoui, I., Bencheraiet, R., Bensegueni, R., Bencharif, M. (2018). Experimental and theoretical study on DPPH radical scavenging mechanism of some chalcone quinoline derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1156, 385–389.
- [114] PAREJO, I., VILADOMAT, F., BASTIDA, J., ROSAS-ROMERO, A., FLERLAGE, N., BURILLO, J., CODINA, C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem.* 50 : 6882–90.
- [115] Shi, H., Noguchi, N., Niki, E. (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *MethodsEnzymol* 2001 ;335 :157-66.
- [116] Karadirek, Ş., Kanmaz, N., Balta, Z., Demirçivi, P., Üzer, A., Hızal, J., Apak, R. (2016). Determination of total antioxidant capacity of humic acids using CUPRAC, Folin–Ciocalteu, noble metal nanoparticle- and solid–liquid extraction-based methods. *Talanta*, 153, 120–129.
- [117] Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., Bekdeşer, B., Bener, M. (2014). The CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement for Beverages. *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*, 235–244.
- [118] Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R. (2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(4), 652–664.
- [119] Jones, A., Pravadali-Cekic, S., Dennis, G. R., Bashir, R., Mahon, P. J., & Shalliker, R. A. (2017). Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 967, 93–101.
- [120] Li, H.B., Wong, C.C., Cheng, K.W., Feng, C. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, 41 : 385-390.

- [121] Amarowicz, R., Estrella, I., Hernandez, T., Robredo, S., Troszynska, A., Kosinska, A., Pegg, R. (2010). Free radicals-scavenging capacity: antioxidant activity and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*); Food Chemistry 121; Ed: ELSEVIER.705-711.
- [122] CHEM 334 Quantitative, Analysis Laboratory Spectrophotometric Determination of Iron.
- [123] Belcher, R. (1973). "Application of chelate Compounds in Analytical Chemistry" Pure and Applied Chemistry. Volume 34. Pages 13-27.
- [124] Sridhar, K., Charles, A. L. (2018). In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH• and ABTS• assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. Food Chemistry.
- [125] Jia, S.M., Liu, X.F., Kong, D.M., Shen, H.X. (2012). A simple, post-additional antioxidant capacity assay using adenosine triphosphate-stabilized 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline) -6-sulfonic acid (ABTS) radical cation in a G-quadruplex DNAzyme catalyzed ABTS-H₂O₂ system. Biosensors and Bioelectronics, 35(1), 407-412.
- [126] Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P.M., Rice-Evans, C.A., FEBS Letters. (1996). 384, 240- 242.
- [127] Miller, N.J., Rice-Evans, C. A., Davies, M.J., Gopinathan, V. et Milner, A., Clin. Sci., (1993). 84, 407-412.
- [128] Cano, A., Alcaraz, O., Acosta, M., & Arnao, M. B. (2002). On-line antioxidant activity determination : comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS•+assay. Redox Report, 7(2), 103-109.
- [129] Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., & Bitsch, R. (2002). Assessment of Antioxidant Activity by Using Different In Vitro Methods. Free Radical Research, 36(2), 177-187.
- [130] JIRI, S., MARKETA, R., OLGA, K., PETR, S., VOJTECH, J., LIBUSE, T., LADISLAV, H., MIROSLAVA, B., JOSEF, Z., IVO, P., RENE K. (2010). Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity : Advantages and Disadvantages. Molécules. (15) : 8618-8640.
- [131] PAREJO, I., VILADOMAT, F., BASTIDA, J., ROSAS-ROMERO, A., FLERLAGE, N., BURILLO, J., CODINA C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. J Agric Food Chem. 50 : 6882-90.

Chapitre II

Matériel et méthodes

II .1. Matériel végétal

➤ *Centaurea parviflora*

La récolte du matériel végétal (Parties aériennes de *Centaurea parviflora* Desf) a été effectuée dans les montagnes du Tiaret dans le nord-ouest de l'Algérie, en juin 2018.

L'identification taxonomique des matières végétales a été confirmée par le Dr MD Miara du département de biologie de l'Université de Tiaret, et un spécimen d'herbier a été archivé à l'Herbarium de l'Université de Tiaret.

➤ *Limonium thouini*

La plante a été récoltée au début du mois de mai 2018 durant la période de floraison, à Sétif dans l'est algérien.

La détermination botanique a été réalisée par Mr Hocine Laouer botaniste de l'université de Sétif.

➤ *Cedrus atlantica*

La plante a été récoltée au début du mois de juin 2018 a la région d'Arisse de la wilaya de Batna.

II .1.1. Macération et extraction

➤ *Centaurea parviflora*

Après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière du soleil, la plante est broyée entièrement. La matière végétale obtenue (50 g) est mise à macération (La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant, pour extraire les principaux actifs) dans un mélange hydroalcoolique 300 ml (Méthanol / eau ; 8 / 2 ; V / V).

Cette macération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant, cet dernière dure 24 heures à chaque fois. Après évaporation à sec à une température de 45°C maximum, l'extrait méthanolique est dilué avec de l'eau distillée. La solution est filtrée sur du coton à l'aide d'un entonnoir. Après une nuit de repos.

Après filtration, des extractions successives de type liquide-liquide sont effectuées sur la phase aqueuse, en utilisant des solvants de polarité croissante, commençant par l'acétate d'éthyle, puis Le n-butanol. Chaque extraction est répétée trois fois. Le protocole d'extraction est résumé dans la Figure 01.

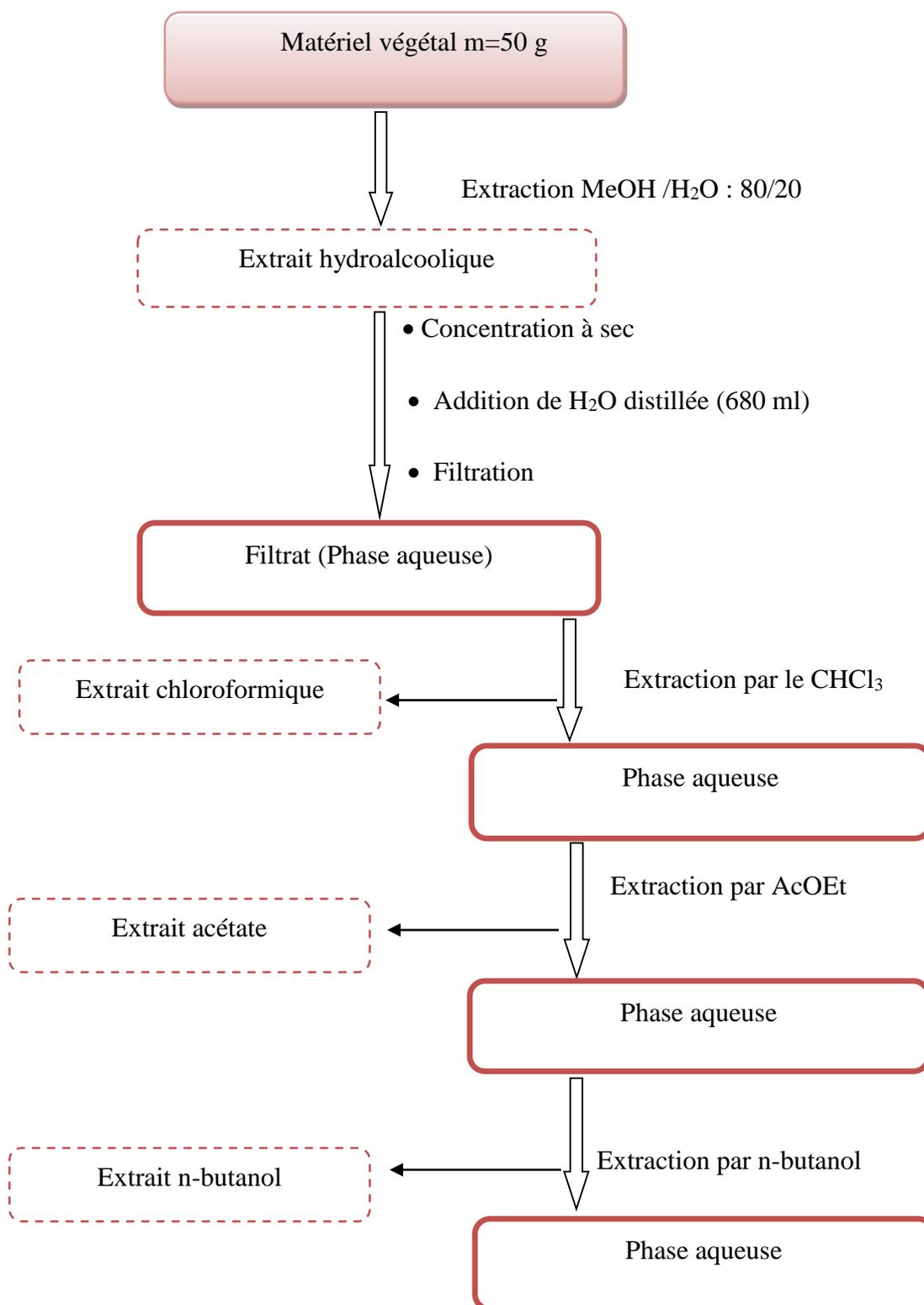


Figure 01. Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes de *Centaurea parviflora*.

➤ *Limonium thouini*

Les parties aériennes (300 gr) de la plante ont été coupées en petits morceaux et macérées dans une solution hydro alcoolique (Méthanol-Eau) à chaud avec la portion (7 :3) pendant 72 heures. Après filtration, les fractions obtenues sont combinées et évaporées à sec sous pression réduite, à une température inférieure à 45°C (extrait méthanolique).

L'extrait méthanolique est repris par l'eau bouillante une décantation d'une durée d'une nuit a été effectuée pour éliminer la chlorophylle. Le filtrat obtenu a été extrait trois fois successives par l'acétate d'éthyle. Ceci permet l'obtention de l'extrait acétate d'éthyle. Le protocole d'extraction est résumé dans la Figure 02.

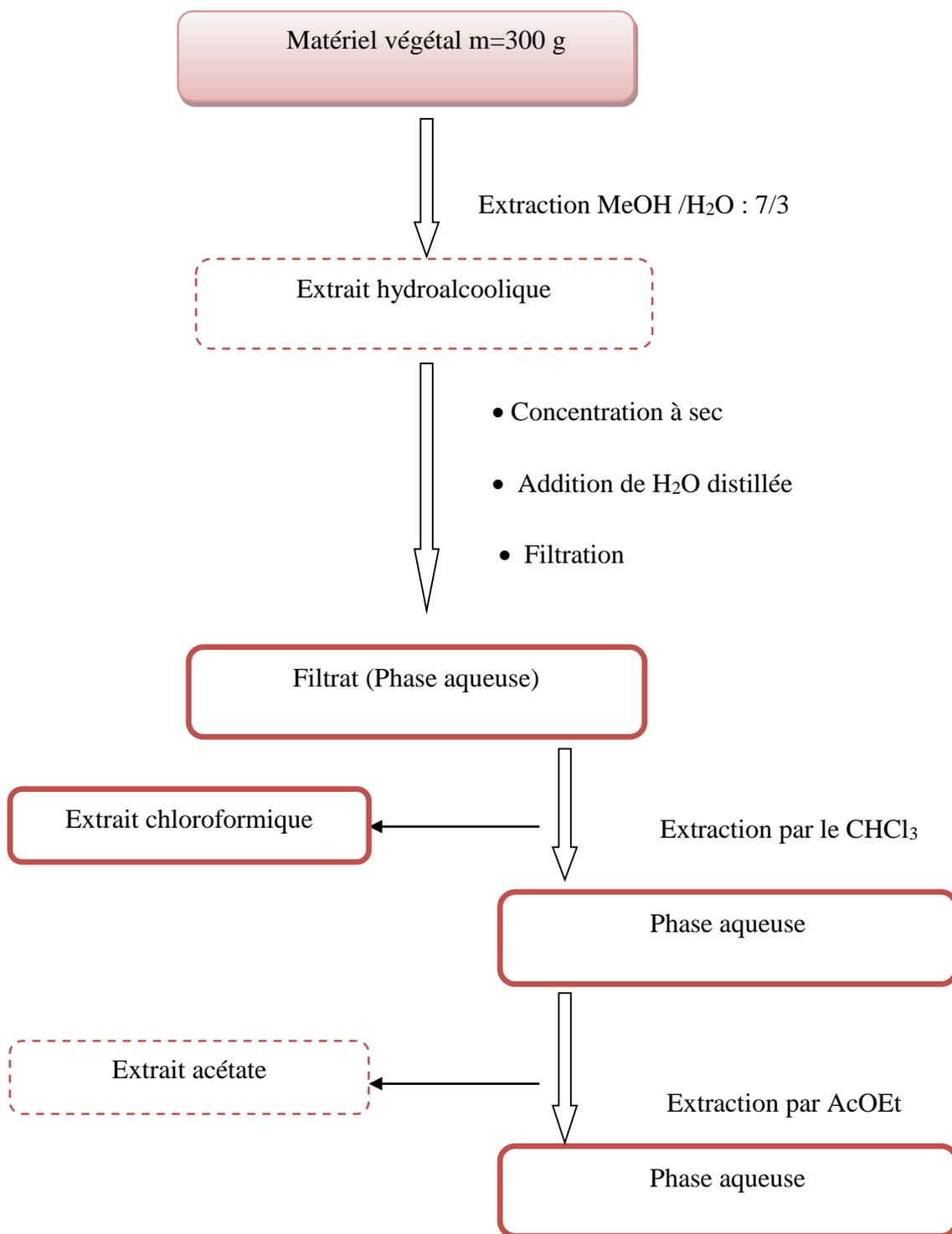


Figure 02. Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes de *limonium thouini*.

➤ *Cedrus atlantica*

Un montage d'hydrodistillation de type Clevenger a été utilisé pour extraire l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*, L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité, elle reste sans doute la plus rentable.

En effet, une quantité de la poudre végétale (100g) a été introduite avec de l'eau distillée dans un ballon, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Portée au chauffage, Les vapeurs sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolysate par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysate.

II .2. Analyse CPG/SM de l'huile essentielle

L'analyse par CPG a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse GC 17A Agilent technologies équipé d'une colonne HP 5MS à liaison brute (30 m * 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm).

La température du four a été programmée comme isotherme à 60 ° C pendant 8 minutes, de l'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 0,5 ml / minute. La GC / MS a été réalisée à l'aide d'un détecteur HP Agilent technologies 6800 plus à sélection de masse. Les conditions de fonctionnement sont les mêmes que pour la GC analytique. Les paramètres de fonctionnement de la SM sont les suivants : potentiel d'ionisation, 70 ev ; courant d'ionisation, 2 A ; température de la source d'ions, 280 ° C ; résolution, temps 1000.can, 5s ; plage de masse de balayage, 34-450 u ; rapport de rotation, 50 : 1 ; volume injecté, 1,0 µL.

L'identification des composés de l'huile essentielle est basée sur leurs temps de rétention par rapport aux pics spectraux correspondants, disponibles sur les banques de spectres de masse NIST et Wiley.

II .3. Analyse CPL/SM de l'extrait butanolique

L'analyse HPLC a été effectuée en utilisant l'instrument Agilent série 6420 triple quadrupole à double MS avec un système de chromatographie liquide à haute performance de dernière génération, il s'agit de la HPLC 1260 infinity LC, équipé d'un dégazeur à vide, injecteur

automatique Infinity 1260, double pompe à double pistons en série et détecteur UV à baratte des diodes (DAD) ultra-sensible. La colonne utilisée pour la séparation chromatographique est une Zorbax Eclipse Plus C18 (1,8 μm , 150 mm x 4,6 mm) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Dans la séparation des composés de la fraction butanolique de *Centaurea parviflora*, le taux du flux utilisé a été de 0,80 mL. Min-1 et l'analyse a été effectuée à température ambiante.

II .4. Activités biologiques

II .4.1. Détermination du total en polyphénols et flavonoïdes et flavanols

II .4.1.1. Total phénolique

Selon la méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et *al.*, (2010) [1]. Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique est réduit lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde de tungstène et molybdène.

Un volume de 20 μl d'extrait (Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol) de plante est ajouté à 100 μl de FCR dilué (1 ml de solution FCR concentré est diluée dans 9 ml d'eau distillée) et 75 μl de carbonate de sodium (une quantité de 7.5 g de Na_2CO_3 est dissouts dans 100 ml d'eau distillée). Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 2 heures.

La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en polyphénols totaux et possède une absorbance maximum aux environ de 750-765 nm.

Pour la Gamme d'étalonnage de l'acide gallique (Une quantité de 1 mg d'acide gallique est dissoute dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution mère), les dilutions ont été préparées comme suit :

25 $\mu\text{g/ml}$ \longrightarrow 25 μl de SM +175 μl de méthanol.

50 $\mu\text{g/ml}$ \longrightarrow 50 μl de SM +150 μl de méthanol.

75 $\mu\text{g/ml}$ \longrightarrow 75 μl de SM +125 μl de méthanol.

100 $\mu\text{g/ml}$ \longrightarrow 100 μl de SM + 100 μl de méthanol.

125 µg/ml → 125µl de SM + 75 µl méthanol.

150 µg/ml → 150µl de SM + 50 µl de méthanol.

175µg/ml → 175 µl de SM + 25 µl de méthanol.

200 µg/ml → 200 µl de la SM.

II .4.1.2. Total flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux est déterminé selon la méthode de Topçu et *al.*, (2007) [2] utilisée avec quelques modifications.

Dans une microplaque à 96 puits, 50 µl d'extrait (Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol) sont ajoutés à un mélange de 130 µl méthanol, 10 µl de la solution 1 (9.8 g de potassium acétate (CH_3COOK) sont dissouts dans 100 ml l'eau distillée) et 10 µl de solution 2 (10 g de nitrate d'aluminium sont dissous dans 100 ml d'eau distillée). Le tout a été incubé durant 40 min. l'absorbance a été mesurée à 415 nm.

Pour la gamme d'étalon de la Quercétine (Une quantité de 1 mg de la Quercétine est dissoute dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution mère). Les dilutions ont été préparées comme suit :

25 µg/ml → 25 µl de SM +175 µl de méthanol.

50 µg/ml → 50 µl de SM +150 µl de méthanol.

75 µg/ml → 75µl de SM +125 µl de méthanol.

100 µg/ml → 100µl de SM + 100 µl de méthanol.

125 µg/ml → 125µl de SM + 75 µl de méthanol.

150 µg/ml → 150µl de SM + 50 µl de méthanol.

175µg/ml → 175 µl de SM + 25 µl de méthanol.

200 µg/ml → 200 µl de SM.

II .4.1.3. Total flavonols

La teneur en flavonols des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) [3].

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de Méthanol, dans une microplaque à 96 puits 50 μl d'extrait de plante et 50 μl de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (200 milligramme de AlCl_3 sont dissouts dans 10 ml d'eau distillé), 150 μl d'acétate de sodium (500 milligramme d'acétate de sodium sont dissouts dans 10 ml d'eau distillé).

Après incubation à l'obscurité pendant deux heures et demi, l'absorbance a été mesurée par un lecteur de microplaques à 440 nm.

Pour la gamme d'étalon de la Quercetine, On prend 1 mg de la Quercetin et on le dissolvé dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution SM : 0,2mg/ml. Les dilutions ont été préparées comme la suite :

Quercetin (25) \longrightarrow 25 μl SM + 175 μl MeOH

Quercetin (50) \longrightarrow 50 μl SM + 150 μl MeOH

Quercetin (75) \longrightarrow 75 μl SM + 125 μ MeOH

Quercetin (100) \longrightarrow 100 μl SM + 100 μl MeOH

Quercetin (125) \longrightarrow 125 μl SM + 75 μl MeOH

Quercetin (150) \longrightarrow 150 μl SM + 50 μl MeOH

Quercétine (175) \longrightarrow 175 μl SM + 25 μl MeOH

Quercetin (200) \longrightarrow 200 μl SM

II .4.2. Activité anti-oxydante

L'étude de l'activité antioxydante des deux plantes *Centaurea parviflora* et *Limonium thouini* a été testée selon sept méthodes : piégeage du radical libre DPPH, piégeage du radical Galvinoxyl, méthode CUPRAC, pouvoir réducteur (FRAP), réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline, chélation des ions métalliques, piégeage de l'ABTS et piégeage du radical superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$).

II .4.2.1. Activité antiradicalaire au DPPH

L'activité de piégeage des radicaux libres a été menée selon la méthode de Blois (1958) [4]. Brièvement, 40 μL /1 ml MeOH de l'échantillon à différentes concentrations, ont été ajoutés à 160 μL de DPPH fraîchement préparée à une concentration de (0,1 mM). L'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm, après une incubation de 30 min à température ambiante et à l'obscurité.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

II .4.2.2. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl

L'activité du piégeage du radical est déterminée par la méthode de Shi H et al (2001) [5].

Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 160 μl d'une solution de Galvinoxyl préparée à une concentration de 0.1 mM a été ajoutée à 40 μL d'échantillon préparé dans du méthanol à différentes concentrations. Après 120 minutes, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 428 nm.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Galvinoxyl (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

II .4.2.3. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)

Cette activité est déterminée selon la méthode d'Apak et al. (2004) [6]. Dans une plaque à 96 puits, 40 μL de l'échantillon ont été ajoutés à 60 μL de tampon acétate d'ammonium (1M, PH=7), 50 μL de Néocuproïne (7,5 mM) et 50 μL de CuCl_2 (10 mM). Après une heure de temps, l'absorbance a été enregistrée à 450 nm, par un lecteur de microplaque. Les résultats de l'activité antioxydante ont été calculés à titre de $A_{0.5}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

II .4.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Basée sur la réaction chimique de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en Fe^{2+} , le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits a été déterminé selon la méthode décrite par Aicha Bouratoua en 2017 [7]. Brièvement, 10 μl de l'extrait à différentes concentrations ont été mélangé avec 40 μl d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 50 μl d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé à l'étuve à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 50 μL de l'acide trichloroacétique (TCA) à 10%, 40 μL d'eau distillée et 10 μL d'une solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl_3 à 0,1% sont additionnés. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

II .4.2.5. Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline

L'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline des extraits a été mesurée selon la méthode décrite par Szydłowska-Czerniaka (2008) [8]. Des extraits de différentes concentrations, de volume de 10 μl ont été ajoutés à une solution de : 50 μl FeCl_3 (0.2%), 30 μl Phenanthroline (0.5%) et 110 μl de méthanol. Le mélange a été agité vigoureusement et incubé pendant 20 min à l'étuve à température de 30°C. L'absorbance a été déterminée à 510 nm. Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0.5}$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

II .4.2.6. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{*+}

Ce test est déterminé selon la méthode de Re (1999) [9], avec une légère modification. Le radical ABTS^{*+} est produit par l'oxydation de l'ABTS (7 mM), par le persulfate de potassium (2,4mM). Le mélange a été conservé pendant 16 heures à l'obscurité et à température ambiante. Le mélange a été dilué avec l'eau distillé afin de parvenir à une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. 160 μL de cette solution d' ABTS^{*+} ont été ajoutée à 40 μL de différentes concentrations de l'extrait étudié, ainsi que les standards BHA et BHT.

