



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة باجي مختار - عنابة -
Université Badji Mokhtar Annaba

Faculté des Sciences
Département de Biologie

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat
Spécialité : Biologie végétale et environnement
Option : Protection des milieux naturels

THEME

Effet des facteurs environnementaux sur la variation de quelques métabolites secondaires dans deux espèces médicinales : *Tamarix gallica* L. (Tamaricaceae) et *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae)

Présentée Par : FELLAH Ouroud

Devant Le Jury :

| | | |
|------------------------|---------------------------------|-----------------------|
| Pr. SERIDI Ratiba | Université Badji Mokhtar Annaba | Présidente |
| Pr. GHERRAF Noureddine | Université d'Oum El Bouaghi | Directeur de thèse |
| Pr. TAHAR Ali | Université Badji Mokhtar Annaba | Co-Directeur de thèse |
| Pr. BOURDJIBA Ouahiba | Université Badji Mokhtar Annaba | Examinatrice |
| Pr. AKKAL Salah | Université Mentouri Constantine | Examineur |
| Dr. OULDJAOUI Abdellah | Université d'Oum El Bouaghi | Examineur |

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Je remercie en premier **ALLAH** le tout puissant de m'avoir accordé, la force et le courage de mener à terme ce travail.

Tout d'abord je tiens à remercier mon directeur de thèse Monsieur **GHERRAF Noureddine**, professeur à l'université l'Arbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi, de m'avoir encadré, dirigé et soutenu au cours de la réalisation de cette thèse. Je lui exprime ma profonde gratitude pour le temps consacré à la rédaction des articles scientifiques et à la correction du manuscrit et pour son enthousiasme et sa gentillesse.

Je remercie vivement mon co-directeur de thèse Monsieur **TAHAR Ali** professeur à l'université Badji Moukhtar d'Annaba et responsable de la formation doctorale, pour m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé et conseillé tout au long de la réalisation de ce travail. Pour son soutien et sa grande générosité, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier Madame **SERIDI Ratiba** professeur à l'université Badji Moukhtar d'Annaba et responsable du laboratoire biologie végétale et environnement d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de thèse.

Mes remerciements vont également à Madame **BOURDJIBA Ouahiba** professeur à l'université Badji Moukhtar d'Annaba, à Messieurs **AKKAL Salah** et **OULDJAOUI Abdellah** professeurs à l'université l'Arbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir y participer en tant qu'examineurs à l'évaluation de ce travail.

Ce travail de recherche n'a été possible que grâce au soutien matériel et humain de deux laboratoires :

- Le laboratoire des ressources naturelles et gestion des environnements sensibles à l'université l'Arbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi du professeur **KHAIRI Abdelkader** qui je remercie vivement pour son accueil au sein du laboratoire.

- Le laboratoire de recherches sur les plantes, Département de chimie, Faculté des sciences, Université Cankiri Karatekin, Cankiri, Turquie du professeur **IBRAHIM Demirtas**, qui je tiens à lui remercier pour son accueil et sa gentillesse.

Remerciements

Je tiens également à remercier :

- Monsieur **ZELLAGUI Amar** professeur à l'université l'Arbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi pour sa précieuse aide.
- Madame **ALAOUA Noua MCA** à l'université l'Arbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi.
- Madame **GHERRAF Nadia** ingénieurs de laboratoire à l'université l'Arbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi

Un grand merci à **Soumia** et **Johra** mes collègues et amies, ingénieurs de laboratoire à l'université l'Arbi Ben M'hidi d'Oum El Bouaghi.

Enfin, je remercie tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation durant les trois cycles ; un diplôme d'ingénieur en écologie et environnement de l'université Mentouri, Constantine ; puis un diplôme de master en ASB de l'université d'Angers, France et enfin un diplôme de doctorat en biologie végétale et environnement de l'université Badji Mokhtar, Annaba.

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumés

| | |
|---------------------------|----|
| Introduction | 10 |
|---------------------------|----|

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales

| | |
|--|----|
| I. Plantes médicinales..... | 14 |
| 1. Définition..... | 14 |
| 2. Etude d'une plante médicinale..... | 14 |
| 2.1. Identification..... | 14 |
| 2.2. Récolte | 14 |
| 2.3. Nature de la dessiccation..... | 14 |
| 2.4. Conservation..... | 14 |
| 3. Phytothérapie..... | 15 |
| 3.1. Avantages..... | 15 |
| 3.2. Précaution d'emploi..... | 15 |
| II. Plantes médicinales sélectionnées..... | 16 |
| 1. Famille des Lamiacées..... | 16 |
| 1.1. <i>Rosmarinus officinalis</i> | 16 |
| 1.2. Classification..... | 17 |
| 1.3. Composition chimique..... | 18 |
| 1.4. Propriétés pharmacologiques..... | 20 |
| 1.5. Utilisation..... | 20 |

| | | |
|------|----------------------------------|----|
| 2. | Famille des Tamaricacées..... | 21 |
| 2.1. | <i>Tamarix gallica</i> | 22 |
| 2.2. | Classification..... | 23 |
| 2.3. | Composition chimique..... | 23 |
| 2.4. | Propriétés pharmacologiques..... | 24 |
| 2.5. | Utilisation..... | 24 |

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques

| | | |
|------|--|----|
| I. | Métabolites secondaires..... | 27 |
| 1. | Huiles essentielles..... | 28 |
| 1.1. | Définition..... | 28 |
| 1.2. | Rôle physiologique..... | 28 |
| 1.3. | Propriétés physiques et chimiques..... | 28 |
| 1.4. | Procédés d'extraction..... | 30 |
| 1.5. | Analyse des HE..... | 31 |
| 1.6. | Toxicité..... | 32 |
| 1.7. | Utilisation..... | 32 |
| 2. | Composés phénoliques..... | 32 |
| 2.1. | Définition..... | 32 |
| 2.2. | Classification..... | 33 |
| 2.3. | Phénols et acides phénoliques..... | 34 |
| 2.4. | Flavonoïdes..... | 34 |
| 2.5. | Procédés d'extraction..... | 36 |
| 2.6. | Analyses phytochimiques..... | 36 |
| 2.7. | Utilisation..... | 36 |
| II. | Activités biologiques..... | 36 |
| 1. | Activités biologiques des HE..... | 36 |
| 1.1. | Activité antioxydante..... | 36 |
| 1.2. | Activité anti-inflammatoire..... | 37 |

| | |
|--|----|
| 1.3. Activité anticancéreuse..... | 37 |
| 1.4. Activité antimicrobienne..... | 37 |
| 2. Activités biologiques des polyphénols..... | 38 |
| 2.1. Activité antioxydante..... | 38 |
| 2.2. Activité anticancéreuse..... | 38 |
| 2.3. Prévention contre les maladies cardiovasculaires..... | 39 |
| 2.4. Prévention contre les maladies hormono-dépendantes..... | 39 |
| 2.5. Action gastro-protectrice..... | 39 |
| 3. Activité biologiques des flavonoïdes..... | 40 |
| 3. 1. Activité antioxydante..... | 40 |
| 3.2. Activité antiallergique..... | 40 |
| 3. 3. Activité anti-inflammatoire..... | 41 |
| 3. 4. Activité antiulcéreuse..... | 41 |
| 3. 5. Activité anticancéreuse..... | 41 |

Chapitre III : Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

| | |
|--|----|
| 1. Facteurs biotiques..... | 43 |
| 1.1. Le cycle végétal..... | 43 |
| 1.2. Les chémotypes..... | 43 |
| 1.3. Diversité selon l'organe végétal..... | 44 |
| 2. Facteurs abiotiques..... | 44 |
| 2.1. Facteurs physiques..... | 44 |
| 2.1.1. Facteurs édaphiques..... | 44 |
| 2.1.2. Facteurs géographiques..... | 45 |
| 2.2. Facteurs climatiques..... | 45 |
| 2.2.1. Température..... | 45 |
| 2.2.2. Lumière..... | 46 |
| 2.2.3. Précipitations..... | 47 |
| 2.2.4. Variations saisonnières..... | 48 |

| | |
|--------------------------------|----|
| 3. Facteurs techniques..... | 48 |
| 3.1. Récolte..... | 48 |
| 3.2. Séchage..... | 49 |
| 3.3. Procédés d'obtention..... | 49 |

Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| I. Présentation des sites d'étude..... | 52 |
| 1. Région d'Oum El Bouaghi..... | 52 |
| 1.1. Situation géographique..... | 52 |
| 1.2. Relief..... | 52 |
| 1.3. Caractères climatiques..... | 53 |
| 1.4. Données météorologiques..... | 53 |
| 1.4.1. Précipitations..... | 54 |
| 1.4.2. Température..... | 54 |
| 1.4.3. Humidité relative de l'air..... | 54 |
| 1.4.4. Evaporation..... | 54 |
| 2. Région d'El Taref..... | 55 |
| 2.1. Situation géographique..... | 55 |
| 2.2. Relief..... | 55 |
| 2.3. Caractères climatiques..... | 55 |
| 2.4. Données météorologiques..... | 56 |
| 2.4.1. Précipitations..... | 56 |
| 2.4.2. Température..... | 57 |
| 2.4.3. Humidité relative de l'air..... | 57 |
| 2.4.4. Evaporation..... | 57 |

| | |
|---|----|
| 3. Région de Ouargla..... | 57 |
| 3.1. Situation géographique..... | 57 |
| 3.2. Relief..... | 57 |
| 3.3. Caractères climatiques..... | 57 |
| 3.4. Données météorologiques..... | 58 |
| 3.1.1. Précipitations..... | 58 |
| 3.1.2. Température..... | 58 |
| 3.1.3. Humidité relative de l'air..... | 58 |
| 3.1.4. Evaporation..... | 59 |
| II. Analyse climatique..... | 59 |
| 1. Variation des précipitations..... | 59 |
| 2. Variation des températures..... | 61 |
| 3. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen..... | 62 |
| 4. Climagramme d'Emberger..... | 64 |
| 5. Analyse du sol..... | 65 |
| 5.1. Analyse physique..... | 65 |
| 5.2. Analyse chimique..... | 67 |
| 5.2.1. Mesure du pH..... | 67 |
| 5.2.2. Mesure de la conductivité électrique..... | 68 |
| 5.2.3. Dosage du calcaire..... | 69 |
| 5.2.4. Détermination de la teneur pondérale en matière organique..... | 70 |
| III. Matériel et méthodes..... | 70 |
| 1. Objectif du travail..... | 70 |
| 2. Matériel végétal..... | 71 |
| 2.1. Récolte et séchage..... | 71 |
| 3. Extraction des HE..... | 71 |
| 3.1. Hydrodistillation..... | 71 |

| | |
|---|----|
| 3.2. Identification des composés..... | 72 |
| 4. préparation des extraits..... | 72 |
| 5. Dosage des composés phénoliques..... | 73 |
| 5.1. Dosage des polyphénols totaux..... | 73 |
| 5.2. Dosage des flavonoïdes..... | 73 |
| 6. Identification des composés phénoliques..... | 74 |
| 7. Activité antiproliférative..... | 74 |
| 8. Analyse statistique..... | 75 |
| 8.1. Test de l'analyse de la variance à un critère de classification ANOVA..... | 75 |
| 8.2. Test de Tukey..... | 75 |
| 8.3. Test de DUNNETT..... | 76 |

Chapitre V : Résultats et discussions

| | |
|--|----|
| 1. Identification des huiles essentielles..... | 78 |
| 3.3. <i>Rosmarinus officinalis</i> | 78 |
| 3.4. <i>Tamarix gallica</i> | 79 |
| 4. Dosage des composés phénoliques..... | 80 |
| 4.1. Polyphénols totaux..... | 80 |
| 4.2. Flavonoïdes..... | 83 |
| 5. Identification des composés phénoliques..... | 86 |
| 6. Activité antiproliférative..... | 87 |
| 6.1. Activité antiproliférative contre les cellules Hella..... | 87 |
| 6.1.1. <i>Rosmarinus officinalis</i> | 88 |
| A. Activité antiproliférative des HE..... | 88 |
| B. Activité antiproliférative de l'extrait aqueux..... | 89 |
| C. Activité antiproliférative de l'extrait acétate d'éthyle..... | 89 |

| | |
|--|-----|
| 6.1.2. <i>Tamarix gallica</i> | 91 |
| A. Activité antiproliférative des HE..... | 91 |
| B. Activité antiproliférative de l'extrait aqueux..... | 92 |
| C. Activité antiproliférative de l'extrait acétate d'éthyle..... | 92 |
| 6.2. Activité antiproliférative contre les cellules C6..... | 93 |
| 6.2.1. <i>Rosmarinus officinalis</i> | 93 |
| 6.2.2. <i>Tamarix gallica</i> | 95 |
| 7. Analyse statistique de l'activité antiproliférative..... | 96 |
| 7.1. Description des données..... | 96 |
| 7.1.1. Plante 1 : <i>Rosmarinus officinalis</i> | 97 |
| 7.1.2. Plante 2 : <i>Tamarix gallica</i> | 101 |
| 7.2. Test d'analyse de la variance à un critère de classification(ANOVA) | 106 |
| 7.2.1. Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station à l'aide de l'ANOVA..... | 106 |
| A. Plante 1 : <i>Rosmarinus officinalis</i> | 106 |
| B. Plate 2 : <i>Tamarix gallica</i> | 108 |
| 7.2.2. Test de Tukey..... | 110 |
| A. Plante 1 : <i>Rosmarinus officinalis</i> | 110 |
| B. Plate 2 : <i>Tamarix gallica</i> | 111 |
| 7.2.3. Test de DUNNETT..... | 113 |
| A. Plante 1 : <i>Rosmarinus officinalis</i> | 113 |
| B. Plate 2 : <i>Tamarix gallica</i> | 116 |
| Conclusion | 120 |
| Références bibliographiques | 122 |
| Annexes | 140 |

Liste des tableaux

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 01 | Quelques composés de l'HE de <i>R. officinalis</i> | 19 |
| 02 | Principales classes de composées phénoliques | 33 |
| 03 | Structure de base des principaux flavonoïdes | 35 |
| 04 | Activités biologiques des composés polyphénoliques | 40 |
| 05 | Données météorologiques d'Oum El Bouaghi pour l'année 2015 | 54 |
| 06 | Données météorologiques d'El Taref pour l'année 2015 | 56 |
| 07 | Données météorologiques d'Ouargla pour l'année 2015 | 58 |
| 08 | Résultats d'analyse granulométrique pour les trois sites d'étude | 66 |
| 09 | Résultats de mesure du pH dans les trois sites d'étude | 68 |
| 10 | Résultats de mesure de la conductivité électrique dans les trois sites d'étude | 68 |
| 11 | Echelle de classification des sols selon le taux du calcaire totale | 69 |
| 12 | Résultats de dosage du calcaire total dans les trois sites d'étude | 69 |
| 13 | Résultats de dosage du calcaire actif dans les trois sites d'étude | 69 |
| 14 | Echelle de détermination de la teneur pondérale en matière organique | 70 |
| 15 | Résultats de détermination du taux de la matière organique dans le sol dans les trois sites d'étude | 70 |
| 16 | Composition de l'HE de <i>R. officinalis</i> | 78 |
| 17 | Composition de l'HE de <i>T. gallica</i> | 79 |
| 18 | Teneurs en polyphénols de l'extrait aqueux des deux plantes d'étude pour les trois sites. | 81 |
| 19 | Teneurs en polyphénols de l'extrait acétate d'éthyle des deux plantes d'étude pour les trois sites. | 82 |
| 20 | Teneurs en flavonoïdes de l'extrait aqueux des deux plantes d'étude pour les trois sites. | 83 |
| 21 | Teneurs en flavonoïdes de l'extrait acétate d'éthyle des deux plantes pour les trois sites. | 84 |
| 22 | Compositions phénoliques de <i>R. officinalis</i> pour les 3 sites (W:extrait aqueux, EA: extrait acétate d'éthyle). | 86 |
| 23 | Compositions phénoliques de <i>T. gallica</i> pour les 3 sites (W: extrait aqueux, EA: extrait acétate d'éthyle). | 87 |
| 24 | IC ₅₀ et IC ₇₅ des extraits aqueux de <i>R.officinalis</i> contre les cellules C6 | 94 |
| 25 | IC ₅₀ et IC ₇₅ des extraits aqueux de <i>T. gallica</i> contre les cellules C6 | 95 |
| 26 | Statistiques descriptives des données relatives à HE de <i>R. officinalis</i> site 1. | 97 |
| 27 | Statistiques descriptives des données relatives à HE de <i>R. officinalis</i> site 2. | 97 |
| 28 | Statistiques descriptives des données relatives à HE de <i>R. officinalis</i> site 3. | 98 |
| 29 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> site 1. | 98 |
| 30 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> site 2. | 99 |
| 31 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> site 3 | 99 |
| 32 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait acétate d'éthyle de <i>R. officinalis</i> site 1. | 100 |
| 33 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait acétate d'éthyle de <i>R. officinalis</i> site 2. | 100 |

Liste des tableaux

| | | |
|-----------|--|------------|
| 34 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait acétate d'éthyle de <i>R. officinalis</i> site 3. | 101 |
| 35 | Statistiques descriptives des données relatives à HE de <i>T. gallica</i> site 1 | 101 |
| 36 | Statistiques descriptives des données relatives à HE de <i>T. gallica</i> site 2. | 102 |
| 37 | Statistiques descriptives des données relatives à HE de <i>T. gallica</i> site 3. | 102 |
| 38 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait aqueux de <i>T. gallica</i> site 1. | 103 |
| 39 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait aqueux de <i>T. gallica</i> site 2. | 103 |
| 40 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait aqueux de <i>T. gallica</i> site 3. | 104 |
| 41 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait acétate d'éthyle de <i>T. gallica</i> site 1. | 104 |
| 42 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait acétate d'éthyle de <i>T. gallica</i> site 2. | 105 |
| 43 | Statistiques descriptives des données relatives à extrait acétate d'éthyle de <i>T. gallica</i> site 3. | 105 |
| 44 | Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour l'activité de l'HE de <i>R. officinalis</i> | 106 |
| 45 | Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour l'activité de l'extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> | 107 |
| 46 | Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour l'activité de l'extrait acétate d'éthyle de <i>R. officinalis</i> | 107 |
| 47 | Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station à pour l'activité de l'HE de <i>T. gallica</i> | 108 |
| 48 | Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour l'activité de l'extrait aqueux de <i>T. gallica</i> | 109 |
| 49 | Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station à pour l'activité de l'extrait acétate d'éthyle de <i>T. gallica</i> | 109 |
| 50 | Résultats du test de Tukey pour l'HE de <i>R. officinalis</i> | 110 |
| 51 | Résultats du test de Tukey pour l'extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> | 110 |
| 52 | Résultats du test de Tukey pour l'extrait acétate d'éthyle de <i>R. officinalis</i> | 111 |
| 53 | Résultats du test de Tukey pour l' HE de <i>T. gallica</i> | 111 |
| 54 | Résultats du test de Tukey pour l'extrait aqueux de <i>T. gallica</i> | 112 |
| 55 | Résultats du test de Tukey pour l'extrait acétate d'éthyle de <i>T. gallica</i> | 112 |
| 56 | Résultats du test de DUNNETT pour l'HE de <i>R. officinalis</i> | 113 |
| 57 | Résultats du test de DUNNETT pour l'extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> | 114 |
| 58 | Résultats du test de DUNNETT pour l'extrait acétate d'éthyle de <i>R. officinalis</i> | 115 |
| 59 | Résultats du test de DUNNETT pour l'HE de <i>T. gallica</i> | 116 |
| 60 | Résultats du test de DUNNETT pour l'extrait aqueux de <i>T. gallica</i> | 117 |
| 61 | Résultats du test de DUNNETT pour l'extrait acétate d'éthyle de <i>T. gallica</i> | 118 |

Liste des figures

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 01 | <i>Rosmarinus officinalis</i> | 17 |
| 02 | <i>Tamarix gallica</i> | 23 |
| 03 | Structure de quelques composés des HE (A) : monoterpénoïdes, (B) : sesquiterpénoïdes et (C) : phénylpropanoïdes. | 29 |
| 04 | Structure des polyphénols | 32 |
| 05 | Quelques phénols et acides phénoliques | 34 |
| 06 | Carte de situation géographique des trois sites d'étude. | 52 |
| 07 | Carte climatique de la wilaya d'Oum El Bouaghi | 53 |
| 08 | Carte climatique de la wilaya d'El Taref | 56 |
| 09 | Variation annuelle des précipitations à la station d'Oum El Bouaghi | 59 |
| 10 | Variation annuelle des précipitations à la station d'El Taref | 60 |
| 11 | Variation annuelle des précipitations à la station d'Ouargla | 60 |
| 12 | Variation annuelle des précipitations au niveau des trois stations | 61 |
| 13 | Valeurs des moyennes annuelles des températures minimales absolues aux stations d'Oum El Bouaghi, El Taref, Ouargla (2015) | 61 |
| 14 | Valeurs des moyennes annuelles des températures maximales absolues aux stations d'Oum El Bouaghi, El Taref, Ouargla (2015) | 62 |
| 15 | Variation annuelle des températures au niveau des trois stations | 62 |
| 16 | Diagramme ombrothermique d'Oum El Bouaghi pour l'année 2015 | 63 |
| 17 | Diagramme ombrothermique d'El Taref pour l'année 2015. | 63 |
| 18 | Diagramme ombrothermique d'Ouargla pour l'année 2015 | 64 |
| 19 | Climagramme du quotient pluviométrique Q2 d'Emberger des 03 stations d'étude. | 65 |
| 20 | Diagramme de classification des textures du site d'Oum El Bouaghi | 66 |
| 21 | Diagramme de classification des textures du site d'El Taref | 67 |
| 22 | Diagramme de classification des textures du site d'Ouargla | 67 |
| 23 | Echelle de salure en fonction de la conductivité de l'extrait aqueux au 1/5 | 68 |
| 24 | Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation | 71 |
| 25 | Evaporation des extraits par Rotavapor | 72 |
| 26 | Courbe d'étalonnage de l'acide gallique | 80 |
| 27 | Teneurs en polyphénols de l'extrait aqueux chez les deux plantes d'étude pour les trois sites. | 81 |
| 28 | Teneurs en polyphénols de l'extrait acétate d'éthyle chez les deux plantes d'étude pour les trois sites. | 82 |
| 29 | Courbe d'étalonnage de la quercétine | 83 |
| 30 | Teneurs en flavonoïdes de l'extrait aqueux chez les deux plantes d'étude pour les trois sites. | 84 |
| 31 | Teneurs en flavonoïdes de l'extrait acétate d'éthyle chez les deux plantes d'étude pour les trois sites. | 85 |
| 32 | Activité antiproliférative de l'HE de <i>R. officinalis</i> pour les trois sites | 88 |
| 33 | Activité antiproliférative de l'extrait aqueux de <i>R.officinalis</i> pour les trois sites | 89 |
| 34 | Activité antiproliférative de l'extrait acétate d'éthyle de <i>R.officinalis</i> pour les trois sites | 89 |

Liste des figures

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 35 | Activité antiproliférative de l'HE de <i>T. gallica</i> pour les trois sites | 91 |
| 36 | Activité antiproliférative de l'extrait aqueux de <i>T. gallica</i> pour les trois sites | 92 |
| 37 | Activité antiproliférative de l'extrait acétate d'éthyle de <i>T. gallica</i> pour les trois sites | 92 |
| 38 | Activités antiprolifératives de l'extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> contre les cellules C6. | 93 |
| 39 | Activités antiprolifératives de l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>R. officinalis</i> contre les cellules C6 | 94 |
| 40 | Activités antiprolifératives de l'extrait aqueux de <i>T. gallica</i> contre les cellules C6. | 95 |
| 41 | Activités antiprolifératives de l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>T. gallica</i> contre les cellules C6 | 96 |

Liste des abréviations

HE : huile essentielle

R. officinalis : *Rosmarins officinalis*

T. gallica : *Tamarix gallica*

OEB : Oum El Bouaghi

EA1 : extrait acétate d'éthyle d'Oum El Bouaghi

EA2 : extrait acétate d'éthyle d'El Tarf

EA3 : extrait acétate d'éthyle de Ouargla

W1 : extrait aqueux d'Oum El Bouaghi

W2 : extrait aqueux d'El Tarf

W3 : extrait aqueux de Ouargla

GC : Analyse par chromatographie en phase gazeuse

GC / MS Analyse par chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse

RT : temps de rétention

HPLC : La chromatographie en phase liquide à haute performance

mg EAG/g PS : milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec d'extrait

mg EQ/g PS : milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme du poids sec d'extrait

L : limoneux

A : argileux

S : sableux

LA : limono-argileux

SL : sableux-limoneux

\bar{X} : moyenne

Xmin : valeurs minimales

Xmax : valeurs maximales

Dld : degré de liberté

SCE : somme des carrés des écarts

CM : carré moyen

FOBs : valeur observée de F de Fisher

P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives

n : source de variation

EXT Aq : extrait aqueux

Liste des abréviations

EXT EA : extrait acétate d'éthyle

P1 : plante 1

P2 : plante2

S1 : site 1= Oum El Bouaghi

S2 : site 2= El Taref

S3 : site 3= Ouargla

T1 : temps 1(12 h)

T2 : temps 2 (24 h)

T3 : temps 3 (36 h)

T4 : temps 4 (48 h)

Résumé :

Le présent travail vise à évaluer l'effet qualitatif et quantitatif des facteurs environnementaux sur le contenu des composés phénoliques dans les extraits aqueux et d'acétate d'éthyle ainsi que les huiles essentielles de la partie aérienne des espèces *Rosmarinus officinalis* et *Tamarix gallica* collectées dans trois régions géographiques différentes (El Taref, Oum El Bouaghi, Ouargla) en Algérie. En effet, les huiles essentielles ont fait l'objet d'une analyse GC/MS tandis que les composés phénoliques dans les extraits aqueux et acétate d'éthyle ont été soumis à une quantification par des techniques appropriées puis identifier par HPLC. En plus, l'évaluation de l'activité antiproliférative des extraits susmentionnés a été réalisée par les essais ELISA et xCELLigence. Le contenu en huiles essentielles (HE) dans l'espèce *Rosmarinus officinalis* a relevé d'importantes dissemblances. Par exemple l' α -pinène et le camphre en tant que composants majeurs varient de 16,78 à 40,95 % et de 11,24 à 36,72% respectivement. En revanche, pour l'HE de *Tamarix gallica* on n'a identifié que trois composés dans les trois sites : Benzène 1,3- diméthyle; Benzène 1,2- diméthyle; Éthyle benzène. Les composés phénoliques totaux présentaient une teneur élevée à El Taref dans les deux plantes pour les extraits aqueux et acétate d'éthyle. On a constaté que le rendement en flavonoïdes variait d'un site à l'autre dans les deux plantes et pour les deux extraits. Par ailleurs, les principaux composés phénoliques se sont révélés être l'héspéridine et l'acide rosmarinique chez les deux espèces et varient considérablement par rapport au site de collecte et le solvant d'extraction. De plus, les extraits ont été testés sur deux lignées de cellules cancéreuses C6 (tumeur cérébrale de rat) et Hella et ont montré une efficacité variable allant de bonne à 250 $\mu\text{g} / \text{mL}$ pour la plupart des extraits à très faible principalement à 50 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Les disparités obtenues ont mis en évidence l'effet des facteurs climatiques en tant que facteurs déterminants de la qualité des métabolites secondaires et donc en tant qu'éléments influençant sur l'activité biologique.

Mots-clés: *Tamarix gallica*; *Rosmarinus officinalis*; facteurs environnementaux; huiles essentielles; composés phénoliques, activité antiproliférative.

Summary:

The present work aimed to evaluate the qualitative and quantitative effect of environmental factors on the content of phenolic compounds in aqueous and ethyl acetate extracts as well as the essential oils of the aerial part of the species *Rosmarinus officinalis* and *Tamarix gallica* collected in three different geographical regions (El Taref, Oum El Bouaghi, Ouargla) in Algeria. Indeed, the essential oils were subjected to GC / MS analysis while the phenolic compounds in the aqueous and ethyl acetate extracts were quantified by appropriate techniques and then identified by HPLC. In addition, the evaluation of the antiproliferative activity of the above extracts was carried out by the ELISA and xCELLigence tests. The content of essential oils (HE) in the species *Rosmarinus officinalis* revealed significant differences. For instance, α -pinene and camphor as major components range from 16.78 to 40.95% and from 11.24 to 36.72%, respectively. In contrast, for *Tamarix gallica*, only three compounds were identified in the three sites: 1,3-dimethyl Benzene; 1,2-dimethyl benzene and Ethyl benzene. The total phenolic compounds content was found to be higher for El Taref sample in both plants and for both aqueous and ethyl acetate extracts. The flavonoid yield was found to vary from one site to another in both plants and for both extracts. Moreover, the main phenolic compounds were found to be hesperidin and rosmarinic acid in both species and vary considerably with respect to the collection site and the extraction solvent. In addition, the extracts were tested on two cancer cell lines namely C6 (rat brain tumor) and Hella cells and showed a variable efficacy ranging from good at 250 $\mu\text{g} / \text{mL}$ for most extracts to very low mainly at 50 $\mu\text{g} / \text{mL}$. The disparities obtained highlighted the effect of climatic factors as determinants of the quality of secondary metabolites and thus as influencing elements on biological activities.

Keywords: *Tamarix gallica*; *Rosmarinus officinalis*; environmental factors; essential oils; phenolic compounds, antiproliferative activity.

الملخص :

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الأثر الكمي والكيفي للعوامل البيئية على محتوى المستقلبات الثانوية في المستخلصات المائية وخلات الإيثيل ، وكذلك الزيوت الأساسية للجزء الهوائي من نوع *Tamarix gallica* و *Rosmarinus officinalis* المجمع في ثلاث مناطق جغرافية مختلفة (الطارف، ام البواقي، ورقلة) في الجزائر. في الواقع ، تم إخضاع الزيوت الأساسية لتحليل GC / MS في حين تم تحديد كمي للمستقلبات الثانوية في المستخلصات المائية وخلات الإيثيل بواسطة تقنيات مناسبة ومن ثم تم تحديدها بواسطة HPLC. بالإضافة إلى ذلك ، تم إجراء تقييم النشاط المضاد للتكاثر في المستخلصات المذكورة أعلاه من خلال اختبارات ELISA و xCELLigence. كشف محتوى الزيوت العطرية (HE) في النوع *Rosmarinus officinalis* عن اختلافات كبيرة. على سبيل المثال ، يتراوح بين α -pinene و camphor كمكونات رئيسية من 16.78 إلى 40.95٪ ومن 11.24 إلى 36.72٪ على التوالي. في المقابل، بالنسبة إلى *Tamarix gallica*، تم تحديد ثلاثة مركبات فقط في المواقع الثلاثة: dimethyl Benzene-1,3؛ dimethyl benzene and Ethyl benzene-1,2. وجد أن محتوى المستقلبات الثانوية الكلية كان أعلى بالنسبة لعينة الطارف في كلا النباتين والمستخلصات المائية وخلات الإيثيل. وجدنا أن نسبة الفلافونويد تختلف من موقع إلى آخر في كلا النباتين وكلا المستخلصين. علاوة على ذلك ، تم العثور على المستقلبات الثانوية الرئيسية المتمثلة في hesperidin وحمض rosmarinic في كلا النوعين وتختلف إلى حد كبير فيما يتعلق بموقع جمع ومذيب الاستخلاص. بالإضافة إلى ذلك ، تم اختبار المستخلصات على سلالتين من الخلايا السرطانية وهما C6 (ورم دماغ الفئران) وخلايا Hella وأظهرت فعالية متغيرة تتراوح بين جيد عند 250 ميكروغرام / مل لمعظم المستخلصات إلى درجة منخفضة للغاية أساساً عند 50 ميكروغرام / مل. أبرزت الفوارق التي تم الحصول عليها تأثير العوامل المناخية كمحددات لجودة المستقلبات الثانوية ، وبالتالي التأثير هذه العناصر على الأنشطة البيولوجية.

كلمات البحث: *Tamarix gallica*؛ *Rosmarinus officinalis*؛ العوامل بيئية ؛ الزيوت الأساسية؛ المستقلبات الثانوية ، نشاط مضاد للتكاثر.

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et possèdent un très large éventail d'activités biologiques.

Dans le monde, 80% des populations rurales ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité (Diallo, 2005).

De nombreuses plantes traditionnelles sont bien connues pour remédier à des maladies simples à graves et à des maladies dangereuses, y compris différents types de cancer en raison de leur efficacité en tant que sources potentielles d'antioxydants naturels (Doudache et *al.*, 2013 ; Fattahi et *al.*, 2013).

Récemment, diverses préparations à base de plantes ont fasciné les réflexions de nombreux chercheurs sur les traitements du cancer. Un certain nombre de plantes médicinales et leurs composés bioactifs ont montré des effets anticarcinogènes et antiprolifératifs sur les cellules cancéreuses. À l'heure actuelle, plus de 60% des agents anticancéreux proviennent de sources naturelles, notamment de plantes, d'organismes marins et de micro-organismes. Divers rapports ont montré que les produits phytochimiques pouvaient offrir une protection contre les troubles induits par les radicaux libres, principalement en raison de leur teneur en flavonoïdes et en composés phénoliques sous forme libre ou complexe. Ces composés ont été identifiés et quantifiés dans plusieurs fruits et légumes et ont montré une forte corrélation avec l'activité antioxydante (Zeich et *al.*, 2012 ; Carmona-Ramirez, 2013).

Les composés secondaires des plantes tels que les huiles essentielles, les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et la lignine sont impliqués dans de nombreuses réactions de défense des plantes. Les facteurs environnementaux, tels que l'approvisionnement en substrats nutritifs, la température, l'éclairement ou la concentration du dioxyde de carbone dans l'atmosphère, peuvent influencer sur le contenu en composés secondaires des tissus végétaux. L'hypothèse GDB (Growth-Differentiation Balance) revient à considérer que les variations de composés secondaires d'une plante à l'autre résultent d'un échange de ressources, dépendant de l'environnement au sein duquel la plante a effectué sa croissance, entre les processus liés à la croissance et ceux liés à la différenciation ; selon cette hypothèse, tout facteur de l'environnement qui réduirait la croissance plus que l'activité photosynthétique pourrait augmenter l'ensemble de ressources disponibles pour le métabolisme secondaire.

La température et les précipitations sont des facteurs climatiques de toute première importance car elles contrôlent l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionnent la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère (Ramade, 1984).

Le premier objectif de cet axe est d'étudier les effets des facteurs environnementaux et déterminer et hiérarchiser les paramètres environnementaux (abiotiques) qui influent sur la croissance et la production de métabolites secondaires des deux espèces *Rosmarinus officinalis* et *Tamarix gallica*.

Introduction

Rosmarinus officinalis appartient à la famille des Lamiacées, connue sous le nom de Romarin, est très répandu dans la région méditerranéenne et réparti dans le monde entier. Les extraits du romarin présentent de nombreuses activités biologiques, notamment leurs effets antimicrobiennes et anti-mammaires, les antidépresseurs, les anti-ulcérogènes, les anti-inflammatoires et les antioxydants. Les principaux composants du Romarin sont l'acide rosmarinique, qui aurait des activités anticarcinogènes, anti-allergiques, antimutagènes, antibactériennes et antioxydantes (Bernardes, 2010 ; Mchado et *al.*, 2013 ; Amaral et *al.*, 2013 ; Lucarini et *al.*, 2013 ; Ma et *al.*, 2013 ; Wang et *al.*, 2011 ; Munoz-Munoz et *al.*, 2013).

Le genre *Tamarix* (Tamaricaceae) est représenté en Algérie par dix espèces. Il a été signalé que *Tamarix gallica* est utile dans le traitement de la leucodermie, des troubles de la rate et des maladies des yeux. Des activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Tamarix gallica* ont également été rapportées. Il peut être utilisé en tant que remède prophylactique et thérapeutique pour traiter le paludisme en tant que médecine traditionnelle. De plus, il aurait des effets anticancéreux sur les cellules cancéreuses du côlon humain (Lefahal, 2010 ; Lefahal et *al.*, 2017 ; Kendour et *al.*, 2010 ; Tagarelli et *al.*, 2010 ; Boulaaba et *al.*, 2013).

Les deux espèces ont été récoltées dans trois régions en Algérie qui présentent des étages bioclimatiques très différents ; la région de Ouargla (aride), la région d'Oum El Bouaghi (semi-aride) et la région de El Taref (sub-humide).

Dans le but de mettre en évidence l'impact des conditions environnementales sur la teneur en métabolites secondaires et, par conséquent, sur le pouvoir de répartition de ces espèces, Nous avons procédé à :

- la quantification et l'identification des huiles essentielles, extraites par hydrodistillation, des deux plantes par GC/MS.
- Dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes).
- Identification des composés phénoliques par HPLC.
- Mesure de l'activité antiproliférative des huiles essentielles et des extraits secs (aqueux, acétate d'éthyle) des deux plantes.

Les résultats de l'investigation *in vitro* de l'activité antiproliférative ont fait l'objet d'une étude statistique, à l'aide d'une série d'analyses et de tests univariés (ANOVA, Tukey et Dunnett) ces tests ont été appliqués aux données des deux plantes d'étude prélevées sur les trois sites d'échantillonnage et ont permis de confirmer les résultats obtenus.

Partie Bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur les Plantes
Médicinales

I. Plantes médicinales :

1. Définition

Les traces de l'utilisation des plantes médicinales existent depuis des milliers d'années, elles sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth et *al.*, 1986); elles tiennent une place importante dans la pharmacopée, leurs propriétés médicales sont dues à l'existence de substances actifs.

Environ 28 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales (centre de recherche botanique des Kew Gardes, 2017), ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj et *al.*, 2007).

2. Etude d'une plante médicinale :

2.1. Identification

Avant toute utilisation, les plantes doivent être identifiées. Le nom scientifique d'une plante, exprimé en latin, comprend le nom de genre suivi d'un nom d'espèce, ainsi que l'initial ou de l'abréviation du botaniste qui, le premier, a décrit la plante en question. Éventuellement il est complété par celui de la sous espèce ou de la variété. Si le moindre doute subsiste, ne pas utiliser la plante, de nombreux cas d'intoxication sont dus à une erreur d'identification.

2.2. Récolte

Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte, car au cours du temps, des saisons, des mois, voire des journées, des poussées de biosynthèse peuvent engendrer une accumulation plus ou moins importante de certains constituants des chaînes métaboliques. Les différentes parties de la plantes peuvent être récoltés comme suit :

- _ Les racines au moment du repos végétatif (automne, hiver);
 - _ Les parties aériennes, le plus souvent au moment de la floraison;
 - _ Les feuilles juste avant la floraison;
 - _ Les fleurs à leur plein épanouissement, voir en bouton (aubépine);
 - _ Les graines, lorsqu'elles ont perdu la majeure partie de leur humidité naturelle.
- (Anton, 1999).

2.3. Nature de la dessiccation

Pour assurer une bonne conservation, c'est-à-dire favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique après la récolte, éviter la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne, le séchage apparaît comme un élément primordial.

