

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955 – سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955 – SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Science biologique

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

**Evaluation du potentiel antioxydant et
l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'huile
essentielle de *Pulicaria odora***

Présenté Par : Kharef Nour El Houda

Kharef Warda

Kehoul Amani

Khelassi Sarra

Membre de Jury :

M^f. Basli Abdelkader

Promoteur

Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda

M^{me}. Boulechfar Safa

Examineur

Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda

M^{me}. Mellahi Lamia

Président

Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire : 2023/2024

Remerciement

Avant tout, Nous remercions notre Dieu le tout puissant, créateur Allah, Grand et Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser se travail dans de meilleures conditions.

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au laboratoire de Biochimie de l'Université 20 Aout 1955 Skikda, on remercie vivement les ingénieurs des laboratoires de département SNV.

*On exprime d'abord nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à Monsieur **Basli Abdelkader**, pour avoir encadré, guidé avec patience, d'écoute de la confiance et d'avoir consacré à la bonne réalisation de ce mémoire.*

*Nous remercions également les membres du jury Madame **Mellahi Lamia** et Madame **Boulechfar Safa** de nous avoir fait honneur de jury la soutenance, consacré leur temps à la lecture de ce manuscrit et d'accepter de juger et d'évaluer ce travail.*

*Nous remercions les personnes et beaucoup plus Monsieur **Aouzal Badis** pour d'avoir consacré autant d'heures pour dont la collaboration pour réalisation de certaines étapes de ce travail, sa patience et sa gentillesse.*

Nous remercions nos parents, nos amies et nos cousines avec leur soutien moral et nous ont aidés de près ou de loin.

Dédicace

Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed paix et salut sur lui le sceau des prophètes ainsi que ses compagnons pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam

Je dédie ce modeste travail

*A la source de mes efforts, la Flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur : **ma mère** que j'aime.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien Moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours Sacrifié pour me voir réussir, à toi **mon père**
A ma chère sœur : **Nesrine** pour son aide, encouragement permanent et son soutien moral.*

*A mon marie **Zinou** pour avoir eu le courage, sa patience et sa gentillesse*

***A moi-même** pour ce succès*

*A mon amie plus fidèle, mon cœur, ma vie et mon soutien moral : **Ihsen** que j'aime beaucoup plus.*

*A ma cousine **Ryma***

A mes oncles et mes tantes

*A mon amie plus fidèle : **Malek Rima Maroua Chaima Oumaima Djihene***

A ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et pires moments de ma vie.

Nour El Houda

Dédicace

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL :

À mes parents, qui m'ont toujours soutenu et encouragé dans mes études, et qui m'ont inculqué le goût du travail et de la persévérance. Je vous suis reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi.

À ma chère sœur : NANA Pour son aide, encouragement permanent et son soutien moral.

À mes chers frères : WALID, KARIM, ZINOU et ADEL

Nos liens fraternels sont uniques et précieux. Je suis fier d'avoir grandi à vos côtés et d'avoir pu partager tant de moments extraordinaires avec vous.

À moi-même, pour avoir eu le courage de me lancer dans ce projet et de le mener à bien. Je suis fier de ce que j'ai accompli.

À tous ceux qui poursuivent leurs rêves, avec détermination et passion. Que ce mémoire vous serve d'inspiration et vous encourage à ne jamais renoncer à vos ambitions.

Ce mémoire est le fruit d'un travail acharné et de nombreuses remises en question. Je suis heureuse de pouvoir enfin le partager avec vous.

À l'avenir, plein de promesses et d'opportunités. Que ce mémoire soit une contribution modeste à la construction d'un monde meilleur.

WARDA

Dédicace

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la Santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce mémoire à la source de tendresse, de patience et de générosité, ma mère « Hanane ». Qui a œuvré pour ma réussite par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans

Ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Puisse dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père « Sofian », qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.

A Mes grands-mères et grand-père, je leur adresse mes remerciements particuliers et que Dieu leur accorde bonne santé et bien-être.

Ma chère sœur : Ritadj pour votre encouragement permanent et votre soutien moral.

Mes frères : sohaibe, Ahmed, yazen pour votre appui et encouragement

A mes amis qui m'ont permis d'oublier les moments de stress et de découragement.

A tous mes miens

Amani

إهداء

بعد تعب سنين طويلة، ها انا اليوم أقف على عتبة تخرجني اقطف ثمار تعبي وارفع قبعتي فخورة بنفسي، فالحمد لله
الذي ما تم جهد ولا ختم سعي إلا بفضلته، الحمد لله دائماً وابداً

إلى والدي الذي زين إسمي بأجمل الألقاب، من دعمني بلا حدود و أعطاني بلا مقابل، إلى من علمني أن الدنيا كفاح
و سلاحها العلم و المعرفة، داعمي الأول في مسيرتي و سندي و قوتي و ملاذي بعد الله فخري و اعتزازي (أبي)
إلى اليد الخفية التي ازلت عن طريقي الاشواك وساندتني في كل خطوة وخفت عني مصاعب الحياة بدعواتها التي
كانت تحتضني دائماً

(امي)

الى اخوتي، كتفي وسندي في الحياة أتمنى لكم كل النجاح والفرحة والتوفيق في حياتكم

(أسامة ومحمد وعبد الرحمان ويوسف)

الى أخواتي لطالما كانت كلماتك تطمئني وتحفزك يشجعني على تخطي العقبات ويهون علي صعوبة الطريق، اتمنى لكم
كل التوفيق و السعادة

(منال وأريج)

و الى رفاق الخطوة الأولى و الأخيرة ، و من كانوا خلال السنين العجاف سحاباً ممطراً ، صديقاتي

(خلود ولينة ورائية)

سارة

Résumé

Pulicaria odora est une la plante médicinale largement répandue dans la région de Skikda. Elle est utilisée en phytothérapie pour leur activité antioxydant et anti-inflammatoire, car elle est riche en huiles essentielles, ce qui justifie leurs choix dans cette étude. L'activité antioxydant des différentes concentrations d'HE extraite par hydrodistillation a été mesurée par le radical DPPH et blanchissement de β -carotène. L'effet de ce dernier a montré que cette activité est moins et plus importante respectivement par rapport à l'acide ascorbique utilisé. Pour l'activité anti-inflammatoire : inhibition de la dénaturation d'albumine humaine et l'hémolyse de globule rouge, l'HE de *Pulicaria odora* possède le plus grand effet que le Diclofénac. Ce qui justifie son usage dans le traitement des inflammations et comme nouvelle molécule anti-inflammatoire.

Mots clés : *Pulicaria odora*, huile essentielle, antioxydant, anti-inflammatoire.

Abstract

Pulicaria odora is a medicinal plant widely distributed in the Skikda region. It is used in herbal therapy for its antioxidant and anti-inflammatory activity, as it is rich in essential oils, which justifies their choices in this study. The antioxidant activity of the different concentrations of HE extracted by hydrodistillation was measured by DPPH radical and beta-carotene whitening. The effect of the latter showed that this activity is less and greater respectively compared to the ascorbic acid used. For anti-inflammatory activity: inhibition of human albumin denaturation and red blood cell hemolysis, *Pulicaria odora* HE has the greatest effect than Diclofenac. This justifies its use in the treatment of inflammation and as a new anti-inflammatory molecule.

Key words: *Pulicaria odora*, essential oil, antioxidant, anti-inflammatory.

ملخص

ودن الحلوف هي النباتات الطبية المتوفرة على نطاق واسع في منطقة سكيكدة. يتم استخدامها في العلاجات النباتية بسبب نشاطها المضاد للأكسدة والمضادة للالتهابات، لأنها غنية بالزيوت الأساسية، مما يبرر اختيارها في هذه الدراسة. تم قياس النشاط المضاد للأكسدة من مستويات متنوعة من هيدروجستيل التي يتم استخراجها من خلال DPPH الجذري وبي كاروتين البيض وقد أظهرت تأثير هذا الأخير أن هذا النشاط اقل و أكبر مقارنة مع فيتامين C المستخدم. بالنسبة للأنشطة المضادة للالتهابات: تخفيف من التهاب الالبومين البشري و التهاب الخلايا الدموية الحمراء، يمتلك الزيوت الأساسية من وذن الحلوف أكثر تأثيرا من ديكلوفيناك. ما يدعم هو استخدامها في معالجة التهابات وكيفية تكوين نموذج جديد مضاد للالتهاب.

الكلمات الرئيسية: وذن الحلوف، الزيوت الأساسية، مضاد للاكسدة، مضاد للالتهابات.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Pulicaria odora*

Introduction	1
I-1 La famille des Astéracées	3
I-2 Description botanique.....	3
I-3 Le genre <i>Pulicaria</i>	3
I-3-1 Usages traditionnels.....	3
I-4 L'espèce <i>Pulicaria odora</i>	4
I-4-1 Description botanique.....	4
I-4-1-1 Taxonomie	5
I-4-1-2 Répartition géographique	5
I-4-1-3 Utilisations et propriétés thérapeutique	6
I-4-1-4 Utilisations culinaires	6
I-4-1-5 Toxicité.....	6
I-4-1-6 Quelques caractères de la plante.....	6

Chapitre II : Les huiles essentielles généralités

II-1 Définitions.....	8
II-2 Répartition et localisation	8
II-3 Composition chimique et biosynthèse des huiles essentielles	8
II-3-1 Huiles essentielles de <i>Pulicaria odora</i>	9
II-4 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	10
II-5 Utilisation des huiles essentielles.....	11
II-5-1 En pharmacie.....	11
II-5-2 En cosmétologie et parfumerie.....	11

II-5-3 Dans l'industrie alimentaire.....	11
II-6 Mode d'extraction des huiles essentielles	12

Chapitre III : Activités pharmacologiques des huiles essentielles

III-1 Stress oxydatif et antioxydant.....	13
III-1-1 Stress oxydatif.....	13
III-1-2 Les radicaux libres	13
III-1-3 Les maladies liées au stress oxydant.....	13
III-2 Antioxydant	14
III-2-1 Définitions.....	14
III-2-2 Les différents types et sources d'antioxydants	14
III-2-3 Mode d'action d'un antioxydant	15
III-3 Inflammation et activité anti-inflammatoire	15
III-3-1 Définitions.....	15
III-3-2 Les types des anti- inflammatoires	16
III-3-2-1 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	16
III-3-2-2 Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	16
III-3-3 Anti-inflammatoires naturels	16
III-3-4 Mode d'action d'anti-inflammatoire	17

Partie expérimental

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV-1- Matériel végétal.....	18
IV-1-1- Récolte des plantes	18
IV-1-2- Préparation de l'échantillon.....	18
IV-2- Extraction d'huile essentielle	19
IV-3- Calcul du rendement.....	20
IV-4- Evaluation <i>in-vitro</i> de l'activité antioxydante	21
IV-4-1- Effet scavenger du radical DPPH.....	21
IV-4-2- Test de blanchissement du β -carotène.....	23
IV-5- Evaluation <i>in-vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire.....	24

IV-5-1- Inhibition de la dénaturation protéique (Albumine Humaine)	24
IV-5-2- Evaluation de la protection contre l'hémolyse	26
IV-6- Etude statistique.....	27

Chapitre V : Résultats et discussion

V-1- Rendement de l'huile essentielle	28
V-2- Evaluation de l'activité antioxydante	29
V-2-1- Effet scavenger du radical DPPH	29
V-2-1- Effet de blanchissement de β -carotène	31
V-3- Evaluation <i>in-vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire	32
V-3-1- Evaluation de l'activité protectrice contre la dénaturation d'albumine.....	32
V-3-2- Evaluation de la protection contre l'hémolyse	34
Conclusion.....	37

Liste des abréviations

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

AFNOR : Association Française de Normalisation

β-carotène : Bêta-carotène

BHA : Butyl hydroxy anisole

BHT : Butyl hydroxy toluène

COX 1 : Cycloxygénase 1

COX 2 : Cycloxygénase 2

dm : décimètre

DPPH : Diphenylpicrylhydrazine

etc : et cetera

ex : exemple

g : gramme

GC-MS : Chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

GR : globules rouges

h : heure

HE : Huile essentielle

HEs : Huiles essentielles

ICAM-1 : Inter cellular adhesion molecule

IC50 : Inhibitory concentration 50

IL : Interleukine

IL-1β : Interleukine-1β

IL-6 : Interleukine-6

IL-8 : Interleukine-8

mg : milligramme

min : minute

mm : millimetre

ml : millilitre

NF-κ B: Nuclear factor-kappa B

nm : nanomètre

OH : hydroxyle ou oxhydryle

PGE2 : Prostaglandine E2

PGI2 : Prostaglandine I2

PH : potentiel hydrogène

***P.odora** : Pulicaria odora*

rpm : revolutions per minute ou tours par minutes

SD: standard deviation

t: Temps

TNF-α: Tumor factor necroses

μl : microlitre

UV/VIS : spectroscopie UV-visible

% : Pourcentage

°C : degrés Celsius

Listes des figures

Figure 01 : la plante <i>Pulicaria odora</i>	4
Figure 02 : caractéristique du climat et du sol de <i>Pulicaria odora</i> (Lavagne., 2006).....	7
Figure 03 : Mode d'extraction des huiles essentielles (Castro et al., 1999).....	12
Figure 04 : Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques (Berset et Cervelier., 1996).....	15
Figure 05 : Photos de <i>Pulicaria odora</i> et son site d'échantillonnage	18
Figure 06 : les racines de <i>Pulicaria odora</i>	19
Figure 07 : Le dispositif de l'hydrodistillation	20
Figure 08 : Réaction entre le radical DPPH (violet) et un antioxydant donnant la molécule de DPPH neutralisée (jaune). Les spectres UV/VIS correspondants sont également affichés (Wollinger et al., 2016).....	21
Figure 09 : Protocole de réduction de radical DPPH (Burits et Bucar., 2000)	22
Figure 10 : Protocole de blanchissement de β -carotène (Sun et Ho., 2005)	24
Figure 11 : Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (Habibur et al., 2012).....	25
Figure 12 : Protocole de stabilisation membranaire (Labu et al., 2015).....	27
Figure 13 : Photo de l'HE de <i>Pulicaria odora</i>	28
Figure 14 : Résultats du test DPPH pour l'HE et l'acide ascorbique analysés.....	29
Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE et l'acide ascorbique.....	30
Figure 16 : Pourcentage d'inhibition de blanchissement du β -carotène en fonction des concentrations de l'HE et l'acide ascorbique	31
Figure 17 : Résultats du test dénaturation d'albumine humaine pour l'HE et diclofénac analysés ...	33
Figure 18 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation d'albumine humaine en fonction des concentrations de l'HE et diclofénac	33
Figure 19 : Résultats du test de l'hémolyse hypotonique pour l'HE et diclofénac analysés.....	35
Figure 20 : Pourcentage de l'activité anti hémolytique en fonction des concentrations de l'HE et diclofénac	35

Liste des tableaux

Tableau 01 : Taxonomie de <i>Pulicaria odora</i>	5
Tableau 02 : Composition de l'huile essentielle de <i>Pulicaria odora</i>	10
Tableau 03 : Le rendement d'huile essentielle	28
Tableau 04 : Evaluation du test DPPH d'HE de <i>P.odora</i>	30
Tableau 05 : Evaluation du test β -carotène d'HE de <i>P.odora</i>	32
Tableau 06 : Evaluation du test dénaturation d'albumine humaine d'HE de <i>P odora</i>	34
Tableau 07 : Evaluation du test de l'hémolyse hypotonique d'HE de <i>P odora</i>	36

Partie bibliographique

Introduction

Introduction

L'homme s'intéresse aux plantes depuis toujours pour but de résoudre leurs problèmes de santé. Elles forment la base de la médecine traditionnelle grâce à leur richesse en métabolites secondaires utilisées comme composés actifs. Selon l'organisation mondiale de la santé, près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**Ventrella et Marinho., 2008 ; Ladoh et al., 2014**).