Le blanc est préparé en parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'extrait par le méthanol. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 734 nm.

Les différents pourcentages d'inhibition ont été calculés selon la formule suivante :

$$\text{ABTS}(\%) = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

II .4.2.7. Activité du piégeage du radical superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

L'activité a été déterminée selon la méthode de K. Elizabeth et M.N.A. Rao [10]. Dans une plaque à 96 puits de volume 200 μl pour chaque puits, on introduit 40 μl de la solution d'échantillon à différentes concentrations (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 et 200 $\mu\text{g/ml}$), 130 μl de DMSO alcalin (20 mg de NaOH dans 100 ml DMSO), et 30 μl de NBT (10 mgNBT dans 10 ml d'eau distillé). Les absorbances sont mesurées instantanément à température ambiante à 560 nm (les résultats ont été exprimés comme moyenne de trois mesures séparées \pm écart type). Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

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

II .5. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI_{50} (Concentration d'inhibition à 50%) et de $A_{0,5}$ (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir des deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)] pour la CI_{50} et [Absorbance= f (concentrations)] pour la $A_{0.50}$.

Références

- [1] Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A.M., V. Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43 :992– 999.
- [2] Topçu, G., Ay, A., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103 : 816–822
- [3] A. Kumaran., JoelKarunakaran, R. (2007). In vitro antioxidantactivities of methanolextracts of five *Phyllanthus* speciesfromIndia, *LWT* 40 : 344–352
- [4] Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181) : 1119-1200.
- [5] Shi, H., Noguchi, N., Niki, E. (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *MethodsEnzymol* 2001 ;335 :157-66.
- [6] Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine : CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7970–7981.
- [7] Bouratoua, A., Khalfallah, A., Bensouici, C., Kabouche, Z., Alabdul Magid, A., Harakat, D., ... Kabouche, A. (2017). Chemical composition and antioxidant activity of aerial parts of *Ferula longipes* Coss. ex Bonnier and Maury. *Natural Product Research*, 32(16), 1873–1880.
- [8] SZYDŁOWSKACZERNIAK, A., DIANOCZKI, C., RECSEG, K., KARLOVITS, G., & SZLYK, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899–905.
- [9] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorizationassay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.
- [10] Decker, E. A., Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 674–677.

Chapitre III

Résultats et discussion

III .1.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*

Après l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation des parties aériennes de *Cedrus atlantica*, L'huile essentielle (HE) a été analysée par un chromatographe en phase gazeuse doté d'un injecteur automatique de type Agilent HP6800. Le chromatogramme est représenté sur la figure 01.

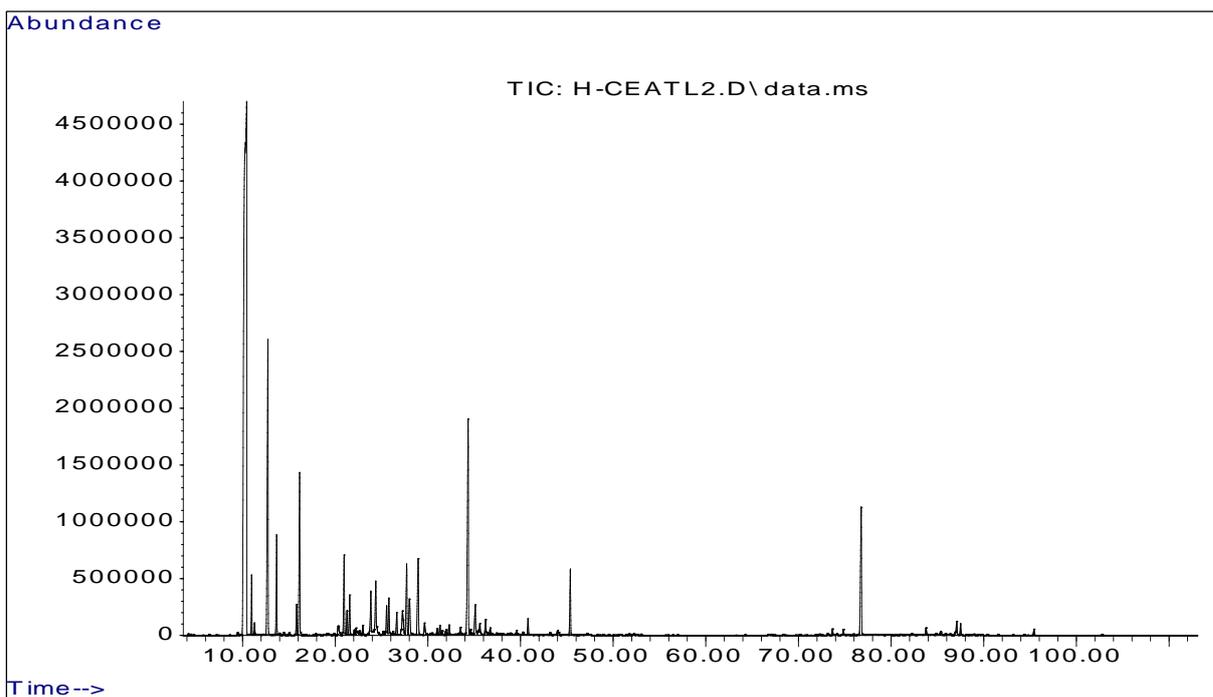


Figure 01. Chromatogramme de l'analyse CPG/SM de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*.

III .1.2. Fragmentations proposées pour les neuf molécules majoritaires

L'analyse des résultats par le logiciel MSD ChemStation du GC et GCMS Systems de Agilent MSD Productivity du Chromatogramme a été effectué par comparaison avec les deux banques de données NIST02.L et WILEY 7N. 1. Ceci nous a permis d'identifier (39) composés.

III .1.3.1. Identification du produit majoritaire (1)

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 10.226 mn avec $m/z = 136$ et les fragments : 121 (17.7 %), 105 (13.9%), 93 (100 %), 77 (33.48%), 67 (8.4 %), a été identifié au α -Pinène (Figure 2 et Figure 3).

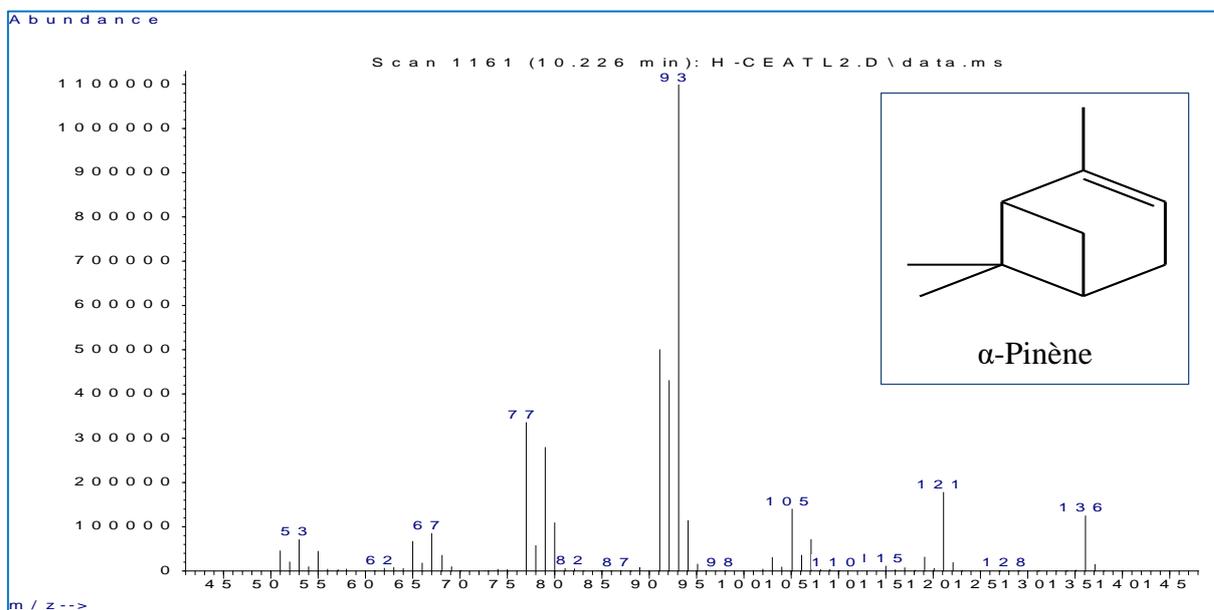


Figure 02. Spectre de masse de l' α -Pinène.

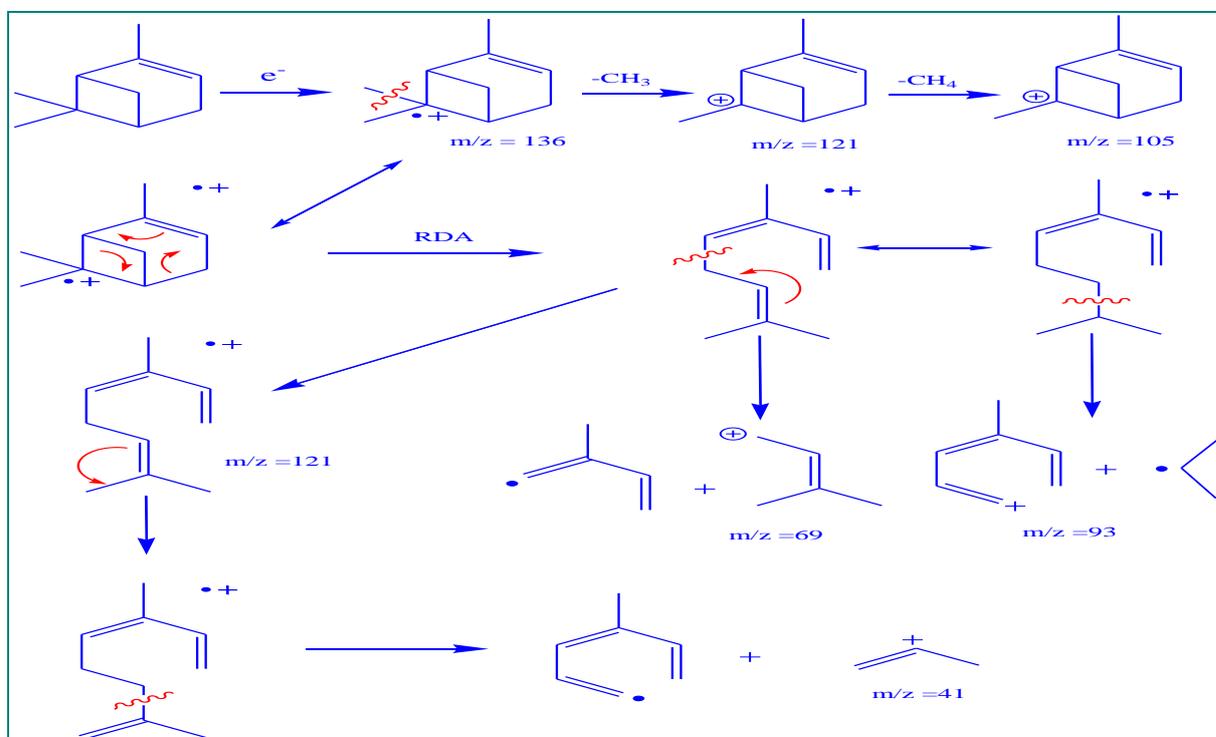


Figure 03. Fragmentations proposées pour l' α -Pinène.

III .1.3.2. Identification du produit majoritaire (2)

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 12.741 mn avec $m/z = 136$ et les fragments : 121 (10.78 %), 107 (4.12%), 93 (77.55 %), 79 (18.45 %), 69 (23.24 %), a été identifié au β -Pinene (Figure 4 et Figure 5).

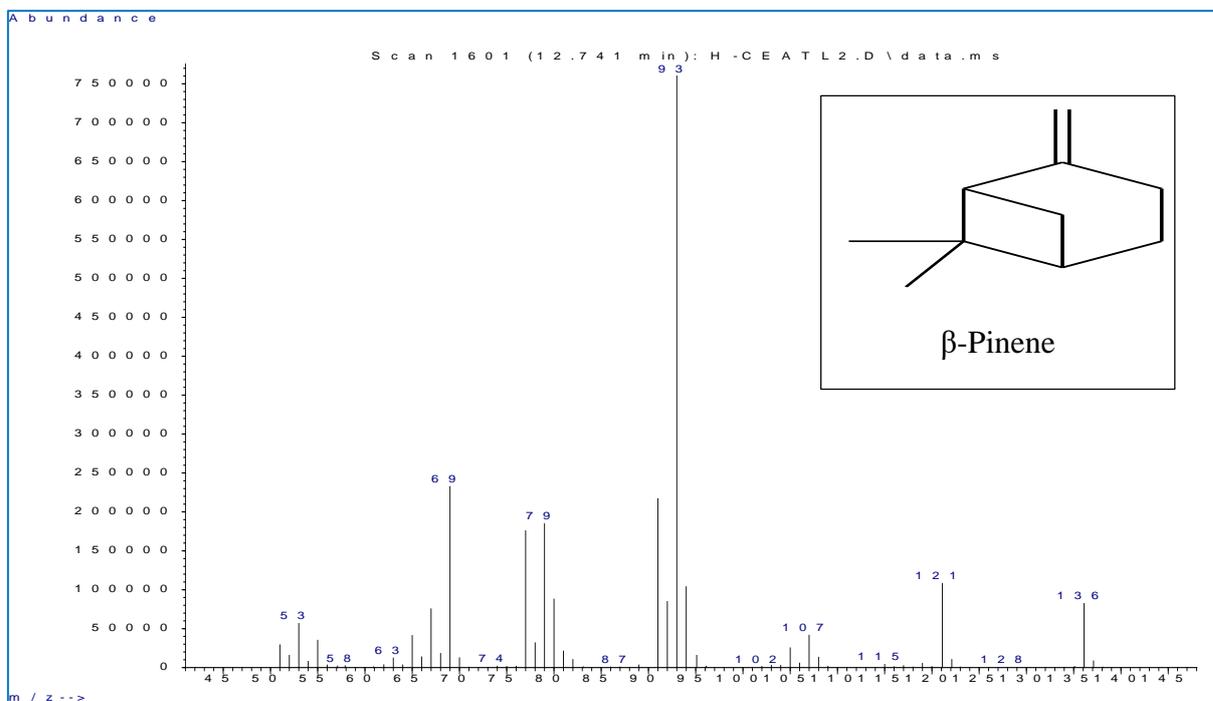


Figure 04. Spectre de masse de la β -Pinene.

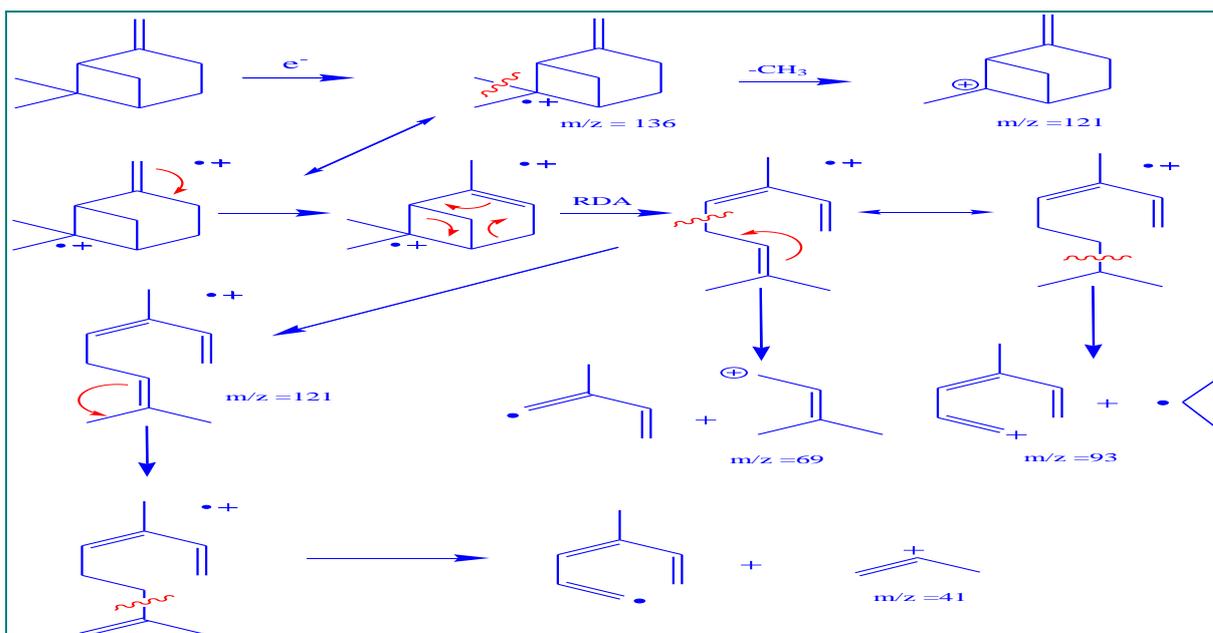


Figure 05. Fragmentations proposées pour la β -Pinene.

III .1.3.3. Identification du produit majoritaire (3)

Le pic qui apparait à un temps de rétention de 34.351 mn avec $m/z = 196$ et les fragments : 154 (4.14 %), 136 (15.28 %), 121 (16.67 %), 108 (6.86 %), 95 (38.24 %), a été identifié au Bornyl Acetate (Figure 6 et Figure 7).

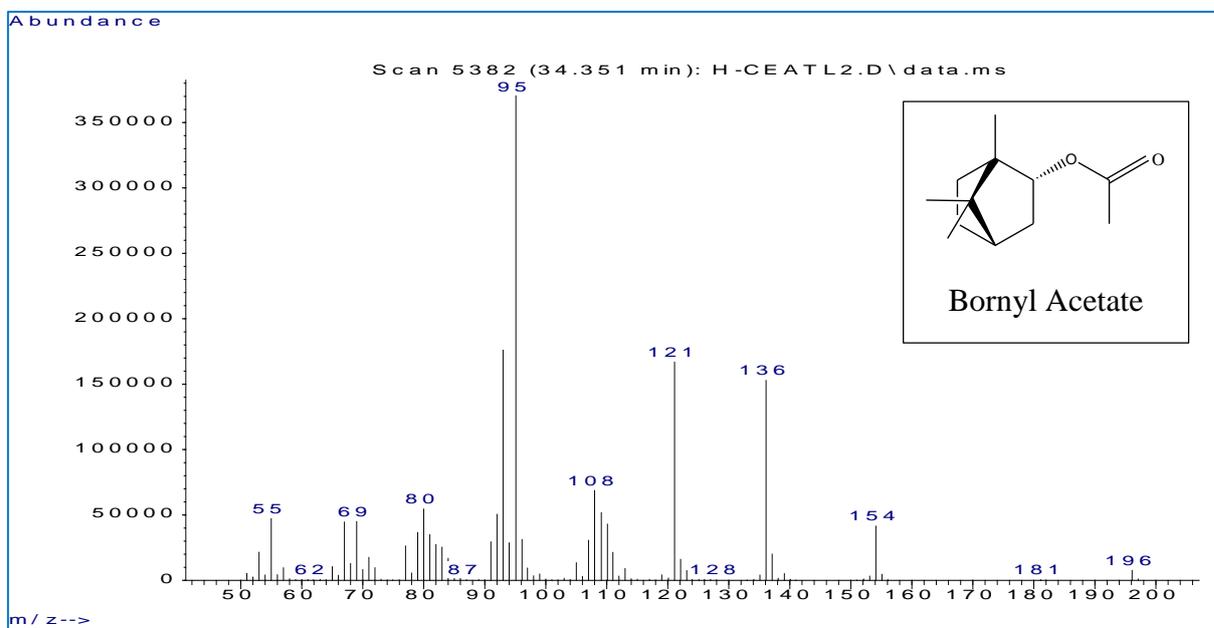


Figure 06. Spectre de masse du Bornyl Acetate.

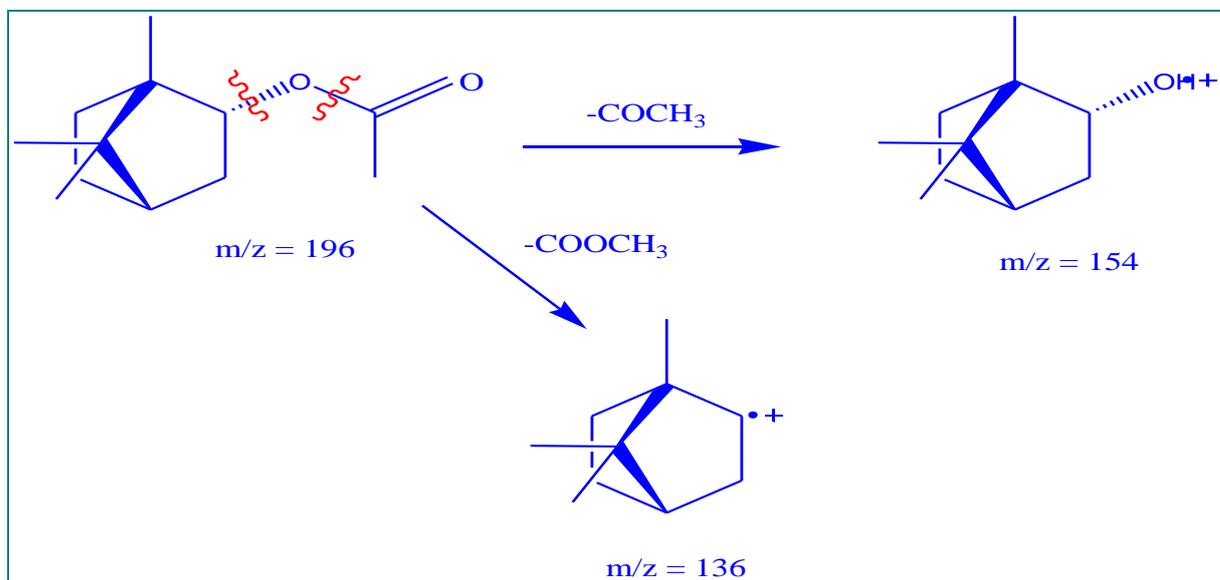


Figure 07. Fragmentations proposées pour le Bornyl Acetate.

III .1.3.4. Identification du produit majoritaire (4)

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 16.159 mn avec $m/z = 136$ et les fragments : 121 (5.67 %), 107 (5.14 %), 93 (21.54 %), 79 (8.81 %), 68 (20.89 %), 53 (4.73 %), a été identifié au D-Limonène (Figure 8 et Figure 9).