Les techniques de dessiccation sont diverses:

- _ Au soleil et à l'air libre pour les écorces et les racines;
- _ A l'abri d'une lumière trop vive pour les fleurs, afin d'éviter une modification de leur aspect, et parfois leur activité (huiles essentielles); Avec une température de séchage bien choisie, car la composition chimique peut varier selon les conditions (Anton, 1999).

2.4. Conservation

Les plantes médicinales, rarement utilisées à l'état frais, doivent être conservées dans des bonnes conditions. Etant donné que la moindre trace d'humidité déclencherait un processus de moisissure, les drogues séchées doivent être placées immédiatement dans les récipients bien

Chapitre I : généralités sur les Plantes Médicinales

secs, dans des sacs de papier, dans des boîtes en verre blanc ou dans des caisses. La conservation se fait à sec et à l'abri de l'air (Callery et Emma, 1998).

3. Phytothérapie:

C'est le traitement par les plantes, employée depuis les temps les plus reculés sous forme simple ou de préparations composées, où les plantes elle mêmes étaient utilisées. Elle a été transformée depuis le XIX^e siècle par l'emploi des extraits de plantes, puis par celui des substances actives isolées de celle-ci au premier plan les quelles se situent les alcaloïdes (Domart et Bourneuf, 1982).

3.1. Avantages

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhum ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. (Chevallier, 2001)

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. C'est pour quoi on utilise à nouveau l'absinthe chinoise (*Artemisia annua*) et surtout son principe actif pour soigner la malaria lorsque les protozoaires responsables de la maladie résistent aux médicaments. La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien accepté par l'organisme, est souvent associée aux traitements des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20 % des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. (Chevallier, 2001)

3.2. Précaution d'emploi

Si les plantes sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires. Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste. Certaines plantes contiennent des principes actifs qui peuvent être extrêmement puissants, d'autres sont toxiques à faibles dose. Toutefois, lorsqu'un traitement à base de plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités. (Chevallier, 2001).

II. Plantes médicinales sélectionnées :

1. Famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées (*Lamiaceae*) ou Labiées (*Labiatae*) est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 6000 espèces et près de 210 genres, répartis dans le monde entier, mais surtout dans la région méditerranéenne. Elles sont réparties en sept sous-familles (*Ajugoideae*, *Chloanthoideae*, *Lamioideae*, *Nepetoideae*, *Scutellarioideae*, *Teucrioideae*, *Viticoideae*, *Pogostemoideae*). Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et rarement des arbres ou des lianes, producteurs d'huiles essentielles (HE), largement répandus autour du monde et dans tout type de milieux. La forme de lèvre de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille. Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige et les feuilles opposées sont aussi des caractéristiques. De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes mellifères, fréquentées par les abeilles (Cuignard, 2001).

Les plantes de cette famille sont rarement ligneuses, souvent velues, à tige généralement quadrangulaire. Les feuilles sont opposées et décussées (disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre), dépourvues de stipules, à limbe généralement denté. Les fleurs généralement sont hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire. Les sépales (calice) et les pétales (corolle) sont soudés en tubes comportant habituellement quatre ou cinq lobes, ou lèvres, de forme irrégulière (symétrie bilatérale). Les deux, quatre ou cinq étamines sont attachées à l'intérieur du tube corollaire. L'ovaire est supère, libre et possède deux carpelles (Bonniere et Douin, 1992). Les Lamiacées possèdent souvent des poils glanduleux et des glandes sous-épidermiques à huiles essentielles les rendant très odorantes.

1.1. *Rosmarinus officinalis*

Le genre *Rosmarinus* regroupe deux espèces de plantes de la famille des Lamiacées originaires du bassin méditerranéen le *Rosmarinus eriocalyx* et le *Rosmarinus officinalis* ; *Romarin*, «*Klil* », «*Hassalhan* », «*Iazir* », appelé encensier, est une herbe aux couronnes ou romarin des troubadours, propre aux régions méditerranéennes. Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur. Il possède des feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, légèrement enroulés aux bords, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous, avec une odeur très camphrée. Les fleurs varient du bleu pâle au violet (figure 01). (Kahoul, 2010) Il habite les garrigues sur sol calcaire où il forme de grands massifs. Il est aussi cultivé en tant qu'herbe condimentaire, plante mellifère, plante phytothérapeutique ainsi que pour la parfumerie. Son nom signifie rosée de mer en Latin.

Comme de nombreuses labiées, le romarin est originaire du bassin méditerranéen où il est cultivé dès l'antiquité, plus pour son odeur que pour ses vertus médicinales.

Les régions de la méditerranée représentent une zone principale d'existence des différents types de romarin; cette plante occupe de vastes superficies du nord de l'Afrique et du sud de l'Europe en plus de la Russie et la Roumanie. Les pays producteurs de cette catégorie de plante sont: l'Espagne, la France, l'Algérie, la Tunisie, le Maroc, l'Amérique du Nord, le Portugal, la Yougoslavie et l'Égypte.

Cette plante peut supporter les températures basses quand il neige et dure pour longtemps, elle résiste aux hauts degrés de salinité surtout quand elle passe près des régions littorales. Actuellement, on le retrouve dans toutes les régions tempérées du globe.

Les gens ont longtemps cru que le romarin pouvait améliorer la mémoire. C'est aussi une herbe qui a été utilisée pour purifier l'air et éloigner les maladies contagieuses. Ajouté à l'eau

Chapitre I : généralités sur les Plantes Médicinales

d'un bain, le romarin stimule la circulation sanguine. Des recherches récentes ont démontré que l'huile de romarin avait certaines propriétés antibactériennes (Kaloustian et *al.*, 2008).

Il existe trois variétés de romarin, de provenance différente: le camphré de France, le cinéole d'Afrique du Nord et le verbénone de Corse. Elles ont des vertus différentes et des odeurs différentes. Ainsi, l'huile essentielle de romarin, présente 3 Chémotypes différents et par la même, 3 indications thérapeutiques différentes :

Rosmarinus officinalis Camphre : Il est utilisé dans les pommades cicatrisantes à usage externe, pour parfumer l'eau des bains et bien sûr dans certains plats cuisinés. Elle a des propriétés anti-inflammatoires.

Rosmarinus officinalis Cinéole : Cette huile possède des propriétés phytothérapeutiques de la sphère ORL (otite, sinusites, bronchites...). Elle est anticatarrhale, expectorante et mucolytique. C'est aussi un fongicide assez efficace et un assez bon antibactérien.

Rosmarinus officinalis Verbénone: Cette huile est un excellent cicatrisant et un bon régénérant des tissus cellulaires, un lipolytique et un régulateur endocrinien, nerveux et cardiaque intéressant, a des propriétés antiseptiques pulmonaires et mucolytiques, a des propriété cholagogues et hépatoprotectrices (Touafek, 2010).



Figure.1 : *Rosmarinus officinalis*

1.2. classification

Le romarin tient son nom du latin, *ros*, rosée, et *marinus*, de mer : allusion à son parfum et à son habitat sur les coteaux maritimes. Sa taxonomie botanique est comme suit :

Règne: *Plantae*

Division: *Magnoliophyta* (Angiospermes)

Classe: *Magnoliopsida* (Dicotylédones)

Ordre: *Lamiales*

Famille: *Lamiaceae*

Genre: *Rosmarinus*

Espèce: *Rosmarinus officinalis* L.

Noms communs: Romarin, Encensier, Herbe aux couronnes, Rose des marins, Rose de la mer, Rose-marine, Iklil el-jebel, âzir.

Période de floraison: Février à Avril

Couleur des fleurs: Bleu / mauve

Exposition: Soleil

Hauteur: 150 cm

Origine : régions méditerranéennes

1.3. Composition chimique :

a. L'huile essentielle

Les propriétés du romarin sont contenues dans les feuilles et les extrémités florales. On peut le prendre en infusion pour lutter contre les indigestions, digestions difficiles et les gripes, ou bien, pour des traitements de longue durée, on peut le prendre en gélules. Son huile essentielle possède de nombreuses actions traitantes, parmi lesquelles: stimuler le fonctionnement de la vésicule biliaire, aider à la digestion, apaiser les nerfs et agir en cas d'insuffisance hépatique et de douleurs musculaires.

L'huile essentielle est également utilisée pour calmer la toux et soigner les bronchites. Cette huile, tonique, astringente, sudorifique, stimulante, est connue comme un stomachique et nervin, capable de guérir de nombreux cas de maux de tête provoqués par une circulation faible (Kahoul, 2010). L'huile essentielle du romarin (1 à 2% dans la plante) contient : de l' α -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 38%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène (tableau 01). En plus de l'huile essentielle on trouve dans le romarin : 2 à 4% de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques : picrosalvine, dérivés de l'acide carnosolique, rosmanol, rosmadial , des acides phénoliques, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque , des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage (Bellakhdar, 1997)et de la résine (Beloued, 1998).

b. Les acides phénoliques acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique (Ibañez et *al.*, 2003).

c. Les flavonoïdes genkwanine, cirsimaritrine, ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline, apigénine (Ibañez et *al.*, 2003 ; Okamura et *al.*, 1994 ; Yang et *al.*, 2008).

Le criblage phytochimique de l'extrait ethanologique des parties aériennes du romarin a indiqué la présence des flavonoïdes, des tannins et des saponines, et l'absence des alcaloïdes détecté dans l'extrait aqueux. Les flavonoïdes détectés par la chromatographie sur couche mince (CCM) sont la quercétine et le kaempférol (Gonzalez-Trujano et *al.*, 2007).

Chapitre I : généralités sur les Plantes Médicinales

Tableau 01 : Quelques composés de l'HE de *R. officinalis*

| Composé | Localité et pourcentage % de composé | | | | | | | | |
|------------------------|---|---|--|--|--|---|---|---|---|
| | Algérie (Djeddi et <i>al.</i> , 2007) | Tunisie (Zaouli et Boussaid, 2008) | France (Kaloustian et <i>al.</i> , 2008) | Serbie (Dimitrijevic et <i>al.</i> , 2007) | Grec (Katerinopoulos et <i>al.</i> , 2005) | Chine (Wang et <i>al.</i> , 2008) | Afrique du Sud (Mangena et Muyima, 1999) | Turquie (Celiktas et <i>al.</i> , 2007) | Iran (Gachkar et <i>al.</i> , 2007) |
| α -pinène | 5.4 | - | 20.8 | - | - | 19.43 | 18.18 | 9.4 | 14.9 |
| Camphène | 7.2 | 5.9 | 5.1 | - | - | 11.52 | 6.08 | - | - |
| 1,8-cinéole | 12.2 | 33.1 | 36.9 | 52.20 | 12.89 | 27.23 | 31.12 | 50.7 | 7.43 |
| Camphre | 14.6 | 18.0 | 34.2 | 10.08 | 22.24 | 14.26 | 30.12 | 5.9 | 4.94 |
| Terpinen-4-ol | - | 6.0 | - | - | - | - | - | - | - |
| Bornéol | 10.6 | 8.0 | - | - | 7.37 | - | - | 6.8 | - |
| Pipéritone | - | - | - | 6.68 | - | - | - | - | 23.7 |
| α -terpéniol | 5.2 | - | - | - | 5.67 | - | - | 6.8 | - |
| Caryophyllène oxyde | 10.9 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| β -pinène | 8.5 | - | - | - | - | 6.71 | - | - | - |
| Camphrène | - | - | - | - | - | 19.43 | 18.18 | - | - |
| Linalol | - | - | - | - | - | - | - | - | 14.9 |

1.4. Propriétés pharmacologiques

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Anti spasmolytiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (Lemonica et al., 1996 ; Souza et al., 2008)
- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives (Ibañez et al., 2000 ; Pérez et al., 2007 ; Wang et al., 2008)
- Anti-inflammatoires, antimétastatiques (Cheung et Tai., 2007)
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (Singletary et Nelshoppen , 1991) et la prolifération des tumeurs cutanées (Huang et al., 1994)
- D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (Offord et al., 1995)
- Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) (Aruoma et al., 1996) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (Paris et al., 1993).

Pour les traitements externes (entorses, foulures, contusions, torticolis), on emploie les sommités infusées de la plante dans de l'alcool. L'extrait alcoolique lui-même agit sur les ulcères, les plaies, les dermatoses parasitaires. La décoction aqueuse s'utilise en gargarismes (angines) et bains de bouche (aphtes), ou elle est ajoutée à des bains stimulants.

L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifie les convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL (Dias et al., 2000).

Le romarin est un stimulant, antispasmodique, cholagogue. On l'indique pour ses qualités stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses, de la grippe. En sa qualité d'antispasmodique, il est bénéfique dans la catarrhe chronique des bronches, la coqueluche, les vomissements nerveux ; c'est un bon cholagogue utilisé dans les cholécystites chroniques, certaines ascites et cirrhoses, les ictères ; c'est aussi un emménagogue (aménorrhée dysménorrhée) et un diurétique (hydropisies) (Chang et al., 1977 ; Aqel, 1991 ; Leung et Foster, 1996 ; Haloui et al., 2000), un anti-VIH (Paris et al., 1993) et anti-carcinogénique (Offord et al., 1995).

1.5. Utilisation

L'huile essentielle de romarin est largement utilisée comme composant aromatique dans l'industrie des cosmétiques (savons, parfums, crèmes, etc...), mais aussi dans l'industrie alimentaire (boissons alcoolisées, desserts, bonbons, etc...).

a. Usage en parfumerie

L'utilisation du romarin en parfumerie est très ancienne. On connaît en particulier l'eau de la Reine de Hongrie, alcoolat fréquemment utilisé au XVII^{ème} siècle et qui pourrait avoir été conçu dès le XIV^{ème} siècle, dont le romarin était un des principaux composants. Le nom vient de la reine Elisabeth de Hongrie, qui l'aurait utilisé en 1378 à l'âge de 72 ans ; l'eau lui aurait rendu sa fraîcheur à tel point que le roi de Pologne l'aurait demandée en mariage (Bousbia, 2011).

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fougères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques. Calabres et al. (2000), étudièrent la faculté des extraits de romarin a

Chapitre I : généralités sur les Plantes Médicinales

protégé la peau des lésions cutanées induites par les radicaux libres. Ils ont montré la validité réelle de la biotechnologie des antioxydants naturels dans la gestion de l'anti-âge de la peau.

b. Usage alimentaire

Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments (Bousbia, 2011). Il a été reporté qu'il contient y compris l'huile essentielle, des diterpènes phénoliques tels que l'acide carnosique, le carnosol, le rosmanol, l'epirosmanol, l'isorosmanol, le méthylcarnosate et l'acide rosmarinique, qui peuvent être quatre fois plus efficaces que l'action antioxydante de l'hydroxyanisole butylé (BHA) et égaux à l'action de l'hydroxytoluène butylé (BHT). En outre, le BHA et le BHT ont été suspectés d'être cancérigènes et responsables des lésions hépatiques (Wang et al., 2000). De ce fait, il y a eu une tendance de sensibilisation des consommateurs et des organismes de santé pour limiter et éviter l'utilisation des additifs de synthèse dans les produits alimentaires. Cette tendance se reflète également dans l'Union européenne qui a récemment publié la directive 2006/52/CE se référant à la nécessité de réduire l'utilisation des BHA, BHT et de nitrites (Union européenne, 2006). Ces faits montrent la nécessité pour la recherche de mettre au point l'utilisation d'additifs naturels ou d'autres méthodes afin d'étendre la durée de conservation et/ou d'améliorer la sécurité alimentaire. En ce qui concerne la prévention de l'oxydation des lipides et la croissance microbienne, une telle solution pourrait être l'utilisation d'antioxydants naturels, puisque beaucoup d'entre eux présentent aussi une activité antimicrobienne.

Le romarin est utilisé dans l'industrie alimentaire comme alternative aux additifs chimiques pour la préparation de la volaille, de l'agneau, du veau, des fruits de mer, des saucisses et salades ainsi que des soupes et chapelures. Le romarin est également utilisé comme épice dans les croustilles, les chips et des frites françaises (Bousbia, 2011).

c. Aspect économique

Le romarin est la seule plante épice commercialement disponible pour une utilisation comme antioxydant naturel dans les différentes industries en Europe et aux Etats-Unis (Bozin et al., 2007). Les Etats-Unis sont l'un des principaux importateurs d'HE au monde. Parmi les HE importées, comme le romarin ne pousse pas naturellement sur son sol, ce pays s'approvisionne à partir des pays du bassin méditerranéen (Maroc, Espagne et Turquie).

2. Famille des Tamaricacées

La famille des Tamaricacées est une famille des plantes dicotylédones, comprend 125 espèces qui sont généralement réparties dans les différentes régions du monde et notamment l'Europe, USA, l'Asie et l'Afrique (Sultanova et al., 2001). Ces espèces sont regroupées en 3 genres qui sont respectivement : *Tamarix* L, *Reaumuria* L, *Myricaria* Desv (Younous et al., 2005)

Les Tamaricacées sont des petites arbres ou arbustes, ou le plus souvent herbacées, on peut les rencontrer dans les zones arides, ou sablonneuses des régions tempérées à subtropicales. En Algérie cette famille renferme deux genres seulement : *Tamarix* L (10 espèces) et *Reaumuria* L. (une seule espèce, *Reaumuria vermiculata* L) (Quezel et Santa, 1963).

Les Tamaricacées sont généralement caractérisées par des petites feuilles écailleuses, les fleurs sont souvent petites bisexuelles et rarement unisexuelles, actinomorphes bractéoles penta ou tétra mères, sépales et pétales imbriqués, étamines 5 ou plusieurs ovules anatropes ou ascendants, les fruits sont des capsules loculicides contient des graines barbues entièrement, ou souvent au sommet (crins, 1989).

Chapitre I : généralités sur les Plantes Médicinales

2.1. *Tamarix gallica*

Le genre *Tamarix* est représenté par des espèces phreatophytes facultatives et généralement halophytes, sont originaires d'Europe, de la méditerranée, de l'Afrique du nord, du Sahara et de l'Asie (Nelroy, 1996).

En Algérie le genre *Tamarix* est représenté par 10 espèces (Quezel et Santa, 1963) :

Tamarix aphylla

Tamarix brachystylis

Tamarix pauciovulata

Tamarix anglica

Tamarix balansae

Tamarix speciosa

Tamarix gallica

Tamarix africana

Tamarix parviflora

Tamarix boveana

Les *Tamarix* sont en générales des arbrisseaux ou arbres, très rameux à rameux dressés, grêlés, effilés, ceux de l'année sont feuillés (figure 02).

- Les feuilles sont petites, en forme d'écailles, sont alternes, plus en moins embarrassantes à la base et imbriqués ou linéaires.
- Les fleurs sont aussi petites moins de 2mm de diamètre, ont de couleur rose, rosées ou blanche, nombreuses en long épis plus ou moins cylindriques.
- Les fruits sont en forme de capsules trigones contient des petites graines.
- Les graines sont petites avec une touffé des cheveux sur l'extrémité pour faciliter leurs dispersion par le vent, ou de flotter l'eau (Brotherson et Field, 1987), d'une autre part sont cylindriques et très petites (Baker, 1972).

Le *Tamarix gallica* est connu communément comme tamaris de France, tarfa, tarfaïa. Il a été décrit pour la première fois pour la classification botanique par le taxonomiste Carl Von Linné en 1753, mais avait déjà été en culture depuis 1596. Ces plantes herbacées, à feuilles caduques, petit arbre atteignant jusqu'à environ 5 mètres de haut sont indigènes à l'Arabie Saoudite et la péninsule du Sinaï, et sont très communs dans la région méditerranéenne. Il est présent dans de nombreux autres domaines comme l'une des espèces introduites envahissantes, devenant souvent une mauvaise herbe nuisible.

La forme des feuilles est une adaptation au fil du temps à des conditions de sécheresse extrême. Les fleurs roses sont minuscules, hermaphrodites, et sont portées à l'aide de petits plumes-comme des pics. Souvent, ils fleurissent plus tôt que les feuilles, d'abord en mai, et parfois une deuxième fois en août. Elle a été cultivée comme plante ornementale pour sa production abondante de fleurs rose voyante. Cette plante se trouve surtout dans les régions salé et entre les zones interdunaires du désert (Drabu et *al.*, 2012).



Figure 02 : *Tamarix gallica*

2.2. Classification

Règne: *Plantae*

Division: *Magnoliophyta*(Angiospermes)

Classe: *Magnoliopsida*(Dicotylédones)

Ordre: *Violales*

Famille: *Tamaricaceae*

Genre: *Tamarix*

Espèce: *Tamarix gallica* L

Noms communs: Tamaris de France, tarfa, tarfaïa

Période de floraison: Mai à Août.

Couleur des fleurs: rose

Hauteur: 6-10 m

Application : sol sableux, supporte la sécheresse

Origine : Europe du Sud-Ouest, Afrique du Nord

2.3. Composition chimique

a. Les huiles essentielles l'analyse de l'huile essentielle des parties aériennes de *Tamarix boveana* d'origine tunisienne, a permis de dénombrer 62 composants dont 5 sont majoritaires et compris: Hexadecanoïque acide, Docosane, germacrene D, Fenchyl acétate, Benzyle benzoate (Saidana et *al.*, 2008). L'huile essentielle des feuilles et des branches de *Tamarix chinensis* est constituée de 63 composants dont un majoritaire c'est l'acide Hexadecanoïque 22 % (JiL et *al.*, 1997).

b. Les flavonoïdes constituent une classe importante du genre *Tamarix*, d'après la bibliographie on constate la présence de différentes classes de ces métabolites y compris les flavonoïdes sulfatés. Les différents flavonoïdes isolés à partir de l'espèce *Tamarix gallica* sont : Tamarixetine 3-*O*-Sulfate; Kaempferole 4'-methylether-sulfate; Kaempferole 7-methylether (Lefahal, 2014).

Chapitre I : généralités sur les Plantes Médicinales

Le genre *Tamarix* est celui le plus étudié des Tamaricacées, ce dernier est caractérisé par sa richesse en composés polyphénoliques en citant les flavonoïdes, les acides phénoliques et les coumarines (Djurdjevic et al., 2006 ; Nawwar et al., 1994 ; Sultanova et al., 2001) .

L'analyse phytochimique de *Tamarix gallica* montre qu'elle est riche en antioxydant comme les tannins à 50%, tamarixine, tamarixitine, troupine, 4-méthylcoumarin et 3, 3 -di-O- acide méthyllagique. La plante contient un niveau élevé de tanin (acide ellagique et gallique) et du quercetol (Drabu et al., 2012).

2.4. Propriétés pharmacologiques

L'étude des extraits de *Tamarix gallica* a montré plusieurs activités pharmacologiques :

- **Activité antioxydante :** Les feuilles et les fleurs de *Tamarix gallica* ont montré une activité antioxydante, cependant les fleurs ont montré une teneur plus élevée en antioxydants (Ksouri et al., 2009).
- **Activité Anti Hyperlipidémique :** Les extraits méthanoliques et phénoliques de *Tamarix gallica* ont montré une diminution dose-dépendante des taux de cholestérol, taux de triglycérides, de C-LDL et de VLDL-C et augmenter le C-HDL aux doses de 400 et 500 mg / kg de poids corporel chez les rats (Naveed et al., 2015).
- **L'extrait méthanolique des parties aériennes de *Tamarix gallica* a montré des activités anti-inflammatoires et analgésiques chez le rat (Chaturvedi et al., 2012).**
- **Effet sur les calculs rénaux :** L'extrait de *Tamarix gallica* a agi en tant qu'inhibiteur de la néphrolithiase (oxalate de calcium) (Bensatal and Ouahrani, 2008).
- **Activité antidiarrhéique** Un extrait méthanolique de feuilles de *Tamarix gallica* a montré une activité antidiarrhéique sur la diarrhée provoquée par l'huile de ricin chez la souris à une dose de 500 mg / kg p.o. poids corporel, comparé au médicament standard loperamide à la dose de 50 mg / kg de poids corporel (Habiba et al., 2010).
- **Activité Cytotoxique :** l'extrait méthanolique de *Tamarix gallica* présente une activité cytotoxique sur les crevettes (Habiba et al., 2010).
- **Activité Antimicrobienne :** Les feuilles et les fleurs de *Tamarix gallica* présentent une activité antimicrobienne, mais l'extrait de fleurs a montré une activité antibactérienne maximale, en particulier contre *Micrococcus luteus* (zi = 25 mm). Il a également des activités antifongiques, en particulier contre *Candida glabrata* (zi = 14,67 mm) et *Candida albicans* (zi = 14,33) (Boulaaba et al., 2015).
- **Effet Sur La Carcinogenese Du Foie :** L'extrait méthanolique de *Tamarix gallica* a montré des effets inhibiteurs sur la diéthylnitrosamine (DEN) initiée et la 2-acétyl aminofluorène (2-AAF) induite par la cancérogenèse hépatique chez des rats wistar mâles (Sehrawat and Sultana, 2006).

2.5. Utilisation

Tamarix gallica a été rapporté comme utiles dans la leucodermie, trouble de la rate et les maladies des yeux. Le Tamarix est employé en médecine traditionnelle comme astringent, apéritif, stimulant de la transpiration et diurétique. Il est utilisé comme anthelminitique, antihémorroïdes et pour la diarrhée et la gingivite. La plante est utilisée pour soigner les galles

Chapitre I : généralités sur les Plantes Médicinales

dromadaire. En Algérie et dans les environs la plante a été utilisée à des fins médicinales pour les rhumatismes, la diarrhée et autres maladies (Drabu et *al.*, 2012).

Chapitre II :
Métabolites Secondaires et
Activités Biologiques

I. Métabolites secondaires

Nous connaissons actuellement plus de 250000 espèces végétales. Celles-ci produisent un large éventail de substances chimiques de structures variées. Parmi elles, on distingue classiquement les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

Les métabolites primaires sont des produits issus directement des photoassimilats (sucres simples, acides aminés, protéines, acides nucléiques et organiques), qui participent à la structure de la cellule végétale ainsi qu'à son fonctionnement de base. Ils sont souvent produits en grande quantité mais présentent une valeur ajoutée relativement basse. Ces métabolites sont aussi définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales et, nécessaires à leur croissance et à leur développement (Vu, 2008). Par opposition, les métabolites secondaires ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisés à partir des métabolites primaires et résultent de réactions chimiques ultérieures. Leurs rôles dans la physiologie de la plante ne sont pas encore tous élucidés. Ces composés sont limités à certaines espèces de végétaux et sont importants pour la survie et la valeur adaptative des espèces qui les synthétisent (Croteau et *al.*, 2000).

Les métabolites secondaires sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre (Vu, 2008). Avec une structure chimique parfois complexe, ils sont très différents selon les espèces et s'accumulent le plus souvent en faible quantité. Ces molécules bioactives sont produites à différents endroits de la cellule dans des parties spécifiques de la plante en fonction du stade de développement (par exemple durant le développement de la plantule, de la fleur, du fruit, de la graine, ou de la racine). De façon générale, le rôle du métabolite secondaire est en lien avec sa localisation au sein de la plante (Pathak *et al.* 1962 ; Zobel et Brown, 1990). Par exemple, les furanocoumarines sont des substances antimicrobiennes (phytoalexines) jouant un rôle de défense contre les bactéries ou les champignons. Chez les plantes productrices, on les retrouve accumulées en grande quantité à la surface des feuilles où elles peuvent constituer une sorte de "première barrière chimique".

Les métabolites secondaires sont le reflet de la vie d'un écosystème; ils participent à la régulation de la démographie des plantes, ou des populations d'animaux qui établissent des relations avec les plantes. Ils ont donc un rôle écologique; par exemple, en attirant les insectes pollinisateurs, ou, au contraire, en repoussant les insectes ravageurs et les organismes pathogènes. Chaque espèce de plante possède un profil particulier de métabolites secondaires. Beaucoup de métabolites se comportent comme des signaux chimiques que la plante utilise pour s'adapter aux changements défavorables de l'environnement (Chadhary et *al.*, 1985). D'autres ont pour rôle la défense de la plante contre les herbivores, les pathogènes, les parasites ou l'inhibition de la germination et la croissance des plantes concurrentes* (Baskin et *al.* 1967 ; Hale et *al.* 2004). Certains assurent une protection contre les radiations solaires, lorsque d'autres favorisent la dispersion du pollen et des graines grâce à la couleur ou au parfum des fleurs.

Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (Bouzid, 2009).

1. Huiles essentielles :

1.1. Définition

La norme AFNOR NF T 75-006 (1998) In Bruneton, 1993 a donné comme définition d'huile essentielle : « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certain tissu végétal spécialisé, extraite de la plante grâce à des procédés physique tels que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à froid dans le cas des agrumes. Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante. Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par la norme de l'association française de normalisation (AFNOR) (bruneton, 1993).

Les HE se retrouvent dans toutes les parties de la plante (écorces, racines, feuilles, fleurs et fruits) et dans toutes les régions climatiques du globe. Les facteurs environnementaux comme la température, l'irradiante et la photopériode peuvent jouer un rôle primordial sur la qualité et la quantité de l'huile essentielle (Népomuscène, 1995).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc. (Anton et Lobstein, 2005).

Les HE des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (Jitaru et *al.*, 1997).

1.2. Rôle physiologique

Le rôle des HE dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs ; de plus en générale, les huiles essentielles constituent un moyen de défense naturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes.

Il y a beaucoup de spéculations au sujet du « rôle » d'huiles essentielles des plantes. Certainement plusieurs effets apparents « utiles » ont été décrits : protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (Porter, 2001).

Certains auteurs considèrent l'huile comme conservateur de l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaiche, 1979).

Les essences et en particulier, certains terpènes aromatiques pourraient avoir une fonction énergétique : « mis en réserve pendant le jour, ils seraient dégradés durant la nuit en acétyl-CoA » (Guignard, 2000).

1.3. Propriétés physiques et chimiques:

a. Propriétés physiques :

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles ce qui les différencie des huiles fixes (Guignard et *al.*, 1985). Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles sassafras de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée.

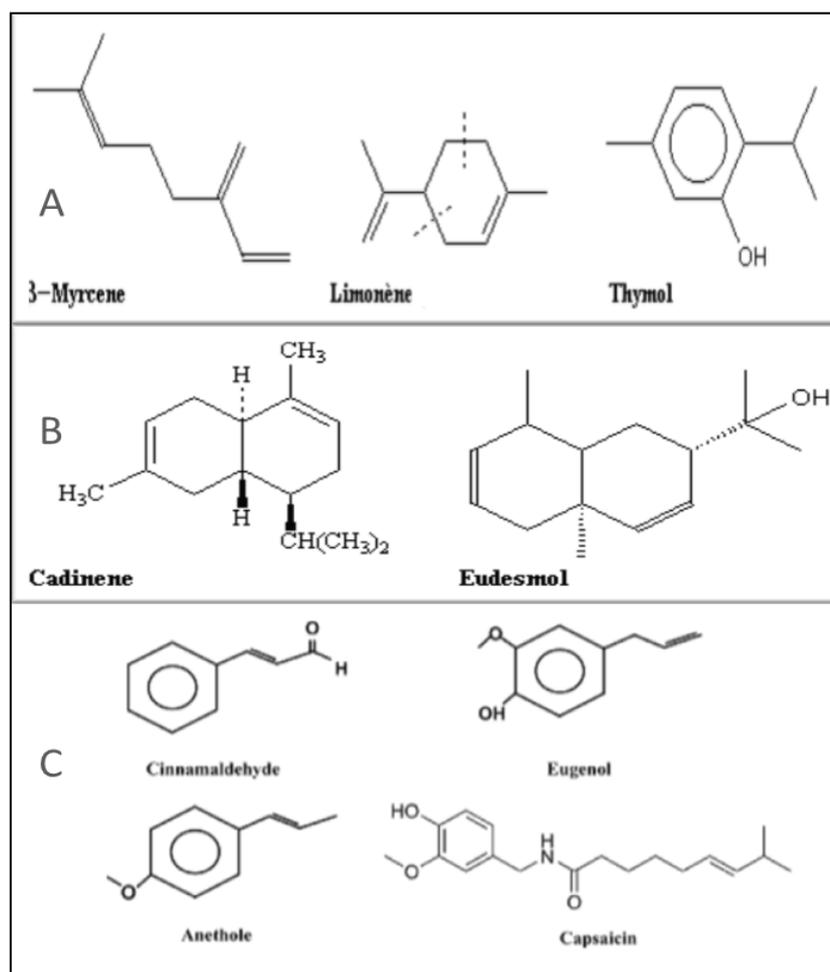
Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

Les huiles essentielles solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles. Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau; elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette (on parle d'eau aromatique) (Brunton, 1993 ; Guignard et *al.*, 1985). Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air à une température de l'ordre de 4° C (Laib, 2011).

b. Propriétés chimiques :

Les huiles essentielles représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces. A titre d'exemple, le carvacrol et le thymol sont les composants majeurs de l'huile d'*Origanum compactum*, le linalol pour l'huile de *Coriandrum sativum*, le menthol et le menthone pour l'huile de *Mentha piperita*. Généralement ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques de l'huile essentielle (Bakkali et *al.*, 2008).

La plupart des composants des HE sont inclus dans deux groupes : **les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes**, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées (Amlan et Patra, 2010 ; Calsamiglia et *al.*, 2007).



1.4. Procédés d'extraction :

Les huiles essentielles sont des produits obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, Peyron et Richard en 1992).

Les HE sont extraits principalement par ces méthodes :

- _ L'hydrodistillation.
- _ L'entraînement à la vapeur de l'eau.
- _ Par des solvants organiques.
- _ Extraction au CO₂ supercritique.

A. Extraction par hydrodistillation

L'hydrodistillation s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat (Richard, 1992).

B. Extraction par entraînement de la vapeur

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau.

La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques: le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante. (Piochon, 2008)

C. Extraction par micro-onde

Au début des années 1990 est apparue une toute nouvelle technique appelée hydrodistillation par micro-ondes sous vide. Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) considérable (Piochon, 2008).

D. Extraction par solvants organiques

Certains procédés d'extraction ne permettent pas d'obtenir des huiles essentielles à proprement parler mais des concrètes. Il s'agit d'extraits de plantes obtenus au moyen de solvants non aqueux. Ces derniers peuvent être des solvants usuels utilisés en chimie organique (hexane, éther de pétrole) mais aussi des graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par des corps gras) ou même encore des gaz. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres (Richard, 1992; Robert, 2000). Dans le cas des extraits à l'aide de corps gras, un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. La solution alcoolique ainsi récoltée est refroidie jusqu'à -10 °C pour en séparer les cires végétales qui se solidifient. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé "absolu" et sa composition se rapproche de celle d'une huile essentielle. L'extraction à l'aide de solvants organiques pose un problème de toxicité des solvants résiduels ce qui n'est pas

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

négligeable lorsque l'extrait est destiné aux industries pharmaceutique et agro-alimentaire (Bruneton, 1999).

E. Extraction au CO₂ supercritique

L'originalité de cette technique d'extraction réside dans le type de solvant employé: le CO₂ supercritique. Au-delà du point critique (P = 73,8 bars et T = 31,1 °C), le CO₂ possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction, qui plus est, facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression. Cette technique présente énormément d'avantages. Tout d'abord, le CO₂ supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, sélectif, aisément disponible et peu coûteux. De plus, il s'élimine facilement de l'extrait sans laisser de résidus. Outre ces avantages, le principal point fort est la qualité irréprochable de l'extrait puisqu'aucun réarrangement ne s'opère lors du processus. Son unique point faible est le coût très élevé de son installation. En jouant sur les conditions de température et de pression, il est possible de rendre l'extraction plus sélective aux composés odorants et ainsi obtenir des extraits de composition tout à fait semblable aux huiles essentielles, non chargés en molécules non volatils. Cette technique est aujourd'hui considérée comme la plus prometteuse car elle fournit des extraits volatils de très haute qualité et qui respecterait intégralement l'essence originelle de la plante (Piochon, 2008).

1.5. Analyse des HE :

A. La chromatographie sur couche mince (CCM)

La Chromatographie sur Couche mince ou CCM est une méthode analytique couramment utilisée dans les laboratoires de phytochimie. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption ; la phase mobile est un solvant ou un mélange des solvants ; qui progresse le long d'une phase stationnaire qui peut être soit une couche mince de gel de silice ; l'alumine ; ou cellulose .Celle-ci doit être uniformément étalée sur un support en aluminium, sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou sur une plaque de verre (Bengraba, 2008).

B. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (Arpino et *al.*, 1995). C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs (FID) ont contribué à rendre la CPG incontournable pour l'analyse des huiles essentielles (Madjour, 2014).

C. Le couplage Chromatographie phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CG/SM)

Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence. Lorsqu'on soumet un composé moléculaire à cette analyse, on déclenche un processus à plusieurs étapes.

1.6. Toxicité

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

L'utilisation des huiles essentielles du citron extraites soit par l'hydrodistillation soit par l'expression à froid ne présente aucun risque de toxicité, ni aiguë ni chronique (Robert et Lobstein, 2005).

Les huiles essentielles contenant des phénols, tels que le thym, la cannelle et le clou de girofle, devraient être employées avec prudence. La toxicité du foie peut se produire si les huiles essentielles sont utilisées à de fortes doses pendant un temps prolongé. Les cétones contenues dans l'armoise, la sauge et les huiles d'hysope peuvent ainsi causer ce genre de problème (Bruneton, 1993 ; Couderc, 2001).

1.7. utilisations :

A. Parfumerie et cosmétologie

C'est le débouché principal des huiles essentielles, des concrètes, des absolues et autres résinoïdes. La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, surtout, les substances odorantes pour les produits de rasage ou autres. Les isolais sont également utilisés en parfumerie comme l'huile de *Schinus molle*, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier les produits synthétiques.

B. Industrie agro-alimentaire

C'est en gastronomie que se fait le plus large emploi des plantes à essences sous forme d'épices. Celles-ci sont réparties en épices aromatiques (arômes amers et acres) comme dans le cas du faux poivrier, ou simplement en épice pour les desserts et pâtisseries (Bruneton, 1999). Les huiles essentielles peuvent également être ajoutées dans les produits alimentaires destinés à la conservation (produits de la quatrième gamme). Elles s'ajoutent sur les produits de consommation dans le but d'aromatisation (quelques gouttes déposées sur les morceaux du sucre).

2. Les composés phénoliques:

2.1. Définition

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à six carbones, dit noyau aromatique, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (figure 04).

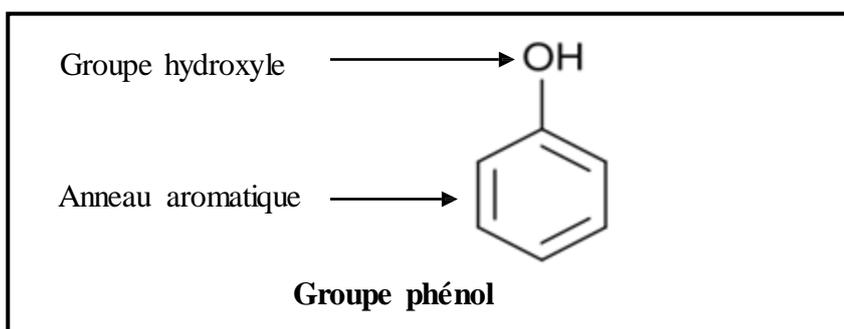


Figure 04 : structure des polyphénols

La biosynthèse du noyau aromatique est un processus fondamental de la biochimie végétale. Par conséquent, la définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés. Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

intervient chez les végétaux supérieurs pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes) (Kreif, 2003).