L'Algérie possède une richesse non négligeable en plantes aromatiques et médicinales qui susceptible d'être utilisées dans différents domaines tels qu'en pharmacie, parfumerie, cosmétique et en agroalimentaire pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont à l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits...) qui se présentent très souvent comme des mélanges complexes (**Kechar et al., 2016**).

La famille des Astéracées, est l'une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et la plus utilisée par les thérapeutes traditionnels. Les espèces de cette famille sont réputées actives grâce aux composés bioactifs qu'elles refferment (**Kechar et al., 2016**).

A cet effet, nous nous sommes intéressés à l'une des espèces de la famille des Astéracées appelées *Pulicaria odora*, qui pousse dans la région Hai EL Doumrana Bni Bchir de wilaya de SKIKDA.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité in-vitro antioxydant et anti-inflammatoire de l'huile essentielle de la plante. Ce choix s'est basé sur la disponibilité et la facilité d'obtention du *Pulicaria odora* en Algérie et sur le fait que relativement peu de travaux ont été faits dans ce sens sur son huile essentielle.

Ce travail est subdivisé en 5 chapitres :

Nous essayerons dans un premier temps de donner une synthèse bibliographique contenant trois chapitres :

Le premier chapitre présente une généralité sur le matériel végétal étudié à savoir *Pulicaria odora*, son utilisation et sa composition.

Le deuxième chapitre comprend une explication des huiles essentielle en général et de l'huile de *P. odora* en particulier, les propriétés des huiles essentielle et leurs compositions ainsi que ses usages dans des divers domaines et la méthode pour l'extraire.

Le troisième chapitre porte sur les différents anti-inflammatoires et antioxydante leurs classifications et mode d'action.

La seconde partie du travail est réservée à l'étude expérimentale, divisée en deux chapitres, dans laquelle nous allons effectuer :

Un quatrième chapitre est consacré à la présentation des méthodes d'extraction de la partie racinaire de cette plante et à l'évaluation des activités, antioxydante test (DPPH, β -Carotène), et anti-inflammatoire test (Albumine, hémolyse des GR).

Un cinquième chapitre qui présente les résultats obtenus, leurs discussions et leurs comparaisons avec des études antérieures réalisée sur des plantes du même Genre.

Enfin, une conclusion générale résumant l'ensemble des résultats obtenus et dégageant les principales perspectives.

Chapitre I :

Généralités sur *Pulicaria odora*



I-1 La famille des Astéracées

Le mot **Aster** est un terme grec qui signifie étoile et qui désigne la forme d'une fleur. Le terme *Asteraceae* (anciennement appelé Composée) est la famille la plus importante de plantes à fleurs, avec plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites, dont 750 espèces endémiques. (**Abdel-Lateff et al., 2002**).

Selon (**Abdel-Lateff et al., 2002**), cette famille comprend environ 109 genres et plus de 408 espèces en Algérie. Il s'agit d'une des familles d'angiospermes les plus importantes (**Magalhaes et al., 2006**) et produit des plantes alimentaires telles que les laitues (*Lactuca*), les artichauts (*Cynara*) et le tournesol (*Heliantus annuus*).

Cela comprend des arbustes herbacés, parfois des arbres ou plantes grimpantes et quelque fois, plante charnues (**Walters et al., 2002**). Certaines espèces sont utilisées dans les pharmacies (**Guignard., 1994**).

La famille composée présente une abondance de substances naturelles (**Harborne et Swain., 1969**), et ses feuilles sont alternes, opposées ou simplement verticillées, parfois lobées ou découpées. Parfois stériles, actiniques ou zygotés, les fleurs hermaphrodites ou unisexuées sont présentes (**Walters et al., 2002**).

I-2 Description botanique

Les herbes vivaces et non vivaces se trouvent principalement dans les régions tempérées et froides du monde. Comprend également les arbustes et sous-arbrisseaux. Il comprend parfois des herbes, rarement des plantes aquatiques et du lierre, et même des épiphytes. Les feuilles sont généralement alternes, mais peuvent être simples opposées ou radiales (**Ziane et al., 2023**).

I-3 Le genre *Pulicaria*.

Le genre *Pulicaria* est le troisième plus grand genre de la famille des Astéracées. Il contient 85 espèces, principalement des herbes (**Touati et al., 2014**), originaires de Méditerranée, d'Europe (Espagne, France, etc.), d'Asie (Chine, Turquie, Japon, Corée, etc.) et d'Afrique (Égypte, Algérie, Maroc. . .) (**Quezel et Santa., 1963**). En Algérie, le genre *Pulicaria* est représenté par 16 espèces dont 4 sont originaires du Sahara (**Boumaraf et al., 2016**).

I-3-1 Usages traditionnels

Pulicaria odora est une plante médicinale couramment utilisée en médecine traditionnelle dans le

nord-africain pour traiter les douleurs de dos, les troubles intestinaux et les crampes menstruelles. Elle est également utilisée pour soigner les blessures et surtout pour guérir l'ulcère gastrique. (Ezoubeiri et al., 2005).

Elle est aussi utilisée en Maroc comme remède traditionnelle appelé "Mssakhen", donné aux femmes après l'accouchement. Elle est considérée comme épice appréciée pour sa saveur pour parfumer le pain et la viande (Ezoubeiri et al., 2005). Selon (Bellekhdar., 1977), traditionnellement, les racines de cette plante sont utilisées pour leurs propriétés anti-inflammatoires (Hanbali et al., 2005).

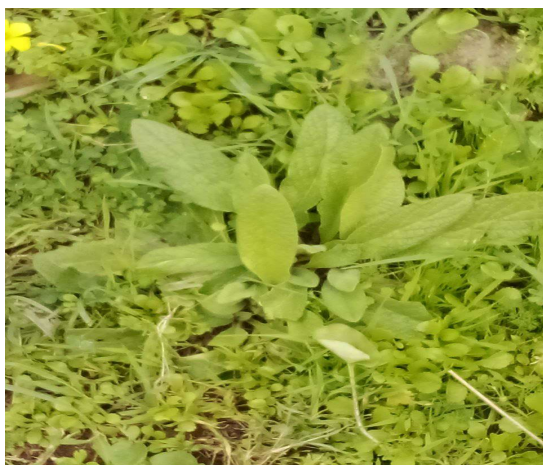
I-4 L'espèce *Pulicaria odora* ;

I-4-1 Description botanique

Pulicaria odora L son nom commun : la pulicaire odorante (anonyme., 2011), l'espèce *Pulicaria odora* L. connue en arabe sous le nom " Ouden El hallof " ou encore " Amzough guilef " en berbère (Emberger et Chadeaud., 1960).

Plante vivace de 3-6 dm dressé, simple ou rameuse au sommet, La tige souterraine renflée en tubercules est couverte de feuilles écailleuses, les radicales grandes, les caulinaires embarrassantes, dépourvues d'oreilles saillantes (Rameau et al., 2008 ; Roubaudi., 2011).

Grands capitules (15-25mm) longuement pédonculés, solitaires au sommet de la tige et des rameaux, toutes les fleurs jaunes celles en languette étalées, akènes blanchâtres aigrette rousse dotée d'une couronne dentée de 10 à 12 poils 3 fois plus longs que l'akène. La floraison de la plante a lieu au mois de juin à août ; polonisée par les insectes (ou autogame) ; dispersée par le vent (Rameau et al., 2008 ; Roubaudi., 2011).



a) Feuilles



b) Fleurs

Figure 01 : la plante *Pulicaria odora* (photo originale)

I-4-1-1 Taxonomie

Selon (Lavagne., 2006) et (Cronquist., 1988), la classification de cette plante est donnée dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Taxonomie de *Pulicaria odora*

Règne	Plante
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Spermatophyta
Sous-division	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Pulicaria</i>
Espèce	<i>Pulicaria odora</i>

I-4-1-2 Répartition géographique

Selon (Bayer et al., 1990), *Pulicaria odora* est une plante qui colonise les maquis, clairières et les essarts.

On la rencontre dans les régions fraîches de la région méditerranéenne, Alpes-Maritimes, Var, Bouches-du-Rhône, pyrénées-Orientales et la Corse, ainsi qu'en Espagne, Portugal, Italie et Nord de l'Afrique. C'est une plante qui supporte certaines fluctuations climatiques telles que l'ensoleillement. Elle supporte également les changements de texture du sol et les fluctuations du PH (Bayer et al., 1990).

En Algérie, elle se rencontre principalement dans les régions fraîches, notamment dans la grande et petite Kabylie (Bayer et al., 1990).

I-4-1-3 Utilisations et propriétés thérapeutique

Pulicaria odora est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés antipyrétiques, anti-inflammatoires et hépato-protectrices (Gonzalez-Romero et al., 2001).

Les espèces de *Pulicaria odora* ont des propriétés médicinales contre l'otite moyenne, la dermatite, la pharyngite I, l'ostéosclérose, la salmonellose et la rougeole. Il traite également les maux de dos, les troubles intestinaux et les crampes menstruelles (Ezoubeiri et al., 2005).

Les composés terpéniques, comme toutes les espèces de la famille des Astéracées, possèdent diverses propriétés biologiques et pharmacologiques, telles que leur activité cytotoxique, antitumorale, antibactérienne et phytotoxique, ainsi que leur efficacité huileuse par rapport aux antibiotiques standard (Rodriguez et al., 1976),

I-4-1-4 Utilisations culinaires

Pulicaria odora a une forte saveur de menthe et est souvent utilisée comme agent aromatisant dans les aliments et les boissons. Il est couramment utilisé dans les thés, les soupes et les ragoûts.

En plus de ses utilisations culinaires, la *Pulicaria* est également utilisée dans les parfums et les savons pour son parfum agréable (Minkue., 2000).

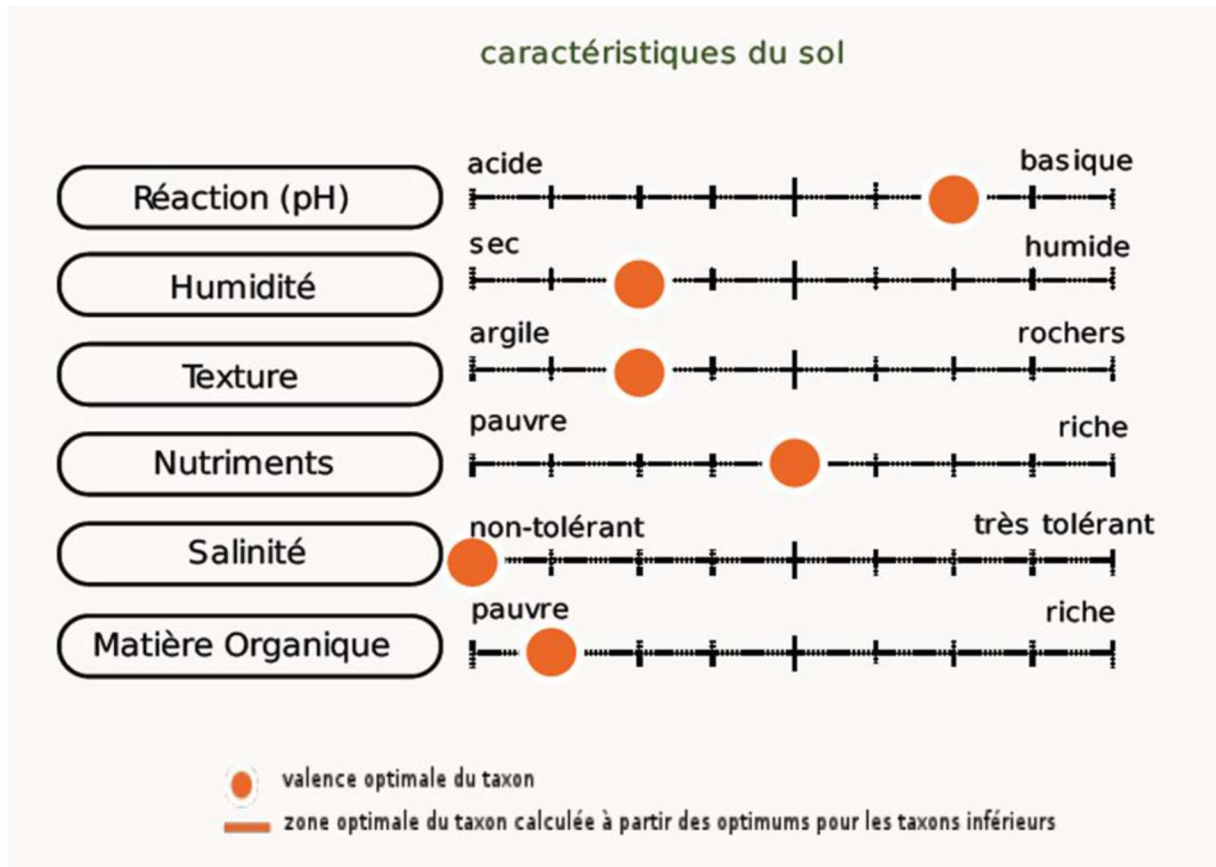
Les organismes sont exploités à l'échelle industrielle et l'industrie alimentaire, comme les arômes et les colorants alimentaires (Minkue., 2000).

I-4-1-5 Toxicité

Bien que *Pulicaria odora* possède de nombreuses propriétés bénéfiques, il est important de noter que la plante peut être toxique si elle est ingérée en grande quantité. Son huile essentielle contient un composé appelé pulégone, qui peut causer des dommages au foie et aux reins. (Laura Oberhaus et al., 2007).

L'ingestion de *Pulicaria* peut également provoquer des nausées, des vomissements et des convulsions. Les femmes enceintes doivent éviter d'utiliser *Pulicaria*, car cela peut provoquer une fausse couche ou nuire au fœtus. Un potentiel de transfert de toxines dans la chaîne alimentaire par *Pulicaria D* (Laura Oberhaus et al., 2007).