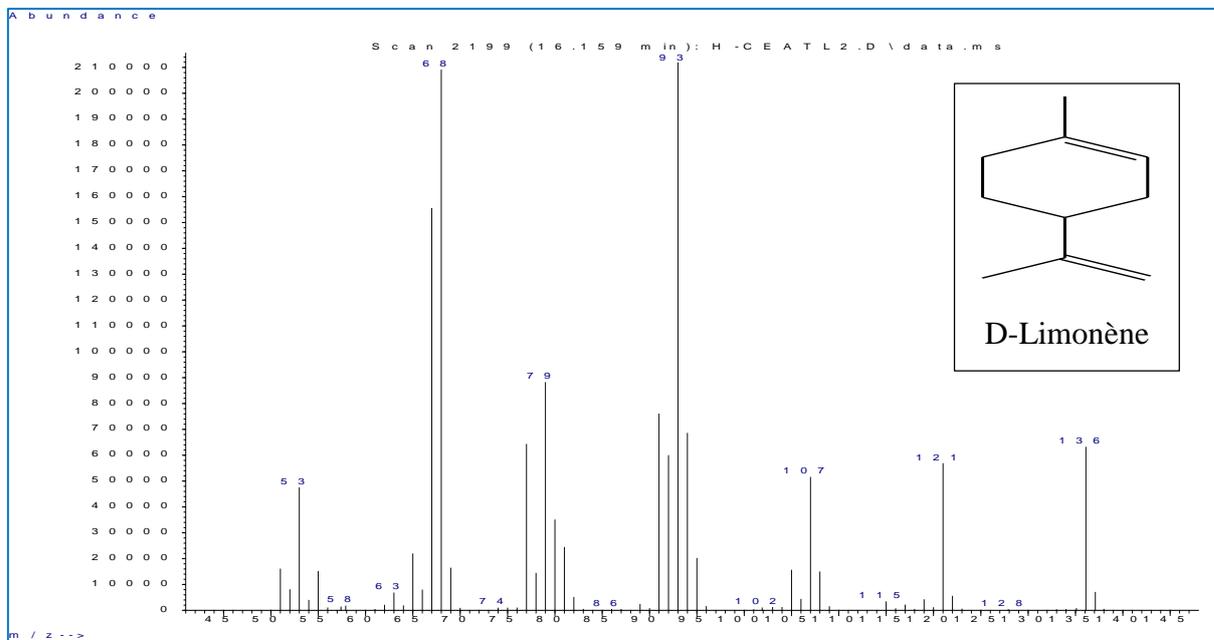


Figure 08. Spectre de masse de la D-Limonène.

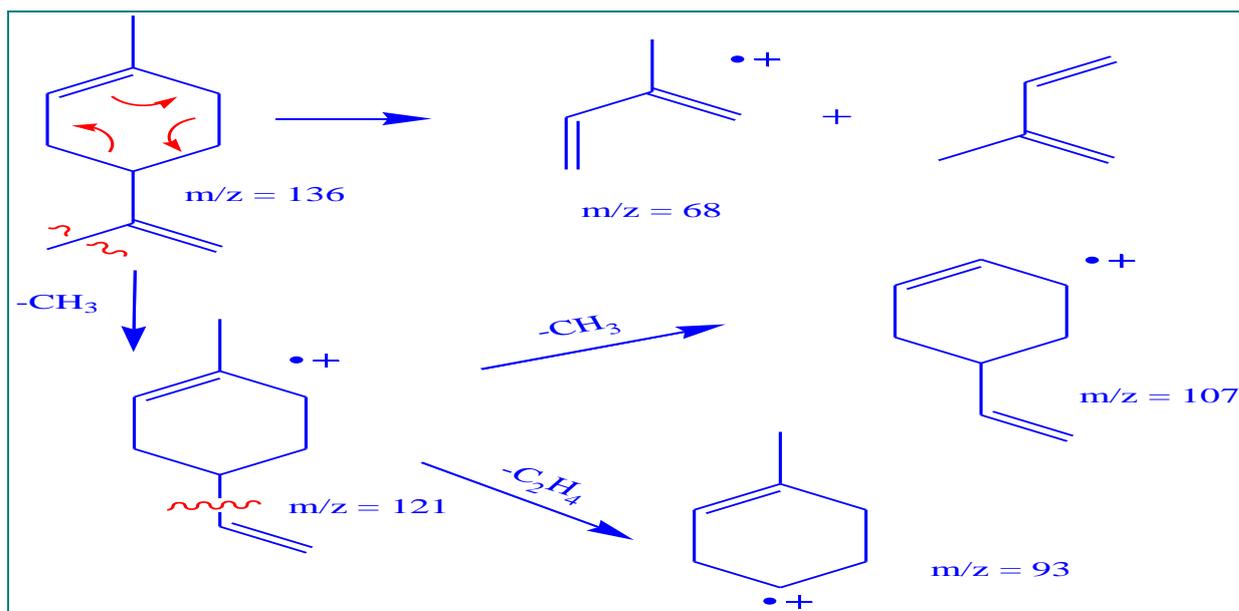


Figure 09. Fragmentations proposées pour la D-Limonène.

III .1.3.5. Identification du produit majoritaire (5)

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 76.771 mn avec $m/z = 290$ et les fragments : 272 (0.58 %), 257 (3.08 %), 244 (0.99 %), 137 (5,76%), 95 (5.00 %), a été identifié au Epimanool (Figure 10 et Figure 11).

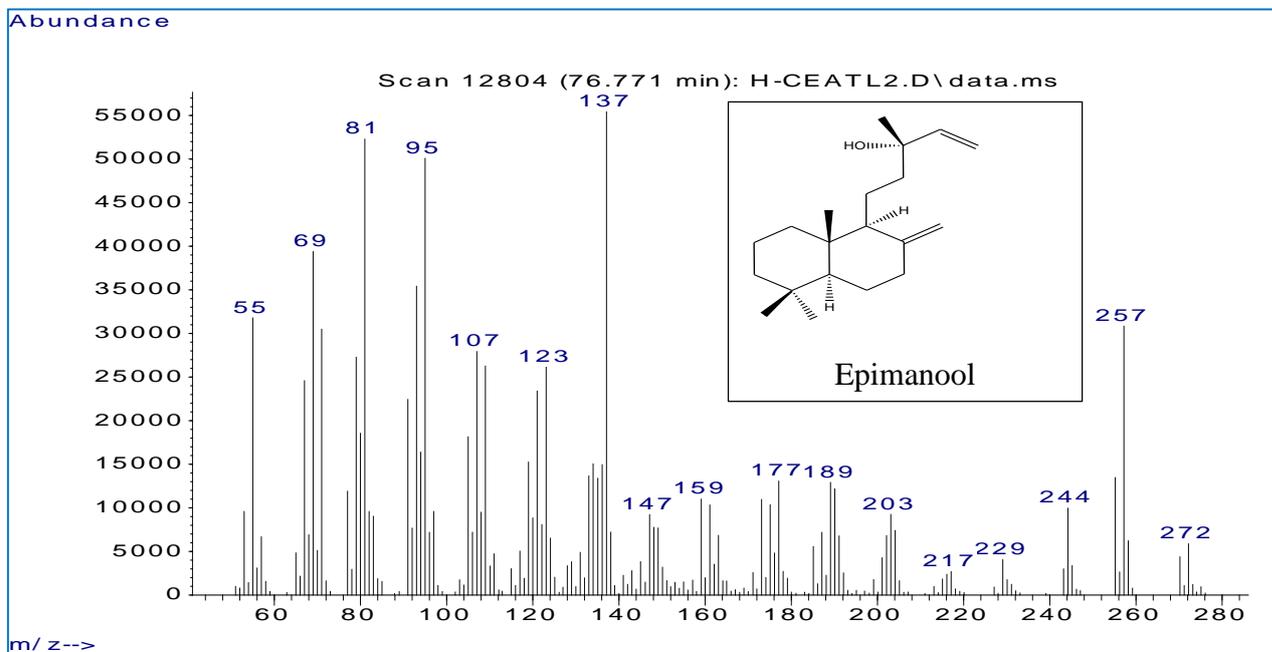


Figure 10. Spectre de masse de l'Epimanool.

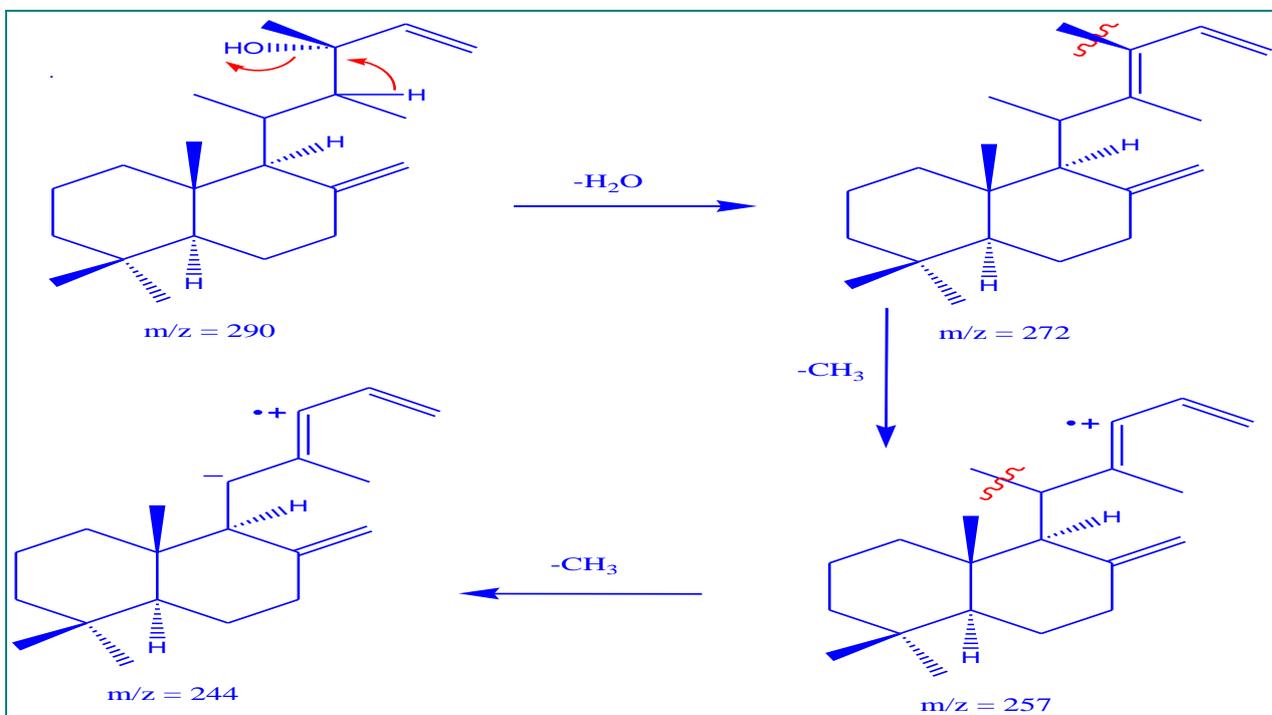


Figure 11. Fragmentations proposées pour l'Epimanool.

III .1.3.6. Identification du produit majoritaire (6)

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 28.950 mn avec $m/z = 150$ et les fragments : 135 (6.79%), 107 (8.83 %), 91 (5.97 %), 80 (3.94 %), 67 (1.64 %), a été identifié au D-Verbenone (Figure 12 et Figure 13).

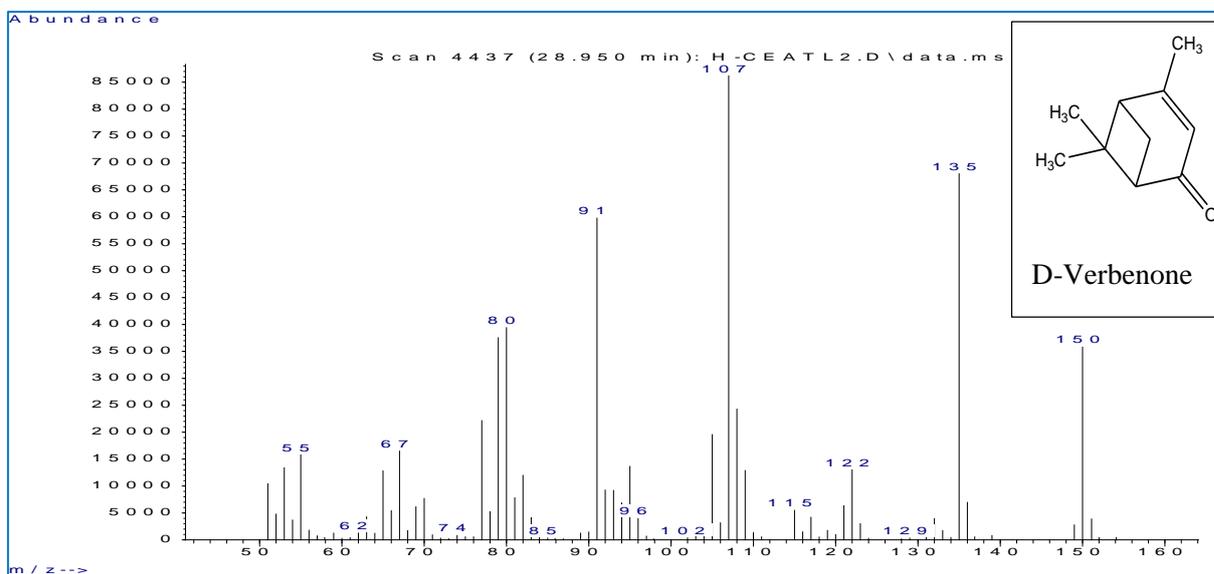


Figure 12. Spectre de masse du D-Verbenone.

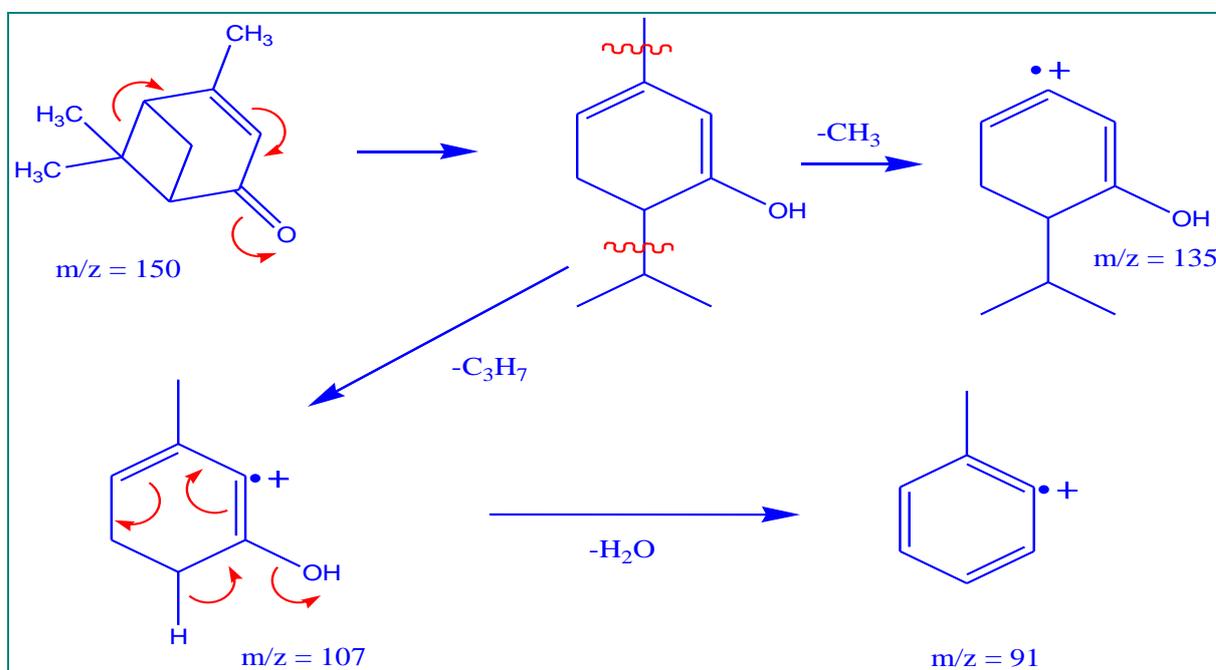


Figure 13. Fragmentations proposées pour le D-Verbenone.

III .1.3.7. Identification du produit majoritaire (7)

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 13.678 mn avec $m/z = 136$ et les fragments : 121 (1.29%), 93 (25.93%), 79 (4.35%), 69 (18,70%), 53 (2.97%), a été identifié au β -Myrcene (Figure 14 et Figure 15).

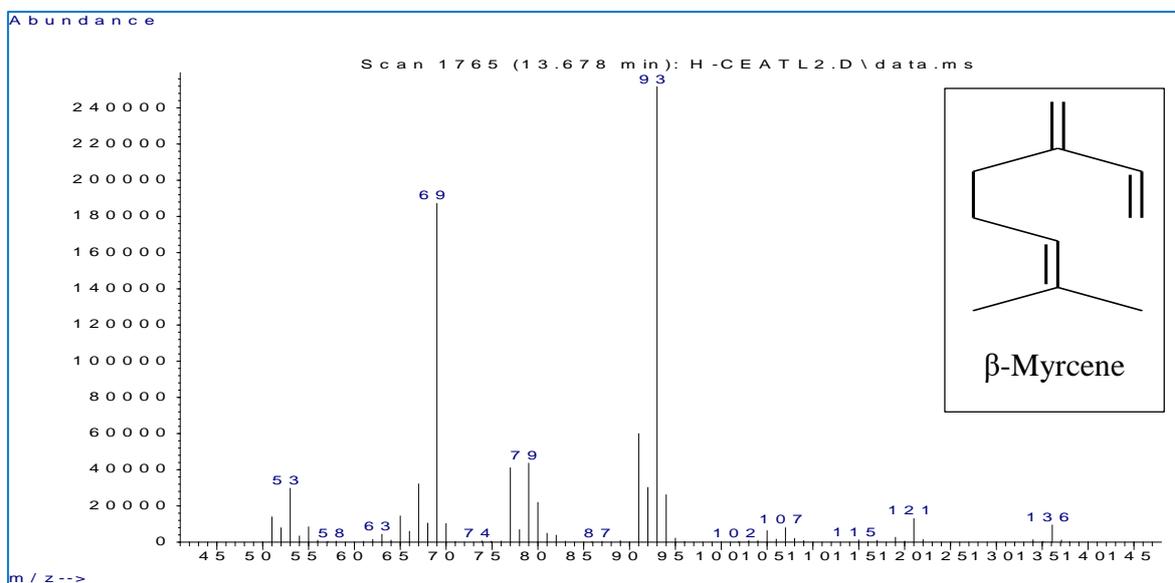


Figure 14. Spectre de masse du β -Myrcene.

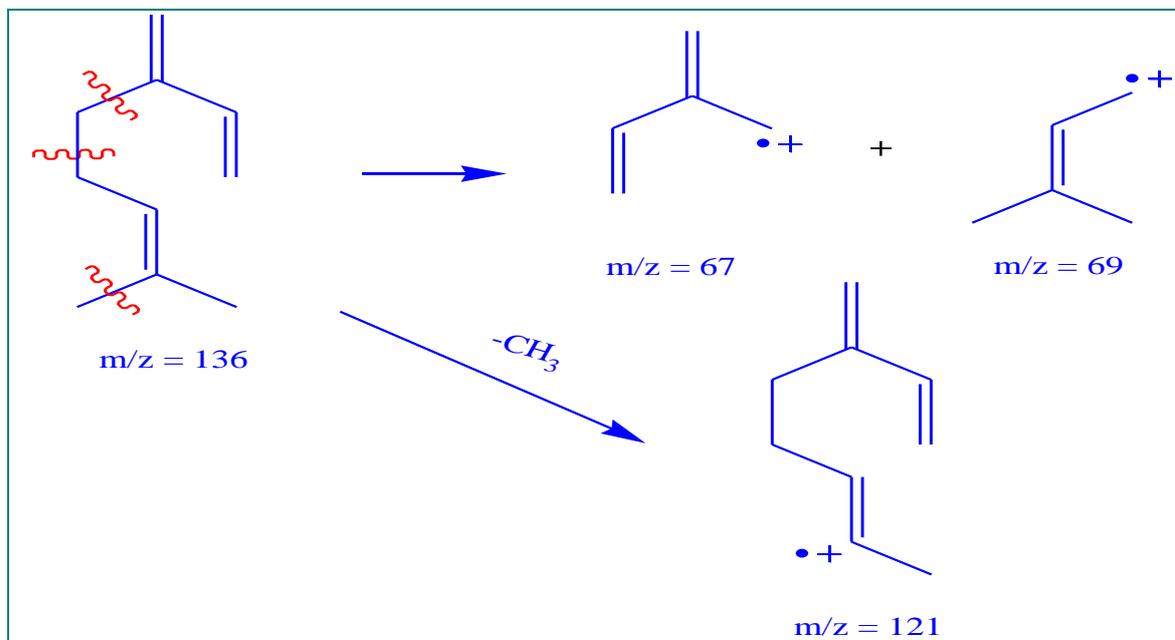


Figure 15. Fragmentations proposées pour le β -Myrcene.

III .1.3.8. Identification du produit majoritaire (8)

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 20.965 mn avec $m/z = 152$ et les fragments : 137 (4.16%), 119 (1.01 %), 109 (6.79 %), 83 (5.13 %), 67 (11.90 %), a été identifié au α -Pinene oxide (Figure 16 et Figure 17).