Les polyphénols sont antioxydants les plus présents dans la nature et aussi dans nos assiettes. Les plus abondants sont les acides phénols, les flavonoïdes, les stilbènes et les lignanes, dont les flavonoïdes et les acides phénols comptent 60% et 30%, respectivement, de polyphénols diététiques.

Ils permettent aux plantes de se défendre contre les phénomènes d'oxydation, certaines agressions extérieures et contre le pourrissement.

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois).

2.2. Classification

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux. Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles.

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau 02) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées) ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques (Macheix et *al.*, 2005).

Tableau 02 : Principales classes de composées phénoliques.

| Squelette Carboné | Classe | Exemple | Origine |
|-------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|
| C6 | Phénols simples | Cathécol | Epices, fraise |
| C6 - C1 | Acides hydroxybenzoïques | P - hydroxybenzoïque | Pomme de terre, pomme |
| C6 - C3 | Acides hydroxycinamiques | Acides caféïque, férulique | Citrus |
| C6 - C4 | Coumarines | Scopolétine, esculétine | Noix |
| C6 - C2- C6 | Napthoquinones | Juglone | Vigne |
| C6 - C3- C6 | Stilbènes | Resvératrol | Fruits, légumes, fleurs |
| (C6 - C3)2 | Flavonoïdes | Kaemférol, quercétine | Fleurs, fruits rouges |
| (C6 - C3)n | Flavonols | Cyanidine, pélargonidine | Pomme, raisin |
| (C15)n | Anthocyanes | Catéchine, épicatechine | Citrus |
| | Flavonols | Narigénine | Soja, pois |
| | Flavonones | Daidzéine | Pin |
| | Isoflavonoïdes | pinorésinol | Bois, noyau des fruits |
| | Lignanes | | Raisin rouge, kaki |
| | Lignines | | |
| | Tannins | | |

2.3. Les phénols et acides phénoliques

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

Les phénols simples sont rares dans la nature (catéchol, phloroglucinol 1...). Les acides phénoliques sont des dérivés de l'acide benzoïque 2 (composés en C6-C1) tels que l'acide gallique ou de l'acide cinnamique (composés en C6-C3) comme l'acide caféique 4 qui sont souvent estérifiés.

L'artichaut (*Cynara scolymus L.*, Asteraceae) ou encore le romarin (*Rosmarinus officinalis L.*; Lamiaceae) contiennent des esters de l'acide caféique 4. L'acide chlorogénique 5, ester de l'acide quinique, largement présent dans le règne végétal, a des propriétés proches de celles des tannins (Kreif, 2003).

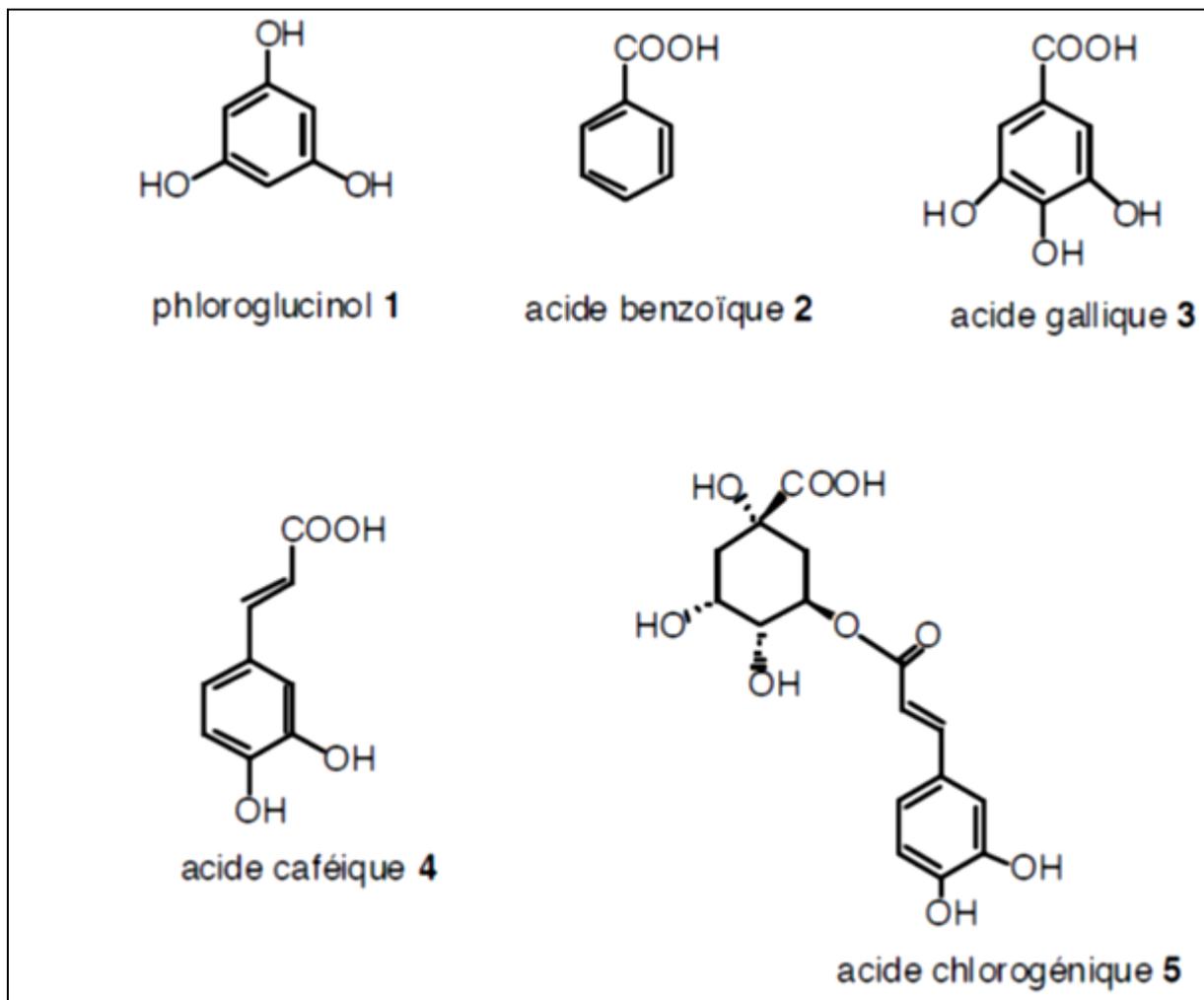


Figure 05: Quelques phénols et acides phénoliques

2.4. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002).

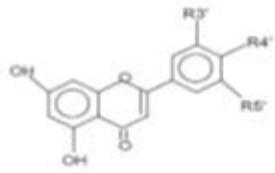
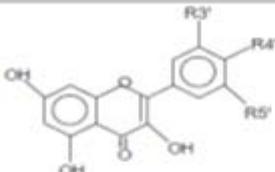
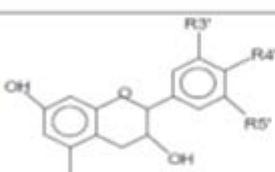
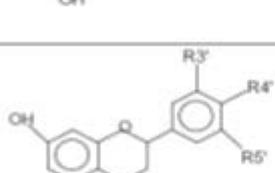
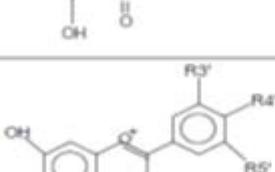
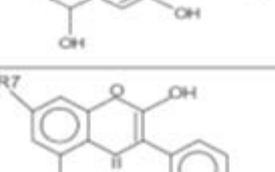
Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, dans les fruits (notamment du genre *Citrus* où ils représentent jusqu'à 1% des fruits frais) et les légumes, des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière en contiennent également des quantités importantes. Ils sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales.

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base (tableau 03), ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (W-Erdman et *al.*, 2007). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-

C6 (Emerenciano et *al.*, 2007) en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana et *al.*, 2001; Malešev et Kuntić, 2007)

Tableau 03 : Structure de base des principaux flavonoïdes

| Classes | Structures chimiques | R3' | R4' | R5' | Exemples |
|-----------------|---|-----|-------|-----|---------------|
| Flavones |  | H | OH | H | Apigénine |
| | | OH | OH | H | Lutéoline |
| | | OH | OCH3 | H | Diosmétine |
| Flavonols |  | H | OH | H | Kaempférol |
| | | OH | OH | H | Quercétine |
| | | OH | OH | OH | Myricétine |
| Flavanols |  | OH | OH | H | Catéchine |
| Flavanones |  | H | OH | H | Naringénine |
| | | OH | OH | H | Eriodictyol |
| Anthocyanidines |  | H | OH | H | Pelargonidine |
| | | OH | OH | H | Cyanidine |
| | | OH | OH | OH | Delphénidine |
| Isoflavones |  | R5 | R7 | R4' | |
| | | OH | OH | OH | Genisteine |
| | | H | O-Glu | OH | Daidezine |

2.5. Procédés d'extraction

L'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes peut être effectuée par plusieurs méthodes, on cite principalement :

- Extraction par macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide)
- Extraction avec de l'eau chaude (extraction solide/liquide)
- Extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction)
- Extraction par solvant assistée par micro-onde
- Extraction par solvant assistée par ultrason (EAU)

2.6. Analyses phytochimiques

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques. L'HPLC offre maintenant la possibilité d'une estimation rapide et précise de tous les composés phénoliques (Bruneton, 1999).

2.7. Utilisation

Les flavonoïdes sont naturellement présents dans les fruits et légumes de notre alimentation. On les retrouve aussi dans de nombreuses boissons : vin, bière, lait de soja, thé et chocolat.

Les études épidémiologiques suggèrent un effet protecteur des fruits et légumes contre les maladies cardiovasculaires et le cancer. Outre les flavonoïdes, de nombreux constituants de ces fruits et légumes peuvent aussi concourir à expliquer cette association : fibres, vitamines et minéraux, glucosinolates, caroténoïdes etc. Les études épidémiologiques des effets sur la santé de la consommation de flavonoïdes concluent que « Les données à l'heure actuelle suggèrent des effets bénéfiques des flavonoïdes et des lignines sur les maladies cardiovasculaires mais pas sur le cancer, avec l'exception possible du cancer du poumon ».

II. Activités biologiques:

1. Activités biologiques des HE :

Les effets bénéfiques des composés volatils des huiles essentielles sont utilisés depuis fort longtemps par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, après avoir été délaissées un temps soit peu par la médecine, le potentiel thérapeutique des huiles essentielles et de leurs constituants volatils est reconsidéré et les études qui leur sont consacrées abondent dans la littérature scientifique.

1.1. Activité antioxydante

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles sont depuis peu massivement étudiées. Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition de maladies telles que l'alzheimer, l'artériosclérose et le cancer. Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher, dans l'alimentation, un apport supplémentaire de composés antioxydants (vitamine C, α -tocophérol, BHT, etc.) (Béliveau, 2000)].

Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (Edris, 2007). Le thymol et le carvacrol sont

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes.

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuables à certains alcools, éthers, cétones, et aldéhydes monoterpéniques: le tinalool, le 1,8-cinéol, le géraniol/néral, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes: α -terpinène, γ -terpinène et l'aterpinolène (Edris, 2007).

1.2. Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Maruyama *et al.*, 2005). Plusieurs études ont, par exemple, mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* et de son composé principal, l' α -terpinéol (Hart *et al.*, 2000).

Les composés actifs agissent en empêchant la libération d'histamine ou en réduisant la production de médiateurs de l'inflammation. Un autre exemple, l'huile essentielle de géranium (Maruyama *et al.*, 2005) ainsi que le linalol et son acétate ont montré une activité anti-inflammatoire sur des oedèmes de pattes de souris induit par le carraghénane. Les huiles essentielles représentent donc une nouvelle option dans le traitement des maladies inflammatoires.

1.3. Activité anticancéreuse

Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Edris, 2007).

Les huiles essentielles agissent au niveau de la prévention du cancer ainsi qu'au niveau de sa suppression. Il est bien connu que certains aliments, comme l'ail ou le curcuma, sont de bonnes sources d'agents anticancéreux utiles pour prévenir l'apparition de cancer (Béliveau *et al.*, 2006).

Certains de ces aliments contiennent des composés volatils dont l'activité chimiopreventive a été mise en évidence. L'huile essentielle d'ail, par exemple, est une bonne source de composés sulfurés reconnus pour leur effet préventif contre le cancer (Milner, 2001; Milner, 2006).

L'activité anticancéreuse du d-limonène, le composé principal des huiles essentielles de *Citrus* a été prouvée à plusieurs reprises, en particulier au niveau du cancer de l'estomac et du foie.

Pour terminer, certaines études ont mis en évidence l'activité cytotoxique d'huiles essentielles dans leur ensemble. En voici quelques exemples: l'huile essentielle de *Comptonia peregrina* (Sylvestre *et al.*, 2007), *Myrica gale* (Sylvestre *et al.*, 2005), *Melissa officinalis* (De Sousa *et al.*, 2004), *Malaleuca alemifolia* (Calcabrini *et al.*, 2004), *Crotons flavens* (Sylvestre *et al.*, 2005) et *Artemisia annua* (Li *et al.*, 2004).

1.4. Activité antimicrobienne

Les plantes aromatiques et épices sont utilisées depuis des siècles dans les préparations alimentaires non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour leurs

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

propriétés antibactériennes et antifongiques. Origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont autant de plantes aromatiques fréquemment utilisés comme ingrédients alimentaires.

Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune: elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne.

Le carvacrol est le plus actif de tous. Reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. Ces trois composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejuni*, *Lactobacillus sake*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* (Pauli, 2001; Fabian et al., 2006).

D'autres familles de composés présentent aussi des propriétés antibactériennes intéressantes: certains alcools, aldéhydes et cétones monoterpéniques (géraniol, linalol, menthol, terpinéol, thujanol, myrcénol, citronella, néral, thujone, camphre, carvone, etc.), des phénylpropanes (cinnamaldéhyde) et des monoterpènes (terpinène, p-cymène).

Les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques sont très intéressées par les propriétés de ces composés d'autant plus qu'il s'agit d'aromatisants naturels.

De ce fait, beaucoup de chercheurs à travers le monde étudient leur potentiel en tant qu'agent de conservation (Burt, 2004). La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont encore ici les composés les plus actifs.

2. Activités biologiques des polyphénols :

En raison de ces vertus, les composés phénoliques sont largement utilisés dans les domaines thérapeutiques et pharmaceutiques. Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer les suivants :

2.1. Activité antioxydante

La principale caractéristique des polyphénols est qu'ils sont des agents antioxydants très puissants. En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Ce principe a été utilisé dans la fabrication de plusieurs médicaments, comme le Daflon produit à base de diosmine (Akroum, 2011).

Cette même activité antioxydante permet aux polyphénols de réguler les radicaux bon-mauvais (qui peuvent être les deux), comme l'oxyde nitrique qui favorise une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules de ce dernier (Srivastava et al. 2000, Kenny et al. 2007).

2.2. Activité anticancéreuse

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Des cellules impliquées, comme les hépatocytes, synthétisent des enzymes dites de phase I

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

(notamment des mono-oxygénases, telle que les cytochromes P-450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant le substrat des enzymes de phase II (glucoronyl transférase, sulfotransférase...).

Ces dernières convertissent leurs substrats en espèces hydrolysables facilement excrétées hors des cellules. Les enzymes de phase I et II agissent également dans la muqueuse intestinale. Elles sont synthétisées sous l'action des substances polyphénoliques trouvées dans les légumes, et aussi sous l'action des isothiocyanates (dérivés des glucosinolates) (Ames *et al.*, 1995).

2.3.Prévention contre les maladies cardiovasculaires

En effet, la consommation des polyphénols favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaire.

Au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) (Yamanaka, 1996) évitant ainsi l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguins et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués).

Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose, qui induit l'occlusion des artères. Ainsi en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques d'infarctus du myocarde (Rein *et al.*, 2000).

2.4.Prévention contre les maladies hormono-dépendantes

L'exemple le plus important est la prévention contre l'ostéoporose. Ceci en modulant la réponse aux oestrogènes endogènes. Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones du soja ont une affinité remarquable pour les récepteurs d'oestrogènes et sont qualifiés pour cela de phytoestrogènes.

Les fruits et légumes contenant aussi des polyphénols, tels que la quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée, possèdent également des propriétés pseudo-oestrogéniques inhibant la perte osseuse chez la rate ovariectomisée. Mais, de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme.

Aussi, les effets bénéfiques des polyphénols (lignanes en particulier) dans la prévention de cancers hormono-dépendants ont été largement documentés ces dernières années par des études épidémiologiques identifiant une relation entre la présence de lignanes dans la ration alimentaire et le taux d'incidence de certains cancers (Lainé *et al.*, 2007).

2.5.Action gastro-protectrice

Les polyphénols ; dont principalement les flavonoïdes et les acides phénoliques comme l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide é gallique ; sont capables de réduire la surface des lésions gastriques produites par l'andométhacine chez les rates. L'acutissimine B et phillyraeoidine A isolées et purifiées à partir de *Quercus suber* et *Quercus coccifera* ont aussi confirmé l'action gastroprotectrice attribuée aux polyphénols. De même, ces derniers montrent une activité antibactérienne très importante contre *Helicobacter pylori*, responsable de l'ulcère de l'estomac et du duodénum (Funatogawa *et al.*, 2004, Ruggiero *et al.*, 2006).

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

Tableau 04: Activités biologiques des composés polyphénoliques.

| Polyphénols | Activités | Auteurs |
|--|---|--|
| Acides phénols (cinnamique et benzoïque) | Antibactériens Antifongiques Antioxydants | Didry <i>et al.</i> , 1982 Ravn <i>et al.</i> , 1984 Hayase et Kato, 1984 |
| Coumarines | Vasoprotectrices et antioedémateuses | Mabry et Ulubelen, 1980 |
| Flavonoïdes | Antitumorales Anticarcinogènes Anti- inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants | Stavric ., 1992 Das <i>et al.</i> , 1994 Bidet <i>et al.</i> , 1987 Bruneton, 1993 Aruoma <i>et al.</i> , 1995 |
| Anthocyanes | Protection des veines et capillaires | Bruneton, 1993 |
| Proanthocyanidines | Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires | Masquelier <i>et al.</i> , 1979 Bahorun <i>et al.</i> , 1997 DE Oliveir <i>et al.</i> 1972 DE Oliveir <i>et al.</i> 1972 Brownlee <i>et al.</i> , 1992 |
| Tanins galliques et catéchiques | Antioxydants | Okuda <i>et al.</i> , 1983 Okamura <i>et al.</i> , 1993 |

3. Activités biologiques des flavonoïdes :

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques et anti-cancéreuses.

3.1. Activité antioxydante

Les flavonoïdes peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différents mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes (Hodek *et al.*, 2002) ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (Van Acker *et al.*, 1996 ; Benavente-Garcia *et al.*, 1997).

3.2. Activité Antiallergique

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca²⁺-dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé

Chapitre II : Métabolites Secondaires et Activités Biologiques.

comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (Marfak, 2003).

3.3. Activité Anti-Inflammatoire

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Landolfi et son groupe ont montré que certains flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes. Ils ont même reporté que les effets de la quercétine et la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cyclooxygénase et la lipooxygénase. Cependant à de faibles concentrations, seule la lipooxygénase est affectée. En outre, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase (Marfak, 2003).

3.4. Activité Antiulcéreuse

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes (Di Carlo, 1999).

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol, et la production du PAF (Platelet Activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel. En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes.

3.5. Activité Anticancéreuse

Présente pratiquement dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, la catéchine a montré une activité anti-tumorale (Bracke, 1991). Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde d'inactiver le t-PA (tissue-type plasminogen activator) en greffant à celui-ci la laminine, une molécule de la matrice extracellulaire qui joue un rôle important durant la mort cellulaire. La quercétine inhibe la croissance cellulaire en empêchant certaines phases du cycle cellulaire et en bloquant les sites récepteurs des hormones.

La croissance cellulaire peut être inhibée également par d'autres mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes, et la réduction des radicaux libres (Di Carlo, 1999). En effet, la catéchine augmente la résistance du collagène et inhibe l'activité de la collagénase (Marfak, 2003).

Chapitre III :

Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

Chapitre III : Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

Les travaux de nombreux auteurs ont montré que les plantes réagissent au milieu environnant et qu'au cours de leur vie, la composition chimique de leurs métabolites pouvait évoluer. Extraites des végétaux, les huiles essentielles et les composés phénoliques sont donc très fluctuantes dans leur composition et leur teneur, qui peut varier en fonction des conditions géographiques et climatiques, du terrain de culture de la plante, de l'année de culture (ensoleillement, hygrométrie, etc.), du mode cultural, de la période de récolte, de l'individu ou l'organe considéré, de la méthode d'extraction, etc.

1. Facteurs de biotiques :

Une essence reste modulable en fonction des besoins particuliers de la plante, sa composition n'est pas statique (Brunton, 1987). Les éventuelles modifications sont conséquentes principalement des conditions météorologiques ainsi que du stade végétatif. Par ailleurs, la plante pourra utiliser son essence à un stade avancé de son élaboration pour sa propre défense immunitaire.

1.1. Le cycle végétatif

La concentration et la composition des métabolites secondaires peut varier en fonction du stade de développement de la plante ; elle peut être maximale, selon l'espèce végétale, au début de la végétation, au moment de la floraison ou en fin de croissance (Djeddi, 2012).

Chez la coriandre (*Coriandrum sativum* L.), la teneur en linalol est cinquante pour cent plus élevée dans le fruit mûr que dans le fruit vert (Brunton, 1993).

Chez la sauge (*Salvia officinalis* L.), la diminution de la teneur en (+)-camphre qui est observée lorsque les feuilles ont atteint leur taille maximale correspond à la formation d'une lactone et à sa solubilisation par glycosylation (Brunton, 1993).

Selon les travaux de Rasmussen et al. (1972) et Belgat (1987), les constituants terpéniques (camphre, verbénone, acétate de bornyle et α -terpinéol) se trouvent en forte concentration dans les feuilles jeunes, puis diminuent avec l'âge de la plante.

Granger et al. (1973) indiquent que la quantité des huiles essentielles demeure relativement fixe, présentant seulement un léger maximum en période estivale et, par conséquent, c'est surtout de mars à juillet que s'effectuent les distillations d'essence.

1.2. Les chémotypes

Au sein d'une même espèce de plante, la composition des métabolites secondaires des divers individus peut présenter des profils chimiques ou chémotypes différents. L'un des exemples caractéristiques est celui du pin sylvestre d'Auvergne (*Pinus sylvestris* L.), pour qui il existe deux chémotypes de types A et B. Chez le type A, le cation terpinyle est majoritairement cyclisé en pinènes, le type B cyclise d'une façon prépondérante le même cation en 3-carène et en terpinolène (Brunton, 1993).

Ce polymorphisme chimique existe aussi pour bien d'autres espèces: *Origanum vulgare* (Mockute et al., 2001), *Mentha spicata* (Edris et al., 2003) en sont des exemples.

Pour certains auteurs, les chémotypes constituent, à l'intérieur de l'espèce, des variétés chimiques possédant chacune un équipement enzymatique particulier, déterminé

Chapitre III : Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

génétiquement et qui oriente la biosynthèse vers la formation préférentielle d'un constituant précis (Samate, 2002).

1.3. Diversité selon l'organe végétal

Pour une espèce dont les différents organes peuvent renfermer une huile essentielle, la composition chimique peut varier d'un organe à un autre. Chez *Datura innoxia*, les divers organes n'accumulent pas les mêmes molécules bioactives : l'hyoscyamine est accumulée de façon préférentielle dans les parties racinaires, alors que les tiges feuillées accumulent majoritairement de la scopolamine (Vu Thi Dao, 2008).

Ainsi dans le cas de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum Blume*), l'écorce donne une essence riche en aldéhyde cinnamique, la racine fournit un extrait volatil où le camphre est majoritaire tandis que dans l'huile essentielle obtenue à partir de feuilles, l'eugénol prédomine (Samate, 2002).

2. Facteurs d'abiotiques :

On sait que les composés secondaires carbonés (c'est-à-dire les produits du métabolisme des phénylpropanoïdes tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et la lignine) sont impliqués dans de nombreuses réactions de défense des plantes (20100). Du fait que des pratiques culturales (l'apport d'engrais et l'influence des variations N.P.K., régime hydrique), et des facteurs environnementaux, tels que l'approvisionnement en substrats nutritifs, la température, l'éclairement, le régime de vents, peuvent influencer sur le contenu en composés secondaires (Bruneton, 1999).

L'influence du sol ou facteur édaphique est aussi très grande. Les propriétés physiques du sol (porosité, rétention d'eau...), sa nature (argileuse, sablonneuse...), sa composition (teneur en azote, terrains calcaires, siliceux...) etc., sont des facteurs déterminants pour la végétation (Guignard, 1983).

2.1. Facteurs physiques :

2.1.1. Facteurs édaphiques

Le sol ou couverture pédologique forme la couche superficielle meuble qui couvre la roche mère. Son épaisseur varie de quelques centimètres à quelques mètres. Le sol sert de support physique à la plante et de fournisseur en éléments hydrominéraux (N, P, K, en étant les principaux ; mais aussi Ca, Mg, S ; et les oligoéléments, Bo, Fe, Zn, Mn). Le sol est constitué de deux fractions : une fraction minérale composée d'éléments de tailles variables et une fraction organique représentée par les êtres vivants et leurs débris.

Les propriétés physico-chimiques du sol (texture, structure, taux d'humidité, taux nombre d'horizons,...) ont une influence profonde sur la répartition des formations végétales. (Barbero et Quezel, 1982).

On peut classer les plantes selon le type de sol :

- Oxylophytes : les plantes qui s'installent sur les sols acides (*Camellia japonica* L.)
- Halophytes : les plantes qui s'installent sur les sols salins (*Tamarix*).
- Psammophytes : les plantes qui s'installent sur les sols sablonneux (*Panicum turgidum* L.).
- Lithophytes : les plantes qui s'installent sur les roches (*Asplenium ceterach* L.)

Chapitre III : Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

Chasmophytes : les plantes qui s'installent sur les fissures des roches (Polypodium)

Les sols se diffèrent selon leur structure et leur texture, ils peuvent être de gravier, de sable, d'argile ou d'alluviale, tous sont différents également dans leur contenu en matière organique et minérales, et leurs propriétés physico-chimiques surtout la capacité d'échange cationique, le pH et la teneur en eau. Chaque plante médicinale favorise un type de sol pour leur croissance. Dans ce cas, on peut citer des exemples sur quelques plantes médicinales:

- *Cassia Angustifolia* L., *Aloe vera* L. et *Urginea maritima* L. Favorisent les sols sablonneux.
- *Apium Graveolens* L., *Pimpinella anisum* L. et *Carum carvi* L. Favorisent les terres jaunes légères et limoneuses.
- *Datura stramonium* L. Favorise les terres calcaires riches en calcium Ca^{+} (Vilain, 1987).

2.1.2. Facteurs géographiques

L'expression phénotypique des espèces est fonction de l'impact de l'environnement (Phénotype = Génotype + Environnement). L'environnement joue un rôle déterminant dans la spéciation des êtres vivants végétaux (Kukreja et al., 2000).

L'origine géographique doit être spécifiée avec toute la rigueur souhaitable, par exemple, on parle souvent d'origan et d'huile essentielle d'origan sans spécifier s'il s'agit de l'origan de Grèce *Origanum vulgare* L., de l'origan d'Espagne *Corydothymus capitatus* L., de l'origan du Mexique *Lippia graveolens* ou de l'origan de Turquie *Origanum onites* L. qui sont toutes différentes du point de vue botanique et composition chimique. Autre exemple, le bois de santal, *Santalum album* L. (Sapindaceae) et différent du bois de santal des Indes *Amyris balsamifera* L. (Rutaceae) et du bois de santal d'Australie *Santalum spicatum* (Bruneton, 1993).

2.2. Facteurs climatiques

La température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation, les précipitations et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielle (poils sécréteurs de Lamiacée).

En règle générale, un climat sec et ensoleillé favorise la formation des huiles essentielles. Les principales familles à essences sont méditerranéennes (Lamiacées, Rutacées, Myrtacées) ou des régions chaudes (Térébinthacées).

2.2.1. Température

La température est un des facteurs environnementaux qui influence fortement la croissance des plantes (Abdelhafeez et al., 1971). Elle joue un rôle sur les activités enzymatiques, les réactions chimiques (Hopkins, 2003), et agit sur la fluidité des membranes cellulaires. La réponse de la plante dépend de la température perçue au niveau des parties aériennes ainsi qu'au niveau racinaire. La photosynthèse et la respiration répondent de façon très différente à la température. La vitesse de la respiration continue d'augmenter avec la température, elle atteint un maximum généralement vers 50°C puis diminue brutalement par suite de l'inactivation des enzymes.

Par ailleurs, la température semble pouvoir jouer un rôle favorable direct sur la production de métabolites secondaires (Bourgau, 1990).

Chapitre III : Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

On peut parler aussi de stress thermique et son impact sur les métabolites secondaires et implications de ces composés dans la réponse au stress.

Parmi ces composés, certains isoprénoides, qui forment une classe de molécules à faible poids moléculaire et volatiles de la famille des terpènes, peuvent conférer une meilleure tolérance de l'appareil photosynthétique face au stress thermique (Loreto *et al.*, 1998). Les plantes capables de synthétiser de plus grandes quantités d'isoprènes montrent généralement un meilleur rendement photosynthétique sous l'effet d'un stress thermique.

Les polyphénols comme les flavonoïdes, les anthocyanes et les lignines jouent également un rôle dans la tolérance des plantes face aux stress abiotiques (Wahid, 2007). Plusieurs études ont montré que l'accumulation de composés phénoliques sous l'influence d'un stress thermique est accompagnée d'une augmentation de l'activité Phénylalanine Ammonia Lyase (PAL), première enzyme de la voie de biosynthèse des composés phénoliques et d'une diminution des activités des peroxydases et des polyphénols lyases (Rivero *et al.*, 2001).

On peut classer les plantes en fonction de leurs réponses au stress thermique en :

- **Plantes psychrophiles** Ils comportent les plantes qui se développent et terminent leur cycle de vie dans des milieux où la température comprise entre 0 et 20°C provoquant un stress thermique. Il contient les bactéries, les champignons et les algues qui vivent dans les milieux froids.

- **Plantes mésophiles** On appelle mésophiles les plantes qui vivent dans des habitats où la température comprise entre 10 °C et 30°C.

- **Plantes thermophiles** On appelle mésophiles les plantes qui vivent dans des habitats où la température comprise entre 30°C et 45°C

Ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle. Les *Citrus* par exemple ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (Bruneton, 1999). Chez *Pinus halpensis*, l'émission des réserves est stimulée par les hautes températures et par les humidités relatives basses et hautes.

2.2.2. Lumière

Les plantes ont besoin de lumière pour croître et se développer de façon optimale, elles utilisent la lumière comme source d'énergie pour la photosynthèse. Les trois différents aspects de la lumière, soit la quantité, la qualité et la durée, ont également un impact majeur sur la croissance des plantes.

La lumière a un effet remarquable sur la croissance et la synthèse de métabolites secondaires. Chez *Datura stramonium*, de nombreux auteurs ont montré que l'intensification de la lumière artificielle a un effet positif sur la croissance, et la production d'alcaloïdes tropaniques (Vu, 2008).

Chez *Quercus ilex*, espèce ne stockant pas les terpènes, la diminution de l'activité photosynthétique entraîne une diminution dans la production des terpènes. Alors que chez *Pinus halpensis*, espèce qui stocke les terpènes, la lumière n'affecte pas leur émission. (Lusia et Penuelas, 1999). Chez *Laurus nobilis* L la teneur en huiles essentielles des feuilles exposées en sud est plus importante que celles des feuilles exposées au nord.

On peut résumer les effets de la lumière sur les plantes médicinales comme suit :

- L'effet de la lumière sur la croissance et la dispersion des racines.
- L'effet de la lumière sur la respiration.

Chapitre III : Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

- L'effet de lumière sur la floraison.
- L'effet de la lumière sur la qualité des plantes médicinales.
- L'effet de la lumière sur les métabolites secondaires de plantes médicinales et aromatiques.

2.2.3. Précipitations

L'eau est un élément nécessaire à la plante au niveau cellulaire où elle s'effectue toutes les réactions métaboliques. Elle constitue le milieu dans lequel les différents solutés nécessaires à la vie.

Dans tous les cas, l'eau qui entre dans la plante (par ses racines ou directement par l'ensemble de son appareil végétatif) est utilisée d'une part comme liquide conducteur de sève (que ce soit la sève brute, riche en sels minéraux, où la sève élaborée, riche en sucre produites par les feuilles) et d'autre part pour la vie elle-même de chaque cellule de la plante. Toutes les réactions biochimiques du vivant se produisent en effet en milieu aquatique. Il ne peut y avoir de division cellulaire, donc de croissance et de développement de nouveaux organes, sans eau. Elle peut affecter la composition chimique de l'huile essentielle ; chez *Myrtus vulgaris*, après de fortes pluies la composition chimique de l'HE est modifiée alors que le rendement ne l'est pas. Dans les fruits mûrs de cette plante après une période de pluie, il y a eu disparition de l' α -pinène et une baisse importante de cinéol et du myrténol. Par contre, l'acétate de myrtényl montre une très grande augmentation (Liusia et Penuelas, 2000).

Dans le cas de la production de *Citrullus colocynthus* L. et de *Urginea maritima* L., ils ont trouvé que la croissance du potentiel hydrique du milieu conduit généralement à la production des fruits riches en eau et caractérisés par une faible teneur en glycosides à capacité thérapeutique très réduite en comparaison avec les glycosides produits sous un système d'irrigation limitée. L'augmentation du potentiel hydrique provoque chez l'espèce «*Hyosiyamus muticus* » la réduction de la teneur en alcaloïdes et peut provoquer aussi la croissance de la teneur et la qualité des substances bioactives chez certaines espèces. La teneur en huile essentielle chez les feuilles et les fruits de *Coriander sativum* L. et du genre « Valériane » augmente lorsqu'ils sont cultivés dans les habitats fortement humides. (Djbaïli, 2013).

Le facteur hydrique ne dépend pas seulement du total de pluviométrie mais bien du rapport pluviométrie/évapotranspiration. Les végétaux sont classifiés en fonction du facteur hydrique et leur besoin en eau comme suit :

Hydrophytes ou hygrophytes : plantes qui vivent dans des habitats fortement humides, ou même mouillés (fossés, marécages, étangs, lacs, rivières, etc.).

Mésophytes : Nom donné (synonyme : plantes mésophiles) aux végétaux qui ont des besoins moyens en eau du sol et en humidité de l'air, et qui ne peuvent pousser ni en habitats secs (comme les xérophytes), ni en habitats mouillés (comme les hygrophytes).

Xérophytes : On appelle xérophytes, les plantes (dites xérophiles) qui vit dans des habitats classés comme secs, soit par le substrat, soit par l'atmosphère, soit par l'ensemble des deux.

Chapitre III : Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

2.2.4. Variations saisonnières

La saison affecte différemment l'émission des terpènes, selon que les espèces stockent ou non les terpènes. Alors que chez *Citrus albidus*, espèce qui stocke les terpènes, l'émission atteint des valeurs maximales au printemps et des valeurs minimales en automne, chez les espèces qui ne stockent pas les terpènes, cas de *Quercus ilex* présentent un maximum d'émission au printemps (Liusia et Penuelas, 2000).

La composition chimique de l'essence de *Micromeria fruticosa* est largement affectée par la variation saisonnière. Ainsi durant les mois d'été, la pulégone forme 80% de l'huile essentielle, ce pendant en hiver le niveau de cette dernière baisse d'une façon dramatique à un pourcentage minime, c'est l'isomenthol qui prend le dessus jusqu'à constituer 80% du totale de l'huile essentielle (Dubai et al., 2001).

3. Facteurs techniques

De profondes modifications de l'huile essentielle peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle.

Le mode de récolte, les conditions de transport, séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques (Brunton, 1993). Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, température) et de la durée d'extraction (Lagunez Rivera, 2006 ; Chemat et al., 2007). D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle (Lagunez Rivera, 2006).

3.1. Récolte

La maturité ou l'état phénologique de la plante au moment de la récolte sont difficiles à vérifier et à contrôler. Une menthe récoltée quelques jours avant ou après la floraison va voir son taux d'isomenthone, de menthone, de menthofurane et d'acétate de menthyle fortement évoluer par rapport à sa teneur en menthol (Samate, 2002).

La qualité des huiles essentielles est également influencée par la météorologie au moment de la récolte, l'heure de la récolte et la période de la végétation.

Dans le cas de la fleur de jasmin, la teneur en huile essentielle est plus élevée et l'arôme est plus riche au coucher de soleil. Les fleurs d'ylang-ylang donnent un meilleur rendement en huile essentielle en mai et juin, bien qu'elles s'épanouissent tout au long de l'année (Randrianarivelo, 2010).

En plus du moment de la récolte, le lieu de récolte influe fortement sur la composition chimique des métabolites secondaires. Gerwick et al. (1985) ont rapporté que l'analyse de dix métabolites secondaires de l'algue *Stypodium zonale* (Dictyotacées), récoltée de différents endroits, présentent un profil (composition chimique) différent quantitativement et qualitativement. Valls et al. (1993,1995) ont rapporté que *Cystoseira elegans* récoltée après 1979 synthétise des composés chimiques différents de ceux observés avant cette année et que la composition chimique change en fonction de lieu de récolte, l'année et la saison.

Chapitre III : Facteurs influant sur la variabilité des métabolites secondaires

3.2. Séchage

Goudjil et *al.* (2015) ont étudié l'influence du séchage naturel à l'ombre sur la teneur des huiles essentielles extraites des feuilles de *Mentha piperita* pour une meilleure maîtrise de la qualité des plantes aromatiques et médicinales. Il a conclu que la teneur en huiles essentielles des feuilles de *Mentha piperita* augmente significativement avec la durée de séchage. La meilleure concentration, soit 0,84 %, a été obtenue au cinquième jour de séchage à l'ombre.

L'augmentation de la concentration en huiles essentielles exprimée en poids de matière sèche pendant les premiers jours de séchage s'expliquerait par une activité physiologique (réactions enzymatiques) importante. La biosynthèse des huiles essentielles continue et s'accélère après la récolte du matériel végétal en réponse au stress hydrique. Sa diminution après neuf jours de séchage est due à la réduction ou l'arrêt de l'activité enzymatique causant la mort des cellules suite à une forte déshydratation.

Le séchage doit être fait soigneusement afin de préserver la qualité et la quantité d'huile essentielle contenue dans la plante. Ceci doit être effectué selon Flück (1955) immédiatement après la récolte, à l'ombre et dans un endroit aéré et à une température de 20 à 35 °C. Il est indispensable aussi d'étendre les plantes et ne jamais les superposer pendant le séchage. Enfin, les plantes séchées doivent être emmagasinées dans un endroit sec, dans des caisses ou dans des sacs ou encore dans des boîtes en fer blanc.