I-4-1-6 Quelques caractères de la plante



Pulicaria odora pousse dans les climats chauds proches de la mer, dans des sols plus ou moins secs à texture argileuse, nécessitant de la lumière, moyennement riches en nutriments, pauvres en matière organique et intolérance à la salinité avec PH proche de la basicité (Lavagne, 2006).

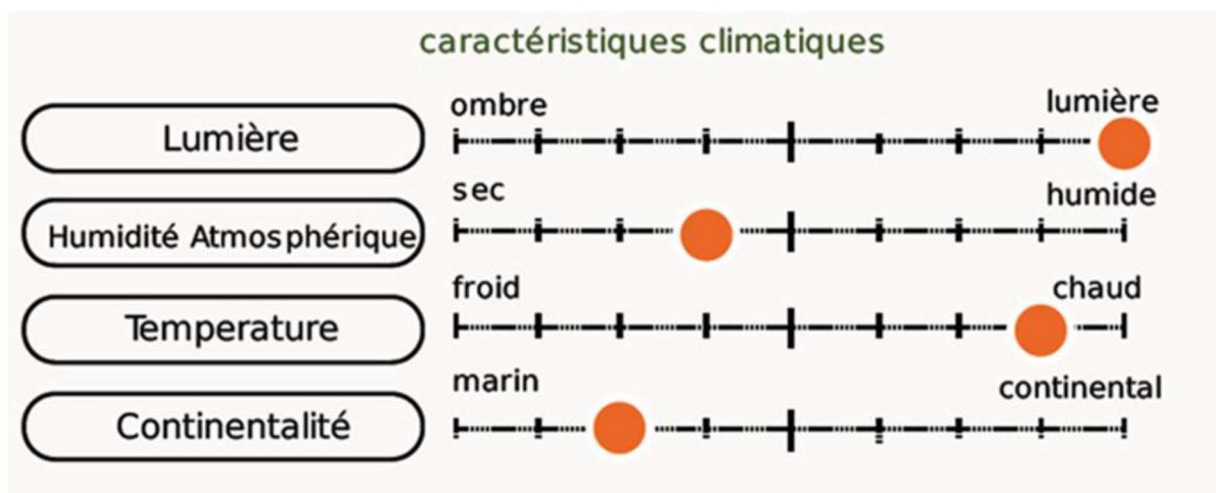


Figure 02 : caractéristique du climat et du sol de *Pulicaria odora* (Lavagne, 2006)

Chapitre II :

Les huiles essentielles généralités



II-1 Définitions

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, enfleurage, expression, solvant ou par d'autres méthodes (**Belaiche., 1979 ; Valnet., 1984 ; Wichtel et Anthon., 1999**). La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (**Garnero., 1996**).

II-2 Répartition et localisation

Selon (**Khia et al., 2014**), les huiles essentielles sont presque exclusivement présentes chez les végétaux supérieurs. Leur structure chimique est extrêmement complexe, ce qui les rend particulières, car chaque huile essentielle regroupe en réalité plusieurs composés aromatiques très complexes et très variés.

Selon (**Aboughe Angone et al., 2015**), les huiles essentielles peuvent être conservées dans toutes les parties de la plante (fleurs, feuilles, fruits, graines, écorces, tiges, ...), avec une quantité plus élevée dans les parties supérieures (fleurs et feuilles).

Selon (**Teucher et al., 2003**), les huiles essentielles sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et se regroupent généralement dans des cellules glandulaires spécialisées, qui se trouvent en surface de la cellule et sont recouverts d'une cuticule.

Les métabolites secondaires se rassemblent habituellement dans des structures histologiques spécialisées, souvent situées sur la surface de la plante, comme les poils sécréteurs, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs pour les Astéracées (**Teucher et al., 2003**).

II-3 Composition chimique et biosynthèse des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et éminemment variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les composés terpéniques tels que les monoterpènes et terpènes sesquiterpéniques, et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents comme l'alcool cinnamique. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils comme les acides, alcools, aldéhydes, esters... (**Bakkali et al., 2008 ; Couic-Marinier et al., 2013**).

La biosynthèse des constituants de ces huiles essentielles emprunte deux voies utilisant comme intermédiaires soit l'acide mévalonique, soit l'acide shikimique respectivement pour les terpenoïdes et les phénylpropanoïdes (Singh et al., 1990).

II-3-1 Huiles essentielles de *Pulicaria odora*

Une étude réalisée par (Hanbali et al., 2005), a montré que la distillation à la vapeur des racines de *Pulicaria odora* produit de l'huile jaune. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) de cette huile essentielle a indiqué qu'elle se compose d'un mélange de plus de 70 composés, donc cinq non identifiés.

Cette étude a montré que l'huile de *P. odora* est riche en composés oxygénés, qui représentent 93,77% de l'huile. Le thymol (47,83%) et l'isobutyrate thymol (30,05%) ont été les principaux constituants. La teneur élevée en composés oxygénés peut expliquer l'odeur caractéristique et parfumée de l'huile essentielle de *P. odora* (Hanbali et al., 2005).

la teneur en composés phénoliques des huiles essentielles est directement liée à leurs activités anti-inflammatoires et antioxydantes, en raison des propriétés intrinsèques de ces molécules. Cela ouvre des perspectives d'utilisation de ces huiles dans les domaines agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique en remplacement des composés de synthèse (Bakkali et al., 2008).

La composition de l'huile essentielle de *P. odora* est résumée dans le tableau 02.

Tableau 02 : Composition de l'huile essentielle de *Pulicaria odora*

Composé	Indice de retention	Pourcentage
Methylpropanoic acid	648	4.46
Methylbutanoic acid	730	0.712
α -Pinene	939	0.02
Camphene	954	Tr
Benzaldehyde	960	Tr
5-Methyl furfural	964	Tr
6-Methy-5-hepten-2-one	986	Tr
β -Myrcene	992	Tr
α -Phellandrene	1006	Tr
α -Terpinene	1017	Tr
p-Cymene	1026	Tr
β -Phellandrene	1030	0.01
1,8-Cineole	1031	0.01
Benzylalcohol	1032	Tr
Artemesia ketone	1062	0.02
Cresol	1076	0.02
Linalool	1100	0.01
Camphor	1149	0.03
p-Cymene-8-ol	1189	0.03
α -Terpineol	1192	0.02
Thymol	1293	47.83
Carvacrol	1302	2.78
Modhephene	1384	0.05
Epi- γ -santalene	1447	0.11
β -santalene	1460	0.02
Thymol isobutyrate	1513	30.05
Caryophyllene oxide	1583	0.24

II-4 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (Degryse et al., 2008). Elles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaient à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (Coic-Marinié et al., 2013).

Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé (**Desmares et al., 2008**). Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge scolarée et de romarin. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation ; Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité (**Couic-Marinier et al., 2013**).

II-5 Utilisation des huiles essentielles

II-5-1 En pharmacie

Les plantes aromatiques sont d'une grande importance en raison de leur nature essentielle et de leur composition chimique, ce qui fournit des applications importantes dans les domaines médical et pharmaceutique. (**Bekhechi et Abdelomahid., 2010**).

Les substances actives des plantes médicinales sont divisées en deux types :

- Les produits métaboliques primaires (principalement les saccharides), essentiels à la vie végétale, qui se trouvent dans tous les vertébrés par photosynthèse.
- Les produits métaboliques secondaires, principalement dérivés de l'azote, qui sont essentiels pour la vie des plantes (**Bekhechi et Abdelomahid., 2010**).

II-5-2 En cosmétologie et parfumerie

L'utilisation des HEs dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (**Rhayour., 2002**).

II-5-3 Dans l'industrie alimentaire

L'industrie alimentaire vise des produits durables et sains, ainsi qu'une meilleure qualité organoleptique. Une nouvelle technique de réduction de la prolifération des micro-organismes est l'utilisation de l'hexane. Les plantes aromatiques et leurs HEs sont utilisés dans la conservation des aliments. Carvacrol, un groupe diversifié des HEs, est ajouté à divers produits alimentaires de l'industrie agroalimentaire pour augmenter le goût et prévenir le développement de contaminants alimentaires. Des études ont montré que l'HE du thym, de l'origan, de la cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxogénèse de plusieurs bactéries et levures responsables des intoxications alimentaires (**Rhayour., 2002**).

Les huiles essentielles sont largement utilisées dans les arômes alimentaires, en particulier dans les saveurs salées, où les huiles essence d'épices et d'arômes sont préférées (Fernandez et Chemat., 2012).

II-6 Mode d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles des matières végétales peut être réalisées aux moyens de nombreux et divers procédés, basés sur des diverses techniques anciennes : Distillation, expression, enflourage, ou incision ou plus récentes : extraction par microonde ou ultrason (Castro et al., 1999). La distillation reste la méthode la plus prisée du fait qu'elle est facile à mettre en œuvre. La figure 03 regroupe les différentes voix d'extraction des huiles essentielles.

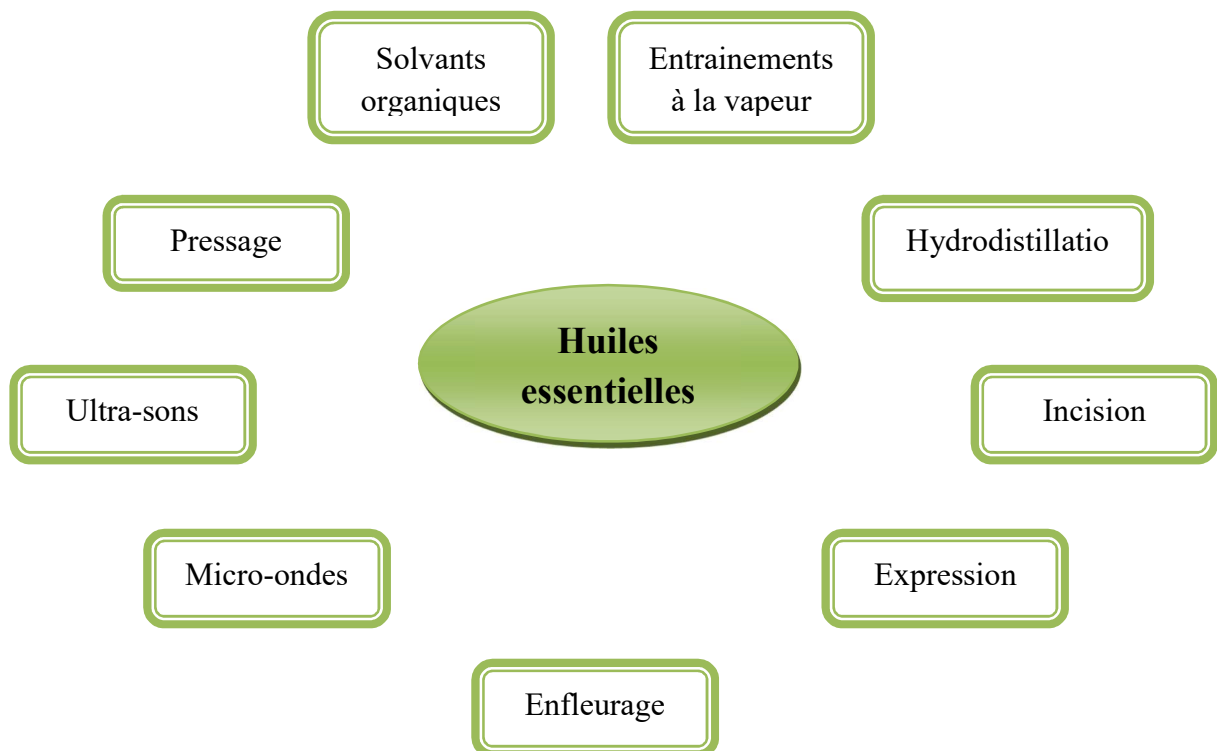


Figure 03 : Mode d'extraction des huiles essentielles (Castro et al., 1999)

Chapitre III :

Activités pharmacologiques des huiles essentielles

III-1 Stress oxydatif et antioxydant

III-1-1 Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production des radicaux libres et des éléments oxydants et la capacité de leur élimination par les antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Barouki., 2006 ; Reuter et al., 2010**).

Le stress oxydatif peut résulter d'une exposition accrue aux oxydants ou d'une protection réduite contre les oxydants (**Davies., 2000**).

Dans les conditions normales, la balance oxydative définit donc l'équilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les espèces antioxydantes. Mais en conditions d'oxydation, les prooxydants emportent sur les antioxydants, qui peuvent conduire à de nombreuses maladies inflammatoires (**Bayala., 2014**).

III-1-2 Les radicaux libres

Par définition, un radical libre est défini comme toute molécule ou atome possédant un ou plusieurs électrons non appariés, capables d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe (ou contenant deux électrons de même spin dans une case quantique). Cela qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (**Finaud et al., 2006 ; Mac Laren., 2007**). Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voire quelques nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (exemple : 'OH) (**Mac Laren., 2007 ; Sayre et al., 2008 ; Goto et al., 2008**).

III-1-3 Les maladies liées au stress oxydant

La majorité des affections causées par le stress oxydant se manifestent avec l'avancée en âge, car le vieillissement réduit les défenses antioxydantes et accroît la production de radicaux mitochondriaux. Le stress oxydant entraînera l'apparition de molécules biologiques anormales et une surexpression de certains gènes, ce qui entraînera la naissance de nombreuses maladies telles que le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aigu, le œdème pulmonaire et le vieillissement induit (**Favier., 2003**).

Les maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires peuvent également être causées par le stress oxydant (**Favier., 2003**).

III-2 Antioxydant

III-2-1 Définitions

Un antioxydant est une substance qui à faible concentration, prévient ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (**Halliwell., 1990**). Un nouveau concept beaucoup plus général a défini un antioxydant comme "une substance qui retarde, empêche ou élimine les dommages oxydatifs à une molécule cible" (**Gutteridge et Mitchell., 1999 ; Medina- Navarro et al., 2010**).

Un antioxydant idéal devrait être aisément absorbé, susceptible, d'éliminer les radicaux libres et chélater les métaux redox à des niveaux physiologiquement appropriés (**Rahman., 2007**).

Afin de maintenir l'homéostasie redox de la cellule, il existe de nombreux systèmes de défense antioxydante endogènes ou exogènes, enzymatiques ou non (**Rezaie et al., 2007**).

Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique et le tocophérol (vitamine E) (**Favier., 2006**).

III-2-2 Les différents types et sources d'antioxydants

Les tissus végétaux contiennent un réseau de composés qui contrôlent le niveau d'espèces réactives d'oxygène (**Moreno et al., 2006**). L'effet oxydatif de ces dernières peut être minimisé par l'utilisation d'antioxydants. Il existe deux sources d'antioxydants :

1) Sources synthétiques : Ils constituent une source importante d'antioxydants comme l'hydroxytoluène butylé (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA) (**Mechergui et al., 2010**).