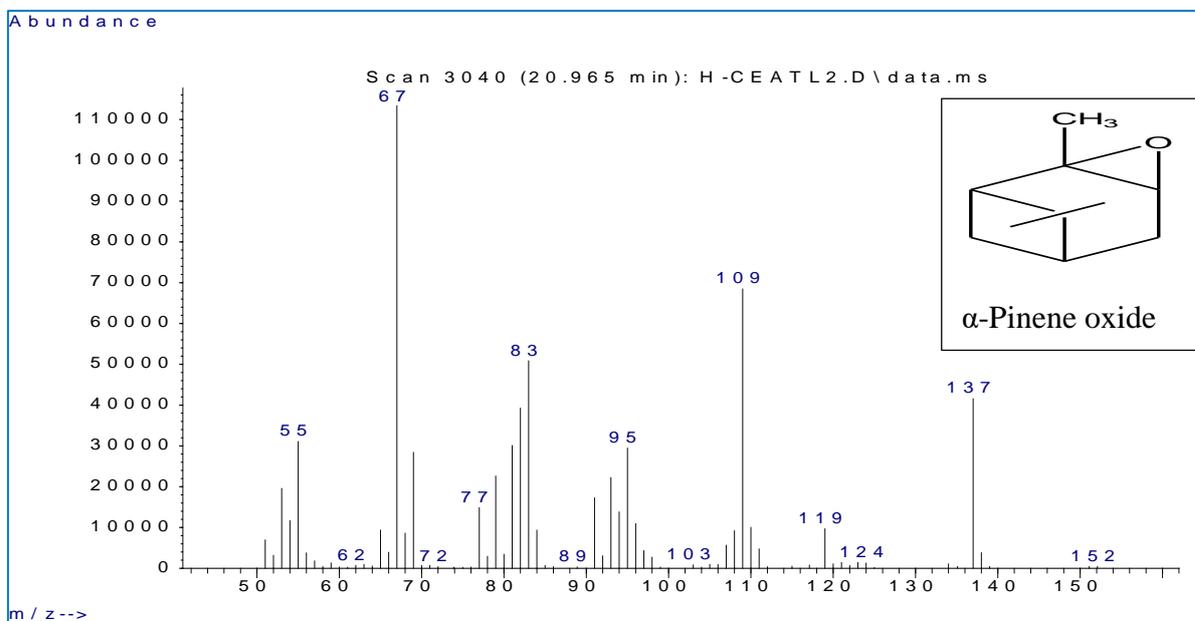


Figure 16. Spectre de masse de l' α -Pinene oxide.

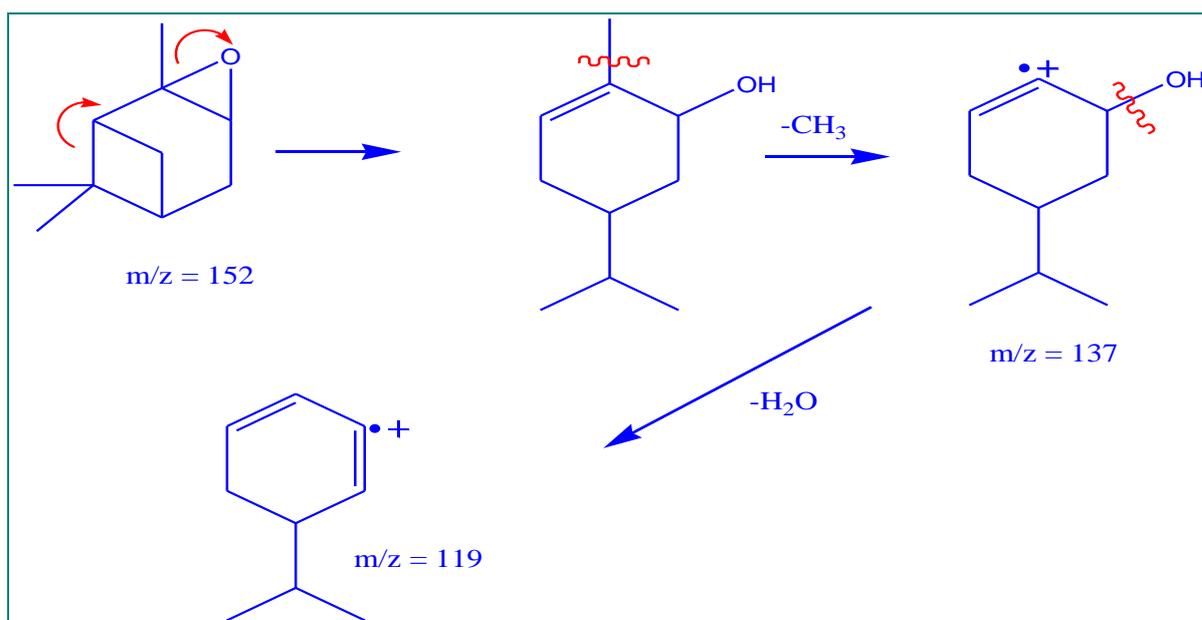


Figure 17. Fragmentations proposées pour l' α -Pinene oxide.

III .1.3.9. Identification du produit majoritaire (9)

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 27.721 mn avec $m/z = 152$ et les fragments : 136 (5.40 %), 121 (6.28%), 107 (0.78 %), 93 (7.16 %), 81 (4.58 %), 59 (10.44 %), a été identifié au α -Terpinéol (Figure 18 et Figure 19).

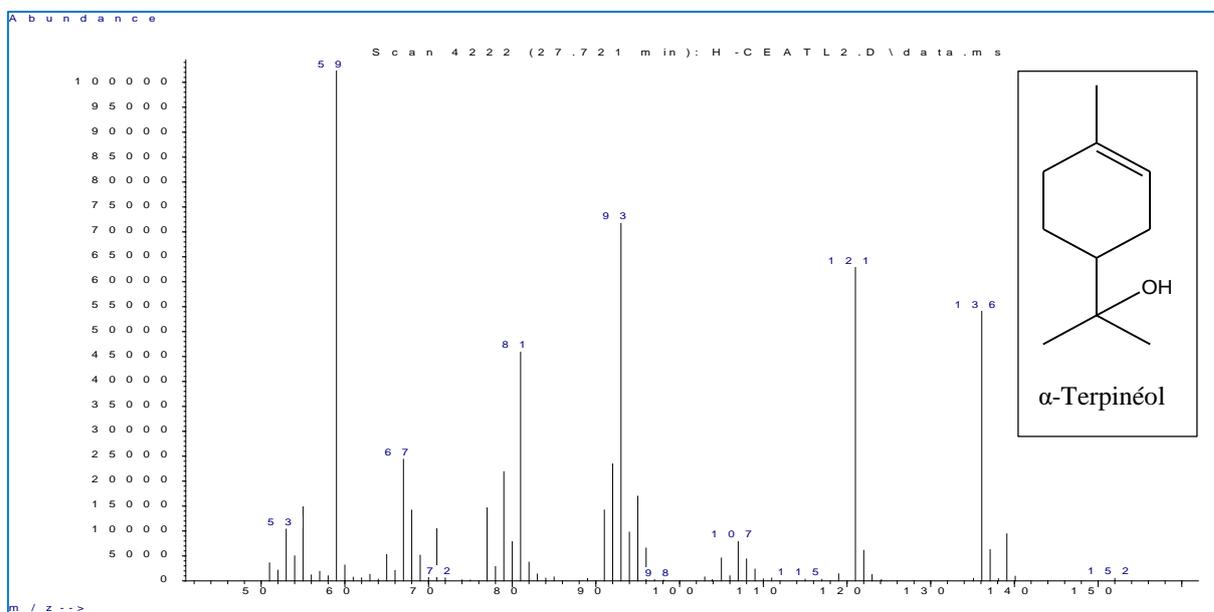


Figure 18. Spectre de masse de l' α -Terpinéol.

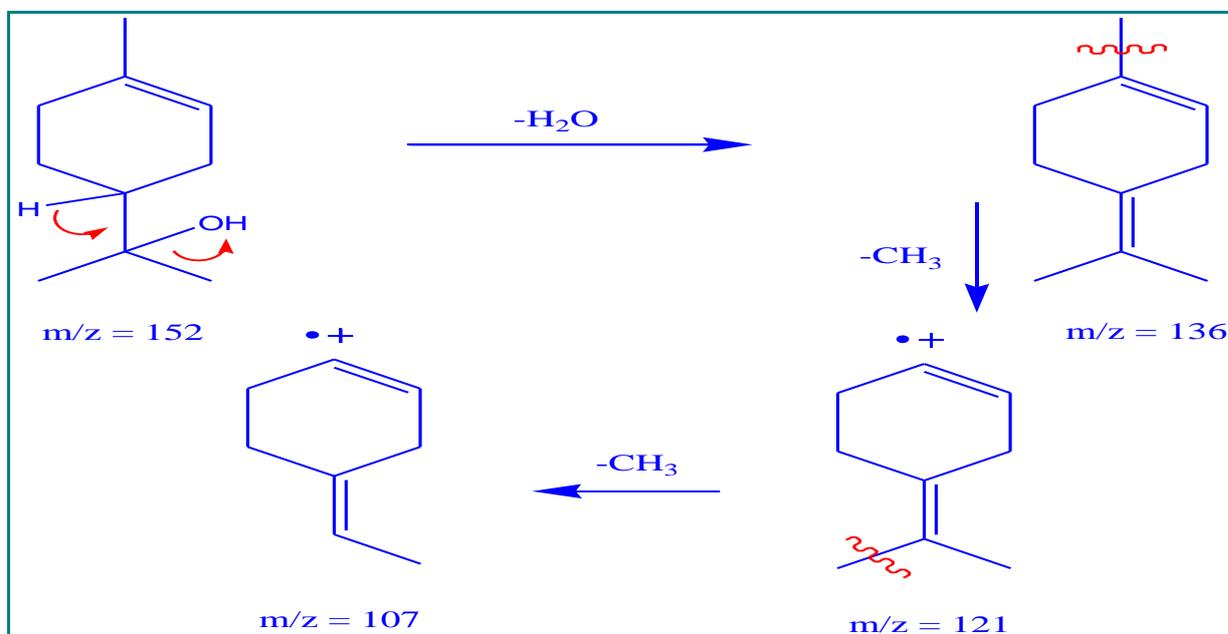


Figure 19. Fragmentations proposées pour l' α -Terpinéol.

Tableau 01. Composition chimique de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*.

Pic	Constituants	TR	MM	Formule	(%)
1	α -Pinène	10.317	136	C ₁₀ H ₁₆	46,613
2	Camphene	10.980	136	C ₁₀ H ₁₆	1.223
3	Verbenene	11.295	134	C ₁₀ H ₁₄	0.259
4	β -Pinène	12.741	136	C ₁₀ H ₁₆	9,698
5	β -Myrcene	13.678	136	C ₁₀ H ₁₆	2,282
6	O-Cymene	15.833	134	C ₁₀ H ₁₄	0.781
7	D-Limonène	16.159	136	C ₁₀ H ₁₆	4,351
8	3,4-Dimethyl-4-penten-1- yn-3-ol	20.314	110	C ₁₀ H ₁₀ O	0.466
9	α -Pinene oxide	20.965	152	C ₁₀ H ₁₆ O	2,190
10	Linalol	21.285	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.679
11	Cyclohexene, 3,5,5- trimethyl-	21.565	124	C ₉ H ₁₆	1.119
12	trans,cis-2-methyl-1,3- cyclooctadiene	22.257	122	C ₉ H ₁₄	0.147
13	α -Campholenal	22.983	152	C ₁₀ H ₁₆ O	0.300
14	trans-Pinocarveol	23.852	152	C ₁₀ H ₁₆ O	1.287
15	trans-Verbenol	24.383	152	C ₁₀ H ₁₆ O	1.741
16	Pinocarvone	25.555	150	C ₁₀ H ₁₄ O	0.834
17	Bornéol	25.795	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1.038
18	4-Terpineol	26.646	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.598

19	2-Cyclohexen-1-one, 4-(1-methylethyl)-	27.258	138	C ₁₉ H ₁₄ O	1.091
20	α-Terpinéol	27.715	154	C ₁₀ H ₁₈ O	2.168
21	Benihinal	28.012	150	C ₁₀ H ₁₄ O	1.363
22	D-Verbenone	28.956	150	C ₁₀ H ₁₄ O	2.615
23	Carvéol	29.641	152	C ₁₀ H ₁₆ O	0.374
24	Propanal, 2-methyl-3-phenyl-	30.996	148	C ₁₀ H ₁₂ O	0.171
25	D-Carvone	31.305	150	C ₁₀ H ₁₄ O	0.254
26	2-(1-Methylcyclopentyloxy)-tetrahydropyran	32.299	184	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	0.300
27	2-Methyl-2-cyclopenten-1-ol	33.516	98	C ₆ H ₁₀ O	0.202
28	Bornyl Acetate	34.351	196	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	7.330
29	cis-Sabinol	35.620	152	C ₆ H ₁₆ O	0.213
30	15-oxabicyclo[12.1.0]pentadeca-6,10-diene-7-methanol, 5-hydroxy-1,11-dimethyl-4(1-methylethenyl)-	36.226	320	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	0.479
31	E,Z-4-Ethylidenecyclohexene	36.723	108	C ₈ H ₁₂	0.159
32	Geranyl acetate	40.815	196	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.395

33	trans- β -Farnesene	45.376	204	C ₁₅ H ₂₄	1.660
34	Manool oxide	73.668	290	C ₂₀ H ₃₄ O	0.166
35	Epimanool	76.771	290	C ₂₀ H ₃₄ O	4.350
36	2,3,5,6-Tetrahydro-1,3-diimino-1H-5,8-epoxybenz[f] isoindole	83.773	211	C ₁₂ H ₉ N ₃ O	0.201
37	7-Dehydroabietanone	87.076	284	C ₂₀ H ₂₈ O	0.487
38	Tricosane	87.505	324	C ₂₃ H ₄₈	0.270
39	Pentacosane	95.421	352	C ₂₅ H ₅₂	0.146
	Identified compounds (%)	Total			100
	Monoterpènes hydrocarbonés			65.207	
	Monoterpènes oxygénés			24,499	
	Sesquiterpènes hydrocarbonés			1.660	
	Sesquiterpènes oxygénés			0.00	
	Autres			8,634	

III .1.4. Interprétation des résultats d'analyse CPG/SM

L'analyse CPG/SM a révélé la présence de 39 constituants qui représentent 100 % de l'huile essentielle. Comme le montre le tableau 1, l'huile essentielle est caractérisée par la présence de l' α -Pinene (46,613%), du β -Pinene (9.698%), de Bornyl Acetate (7.330%) de D-Limonène (4.351%), de Epimanool (4.350%), D-Verbenone (2.615%), de β -Myrcene (2.282%), α -Pinene oxide (2.190 %) et du α -Terpinéol (2.168%) comme produits majoritaires. La classe des monoterpènes est prédominante, avec l' α -pinène comme constituant majoritaire (46,613%).

Ces résultats sont similaires à la majorité des travaux déjà effectués par Mostafa B Khalifa Milad [1] montrant la composition en commun des composés : D-Limonene (8,36%), β -Pinene (6,62%), Bornyl acetate (0,23%), β -Myrcene (21,63%). De même, les travaux

entrepris par Derwich et Benziane 2010 [2] ont montré que l' α -Pinene est le composé majoritaire de *Cedrus atlantica* avec la concentration de (14,85%).

Alors que les travaux réalisés par Saab et Harb, 2005[3], sur la même espèce *Cedrus atlantica* ont mis en évidence un autre chémotype dont les composés majoritaires sont : Himachalol (46,32%), γ -Himachalene (13,95%) et β -Himachalene (7,03%). De même, l'analyse GCMS établie par Aberchane et Fecthal en 2004[4] présente une composition différente dont les composés majoritaires sont : β -Himachalene (40,0%), Benzylbenzoate (16,4%), Khusimol (9,7%).

La comparaison bibliographique de la composition chimique de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica* avec la composition des mêmes espèces montre d'une part une ressemblance presque identique caractérisée par la présence de : α -Pinene, β -Pinene, β -Myrcene, D-Limonene et d'une autre part par une différence totale dans la composition chimique. Cette différence de chémotype est probablement liée à des différences génétiques de l'espèce *Cedrus atlantica*, ces espèces peuvent présenter des variations chimiques de leur métabolite secondaire en fonction des influences de leurs écosystèmes (altitude, humidité, ensoleillement, biotope, etc.). Bien que leur morphologie ainsi que leur génétique ne soient pas substantiellement transformées, seul leur phénotype chimique est mouvant.

En conclusion, l'analyse qualitative et quantitative par CPG et CPG/SM de l'huile essentielle des parties aériennes de *Cedrus atlantica* a permis d'identifier trente-neuf (39) constituants dont neuf (9) composants majoritaires : l' α -Pinene (46,613%), le β -Pinene (9,698%), le Bornyl Acetate (7,330%), le D-Limonène (4,351%), le Epimanool (4,350%), le D-Verbenone (2,615%), le β -Myrcene (2,282%), l' α -Pinene oxide (2,190 %) et l' α -Terpinéol (2,168%).

III .2.1. Résultats d'analyses CPL/MS et interprétation

Une solution de 1000 ppm a été préparée dans le méthanol puis injectée à l'instrument LC-ESI-MS. Les figures 20 et 21 montrent le chromatogramme de cette injection.

III .2.2. Modes d'ionisation positive et négative

III .2.2.1. Ionisation positive

Les deux chromatogrammes d'ionisation positive et négative montrent une richesse en composés majoritaires concentrés entre 0.5-11 minutes.

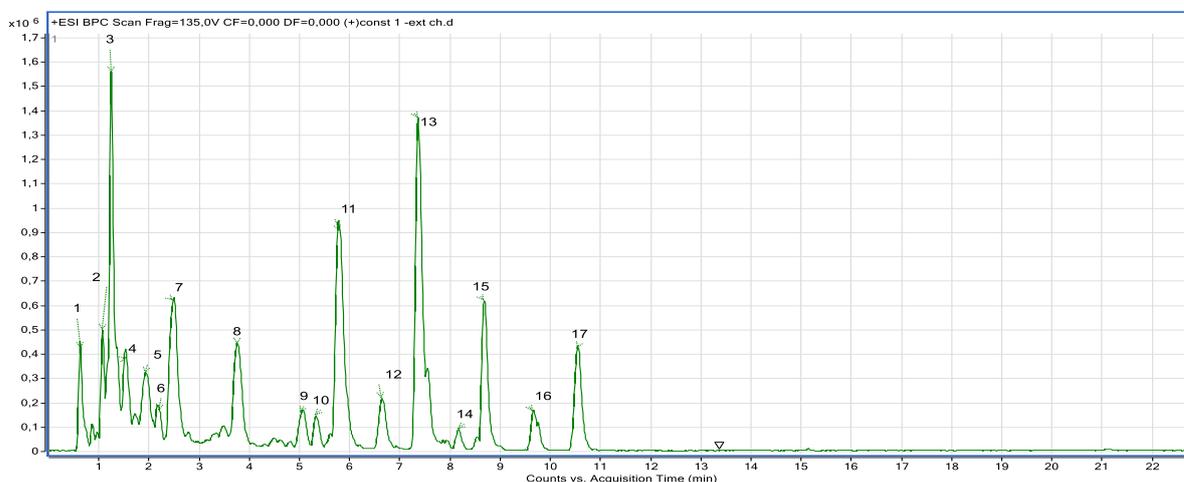


Figure 20. Chromatogramme de l'ionisation positive de l'extrait butanolique de *C.paviflora*.

III .2.2.2. Ionisation négative

La majorité des produits sont concentrés entre 0.5-11 minutes du temps de rétention.

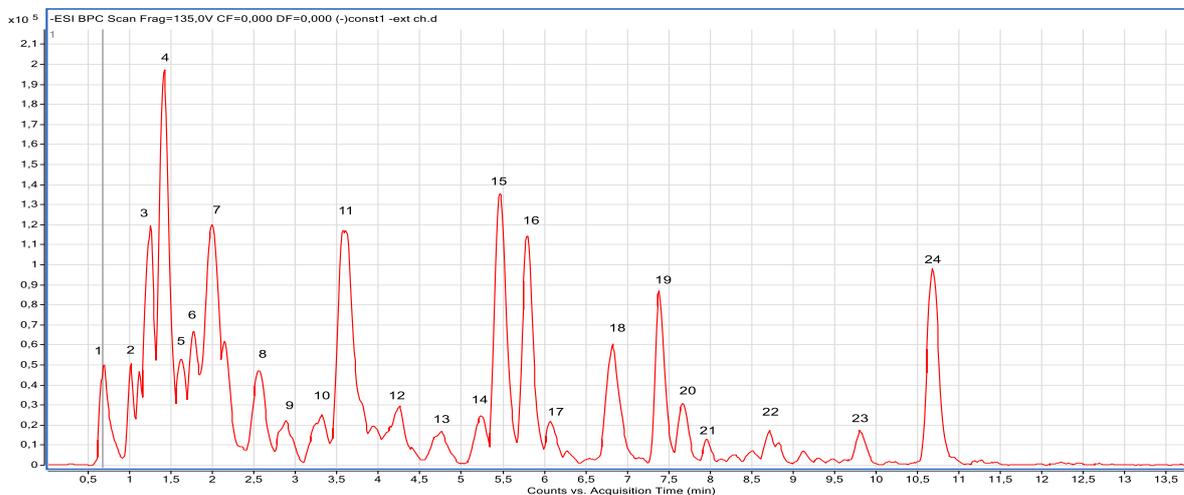


Figure 21. Chromatogramme de l'ionisation négative de l'extrait butanolique de *C.paviflora*.

III .2.3. Identification des composés phénoliques contenus dans l'EBCP

L'analyse des résultats par le logiciel Qualitative Analysis B.06.00 de Agilent Mass Hunter Workstation de l'ionisation négative en comparaison avec les données de la littérature nous a permis d'identifier 08 composés.

III .2.3.1. Identification du produit 1

Le pic qui apparaît à un temps de rétention de 0.68 mn avec $m/z = 191.00$ et une formule brute $C_7H_{12}O_6$ a été identifié au Acide quinique (Figure 22 et Figure 23).

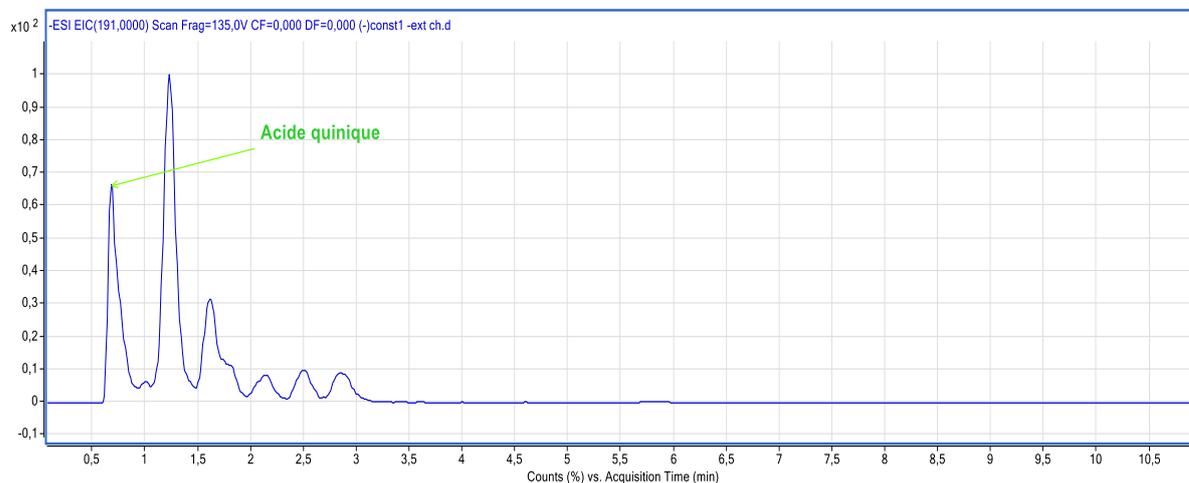


Figure 22. Chromatogramme du produit 1.