3.3. Procédés d'obtention

Le procédé d'obtention d'une essence peut également intervenir sur sa composition chimique. Il existe une abondante littérature sur les modifications de la composition au cours de l'extraction de l'essence d'une plante sous l'action de la chaleur, du pH, de la teneur en oxygène, de l'état d'hydratation et de la pression du milieu d'extraction, de nombreuses réactions sont susceptibles de se produire: réactions d'hydrolyse, de réarrangement photochimique ou, en milieu acide, de racémisation, d'oxydo-réduction, d'élimination (déshydratation, rétroaldolisation, etc.), d'addition (hydratation, estérification, etc.), de cyclisation, etc.

Selon Aberchane M et *al.*, 2001, Les rendements en huiles essentielles sont légèrement différents pour l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation, soit respectivement 2,4 et 2,6% après 8 h d'extraction. Les himachalènes, le déodarone et le E- α -atlantone constituent les composés majoritaires de ces huiles. L'entraînement à la vapeur permet d'extraire une huile riche en α -, γ - et β - himachalènes, soit respectivement 15,8; 9,5 et 39,7%. Alors que les teneurs de ces constituants sont moindres pour l'hydrodistillation, soit respectivement 5,3, 3,8 et 14,6 %. Inversement l'hydrodistillation permet de mieux extraire les produits les moins volatils: himachalol, cedroxyde et E- α -atlantone soit respectivement 6,5; 4,4 et 30,7% contre 2,5; 1,3 et 9,1 % pour le mode entraînement à la vapeur. L'extraction de courte durée, permet une composition chimique plus riche en constituants plus volatils au cours de l'entraînement à la vapeur.

Partie Expérimentale

Chapitre IV :
Matériel et méthodes

I. Présentation des sites d'étude

Afin de mettre en évidence les effets des conditions climatiques sur la production des métabolites secondaires, les deux plantes d'étude ont été récoltées dans trois régions en Algérie qui présentant des étages bioclimatiques très différents (figure 06) ; la région de Ouargla (aride), la région d'Oum El Bouaghi (semi-aride) et la région de El Tarf (sub-humide).

Les principaux paramètres climatiques retenus sont la température de l'air, les précipitations, l'humidité relative, l'évapotranspiration. De ce fait nous avons pu avoir les moyennes couvrant l'année de récolte (2015).

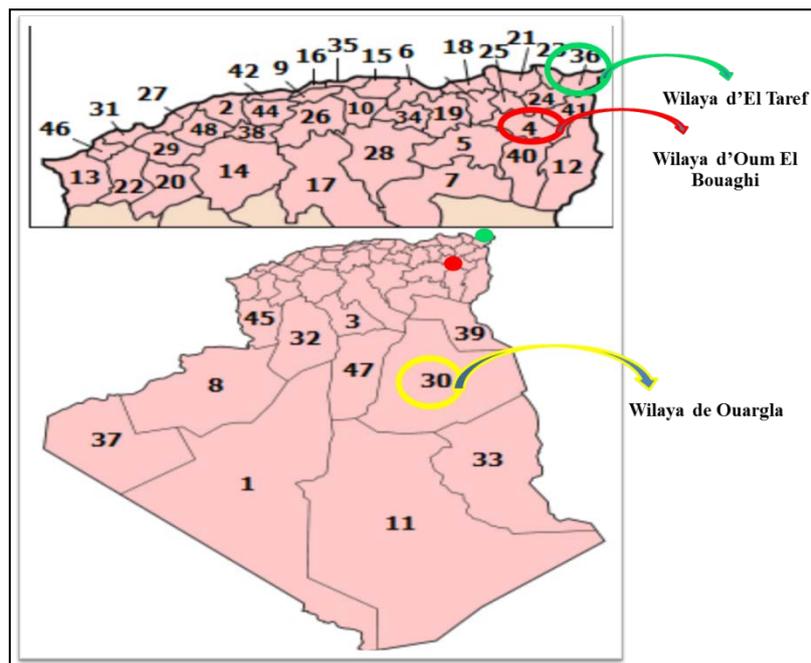


Figure 06 : Carte de situation géographique des trois sites d'étude.

1. Région d'Oum El Bouaghi :

1.1. Situation géographique

La wilaya d'Oum El Bouaghi est située au Nord-est des hauts plateaux algérien sur une superficie de 6187.96 Km². Elle est délimitée au Nord par la wilaya de Constantine et au Sud par la wilaya de Khenchela, à l'Est par les wilayas de Guelma et Souk Ahras, à l'Ouest la wilaya de Mila, au Sud-Ouest la wilaya de Batna et au Sud- Est par la wilaya de Tébessa.

Elle est situé à 7.11 Est de longitude et 35.86 Nord de latitude. Cette wilaya est aménagée en 12 daïras et 29 communes.

1.2. Relief

La wilaya est située au contact du Tell et des Aurès. Les amonts occupent 63,8% de la superficie, 18,90% par les plateaux et les plaines. Les montagnes représentent 17,3%.

- Au nord de la wilaya, on distingue les versants méridionaux du Tell ;
- Au centre, la haute plaine, l'altitude varie de 700 mètres à 900 mètres et parsemées de petits massifs montagneux isolés qui se dressent au-dessus

Chapitre IV : Matériel et méthodes

- Au sud, elle est jalonnée par des dépressions endoréiques (Garaet) ou Sebkhha (lac salé). Les Garaets sont moins salées que les Sebkhhas ;
- Le point culminant de la wilaya est le Djebel Guerioun, 1 729 mètres d'altitude près d'Aïn m'lila. La majorité des oueds sont endoréiques; ils coulent en direction des lacs salés et non vers la mer Méditerranée.

1.3. Caractères climatiques

Le climat de la wilaya d'Oum El Bouaghi est semi-aride, froid et pluvieux en hiver avec du verglas fréquent, sec et chaud en été. Il est caractérisé par une grande température quotidienne et annuelle, ainsi qu'une irrégularité des pluies (figure07).

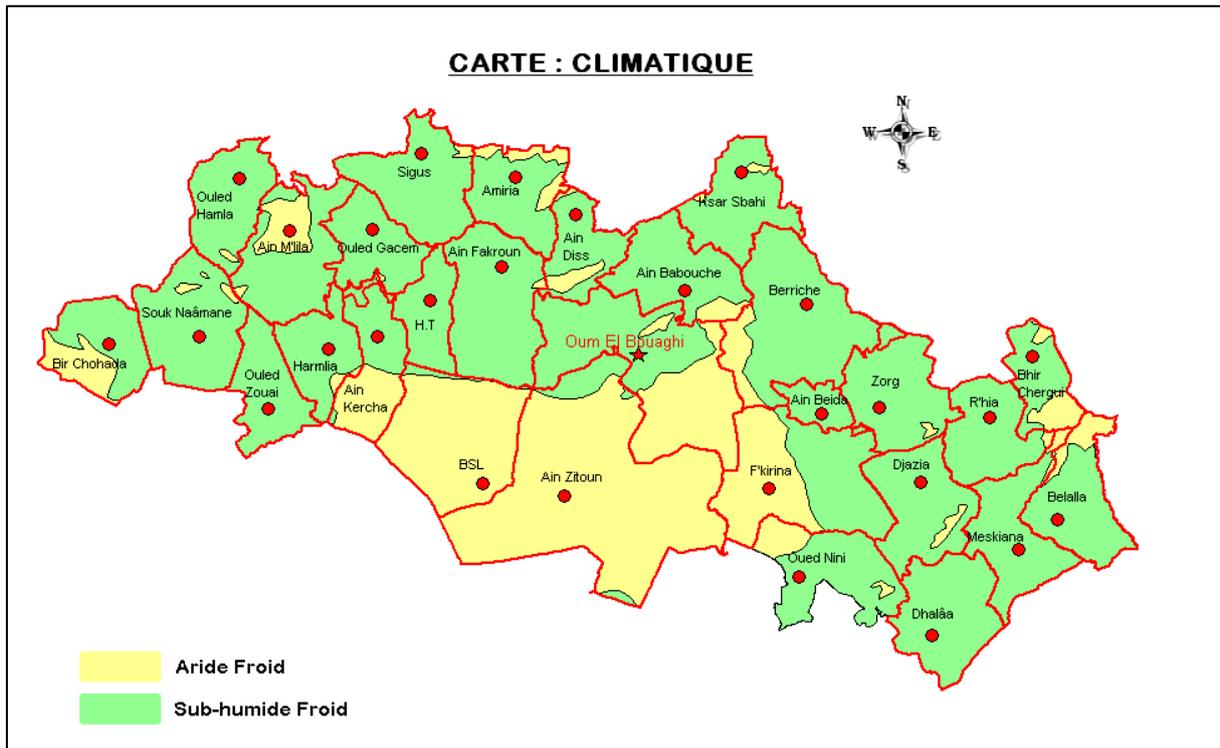


Figure 07 : Carte climatique de la wilaya d'Oum El Bouaghi

1.4. Données Météorologiques

Nous avons opté à l'exploitation des données météorologiques provenant de la station météorologique d'Oum El Bouaghi, dont la localisation est indiquée par les coordonnées géographiques 35°52' N et 07°07' E, avec une altitude de 888,76 m. ces valeurs climatiques sont représentatives pour la majorité du territoire de la wilaya qui se situe presque à la même altitude, excepté les zones de montagnes (Tableau 05).

Chapitre IV : Matériel et méthodes

Tableau 05: Données météorologiques d'Oum El Bouaghi pour l'année 2015.

| Mois | Température moyenne MAX (°C) | Température moyenne MINI (°C) | Température moyenne (°C) | Humidité relative % | Précipitation mm | Evaporation mm |
|-----------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------|------------------|----------------|
| Janvier | 10,8 | 1,4 | 5,9 | 81 | 39 | 49 |
| Février | 9,9 | 1,5 | 5,7 | 80 | 52 | 41 |
| Mars | 15,2 | 3,9 | 9,6 | 71 | 22 | 86 |
| Avril | 21,8 | 6,8 | 14,3 | 60 | 3 | 114 |
| Mai | 26,8 | 11,3 | 19,1 | 54 | 16 | 189 |
| Juin | 30,3 | 14,5 | 22,4 | 52 | 10 | 250 |
| Juillet | 34,7 | 17,2 | 26 | 46 | 27 | 259 |
| Août | 33,6 | 18,4 | 25,9 | 51 | 68 | 208 |
| Septembre | 28,4 | 16 | 22,2 | 56 | 6 | 162 |
| Octobre | 23,1 | 11,8 | 17,4 | 58 | 46 | 184 |
| Novembre | 16,4 | 6 | 11,2 | 77 | 44 | 51 |
| Décembre | 14,5 | 1 | 7,8 | 69 | 43 | 48 |

1.4.1. Précipitations

La précipitation annuelle dans la région d'étude équivaut à 376 mm; Ainsi les mois de février et Août sont les plus pluvieux avec une pluviométrie moyenne de 52 mm et 68 mm. Le mois d'Avril est le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 3 mm.

1.4.2. Température

La température est un facteur climatique de toute première importance car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère (Ramade, 1984).

A partir de ces données nous constatons que le mois de Juillet est le mois le plus chaud avec une température maximale de 26°C et que le mois de février est le mois le plus froid avec une température minimale de 5,7°C.

1.4.3. Humidité relative de l'air

L'humidité relative de l'air correspond au rapport de la tension de vapeurs réelles observées par la tension de la vapeur saturante à la même température. Elle nous permet de donner une idée sur l'état de l'atmosphère s'il est plus ou moins proche de la condensation.

Selon la station météorologique d'Oum El Bouaghi, on souligne que l'humidité relative est élevée durant les mois de novembre, décembre, janvier et février, par rapport à l'humidité pendant les mois les plus chaud, Juin, Juillet et Août.

1.4.4. Evaporation

L'air ambiant n'est jamais sec mais contient une part plus ou moins importante d'eau sous forme gazeuse, L'évaporation est le processus par lequel l'eau sous forme liquide se transforme en gaz (vaporisation) et peut s'échapper de la surface évaporatoire. Pendant la période d'étude l'évaporation est d'une moyenne de l'ordre de 1642,3 mm/an avec un minimum de 41 mm en février et un maximum de 259 mm en juillet.

2. Région d'El Taref :

2.1. Situation géographique

La wilaya d'El Tarf située à l'extrême Nord-est Algérien, comprend 24 communes, et s'étend sur près de 3055,48 km², limitée au Nord par la mer Méditerranée, au Sud par les wilayas de Souk Ahras et Guelma, à l'Ouest par la wilaya d'Annaba et à l'Est par la République de Tunisie. La wilaya d'El Taref est située entre 36°46'1 Nord de latitude et 8°18'49 Est de longitude.

2.2. Relief

D'une façon générale, le domaine continental peut être schématiquement découpé en trois ensembles :

- Une bande littorale regroupant cinq communes avec des altitudes qui s'élèvent de l'Ouest vers l'Est en direction de la frontière tunisienne ; passant du zéro de la mer à 118 m au Mont Hennaya, puis à 346 m au Sud du lac Mellah, pour arriver à 325 m au Kef Segleb et même toucher les 573 m au Kef Radjela à la frontière Tunisienne.
- La zone des plaines sublittorales à moins de 100 m voir 50 m, d'altitude et caractérisée par de graves problèmes de drainage avec des inondations récurrentes. Cette zone est très originale en raison de la présence de riches zones humides dont certaines bénéficient de classements internationaux (lac des Oiseaux, lac Mellah,...etc.). C'est dans cette seconde bande que se situe le chef-lieu de la wilaya et de commune d'El Tarf à moins de 25 km au Sud-ouest d'El Kala.
- La zone méridionale, la plus étendue est caractérisée par l'existence de reliefs de moyennes montagnes. Ces chaînons montagneux orientés SW-NE sont le plus souvent boisés et atteignent 1200 m au Kef Rokba sur la ligne frontalière, C'est sur ce territoire que se trouvent les espaces forestiers ou sub-forestiers les plus vastes (1700 km² pour l'ensemble de la wilaya).

2.3. Caractères climatiques

Le climat de la zone est répartie en quatre étage bioclimatique, on trouve le climat de type subhumide et humide chaud au nord de la wilaya d'El Tarf, au centre et au sud un climat humide doux et en fin la partie Est et Ouest on a un climat humide frais. Le régime pluviométrique se caractérise par des pluies abondantes en hivers qui diminuent presque régulièrement au printemps et atteignent quelques millimètres par mois pendant la période d'été (Boughrara, 2016) (figure 08).

Chapitre IV : Matériel et méthodes

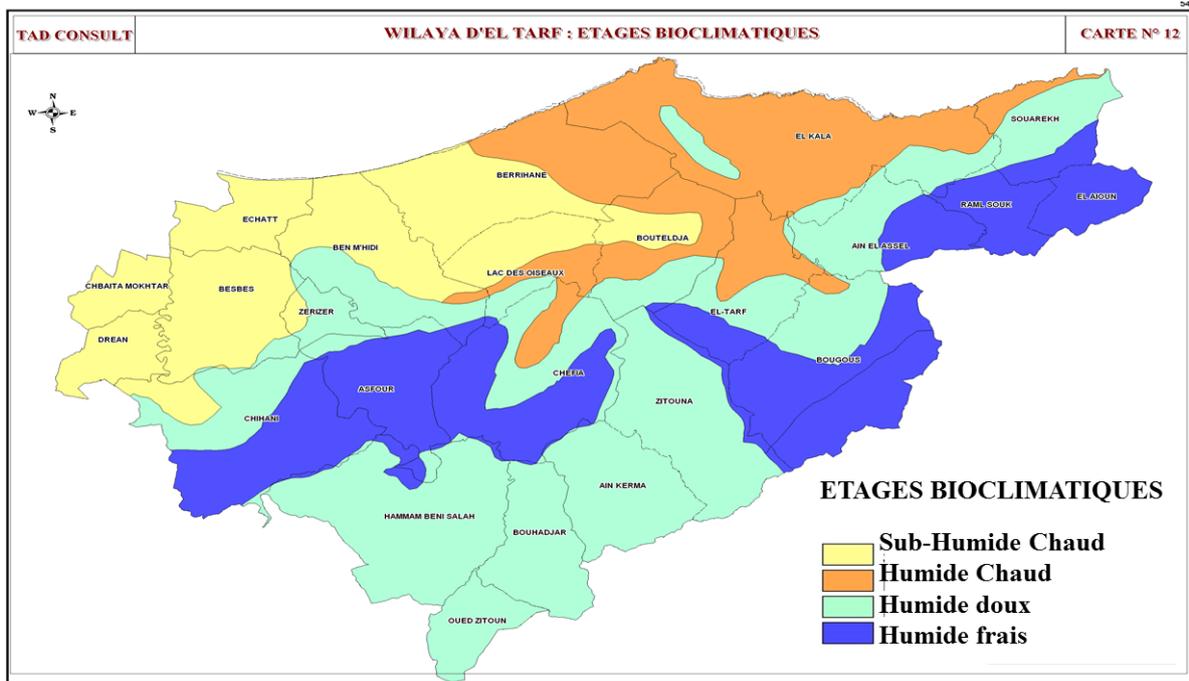


Figure 08 : Carte climatique de la wilaya d'El Taref

2.4. Données météorologiques

L'étude est basée sur les données de la station météorologique Bouteldja à 12 Km du chef-lieu d'El Taref (Tableau 06).

Tableau 06: Données météorologiques d'El Taref pour l'année 2015.

| Mois | Température moyenne MAX (°C) | Température moyenne MINI (°C) | Température moyenne (°C) | Humidité relative % | Précipitation mm | Evaporation mm |
|-----------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------|------------------|----------------|
| Janvier | 15,5 | 7,1 | 11,3 | 85 | 124 | 27 |
| Février | 16,4 | 7,3 | 11,8 | 83 | 82 | 19 |
| Mars | 18,8 | 8,6 | 13,7 | 73 | 68 | 40 |
| Avril | 21,2 | 10,1 | 15,5 | 74 | 53 | 31 |
| Mai | 24,5 | 13,5 | 19 | 70 | 39 | 38 |
| Juin | 29,1 | 16,9 | 23 | 68 | 16 | 48 |
| Juillet | 32,3 | 19,2 | 25,7 | 63 | 3 | 52 |
| Août | 32,9 | 20,1 | 26,5 | 65 | 5 | 51 |
| Septembre | 30,3 | 18,7 | 24,5 | 67 | 37 | 41 |
| Octobre | 25,5 | 15 | 20,2 | 73 | 72 | 31 |
| Novembre | 20,8 | 11,2 | 16 | 80 | 90 | 19 |
| Décembre | 16,7 | 8,2 | 12,4 | 82 | 105 | 10 |

2.4.1. Précipitations

Notre région d'étude est classée parmi les régions les plus pluvieuses dans notre pays l'Algérie, en 2015 les précipitations ont atteint une valeur de 694 mm. Le mois de janvier est le plus pluvieux avec une pluviométrie moyenne de 124 mm, le mois de juillet est le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 3 mm.

Chapitre IV : Matériel et méthodes

Selon la carte pluviométrique de la wilaya on remarque une disparité régionale dans la répartition des pluies. La partie Est (El-kala et Ain El-Assel) est plus humide et pluvieuse que la partie de l'Ouest. Le niveau moyen des précipitations atteint 800 mm et 700 mm respectivement.

2.4.2. Température

La température la plus basse a été enregistrée au mois de janvier (11,3 °C) tandis que la température la plus élevée a été enregistrée au mois d'Août (26,5 °C) et la température moyenne annuelle est de 18,25 °C. Une différence de 15.2 °C existe entre la température la plus basse et la plus élevée sur toute l'année.

2.4.3. Humidité relative de l'air

Mesurée en pourcentage, l'humidité relative de l'air est assez constante durant toute l'année comprise entre 63 et 85%. Ceci est dû principalement à l'action modératrice de la mer et des plans d'eau qui contribuent au maintien d'une hygrométrie élevée en été réduisant la durée et l'intensité de la sécheresse estivale (Hacini, 2007).

2.4.4. Evaporation

Pour la région d'El Taref l'évaporation est moins importante par rapport aux autres stations, elle est d'une moyenne de l'ordre de 413,23 mm/an avec un minimum de 10 mm en Décembre et un maximum de 52 mm en juillet.

3. Région d'Ouargla :

3.1. Situation géographique

Ouargla est l'une des principales oasis du Sud algérien. Elle est située au Sud- Est du pays. Elle couvre une superficie de 163.233 Km² .elle limitée au Nord par les wilayas de Djelfa et d'El-Oued, à l'Est par la Tunisie au Sud par les wilayas de Tamanrasset et d'Illizi et à l'Ouest par la wilaya de Ghardaïa. (Rouvilis Brigol ,1975).

La ville de Ouargla est située dans une dépression (cuvette), aux coordonnées géographiques 5°4' Est de longitude de 31°93' Nord de latitude. Elle comporte 06 communes regroupées en 03 daïras.

3.2. Relief

Le relief de la wilaya est un sous ensemble de composants géographique dont les principaux sont les suivantes :

- le grand Erg oriental : véritable mer de sable ou les dunes pouvant atteindre une hauteur de 200 m, il s'étend sur environ les 2/3 du territoire de la wilaya.
- la hamada : qui est un plateau caillouteux, elle est située en grande partie à l'Ouest et au Sud.
- les vallées : sont représentées par la vallée fossile d'Oued Mya et la vallée d'Oued Righ, assez prospères.
- les plaines : assez réduites, se rencontrent à la limite occidentale de la wilaya, ces plaines s'étendent du Nord au Sud.
- les dépressions : sont quant à elles peu nombreuses. Elles se trouvent essentiellement dans la région d'Oued Righ.

3.3. Caractères climatiques

Le climat de la région d'Ouargla est un climat particulièrement contrasté malgré la latitude relativement septentrionale. L'aridité s'exprime non seulement par des températures élevées en

Chapitre IV : Matériel et méthodes

été et par la faiblesse des précipitations, mais surtout par l'importance de l'évaporation due à la sécheresse de l'air.

3.4. Données météorologiques

Pour cette étude, les séries des données, qui sont à la base de la détermination de différents paramètres climatiques, ont été enregistrées à la station pluviométrique d'Ouargla dont la localisation est indiquée par les coordonnées géographiques 31°57'17" N et 05°19'22" E, avec une altitude de 136 m. (Tableau 07)

Tableau 07: Données météorologiques d'Ouargla pour l'année 2015.

| Mois | Température moyenne MAX (°C) | Température moyenne MINI (°C) | Température moyenne (°C) | Humidité relative % | Précipitation mm | Evaporation mm |
|-----------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------|------------------|----------------|
| Janvier | 18,3 | 4,4 | 11,4 | 52 | 1 | 93 |
| Février | 18,9 | 9,4 | 14,2 | 56 | 24 | 91 |
| Mars | 24,6 | 10,2 | 17,4 | 47 | 4 | 158 |
| Avril | 32,4 | 16,2 | 24,4 | 36 | 0,0 | 256 |
| Mai | 37 | 20,9 | 28,9 | 38 | 0,0 | 334 |
| Juin | 39,8 | 24,9 | 32,3 | 30 | 0,0 | 365 |
| Juillet | 42 | 26,6 | 34,3 | 30 | 0,0 | 346 |
| Août | 42,8 | 29,2 | 36 | 38 | 0,0 | 366 |
| Septembre | 37,8 | 24 | 30,9 | 45 | 1 | 233 |
| Octobre | 31,8 | 17,8 | 24,8 | 45 | 0,0 | 158 |
| Novembre | 24,3 | 11 | 17,7 | 56 | 0,0 | 98 |
| Décembre | 20 | 5,1 | 12,5 | 54 | 0,0 | 95 |

3.4.1. Précipitations :

La faiblesse de la pluviosité est le caractère fondamental du climat saharien, dans la région d'Ouargla, les pluies sont rares et irrégulières d'un mois à un autre. En 2015 les précipitations ont été présentes durant 4 mois (janvier, février, mars et septembre) avec une somme de 31 mm ; Le mois de Février est le plus pluvieux avec une pluviométrie moyenne de 24 mm.

3.4.2. Température :

C'est un facteur principal qui conditionne le climat de la région. La température moyenne annuelle est de 23,73°C avec un maximum en Août de 36°C, et un minimum en janvier de 11,4°C.

3.4.3. Humidité relative de l'air

L'humidité relative enregistre des taux tournant de 30 à 56 %, elle varie sensiblement en fonction des saisons de l'année. En effet pendant l'été, elle diminue jusqu'à 30% au mois de juin et juillet, sous l'action d'une forte évaporation et des vents chauds. Elle s'élève en hiver et atteint une moyenne maximale de 56% au mois de février et novembre.

3.4.4. Evaporation

Dans la région d'Ouargla comme partout en milieu aride, l'évaporation est toujours plus importante sur une surface nue que sous le couvert végétal surtout en été. Cela s'explique par les fortes températures et le fort pouvoir évaporant de l'air. Elle est d'une moyenne de l'ordre de 2597,8 mm/an avec un minimum de 91 mm en février et un maximum de 366 mm en août.

II. Analyse climatique:

1. Variation des précipitations

Une comparaison des précipitations annuelle montre une déference entre les trois stations (figures 09, 10, 11 et 12), la valeur annuelle est d'environ 31 mm à Ouargla répartie sur 4 mois, de 694 mm à El Taref. A Oum El Bouaghi les précipitations sont irrégulières elles atteints une valeur annuelle de 376 mm.

La quantité d'eau reçue annuellement reste un facteur essentiel pour les fonctions physiologiques végétales.

Pour les sols, la valeur maximum de précipitation a une grande importance. Elle accentue les processus d'érosion hydrique et favorisent les migrations des éléments les plus solubles (sels, gypse, calcaire).

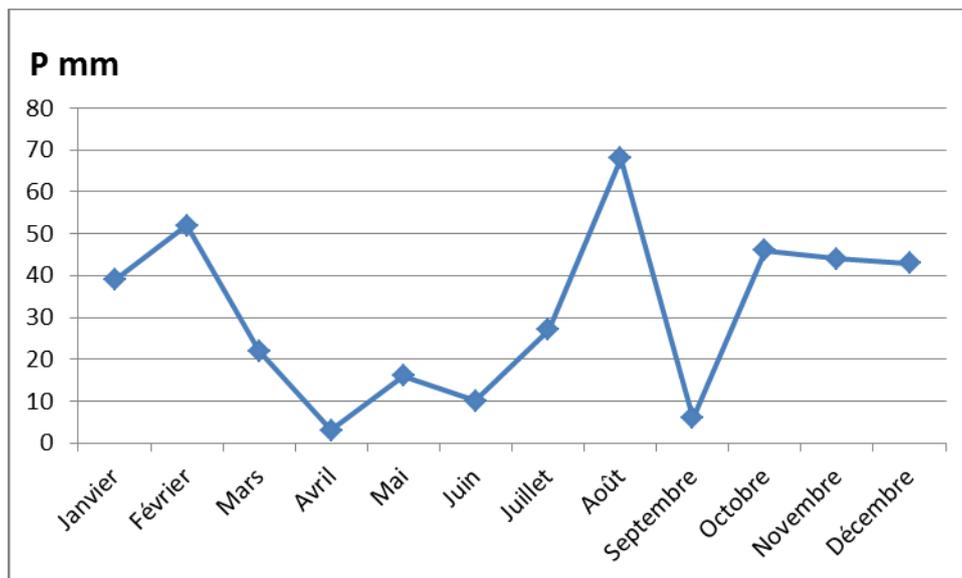


Figure 09: Variation annuelle des précipitations à la station d'Oum El Bouaghi

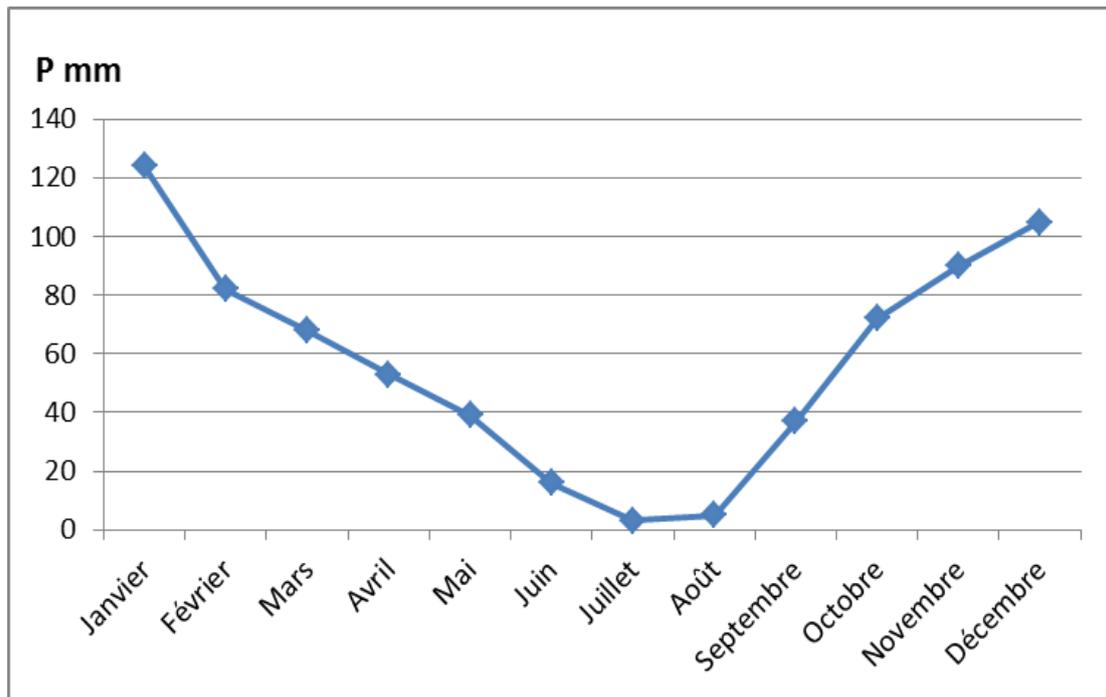


Figure 10: Variation annuelle des précipitations à la station d'El Taref

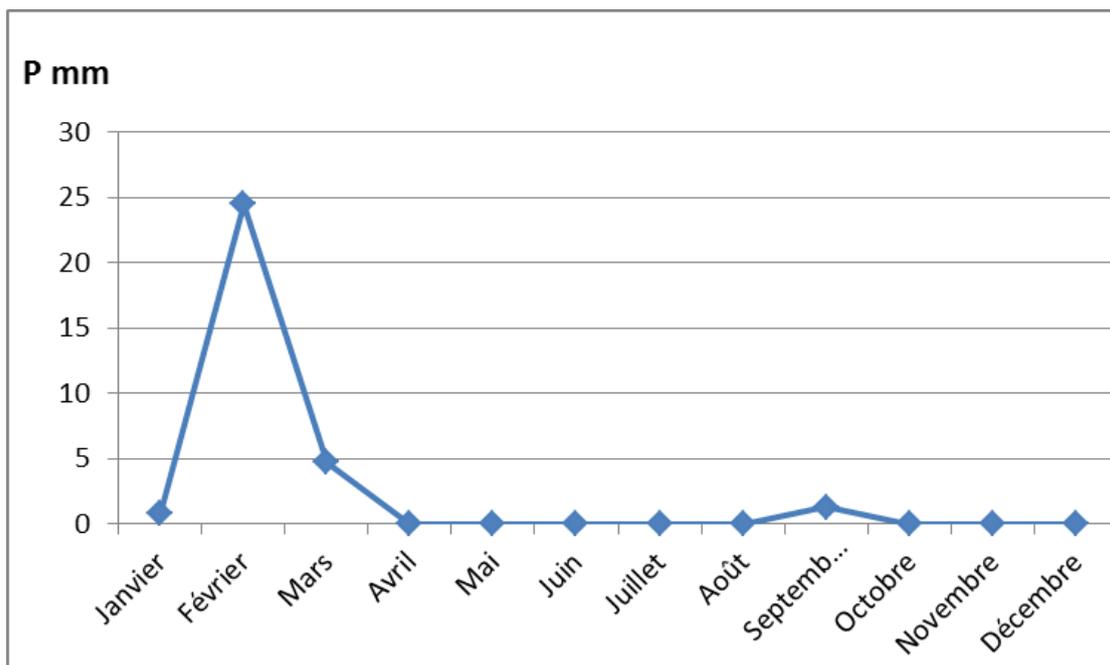


Figure 11: Variation annuelle des précipitations à la station d'Ouargla

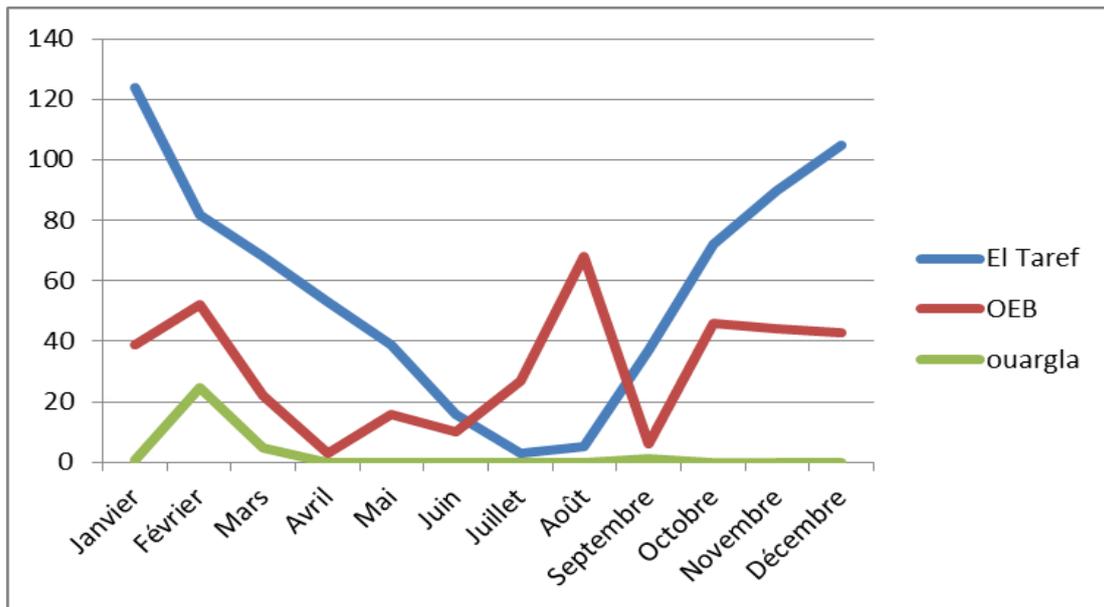


Figure 12: Variation annuelle des précipitations au niveau des trois stations

2. Variation des températures

De la même façon que les précipitations nous avons fait une synthèse des données de températures pour les trois stations représentatives de notre région d'étude (figures 13, 14, 15). La moyenne annuelle est de l'ordre de 23,73°C à Ouargla, 15,62°C à Oum El Bouaghi et de 18,25°C à El Taref.

Les espèces végétales sont plus sensibles aux températures minimales de la saison froide et aux températures maximales de la saison chaude et par conséquent à l'amplitude de leurs oscillations. En plus ce sont ces éléments qui caractérisent le mieux le régime thermique en un lieu donné.

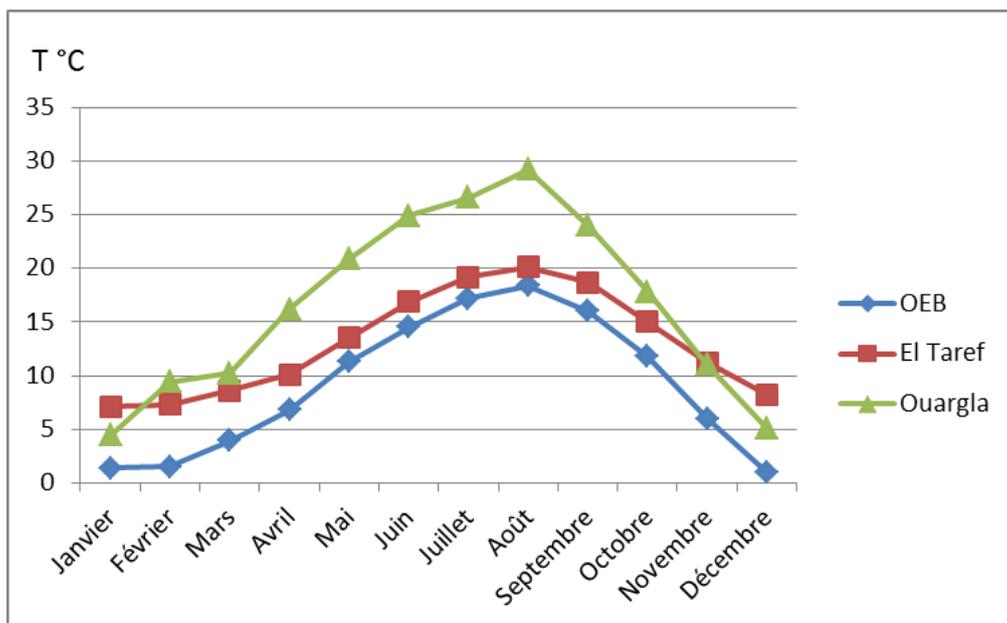


Figure 13: Valeurs des moyennes annuelles des températures minimales absolues aux stations d'Oum El Bouaghi, El Taref, Ouargla (2015)

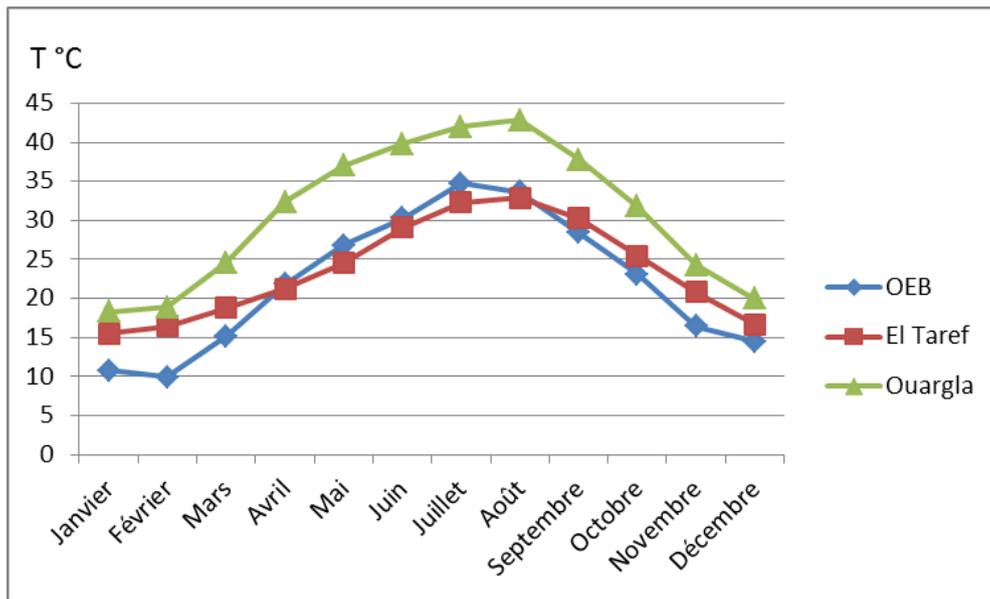


Figure 14: Valeurs des moyennes annuelles des températures maximales absolues aux stations d'Oum El Bouaghi, El Taref, Ouargla (2015)

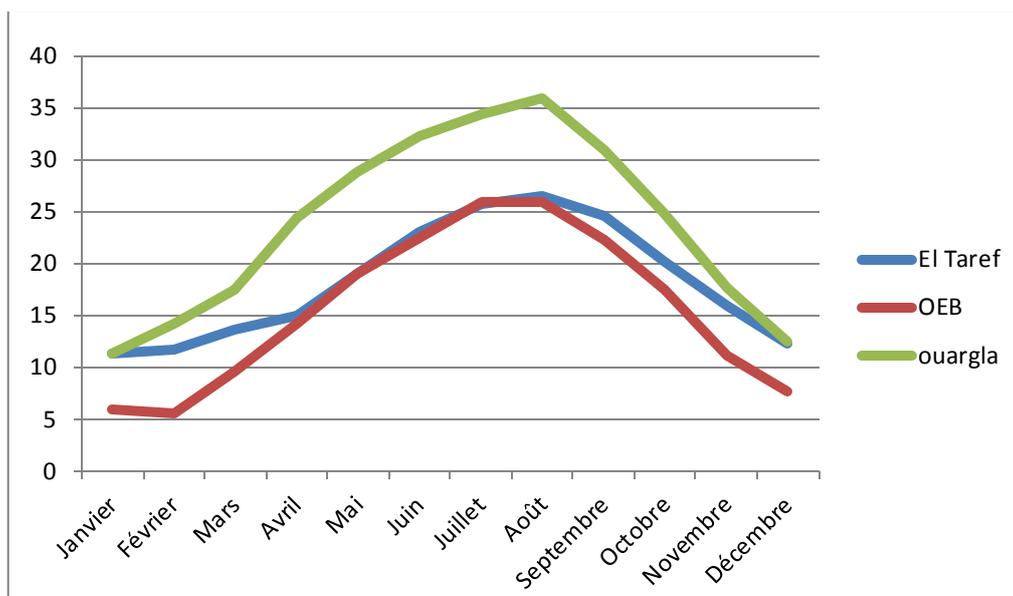


Figure 15: Variation annuelle des températures au niveau des trois stations

3. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson

Le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson nous permet de mettre en évidence la période sèche de notre zone d'étude. Il est tracé avec deux axes d'ordonnées où les valeurs de la pluviométrie sont portées à une échelle double de celle des températures. (Bagnouls et Gausson, 1957). La saison sèche apparaît lorsque la courbe des précipitations rencontre et passe sous celle des températures.