2) Sources enzymatiques : Les antioxydants d'origine alimentaire sont nombreux, certains sont liposolubles comme le tocophérol, β carotène, lycopène, d'autres sont hydrosolubles comme l'acide ascorbique, et d'autres sont plus hydrosolubles que liposolubles comme les polyphénols (**Moreno et al., 2006**).

Les antioxydants synthétiques sont nocifs et cancérigènes, pour cette raison, l'application d'extraits de plantes naturelles comme antioxydants enzymatiques dans l'industrie alimentaire devient de plus en plus importante (**Wollinger et al., 2016**).

En outre, il a été rapporté que l'utilisation d'antioxydants naturels peut protéger les effets nocifs des radicaux libres induits chez le corps humain (**Niki., 2012**). Dans ce contexte, les huiles essentielles et leurs composants ont été intensément criblés pour leurs activités antioxydantes dans les industries

alimentaires, en raison de leur état de sécurité relative et de leur large acceptation par les consommateurs (Mothana et al., 2012).

III-2-3 Mode d'action d'un antioxydant

Le processus d'oxydation est de type radicalaire : les antioxydants vont intervenir comme « capteurs » de radicaux libres. Les antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme proposé dès 1976 par Sherwin : l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus au moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un radical intermédiaire stabilisé de ses structures mésomères conjuguées (figure 04) (Berset et Cervelier., 1996)

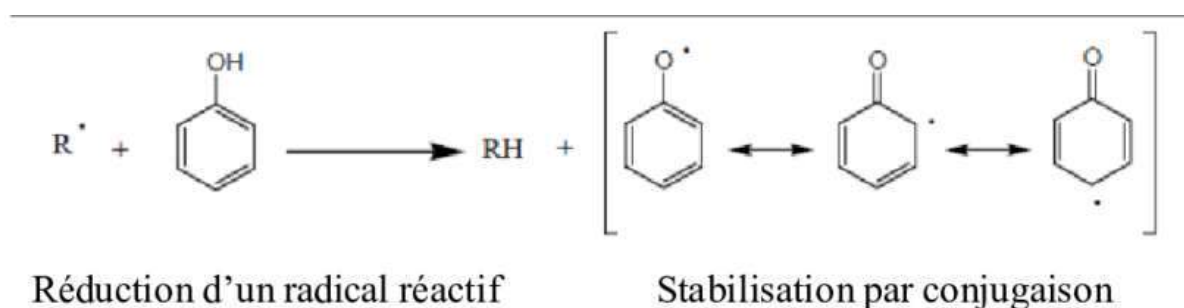


Figure 04 : Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques (Berset et Cervelier., 1996)

III-3 Inflammation et activité anti-inflammatoire

III-3-1 Définitions

L'inflammation est une réaction de défense naturelle déclenchée lorsque le corps est menacé par des agents pathogènes, des cellules endommagées ou des irritants. Cette réponse est essentielle pour l'être humain afin de combattre les différentes infections, pour favoriser la cicatrisation et le rétablissement de la fonction normale du tissu endommagé. Elle est caractérisée par 4 signes une rougeur, un gonflement avec chaleur et douleur (Russo-Marie et al., 1998).

Quel que soit le facteur inducteur, la réponse inflammatoire sera la même mais avec des intensités et des durées variables. La réponse inflammatoire peut être éphémère, se manifeste immédiatement après l'invasion de l'agent pathogène et dure jusqu'à 48 h environ. Dans ce cas elle

est appelée inflammation aiguë. Toutefois, elle peut persister des années d'où on l'appelle l'inflammation chronique. **(Russo-Marie et al., 1998).**

III-3-2 Les types des anti- inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont répartis en deux grands groupes :

III-3-2-1 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Ils forment un groupe hétérogène de substances qui agissent sur les produits de la réaction inflammatoire quelle que soit son origine. Ce sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques **(Nevers., 2017).**

Leur efficacité est liée à leur mécanisme d'action principale qui est l'inhibition compétitive réversible ou non des cyclo-oxygénases (COX1 / COX2), enzymes biofonctionnelle qui permet la biosynthèse des prostaglandines et du thromboxane à partir de l'acide arachidonique, cette caractéristique des AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines importants médiateurs de l'inflammation (PGE2 et PGI2) **(Bidaut-Russell et Gabriel., 2001 ; Nicolas et al., 2001 ; Orliaguet et al., 2013).**

III-3-2-2 Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol principal glucocorticoïde surrénalien. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques **(Payne et Adcock., 2001).**

Leur mécanisme d'action est le même que celui des glucocorticoïdes endogènes. Les corticoïdes agissent sur de nombreux métabolismes et fonctions de l'organisme. Ils augmentent la production de la lipocortine (protéine anti-inflammatoire) inhibant ainsi la phospholipase A2 donc la libération de l'acide arachidonique. **(Barnes, 1998).**

Par contre ils diminuent fortement la migration des polynucléaires, monocytes- macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines, les ions superoxydes **(Barnes, 1998).**

III-3-3 Anti-inflammatoires naturels

Des études menées in vitro et in vivo ont démontré l'effet anti-inflammatoire et antioxydant d'un grand nombre de plantes utilisées en médecine traditionnelle ainsi que le mécanisme d'action de plusieurs substances naturelles extraites de ces plantes. Ces substances actives peuvent agir à

plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire en inhibant par exemple l'activation des cellules inflammatoires, la synthèse des cytokines pro-inflammatoires (**Duwiejua et Zeitlin., 1993**).

Les plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter les cas d'inflammations semblent être une alternative fiable et logique à la recherche d'agents anti-inflammatoires sûr et efficace. Il est bien connu que la dénaturation des protéines tissulaires conduit à des maladies inflammatoires et des arthrites. Les produits naturels qui peuvent empêcher la dénaturation des protéines seront donc utiles pour le développement de la thérapie anti-inflammatoire (**Alhakmani et al., 2013**).

III-3-4 Mode d'action d'anti-inflammatoire

Les lipoxgénases et les cyclooxygénases (COX 1 et COX 2) jouent un rôle essentiel dans la réponse inflammatoire, en produisant des médiateurs pro-inflammatoires tels que les leucotriènes et les prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (**Youghbaré-Ziérou et al., 2016**).

En outre, une production excessive de médiateurs inflammatoires tels que les interleukines (IL-1 β , IL-6, IL-8), le facteur de nécrose tumorale (TNF- α), le facteur nucléaire- κ B (NF- κ B), la molécule d'adhésion (ICAM-1) peut entraîner des maladies inflammatoires et le cancer (**Taofiq et al., 2016**).

Il est possible de guérir spontanément les inflammations aiguës ou de les traiter avec des anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens. Les effets iatrogènes de ces molécules, bien qu'elles soient efficaces, incluent des dommages digestifs et des toxicités rénales (insuffisance rénale aiguë). La recherche de nouveaux agents thérapeutiques anti-inflammatoires doit être orientée vers les plantes médicinales, qui sont une source potentielle de molécules naturelles anti-inflammatoires en raison de ces problèmes iatrogènes (**Youghbaré-Ziérou et al., 2016**).

Partie expérimentale

Chapitre *IV* :

Matériels et méthodes

IV-1- Matériel végétal

IV-1-1- Récolte des plantes

Les échantillons constitués de feuilles et de quelques racines de *Pulicaria odora* sont récoltés durant les mois de mars et avril, 2024, à partir des régions de Hai EL Doumrana Beni Bechir de la wilaya de SKIKDA et sont acheminés frais au niveau du laboratoire de biologie de l'université de 20 Aout 1955 SKIKDA.

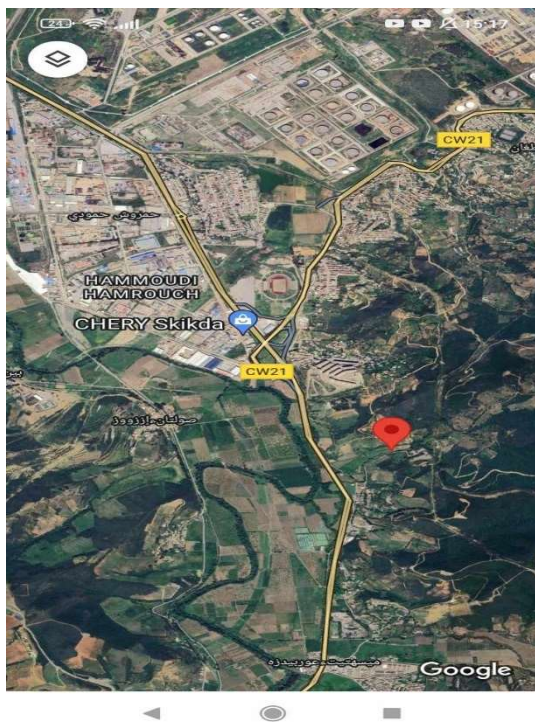


Figure 05 : Photos de *Pulicaria odora* et son site d'échantillonnage (photo originale)

IV-1-2- Préparation de l'échantillon

Les racines de *Pulicaria odora* sont soumises à un triage (pour éliminer les racines endommagées ou attaquées par des microorganismes), et un lavage à l'eau de robinet (4 à 5 fois), les racines sont ensuite séchées à l'air libre et à l'abri du soleil pendant 4 heures. Elles sont par la suite coupées à l'aide d'un ciseau. Les racines sont conservées dans des bocaux à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 06 : les racines de *Pulicaria odora* (Photo originale)

IV-2- Extraction d'huile essentielle

- **Hydrodistillation**

L'extraction d'huile essentielle a été effectuée par d'hydrodistillation (figure 07).

Le principe de cette technique se base sur le pouvoir de la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. Elle consiste à introduire une masse de 100 g des racines du *Pulicaria odora*, coupées précédemment, dans un ballon en verre contenant une quantité de 300 ml d'eau distillée. Le mélange a été chauffé jusqu'à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs chargées des HEs sont acheminées à travers un tube vertical puis dans le condensateur, les gouttelettes ainsi formées sont captées dans le tube préalablement rempli d'eau distillée, en raison de leur différence de densité, les huiles essentielles remontent à la surface de l'eau. Ce processus s'étend sur une période de 3 heures à une température de 100°C. Cette technique est répétée 3 fois pour obtenir la quantité suffisante d'huile.

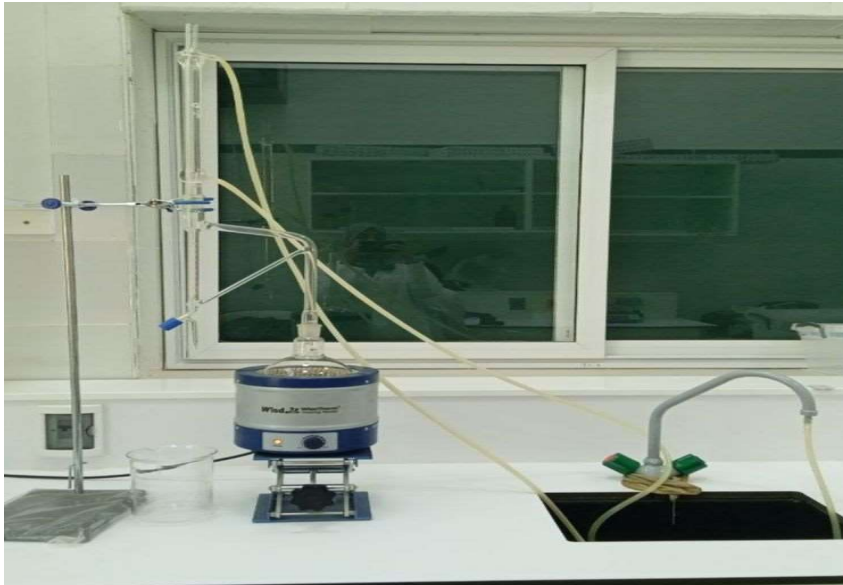


Figure 07 : Le dispositif de l'hydrodistillation (photo originale)

IV-3- Calcul du rendement

- Rendement de l'huile essentielle

Selon (Ndoye *et al.*, 2016), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée, Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M / M_0) * 100$$

R : Le rendement en huile essentielle.

M : La masse de l'huile essentielle en gramme.

M₀ : La masse de la matière végétale utilisée en gramme.

IV-4- Evaluation *in-vitro* de l'activité antioxydante

IV-4-1- Effet scavenger du radical DPPH

- **Principe**

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine de couleur jaune (Figure 08), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu (Wollinger *et al.*, 2016). Autrement dit, il a une forte absorption à une longueur d'onde d'environ 517 nm en raison de la présence d'un électron non apparié, au fur et à mesure que cet électron devient apparié en présence d'un antioxydant.

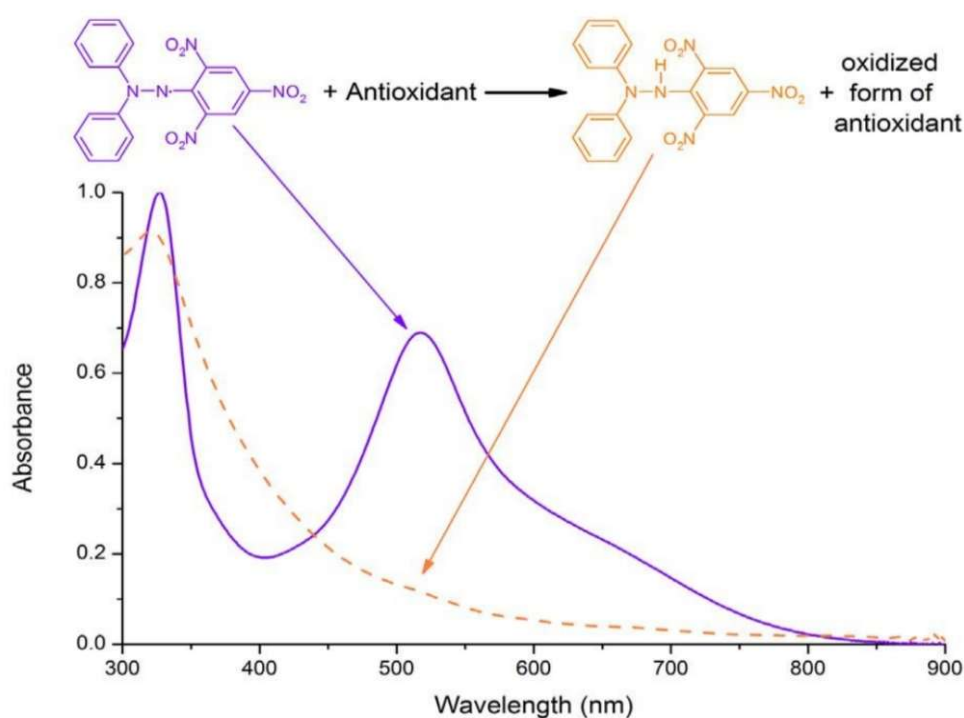


Figure 08 : Réaction entre le radical DPPH (violette) et un antioxydant donnant la molécule de DPPH neutralisée (jaune). Les spectres UV/VIS correspondants sont également affichés (Wollinger *et al.*, 2016)

- **Mode opératoire**

La mesure de l'activité anti radicalaire des huiles essentielles de la plante a été effectuée par le test du DPPH (1,1 Diphényl-2- picrylhydrazyle). Selon la méthode de (Burits et Bucar, 2000), avec une légère modification.