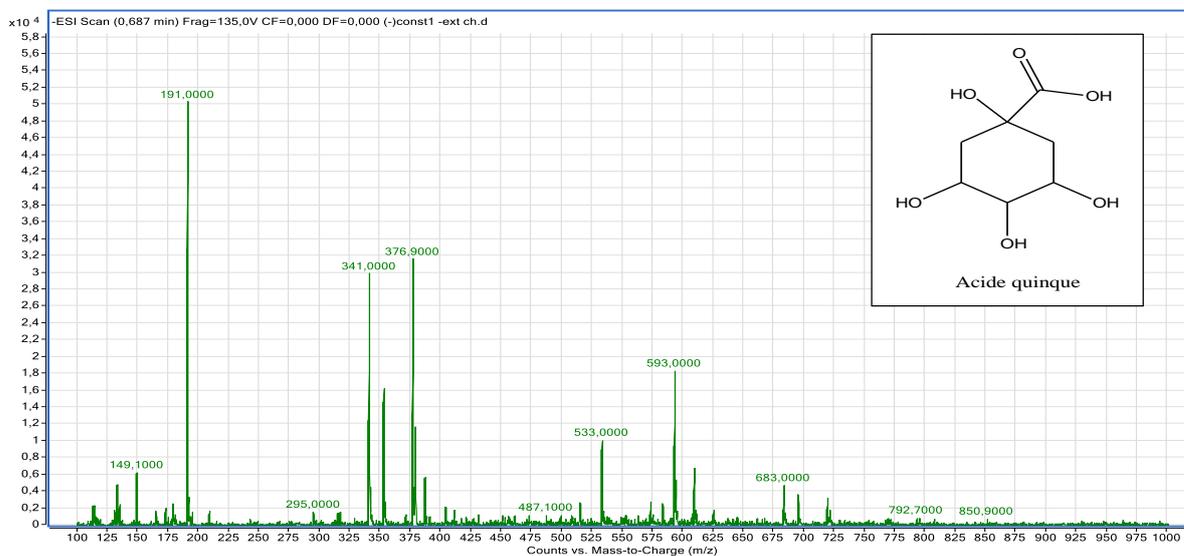


Figure 23. Spectre de masse du produit 1.

III .2.3.2. Identification des produits 2, 3, 4 et 5

Le pic qui apparait au temps de rétention de 0.72, 1.00, 1.22, 1.62 mn avec $m/z = 353.00$ et une formule brute $C_{16}H_{18}O_9$ a été identifié au Acide chlorogénique (Figure 24 et Figure 25).

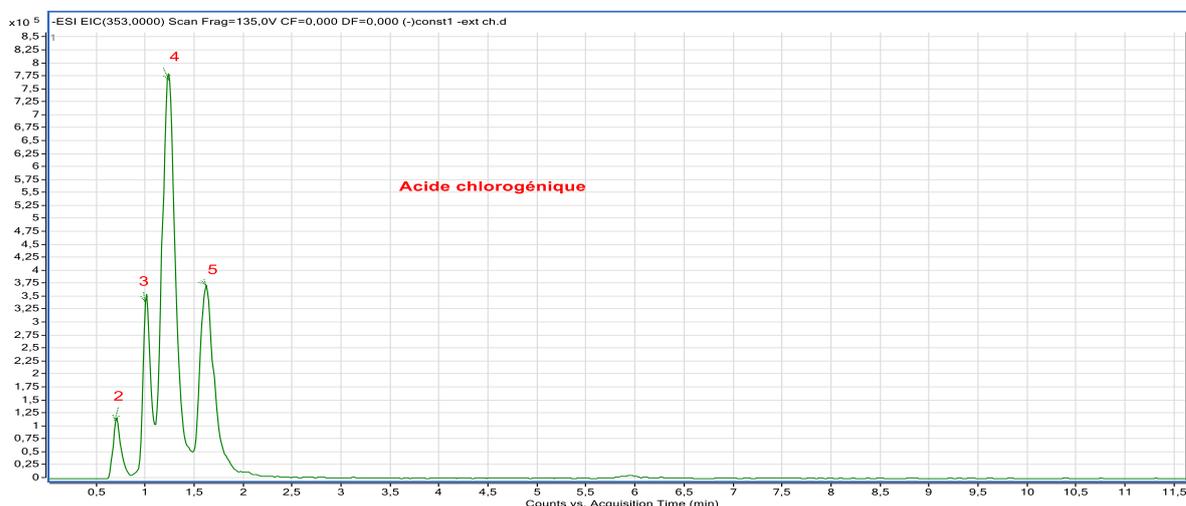


Figure 24. Chromatogramme des produits 2, 3, 4 et 5.

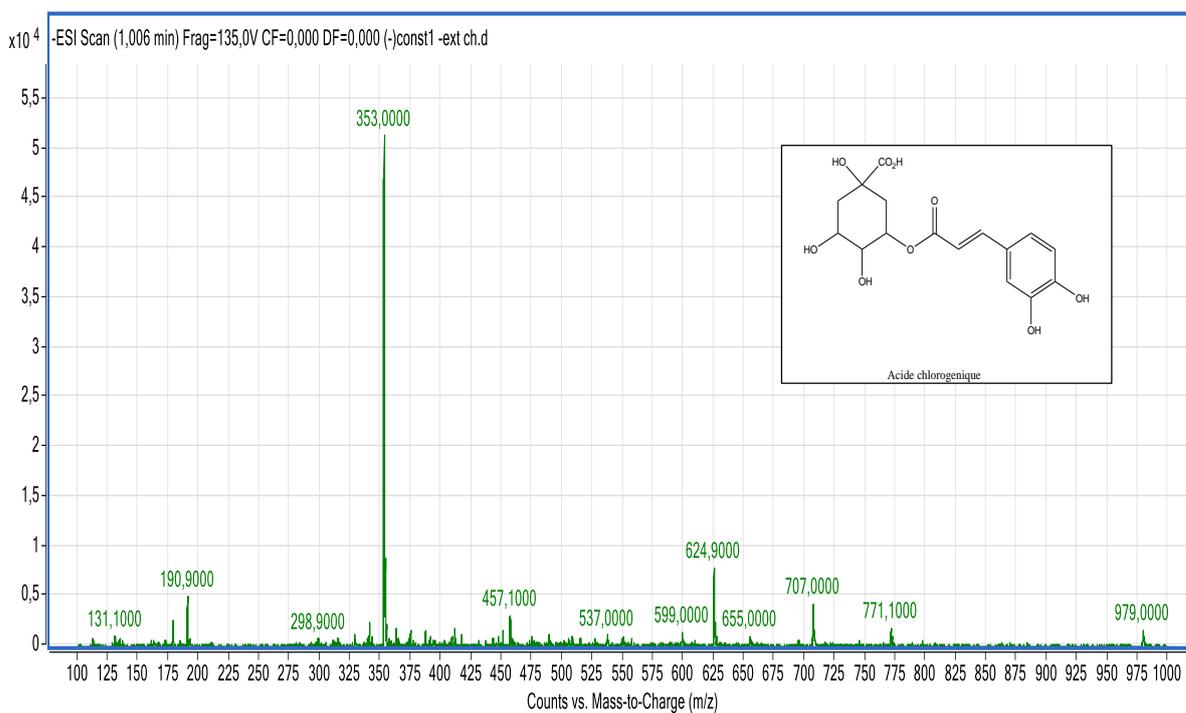


Figure 25. Spectre de masse des produits 2, 3, 4 et 5.

III .2.3.3. Identification du produit 6

Le pic qui apparait à un temps de rétention de 3.58 mn avec $m/z = 609.00$ et une formule brute $C_{27}H_{30}O_{16}$ a été identifié au Rutine (Figure 26 et Figure 27).

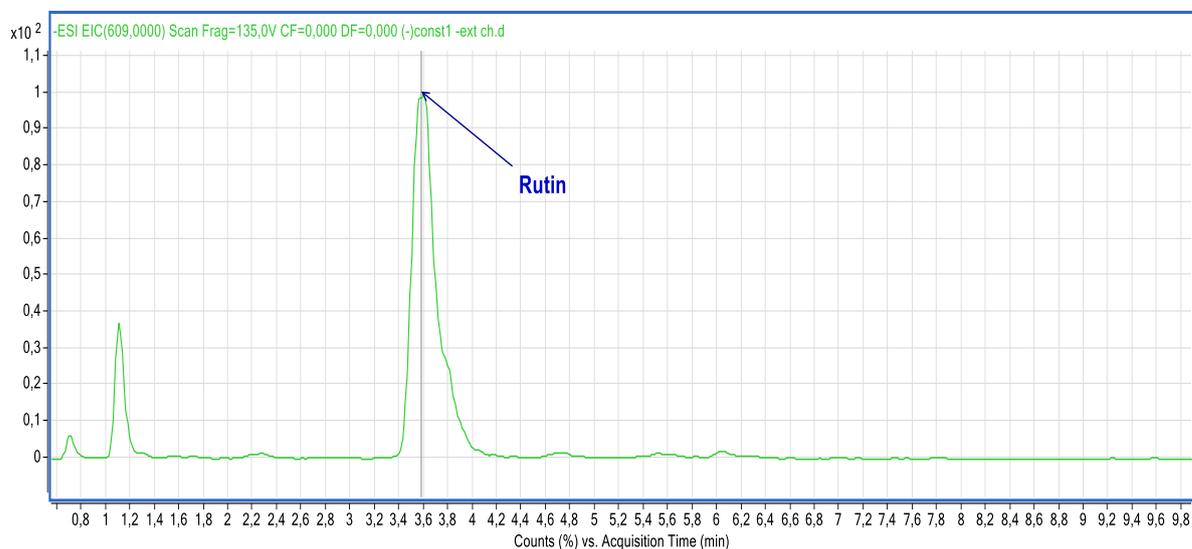


Figure 26. Chromatogramme du produit 6.

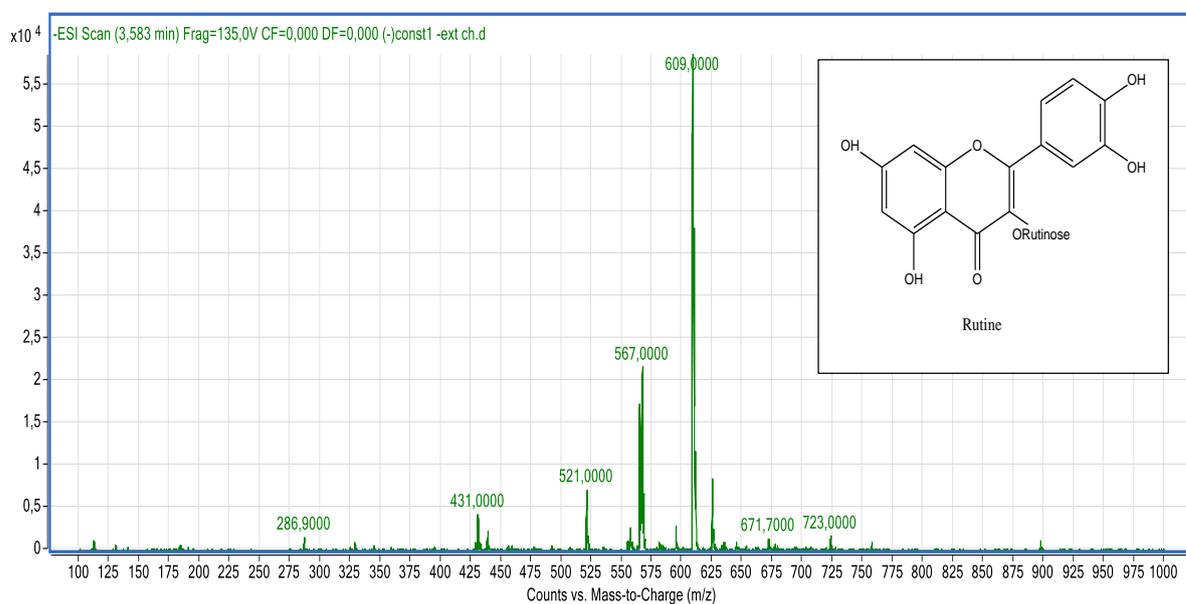


Figure 27. Spectre de masse du produit 6.

III .2.3.4. Identification du produit 7

Le pic qui apparait à un temps de rétention de 4.26 mn avec $m/z = 463.00$ et une formule brute $C_{21}H_{20}O_{12}$ a été identifié au Quercetine 3-O-glucoside (Figure 28 et Figure 29).

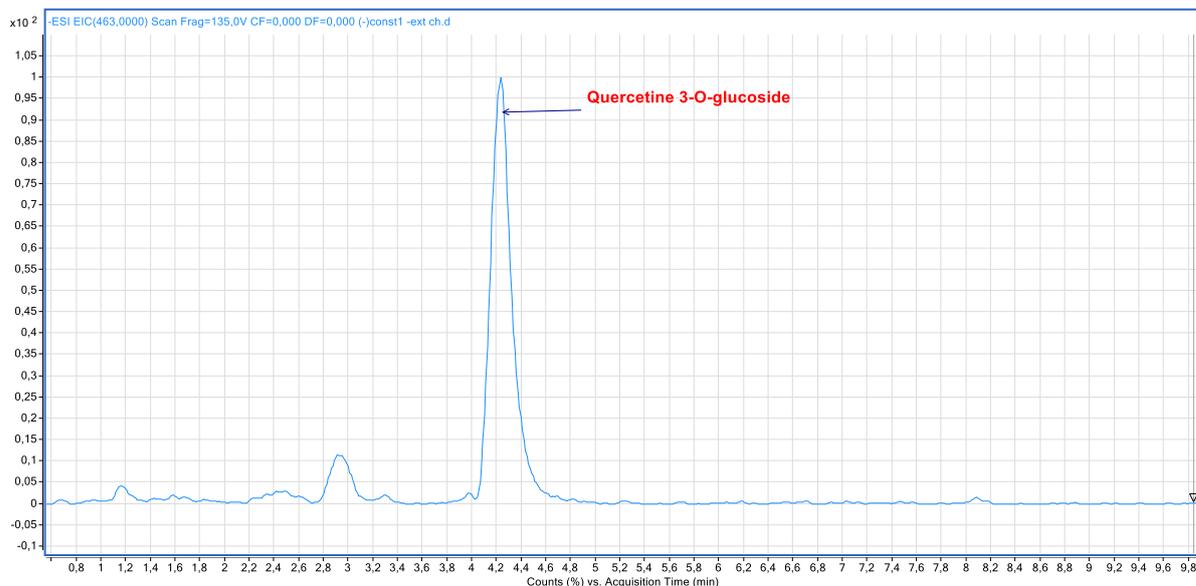


Figure 28. Chromatogramme du produit 7.

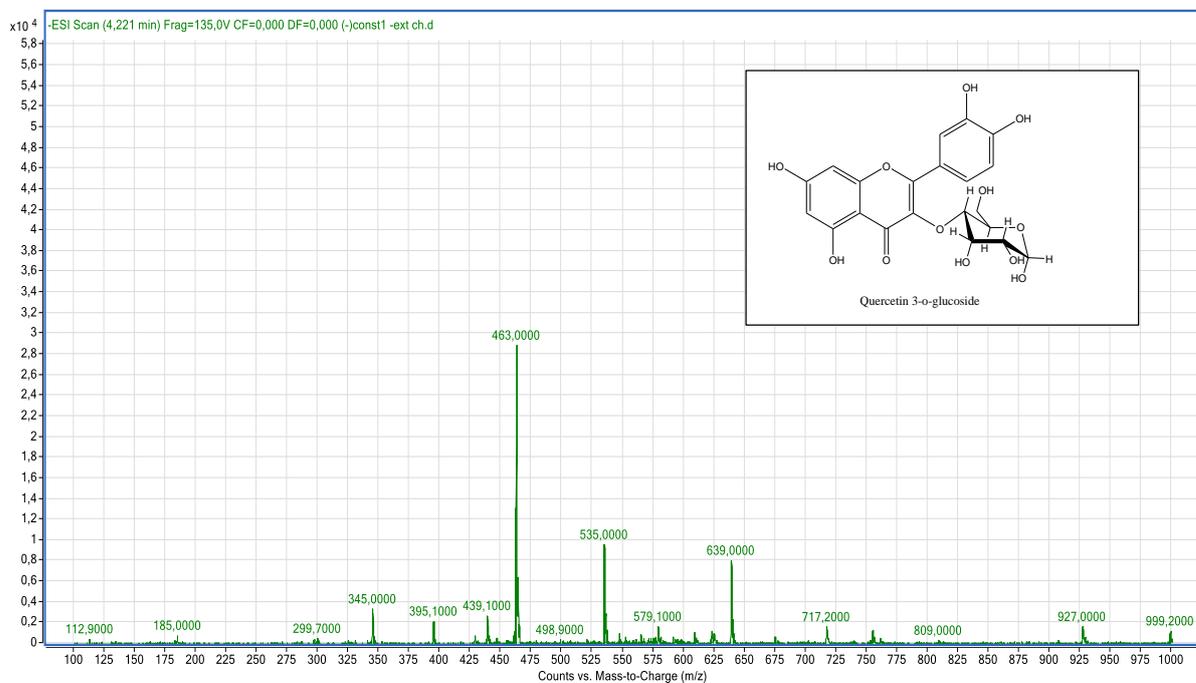


Figure 29. Spectre de masse du produit 7.

III .2.3.5. Identification du produit 8

Le pic qui apparait à un temps de rétention de 5.46 mn avec $m/z = 463.00$ et une formule brute $C_{30}H_{10}O_{14}$ a été identifié au acide chlorogénique derivative (Figure 30 et Figure 31).

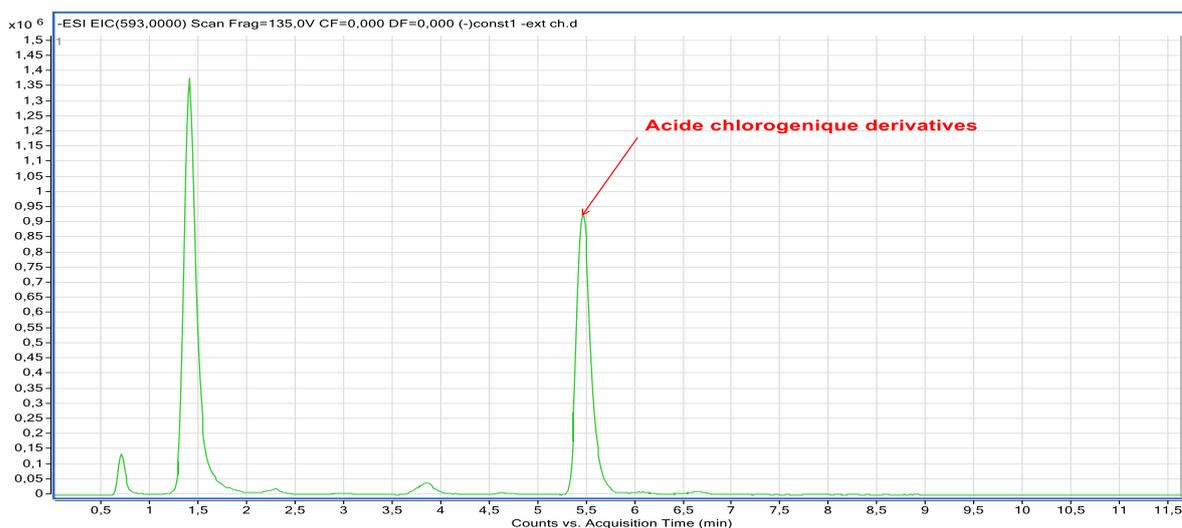


Figure 30. Chromatogramme du produit 8.

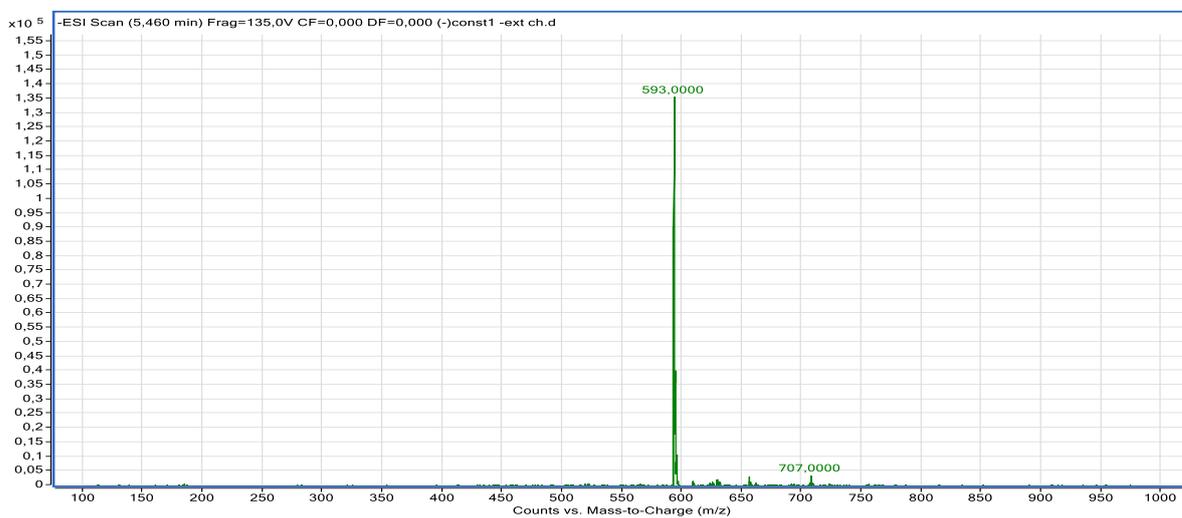


Figure 31. Spectre de masse du produit 8.

III .2.4. Discussion

Une tentative d'identification des composés phénoliques contenus dans l'EBCP est basée sur des comparaisons de masse précises [M - H] des ions pseudo-moléculaire avec ceux trouvés en accord avec la littérature.

L'analyse CPL/SM de l'extrait butanolique de *Centaurea parviflora* a permis d'identifier huit (08) composés dont (06) acides phénoliques et (02) flavonoïdes :

- 1- Acide quinique
- 2- Cinq dérivés de l'acide chlorogénique
- 3- Rutine
- 4- Quercétine 3-*O*-glucoside

Tableau 02. composés de l'extrait butanolique identifiés par CPL/SM.