En se basant sur les données météorologiques des stations d'étude (Tableau : 05,06 et 07).

Cette représentation fait ressortir les mois secs dans l'année. Pour Gausson un mois est sec, si $P < 2T$, comme il apparaît clairement sur les figures (16, 17, 18). La période sèche de la région d'Oum El Bouaghi est divisée en deux temps, elle s'étale du mois d'avril jusqu'à la fin du mois de juin et reprend entre la fin d'août et début d'octobre. Pour la région d'El Taref,

Chapitre IV : Matériel et méthodes

nous observons une saison sèche allant de mois d'avril jusqu'à le mois d'octobre. Pour la région d'Ouargla on a une période favorable de trois mois (janvier, février et mars) le reste de l'année c'est une période sèche.

L'indice pluviométrique d'EMBERGER nous aide à définir les cinq étages de climat méditerranéen du plus aride jusqu'à celui de haut montage. (Emberger, 1955).

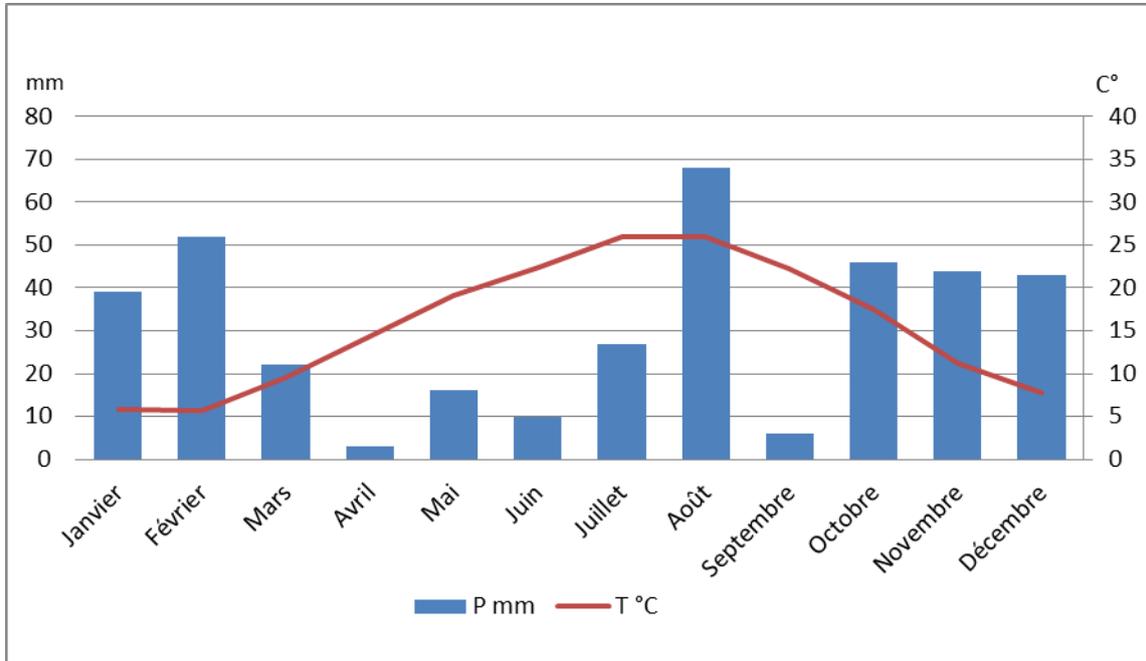


Figure 16 : Diagramme ombrothermique d'Oum El Bouaghi pour l'année 2015.

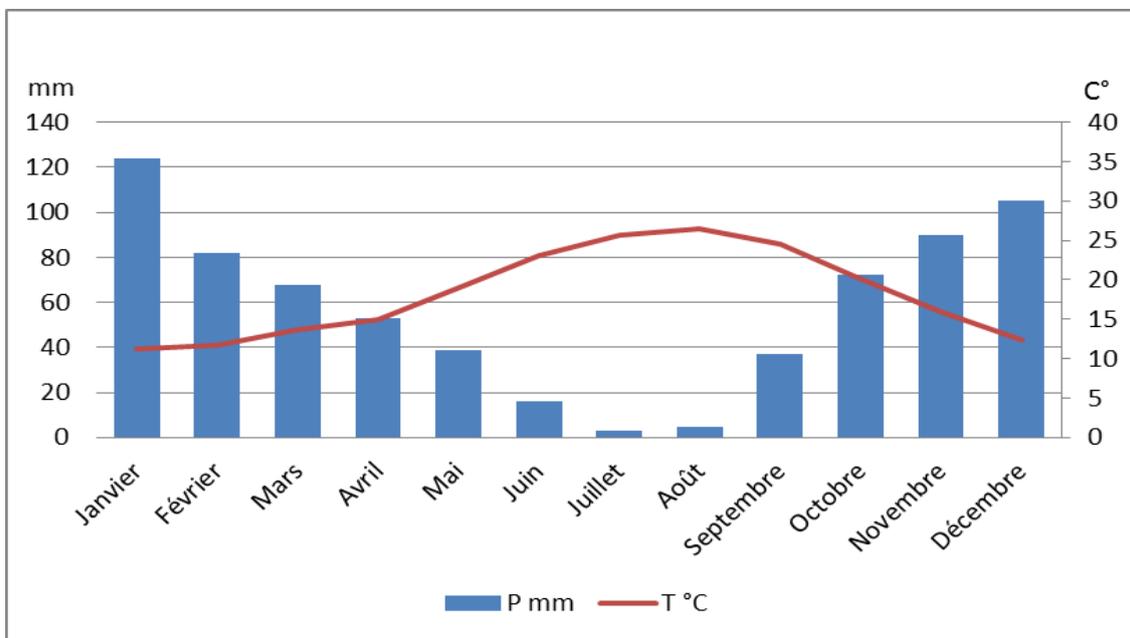


Figure 17: Diagramme ombrothermique d'El Taref pour l'année 2015.

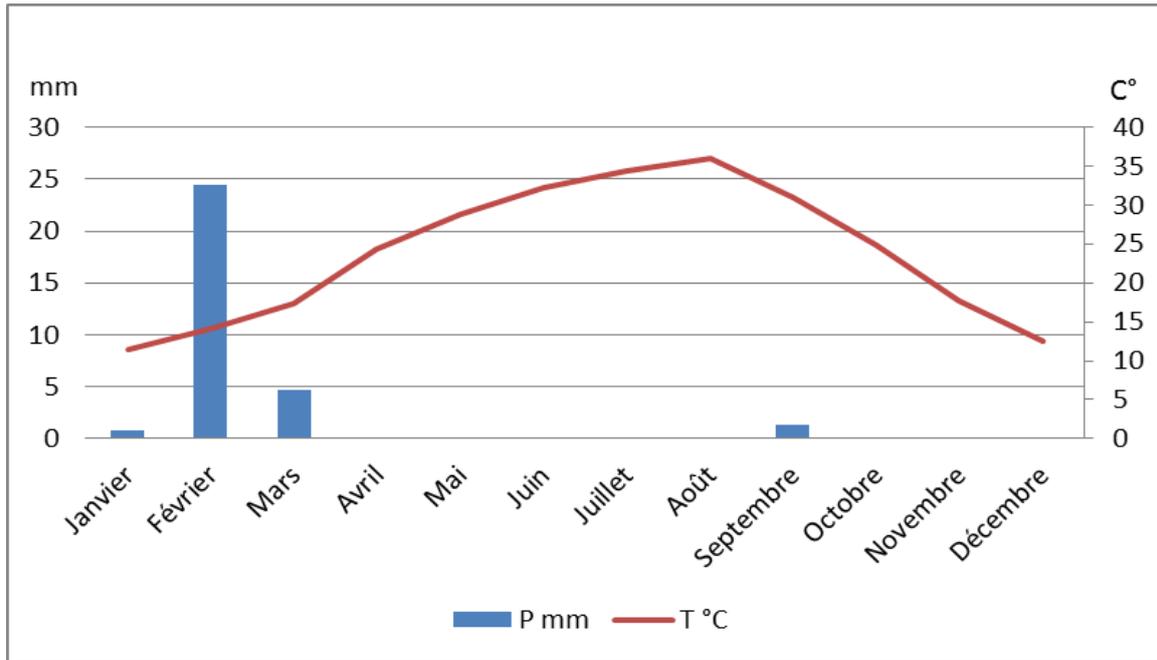


Figure 18 : Diagramme ombrothermique d'Ouargla pour l'année 2015.

4. Climagramme d'EMBERGER

Pour représenter le climat de chaque station étudiée, nous utilisons le climagramme d'EMBERGER qu'est un abaque comportant en ordonnées les valeurs de Q_2 données par la relation:

$$Q_2 = [2000P/M^2 - m^2]$$

Et en abscisse, la moyenne des minima de la saison froide (hiver).

Où:

M: moyenne des maxima du mois le plus chaud en degré absolu (K°);

m: moyenne des minima du mois le plus froid en degré absolu (K°);

P: précipitation moyenne annuelle (mm) (Arlery, 1973).

Pour la réalisation du diagramme d'EMBERGER on a utilisé les données climatiques des trois stations durant 10 ans (2006-2015, voir annexe).

L'observation du climagramme d'EMBERGER nous permet de situer les 03 stations d'étude comme suit :

- Oum El Bouaghi appartient à l'étage bioclimatique de végétation semi-aride à hiver frais. ($Q_2 = 34,27$).
- El Taref appartient à l'étage bioclimatique de végétation sub-humide à hiver doux ($Q_2 = 83,97$).
- Ouargla appartient à l'étage bioclimatique de végétation aride à hiver chaud ($Q_2 = 2,90$).

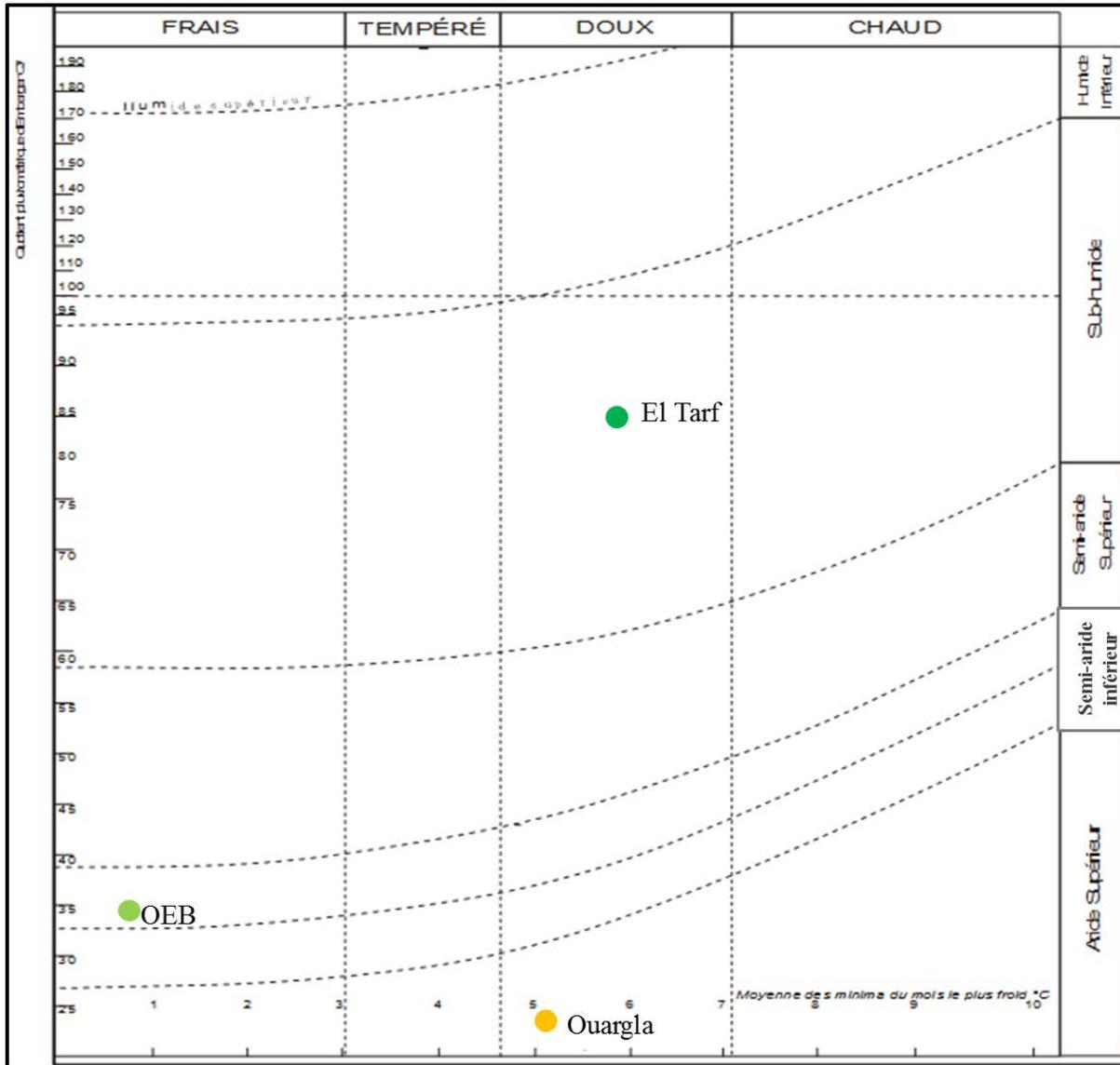


Figure 19: Climagramme du quotient pluviométrique Q2 d'Emberger des 03 stations d'étude.

5. Analyse du sol:

L'analyse du sol a été faite au laboratoire régional EST d'Oum El Bouaghi (Institut National des Sols, de L'irrigation et du Drainage). Pour notre étude, les échantillons ont été prélevés juste au-dessous des pieds des deux plantes, que nous sommes en train d'étudier, avec un creusement dans la Rhizosphères (10 à 20 cm), dans les sites d'Oum El Bouaghi, El Taref et Ouargla.

5.1. Analyse physique

La propriété physique du sol est liée à sa texture et sa structure. Elle joue un rôle essentiel dans l'aération du sol et à la vie des organismes, dans la résistance à l'érosion du sol et en fin dans sa perméabilité et son lessivage.

➤ L'analyse granulométrique :

La texture est la composition granulométrique du sol après la destruction de tous les agrégats par dispersion des colloïdes flocules.

Cette analyse permet de connaître (sous une forme pondérale) la répartition des particules minérale < 2 mm selon des classes de grosseur. Une fois admises les limites des différentes

Chapitre IV : Matériel et méthodes

classes de dimensions de particules, il s'agit de déterminer la répartition statistique des particules d'un échantillon dans ces différentes classes granulométriques. (Baize, 2000)
Les résultats sont représentés dans le tableau 08 pour les trois sites d'étude.

Tableau 08: Résultats d'analyse granulométrique pour les trois sites d'étude

| Propriétés du sol | Oum El Bouaghi | | El Taref | | Ouargla | | Méthode |
|-------------------|----------------|-------|----------|-------|---------|-------|--|
| | RO | TG | RO | TG | RO | TG | |
| Argile % | 21,93 | 27,94 | 35,45 | 19,82 | 03,27 | 00,83 | méthode pipette ROBINSON Norme internationale ISO, 11277 |
| Limon % | 38,42 | 48,36 | 16,74 | 33,51 | 0,3 | 25,94 | |
| Sable % | 39,6 | 23,7 | 47,8 | 46,66 | 96,44 | 73,23 | |
| Texture | L | LA | AS | LA | S | SL | Les classes texturales sont représentées par le diagramme de classification des textures |

a) Le site d'Oum El Bouaghi

La texture du sol est de nature limoneuse pour le romarin et limoneux-argileuse pour le tamaris (figure : 20) avec un pourcentage de 38,42% et 48,36% de limons, 39,6% et 23,7% de sable et une proportion d'argile avec 21,93% ET 27,94%.

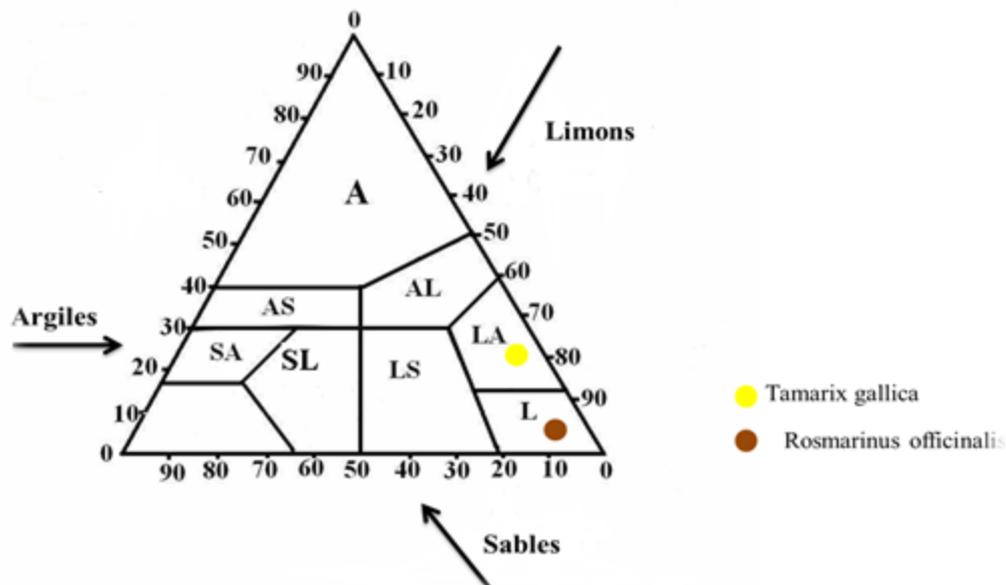


Figure 20: Diagramme de classification des textures du site d'Oum El Bouaghi

b) Le site d'El Taref

La texture du sol est de nature argilo-sableuse pour le romarin et limoneux-argileuse pour le tamaris (figure : 21) avec un pourcentage de 16,74% et 33,51% de limons, 47,8% et 46,66% de sable et une proportion d'argile avec 35,45% ET 19,82%.

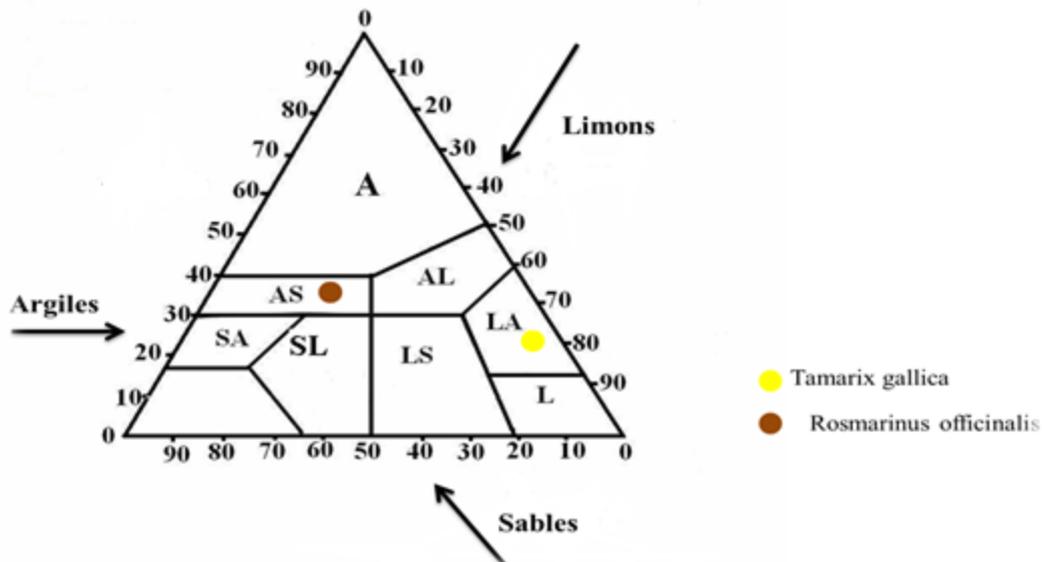


Figure 21: Diagramme de classification des textures du site d'El Taref

c) Le site d'Ouargla

La texture du sol est de nature sableuse pour le romarin et sablo-limoneuse pour le tamaris (figure : 22) avec un pourcentage de 0,3% et 25,95% de limons, 6,44% et 73,23% de sable et une proportion d'argile avec 3,27% et 0,83%.

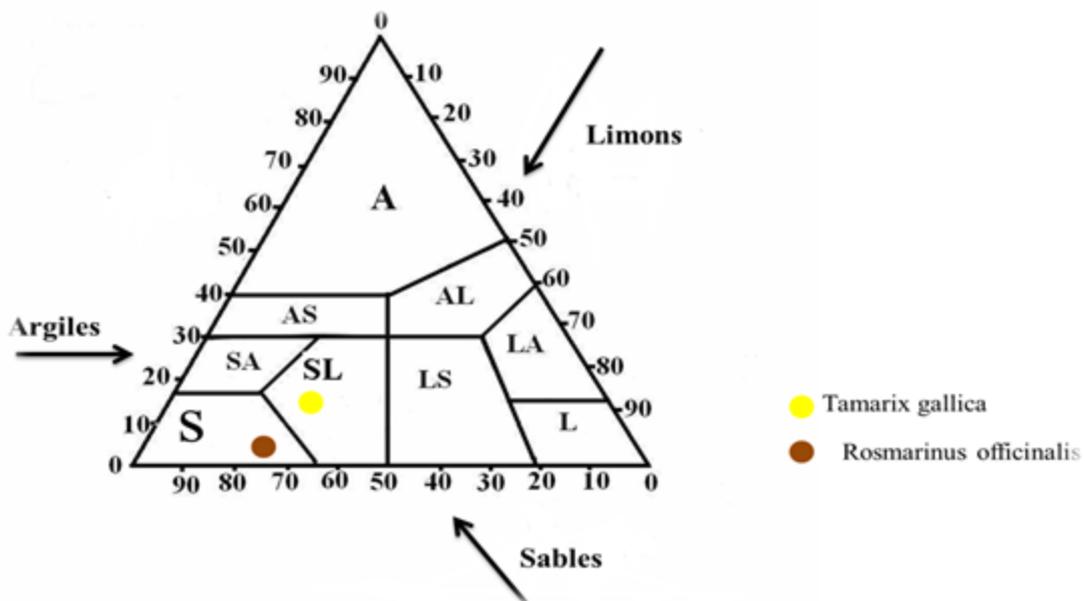


Figure 22: Diagramme de classification des textures du site d'Ouargla

5.2. Analyse chimique :

5.2.1. Mesure du pH

Parmi les caractéristiques physico-chimiques d'un sol, l'acidité actuelle qui exprime la concentration en ion H^+ dissociés (libre) dans une solution de sol à un moment donné. La mesure du pH est effectuée au laboratoire régional EST d'Oum El Bouaghi (INSID).

Chapitre IV : Matériel et méthodes

Le pH s'exprime selon une échelle de 0 à 14. Les valeurs faibles indiquent une acidité, les valeurs >7 correspondent à un caractère basique. Baize, 2000 propose 7 « domaines » de pH dans l'eau et les qualificatifs correspondants :

pH inférieur à 3.5 hyper-acide.

pH entre 3.5 et 4.2 très acide.

pH entre 4.2 et 5.0 acide.

pH entre 5.0 et 6.5 peu acide.

pH entre 6.5 et 7.5 neutre.

pH entre 7.5 et 8.7 basique.

pH supérieur à 8.7 très basique

Les mesures sont portées dans le tableau 09

Tableau 09: Résultats de mesure du pH dans les trois sites d'étude.

| Propriétés du sol | Oum El Bouaghi | | El Taref | | Ouargla | | Méthodes |
|-------------------|----------------|---------|----------|--------|---------|---------|---|
| | RO | TG | RO | TG | RO | TG | |
| pH | 7,22 | 7,81 | 7,47 | 7,06 | 7,86 | 7,64 | Référentiel pédologique ; 1995 Norme AFNOR, x31-103 |
| Nature du pH | neutre | basique | neutre | neutre | basique | basique | |

Les résultats révèlent que le pH des trois stations balance entre neutre et basique (entre 7,06 et 7,86) pour les deux plantes.

5.2.2. Mesure de la conductivité électrique

La salinité est souvent mesurée par la conductivité électrique de la solution de sol. Plus la conductivité électrique est forte, plus le sol est salé donc la conductivité électrique permet d'avoir la fertilité et la salinité du sol. La conductivité étant proportionnelle à la somme des ions en solution, c'est pour cela on peut déterminer la salinité de sol en fonction de la conductivité.

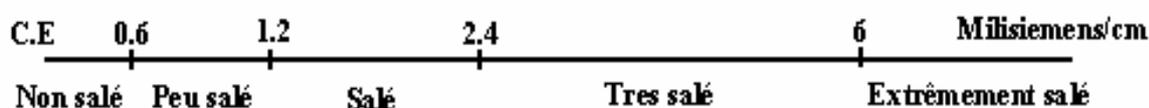


Figure 23: Echelle de salure en fonction de la conductivité de l'extrait aqueux au 1/5.

Tableau 10: Résultats de mesure de la conductivité électrique dans les trois sites d'étude.

| Propriétés du sol | Oum El Bouaghi | | El Taref | | Ouargla | | Méthodes |
|-------------------|----------------|----------|----------|----------|----------|------------------|--|
| | RO | TG | RO | TG | RO | TG | |
| CE (dS/m) | 0,37 | 0,54 | 0,37 | 0,34 | 0,30 | 13,73 | FAO, 1985 Norme internationale ISO,11265 |
| Type du sol | Non salé | Non salé | Non salé | Non salé | Non salé | Extrêmement salé | |

Les résultats de mesure de la conductivité électrique, récapitulés dans le tableau 10, montrent que le site d'Ouargla, où on a prélevé le *Tamarix gallica*, présente la plus forte valeur (CE = 13,73 dS/m), cette salinité élevée peut s'expliquer par les caractéristiques du site qui est une sebkha.

5.2.3. Dosage du calcaire

A) Dosage de calcaire total (carbonates totaux CaCO₃)

Parmi les différents éléments chimiques qui entrent dans la composition du sol, le calcaire joue un rôle essentiel non seulement dans la nutrition des plantes mais encore dans la pédogenèse (Duchaufour 1984).

Pour interprétation des résultats, on se réfère à l'échelle suivante.

Tableau 11: Echelle de classification des sols selon le taux du calcaire totale (Baize, 2000)

| % Calcaire total | Désignation du type du sol |
|------------------|----------------------------|
| >1 | Non calcaire |
| 1-5 | Peu calcaire |
| 5-25 | Modérément calcaire |
| 25-50 | Fortement calcaire |
| 50-80 | Très fortement calcaire |
| <80 | Excessivement calcaire |

Les résultats récapitulés dans le tableau 12 révèlent que le sol est modérément calcaire à Oum El Bouaghi (19,78% et 23,22%), peu calcaire à Ouargla (1,29 et 3,44) et non calcaire à El Taref (0,86% et 0%).

Tableau 12: Résultats de dosage du calcaire total dans les trois sites d'étude

| Propriétés du sol | Oum El Bouaghi | | El Taref | | Ouargla | | Méthodes |
|-----------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--|
| | RO | TG | RO | TG | RO | TG | |
| CaCO ₃ T % | 19,78 | 23,22 | 0,86 | 0,00 | 1,29 | 3,44 | G.E.P.P.A Norme internationale ISO,10693 |
| Type de sol | Modérément calcaire | Modérément calcaire | Non calcaire | Non calcaire | Peu calcaire | Peu calcaire | |

B) Dosage de calcaire actif (Ca ++)

Du taux de calcaire total présent dans la terre fine, on ne peut guère tirer de l'enseignement.

Car on ignore si ces carbonates CaCO₃ sont de taille de sable ou se forme très fine. Or, pour les plantes, c'est la réactivité du calcaire qu'est importante. C'est pourquoi Drouineau en 1942 a tenté de mettre au point un test d'aptitude des carbonates à une dissolution rapide. Sous sa forme actuelle le dosage du calcaire dit actif consiste à déterminer quelle est la quantité des cations Ca ++ réagissent avec l'oxalate d'ammonium.

Donc la détermination du calcaire actif concerne la fraction du calcium des carbonates qui est précipitée par une solution d'oxalate d'ammonium.

Tableau 13: Résultats de dosage du calcaire actif dans les trois sites d'étude.

| Propriétés du sol | Oum El Bouaghi | | El Taref | | Ouargla | | Méthodes |
|-----------------------|----------------|-------|----------|------|---------|------|----------|
| | RO | TG | RO | TG | RO | TG | |
| CaCO ₃ A % | 14,38 | 16,38 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | - |

Chapitre IV : Matériel et méthodes

Les résultats du tableau 13 révèlent que le taux du calcaire actif varie entre 14,38% et 16,38% à la station d'Oum El Bouaghi ; et de 0% à la station d'El Taref et d'Ouargla.

D'après Maignien, 1969, un sol est dit riche en calcaire actif lorsque le taux de ce dernier dépasse 10% c'est le cas de la station d'Oum El Bouaghi , et dit faible calcaire actif lorsque le taux est inférieur à 5% c'est le cas des autres stations.

5.2.4. Détermination de la teneur pondérale en matière organique

La teneur en matière organique (MO) est le quotient de la masse de matières organiques contenues dans un échantillon de sol par la masse des particules solides.

L'évolution du sol ou pédogenèse est liée directement à la décomposition de la matière organique, celle-ci permet la formation d'humus qui joue un rôle important dans la fertilité de sol.

Pour l'interprétation du résultat, on se réfère à l'échelle suivante :

Tableau 14: Echelle de détermination de la teneur pondérale en matière organique

| Taux de matière en% | Quantité |
|---------------------|------------|
| <1 | Trèsfaible |
| 1 à 2 | Faible |
| 2 à 3 | Moyenne |
| 3 à 5 | forte |
| >5 | Très forte |

Tableau 15: Résultats de détermination du taux de la matière organique dans le sol dans les trois sites d'étude

| Propriétés du sol | Oum El Bouaghi | | El Taref | | Ouargla | | Méthodes |
|----------------------|----------------|---------|----------|-------|---------|---------|---------------|
| | RO | TG | RO | TG | RO | TG | |
| Taux de la MO en % | 5,07 | 2,53 | 1,69 | 4,65 | 2,53 | 2,11 | Brochure OLIB |
| Quantité dans le sol | forte | moyenne | Faible | forte | moyenne | moyenne | |

Selon les résultats portés dans le tableau 15 le sol des trois stations représente des taux différents de matière organique avec un pourcentage élevé à Oum El Bouaghi et El Taref (5,07 et 4,65) et une quantité moyenne à Ouargla (2,53% et 2,11%).

III. Matériel et méthodes :

1. Objectif du travail

L'objectif de notre travail est d'étudier les effets des facteurs environnementaux sur la variation des métabolites secondaires dans les deux espèces *Tamarix gallica* et *Rosmarinus officinalis*, récoltées de trois stations de différents étages bioclimatiques. Aussi dans le but de connaître l'effet des conditions climatiques sur la composition qualitative et quantitative des métabolites secondaires, Nous avons procéder à :

- Déterminer la composition chimique des huiles essentielles, extraites par hydrodistillation, des deux plantes par GC/MS.

- Doser la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes par HPLC.
- Tester l'effet antiprolifératif des huiles essentielles et des extraits sec (aqueux, acétate d'éthyle) des deux plantes.

2. Matériel végétal :

2.1. Récolte et séchage

Des récoltes des parties aériennes de nos espèces : *Tamarix gallica* et *Rosmarinus officinalis* ont été réalisées au mois de mars et avril 2015, durant les étapes de floraison des plantes au niveau des trois stations. Elles sont ensuite séchées au laboratoire à l'air libre puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique et conservés à sec à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'au moment de l'extraction.

Nos échantillons de Romarin proviennent de la cueillette directe des jardins des administrations vu que c'est une plante ornementale, tandis que ceux de *Tamarix* ont été prospectés et prélevés des sols des stations suivantes ;

- La zone humide Tinsilt à Oum El Bouaghi,
- La périphérie d'El Taref,
- Chott Aïn El-Beïda à Ouargla

3. Extraction des HE :

3.1. Hydrodistillation

La méthode d'extraction adoptée pour extraire les huiles essentielles des feuilles est l'hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928) ; 300 g de la matière végétale est introduite dans un ballon de quatre litre, imprégné d'eau distillée l'ensemble est porté à ébullition pendant trois heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielles, en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter (figure 24), l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'huile récupérée est conservée dans des flacons bruns à une température de 4 °C.

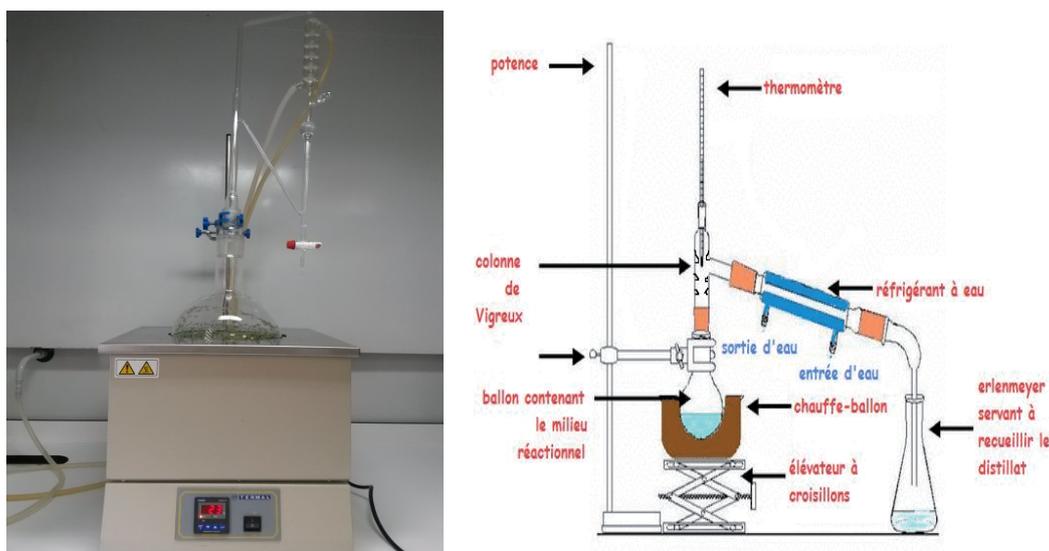


Figure 24 : Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

3.2. Identification des composés:

A. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC)

L'huile obtenue à partir de parties aériennes des plantes d'étude a été analysée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur Perkin Elmer Clarus 500 avec une colonne capillaire BPX-20 (30 mx 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 μ m) 5% de phényl polysilphénylène-siloxane à une tension d'ionisation de 70 eV équipé d'un détecteur FID. La température du four a été programmée de 50 à 120 ° C à 5 ° C / min et de 120 ° C à 240 ° C à 10 ° C / min et maintenue pendant 5 min à la température finale. Des échantillons dilués de 1,0 μ L ont été injectés dans le mode divisé 300: 1. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été fixées à 220 ° C et 290 ° C, respectivement. De l'hélium a été utilisé comme gaz porteur à un débit de 1 ml / min et des échantillons dilués (1/1000).

B. Analyse par chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse (GC / MS)

Des analyses GC / MS ont été obtenues sur un spectromètre de masse Perkin Elmer avec un auto-échantillonneur intégré utilisant une colonne BPX-20 (film de 30 mx 0,25 mm x 0,25 pm). Pour la détection GC / MS, un système d'ionisation électronique, énergie d'ionisation de 70 eV, a été utilisé. L'hélium était le gaz porteur, à un débit de 1,3 ml / min. La colonne tempérée a été utilisée dans les mêmes conditions que celles décrites ci-dessus.

L'identification des composants individuels était basée sur (a) la comparaison de leurs indices de rétention GC (RI) avec ceux de composés authentiques ou de données bibliographiques et (b) un couplage informatique avec une bibliothèque spectrale de masse et des banques commerciales (WILLEY et NIST système).

4. Préparation des extraits

Les extraits préparés sont: extrait aqueux ; extrait acétate d'éthyle.

500 ml d'eau distillée ont été ajoutés à 100 g de matériel végétal sec finement broyé pour chaque échantillon. Au bout de 60 minutes, l'extrait aqueux a été filtré et séché sous vide, pesé et préparé pour l'analyse

Pour l'extrait acétate d'éthyle, 100 g de matériel végétal sec de chaque échantillon ont été soumis à une extraction d'une nuit à l'acétate d'éthyle. Après séparation, la phase organique a été évaporé par un Rotavapor et l'extrait brut a été pesé et préparé pour une analyse plus approfondie.



Figure 25: Evaporation des extraits par Rotavapor.

5. Dosage des composés phénoliques:

5.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par le réactif colorimétrique Folin ciocalteu selon la méthode citée par (Singleton et *al.*, 1999).

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, est de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques, et possède une absorbance maximale à environ de 765 nm (Ojeil et *al.*, 2010)

Pour le matériel végétal on a préparé une solution mère à base des deux extraits (aqueux et acétate d'éthyle) des deux plantes dissous dans du méthanol, puis on a préparé les dilutions (1ml, 0,5 ml, 0,25 ml).