À partir d'une solution mère, on prépare une série de dilutions avec différentes concentrations. Dans un tube à hémolyse 500 µl de chaque concentration de l'HE est ajouté à volume de 1 ml de solution éthanolique de DPPH. Les mélanges ont été incubés pendant 30 min à une température ambiante. Les absorbances sont mesurées à 517 nm (Figure 09).

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif, par contre le contrôle négatif contient l'éthanol à la place d'HE et le standard :

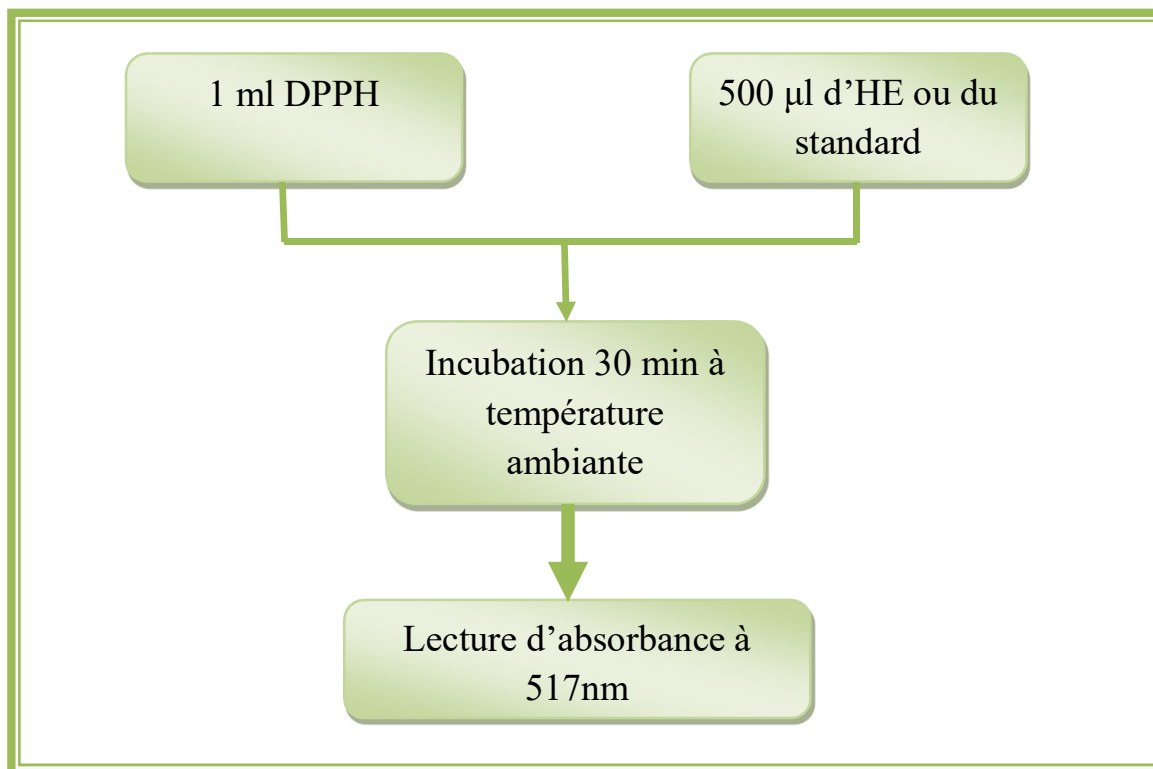


Figure 09 : Protocole de réduction de radical DPPH (Burits et Bucar., 2000)

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = (\text{Abs C} - \text{Abs T} / \text{Abs C}) * 100$$

Abs T : absorbance de test.

Abs C : absorbance de contrôle.

IV-4-2- Test de blanchissement du β -carotène

- **Principe**

Cette technique spectrophotométrique consiste à mesurer la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. L'oxydation de ce dernier génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur orange, qui est suivie par spectrométrie à 470 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (Tepe et al., 2006).

- **Mode opératoire**

Le test de blanchiment du β carotène a été évalué selon la méthode de (Sun et Ho., 2005). Le mélange réactionnel de ce protocole est le suivant : 2mg du β carotène ont été dissous dans 10ml de chloroforme. 1ml de cette solution est prélevé dans une fiole contenant 200mg de Tween 20 et 20 μ l d'acide linoléique. La solution est évaporée sous le rota vapeur jusqu'à la disparition du chloroforme, puis un volume de 100 ml de l'eau oxygénée diluée est ajouté dans la fiole et le mélange résultant est agité vigoureusement. Dans les tubes à essai 4ml de l'émulsion β carotène est additionnée à 200 μ l de l'HE à différentes concentrations, l'acide ascorbique a été utilisé comme un standard. Après une agitation douce, l'absorbance a été mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à t=0 min contre le blanc contenant l'émulsion sans β carotène et le contrôle négatif constitué 200 μ l de l'éthanol au lieu de HE ou standard. Les tubes ont été ensuite bien fermés et placés dans l'étuve à 50°C pendant 120 minutes (figure 10) :

- **Expression des resultants**

Le pourcentage d'inhibition de blanchissement de β -carotène est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = 1 - (\text{Abs Tt0} - \text{Abs Tt120} / \text{Abs Ct0} - \text{Abs Ct120}) * 100$$

Abs T_{t0} : absorbance de l'HE à 0 min

Abs T_{t120} : absorbance du l'HE à 120 min

Abs C_{t0} : absorbance du contrôle à 0 min

Abs C_{t120} : absorbance du contrôle à 120 min

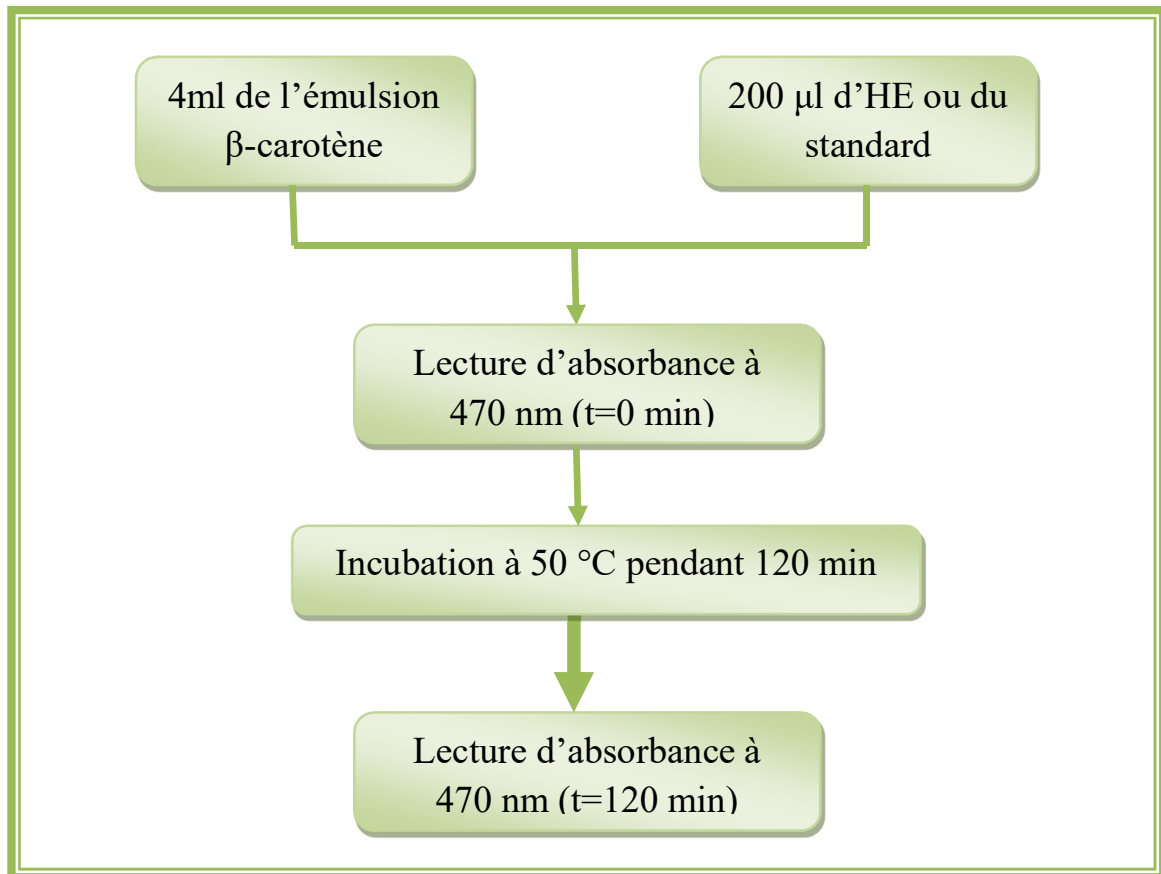


Figure 10 : Protocole de blanchissement de β -carotène (Sun et Ho., 2005)

IV-5- Evaluation *in-vitro* de l'activité anti-inflammatoire

IV-5-1- Inhibition de la dénaturation protéique (Albumine Humaine)

- **Principe**

La dénaturation affecte presque toutes les propriétés physico-chimiques des molécules ; elle varie considérablement avec les divers agents physiques et chimiques qui l'entraîne et aussi selon le caractère et la concentration des solutions protéiniques (Mizushima et Kobayashi., 1968). Cette dénaturation est souvent associée à une inflammation, par conséquent, l'inhibition de la dénaturation des protéines a été largement utilisée comme modèle de dépistage *in- vitro* pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire (Chaiyana *et al.*, 2016).

- **Mode opératoire**

L'effet inhibiteur *in-vitro* d'HE a été déterminée en utilisant la méthode décrite par (Habibur *et al.*, 2012) avec certaines modifications.

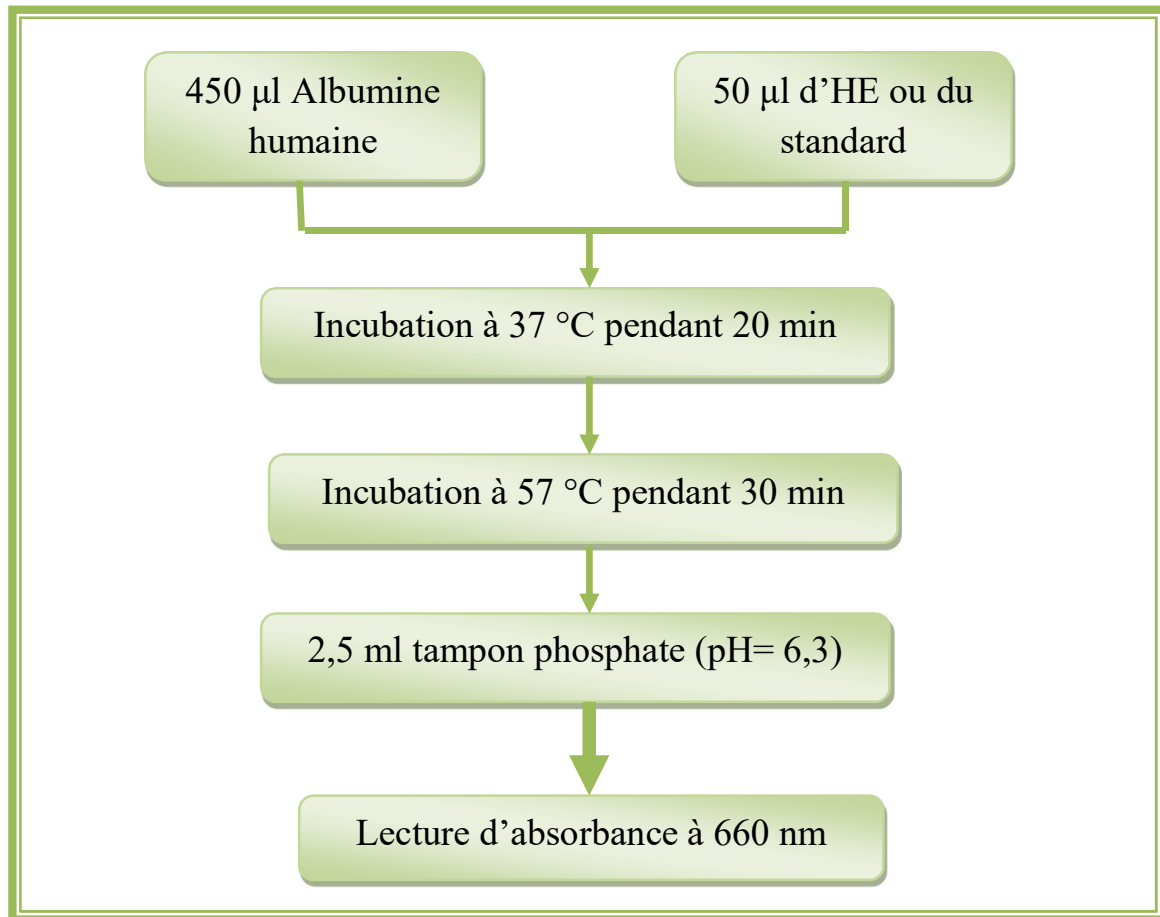


Figure 11 : Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (Habibur *et al.*, 2012)

- **Réalisation du test**

On prépare des solutions de 0.5 ml qui consistent en 0.45 ml de solution d'albumine humaine à 2% et 0.05 ml des différentes concentrations croissantes des huiles essentielles et de standard : le diclofénac, qu'est un médicament anti-inflammatoire. Les échantillons ont été incubés à 37C° dans le bain marie pendant 20 min, puis à 57 C° pendant 30 min. Après refroidissement des échantillons ; 2.5 ml du tampon phosphate (pH =6.3) a été ajouté à chaque tube. Pour le contrôle, on utilise 0.05 ml de l'éthanol à la place de l'HE et de standard (Figure 11).

La turbidité de la solution d'albumine est suivie par la lecture de l'absorbance à 660 nm.

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = (\text{Abs C} - \text{Abs T} / \text{Abs C}) * 100$$

Abs C : Absorbance de contrôle.

Abs T : Absorbance de test.

IV-5-2- Evaluation de la protection contre l'hémolyse

- **Principe**

Si les globules rouges (GR) sont exposés à des substances nuisibles telles que le milieu hypotonique, la rupture de leurs membranes se produira, provoquant ainsi la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le fluide environnant.