Numéro du pic	Composés	Temps de rétention (min)	Formule moléculaire	m/z expérimental	m/z calculé	mode d'ionisation
1	Acide quinique	0.68	C ₇ H ₁₂ O ₆	191.00	191.05	Neg
2	Acide Chlorogénique	0.72	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.00	353.08	Neg
3	Acide Chlorogénique derivatives	1.03	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.00	353.08	Neg
4	Acide Chlorogénique derivatives	1.20	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.00	353.08	Neg
5	Acide Chlorogénique derivatives	1.60	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.00	353.08	Neg
6	Rutine	3.60	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.00	609.14	Neg
7	Quercétine 3- <i>o</i> -glucoside	4.26	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.00	463.08	Neg
8	Acide Chlorogénique derivatives	5.73	C ₃₀ H ₁₀ O ₁₄	593.00	593.00	Neg

III .3.1. L'étude quantitative des deux plantes

L'étude quantitative de *Centaurea parviflora* et *limonium thouinii* a été faite par trois dosages. les résultats sont présentés dans le (tableau 3).

Tableau 03. La teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols.

Extraits	Teneur en composés phénoliques (μg GAE/mg)	Teneur en flavonoïdes (μg QE/mg)	Teneur en Flavonols (μg QE/mg)
EMCP	113,51 \pm 2,95	24,49 \pm 0,49	20,03 \pm 0,63
ECCP	105,47 \pm 1,35	17,78 \pm 0,21	22,89 \pm 1,33
EACP	136,94 \pm 2,94	20,83 \pm 0,21	27,86 \pm 1,45
EBCP	175,27 \pm 2,79	59,89 \pm 0,91	47,30 \pm 0,51
EMLT	122,04 \pm 1,69	28,11 \pm 0,73	23,58 \pm 0,68
EALT	167,92 \pm 2,88	30,55 \pm 1,62	29,47 \pm 0,04

III .3.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de *Centaurea parviflora* et *limonium thouinii* a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Folin-ciocalteu (FCR). La teneur en polyphénols totaux est exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique ($y = 0,0034x + 0,1044$) avec $R^2 = 0,9972$ (Figure 32).

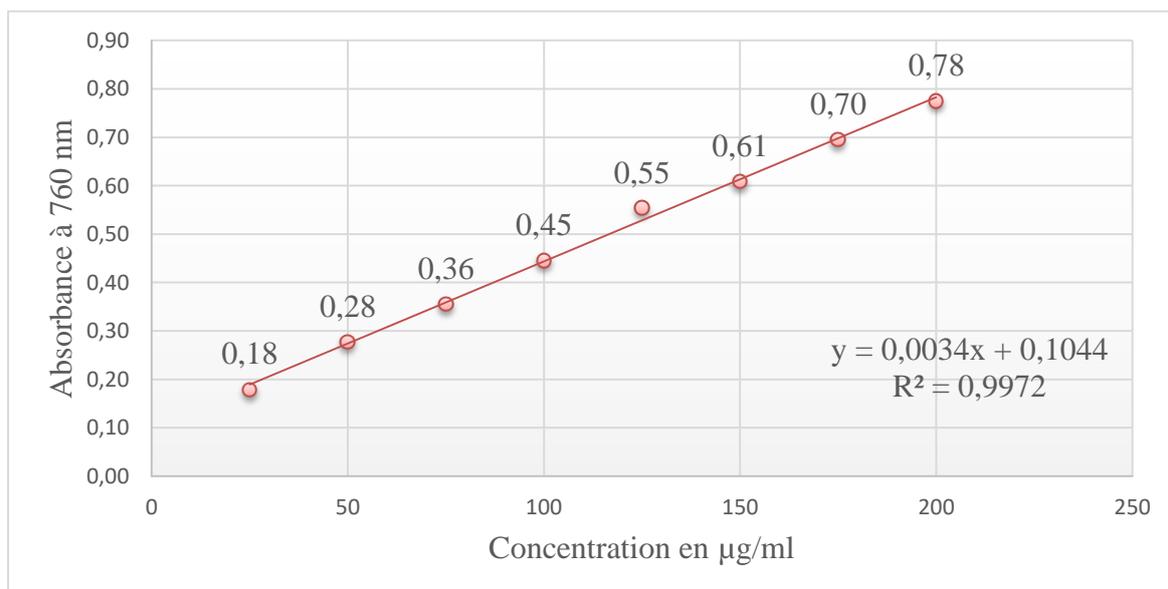


Figure 32. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats du dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux sont présentés dans la (figure 33) et le (tableau 3).

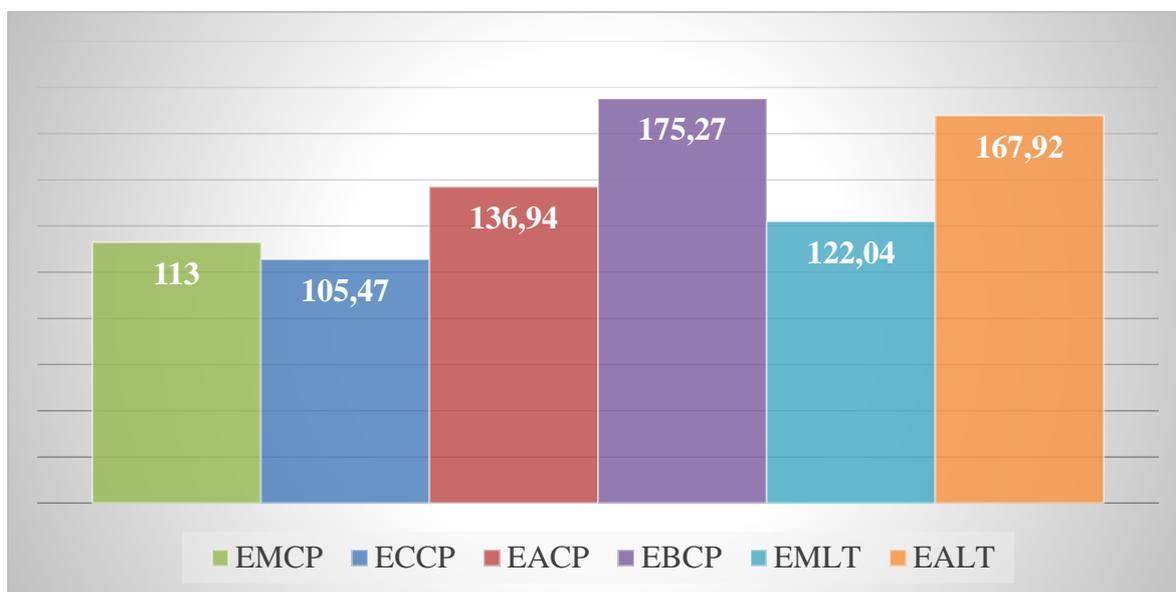


Figure 33. Evaluation des polyphénols totaux des extraits de *Centaurea parviflora* et *limonium thouinii*.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats montrent que l'EBCP et EALT sont les extraits les plus riches en polyphénols avec une teneur de $175,27 \pm 2,79$ μg EAG/mg d'extrait et de $167,92 \pm 2,88$ μg EAG/mg, suivi par les extraits EACP et EMLT ($136,94 \pm 2,94$ et $122,04 \pm 1,69$ μg EAG/mg d'extrait respectivement), cependant l'EMCP et l'ECCP ont les plus faibles teneurs en polyphénols avec $113,51 \pm 2,95$ et $105,47 \pm 1,35$ EAG/mg d'extrait.

III.3.1.2. Dosages des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium, elle est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm.

La Quercétine a été utilisé comme étalon. Les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage ayant l'équation : $(Y = 0,0071x + 0,0274)$ avec $R^2 = 0,9985$ (figure 34).

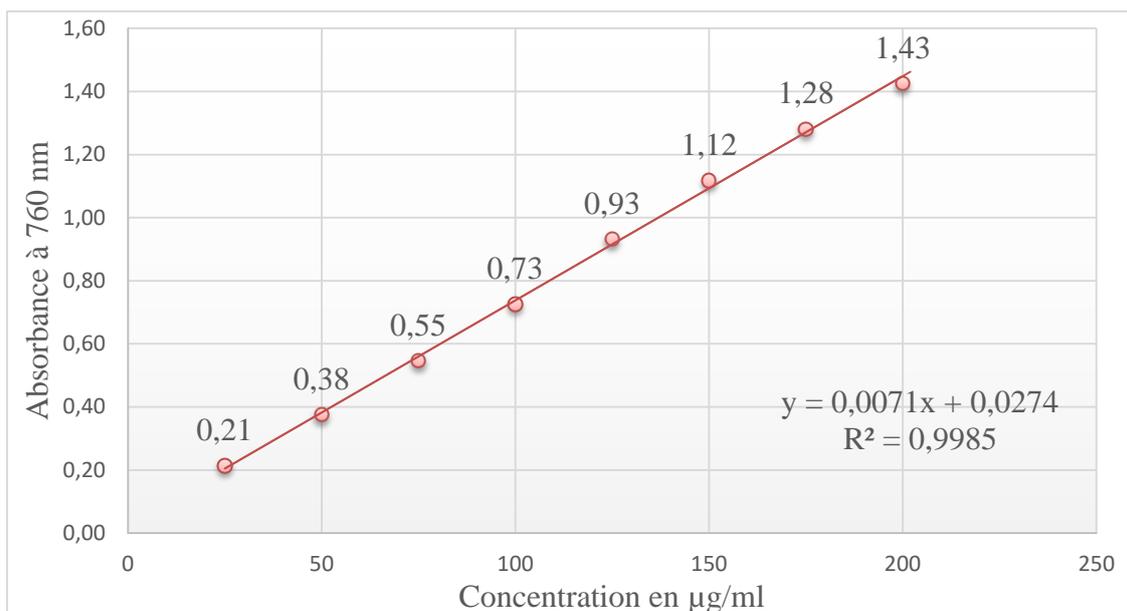


Figure 34. Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en µg d'équivalent de la quercétine par mg de poids sec de l'extrait (µg EQ/mg PS).

Les résultats sont illustrés dans la figure au-dessous.

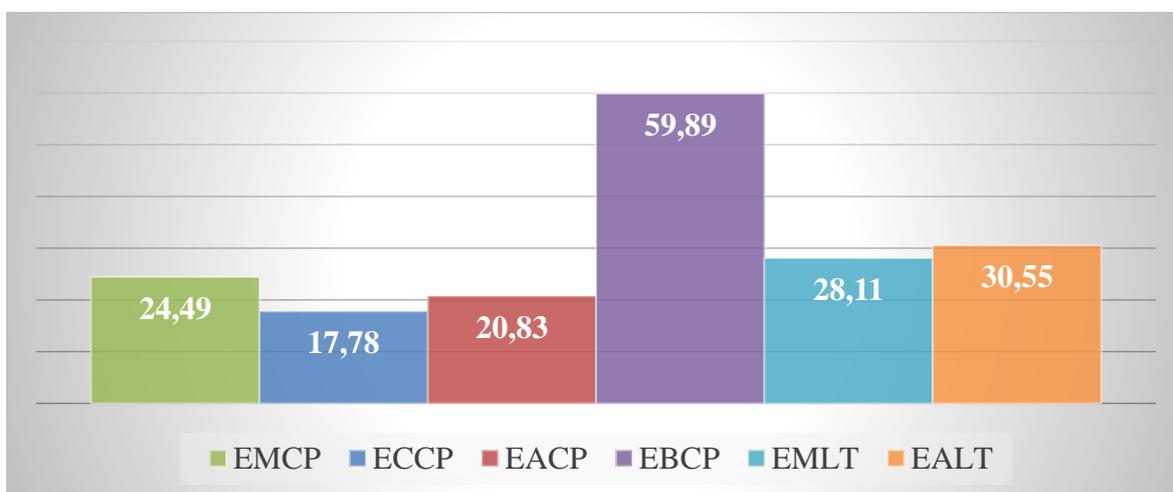


Figure 35. Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de *Centaurea parviflora* et *limonium thouinii*.

D'après la figure 35 et le tableau 3, l'EBCP est le plus riche en flavonoïdes avec $59,89 \pm 0,91$, ensuite les extraits EALT et EMLT et EMCP avec une teneur de $30,55 \pm 1,62$ et $28,11 \pm 0,73$ et $24,49 \pm 0,49$ µg EQ/mg d'extrait, respectivement, suivi par les extraits EACP et ECCP qui

ont montré les teneurs les plus faibles avec $20,83 \pm 0,21$ et $17,78 \pm 0,21 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement.

III.3.1.3. Dosages des flavonols

La teneur en flavonols des extraits a été déterminée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 440 nm.

La quercétine a été utilisée comme étalon, les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage ayant l'équation : $(Y=0,0122x+0,0179)$ avec $R^2 = 0,9991$ (figure 36)

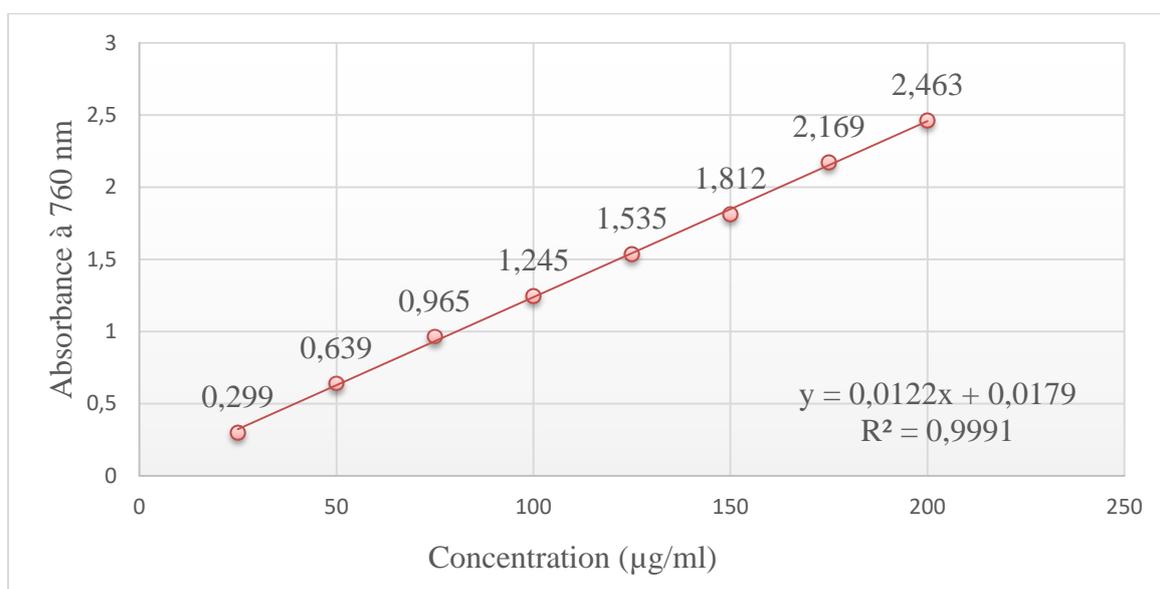


Figure 36. Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en μg d'équivalent de la quercétine par mg de poids sec de l'extrait ($\mu\text{g EQ/mg PS}$).

Les résultats du dosage sont illustrés dans la figure 37.

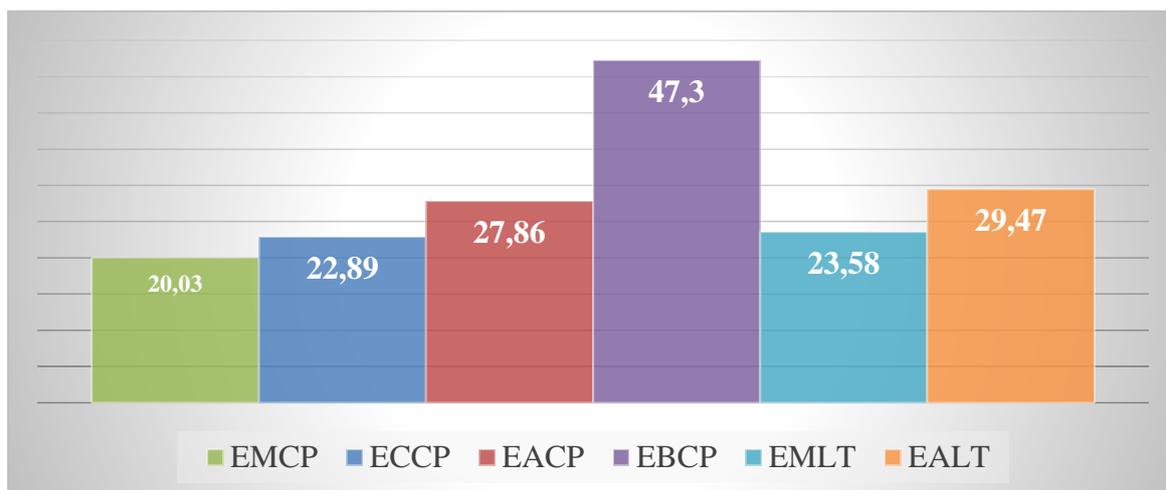


Figure 37. Evaluation des flavonols totaux des extraits de *Centaurea parviflora* et *limonium thouinii*.

D'après la figure, les extraits EBCP sont les plus riches en flavonols avec $47,30 \pm 0,51$ ensuite les extraits EALT et EACP avec $29,47 \pm 0,04$ et $27,86 \pm 1,45$ $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement. Suivi par les extraits EMLT et ECCP et EMCP qui ont montré les teneurs les plus faibles avec $23,58 \pm 0,68$ et $22,89 \pm 1,33$ et $20,03 \pm 0,63$ $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement.

III.3.2. Les activités antioxydantes

De différents extraits des plantes sont des sources potentielles des composants chimiques naturels responsables d'activités antioxydantes. A cet effet, plusieurs essais ont été menés par certains auteurs pour évaluer le potentiel antioxydant de ces différents extraits. C'est dans ce contexte que nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits de la plante *Centaurea parviflora* et *limonium thouinii* par sept méthodes différentes.

L'acide ascorbique, BHA, BHT et l' α -tocophérol sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et ils sont utilisés comme contrôle positif.

III.3.2.1. Activité antiradicalaire DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH^+ a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Dans ce test les résultats ont été comparés aux étalons de référence (BHA, BHT).

Les résultats sont présentés dans l’histogramme illustré dans la Figure 38 et Tableau 4.

Tableau 04. Inhibition du radical DPPH.

Extraits	% inhibition							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	CI ₅₀ µg/mL
EMCP	Na	Na	3,16±4,06	5,63±4,47	8,95±0,70	32,57±1,40	62,33±3,33	160.92±5.11
ECCP	Na	Na	Na	Na	Na	10,56±0,54	24,76±1,06	> 200
EACP	Na	Na	Na	3,97±2,01	16,71±1,52	38,36±1,20	67,32±0,23	144.75±1.17
EBCP	Na	Na	9,30±3,60	20,89±0,75	45,66±1,54	81,01±0,38	83,38±0,30	59.38±0.72
EMLT	Na	2,82±0,70	8,46±1,29	19,79±0,59	37,50±1,15	65,87±0,74	82,48±0,28	74.09±1.83
EALT	5,09±2,15	7,78±0,59	19,55±1,20	36,58±1,44	61,58±1,21	84,44±0,11	84,84±0,38	40.58±0.90
BHT	11,69±1,88	22,21±1,30	37,12±1,80	52,63±2,70	56,02±0,53	83,60±0,23	87,28±0,26	22.32±1.19
BHA	28,95±1,16	54,33±1,59	76,76±1,65	84,09±0,35	87,53±0,82	87,73±0,15	88,43±0,23	5.73±0.41

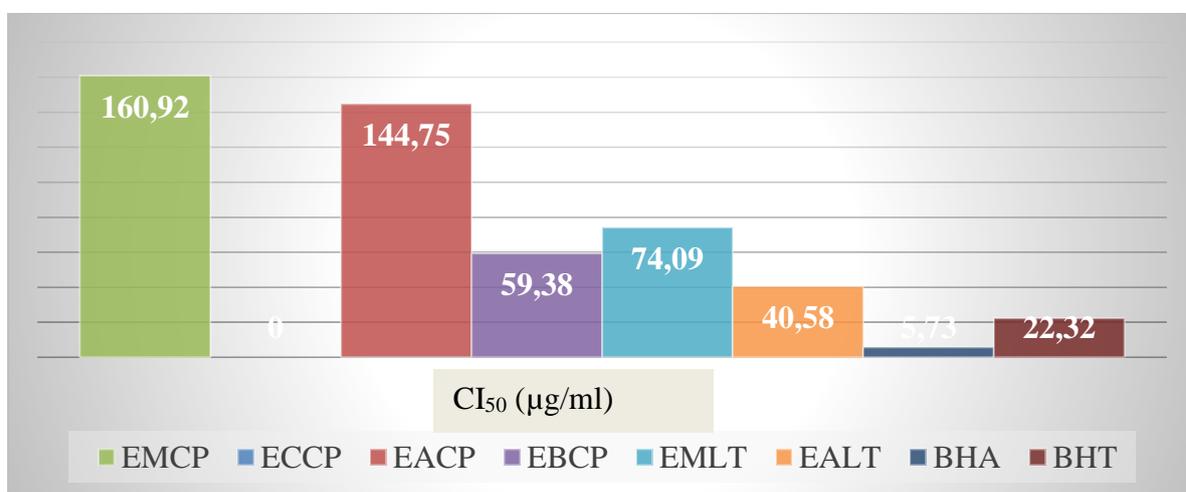


Figure 38. Valeurs CI₅₀ du test DPPH.

L’EBCP a présenté la meilleure activité antiradicalaire par rapport aux autres extraits (CI₅₀ : 59,38±0,72 µg/ml), cette activité est deux fois plus faible que le BHT (CI₅₀ : 22.32±1.19 µg/ml) et onze fois plus faible que le BHA (CI₅₀ : 5.73±0.41 µg/ml).

L’EALT a exhibé une activité meilleure que celle de l’extrait EMLT avec (CI₅₀ : 40,58±0.90 µg/ml), l’activité est deux fois plus faible que celle du BHT (CI₅₀ : 22.32±1.19 µg/ml) et huit fois plus faible que celle du BHA (CI₅₀ : 5.73±0.41 µg/ml). Ces résultats sont en total accord avec la richesse des deux extraits EALT et EMLT, en : TPC (175,27±2,79 ; 167,92±2,88), TFC (59,89±0,90 ; 59,89±0,90) ; TFLC (47,30±0,51 ; 29,47±0,03) respectivement.

III.3.2.2. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl

L'activité du piégeage du radical Galvinoxyl a été évaluée par spectrophotométrie à 428 nm, en suivant la réaction par son passage de la couleur jaune foncé en jaune pâle. Dans ce test les résultats ont été comparés aux standards de références (BHA, BHT).

Les résultats sont présentés dans la Figure 39 et Tableau 5.

Tableau 05. Inhibition du radical Galvinoxyl.