Un volume de 200 µl de la solution mère de chaque plante est mélangé avec 1ml de Folin ciocalteu (1N). Les solutions sont mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800µl de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 7.5%) est additionné.

Le mélange final est agité puis conservé pendant 2h à l'obscurité et à une température ambiante. L'absorbance de la couleur bleue résultante est mesurée à $\lambda_{\text{max}} = 765 \text{ nm}$ à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats sont rapportés à une courbe étalon et exprimés en équivalent d'acide gallique.

Le blanc est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par le solvant.

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0 - 250 µg/ml) comme standard de référence.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme du poids sec d'extrait (mg EAG/g PS)

5.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par (Simirgiotis et *al.*, 2013) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

Après l'ajout de la solution de chlorure d'Aluminium (AlCl_3), une couleur jaunâtre se forme. Cette coloration est due à la formation du complexe entre le chlorure d'Aluminium et les flavonoïdes ; ceci se traduit par le fait que le métal (Al) a perdu deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons (Ribéreau-Gayon, 1968)

Ce réactif entraîne la formation d'un complexe jaune avec les flavonoïdes. Ce dernier présente une absorption maximale à 430 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présents dans l'échantillon.

1 ml d'extrait de chaque plante et du standard dissous dans le méthanol avec les dilutions appropriées a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2 % dans le méthanol). L'absorbance à 430 nm a été lue après dix minutes d'incubation.

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75-36

µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme du poids sec d'extrait (mg EQ/g PS).

6. Identification des composés phénoliques

La teneur phénolique des extraits aqueux et d'acétate d'éthyle, a été déterminée en utilisant l'agilent 1260 infinité couplée au détecteur LC / MS Time of Flight (TOF) 6210 et la colonne ZORBAX SB-C18 (4,6 x 100 mm, 3,5 µm). Les phases mobiles A et B étaient de l'eau ultra-pure avec 0,1% d'acide formique et de l'acétonitrile, respectivement. Le débit était de 0,6 ml min⁻¹ et la température de la colonne était de 35 ° C. Le volume d'injection était de 10 µl. Le programme de solvant était le suivant: 0. min 10% B; 0-1.min 10% B; 1-20 min 50% B; 20-23.min 80% B; 23-25.min 10% B; 25-30. min 10% B. Le mode d'ionisation de l'instrument HPLC-TOF/MS était négatif et fonctionnait avec une température d'azote de 325 ° C, un flux d'azote de 10,0 L min⁻¹, un nébuliseur de 40 psi, une tension capillaire de 4000 V et enfin, tension de fragmentation de 175 V. Pour l'analyse d'échantillon, des extraits bruts séchés (200 ppm) ont été dissous dans du méthanol à température ambiante. Les échantillons ont été filtrés en passant à travers un filtre en PTFE (0,45 µm) par un injecteur pour éliminer les particules.

7. Activité antiproliférative

➤ Détermination de l'activité antiproliférative *in vitro* :

L'activité antiproliférative des extraits a été évaluée *in vitro* par estimation de l'effet inhibiteur des composés phénoliques sur la croissance des cellules sur les lignées cellulaires C6 (tumeur cérébrale de rat) et Hella en utilisant le test ELISA BrdU de prolifération (Demirtas et *al.*, 2012 ; Derango et *al.*, 1996).

➤ Test ELISA:

Les cellules ont été incubées dans des plaques de culture à 96 puits (COSTAR, Corning, USA) à une densité de 30 000 cellules dans chaque puits. Les activités des échantillons ont été examinées à 250, 100 et 50 µg / mL. Après cela, les cellules ont été incubées pendant une nuit avant d'administrer le test BrdU de prolifération cellulaire (Prolifération ELISA) (loyer Roche, Allemagne) conformément à la procédure du fabricant. La quantité de prolifération cellulaire a été identifiée à 450 nm en appliquant un lecteur de microplaque (Awareness Chromate, USA). Les résultats ont été représentés sous forme de pourcentages d'inhibition de la prolifération cellulaire, la densité optique calculée à partir des cellules traitées avec le véhicule étant considérée comme représentant 100% de la prolifération. Le diméthylsulfoxyde (DMSO) a été utilisé pour préparer la solution mère des extraits et du DMEM a été appliqué pour les diluer. La concentration finale de DMSO était inférieure à 0,1% dans tous les tests. Le 5-FU a été utilisé comme composé standard. Le pourcentage d'inhibition de la prolifération cellulaire a été mesuré comme suit: $1 - \text{Traitements} / \text{contrôle par véhicule}) \times 100$. La concentration inhibitrice demi-maximale (CI50) était une mesure de l'efficacité d'un composé à inhiber une fonction biologique. Dans cette étude, les valeurs IC50 et IC75 ont été déterminées à l'aide de l'ED50 en plus de la version 1.0 (Derango et page 1996).

➤ Test xCELLigence

Pour évaluer les extraits, les contrôles et le milieu, le système xCELLigence a été appliqué avec la plaque E 96 jetable. Les mesures ont été réalisées sur la base de la différence d'impédance obtenue par les cellules attachées à la plaque E 96.

Le milieu 100 µL) a été ajouté à chaque puits de E-Plate 96 et inséré dans l'incubateur. La plaque E 96 a été placée à la station xCELLigence et l'impédance de fond a été évaluée

pendant 1 min. Ensuite, 50 μL de chaque suspension de cellules ont été placés dans des puits contenant du milieu et ajustés à 20 000 cellules HeLa mL^{-1} . Pour fixer les cellules aux puits E-Plate 96, la plaque a été maintenue dans une armoire stérile à température ambiante pendant 30 minutes. Enfin, l'adhérence, la croissance et la prolifération de cellules HeLa ont été observées toutes les 10 minutes pendant une période allant jusqu'à 3 h par l'intermédiaire des réseaux d'électrodes de capteur incorporés de la plaque E 96. Les extraits ont été versés dans les puits de la plaque et les concentrations d'extrait aqueux brut de 250, 100, 50 et 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ont été obtenues. Les plaques ont ensuite été insérées instantanément dans l'incubateur et contrôlées toutes les 10 minutes pendant 48 heures. À l'aide des barres d'écart-type, les tests ont été répliqués et répétés trois fois (Koldaş et al., 2015).

8. Analyse statistique:

Les valeurs numériques obtenues à partir de l'activité antiproliférative des deux plantes d'étude, ont été, d'abord, analysées par le test ANOVA, permettant de calculer les moyennes et les écarts types, ce qui a facilité la comparaison des valeurs entre elles selon chaque caractère. On a réalisé trois types de tests :

- Test d'analyse de la variance à un critère ou à un facteur de classification
- Test de Tukey pour comparer les moyennes entre elles.
- Test de DUNNETT pour comparer les moyennes avec celle du témoin.

8.1. Test d'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA)

Le test d'analyse de la variance à un critère ou à un facteur de classification consiste à comparer plus de deux moyennes de plusieurs populations à partir des données d'échantillons aléatoires simples et indépendants (Dagnelie, 2009).

La réalisation du test se fait soit en comparant la valeur de F_{obs} avec une valeur théorique $F_{1-\alpha}$ correspondante, extraite à partir de la table F de Fisher pour un niveau de signification $\alpha = 0,05$ ou 0,01 ou 0,001 et pour K_1 et K_2 degrés de liberté, soit en comparant la valeur de la probabilité p avec toujours les différentes valeurs de $\alpha = 5\%$, 1% ou 0,1%. Selon que cette hypothèse d'égalité des moyennes est rejetée au niveau $\alpha = 0,05$ ou 0,01 ou 0,001, on dit conventionnellement que l'écart observé entre les moyennes est significatif, hautement significatif ou très hautement significatif. On marque généralement ces écarts de 1, de 2 ou de 3 astérisques (Dagnelie, 2009).

Ce test a été utilisé pour comparer les moyennes entre les cinq doses pour le même temps et la même station. Tous les calculs ont été réalisés avec le logiciel MINITAB 16.

8.2. Test de Tukey

Lorsqu'à l'issue d'un test de l'analyse de la variance et pour des facteurs fixe on est amené à rejeter l'hypothèse d'égalité de plusieurs moyennes, dans ces conditions la question de rechercher et de localiser les inégalités se pose.

Chapitre IV : Matériel et méthodes

De nombreuses solutions ont été proposées pour répondre ou tenter de répondre à cette question (Dagnelie, 2009). Ces solutions sont regroupées sous l'appellation générale de méthodes de comparaisons particulières et multiples de moyennes.

Le choix entre les différentes approches dépend de façon très large de la nature qualitative ou quantitative des facteurs considérés et de l'objectif qui a été fixé ou qui aurait dû être fixé au moment où la collecte des données a été décidée (Dagnelie, 2009).

En ce qui nous concerne, chaque fois que l'égalité de plusieurs moyennes a été rejetée par l'analyse de la variance pour un facteur fixe, nous avons utilisé la méthode de Tukey pour tenter de déterminer les groupes de moyennes qui sont identiques ou en d'autres termes les groupes de doses, qui sont aussi homogènes que possible (Dagnelie, 2009).

La méthode de Tukey est une méthode qui s'applique en une seule étape, et qui est, de ce fait, d'une utilisation très facile. Elle consiste à comparer toutes les paires de moyennes à une valeur critique qui correspond à la plus petite amplitude (p.p.a.s) de Newman-Keuls calculée pour q doses (Dagnelie, 2009).

Cette méthode a été utilisée pour rechercher les groupes de doses homogènes pour l'activité antiproliférative mesurée chez les deux plantes d'étude, *Tamarix gallica* et *Rosmarinus officinalis* et ceci pour les deux extraits aqueux et acétate d'éthyle et aussi pour l'huile essentielle extraite.

Les calculs ont été réalisés à l'aide du logiciel d'analyse et de traitement statistique des données MINITAB 16

8.3. Test de DUNNETT

Le test de DUNNETT est utilisé lorsqu'on souhaite comparer les moyennes de plusieurs doses à la moyenne d'une dose témoin ou de référence. Ce test est toujours utilisé après avoir rejeté l'hypothèse d'égalité de plusieurs moyennes par l'analyse de la variance pour un facteur fixe.

Le principe de ce test consiste à calculer, chaque fois, la plus petite différence significative (p.p.d.s) entre une moyenne d'une dose quelconque et la moyenne de la dose de référence et de rejeter l'hypothèse d'égalité des deux moyennes chaque fois que la différence en valeur absolue entre les deux moyennes est supérieure ou égale à cette p.p.d.s (Dagnelie, 2009).

Les valeurs de $d_{1-\alpha/2}$ se trouvent dans des tables spéciales proposées par Dunnett. Elles sont exprimées en fonction des moyennes à comparer au témoin et du nombre de degrés de liberté du carré moyen (CM) qui a servi de base de comparaison lors de l'analyse de la variance. Tandis que n représente le nombre de données (ou répétition) qui ont servi à calculer chacune de ces moyennes (Dagnelie, 2009).

Les calculs ont été effectués avec le logiciel MINITAB 16 et ceci pour chaque caractéristique étudiée.

Chapitre V :

Résultats et discussions

Chapitre V : Résultats et discussions

1. Identification des huiles essentielles :

Après l'analyse des différents chromatogrammes du GC/MS, les principaux composants des huiles essentielles et leurs pourcentages ont été déterminés pour les deux plantes *T. gallica* et *R. officinalis* et au niveau des trois sites Oum El Bouaghi, El Taref et Ouargla..

1.1. *Rosmarinus officinalis*

Les empreintes GC-MS des huiles essentielles des trois échantillons ont été établies.

Le tableau 16 montre respectivement la composition des HE de *R. officinalis* des trois sites précités.

Tableau 16: Composition de l'HE de *R. officinalis*

| N | Composés | RT | OEB | El Taref | Ouargla |
|----|-----------------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | P-xylene | 10,775 | - | 0,69 | 0,67 |
| 2 | α-pinene | 12,752 | 40,95 | 16,78 | 17,16 |
| 3 | Camphene | 13,271 | 8,08 | 2,46 | 4,92 |
| 4 | β -pinene | 14,179 | 1,34 | 0,67 | 1,09 |
| 5 | Myrcene | 14,346 | - | 0,76 | 0,54 |
| 6 | Delta -3-carene | 15,208 | - | 1,26 | |
| 7 | P-cymene | 15,675 | 3,24 | 1,21 | 0,60 |
| 8 | Limonene | 15,846 | 5,49 | 3,52 | 2,80 |
| 9 | Eucalyptol | 16,025 | 1,30 | 11,88 | 13,88 |
| 10 | Gamma-terpinene | 16,843 | 1,29 | 0,66 | 0,52 |
| 11 | Terpinolene | 17,917 | - | 1,23 | 0,77 |
| 12 | Linalol | 18,169 | 2,87 | 3,91 | 1,42 |
| 13 | Cyclopentadiene | 19,319 | - | - | 0,54 |
| 14 | Camphor | 20,252 | 11,24 | 19,26 | 36,72 |
| 15 | Iso Borneol | 20,873 | 3,96 | 12,29 | 7,58 |
| 16 | Bicyclo[3,1,1]heptan-3-one | 21,175 | - | 3,16 | - |
| 17 | Carvomenthenol | 21,185 | 1,42 | - | 1,38 |
| 18 | Alpha-terpineol | 21,601 | 1,38 | 1,68 | 1,46 |
| 19 | Bicyclo[3,1,1]hept-2-ene | 21,957 | - | 0,92 | 1,34 |
| 20 | Verbenone | 22,406 | 11,90 | 12,19 | 3,44 |
| 21 | Urea, phenyl | 23,505 | - | 1,14 | - |
| 22 | Aceticacid | 24,845 | - | 2,96 | - |
| 23 | Bornylacetate | 24,855 | 2,64 | | 1,42 |
| 24 | Beta-caryophyllene | 29,510 | 1,81 | 1,36 | 1,26 |
| 25 | Alpha-Humulene | 30,575 | 1,10 | - | 0,48 |

16 composés ont été identifiés dans l'échantillon prélevé à Oum El Bouaghi, 21 dans l'échantillon prélevé à El Taref et 21 dans l'échantillon prélevé à Ouargla, soit un total de 25

Chapitre V : Résultats et discussions

composés différents dans tous les échantillons, représentant plus de 99% du total des huiles. Tous les composés identifiés ont déjà été rapportés dans *R. officinalis*. Les constituants: α -pinène, camphène, limonène, eucalyptol, linalol, camphre, isobornéol et verbénone représentent plus de 82% du poids dans tous les échantillons.

Les principaux composés de l'échantillon prélevé à Oum El Bouaghi sont l' α -pinène (40,95%), le verbénone (11,90), le camphre (11,24%), le camphène (8,08%), le limonène (5,49%) et l'isobornéol (3,96%). D'autre part, l'échantillon prélevé à El Taref montre des quantités très différentes des principaux composants, à savoir le camphre (19,26%), l' α -pinène (16,78%), l'isobornéol (12,29%), la verbénone (12,19%), l'eucalyptol (11,88%), le limonène (3,52%). L'échantillon prélevé à Ouargla, quant à lui, comprend explicitement des chimiotypes distincts: camphre (36,72%), α -pinène (17,16%), eucalyptol (13,88%), isobornéol (7,58%), camphène (4,92%) et verbénone (3,44%). Tous les principaux composés présentaient une variation élevée et des écarts importants entre les échantillons.

Il existe de nombreux rapports concernant la variation de l'huile essentielle de romarin en fonction de l'origine géographique. Il a été signalé que le camphre (14,3–17,5%), l'eucalyptol (11,0–21,6%) et l' α -pinène (10,2–12,5%) sont les principaux composés de HE en Turquie (Gurbuz et al., 2016). Le romarin du Maroc s'est révélé riche en eucalyptol (47,44%), en α -pinène (12,51%) et en camphre (7,9%), tandis que l' α -pinène était le principal composant du romarin collecté en Espagne (24,7%) et en France (35,80%). (Chalchat et al., 1993). En Algérie, la plante contenait de l'eucalyptol (52,4%), du camphre (12,6%) et du β -pinène (5,7%) (Boutekdjiret et al., 1998). Pino a indiqué que la composition du romarin de Cuba était la suivante: camphre (34,80%), bornéol (11,6%), eucalyptol (11%) et α -pinène (8,17%) (Pino et al., 1998). Le romarin de la péninsule des Balkans contenait de l'eucalyptol et du camphre comme principaux composés (Lakušić et al., 2012). Les huiles essentielles de 21 localités iraniennes contiennent des pourcentages variables de composants majeurs tels que: α -pinène (14,19–21,43%), camphène (3,25–7,58%), 1,8-cinéole (5,32–28,29%), camphre (1,58–25,32%), bornéol (0,16–9,42%), pipéritone (4,21–7,71%) et acétate de bornyle (4,14–6,95%) (Bajalan et al., 2017). Le romarin tunisien de 4 origines géographiques est riche en 1,8-cinéol (33,08–37,75%), en camphre (13,55–18,13%), en α -pinène (8,58–9,32%), en α -terpinéol (6,79–8,17%), le camphène (5,07–5,58%), le bornéol (4,08–5,48%), le limonène (3,19–3,04%) et le p-cymène (2,42–3,11%) (Hcini et al., 2013).

1.2. *Tamarix gallica* :

Les huiles essentielles de *T. gallica* des trois sites sont présentées dans le tableau 17

Tableau 17: Composition de l'HE de *T. gallica*

| N | Composés | OEB % | El Taref % | Ouargla % |
|---|----------------------|-------|------------|-----------|
| 1 | Ethyl benzene | 15,77 | 15,08 | 15,51 |
| 2 | Benzene 1,3-dimethyl | 57,47 | 58,34 | 56,99 |
| 3 | Benzene 1,2-dimethyl | 26,79 | 26,59 | 27,51 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Etonnamment, seuls trois composés ont été identifiés dans les huiles essentielles de *T.gallica*. En effet, il n'existe pratiquement pas de travaux antérieurs sur les huiles essentielles de cette espèce en raison de la pauvreté de ce type de composés chimiques. A première vue, on remarque que les trois composés détectés sont des isomères. Donc, il n'y a que le composé brut. Les rapports précédents sur le genre *Tamarix* ont enregistré de nombreux composés volatils. Par exemple, il a été trouvé que *Tamarix dioica* du Sindh, au Pakistan, contient des composés majeurs dans les feuilles et les fleurs tels que: 2-méthoxy-4-vinylphénol (4,44-17,70%), dihydroactindiolide (3,33-10,27%) (Bugchio et al., 2017) En outre, *Tamarix boveana* de Tunisie contenait de l'acide hexadécanoïque (18,14%), du docosane (13,34%), du germacrène D (7,68%), de l'acétate de fenchyle (7,34%) et du benzoate de benzyle (4,11%). (Saïdana et al., 2006). L'huile essentielle de *Tamarix arceuthoides* collectée dans la vallée de Ziarat au Pakistan impliquait l' α -pinène (8,68%), l'eucalyptol (34,42%), le trans-pinocarveol (8,36%) et le ledol (7,42%) (Bukhari et al., 2016). Il existe donc une diversité frappante en ce qui concerne le contenu volatil des différentes espèces du genre et cela reflète la dépendance de ces composés aux origines géographiques, aux facteurs climatiques et aux sols où ils se développent.

2. Dosage des composés phénoliques :

2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les composés phénoliques sont des composants du métabolisme secondaire présentant des activités favorisant la santé. Les propriétés des solvants d'extraction ont eu une incidence significative sur les rendements, la quantité totale et l'activité de l'oxydant, tels qu'ils ont été évalués par la méthode de folin-ciocalteu.

La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique prise en standard avec un coefficient de corrélation ($y = 0,0113X + 0,0686$, $R^2 = 0,9984$). (Figure 26)

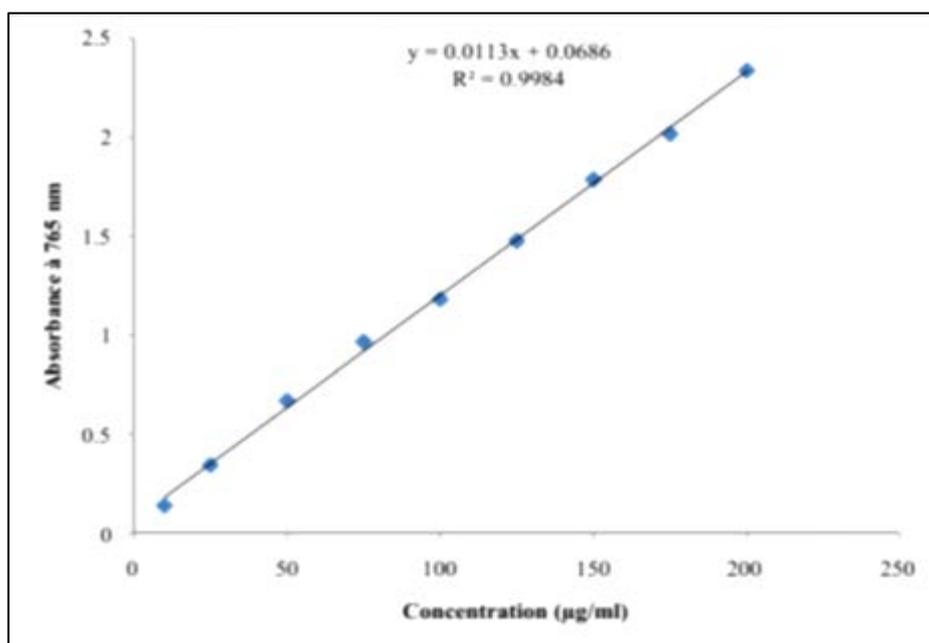


Figure 26 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Chapitre V : Résultats et discussions

La quantité de polyphénols totaux est exprimée en milligrammes équivalents à la norme utilisée par gramme du poids sec de l'extrait (mg EAG / g PS).

A. Extrait aqueux

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait aqueux des deux plantes d'étude sont présentés dans le tableau 18 et la figure 27.

Tableau 18 : Teneurs en polyphénols de l'extrait aqueux des deux plantes d'étude pour les trois sites.

| Sites | Teneurs en polyphénols * | |
|----------------|--------------------------|-----------------------|
| | <i>T. gallica</i> | <i>R. officinalis</i> |
| Oum El Bouaghi | 39,32±0,15 | 81,63±0,16 |
| El Taref | 133,84±0,22 | 114,10±0,15 |
| Ouargla | 16,14±0,01 | 58,26±0,31 |

* mg d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait

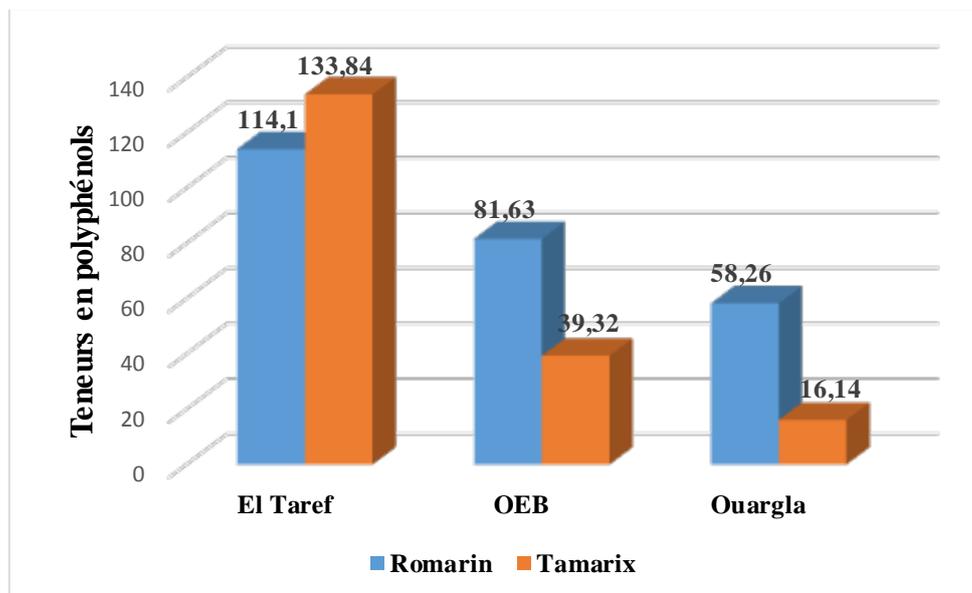


Figure 27: Histogramme de Teneurs en polyphénols de l'extrait aqueux des deux plantes d'étude pour les trois sites.

Les résultats ont révélé d'importantes variations de la quantité totale de composés phénoliques d'un site à l'autre. Le site d'El Taref (région humide) présente des teneurs phénoliques importantes 114,10 à 58,26 mg de EAG / g PS pour *R. officinalis* et de 133,84 à 16,14 mg de EAG / g PS pour *T. gallica*. Cela est certainement dû à des facteurs environnementaux, en particulier à l'eau et aux nutriments favorables à la biosynthèse de ces éléments.

Le site d'Ouargla présente à son tour moins de contenu (58,26 et 16,14 mg de EAG / g de PS pour *R. officinalis* et *T. gallica* respectivement).

B. Extrait acétate d'éthyle

Les teneurs totales en composés phénoliques dans les extraits sont présentées en mg EAG / g PS d'extraits, comme indiqué dans le tableau 19 et la figure 28.

Tableau 19 : Teneurs en polyphénols de l'extrait acétate d'éthyle des deux plantes d'étude pour les trois sites.

| Sites | Teneurs en polyphénols * | |
|----------------|--------------------------|-----------------------|
| | <i>T.gallica</i> | <i>R. officinalis</i> |
| Oum El Bouaghi | 238,46±0,16 | 123,22±0,31 |
| El Taref | 348,56±0,11 | 167,91±0,35 |
| Ouargla | 296,16±0,14 | 73,75±0,07 |

* mg d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait

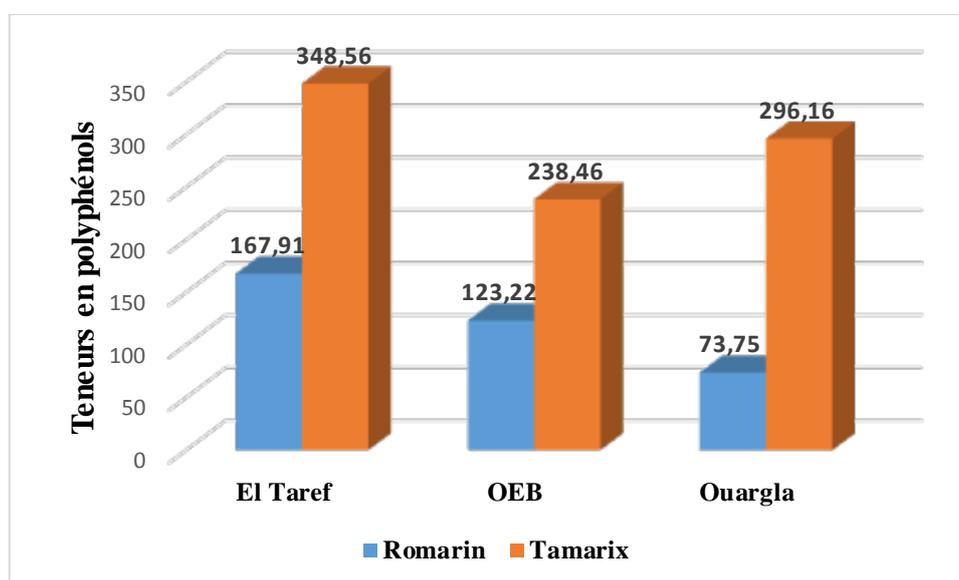


Figure 28: Histogramme de Teneurs en polyphénols de l'extrait acétate d'éthyle des deux plantes d'étude pour les trois sites.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent une variation significative entre les deux plantes et entre les trois sites d'étude. En effet on a pour *T.gallica* les sites d'El Taref (région humide) et Ouargla (région aride) présentent les teneurs les plus élevées avec 348,56 et 296,16 mg de EAG / g PS respectivement. Cela peut être dû à des facteurs environnementaux et au comportement de la plante vis-à-vis au stress hydrique et thermique. Pour le *R. officinalis* le site d'El Taref présente le teneur la plus élevée (167,91 mg de EAG / g PS).

Il convient de noter que la quantité de composés phénoliques dans l'extrait d'acétate d'éthyle est beaucoup plus élevée que celle dans l'extrait aqueux.

D'après la recherche bibliographique, on a trouvé que le dosage des polyphénols totaux chez le romarin diffère d'une étude à l'autre, selon Mehrizi et al. (2012), ils ont estimé une teneur de 17,09 mg EAG/g pour l'extrait de feuilles du romarin. D'après l'étude de

Chapitre V : Résultats et discussions

Muchuweti et al. (2007), la teneur en polyphénols de l'extrait des feuilles de romarin est de 10.83 mg EAG/g PS. Ces teneurs sont plus faibles que nos teneurs et cette différence est due au choix du solvant et la méthode d'extraction (utilisation des solvants de polarité différente). D'après une autre étude de Genena et al. (2008), la teneur en polyphénols de l'extrait de feuilles de *R. officinalis* est de 14.2 mg EAG/g PS qu'est très élevée par rapport à nos résultats. Les résultats obtenus par Athamena (2008) avec 195.45 ± 4.16 mg EAG/g PS de l'extrait brute du romarin et aussi celles de Erkan et al., (2008) : 162 mg EAG/g PS et Ho et al., (2008) : 127 ± 3 mg EAG /g PS , sont plus proches à nos résultats..

2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes, exprimée en milligramme d'équivalent quercétine par gramme du poids sec d'extrait (mg QE / g PS), a été déterminée à partir de la courbe de régression dont l'équation est $y = 0,0299 X + 0,0979$, $R^2 = 0,9746$. (Figure 29)

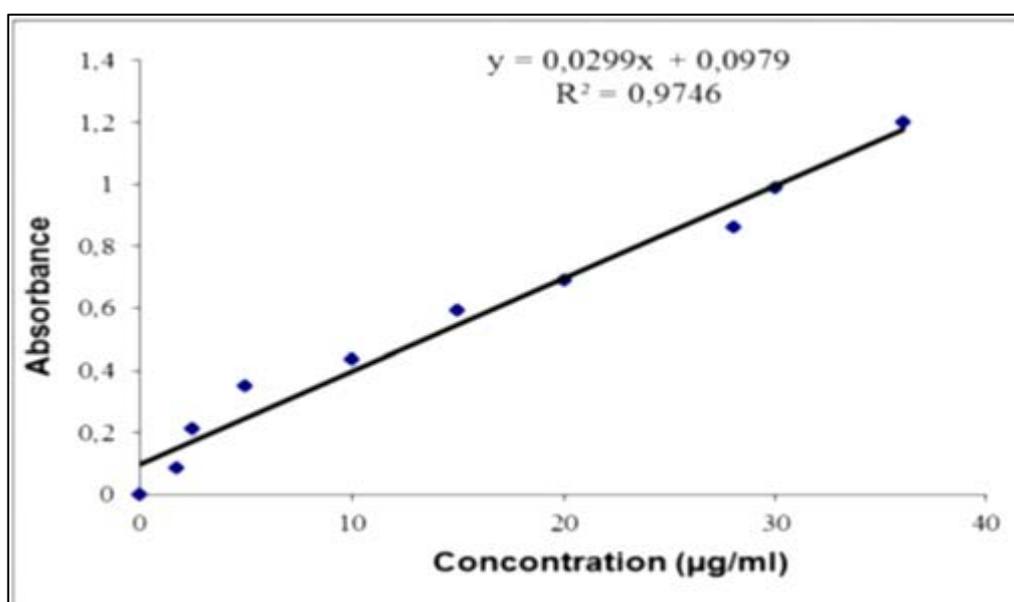


Figure 29 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

A. Extrait aqueux

Tableau 20 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait aqueux des deux plantes d'étude pour les trois sites.

| Sites | Teneurs en flavonoïdes * | |
|----------------|--------------------------|----------------------|
| | <i>T. gallica</i> | <i>R.officinalis</i> |
| Oum El Bouaghi | 16,51±0,18 | 28,86±0,31 |
| El Taref | 20,35±0,13 | 28,78±0,02 |
| Ouargla | 17,20±0,05 | 14,63±0,08 |

* mg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait

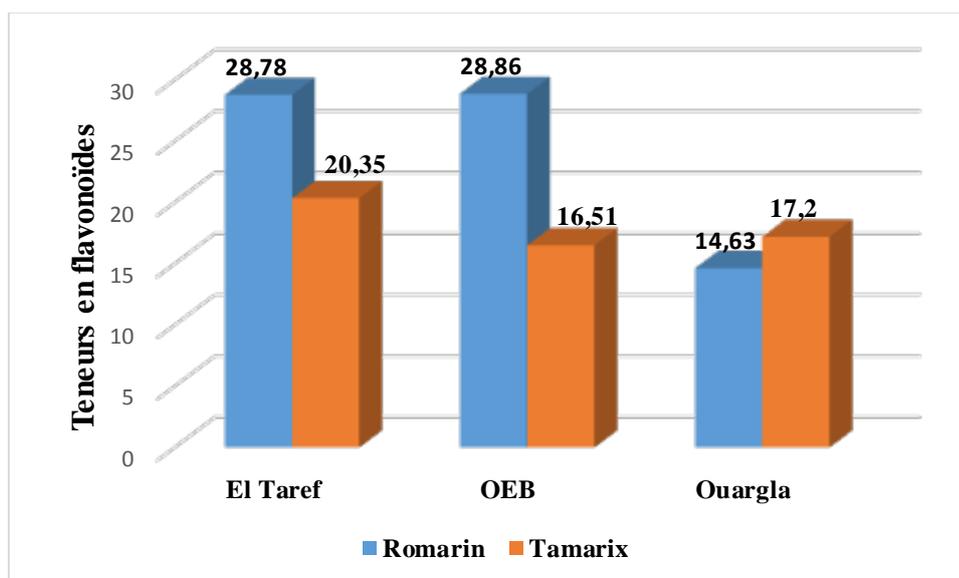


Figure 30 : Histogramme de Teneurs en flavonoïdes de l'extrait aqueux des deux plantes d'étude pour les trois sites.

Selon le tableau 20 les concentrations des flavonoïdes chez les deux plantes sont relativement faibles, dans *R. officinalis* les concentrations sont plus importante (28,78 et 28,86 mg QE / g PS), à El Taref et Oum El Bouaghi, par rapport à celles de *T. gallica* (20,35 et 16,51 mg QE / g PS). En outre, il n'y a pas une grande variation entre les trois sites d'étude.

B. Extrait acétate d'éthyle

Tableau 21 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait acétate d'éthyle des deux plantes d'étude pour les trois sites.

| Sites | Teneurs en flavonoïdes * | |
|----------------|--------------------------|-----------------------|
| | <i>T.gallica</i> | <i>R. officinalis</i> |
| Oum El Bouaghi | 62,18±0,01 | 66,2±0,19 |
| El Taref | 36,6±0,10 | 93,1±0,07 |
| Ouargla | 103,14±0,06 | 83,32±0,07 |

* mg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait

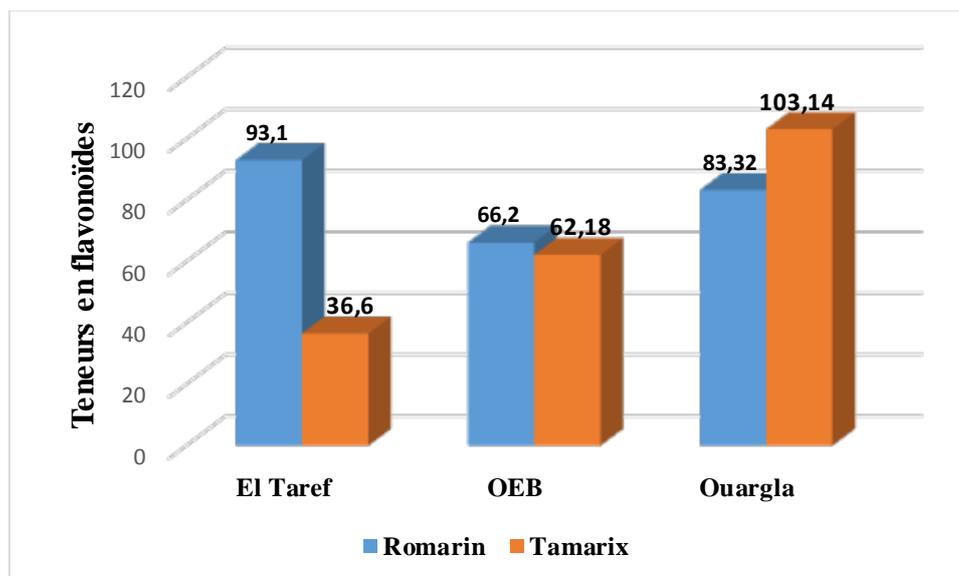


Figure 31 : Histogramme de Teneurs en flavonoïdes de l'extrait acétate d'éthyle des deux plantes d'étude pour les trois sites.

Les concentrations des flavonoïdes pour l'extrait acétate d'éthyle sont rapportées dans le tableau 21.

Les résultats révèlent une importante variation dans les concentrations des flavonoïdes entre les trois sites chez *T. gallica* avec 103,14 mg QE / g PS à Ouargla (région aride), 62,18 mg QE / g PS à Oum El Bouaghi (région semi-aride) et 36,6 0 mg QE / g PS à El Taref (région humide), cela peut être dû à des facteurs environnementaux et au comportement de la plante vis-à-vis au stress hydrique et thermique.

Pour le romarin, le site d'El Taref représente la concentration la plus importante avec 93,1 mg QE / g PS.

En comparant nos résultats avec des travaux antérieurs, on a trouvé que nos résultats sont relativement élevés par rapport aux résultats obtenus par Muchuweti et *al.* (2007) ; qui ont obtenu que la teneur en flavonoïdes de l'extrait des feuilles est de 8.83mg/g, Athamena (2008) à trouver que l'extrait brut du romarin contient 2.06 ± 1.14 mg EQ/g. Cette différence est due au choix de méthode d'extraction.

D'après les résultats de Ho et ses collaborateurs, (2008) l'extrait du romarin est riche en polyphénols (127 ± 3 mg EAG/g PS) et pauvre en flavonoïdes (20.1 ± 1.30 mg QE/g PS).

En outre, Tsai et *al.*, (2007) ont également trouvé que l'extrait méthanolique du romarin contient 60.7 ± 1.1 mg QE/g PS. Les teneurs rapportées par Ho et Tsai sont proches de nos résultats.

Le *Tamarix* est riche en composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les coumarines, les glycosides de quercétine sont abondants dans les plantes et leurs dérivés de 30-O-méthyl (isorhamnétine) ne sont pas non plus rares. Cependant, les glycosides de 40-O-méthyl Quercétine (Tamarixétine) sont rares dans la nature. Des compositions de stérols de *Tamarix gallica* ont été rapportées dans de l'extrait pétrolier

Chapitre V : Résultats et discussions

léger¹⁹. L'alcool trans-coniférylique, le sulfate de 4-O-sulfate et les sulfonoïdes flavonoïdes de certaines espèces de *Tamarix* ont été isolés. Drabu et al (2012)

Selon Chaturvedi et al (2012) les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes de *T. gallica* est estimé de 6,99 mg QE/g PS et 47,61 mg QE/g S respectivement

D'après les travaux de Boulaaba et al (2013), La quantité de polyphénols totaux était élevée dans les pousses (85 mg EAG / g PS). En plus, tirer extraits méthanoliques ont montré une quantité importante de flavonoïdes et tanins condensés, environ 10 et 7% des polyphénols totaux, respectivement. Une précédente étude a montré une très grande quantité de composés phénoliques dans les extraits de feuilles et de fleurs de *T. gallica* (Ksouri et al. 2009).