L'effet hémolytique de la suspension hypotonique est lié à l'accumulation excessive du liquide dans la cellule (**Habibur et al., 2015 ; Labu et al., 2015**).

L'hémolyse est détectée visuellement en montrant une teinte rose à rouge dans le sérum ou le plasma. Dans cette étude, la stabilisation de la membrane des globules rouges est effectuée par l'inhibition de l'hypotonie (**Habibur et al., 2015 ; Shobana et Vidhya., 2016**). La lecture de la densité optique des surnageants récupérés est réalisée par un spectrophotomètre visible.

- **Mode opératoire**

La méthode suivie pour l'étude de l'activité protectrice de HE sur la membrane des érythrocytes est celle de (**Labu et al., 2015**).

- **Préparation de la suspension érythrocytaire**

Le sang a été prélevé d'un volontaire sain qui n'a pas pris d'anti-inflammatoires pendant 15 jours avant le prélèvement. L'obtention des globules rouges du sang total a été effectuée comme suit :

- ✓ Centrifugation de sang pendant 10 min à 3000 rpm.
- ✓ Lavage des érythrocytes trois fois avec une solution iso-saline préparée dans du tampon phosphate.
- ✓ Reconstitution des globules rouges sous forme d'une suspension à 10% toujours dans la solution iso-saline.

- **Réalisation du test**

L'échantillon d'essai contient 0,5 ml de la suspension d'érythrocytes avec 5 ml de la solution hypotonique et 0,5 ml des différentes concentrations d'HE. Les mélanges ont été centrifugés pendant 10 min à 3000 rpm, puis incubés pendant 10 min à 37°C. L'absorbance de l'hémoglobine

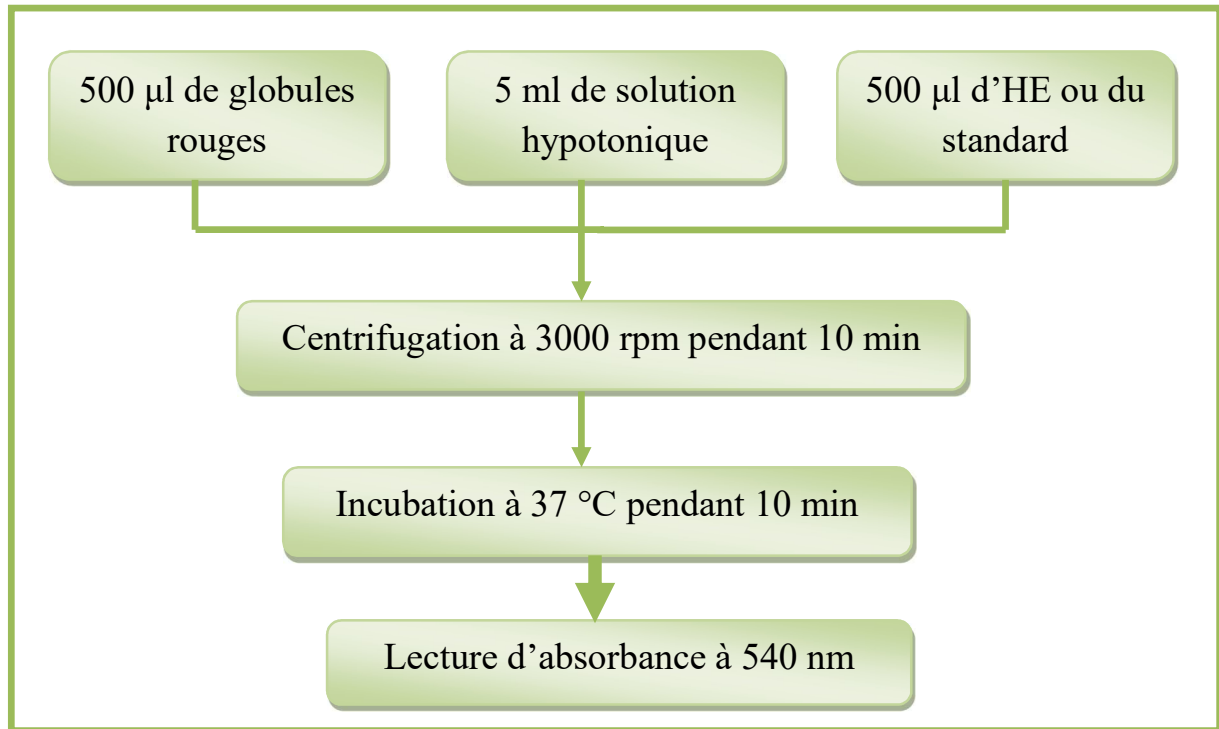


Figure 12 : Protocole de stabilisation membranaire (Labu *et al.*, 2015).

- Expression des résultats

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = (\text{Abs C} - \text{Abs T} / \text{Abs C}) * 100$$

Le

pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé par la formule suivante :

Abs C : Absorbance de contrôle.

Abs T : Absorbance de test.

IV-6- Etude statistique

Toutes les données ont été analysées en triple et les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type (SD).

L'IC50 a été déterminée à l'aide d'une analyse de régression linéaire.

Chapitre V :

Résultats et discussion

V-1- Rendement de l'huile essentielle

L'extraction par hydrodistillation des racines de plante étudiée a fourni d'huile essentielle a une couleur jaune claire pour *Pulicaria odora* (figure13), avec de fortes et persistantes odeurs.



Figure 13 : Photo de l'HE de *Pulicaria odora* (photo originale)

Tableau 03 : Le rendement d'huile essentielle

Le poids du matériel végétal en (g)	Espèce	Origine de la plante	Couleur	Partie utilisée	Rendement %	Densité g/ml
100	<i>Pulicaria odora</i>	Algérie	Jaune	Racines	1,5	0,9

Le rendement d'hydrodistillation d'huile essentielle de *Pulicaria odora* est 1,5%, Ce résultat est comparable à d'autres études (**Djermane et al., 2016 ; Hanbali et al., 2005**) qui ont trouvé des proportions variables aux environ de 0,69 à 0,80% respectivement.

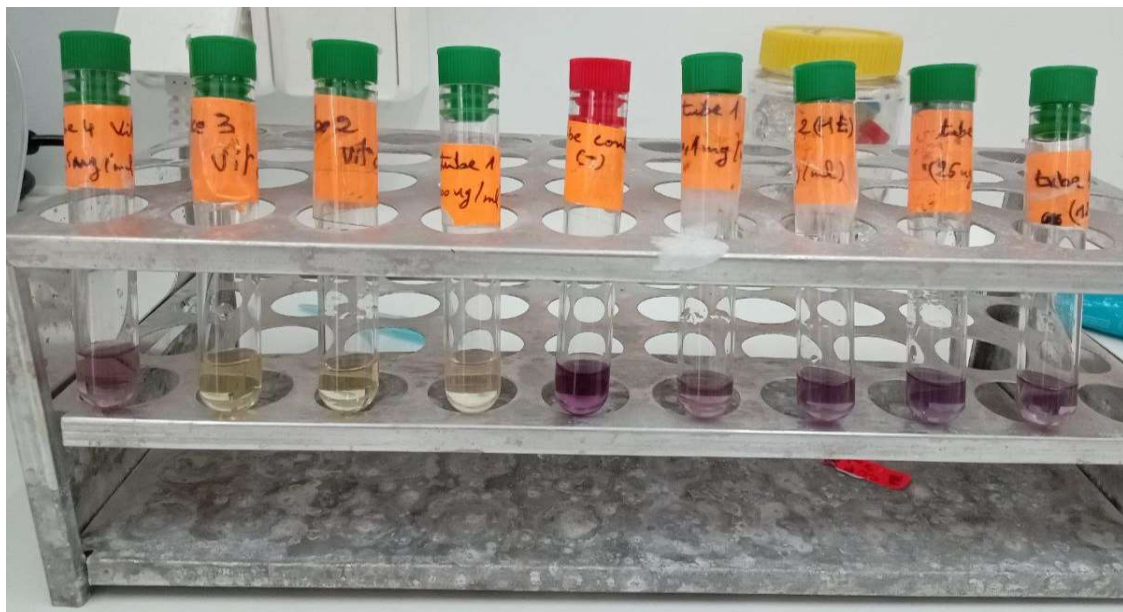
Cette différence de rendement est peut-être due à un ensemble de paramètres comme l'origine géographique, la méthode d'extraction, la période d'extraction, la maturité de plante mais également aux conditions d'expérimentation (**Bouhali., 2015**).

V-2- Evaluation de l'activité antioxydante

Nous rappelons que l'activité antioxydante de l'huile essentielle a été évaluée par la mesure du pouvoir de radical libre DPPH et blanchissement de β -carotène.

V-2-1- Effet scavenger du radical DPPH

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotomètre à 517 nm et à partir des résultats obtenus et présents dans la figure 14. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés, les valeurs obtenues ont permis de tracer le graphe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'huile de *Pulicaria odora* et celle de l'acide ascorbique (Figure 15) et (tableau 04).



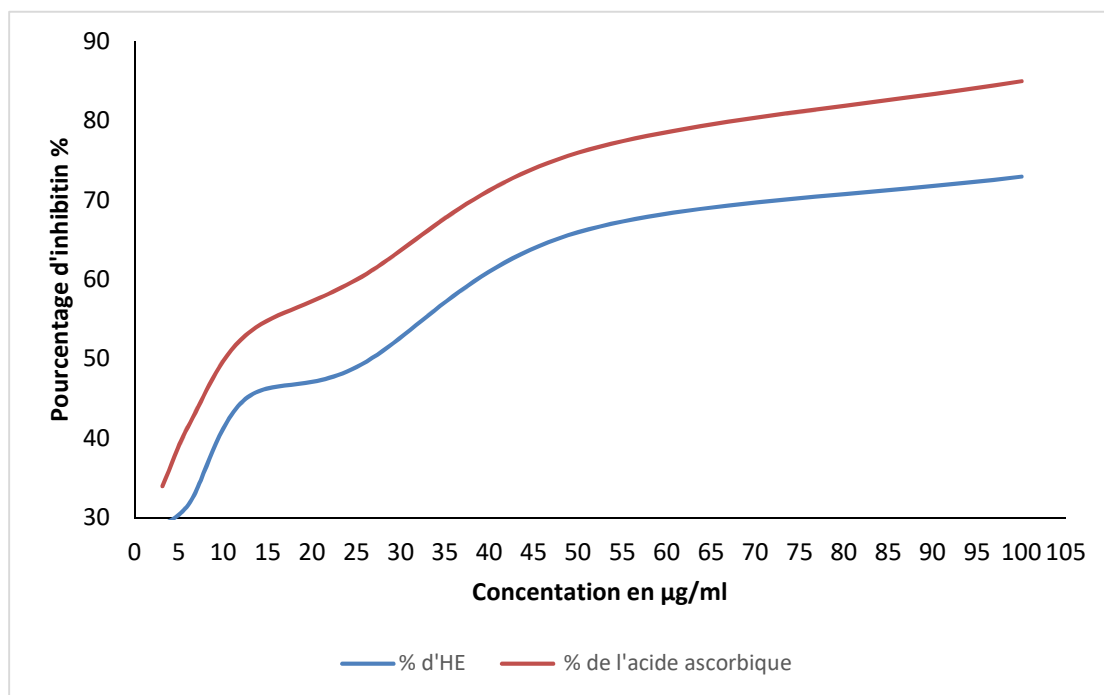


Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE et l'acide ascorbique

Tableau 04 : Evaluation du test DPPH d'HE de *P. odora*

	Concentration µg/ml	% d'inhibition	IC50 µg/ml
Huile essentielle	12,5	45	35,08 ± 0,004
	25	49	
	50	66	
	100	73	
Acide ascorbique	12,5	53	15,70 ± 0,002
	25	60	
	50	76	
	100	85	

L'évaluation de l'activité antioxydante d'huile essentielle de *Pulicaria odora a* montré que celle-ci est moins importante avec une valeur d'IC50 = 35,08 ± 0,004 µg/ml par rapport au standard utilisé qui donne une valeur d'IC50 de 15,70 ± 0,002 µg/ml.

Selon des études antérieures, il a été montré que le pouvoir anti radicalaire (DPPH) de l'huile essentielle de *P. odora* est plus important, comparé à d'autres espèces du même genre (*Pulicaria*) auxquels, les valeurs IC50 pour ces espèces (*Pulicaria undulata*, *Pulicaria ganaphalodes*) IC50 = 422,5 µg/ml, IC50 = 147 µg/ml respectivement (Mustafa et al., 2018 ; Shariatifar et al., 2014).

V-2-1- Effet de blanchissement de β -carotène

Dans le test de blanchissement de β -carotène, on utilise de l'acide linoléique, un acide gras polyinsaturé. On introduit du peroxyde d'hydrogène dans le milieu. L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur orange est suivie spectrométriquement à 470 nm. Le caractère antioxydant de l'huile testé engendre une neutralisation des radicaux libres dérivés de l'acide linoléique, prévenant ainsi l'oxydation et donc le blanchissement du β -carotène.

Ainsi, la capacité antioxydante de l'huile essentielle est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

Des résultats obtenus et présentés en terme de pourcentage d'inhibition ont été calculés, et les valeurs obtenues ont permis de tracer le graphe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'huile de *Pulicaria odora* et celle de l'acide ascorbique (Figure 16) et (tableau 05).