Extraits	Inhibition (%)							
		6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200µg	CI ₅₀ µg/mL
EMCP	2,22±1.68	8,28±1.40	10,41±1.98	17,00±1.39	32,67±1.76	54,98±0.59	72,64±0.33	88.87±1.86
ECCP	Na	NA	1,37±0.55	1,61±0,27	7,69±1.88	20,76±0.27	34,89±0.83	> 200
EACP	1,27±1.25	1,37±1.66	6,21±1.05	14,37±0,86	35,45±0.90	55,93±0,43	71,97±0,98	97.72±3.07
EBCP	6.07±1,37	6.64±1.00	21.92±0.29	40.43±0,75	64,27±1.15	72.44±0.58	75.37±1,23	36.25±0.72
EMLT	1,54±1,35	4,91±1,04	9,70±1,44	24,79±0,65	50,24±0.08	73,20±0,26	75,06±0,48	37.39±0,39
EALT	3.89±0.82	7.00±0.96	17,67±0,95	36,87±0,13	64,89±0,61	77,35±0,14	78,18±0,16	38.86±0,58
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	
BHT	34,66±2.62	49,23±0.77	61,29±0.69	68,89±0,26	70,02±0.50	70,49±0,55	71,13±0,74	3.32±0,18
BHA	25.99±2,56	39.15±0.88	54.16±0.27	65.02±1,26	70,19±0.51	70.32±0.65	70.60±0,10	5.38 ±0,06

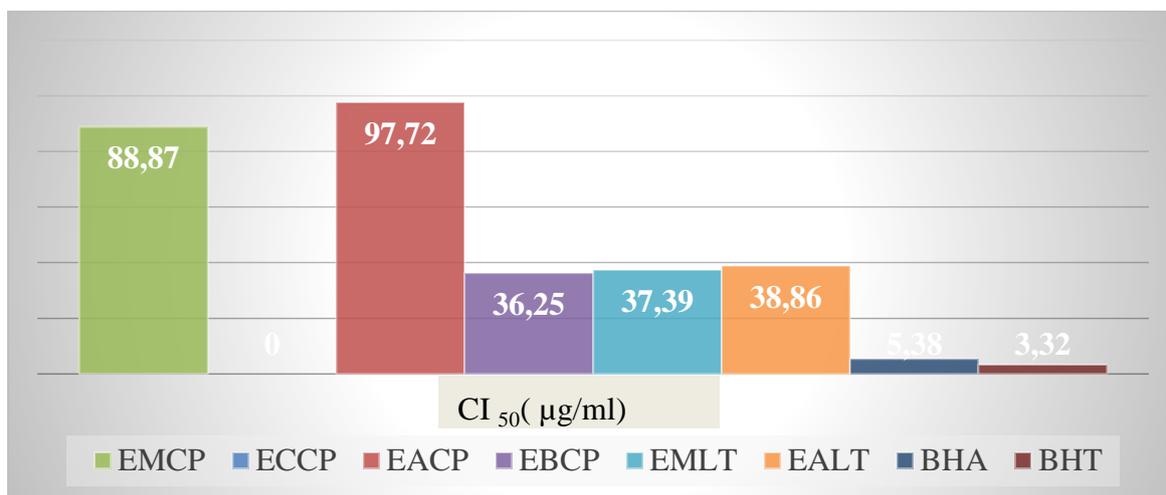


Figure 39. Valeurs des CI₅₀ du test radical galvinoxyl.

D'après Les valeurs de CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) calculées à partir des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration, on remarque que l'EBCP a montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé avec une valeur de ($CI_{50} : 36.25 \pm 0.72 \mu\text{g /mL}$) suivi par les extraits : EACP ($CI_{50} : 97.72 \pm 3.07 \mu\text{g /mL}$), EMCP ($CI_{50} : 88.87 \pm 1.86 \mu\text{g /mL}$) et ECCP ($>200 \mu\text{g /mL}$). L'activité de l'EBCP est dix fois plus faible que le BHT ($CI_{50} : 3.32 \pm 0,18 \mu\text{g/ml}$) et six fois plus faible que le BHA ($CI_{50} : 5.38 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$). Les extraits EMLT et EALT avec des valeurs égale à $CI_{50} : 37.39 \pm 0,39 \mu\text{g/mL}$ et $38.86 \pm 0,58 \mu\text{g/mL}$ ont montré une activité six fois plus faible que le BHA ($CI_{50} : 5.38 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$) et onze fois plus faible que le BHT ($CI_{50} : 3.32 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$). Ce test confirme les résultats du test précédent avec une légère concurrence entre les deux extraits EMLT et EALT.

III.3.2.3. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)

L'activité antioxydante par la méthode (CUPRAC) est basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm de la réduction en présence d'un antioxydant du complexe stable Neocuproine-cuivre (II) de couleur bleu en complexe stable Neocuproine-cuivre (I) de couleur orange.

Tableau 06. Réduction du complexe néocuproine par la méthode CUPRAC.

Extraits	Absorbance							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	$A_{0.50} \mu\text{g/mL}$
EMCP	0.08 \pm 0.00	0.11 \pm 0.01	0.15 \pm 0.00	0.19 \pm 0.00	0.27 \pm 0.01	0.42 \pm 0.01	0.74 \pm 0.02	128.44 \pm 4.14
ECCP	0.09 \pm 0.01	0.11 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	0.24 \pm 0.01	0.36 \pm 0.01	0.59 \pm 0.00	188.33 \pm 4.62
EACP	0.10 \pm 0.00	0.13 \pm 0.00	0.19 \pm 0.01	0.25 \pm 0.01	0.36 \pm 0.01	0.53 \pm 0.01	0.80 \pm 0.01	92.00 \pm 4.85
EBCP	0.10 \pm 0.00	0.14 \pm 0.01	0.23 \pm 0.02	0.28 \pm 0.01	0.44 \pm 0.01	0.72 \pm 0.00	1.17 \pm 0.01	71.80 \pm 1.22
EMLT	0,13 \pm 0,01	0,15 \pm 0,00	0,26 \pm 0,01	0,34 \pm 0,00	0,50 \pm 0,03	0,81 \pm 0,03	1,34 \pm 0,03	46.96 \pm 2.75
EALT	0,13 \pm 0,01	0,15 \pm 0,58	0,25 \pm 0,01	0,37 \pm 0,03	0,62 \pm 0,00	0,95 \pm 0,01	1,44 \pm 0,03	39.10 \pm 2.25
BHT	0.19 \pm 0.01	0.33 \pm 0.04	0.66 \pm 0.07	1.03 \pm 0.07	1.48 \pm 0.09	2.04 \pm 0.14	2.32 \pm 0.28	9.62 \pm 0.87
BHA	0.46 \pm 0.00	0.78 \pm 0.01	1.34 \pm 0.08	2.36 \pm 0.17	3.45 \pm 0.02	3.76 \pm 0.03	3.93 \pm 0.01	3.64 \pm 0.19

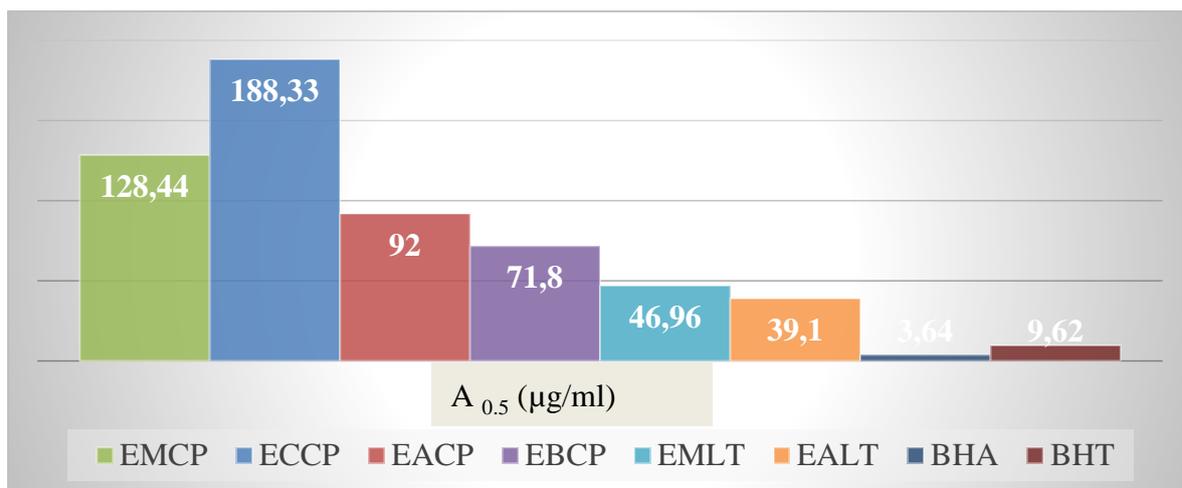


Figure 40. Valeurs des $A_{0,5}$ du test CUPRAC.

D'après les résultats, l'EBCP exerce la plus grande activité inhibitrice des échantillons étudiés, avec une valeur de ($A_{0,5}: 71.80 \pm 1.22 \mu\text{g/ml}$), suivi par les extraits EACP, EMCP et ECCP avec des valeurs de $A_{0,5}$ égale à : 92.00 ± 4.85 ; 128.44 ± 4.14 et $188.33 \pm 4.62 \mu\text{g/ml}$ respectivement. L'EBCP est sept fois plus faible que le BHT ($A_{0,5}: 9.62 \pm 0.87 \mu\text{g/ml}$) et vingt fois plus faible que le BHA ($A_{0,5}: 3.64 \pm 0.19 \mu\text{g/ml}$). Cependant les extraits EALT et EMLT ont présenté une bonne activité ($A_{0,5}: 39.10 \pm 2.25 \mu\text{g/ml}$), ($A_{0,5}: 46.96 \pm 2.75 \mu\text{g/ml}$) respectivement, l'activité de ces extraits est plus proche au standards que celle des autres extraits. Les résultats de ce test confirment les résultats des deux premiers tests.

III.3.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le ferricyanide de potassium est réduit en présence d'un antioxydant pour former le ferrocyanide de potassium qui va réagir ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe fer ferreux de couleur bleu-vert, qui a un maximum d'absorbance à 700 nm.

Les résultats sont exprimés dans la Figure 41 et le tableau 7.

Tableau 07. Réduction du fer par la méthode FRAP.

Extraits	Absorbance							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0.5} µg/mL
EMCP	0,08±0,00	0,09±0,01	0,14±0,01	0,15±0,02	0,24±0,02	0,40±0,01	0,45±0,00	> 200
ECCP	0.07±0.01	0,08±0,01	0,10±0,01	0,13±0,01	0,20±0,01	0,24±0,0 1	0,43±0,01	> 200
EACP	0,08±0,01	0,08±0,01	0,14±0,01	0,17±0,02	0,21±0,01	0,41±0,01	0,61±0,02	193.67±1.44
EBCP	0.09±0.01	0,10±0,01	0,19±0,00	0,23±0,00	0,35±0,00	0,49±0,02	0,66±0,01	119.17±0.29
	0.78125µg	1.5625µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	
EMLT	0.09±0.00	0.09±0.01	0.14±0.01	0.22±0.02	0.36±0.00	0.62±0.0	0.70±0.01	19.87±0.28
EALT	0.11±0.02	0.12±0.01	0.20±0.01	0.32±0.02	0.52±0.00	0.70±0.01	0.87±0.01	11.95±0.24
Acide ascorbique	0,35±0,05	0,46±0,03	0,84±0,12	0,93±0,30	1,18±0,34	1,37±0,20	1,44±0,21	6.77±1.15
Acide tannique	0.28±0.02	0,78±0,06	1,02±0,07	1,24±0,18	0,86±0,6	1,01±0,21	1,02±0,13	5.39±0.91
α-Tocophérol	0.11±0,00	0.16±0.00	0,21±0,03	0,35±0,03	0,73±0,03	1,37±0,08	1,81±0,09	34.93±2.38

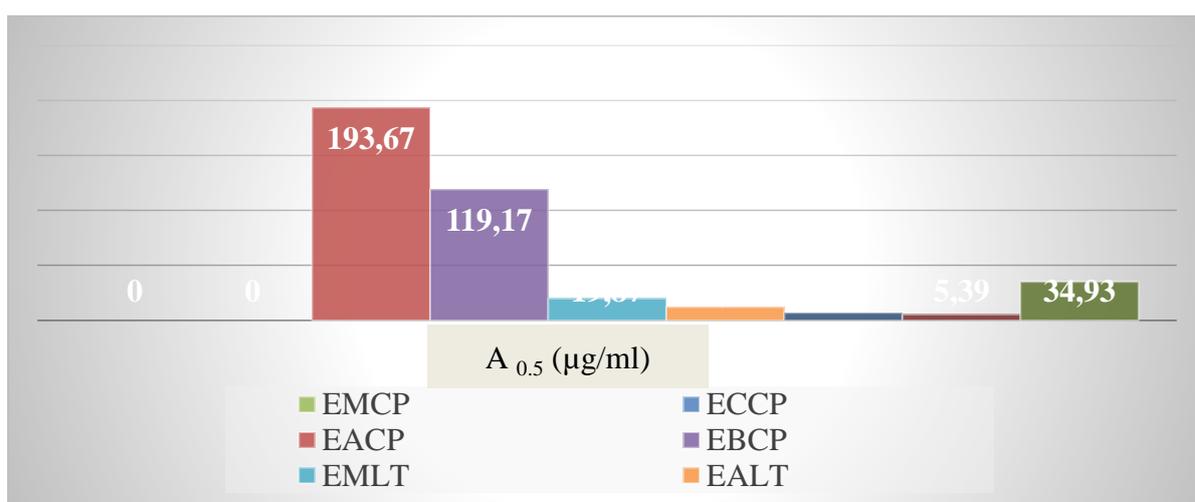


Figure 41. Valeurs des A_{0.5} du test FRAP.

Les résultats du test du pouvoir réducteur confirment les résultats des trois premiers tests, l'EBCP avec la valeur de (A_{0.5} : 119.17±0.29 µg/ml) a montré la meilleure activité par rapport aux autres extraits de la même plante. Cette activité est loin d'être comparé avec les deux standards, l'acide ascorbique (A_{0.5} : 6.77±1.15 µg/ml) et l'acide tannique (A_{0.5} : 5.39±0.91 µg/ml) mais elle est trois fois inférieure au standard l'α-Tocophérol (A_{0.5} : 34.93±2.38 µg/ml). Par contre les deux extraits EALT et EMLT avec des valeurs de (A_{0.5} : 11.95±0.24, 19.87±0.28 µg/ml respectivement) ont manifesté une très bonne activité par rapport à l'α-

Tocophérol ($A_{0,5}$: $34.93 \pm 2.38 \mu\text{g/ml}$) et de deux à trois fois inférieure à celle des deux standards, l'acide ascorbique et l'acide tannique. Ce bon résultat est peut-être dû à la présence de composés donneurs d'électrons, puisque la méthode du pouvoir réducteur suit le mode d'action du transfert d'électron (ET).

III.3.2.5. Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénanthroline

En présence d'un antioxydant, le fer ferrique (Fe^{3+}) est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}), ce dernier forme un complexe stable avec la phénanthroline de couleur rouge orange, qui a un maximum d'absorbance à 510 nm.

Tableau 08. Réduction du fer par la méthode phénanthroline.

Extraits	Absorbances							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	$A_{0,5} \mu\text{g/mL}$
EMCP	0,35±0,01	0,36±0,01	0,40±0,01	0,42±0,01	0,51±0,00	0,67±0,00	0,98±0,01	46,56±1,54
ECCP	0,33±0,01	0,34±0,00	0,36±0,01	0,38±0,02	0,48±0,01	0,58±0,02	0,76±0,00	75,67±0,29
EACP	0,34±0,01	0,35±0,01	0,38±0,01	0,42±0,01	0,49±0,01	0,68±0,01	1,21±0,01	56,56±3,34
EBCP	0,35±0,01	0,37±0,00	0,41±0,02	1,36±0,01	1,56±0,01	1,65±0,01	2,11±0,01	20,29±1,16
	0.78125 μg	1.5625 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	
EMLT	0,30±0,0	0,30±0,00	0,31±0,00	0,33±0,00	0,39±0,01	0,46±0,01	0,63±0,02	31,60±2,29
EALT	0,31±0,01	0,31±0,01	0,33±0,00	0,37±0,01	0,45±0,01	0,57±0,02	0,88±0,01	17,58±2,40
	0.78125 μg	1.5625 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	
BHA	0,49±0,01	0,59±0,01	0,73±0,02	0,93±0,01	1,25±0,04	2,10±0,05	4,89±0,06	0,93±0,07
BHT	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01	2,24±0,17

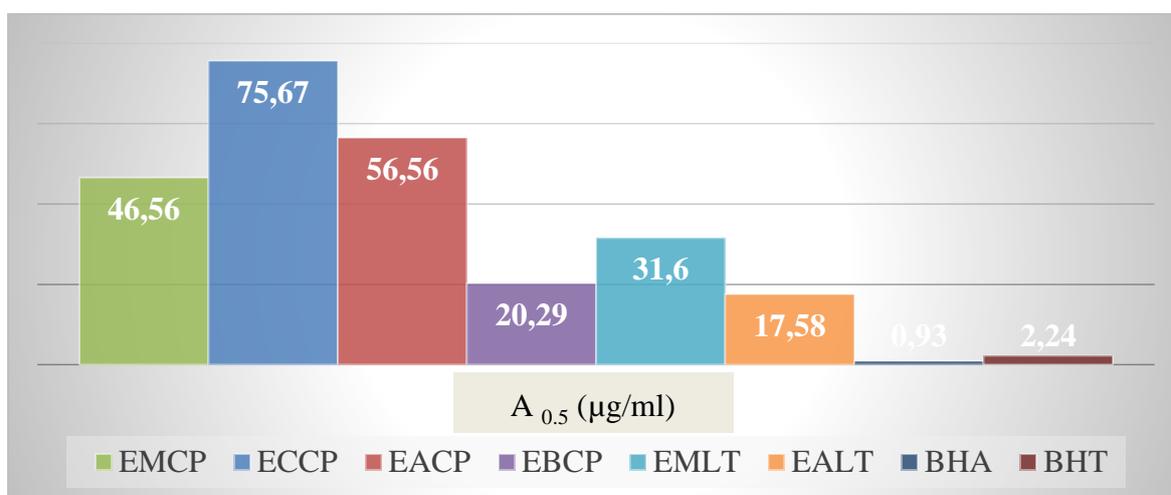


Figure 42. Valeurs des $A_{0,5}$ dans le test phénanthroline.

En comparaison avec les autres extraits, l'EBCP a présenté la meilleure activité de réduction du fer avec ($A_{0.5}$: $20,29 \pm 1,16 \mu\text{g/ml}$), l'activité est vingt fois inférieure à celle du BHA ($A_{0.5}$: $0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$) et neuf fois plus faible que le BHT ($A_{0.5}$: $2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/ml}$). De plus l'EALT avec ($A_{0.5}$: $17,58 \pm 2,40 \mu\text{g/ml}$) a manifesté une activité presque égale à celle de l'EBCP. Les résultats de cette activité sont en accord avec les cinq méthodes précédentes.

III.3.2.6. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

L'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) est un composé organique stable utilisé dans l'évaluation de l'activité antiradicalaire, avec un pic d'absorption à 734 nm. 103,104 en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène, le cation ABTS^{•+} subit une réduction et passe de la couleur bleu-vert à un état neutre incolore. Les résultats sont présentés dans la Figure 44 et le tableau 9 ci-dessous.

Tableau 9. Inhibition du cation radical ABTS.

Extraits	Inhibition (%)							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	IC ₅₀ $\mu\text{g/mL}$
EMCP	Na	8.26±0.35	13.16±1.97	17.75±0.47	27.03±0.54	37.67±1.86	57.66±0.72	162.39±0.15
ECCP	3.95±0.27	8.47±1.09	14.06±0.82	19.95±0.37	31.25±0.98	38.27±0.46	49.34±0.29	> 200
EACP	4.01±1.43	7.70±1.44	12.40±0.78	19.71±0.62	32.92±1.39	44.22±0.37	67.83±1.65	124,22±0.61
EBCP	5.60±0.53	12.10±0.21	18.23±1.62	34.05±0.57	54.33±1.39	76.03±0.57	88.52±0.57	49.52±1.54
EMLT	13,38±0,17	15,28±0,54	22,81±0,26	37,34±0,73	60,35±0,42	85,81±0,76	91,85±0,19	39.12±0.30
EALT	16,45±0,76	20,64±0,26	31,42±0,68	51,35±0,92	76,82±0,79	89,84±0,84	92,07±0,26	24.12±0.42
BHT	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62	1.81±0.10

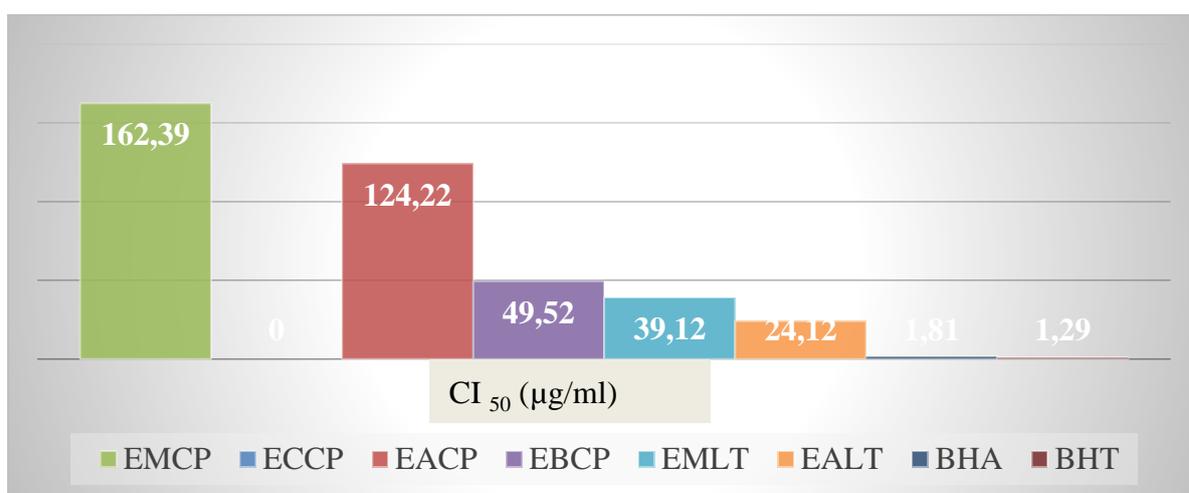


Figure 43. Valeurs des CI₅₀ dans le test ABTS.