Séparément quantifiés, ces organes étaient significatifs différence. La quantité de polyphénols totaux était plus élevé en fleurs (135,3 mg EAG / g PS) que dans feuilles (34,4 mg EAG / g PS). La même tendance était observée pour la teneur en flavonoïdes, environ trois fois plus important dans les fleurs que dans les feuilles. Inversement, les extraits de feuilles contenaient plus de condensé des tanins que des tanins. Boulaaba et al (2013).

3. Identification des composés phénoliques

Pour identifier les principes actifs responsables de l'activité, la reconnaissance et la quantification des composés phénoliques ont été effectuées à l'aide de HPLC-TOF-MS analytique et les résultats sont présentés dans les tableaux 22 et 23 et exprimés en mg de phénol par kg de matière sèche.

Tableau 22: Compositions phénoliques de *R. officinalis* pour les 3 sites (W: extrait aqueux, EA: extrait acétate d'éthyle).

| Composés | W1 | W2 | W3 | EA1 | EA2 | EA3 |
|------------------------|--|-----------------|------------------|------------------|-----------------|---------------|
| | OEB | El Taref | Ouargla | OEB | El Taref | Ouargla |
| | mg de phénol par kg de poids sec de matière végétale | | | | | |
| Gallic Acid | | | | | | |
| Gentisic Acid | 4,953 | 2,025 | 20,233 | | | |
| Chlorogenic Acid | 135,152 | 31,174 | 97,451 | 6,339 | 3,084 | 0,323 |
| 4-Hydroxy Benzoic Acid | 119,621 | 39,320 | 583,822 | | | |
| Protocatechuic Acid | 14,246 | 16,941 | 12,645 | 1 | 1,402 | 0,510 |
| Caffeic Acid | 11,867 | 160,719 | 87,937 | | | |
| Vanilic Acid | | 14,015 | 26,788 | 0,934 | 1,529 | 0,515 |
| Rutin | 7,889 | 2,471 | 24,260 | | | |
| P-Coumaric Acid | | | 5,557 | | 1,461 | 0,134 |
| Chcoric Acid | | | 11,582 | 1,225 | 1,173 | |
| Ferulik Acid | 7,021 | 0,370 | 10,667 | | 3,509 | 0,498 |
| Hesperidin | 8963,114 | 5412,587 | 14679,306 | 611,031 | 348,168 | 60,900 |
| Apigenin-7-Glucoside | | | | | | |
| Rosmarinic Acid | 1587,827 | 1664,396 | 1653,592 | 1927,5692 | 1314,146 | 41,347 |
| Salisilic Acid | | | 52,754 | | | |
| Cinnamic Acid | 60,850 | | | 4,700 | | |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 23: Compositions phénoliques de *T. gallica* pour les 3 sites (W: extrait aqueux, EA: extrait acétate d'éthyle),

| Composés | E aqueux | E aqueux | E aqueux | Ac-O-Et | Ac-O-Et | Ac-O-Et |
|---------------------------------|--|-----------------|------------------|---------------|-----------------|---------------|
| | OEB | El Taref | Ouargla | OEB | El Taref | Ouargla |
| | mg de phénol par kg de poids sec de matière végétale | | | | | |
| Gallic Acid | | | | | 2966,460 | |
| Gentisic Acid | | 5,451 | 3,082 | | | |
| Chlorogenic Acid | | 136,058 | 55,251 | | | |
| 4-Hydroxy Benzoic Acid | | 57,027 | 43,791 | | | |
| Protocatechuic Acid | 16,898 | 16,627 | 16,454 | 1,363 | 2,414 | 0,624 |
| Caffeic Acid | 8,343 | 21,355 | 9,575 | | | |
| Vanilic Acid | | 25,723 | | 9,007 | 3,699 | 2,429 |
| Rutin | | 14,080 | 0,371 | | | |
| P-Coumaric Acid | | | | 11,176 | 29,721 | 70,3052 |
| Chcoric Acid | | | | 1,687 | 1,636 | 0,576 |
| Ferulik Acid | | 8,998 | 2,042 | 0,692 | 6,788 | 0,452 |
| Hesperidin | 3752,284 | 6369,896 | 11194,851 | 0,257 | | 2,369 |
| Apigenin-7-Glucoside | | | | 18,638 | 75,923 | 66,395 |
| Rosmarinic Acid | 8,298 | 1778,545 | 1943,175 | | | 0,919 |
| Protocatechuic Acid Ethyl Ester | | | | 7,884 | | |
| Resveratrol | | | | 24,961 | | |
| quercetin | | | | | | 13,846 |
| kaempferol | | | | 0,744 | 7,053 | 0,150 |
| Cinnamic Acid | 70,272 | 66,999 | 191,415 | | 1,403 | 2,431 |

Bien que les contenus phénoliques de *T. gallica* soient peu documentés, la littérature est comparativement riche en rapports traitant de *R. officinalis*. Les rapports précédents indiquaient clairement la dépendance drastique de ces contenus chimiques avec leurs origines géographiques. Par exemple, mais pas exclusivement, l'extrait sec éthanolique du roumain *R. officinalis* contient: 3,22% de flavonoïdes (exprimés en rutine), 34,30% d'acides phénolcarboxyliques (exprimés en acide chlorogénique), 31,86% de phénols totaux (exprimés en acide tannique) et 3,29% ; acide rosmarinique (Gîrd et al., 2017). S, Tavassoli et Z, Emam Djomeh en Iran (Tavassoli et al., 2011) ont trouvé que les composés phénoliques totaux étaient de $4,99 \pm 0,054$ g sous forme d'acide gallique / 100 g de feuilles sèches,

4, Activité antiproliférative :

4,2, Activité antiproliférative contre les cellules Hella

Un analyseur cellulaire en temps réel (RTCA-SP) (Roche Applied Science, Bâle, Suisse) a été utilisé pour analyser les effets de prolifération des extraits d'acétate d'éthyle et aqueux et des huiles essentielles de *T. gallica* et de *R. officinalis* sur le cancer cervical humain, cellules Hella. Une nouvelle gamme de capteurs de cellules électroniques, la xCELLigence RTCA, a été utilisée avec une méthode publiée récemment à des concentrations de 250, 100 et 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$,

L'effet antiprolifératif des extraits a été calculé sur des lignées cellulaires Hella à 50, 100 et 250 $\mu\text{g} / \text{ml}$ au moyen d'une procédure d'analyse de cellules en temps réel. Le système a quantifié la différence d'impédance afin de déterminer les valeurs d'indice de cellule (IC) à des moments précis où les périodes pourraient être définies par l'opérateur. Ces dissemblances d'impédance et donc les valeurs de IC dépendaient de l'activité cellulaire à la base des puits (Isik et al., 2012). CI est un paramètre sans dimension résultant d'un changement relatif de l'impédance électrique mesurée pour représenter l'état de la cellule. Si elle diminue, cela nous montre que les cellules cancéreuses meurent,

4,2,2, *Rosmarinus officinalis* :

A, Activité antiproliférative de l'HE

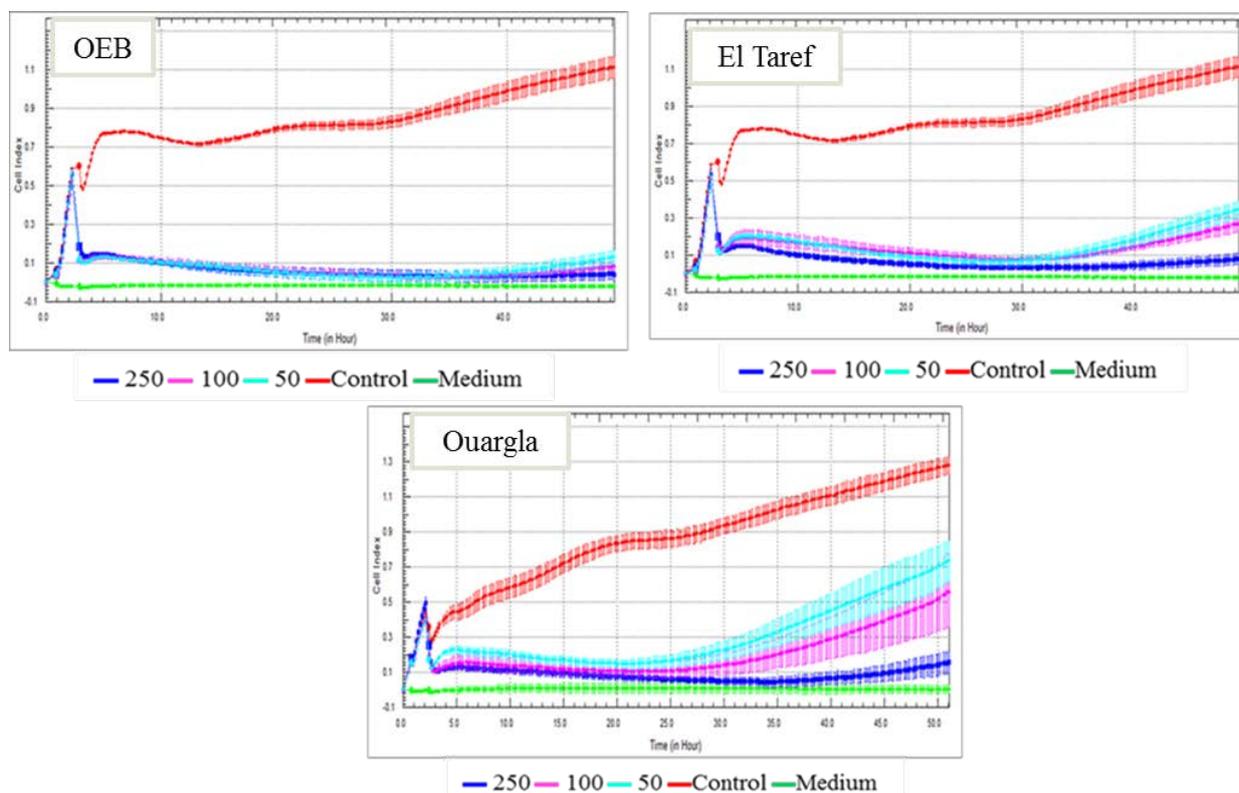


Figure 32: Activité antiproliférative de l'HE de *R.officinalis* pour les trois sites

L'HE de *R. officinalis* prélevé sur les sites 1et 2 a de bons effets antiprolifératifs pour les trois doses,

Pour le site 3 l'huile essentielle à un effet positif sur les cellules cancéreuses pour les trois doses durant 36 h au-delà les cellules cancéreuses réapparaît (Figure 32),

B. Activité antiproliférative de l'extrait aqueux

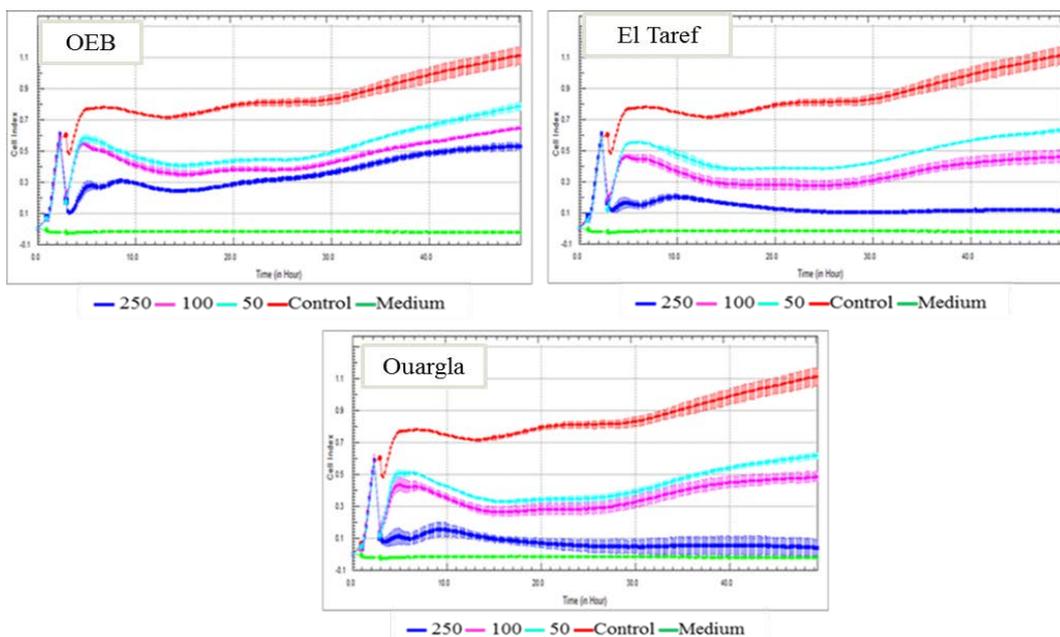


Figure 33: Activité antiproliférative de l'extrait aqueux de *R. officinalis* pour les trois sites

Aucun effet n'était évident sur les cellules cancéreuses de Hella à 50 et 100 µg / ml pour les trois extraits, À 250 µg / ml, il y avait un effet modéré pour l'échantillon 2, tandis que l'échantillon 3 présentait l'activité la plus importante, Cela se voit à travers le comportement de la courbe bleue vis-à-vis du support (Figure 33),

C. Activité antiproliférative de l'extrait acétate d'éthyle

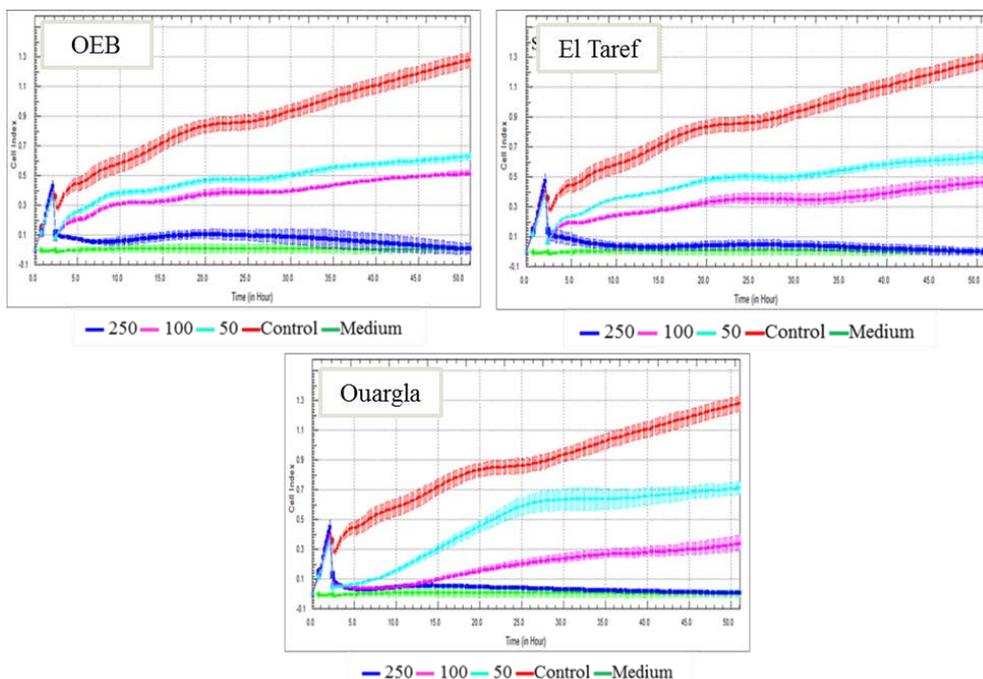


Figure 34: Activité antiproliférative de l'extrait acétate d'éthyle de *R. officinalis* pour les trois sites

Chapitre V : Résultats et discussions

Pour l'extrait d'acétate d'éthyle de *R. officinalis* prélevé sur les trois sites, il existe un effet sur les cellules cancéreuses à une dose élevée (250 µg / mL) (Figure 34),

Les travaux entrepris pour l'étude de *R. officinalis* confirment ses usages en phytothérapie comme "cholérétique", et "facilitant les fonctions d'éliminations rénales et digestives», Ils confirment aussi son action antirhumatismales ainsi que l'action des jeunes pousses dans les insuffisances hépatique, (Vigneron, 1994),

En ce qui concerne les propriétés anticancéreuses du Romarin, malgré un nombre croissant de travaux expérimentaux, l'information sur les effets chimio-protecteurs ou antiprolifératifs des cellules cancéreuses est très pauvre, en particulier sur le mécanisme d'action (Cattaneo et al., 2015),

D'après les travaux de Bendif, (2017), les huiles essentielles de *R. eriocalyx* se sont avérées légèrement cytotoxiques contre toutes les lignées cellulaires humaines (MDA-MB 231 : adénocarcinome mammaire, A375 : mélanome malin et T98G : glioblastome multiforme) En revanche, les extraits éthanoliques de *R. eriocalyx*, ont affecté la prolifération des cellules cancéreuses humaines examinées,

Tai et al ont étudié l'activité antiproliférative d'un extrait de Romarin sur le cancer de l'ovaire humain A2780 et sa lignée cellulaire fille résistante au cisplatine A2780CP70, L'extrait de Romarin a renforcé l'effet antiprolifératif du cisplatine à la fois sur les cellules A2780 et A2780CP70, Les cellules A2780 étaient toujours plus sensibles au carnosol, à l'acide carnosique et à l'acide rosmarinique que les cellules A2780CP70 entre 2,5 et 20 µg/ml, (Leplat, 2017)

Cattaneo et al, ont étudié l'activité antiproliférative d'un extrait hydroalcoolique à 65% (v/v) de *Rosmarinus officinalis* sur la lignée cellulaire A375 de mélanome humain, généralement très résistante aux agents cytotoxiques, L'extrait de Romarin est capable de réduire efficacement, d'une manière temps- et dose-dépendante la prolifération de cette lignée cellulaire, (Leplat, 2017)

Treize extraits hydroalcooliques de plantes comestibles de l'Italie du Sud ont été testés *in vitro* pour leurs activités antioxydante et antiproliférative sur trois lignées cellulaires de cancer humain : cancer du sein MCF-7, cancer hépatique HepG2 et cancer colorectal LoVo, Presque tous les échantillons inhibent significativement la prolifération cellulaire comparée aux cellules non traitées, La plus grande activité inhibitrice a été montrée par l'extrait hydroalcoolique de *R. officinalis* L, qui induit 95% d'inhibition de la viabilité cellulaire sur les cellules LoVo et 63% sur la lignée cellulaire HepG2, Après 48 h d'incubation, l'extrait de plante le plus actif sur la lignée cellulaire LoVo était le Romarin (contenant le plus grand nombre de terpènes), Cette espèce montre une activité antiproliférative sur la lignée cellulaire d'hépatocarcinome HepG2,

Les auteurs de cette étude ont conclu que le Romarin pouvait être une source intéressante de principes antiprolifératif et antioxydant,

L'acide carnosique, le carnosol et les triterpènes isolés du Romarin font l'objet de nombreuses études *in vitro* (Jung et al., 2015 ; Kapoor et al., 2013) et *in vivo* (Petiwala et al., 2015), Dans l'ensemble, les résultats semblent prometteurs,

4,2,1 *Tamarix gallica*:

A, Activité antiproliférative de l'HE

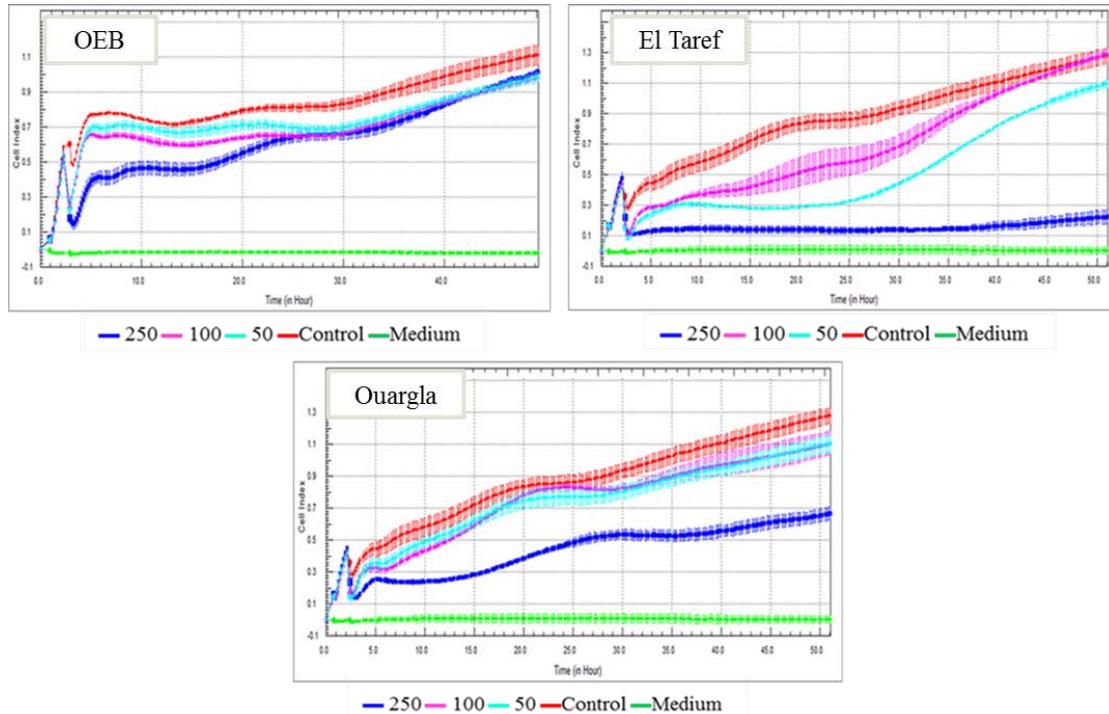


Figure 35: Activité antiproliférative de l'HE de *T. gallica* pour les trois sites

L'huile essentielle de *T. gallica* prélevé sur le site 1(Oum El Bouaghi) n'a aucun effet sur les cellules cancéreuses pour les trois doses, Pour celle prélevé sur le site 2 (El Taref) n'a aucun effet sur les cellules cancéreuses à faible dose 50 µg/ ml et 100 µg/ ml, A une dose de 250 µg les cellules cancéreuses disparaissent et réapparaissent au-delà de 48h,

L'huile essentielle de *T. gallica* prélevé sur le site 3 (Ouargla) n'a aucun effet sur les cellules cancéreuses à faible dose 50 µg/ ml et 100 µg/ ml et elle a un léger effet à 250 µg/ ml (Figure 35),

B, Activité antiproliférative de l'extrait aqueux

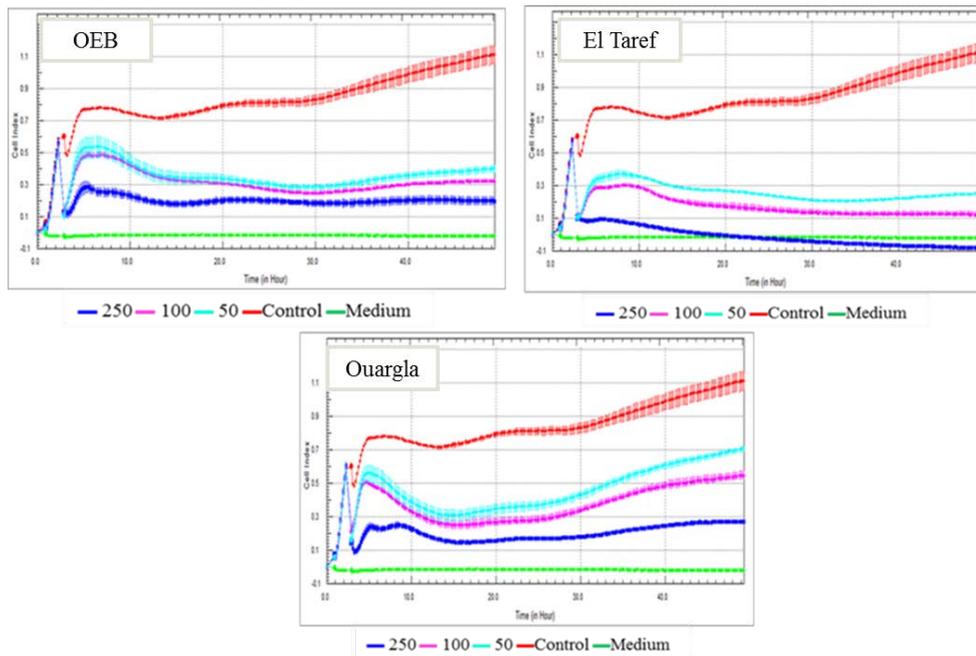


Figure 36 : Activité antiproliférative de l'extrait aqueux de *T. gallica* pour les trois sites

Pour l'extrait aqueux de *T. gallica*, il y a un bon effet sur les cellules cancéreuses, en particulier à forte dose (250 µg/ml) pour le site 2, Au contraire, presque aucun effet n'est observé pour les deux sites 1 et 3 avec l'augmentation du temps (Figure 36),

C, Activité antiproliférative de l'extrait acétate d'éthyle

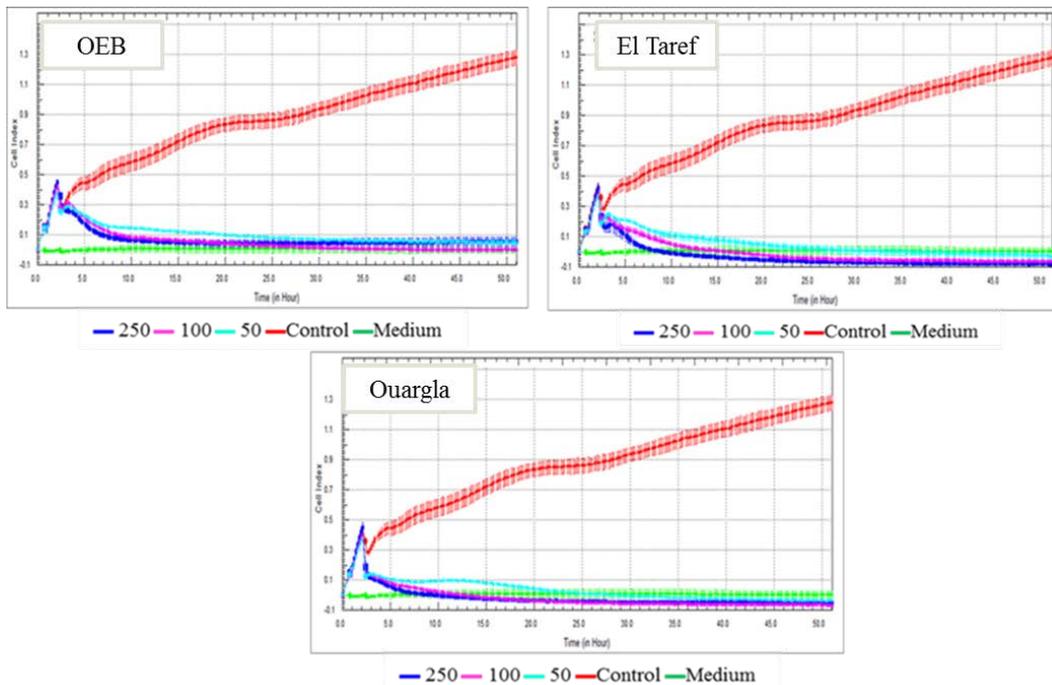


Figure 37 : Activité antiproliférative de l'extrait acétate d'éthyle de *T. gallica* pour les trois sites

Chapitre V : Résultats et discussions

Pour les extraits à l'acétate d'éthyle de *T. gallica*, de bons effets antiprolifératifs ont été observés à différentes concentrations, Il semble que les échantillons des sites 2 et 3 affichent une bonne activité en diminuant l'indice cellulaire (figure 37),

Des rapports antérieurs ont indiqué l'effet anticancéreux de *T. gallica* sur les cellules cancéreuses du côlon humain et les mécanismes primaires possibles, À 50 et 100 µg / ml, les extraits de pousses, de feuilles et de fleurs ont considérablement inhibé la croissance des cellules Caco-2, Par exemple, approximativement toutes les parties de la plante extraient la croissance cellulaire de 62% à la concentration de 100 µg / ml, Les résultats de la coloration au DAPI montrent que ces extraits réduisent la synthèse de l'ADN et prouvent leur effet sur la prolifération des cellules Caco-2, principalement à 100 µg / ml, Plus important encore, la mitose cellulaire a été arrêtée lors de la phase G2 / M, Les altérations des protéines associées au cycle cellulaire (cycline B1, p38, Erk1 / 2, Chk1 et Chk2) sont corrélées aux modifications de la distribution du cycle cellulaire (Boulaaba et al., 2013),

4,2, Activité antiproliférative contre les cellules C6 :

Les activités antiprolifératives des extraits aqueux et d'acétate d'éthyle contre les cellules C6 sont présentées par les figures 38 à 41, Chaque substance a été testée deux fois en triplicata contre des lignées cellulaires, Les données montrent la moyenne de deux expériences individuelles ($p < 0,01$),

4,2,1, *Rosmarinus officinalis*

A, Extrait aqueux

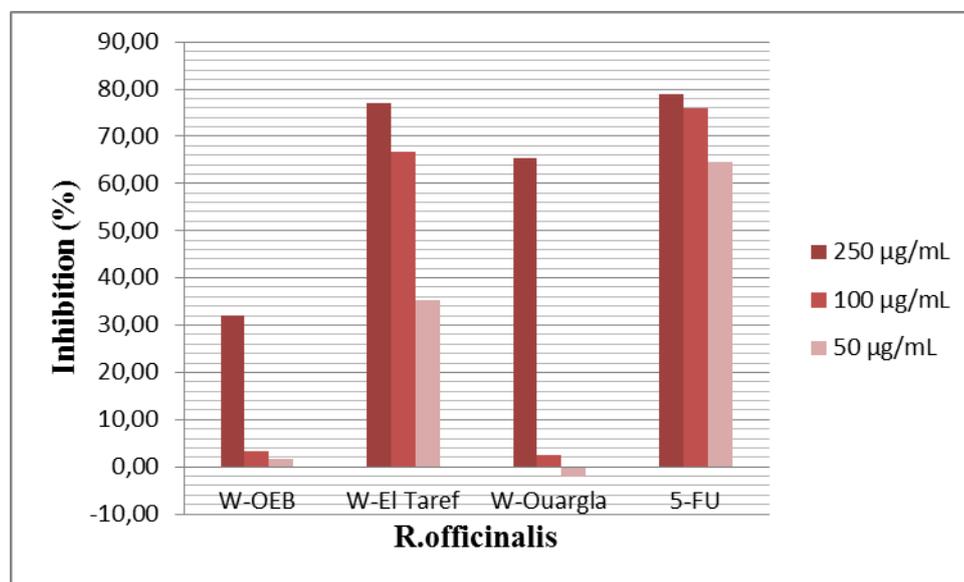


Figure 38 : Activité antiproliférative des extraits aqueux de *R.officinalis* contre les cellules C6

Les activités anti-prolifératives de W-OEB, W-El Taref, W-Ouargla et 5-FU ont été déterminées contre les cellules C6, Les valeurs IC50 et IC75 des extraits sont données dans le tableau 24, L'activité anti-proliférative de tous les extraits aqueux a montré une augmentation

Chapitre V : Résultats et discussions

des activités en fonction de l'augmentation de la dose contre les cellules C6 (figure 38), Il a été déterminé que les extraits d'eau W-OEB et W-Ouargla présentaient une activité anti-proliférative relativement élevée contre les cellules C6 à une concentration de 250 µg / ml, W-El Taref a une bonne activité anti-proliférative par rapport au composé standard à la fois à 100 et 250 µg / ml, La puissance des inhibitions (à 100 µg / ml) contre les cellules C6 était la suivante: 5-FU> W2> W3> W1,

Tableau 24: IC₅₀ et IC₇₅ des extraits aqueux de *R.officinalis* contre les cellules C6

| | W1-OEB | W2-El Taref | W3-Ouargla |
|------------------|--------|-------------|------------|
| IC ₅₀ | 156,08 | 14,20 | 163,47 |
| IC ₇₅ | 205,86 | 122,97 | 209,40 |

B, Extrait Acétate d'éthyle

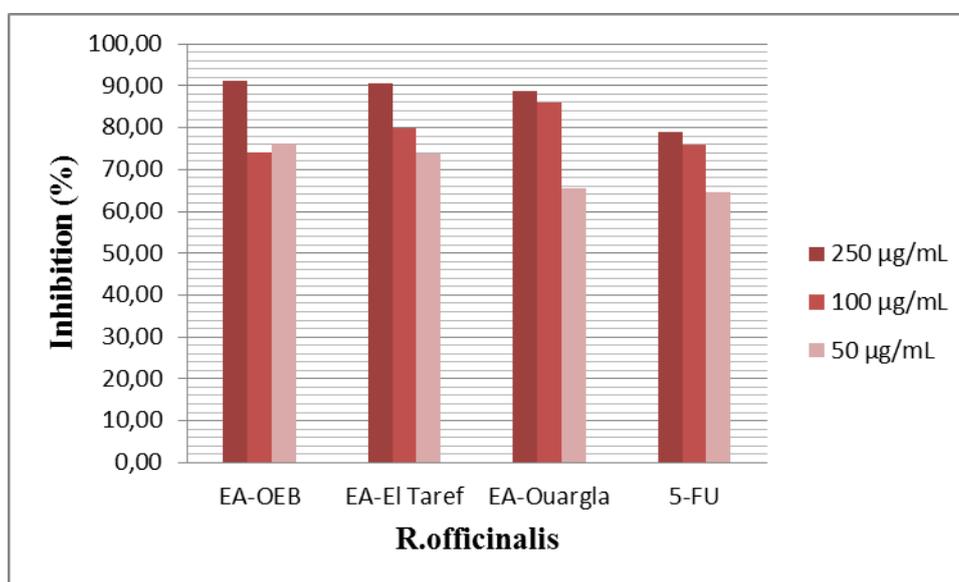


Figure 39: Activités antiprolifératives des extraits acétate d'éthyle de *R.officinalis* contre les cellules C6,

Les activités antiprolifératives de EA-OEB, EA-El Taref, EA-Ouargla et 5-FU ont été déterminées contre des cellules C6, Les activités antiprolifératives de tous les extraits ont montré une augmentation des activités en fonction de l'augmentation de la dose contre les cellules C6 (figure 39), Il a été déterminé que EA-OEB, EA-El Taref et EA-Ouargla avaient les activités antiprolifératives supérieures à celles du 5-FU contre les cellules C6 à des concentrations de 50 et 100 µg / ml (figure 1), La puissance des inhibitions (à 100 µg / ml) contre les cellules C6 était: EA-OEB> EA-El Taref > EA-Ouargla> 5-FU, On conclut que les échantillons prélevés des trois sites ont les mêmes effets sur les cellules cancéreuses pour l'extrait acétate d'éthyle,

4,2,1, *Tamarix gallica* :

A, Extrait aqueux

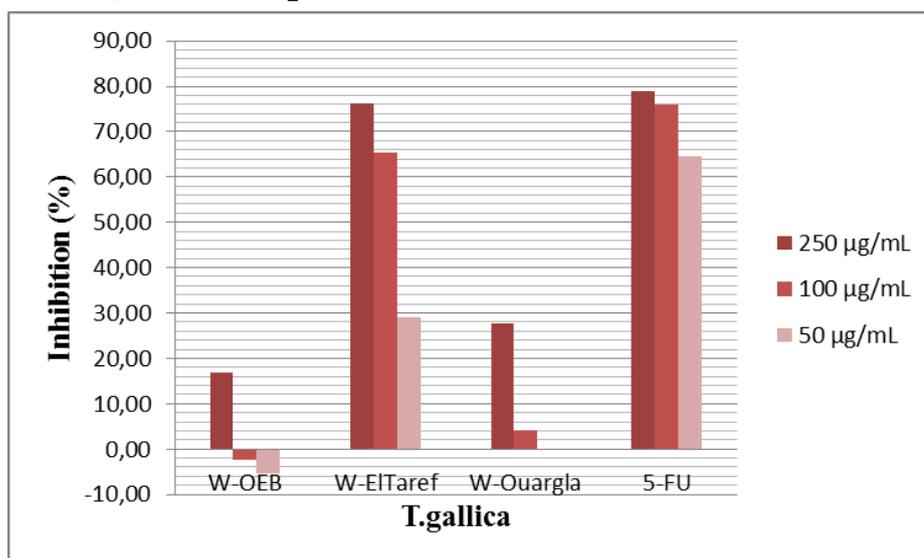


Figure 40 : Activité antiproliférative des extraits aqueux de *T.gallica* contre les cellules C6

L'activité antiproliférative de W-OEB, W-El Taref, W-Ouargla et 5-FU a été déterminée contre les cellules C6 et a augmenté avec l'augmentation de la dose (figure 40), L'échantillon W-El Taref présente une puissance relativement élevée à 250 µg / ml, W-El Taref a presque la même activité avec le taux de réfraction à 100 et 250 µg / ml, Le pourcentage d'inhibition (à 250 µg / ml) était dans l'ordre: 5-FU> W-El Taref> W-Ouargla> W-OEB, Les valeurs IC₅₀ et IC₇₅ sont données dans le tableau 25,

On peut déduire que les échantillons prélevés d'El Taref (région humide), pour l'extrait aqueux de *T.gallica*, ont une forte activité anticancéreuse,

Tableau 25: IC₅₀ et IC₇₅ des extraits aqueux de *T.gallica* contre les cellules C6

| | W1-OEB | W2-El Taref | W3-Ouargla |
|------------------|--------|-------------|------------|
| IC ₅₀ | 180,39 | 38,39 | 156,19 |
| IC ₇₅ | 216,85 | 134,60 | 204,50 |

B, Extrait Acétate d'éthyle

Les activités anti-prolifératives des EA-OEB, EA-El Taref, EA-Ouargla et 5-FU ont été déterminées par rapport aux cellules C6, Les activités anti-prolifératives de tous les extraits ont montré une augmentation des activités avec une augmentation de la dose contre les cellules C6, EA-El Taref, EA-Ouargla, ont des activités antiprolifératives supérieures à celles du 5-FU contre les cellules C6 à des concentrations de 50 et 100 µg / ml (figure 41), Cependant, EA-OEB présente une meilleure activité antiproliférative par rapport au composé standard à une concentration de 50 µg / ml, La puissance des inhibitions (à 100 µg / ml) contre les cellules C6 était la suivante: EA-Ouargla ~ EA-El Taref> 5-FU> EA-OEB,