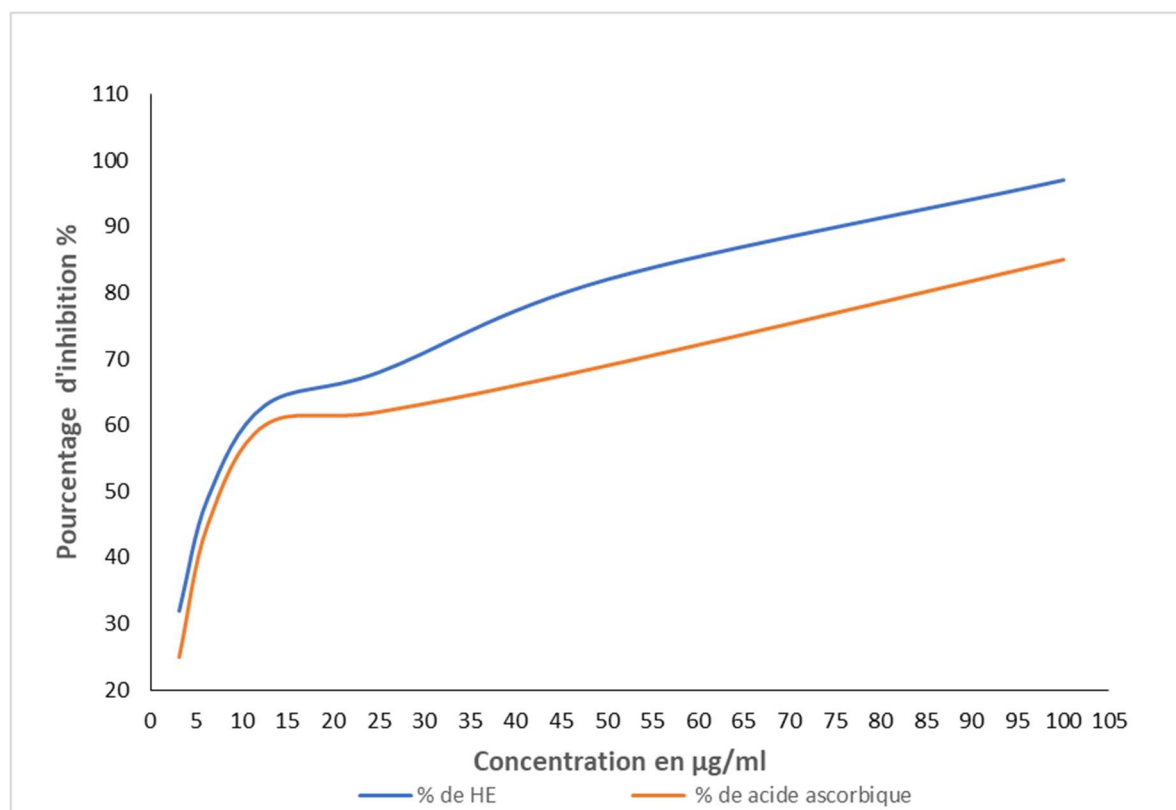


Figure 16 : Pourcentage d'inhibition de blanchissement du β -carotène en fonction des concentrations de l'HE et l'acide ascorbique

Tableau 05 : Evaluation du test β -carotène d'HE de *P. odora*

	Concentration $\mu\text{g/ml}$	% d'inhibition	IC50 $\mu\text{g/ml}$
Huile essentielle	12,5	63	5,84 \pm 0,004
	25	68	
	50	82	
	100	97	
Acide ascorbique	12,5	60	16,63 \pm 0,005
	25	62	
	50	69	
	100	85	

Les résultats de l'activité du blanchissement de β -carotène montrent que l'HE des racines de *Pulicaria odora* possède une activité antioxydante avec une valeur IC50 de 5,84 \pm 0,004 $\mu\text{g/ml}$ est plus importante par rapport à l'acide ascorbique qui possède une valeur de IC50 = 16,63 \pm 0,005 $\mu\text{g/ml}$.

Selon les résultats antérieurs il a été noté que certains auteurs ont montré que le potentiel antioxydant par blanchissement de β -carotène rencontrés chez certaines espèces d'Astéracées comme l'*Artemisia compestris*, *Centaurea acaulis* L est plus ou moins forts avec des valeurs IC50 (1,74 $\mu\text{g/ml}$ et 73,76 $\mu\text{g/ml}$) respectivement comparés à *Pulicaria odora* IC50 = 5,84 \pm 0,004 (Chekhoum et al., 2019 ; Bensouna., 2014).

V-3- Evaluation *in-vitro* de l'activité anti-inflammatoire

V-3-1- Evaluation de l'activité protectrice contre la dénaturation d'albumine

La méthode d'anti-dénaturation de l'albumine humaine a été utilisée pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires d'huile essentielle de *Pulicaria odora*. Le processus d'agrégation de l'albumine dépend de nombreux facteurs, tels que la température, le PH et la Concentration (Aymard et al., 1996).

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la capacité de l'huile essentielle à protéger l'albumine humaine contre la dénaturation suite à l'augmentation de la température. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 17, les pourcentages d'inhibition ont été calculés, et les valeurs obtenues ont permis de tracer le graphe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'huile de *Pulicaria odora* et celle de le Diclofénac (Figure 18) et (tableau 06).

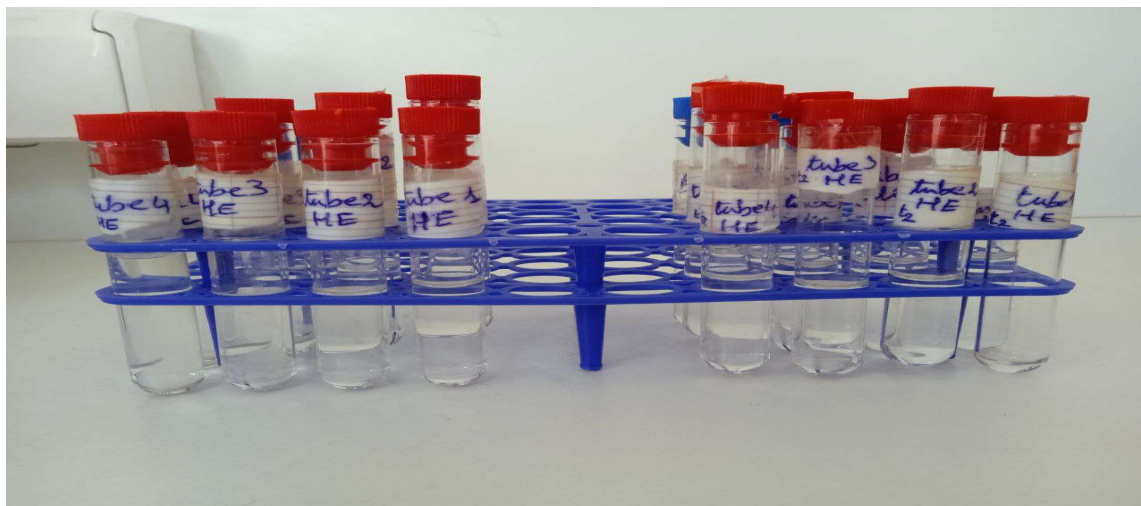


Figure 17 : Résultats du test dénaturation d'albumine humaine pour l'HE et diclofénac analysés

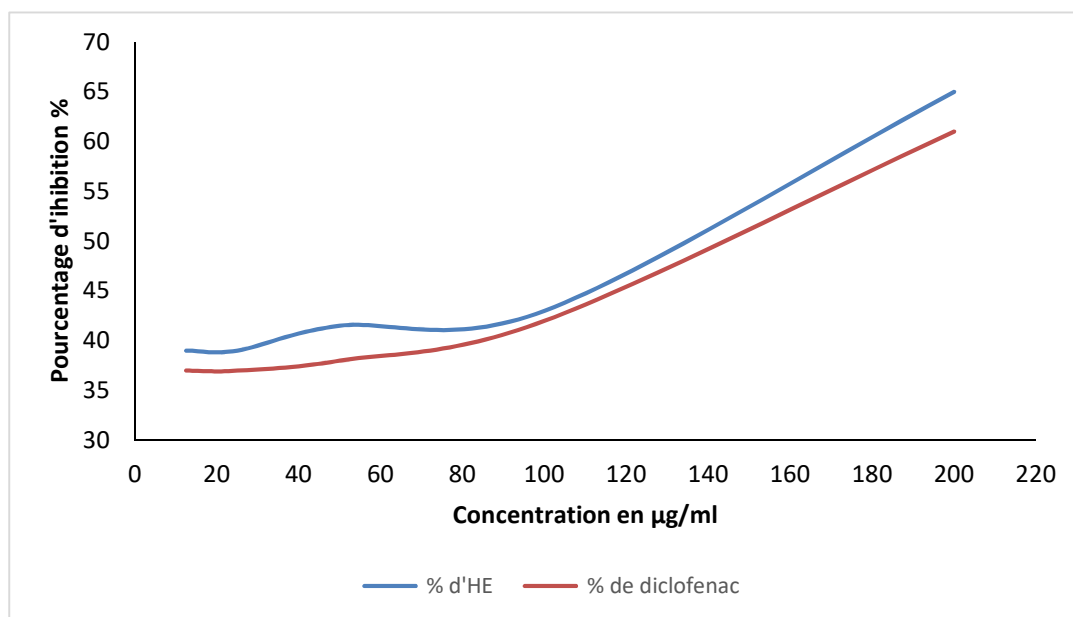


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation d'albumine humaine en fonction des concentrations de l'HE et diclofénac

Tableau 06 : Evaluation du test dénaturation d'albumine humaine d'HE de *P odora*

	Concentration µg/ml	% d'inhibition	IC50 µg/ml
Huile essentielle	12,5	39	110,13 ± 0,003
	25	39	
	50	41.5	
	100	43	
	200	65	
Diclofénac	12,5	37	131,30 ± 0,001
	25	37	
	50	38	
	100	42	
	200	61	

L'huile essentielle de *Pulicaria odora* a protégé l'albumine contre la dénaturation par la chaleur avec un pourcentage maximum de 65% à une concentration de 200 µg/ml. L'effet de Diclofénac de sodium contre la dénaturation est moins important avec un pourcentage de 61% à une concentration de 200 µg/ml. L'IC50 d'huile essentielle de *P. odora* est 110,13 ± 0,003 µg/ml. Cette valeur d'IC50 est pratiquement plus élevée comparée avec le diclofénac qui a une valeur d'IC50 = 131,30 ± 0,001.

Il est à signaler qu'aucun travail portant sur ce test ou à été ne fait ni chez le genre *Pulicaria* ni non plus chez la famille d'Astéracées jusqu'à ce jour.

V-3-2- Evaluation de la protection contre l'hémolyse

L'activité anti-hémolytique d'huile essentielle de *Pulicaria odora* est évaluée en provoquant l'hémolyse par une solution hypotonique qui induit la désorganisation de la membrane et la libération de l'hémoglobine donnant au surnageant une légère coloration rouge en fonction de la proportion d'hémolyse. La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotomètre à 540 nm et à partir des résultats obtenus (figure 19), les pourcentages d'inhibition ont été calculés, les valeurs obtenues ont permis de tracer le graphe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'huile de *Pulicaria odora* et celle du diclofénac (Figure 20) et (tableau 07).



Figure 19 : Résultats du test de l'hémolyse hypotonique pour l'HE et diclofénac analysés

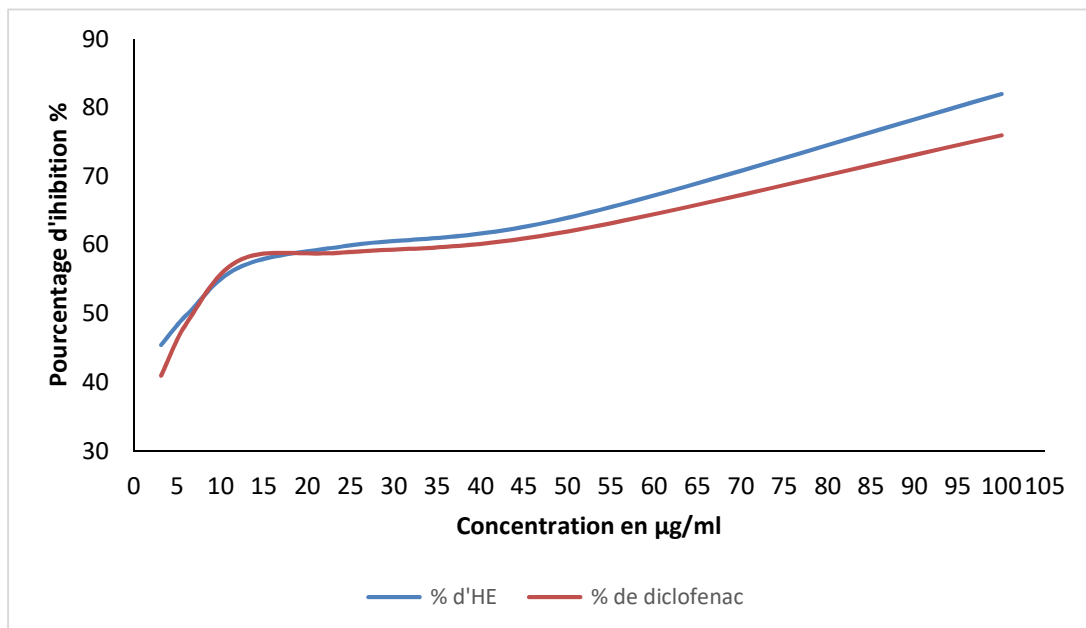


Figure 20 : Pourcentage de l'activité anti hémolytique en fonction des concentrations de l'HE et diclofénac

Tableau 07 : Evaluation du test de l'hémolyse hypotonique d'HE de *P odora*

	Concentration µg/ml	% d'inhibition	IC50 µg/ml
Huile essentielle	12,5	57	3,64 ± 0,003
	25	60	
	50	64	
	100	82	
Diclofénac	12,5	58	7,21 ± 0,004
	25	59	
	50	62	
	100	76	

L'huile essentielle de *Pulicaria odora* a protégé les globules rouges contre l'hémolyse avec un pourcentage maximum de 82% à une concentration de 50 µg/ml, ainsi que le diclofénac avec un pourcentage de 76% à une concentration de 100 µg/ml.

L'effet anti-hémolytique est d'autant plus supérieurs chez l'huile essentielle de *P.odora* avec IC50 = 3,64 ± 0,003, comparée au standard auquel son IC50 équivalent à IC50 = 7,21 ± 0,004. Selon ce résultat, il a été justifié que l'HE de *P.odora* possède une activité anti-hémolytique.

Il est à signaler qu'aucun travail portant sur ce test ou a été ne fait ni chez le genre *Pulicaria* ni non plus chez la famille d'Astéracées jusqu'à ce jour.

Conclusion

Conclusion

Dans la présente étude, l'objectif principal était d'évaluer *in-vitro* l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'huile essentielle de plante connue dans la médecine traditionnelle à savoir *Pulicaria odora*. Cette espèce a été explorée davantage, soit en terme de productivité en HE, soit en terme d'étude de leur activités biologiques.

L'extraction par hydrodistillation d'HE à partir des racines de *Pulicaria odora*, a fourni un bon rendement avec de pourcentage équivalent à 1,5 %.

La comparaison des résultats des IC50 obtenus avec ceux de l'acide ascorbique, nous a permis de déduire que l'activité antioxydante de *Pulicaria odora* a testé est quasiment identique par rapport à celle de l'Acide ascorbique. Ces résultats ont été confirmés par deux méthodes, DPPH et le test de blanchissement du β -carotène.

Dans les perspectives souhaitées, il serait nécessaire de signaler que *Pulicaria odora* comme étant une bonne source d'huile essentielle et serait alors prometteur en utilisant d'autres techniques d'extraction affinée, d'améliorer et d'optimiser le rendement ainsi que la qualité d'huile essentielle. Pour l'activité anti-inflammatoire étudiée par le test d'hémolyse ou stabilité membranaire et le test de dénaturation protéique, l'HE de *Pulicaria odora* a montré un effet anti-inflammatoire plus fort que le diclofénac. Toutefois, d'autres études (*in-vivo*) sur cette activité anti-inflammatoire seraient souhaitables pour évaluer le potentiel antioxydant et anti-inflammatoire de cette plante.