Les résultats du test ABTS ont révélé que l'EBCP présente la meilleure activité antiradicalaire (CI_{50} : 49.52 ± 1.54 $\mu\text{g/ml}$) en le comparant avec les autres extraits de la même plante. L'activité est modérée en la comparant avec les deux standards : BHT et BHA (CI_{50} : 1.29 ± 0.30 , 1.81 ± 0.10 $\mu\text{g/ml}$ respectivement). Cependant l'EALT a révélé une activité (CI_{50} : 24.12 ± 0.42 $\mu\text{g/ml}$) modérée par rapport aux standards utilisés. Les résultats du sixième test confirment les résultats des tests précédents.

III.3.2.7. Piégeage du radical superoxyde par la méthode DMSO-alcalin

Le principe de cette activité est de mesurer la capacité des échantillons à empêcher la réduction du NBT par le piégeage des anions superoxydes résultants de la solution alcaline. Les résultats obtenus du pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage du radical superoxyde (DMSO-alcalin) sont représentés dans la figure 45 et tableau 10.

Tableau 10. Inhibition de l'anion superoxyde.

Extraits	Inhibition (%)							
	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	400 μg	800 μg	IC_{50} $\mu\text{g/mL}$
EMCP	40.35 ± 1.57	56.02 ± 0.54	70.22 ± 0.60	79.50 ± 1.11	86.79 ± 0.78	89.31 ± 0.82	92.26 ± 0.59	21.91 ± 0.70
ECCP	13.25 ± 1.02	31.30 ± 0.74	48.26 ± 0.18	62.83 ± 1.72	71.45 ± 1.43	81.79 ± 0.81	86.07 ± 1.13	64.77 ± 2.37
EACP	44.43 ± 0.50	65.13 ± 1.41	78.62 ± 0.96	86.97 ± 0.55	91.59 ± 0.38	93.44 ± 0.70	94.24 ± 0.25	14.36 ± 0.90
EBCP	48.26 ± 0.67	67.66 ± 0.38	74.86 ± 0.41	85.98 ± 1.33	89.73 ± 1.07	90.83 ± 1.06	91.85 ± 1.31	13.61 ± 0.38
EMLT	75.06 ± 1.26	84.49 ± 1.55	89.66 ± 0.60	94.46 ± 0.41	94.55 ± 0.78	95.42 ± 1.26	96.14 ± 0.32	<12.5
EALT	79.44 ± 1.18	87.34 ± 1.88	91.55 ± 1.26	93.39 ± 1.15	94.35 ± 0.34	95.40 ± 0.46	96.24 ± 1.08	<12.5
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	CI_{50} $\mu\text{g/ml}$
Acide tannique	83.58 ± 1	88.35 ± 0.61	92.66 ± 0.42	94.98 ± 0.85	96.53 ± 0.23	96.95 ± 0.81	97.54 ± 0.68	< 3,125
α -tocophérol	70.09 ± 1.84	79.07 ± 2.54	85.1 ± 1.36	89.48 ± 0.88	94.76 ± 0.28	96.62 ± 0.29	96.86 ± 1.53	< 3,125

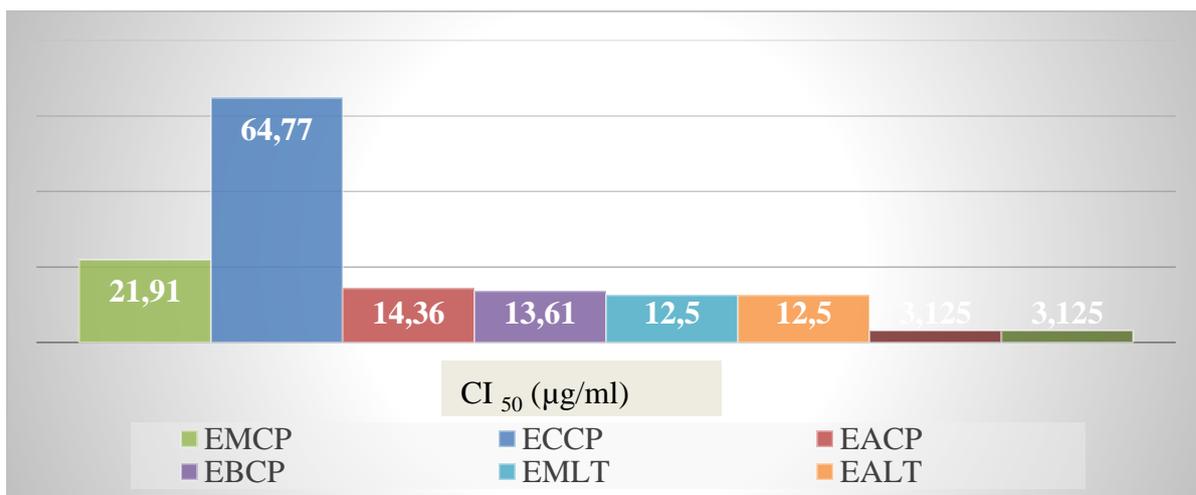


Figure 44. La capacité de piégeage du superoxide DMSO alcalin.

L'analyse des résultats de l'activité antioxydante montre que tous les extraits sont actifs, en première position l'EBCP (CI₅₀ : 13.61±0.384 µg/ml), suivi directement par l'EACP (CI₅₀ : 14.36±0.90 µg/ml) et en troisième position l'EMCP (CI₅₀ : 21.91±0.70 µg/ml) et l'ECCP en quatrième position (CI₅₀ : 64.77±2.37µg/ml). En prenant en considération les valeurs élevées d'inhibitions des extraits aux différentes concentrations, ces résultats sont presque dans l'intervalle des standards utilisés, l'acide tannique (CI₅₀ : < 3,125 µg/ml) et l'α-Tocophérol (CI₅₀ : < 3,125 µg/ml). De même les deux extraits de la deuxième plante ont manifesté une très bonne activité : l'EALT (CI₅₀ : < 12,5 µg/ml) et l'EMLT (CI₅₀ : < 12,5 µg/ml), ces résultats sont proche des résultats des standards utilisés.

En conclusion et à l'issue de ces résultats, il apparaît que l'extrait butanolique de *Centaurea parviflora* (EBCP) et acétate de *limonium thouini* (EACP) ont montré une activité modérée antiradicalaire aux : DPPH, piégeage du radical Galvinoxyl, réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC), pouvoir réducteur (FRAP), réduction par la formation du complexe Fe²⁺-phenanthroline, piégeage du cation radical ABTS^{•+}, Piégeage du radical superoxide par la méthode DMSO-alcalin et piégeage de superoxide DMSO alcalin. Il est à noter que l'ordre d'efficacité des extraits étudiés était le même dans les sept méthodes, ce qui confirme la corrélation entre les méthodes étudiées et la bonne pratique expérimentale.

EBCP : (CI₅₀ : 59,38±0,72 µg/ml) Piégeage du radical DPPH.

EALT : (CI₅₀ : 40,58±0.90 µg/ml) Piégeage du radical DPPH.

EBCP : (CI₅₀ : 36.25±0.72µg /ml) Piégeage du radical Galvinoxyl.

EALT : (CI_{50} : 38.86 ± 0.58 $\mu\text{g/ml}$) Piégeage du radical Galvinoxyl.

EBCP : ($A_{0.5}$: 71.80 ± 1.22 $\mu\text{g/ml}$) Réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC).

EALT : ($A_{0.5}$: 39.10 ± 2.25 $\mu\text{g/ml}$) Réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC).

EBCP : ($A_{0.5}$: 119.17 ± 0.29 $\mu\text{g/ml}$) Pouvoir réducteur (FRAP).

EALT : ($A_{0.5}$: 11.95 ± 0.24 $\mu\text{g/ml}$) Pouvoir réducteur (FRAP).

EBCP : ($A_{0.5}$: 20.29 ± 1.16 $\mu\text{g/ml}$) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} phenanthroline.

EALT : ($A_{0.5}$: 17.58 ± 2.40 $\mu\text{g/ml}$) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} phenanthroline.

EBCP : (CI_{50} : 49.52 ± 1.54 $\mu\text{g/ml}$) Piégeage du cation radical ABTS^{\bullet} .

EALT : (CI_{50} : 24.12 ± 0.42 $\mu\text{g/ml}$) Piégeage du cation radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$.

EBCP : (CI_{50} : 13.61 ± 0.384 $\mu\text{g/ml}$) Superoxide par la méthode DMSO-alcalin.

EALT : (CI_{50} : $< 12,5$ $\mu\text{g/ml}$) Superoxide par la méthode DMSO-alcalin.

References:

- [1] Mostafa, B. Khalifa, M., Güney, K., GC-MS analysis of *Cedrus atlantica* var. *Pendula* (Carrière) Carrière, International Journal of Trend in Research and Development, Volume 5(4), ISSN: 2394-9333
- [2] Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A. (2010). Chemical Composition and in Vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Cedrus atlantica*. Int. J. Agric. Biol.,12: 381-385.
- [3] SAAB, A. M., HARB, F. Y., KOENIG, W. A. (2005) Essential oil components in heart wood of *Cedrus libani* and *Cedrus atlantica* from Lebanon MINERVA BIOTEC 2005;17:159-61.
- [4] Aberchane, M., Fechtal, M., Chaouch, A. (2004). Analysis of Moroccan Atlas Cedarwood Oil (*Cedrus atlantica* Manetti). Journal of Essential Oil Research, 16:6, 542-547.
- [5] Boğa, M., Alkan, H., Ertaş, A., Oral, E. V., Yılmaz, M.A., Yeşil, Y., Gören, A.C., Temel, H., Kolak, U. (2016). Phytochemical profile and some biological activities of three *Centaurea* species from Turkey, Tropical Journal of Pharmaceutical Research September 2016; 15 (9): 1865-1875.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'Algérie dispose d'une diversité exceptionnelle de plantes qui dont certains sont utilisées en pharmacopée traditionnelle comme remède pour soigner de divers maladies et infections, cependant des tests *in vitro* sont nécessaires pour confirmer l'utilisation de ces espèces dans la pratique médicale.

L'analyse chimique par CPG/SM a montré que l'huile essentielle de *Cedrus Atlantica* nous a permis d'identifier 39 composés dont les produits majoritaires sont : l' α -Pinene (46,613%), β -Pinene (9.698%) et Bornyl Acetate (7.330%).

L'analyse CPL/SM de l'extrait butanolique de *Centaurea parviflora* nous a permis d'identifier huit (08) composés dont 06 acides phénoliques et (02) flavonoïdes :

- 1- Acide quinique
- 2- Cinq dérivés de l'acide chlorogénique
- 3- Rutine
- 4- Quercétine 3-O-glucoside

L'extraction de la partie aérienne de *Centaurea parviflora* et *Limonium thouini* par différents solvants a permis d'obtenir une bonne teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols qui diffère d'un extrait à un autre.

En parallèle l'activité antioxydante des différents extraits des deux plantes *Centaurea parviflora* et *Limonium thouini* a été testée selon sept méthodes : piégeage du radical libre DPPH, piégeage du radical Galvinoxyl, méthode CUPRAC, pouvoir réducteur (FRAP), réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline, piégeage de l'ABTS et piégeage du radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$).

Pour la *Centaurea parviflora* la meilleur capacité antioxydante a été observée sur l'extrait butanolique et d'acétate d'éthyle, dans la plupart des tests. Par contre l'extrait chloroformique est le plus faible par rapport aux autres.

Alors que dans la deuxième plante *Limonium thouini* la plupart des tests ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle possède la capacité antioxydante la plus élevée. Cette dernière est justifiée par une richesse en composés phénoliques. Ces derniers sont probablement responsables de son potentiel antioxydant.

Conclusion générale

EBCP : (CI_{50} : $59,38 \pm 0,72$ $\mu\text{g/ml}$) Piégeage du radical DPPH.

EALT : (CI_{50} : $40,58 \pm 0,90$ $\mu\text{g/ml}$) Piégeage du radical DPPH.

EBCP : (CI_{50} : $36,25 \pm 0,72$ $\mu\text{g /mL}$) Piégeage du radical Galvinoxyl.

EALT : (CI_{50} : $38,86 \pm 0,58$ $\mu\text{g/ml}$) Piégeage du radical Galvinoxyl.

EBCP : ($A_{0,5}$: $71,80 \pm 1,22$ $\mu\text{g/ml}$) Réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC).

EALT : ($A_{0,5}$: $39,10 \pm 2,25$ $\mu\text{g/ml}$) Réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC).

EBCP : ($A_{0,5}$: $119,17 \pm 0,29$ $\mu\text{g/ml}$) Pouvoir réducteur (FRAP).

EALT : ($A_{0,5}$: $11,95 \pm 0,24$ $\mu\text{g/ml}$) Pouvoir réducteur (FRAP).

EBCP : ($A_{0,5}$: $20,29 \pm 1,16$ $\mu\text{g/ml}$) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline.

EALT : ($A_{0,5}$: $17,58 \pm 2,40$ $\mu\text{g/ml}$) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline.

EBCP : (CI_{50} : $49,52 \pm 1,54$ $\mu\text{g/ml}$) Piégeage du cation radical ABTS^{*+} .

EALT : (CI_{50} : $24,12 \pm 0,42$ $\mu\text{g/ml}$) Piégeage du cation radical ABTS^{*+} .

EBCP : (CI_{50} : $13,61 \pm 0,384$ $\mu\text{g/ml}$) Superoxide par la méthode DMSO-alcalin.

EALT : (CI_{50} : $< 12,5$ $\mu\text{g/ml}$) Superoxide par la méthode DMSO-alcalin.

L'ensemble de ces résultats explique les propriétés pharmacologiques des plantes et fournit une base de données scientifiques à l'utilisation de ces plantes dans la médecine traditionnelle algérienne.

Résumé

Le présent travail concerne trois plantes : *Centaurea parviflora*, *Limonium thouini* et *Cedrus Atlantica*, appartenant respectivement aux familles des Asteraceae, Plumbaginaciae et Pinaceae.

Dans cette étude, l'analyse CPG/MS de l'huile essentielle de *Cedrus Atlantica* nous a permis l'identification de 39 constituants dominée par la présence des produits majoritaires : l' α -Pinene (46,613%), β -Pinene (9.698%) et Bornyl Acetate (7.330%).

De plus, L'analyse CPL/MS de l'extrait butanolique de *Centaurea parviflora* nous a permis d'identifier huit (08) composés dont (06) acides phénoliques et (02) flavonoïdes : acide quinique, cinq dérivés de l'acide chlorogénique, rutine et quercétine 3-O-glucoside.

Le potentiel antioxydant a été étudié in vitro et les extraits de *Centaurea parviflora* et de *Limonium thouini* ont manifesté un pouvoir antioxydant important.

L'EBCP et l'EALT ont montré les meilleures valeurs CI_{50} et cela justifier par leurs richesses en composés phénoliques et en flavonoïdes et flavonols.

Les résultats des activités biologiques observées pour les trois meilleures valeurs d' CI_{50} de *Centaurea parviflora* et *Limonium thouini* sont comme suit :

EBCP : (CI_{50} : 13.61 ± 0.384 $\mu\text{g/ml}$) Superoxyde par la méthode DMSO-alcalin.

EBCP : ($A_{0.5}$: $20,29 \pm 1,16$ $\mu\text{g/ml}$) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline.

EBCP : (CI_{50} : 36.25 ± 0.72 $\mu\text{g/mL}$) Piégeage du radical Galvinoxyl.

EALT : (CI_{50} : $< 12,5$ $\mu\text{g/ml}$) Superoxyde par la méthode DMSO-alcalin.

EALT : ($A_{0.5}$: 11.95 ± 0.24 $\mu\text{g/ml}$) Pouvoir réducteur (FRAP).

EALT : ($A_{0.5}$: $17,58 \pm 2,40$ $\mu\text{g/ml}$) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline.

Mot clé :

Centaurea parviflora, *Limonium thouini*, *Cedrus Atlantica*, Asteraceae, Plumbaginaciae et Pinaceae, CPL/SM, CPG/SM, flavonoïdes, flavonols.

Abstract

The present work concern three plants: *Centaurea parviflora*, *Limonium thouini* and *Cedrus Atlantica*, belonging respectively to the families Asteraceae, Plumbaginaciae and Pinaceae. In this study, GC/MS analysis of the essential oil of *Cedrus Atlantica* allowed us to identify 39 constituents dominated by the presence of the majority products: α -Pinene (46.613%), β -Pinene (9.698%) and Bornyl Acetate (7.330%).

In addition, LC/MS analysis of the butanolic extract of *Centaurea parviflora* allowed us to identify eight (08) compounds including (06) phenolic acids and (02) flavonoids; quinic acid, five derivatives of chlorogenic acid, rutin and quercetin 3-*O*-glucoside.

The antioxidant potential has been studied *in-vitro* and the extracts of *Centaurea parviflora* and *Limonium thouini* showed an important antioxidant activity.

EBCP and EALT showed the best IC₅₀ values and this is justified by their richness in phenolic compounds, flavonoids and flavonols.

The results of observed biological activities for the three best IC₅₀ values of *Centaurea parviflora* and *Limonium thouini* are as follows:

EBCP: (IC₅₀: 13.61 ± 0.384 µg / ml) Superoxide by the DMSO-alkaline

EBCP: (A_{0.5}: 20.29 ± 1.16 µg / ml) Reduction by formation of Fe⁺²-phenanthroline complex

EBCP: (IC₅₀: 36.25 ± 0.72 µg/mL) Scavenging of the Galvinoxyl radical

EALT: (IC₅₀: < 12.5 µg/ ml) Superoxide by the DMSO-alkaline

EALT: (A_{0.5}: 11.95 ± 0.24 µg/ ml) Reducing power (FRAP)

EALT: (A_{0.5}: 17.58 ± 2.40 µg/ml) Reduction by formation of Fe⁺²-phenanthroline complex

Keyword:

Centaurea parviflora, *Limonium thouini*, *Cedrus Atlantica*, Asteraceae, Plumbaginaciae and Pinaceae, LC/MS, GC/MS, flavonoids, flavonols.

ملخص

هذا العمل المنجز يخص ثلاثة نباتات، *Centaurea parviflora*، *Limonium thouini* و *Cedrus Atlantica* المنتمية بالترتيب للعائلات Asteraceae، Plumbaginaciae و Pinaceae. في هذه الدراسة سمح لنا تحليل CPG/MS للزيت الأساسي لنبته *Cedrus Atlantica* بتحديد بنية 39 مركب و بغالبية أكبر كل من α -Pinene (46,613%)، β -Pinene (9.698%)، Bornyl Acetate (7.330%). بالإضافة إلى ذلك، سمح لنا تحليل CPL/MS لمستخلص البوتانول لنبته *Centaurea parviflora* بتحديد بنية ثمانية (08) مركبات منها ستة (06) من الأحماض الفينولية و اثنان (02) فلافونويد: حمض الكينيك، خمسة مشتقات من حمض الكلوروجينيك، روتين وكيرسيتين 3-O- الجلوكوزيد. تمت دراسة مضادات الأكسدة وأظهرت مستخلصات النباتين *Centaurea parviflora* و *Limonium thouini* فعالية جيدة ضد الأكسدة. أظهر كل من المستخلصين EBCP و EALT أفضل قيم IC_{50} والتي تبرر وجود كمية كبيرة من المركبات الفينولية والفلافونويد والفلافونول. كانت نتائج الأنشطة البيولوجية المرصودة لأفضل ثلاث قيم IC_{50} من كانت نتائج دراسة الفعالية البيولوجية لأفضل ثلاث قيم IC_{50} لنبتي *Limonium* و *Centaurea parviflora* *thouini* على النحو التالي:

أظهر مستخلص EBCP (CI_{50} : 13.61±0.38 µg/ml) في اختبار Superoxide DMSO-alkalin بين مستخلص EBCP ($A_{0.5}$: 20,29±1,16 µ/ml) في اختبار Réduction par la phenanthroline أثبت المستخلص EBCP (CI_{50} : 36.25±0.72 µg /mL) في اختبار Piégeage du Galvinoxyl أظهر مستخلص EALT (CI_{50} : < 12,5 µg/ml) في اختبار Superoxide DMSO-alkalin بين مستخلص EALT ($A_{0.5}$: 11.95±0.24 µg/ml) في اختبار Pouvoir réducteur (FRAP) أثبت المستخلص EALT ($A_{0.5}$: 17,58±2,40 µg /mL) في اختبار Réduction par la phenanthroline

الكلمات المفتاحية:

Limonium thouini, *Centaurea parviflora*, *Cedrus Atlantica* مضادة للأكسدة

Utilisation de plusieurs méthodes colorimétriques *in-vitro* pour l'évaluation des activités biologiques de trois plantes médicinales

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie de la nutrition

Résumé

Le présent travail concerne trois plantes : *Centaurea parviflora*, *Limonium thouini* et *Cedrus Atlantica*, appartenant respectivement aux familles des Asteraceae, Plumbaginaciae et Pinaceae.

Dans cette étude, l'analyse CPG/SM de l'huile essentielle de *Cedrus Atlantica* nous a permis l'identification de 39 constituants dominée par la présence des produits majoritaires : l' α -Pinene (46,613%), β -Pinene (9.698%) et Bornyl Acetate (7.330%).

De plus, L'analyse CPL/SM de l'extrait butanolique de *Centaurea parviflora* nous a permis d'identifier huit (08) composés dont (06) acides phénoliques et (02) flavonoïdes : acide quinique, cinq dérivés de l'acide chlorogénique, rutine et quercétine 3-O-glucoside.

Le potentiel antioxydant a été étudié in vitro et les extraits de *Centaurea parviflora* et de *Limonium thouini* ont manifesté un pouvoir antioxydant important.

L'EBCP et l'EALT ont montré les meilleures valeurs CI_{50} et cela justifier par leurs richesses en composés phénoliques et en flavonoïdes et flavonols.

Les résultats des activités biologiques observées pour les trois meilleures valeurs d' CI_{50} de *Centaurea parviflora* et *Limonium thouini* sont comme suit :

EBCP : (CI_{50} : 13.61 \pm 0.384 μ g/ml) Superoxide par la méthode DMSO-alcalin.

EBCP : ($A_{0.5}$: 20,29 \pm 1,16 μ g/ml) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline.

EBCP : (CI_{50} : 36.25 \pm 0.72 μ g /mL) Piégeage du radical Galvinoxyl.

EALT : (CI_{50} : < 12,5 μ g/ml) Superoxide par la méthode DMSO-alcalin.

EALT : ($A_{0.5}$: 11.95 \pm 0.24 μ g/ml) Pouvoir réducteur (FRAP).

EALT : ($A_{0.5}$: 17,58 \pm 2,40 μ g/ml) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline.

Mot clé : *Centaurea parviflora*, *Limonium thouini*, *Cedrus Atlantica*, Asteraceae, Plumbaginaciae et Pinaceae, CPL/SM, CPG/SM, flavonoïdes, flavonols.

Date de soutenance : 27/06/2019