Etant donné la complexité de composition chimique d'huile essentielle, il serait intéressant de les caractériser par GC-MS ou d'autres techniques et identifier les composés responsables des différentes activités et tester les huiles majoritaires séparément.

Liste des références

- Abdel-Lateff, A., Konig, G. M., Fish, K.M., Holler, U., Jones, P. G., Wright, A.D. 2002.** New antioxidant Hydroquinone Derivatives from the the Algicolous Marine Fungus *Acremonum* Sp. *Journal of Natural Products*, 65. P 1605-1610.
- Aboughe Angone, S., Aworet Samseny, R.R.R., et Eyele Mve Mba, C. 2015.** Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. *Phytothérapie*, 13: 283–287.
- Alhakmani, F., Kumar, S., and Khan, S.A. 2013.** Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3(8): 623–627.
- Aymard, P., Durand, D., et Nicolai, T. 1996.** The effect of temperature and ionic strength on the dimerisation of beta-lactoglobulin. *Int J Biol Macromol*, 19: 213- 221.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008.** Biological effects of essential oils. *Rev. Food Chem. Toxicol*, 46: 446–475.
- Barnes, PJ. 1998.** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Cl Barouki, R. 2006.* Stress oxydant et vieillissement. *m/s*, 22: 266-72. *inical Science*, vol.94, P 557–572.
- Bayala, B. 2014.** Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur d'université. Université Blaise Pascal. P 141.
- Bayer, E., Butter, K.P., Finkenzeller, X et Grau, J. 1990.** Guide de la flore méditerranéenne. Edition : Delachaux et Niestlé, S. A. Paris. P : 206-207.
- Bekhechi, C., et Abdelomahid, D. 2010.** Les huiles essentielles. Ed : N° 5145. Office des publications universitaires. P : 55.
- Belaiche, P. 1979.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. L'aromatogramme Tome I, Edition Maloine.
- Bellakhdar, J. 1977.** La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Paris. Casablanca : Ibis Press. Editions Le Fennec. P 764. ISBN : 2-910728-03- X.

Bensouna, A. 2014. Composition chimique et propriétés biologiques de l'huile essentielle de *Centaurea acaulis* L (Nagour) Thèse de Master en chimie. Université ABOU BEKER BELKAID, Tlemcen , Algérie.

Berset, C., Cuvelier, M.E. 1996. Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. *Science des Aliments*; 16: 219–245.

Bidaut-Russel, M., Gabriel, Sherine, E. 2001. Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs: Consequences and costs. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 15, 739–753.

Bouhali, H. 2015. Caractérisation des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et étude de leur activité antioxydante : étude comparative entre l'huile essentielle des *écorces sèches* et fraîches. Thèse de Magister en Ingénierie Biochimique et Biotechnologies. Université A.Mira-Bejaia, Algérie. P 86.

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

Burits, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res.* 1 août;14(5):323-8.

Castro, E., and Chang, F. 1999. *Crossoloricaria bahuaja*, a new loricariid fish from Madre de Dios, southeastern Peru. *Ichthyol. Explor. Freshwat.* 10(1):81-88.

Chaiyana, W., Anuchapreeda, S., Leelapornpisid, P., Phongpradist, R., Viernstein, H., and Mueller, M. 2016. Development of Micro emulsion Delivery System of Essential Oil from *Zingiber cassumunar Roxb.* Rhizome for Improvement of Stability and Anti-Inflammatory Activity. *AAPS PharmSciTech*, 18: 1332–1342.

Chekhoun, O., Djoudi, M. 2019. Evaluation de l'activité antioxydante de six huiles essentielles extraites de plantes locales Thèse de Master en biochimie Appliquée. Université AMAR TELIDJI LAGHOUAT, Algérie.

Chelbab, S., Ziane, A. 2023. L'effet anti inflammatoire de l'extrait de *Pulicaria odora* chez les rats stressés par la nage forcée Thèse de Master en Immunologie cellulaire et moléculaire. Université frères Mentouri Constantine 1, Algérie. P 2.

- Couic-Marinier, F., and Lobstein, A. 2013.** Composition chimique des huiles essentielles. Actual. Pharm, 52: 22–25.
- Cronquist, A.J. 1988.** The evaluation and classification of flowering plants, 2nd. Edit., New York, New York Bot.Garden. P 566.
- Davies, K.J.A. 2000.** Critical review oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. IUBMB Life, 50 : 279–289.
- Degryse, A.C., Delpla, I., et Voinier, M.A. 2008.** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP, P 87.
- Desmares, C., Laurent, A., et Delerme, C. 2008.** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France, P 18.
- Djermane, N., Gherraf, N., Arhab, R., Zellagui, A., Rebbas. K. 2016.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. Der Pharm. Lett. 8, 1-6.
- Duwiejua, M., Zeitlin, I.J. 1993.** Plants as source of anti-inflammatory substances. In: Drugs from Natural Products: Pharmaceuticals and Agrochemicals. Harvey A L. Eds, Taylor & Francis (Royaume-Uni). P : 153.
- Emberger, L., Chadefaud, M. 1960.** Traité De Botanique. Edition : Masson & Cie, Tome II, Paris. P 1540.
- Ezoubeiri, A., Gadhi, C.A., Fdil, N., Benharref, A., Jana, M et Vanhaelen, M. 2005.** Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicaria odora* L. Journal of Ethnopharmacology. 99, 287–292.
- Favier. 2003.** « Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique », Actual. Chim., no 11-12, P 108-115.
- Favier, A. 2006.** Oxidative stress in human diseases, Ann Pharm Fr. 64: 390-396.
- Fernandez, X., et Chemat, F. 2012.** : La chimie des huiles essentielles. Ed. Vuibert. P: 274.
- Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. 2006.** Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. Sports med b, Vol. 36 (4); P 327-58.

Garnero, E. J.D.V. 1996. Helmberger, A very slow basal layer underlying large-scale low-velocity anomalies in the lower mantle beneath the Pacific: evidence from core phases, *Phys. Earth Planet. Int.*, 91, 161–176.

Gonzalez-Romero, M.A., Villaescusa-Castillo, L., Diaz-Lanza, A.M., Bartolome-Esteban, C., Fernandez-Matellano, L. 2001. Phytochemistry and pharmacological studies of *Inula montana* L. *Recent Research Developments in Phytochemistry*, 5: 255-268.

Goto, M., Ueda, K., Hashimoto, T., Fujiwara, S., Matsuyama, K., Kometani, T., Kanazaw, K. 2008. A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine*. Vol.45; P 1318–1325.

Guignard, J.L.1994. *Abrégé Botanique*, 9^{ème} Ed.204.

Gutteridge, JM., Mitchell, J. 1999. Redox imbalance in the critically ill. *Br Med Bull*; 55(1): 49-75.

Habibur, Rahman., Chinna, Eswaraiah, M., and Dutta, A.M. 2015. *In-vitro* anti-inflammatory and anti-arthritic activity of *Oryza sativa* Var. *Joha Rice* (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*, 15 (1): 115-121.

Habibur, Rahman., Chinna Eswaraiah, M., Vakati, K., and Madhavi, P. 2012. *In-vitro* studies suggest probable mechanism of *Eucalyptus* oil for anti-inflammatory and antiarthritic activity. *International Journal of Phytopharmacy*, 2(3): 81-83.

Halliwell, B et Gutteridge, J. M. 1990. "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview." *Methods Enzymol* 186: 1-85.

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

Harborne, J.B., Swain, T. 1969. *Perspectives in Phytochemistry*, Academic Press, London, New York.

Kechar, K., et Hellal, B. 2016. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 13 : 225–279.

Khia, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Aberchane, M., Quaboul, B., Chaouch, A., Amusant, N et Charrouf, Z. 2014. Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc.

Labu, Z.K., Laboni, F.R., Tarafdar, M., Howlader, M.S.I and Rashid, M.H. 2015. Membrane stabilisation as a mechanism of anti-inflammatory and thrombolytic activities of ethanolic extract of arial parts of *Spondiasis pinanata* (family: Anacardiaceae). *Pharmacology Online*, 2: 44-51.

Ladoh Yemeda, C. F., Dibon S. D., Nyegue, M. A., Djembissi Talla, R. P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo, E., Yinyang, J., Wansi, J. D. 2014. Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of applied Bioscience*. 84 : 7636-7643.

Laura, Oberhaus., Malorie, Gelinaz., Bernadette, Pinel-Alloul., Anas, Ghadouani., Jean-François, Humbert. 2007. Grazing of two Planktothrix species by *Daphnia pulicaria* : potential for bloom control and transfer of microcystins *Journal of Plankton Research*. Volume 29, Issue 10, October 2007. P 827–838.

Lavagne, A. 2006. La végétation des bas-marais du vallon du Lauzanier Larche (AlpesdeHaute-Provence, France) -.06, P. 41- 57 - Départ. /Région : *Le Journal de Botanique*, 1, N°34.

Mac Laren, D. 2007. *Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport*. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.

Magalhaes, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J.L.F.C. 2006. Automatic method for determination of total antioxidant capacity using 2,2-diphenyl-1-picrylhyrazyl assay. *Anal Chim Acta*, 558. P 310-318.

Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Ben Lamine, S., Boukhchina, S and Khouja, M.L. 2010. Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric*, 90: 1745–1749.

Medina-Navarro, R., G, Duran-Reyes., M, Diaz-Flores., C, Vilar-Rojas. 2010. Protein antioxidant response to the stress and the relationship between molecular structure and antioxidant function. *Plos One* 5 : e8971.

Minkue M'eny, S. 2000. Étude chimique des substances extractibles d'Okoumé ; thèse M.Sc ; Univ. Laval.

Mizushima, Y., and Kobayashi, M. 1968. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *J. Pharm.Pharmac*, 20: 169-173.

Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S and Vojnov, A.A. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res*, 40: 223–231.

Mothana, R.A., Alsaid, M.S., Hasoon, S.S., Al -Mosaiyb, N.M., Al -Rehaily, A.J and

Al-Yahya, M.A. 2012. Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa* Wall.Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. *J. Med. Plants Res*, 6: 3066-3071.

Mustafa, A.M., S.I, Eldahmy., G, Caprioli., M, Bramucci., L, Quassinti., G, Lupidi., D, Beghelli., S, Vittori., F, Maggi. 2018.Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Pulicaria undulata* (L.) C.A. Mey. growing wild in Egypt. *Nat. Prod. Res.* 4, 1-5.

Ndoye Foe, F.M.C., Kemegni Tchinnang, T.F., Nyegue, A.M., Abdou, J-P., Gbaweng Yaya, A.J., Tchinda, A.T., Oyono Essame, J-L et Etoa F-X. 2016. Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16 :117.

Nevers, P. 2017. Sémiologie des altérations de l'état de santé. 1e édition. Louvain la neuve : de Boeck supérieur. P 12.

Nicolas, J.F., Florence, C., Jean, T. 2001. Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. Paris : John Libbey Eurotext.P 55-58.

Niki, E. 2012. Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidation products? *FEBS Lett.* 586 : 3767–3770.

Orliaguet, G., Gall, O., Benabess-Lambert, F. 2013. Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*, vol. 17, n°5, P 228-237.

Payne, D.N.R., Adcock, I.M. 2001. Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatric Respiratory Reviews*, vol. 2, P 145–150.

Quezel, F., Santas. 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.

Rameau, J.C., Mansion, D., Dumé, G., Gauberville, C. 2008. Flore forestière française. Tome II, Région méditerranéenne. P 2419.

Rehman, S.U., Hussein, S., Nawaz, H., Mushtaq, A. M., Murtaza, M. A. & Rizvi, A. J. 2007. Inhibitory effect of citrus peel essential oils on the microbial growth of bread. *Pakistanian Journal of Nutrition*, pp 558-561

Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M. et Aggarwal, B.B. 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Rad Bio Med*, 49:1603–1616.

Rezaie, A., Parker, R.D., Abdollahi MM. 2007. Oxidative Stress and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease: an Epiphenomenon or the Cause? *Digestive Diseases and Sciences*, 52(9): 2015-2021.

Rhayour K. 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. P: 170.

Rodrigez, R., Towers, G.H.N., Mitchell, J.C. 1976. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Phytochemistry*, 15 : 1573-1580.

Roubaudi, L. 2011. Compte rendu de la section botanique dans les îles d'hygères du 14 au 16 mai 2011. In *Bulletin mensuel de la société linnéenne de lyon*, 80 (9-10). P 227-238.

Russo-Marie, F., Peltier, A., Polla, B.S. 1998. L'inflammation. John Libbey Eurotext. P 565.

Sayre, L.M., Moreira, P.I., Smith, M.A., Perry, G. Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*. 2008, Vol. 41(2); P 143-164.

Shariatifar, N., A, Kamkar., M.R, Shamse Ardekani., A, Misagi., A, Akhonzade., A.H, Jamshidi. 2014. Composition and antioxidant activities of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* essential oil in Soybean oil, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 27, 807-812.

Shobana, S and Vidhya, R. 2016. Evaluation of *in vitro* hemolytic activity of different parts of *abutilon indicum* (Linn.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5): 1182 – 1196.

Singh, C. 1990. 2R-Hydroxymicromeric acid, a pentacyclic triterpene from *Terminalia chebula*. *Phytochemistry*, 29: 2348-2350.

Sun, T., Ho, C.H. 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food chemistry*. **90**: 743– 749.

Taofiq, O., Martins, A., Barreiro, M.F and Ferreira, I.C.F.R. 2016. Anti-inflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. *Trend. Food Sci.Technol*, 50: 193–210.

- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A. 2006.** « Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey », *FOOD CHEMISTRY*; 95, 2; 200-204, p. P 5.
- Teucher, E., Anton, R and Lobstein, A. 2003.** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed : Lavoisier.
- Touati, N., Casas, L., Mantell, C., Martínez De La Ossa, E et F, Bedjou. 2014.** Green extraction methods of antioxidants from *Pulicaria odorata*. GPE – 4th International Congress on Green Process Engineering 7-10 April 2014 – Seville (Espag).
- Ventrella, M.C., Marinho, C.R. 2008.** Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenaceae* (Boraginaceae) leaves. *Revista Brasilia Botanica* 457–467.
- Walters, S., Judd Christopher, S., Campbell Elizabeth, A., Kellogg, Peter Stevens. 2000.** Botanique systématique : Une perspective systématique. De boeck supérieur. France . P 467.
- Wichtel, M et Anton, R. 1999.** - Plantes thérapeutiques : tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. Ed. Tec et Doc. P 636.
- Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., and Kunz, W. 2016.** Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chim*, 19: 754–765.
- Yougbaré-Ziébrou, M.N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., Sawadogo, W.R et Guissou, I.P. 2016.** Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14 : 213–219.