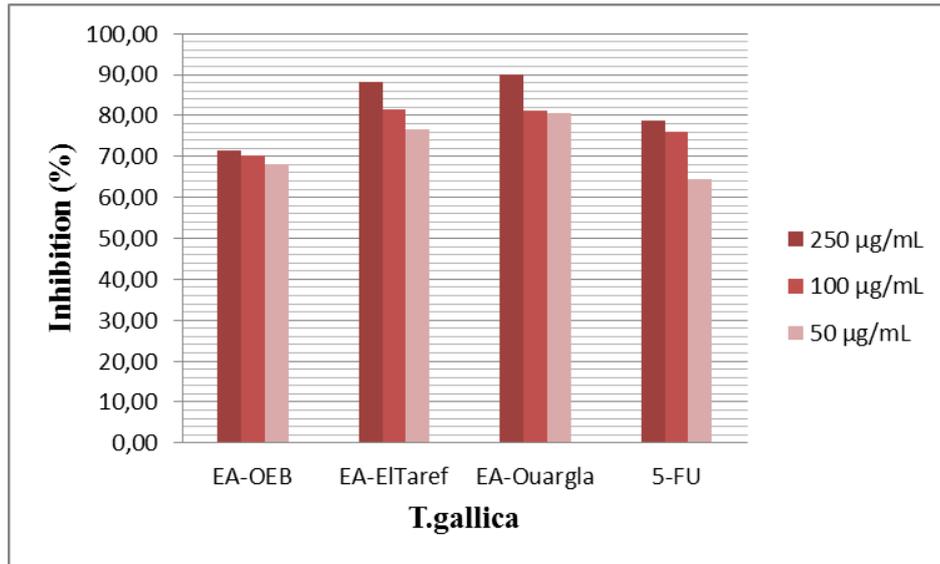


Figure 41: Activités antiprolifératives des extraits acétate d'éthyle de *T.gallica* contre les cellules C6,

5, Analyse statistique de l'activité antiproliférative :

Dans ce volet nous présenterons les principaux résultats statistiques obtenus pour l'activité antiproliférative (Hella CELL) des deux plantes d'études au niveau des trois sites,

On a procédé à comparer les moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station à l'aide du test de la variance à un critère de classification ANOVA, le Test de Tukey et le test de Dunnett,

5,1, Description des données

Les tableaux (26 à 43), présentent par plante et par extrait les résultats de la description des données, à savoir la moyenne (\bar{X}), l'écart-type (s) et les valeurs minimales (Xmin) et maximales (Xmax), Ces résultats permettent d'observer la variation de la moyenne de chacune des deux plantes pour les 3 extraits (l'huiles essentielle, extrait aqueux et extrait acétate d'éthyle) pour chacune des trois sites d'étude,

Les moyennes par variable sont comparées entre les 05 doses pour le même temps et la même station à l'aide du test de l'analyse de la variance à un critère de classification ANOVA,

Chapitre V : Résultats et discussions

5,1,1, Plante1 : *Rosmarinus officinalis* :

➤ Les huiles essentielles

Tableau 26 : Statistiques descriptives des données relatives à l'HE de *R. officinalis* site 1,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| HE P1 S1 T1 | D1 | 3 | 0,075 | 0,025 | 0,048 | 0,098 |
| | D2 | 3 | 0,089 | 0,017 | 0,078 | 0,109 |
| | D3 | 3 | 0,254 | 0,284 | 0,078 | 0,581 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,016 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,010 | 0,010 | -0,022 | -0,003 |
| HE P1 S1 T2 | D1 | 3 | 0,040 | 0,032 | 0,006 | 0,070 |
| | D2 | 3 | 0,044 | 0,019 | 0,031 | 0,066 |
| | D3 | 3 | 0,030 | 0,025 | 0,002 | 0,051 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,022 | 0,786 | 0,831 |
| | D5 | 3 | -0,012 | 0,008 | -0,020 | -0,003 |
| HE P1 S1 T3 | D1 | 3 | 0,033 | 0,032 | -0,003 | 0,058 |
| | D2 | 3 | 0,043 | 0,016 | 0,032 | 0,062 |
| | D3 | 3 | 0,044 | 0,031 | 0,008 | 0,067 |
| | D4 | 3 | 0,969 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,008 | 0,009 | -0,020 | -0,002 |
| HE P1 S1 T4 | D1 | 3 | 0,044 | 0,031 | 0,008 | 0,067 |
| | D2 | 3 | 0,092 | 0,020 | 0,080 | 0,116 |
| | D3 | 3 | 0,132 | 0,035 | 0,092 | 0,161 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

Tableau 27: Statistiques descriptives des données relatives à l'HE de *R. officinalis* site 2,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| HE P1 S2 T1 | D1 | 3 | 0,073 | 0,018 | 0,053 | 0,088 |
| | D2 | 3 | 0,142 | 0,036 | 0,120 | 0,184 |
| | D3 | 3 | 0,126 | 0,011 | 0,118 | 0,139 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,016 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,010 | 0,010 | -0,022 | -0,003 |
| HE P1 S2 T2 | D1 | 3 | 0,037 | 0,018 | 0,018 | 0,054 |
| | D2 | 3 | 0,086 | 0,015 | 0,074 | 0,104 |
| | D3 | 3 | 0,065 | 0,022 | 0,048 | 0,091 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,022 | 0,786 | 0,831 |
| | D5 | 3 | -0,012 | 0,008 | -0,020 | -0,003 |
| HE P1 S2 T3 | D1 | 3 | 0,043 | 0,024 | 0,016 | 0,063 |
| | D2 | 3 | 0,141 | 0,023 | 0,121 | 0,167 |
| | D3 | 3 | 0,168 | 0,039 | 0,143 | 0,212 |
| | D4 | 3 | 0,969 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,008 | 0,009 | -0,020 | -0,002 |
| HE P1 S2 T4 | D1 | 3 | 0,079 | 0,030 | 0,044 | 0,097 |
| | D2 | 3 | 0,278 | 0,047 | 0,238 | 0,331 |
| | D3 | 3 | 0,344 | 0,047 | 0,314 | 0,398 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 28 : Statistiques descriptives des données relatives à l'HE de *R. officinalis* site 3,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-------------|-------|---|-------|------------|--------|-------|
| HE P1 S3 T1 | D1 | 3 | 0,097 | 0,024 | 0,069 | 0,115 |
| | D2 | 3 | 0,185 | 0,108 | 0,095 | 0,305 |
| | D3 | 3 | 0,170 | 0,025 | 0,147 | 0,197 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0,642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| HE P1 S3 T2 | D1 | 3 | 0,059 | 0,021 | 0,034 | 0,074 |
| | D2 | 3 | 0,221 | 0,177 | 0,085 | 0,420 |
| | D3 | 3 | 0,179 | 0,041 | 0,147 | 0,226 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,50 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| HE P1 S3 T3 | D1 | 3 | 0,059 | 0,036 | 0,028 | 0,099 |
| | D2 | 3 | 0,413 | 0,265 | 0,189 | 0,706 |
| | D3 | 3 | 0,414 | 0,095 | 0,331 | 0,518 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| HE P1 S3 T4 | D1 | 3 | 0,151 | 0,065 | 0,092 | 0,222 |
| | D2 | 3 | 0,698 | 0,301 | 0,404 | 1,005 |
| | D3 | 3 | 0,714 | 0,120 | 0,615 | 0,848 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

➤ **Extrait aqueux**

Tableau 29 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait aqueux de

R. officinalis site 1,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| EXT Aq P1 S1 T1 | D1 | 3 | 0,247 | 0,011 | 0,234 | 0,254 |
| | D2 | 3 | 0,355 | 0,020 | 0,343 | 0,378 |
| | D3 | 3 | 0,406 | 0,018 | 0,709 | 0,423 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,016 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,010 | 0,010 | -0,022 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S1 T2 | D1 | 3 | 0,332 | 0,017 | 0,312 | 0,343 |
| | D2 | 3 | 0,392 | 0,016 | 0,376 | 0,408 |
| | D3 | 3 | 0,450 | 0,013 | 0,441 | 0,466 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,022 | 0,786 | 0,813 |
| | D5 | 3 | -0,012 | 0,009 | -0,020 | -0,002 |
| EXT Aq P1 S1 T3 | D1 | 3 | 0,477 | 0,021 | 0,453 | 0,492 |
| | D2 | 3 | 0,549 | 0,014 | 0,533 | 0,559 |
| | D3 | 3 | 0,648 | 0,017 | 0,632 | 0,667 |
| | D4 | 3 | 0,969 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,008 | 0,009 | -0,020 | 0,002 |
| EXT Aq P1 S1 T4 | D1 | 3 | 0,531 | 0,026 | 0,500 | 0,546 |
| | D2 | 3 | 0,615 | 0,056 | 0,550 | 0,651 |
| | D3 | 3 | 0,784 | 0,026 | 0,764 | 0,813 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 30 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait aqueux de
R. officinalis site 2,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| EXT Aq P1 S2 T1 | D1 | 3 | 0,155 | 0,008 | 0,147 | 0,164 |
| | D2 | 3 | 0,282 | 0,033 | 0,260 | 0,321 |
| | D3 | 3 | 0,387 | 0,016 | 0,374 | 0,405 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,016 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,10 | 0,010 | -0,022 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S2 T2 | D1 | 3 | 0,107 | 0,008 | 0,098 | 0,114 |
| | D2 | 3 | 0,287 | 0,030 | 0,256 | 0,318 |
| | D3 | 3 | 0,392 | 0,001 | 0,390 | 0,393 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,022 | 0,186 | 0,831 |
| | D5 | 3 | -0,12 | 0,008 | -0,020 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S2 T3 | D1 | 3 | 0,116 | 0,012 | 0,102 | 0,125 |
| | D2 | 3 | 0,419 | 0,035 | 0,379 | 0,447 |
| | D3 | 3 | 0,552 | 0,005 | 0,546 | 0,557 |
| | D4 | 3 | 0,969 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,008 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S2 T4 | D1 | 3 | 0,118 | 0,011 | 0,105 | 0,127 |
| | D2 | 3 | 0,465 | 0,044 | 0,418 | 0,505 |
| | D3 | 3 | 0,631 | 0,013 | 1,042 | 1,145 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

Tableau 31: Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait aqueux de
R. officinalis site 3,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| EXT Aq P1 S3 T1 | D1 | 3 | 0,101 | 0,024 | 0,073 | 0,118 |
| | D2 | 3 | 0,271 | 0,30 | 0,240 | 0,300 |
| | D3 | 3 | 0,335 | 0,012 | 0,323 | 0,349 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,016 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,010 | 0,010 | -0,022 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S3 T2 | D1 | 3 | 0,052 | 0,042 | 0,004 | 0,085 |
| | D2 | 3 | 0,300 | 0,039 | 0,267 | 0,344 |
| | D3 | 3 | 0,356 | 0,020 | 0,333 | 0,373 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,022 | 0,786 | 0,831 |
| | D5 | 3 | -0,012 | 0,008 | -0,020 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S3 T3 | D1 | 3 | 0,057 | 0,058 | -0,006 | 0,107 |
| | D2 | 3 | 0,446 | 0,038 | 0,410 | 0,487 |
| | D3 | 3 | 0,529 | 0,017 | 0,514 | 0,548 |
| | D4 | 3 | 0,969 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,008 | 0,009 | -0,020 | -0,002 |
| EXT Aq P1 S3 T4 | D1 | 3 | 0,042 | 0,051 | -0,013 | 0,086 |
| | D2 | 3 | 0,488 | 0,034 | 0,463 | 0,527 |
| | D3 | 3 | 0,617 | 0,021 | 0,597 | 0,639 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

Chapitre V : Résultats et discussions

➤ Extrait acétate d'éthyle

Tableau 32 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait acétate d'éthyle de *R. officinalis* site 1,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|-------|------------|--------|-------|
| EXT EA P1 S1 T1 | D1 | 3 | 0,089 | 0,030 | 0,0705 | 0,124 |
| | D2 | 3 | 0,33 | 0,014 | 0,313 | 0,339 |
| | D3 | 3 | 0,407 | 0,019 | 0,386 | 0,423 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0,642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| EXT EA P1 S1 T2 | D1 | 3 | 0,096 | 0,041 | 0,068 | 0,144 |
| | D2 | 3 | 0,392 | 0,019 | 0,371 | 0,411 |
| | D3 | 3 | 0,475 | 0,021 | 0,450 | 0,487 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,050 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| EXT EA P1 S1 T3 | D1 | 3 | 0,059 | 0,058 | 0,016 | 0,126 |
| | D2 | 3 | 0,328 | 0,244 | 0,047 | 0,474 |
| | D3 | 3 | 0,569 | 0,020 | 0,550 | 0,591 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| EXT EA P1 S1 T4 | D1 | 3 | 0,009 | 0,040 | -0,020 | 0,055 |
| | D2 | 3 | 0,515 | 0,021 | 0,495 | 0,539 |
| | D3 | 3 | 0,623 | 0,025 | 0,598 | 0,648 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

Tableau 33 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait acétate d'éthyle de *R. officinalis* site 2,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|-------|------------|--------|-------|
| EXT EA P1 S2 T1 | D1 | 3 | 0,045 | 0,042 | 0,017 | 0,093 |
| | D2 | 3 | 0,278 | 0,013 | 0,266 | 0,293 |
| | D3 | 3 | 0,296 | 0,009 | 0,387 | 0,406 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0,642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| EXT EA P1 S2 T2 | D1 | 3 | 0,050 | 0,033 | 0,019 | 0,085 |
| | D2 | 3 | 0,359 | 0,036 | 0,332 | 0,400 |
| | D3 | 3 | 0,497 | 0,026 | 0,472 | 0,524 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,050 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| EXT EA P1 S2 T3 | D1 | 3 | 0,026 | 0,032 | -0,006 | 0,057 |
| | D2 | 3 | 0,384 | 0,042 | 0,353 | 0,433 |
| | D3 | 3 | 0,572 | 0,022 | 0,557 | 0,598 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| EXT EA P1 S2 T4 | D1 | 3 | 0,001 | 0,023 | -0,022 | 0,024 |
| | D2 | 3 | 0,468 | 0,038 | 0,431 | 0,508 |
| | D3 | 3 | 0,662 | 0,033 | 0,324 | 0,688 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 34 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait acétate d'éthyle de *R. officinalis* site 3,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|-------|------------|--------|-------|
| EXT EA P1 S3 T1 | D1 | 3 | 0,053 | 0,025 | 0,024 | 0,072 |
| | D2 | 3 | 0,095 | 0,012 | 0,080 | 0,102 |
| | D3 | 3 | 0,285 | 0,027 | 0,268 | 0,316 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0,642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| EXT EA P1 S3 T2 | D1 | 3 | 0,040 | 0,012 | 0,026 | 0,050 |
| | D2 | 3 | 0,249 | 0,066 | 0,192 | 0,323 |
| | D3 | 3 | 0,611 | 0,064 | 0,565 | 0,684 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,050 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| EXT EA P1 S3 T3 | D1 | 3 | 0,023 | 0,010 | 0,012 | 0,030 |
| | D2 | 3 | 0,280 | 0,034 | 0,241 | 0,307 |
| | D3 | 3 | 0,644 | 0,060 | 0,598 | 0,713 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| EXT EA P1 S3 T4 | D1 | 3 | 0,010 | 0,007 | 0,001 | 0,015 |
| | D2 | 3 | 0,340 | 0,052 | 0,279 | 0,376 |
| | D3 | 3 | 0,687 | 0,066 | 0,625 | 0,758 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

5,1,2, Plante2 : *Tamarix gallica* :

➤ Les huiles essentielles

Tableau 35 : Statistiques descriptives des données relatives à l'HE de *T. gallica* site 1

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| HE P1 S1 T1 | D1 | 3 | 0,461 | 0,035 | 0,425 | 0,497 |
| | D2 | 3 | 0,602 | 0,016 | 0,583 | 0,614 |
| | D3 | 3 | 0,670 | 0,030 | 0,648 | 0,704 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,016 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,010 | 0,010 | -0,022 | -0,003 |
| HE P1 S1 T2 | D1 | 3 | 0,654 | 0,032 | 0,624 | 0,688 |
| | D2 | 3 | 0,653 | 0,015 | 0,641 | 0,670 |
| | D3 | 3 | 0,686 | 0,025 | 0,671 | 0,716 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,022 | 0,786 | 0,831 |
| | D5 | 3 | -0,012 | 0,008 | -0,020 | -0,003 |
| HE P1 S1 T3 | D1 | 3 | 0,801 | 0,017 | 0,790 | 0,822 |
| | D2 | 3 | 0,827 | 0,018 | 0,808 | 0,844 |
| | D3 | 3 | 0,834 | 0,021 | 0,819 | 0,859 |
| | D4 | 3 | 0,969 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |
| HE P1 S1 T4 | D1 | 3 | 1,012 | 0,017 | 0,992 | 1,026 |
| | D2 | 3 | 0,988 | 0,025 | 0,961 | 1,011 |
| | D3 | 3 | 0,982 | 0,029 | 0,953 | 1,012 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 36 : Statistiques descriptives des données relatives à l'HE de *T. gallica* site 2,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-------------|-------|---|-------|------------|--------|-------|
| HE P1 S2 T1 | D1 | 3 | 0,144 | 0,026 | 0,118 | 0,170 |
| | D2 | 3 | 0,364 | 0,095 | 0,262 | 0,452 |
| | D3 | 3 | 0,310 | 0,048 | 0,278 | 0,366 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0,642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| HE P1 S2 T2 | D1 | 3 | 0,137 | 0,021 | 0,112 | 0,155 |
| | D2 | 3 | 0,512 | 0,172 | 0,326 | 0,666 |
| | D3 | 3 | 0,410 | 0,104 | 0,341 | 0,530 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,050 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| HE P1 S2 T3 | D1 | 3 | 0,155 | 0,027 | 0,136 | 0,187 |
| | D2 | 3 | 0,883 | 0,186 | 0,670 | 1,008 |
| | D3 | 3 | 0,842 | 0,143 | 0,758 | 1,007 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| HE P1 S2 T4 | D1 | 3 | 0,223 | 0,047 | 0,195 | 0,277 |
| | D2 | 3 | 1,200 | 0,147 | 1,031 | 1,303 |
| | D3 | 3 | 1,604 | 0,133 | 1,064 | 1,312 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

Tableau 37 : Statistiques descriptives des données relatives à l'HE de *T. gallica* site 3

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-------------|-------|---|-------|------------|--------|-------|
| HE P1 S3 T1 | D1 | 3 | 0,277 | 0,007 | 0,268 | 0,281 |
| | D2 | 3 | 0,573 | 0,017 | 0,554 | 0,588 |
| | D3 | 3 | 0,599 | 0,039 | 0,556 | 0,633 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0,0642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| HE P1 S3 T2 | D1 | 3 | 0,507 | 0,033 | 0,472 | 0,539 |
| | D2 | 3 | 0,842 | 0,017 | 0,805 | 0,839 |
| | D3 | 3 | 0,769 | 0,045 | 0,717 | 0,803 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,050 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| HE P1 S3 T3 | D1 | 3 | 0,562 | 0,047 | 0,507 | 0,594 |
| | D2 | 3 | 0,958 | 0,060 | 0,912 | 1,027 |
| | D3 | 3 | 0,930 | 0,045 | 0,879 | 0,969 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| HE P1 S3 T4 | D1 | 3 | 0,659 | 0,042 | 0,629 | 0,707 |
| | D2 | 3 | 1,098 | 0,075 | 1,037 | 1,182 |
| | D3 | 3 | 1,095 | 0,053 | 1,038 | 1,144 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

Chapitre V : Résultats et discussions

➤ Extrait aqueux

Tableau 38 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait aqueux de *T. gallica* site1,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| EXT Aq P1 S1 T1 | D1 | 3 | 0,182 | 0,022 | 0,156 | 0,195 |
| | D2 | 3 | 0,331 | 0,007 | 0,322 | 0,338 |
| | D3 | 3 | 0,343 | 0,040 | 0,307 | 0,387 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,016 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,010 | 0,010 | -0,022 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S1 T2 | D1 | 3 | 0,196 | 0,017 | 0,177 | 0,212 |
| | D2 | 3 | 0,260 | 0,003 | 0,257 | 0,264 |
| | D3 | 3 | 0,288 | 0,018 | 0,268 | 0,304 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,022 | 0,786 | 0,831 |
| | D5 | 3 | -0,012 | 0,008 | -0,020 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S1 T3 | D1 | 3 | 0,201 | 0,027 | 0,173 | 0,228 |
| | D2 | 3 | 0,299 | 0,001 | 0,298 | 0,301 |
| | D3 | 3 | 0,350 | 0,022 | 0,326 | 0,371 |
| | D4 | 3 | 0,962 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,008 | 0,009 | -0,020 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S1 T4 | D1 | 3 | 0,198 | 0,025 | 0,172 | 0,22 |
| | D2 | 3 | 0,327 | 0,009 | 0,315 | 0,334 |
| | D3 | 3 | 0,399 | 0,023 | 0,375 | 0,422 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

Tableau 39 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait aqueux de *T. gallica* site 2

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| EXT Aq P1 S2 T1 | D1 | 3 | 0,023 | 0,004 | 0,019 | 0,0278 |
| | D2 | 3 | 0,206 | 0,013 | 0,190 | 0,217 |
| | D3 | 3 | 0,285 | 0,002 | 0,283 | 0,288 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,016 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,010 | 0,010 | -0,022 | 0,003 |
| EXT Aq P1 S2 T2 | D1 | 3 | -0,114 | 0,142 | -0,279 | -0,030 |
| | D2 | 3 | 0,149 | 0,018 | 0,128 | 0,162 |
| | D3 | 3 | 0,226 | 0,003 | 0,222 | 0,230 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,022 | 0,786 | 0,831 |
| | D5 | 3 | -0,012 | 0,008 | -0,020 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S2 T3 | D1 | 3 | -0,062 | 0,002 | -0,064 | -0,060 |
| | D2 | 3 | 0,132 | 0,014 | 0,115 | 0,143 |
| | D3 | 3 | 0,217 | 0,002 | 0,215 | 0,219 |
| | D4 | 3 | 0,969 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,008 | 0,009 | -0,020 | -0,002 |
| EXT Aq P1 S2 T4 | D1 | 3 | -0,079 | 0,006 | -0,086 | -0,073 |
| | D2 | 3 | 0,126 | 0,017 | 0,108 | 0,141 |
| | D3 | 3 | 0,249 | 0,003 | 0,246 | 0,252 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 40 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait aqueux de *T. gallica* site 3

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| EXT Aq P1 S3 T1 | D1 | 3 | 0,151 | 0,012 | 0,138 | 0,162 |
| | D2 | 3 | 0,257 | 0,027 | 0,226 | 0,281 |
| | D3 | 3 | 0,310 | 0,036 | 0,279 | 0,350 |
| | D4 | 3 | 0,728 | 0,161 | 0,709 | 0,739 |
| | D5 | 3 | -0,010 | 0,010 | -0,022 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S3 T2 | D1 | 3 | 0,172 | 0,008 | 0,162 | 0,178 |
| | D2 | 3 | 0,302 | 0,021 | 0,281 | 0,323 |
| | D3 | 3 | 0,385 | 0,022 | 0,364 | 0,409 |
| | D4 | 3 | 0,812 | 0,023 | 0,786 | 0,831 |
| | D5 | 3 | -0,012 | 0,008 | -0,020 | -0,003 |
| EXT Aq P1 S3 T3 | D1 | 3 | 0,241 | 0,009 | 0,232 | 0,251 |
| | D2 | 3 | 0,480 | 0,20 | 0,465 | 0,503 |
| | D3 | 3 | 0,590 | 0,018 | 0,574 | 0,611 |
| | D4 | 3 | 0,969 | 0,050 | 0,910 | 1,003 |
| | D5 | 3 | -0,008 | 0,009 | -0,020 | -0,002 |
| EXT Aq P1 S3 T4 | D1 | 3 | 0,269 | 0,007 | 0,263 | 0,277 |
| | D2 | 3 | 0,551 | 0,025 | 0,526 | 0,577 |
| | D3 | 3 | 0,703 | 0,014 | 0,693 | 0,720 |
| | D4 | 3 | 1,110 | 0,058 | 1,042 | 1,145 |
| | D5 | 3 | -0,017 | 0,011 | -0,025 | -0,003 |

➤ **Extrait acétate d'éthyle**

Tableau 41 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait acétate d'éthyle de *T. gallica* site1,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|-------|------------|--------|-------|
| EXT EA P1 S1 T1 | D1 | 3 | 0,054 | 0,023 | 0,029 | 0,069 |
| | D2 | 3 | 0,069 | 0,009 | 0,058 | 0,075 |
| | D3 | 3 | 0,122 | 0,005 | 0,116 | 0,127 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0,642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| EXT EA P1 S1 T2 | D1 | 3 | 0,044 | 0,028 | 0,012 | 0,062 |
| | D2 | 3 | 0,028 | 0,014 | 0,012 | 0,038 |
| | D3 | 3 | 0,077 | 0,009 | 0,071 | 0,087 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,050 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| EXT EA P1 S1 T3 | D1 | 3 | 0,050 | 0,030 | 0,015 | 0,071 |
| | D2 | 3 | 0,003 | 0,011 | -0,007 | 0,015 |
| | D3 | 3 | 0,059 | 0,014 | 0,047 | 0,076 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| EXT EA P1 S1 T4 | D1 | 3 | 0,057 | 0,033 | 0,019 | 0,081 |
| | D2 | 3 | 0,007 | 0,013 | -0,007 | 0,015 |
| | D3 | 3 | 0,050 | 0,016 | 0,036 | 0,069 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 42: Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait acétate d'éthyle
de *T. gallica*

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| EXT EA P1 S2 T1 | D1 | 3 | -0,031 | 0,008 | -0,031 | -0,030 |
| | D2 | 3 | 0,014 | 0,010 | 0,006 | 0,027 |
| | D3 | 3 | 0,078 | 0,027 | 0,047 | 0,099 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0,642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| EXT EA P1 S2 T2 | D1 | 3 | -0,063 | 0,005 | -0,068 | -0,057 |
| | D2 | 3 | -0,041 | 0,013 | -0,054 | -0,026 |
| | D3 | 3 | 0,018 | 0,023 | -0,007 | 0,037 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,050 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| EXT EA P1 S2 T3 | D1 | 3 | -0,072 | 0,008 | -0,080 | -0,063 |
| | D2 | 3 | -0,053 | 0,012 | -0,067 | -0,041 |
| | D3 | 3 | -0,015 | 0,016 | -0,033 | -0,001 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| EXT EA P1 S2 T4 | D1 | 3 | -0,077 | 0,010 | -0,085 | -0,065 |
| | D2 | 3 | -0,056 | 0,011 | -0,068 | -0,046 |
| | D3 | 3 | -0,024 | 0,018 | -0,044 | -0,010 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

Tableau 43 : Statistiques descriptives des données relatives à l'extrait acétate d'éthyle
de *T. gallica* site 3,

| Variable | Doses | n | Moy | Ecart Type | X min | X max |
|-----------------|-------|---|--------|------------|--------|--------|
| EXT EA P1 S3 T1 | D1 | 3 | -0,020 | 0,005 | -0,026 | -0,016 |
| | D2 | 3 | -0,007 | 0,002 | -0,009 | -0,004 |
| | D3 | 3 | 0,087 | 0,013 | 0,073 | 0,099 |
| | D4 | 3 | 0,702 | 0,054 | 0, 642 | 0,748 |
| | D5 | 3 | 0,011 | 0,027 | -0,016 | 0,038 |
| EXT EA P1 S3 T2 | D1 | 3 | -0,042 | 0,004 | -0,046 | -0,037 |
| | D2 | 3 | -0,007 | 0,002 | -0,009 | -0,004 |
| | D3 | 3 | 0,005 | 0,007 | -0,001 | 0,013 |
| | D4 | 3 | 0,874 | 0,050 | 0,817 | 0,916 |
| | D5 | 3 | 0,012 | 0,031 | -0,020 | 0,041 |
| EXT EA P1 S3 T3 | D1 | 3 | -0,047 | 0,004 | -0,050 | -0,042 |
| | D2 | 3 | -0,212 | 0,268 | -0,522 | -0,053 |
| | D3 | 3 | -0,020 | 0,003 | -0,023 | -0,016 |
| | D4 | 3 | 1,081 | 0,054 | 1,019 | 1,123 |
| | D5 | 3 | 0,007 | 0,028 | -0,022 | 0,033 |
| EXT EA P1 S3 T4 | D1 | 3 | -0,049 | 0,005 | -0,053 | -0,042 |
| | D2 | 3 | -0,060 | 0,005 | -0,066 | -0,055 |
| | D3 | 3 | -0,037 | 0,005 | -0,041 | -0,031 |
| | D4 | 3 | 1,267 | 0,051 | 1,210 | 1,310 |
| | D5 | 3 | 0,003 | 0,024 | -0,024 | 0,021 |

Chapitre V : Résultats et discussions

5,2, Test d'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) :

5,2,1, Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station à l'aide de l'ANOVA

A. Plante1 : *Rosmarinus officinalis*

Les résultats de la comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station par le test de l'ANOVA pour les trois extraits (extrait aqueux, extrait acétate d'éthyle et l'huile essentielle) de *R. officinalis* sont synthétisés dans les tableaux 44 à 46,

L'analyse des résultats des trois tableaux , montre qu'il existe des différences très hautement significatives entre les moyennes des 05 doses pour le même temps et la même période et la même station pour les trois extraits étudiés,

En effet l'activité antiproliférative du *R.officinalis* varie d'un extrait à l'autre et d'une station à l'autre, on a constaté un fort effet sur les cellules cancéreuses au niveau des 03 sites d'étude pour l'extrait acétate d'éthyle et HE et une faible activité pour l'extrait aqueux,

Tableau 44 : Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour l'activité de l'HE de *R. officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Source de variation | dl | SCE | CM | Fobs | P |
|----------|----------------|---------------------|----|--------|--------|---------|----------|
| OEB | 12 | Doses | 4 | 1,0505 | 0,2626 | 16,06 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,4906 | 0,3726 | 707,39 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,1312 | 0,5328 | 537,56 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,6704 | 0,6677 | 535,12 | 0,000*** |
| EL TAREF | 12 | Doses | 4 | 1,0412 | 0,2603 | 599,57 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,4317 | 0,3579 | 1052,39 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 1,9349 | 0,4837 | 452,45 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,3735 | 0,5934 | 329,09 | 0,000*** |
| OUARGLA | 12 | Doses | 4 | 0,8823 | 0,2206 | 66,21 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,4593 | 0,3648 | 49,45 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,2032 | 0,5508 | 32,60 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 3,0590 | 0,7647 | 33,98 | 0,000*** |

Si $p > \alpha = 0,05$ n'existe pas des différences significatives NS

Si $p \leq \alpha = 0,05$ existe des différences significatives *

Si $p \leq \alpha = 0,01$ existe des différences hautement significatives **

Si $p \leq \alpha = 0,001$ existe des différences très hautement significatives ***

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 45: Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour l'activité de l'extrait aqueux de *R. officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Source de variation | dl | SCE | CM | Fobs | P |
|----------|----------------|---------------------|----|--------|--------|--------|----------|
| OEB | 12 | Doses | 4 | 0,8529 | 0,2148 | 861,52 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,0403 | 0,2600 | 954,68 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 1,5019 | 0,3754 | 516,71 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,0420 | 0,5105 | 315,51 | 0,000*** |
| EL TAREF | 12 | Doses | 4 | 0,9238 | 0,2309 | 629,28 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,2116 | 0,3029 | 941,42 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 1,7837 | 0,4459 | 540,44 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,3918 | 0,5979 | 512,36 | 0,000*** |
| OUARGLA | 12 | Doses | 4 | 0,9603 | 0,2400 | 597,92 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,2736 | 0,3184 | 360,72 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 1,8825 | 0,4706 | 297,47 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,5501 | 0,6375 | 409,83 | 0,000*** |

Si $p > \alpha = 0,05$ n'existe pas des différences significatives NS

Si $p \leq \alpha = 0,05$ existe des différences significatives *

Si $p \leq \alpha = 0,01$ existe des différences hautement significatives **

Si $p \leq \alpha = 0,001$ existe des différences très hautement significatives ***

Tableau 46 : Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour l'activité de l'extrait acétate d'éthyle de *R. officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Source de variation | dl | SCE | CM | Fobs | P |
|----------|----------------|---------------------|----|--------|--------|--------|----------|
| OEB | 12 | Doses | 4 | 0,9059 | 0,2264 | 217,11 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,4048 | 0,3512 | 286,29 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,3031 | 0,5757 | 42,86 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 3,2706 | 0,8176 | 685,87 | 0,000*** |
| EL TAREF | 12 | Doses | 4 | 0,9578 | 0,2394 | 208,79 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,5008 | 0,3752 | 282,02 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,3593 | 0,5898 | 412,05 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 3,3278 | 0,8319 | 655,60 | 0,000*** |
| OUARGLA | 12 | Doses | 4 | 0,9710 | 0,2427 | 232,65 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,6882 | 0,4220 | 171,93 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,5012 | 0,6253 | 357,53 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 3,3857 | 0,8464 | 402,46 | 0,000*** |

Si $p > \alpha = 0,05$ n'existe pas des différences significatives NS

Si $p \leq \alpha = 0,05$ existe des différences significatives *

Si $p \leq \alpha = 0,01$ existe des différences hautement significatives **

Si $p \leq \alpha = 0,001$ existe des différences très hautement significatives ***

Chapitre V : Résultats et discussions

B. Plante 2 : *Tamarix gallica*

Les résultats de la comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station par le test de l'ANOVA pour les trois extraits (extrait aqueux, extrait acétate d'éthyle et l'huile essentielle) de *T. gallica* sont synthétisés dans les tableaux 47 à 49,

L'analyse des résultats des trois tableaux en question montre qu'il existe des différences très hautement significatives entre les moyennes des 05 doses pour le même temps et la même période et la même station pour les trois extraits étudiés,

Effectivement, l'activité antiproliférative de *T. gallica* varie d'un extrait à l'autre et d'une station à l'autre, on a constaté un fort effet sur les cellules cancéreuses au niveau des 03 sites d'étude pour l'extrait acétate d'éthyle et une faible activité pour l'extrait aqueux et l'huile essentielles,

Tableau 47 : Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station à pour l'activité de HE de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Source de variation | dl | SCE | CM | Fobs | P |
|----------|----------------|---------------------|----|--------|--------|--------|----------|
| OEB | 12 | Doses | 4 | 1,0588 | 0,2647 | 468,98 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,2736 | 0,3184 | 628,51 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 1,8560 | 0,4640 | 610,02 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,6326 | 0,6581 | 609,49 | 0,000*** |
| EL TAREF | 12 | Doses | 4 | 0,8207 | 0,2051 | 64,79 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,3689 | 0,3422 | 38,36 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,7559 | 0,6889 | 57,88 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 4,4142 | 1,1035 | 122,75 | 0,000*** |
| OUARGLA | 12 | Doses | 4 | 0,9673 | 0,2418 | 217,56 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,5232 | 0,3808 | 269,97 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,2900 | 0,5725 | 242,29 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 3,1390 | 0,7847 | 289,63 | 0,000*** |

Si $p > \alpha = 0,05$ n'existe pas des différences significatives NS

Si $p \leq \alpha = 0,05$ existe des différences significatives *

Si $p \leq \alpha = 0,01$ existe des différences hautement significatives **

Si $p \leq \alpha = 0,001$ existe des différences très hautement significatives ***

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 48: Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour l'activité de l'extrait aqueux de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Source de variation | dl | SCE | CM | Fobs | P |
|----------|----------------|---------------------|----|-------|-------|---------|----------|
| OEB | 12 | Doses | 4 | 0,886 | 0,221 | 438,34 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,116 | 0,279 | 1111,30 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 1,608 | 0,402 | 510,86 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,174 | 0,543 | 558,32 | 0,000*** |
| EL TAREF | 12 | Doses | 4 | 1,052 | 0,263 | 2248,94 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,563 | 0,391 | 91,59 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,090 | 0,523 | 898,61 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,795 | 0,699 | 893,61 | 0,000*** |
| OUARGLA | 12 | Doses | 4 | 0,908 | 0,227 | 434,40 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,135 | 0,284 | 869,46 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 1,633 | 0,408 | 576,69 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 2,205 | 0,551 | 613,09 | 0,000*** |

Si $p > \alpha = 0,05$ n'existe pas des différences significatives NS

Si $p \leq \alpha = 0,05$ existe des différences significatives *

Si $p \leq \alpha = 0,01$ existe des différences hautement significatives **

Si $p \leq \alpha = 0,001$ existe des différences très hautement significatives ***

Tableau 49: Comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station à pour l'activité de l'extrait acétate d'éthyle de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Source de variation | dl | SCE | CM | Fobs | P |
|----------|----------------|---------------------|----|--------|--------|---------|----------|
| OEB | 12 | Doses | 4 | 0,496 | 0,250 | 289,76 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,6766 | 0,4186 | 451,94 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,6594 | 0,6648 | 659,12 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 3,6822 | 0,9205 | 957,20 | 0,000*** |
| EL TAREF | 12 | Doses | 4 | 1,1415 | 0,2853 | 313,14 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,9271 | 0,4818 | 560,04 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 2,9953 | 0,7488 | 875,34 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 4,1038 | 1,0260 | 1362,27 | 0,000*** |
| OUARGLA | 12 | Doses | 4 | 1,1467 | 0,2867 | 368,49 | 0,000*** |
| | 24 | Doses | 4 | 1,9178 | 0,4795 | 659,38 | 0,000*** |
| | 36 | Doses | 4 | 3,2605 | 0,8151 | 53,76 | 0,000*** |
| | 48 | Doses | 4 | 4,0823 | 1,0206 | 1543,24 | 0,000*** |

Si $p > \alpha = 0,05$ n'existe pas des différences significatives NS

Si $p \leq \alpha = 0,05$ existe des différences significatives *

Si $p \leq \alpha = 0,01$ existe des différences hautement significatives **

Si $p \leq \alpha = 0,001$ existe des différences très hautement significatives ***

Chapitre V : Résultats et discussions

2,2,2, Test de Tukey :

A. Plante1 : *Rosmarinus officinalis*

Les résultats statistiques de la recherche de groupe de doses homogènes par station et par temps, à l'aide de test de Tukey pour l'activité antiproliférative de *R. officinalis* pour les trois extraits (extrait aqueux, extrait acétate d'éthyle et l'huile essentielle) sont présentés par les tableaux 50 à 52,

Ces résultats sont généralement présentés sous la forme de moyennes soulignées, Les soulignements correspondent à des moyennes ou à des groupes de moyennes, qui ne sont pas significativement différentes les unes des autres,

Les résultats du test de Tukey révèlent qu'il y a une variation dans les groupes de moyennes d'un extrait à l'autre et d'un site à l'autre,

Pour les résultats des extraits aqueux et acétate d'éthyle (tableaux 51-52) montre qu'il existe à chaque fois pour les trois sites 4 à 5 groupes de doses homogènes pour les trois stations, cela signifie que chaque dose réagit différemment sur les cellules cancéreuses,

En revanche, les résultats de l'huile essentielle (tableau 50), il existe 02 à 03 groupes de doses homogènes, c'est-à-dire les doses ont la même réaction sur les cellules cancéreuses,

Tableau 50 : Résultats du test de Tukey pour l'HE de *R.officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de doses homogènes | Nombre de groupe |
|----------|----------------|---|------------------|
| OEB | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 02 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D3</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 02 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 02 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| EL TAREF | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| OUARGLA | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 02 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |

Tableau 51 : Résultats du test de Tukey pour l'extrait aqueux de *R. officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de doses homogènes | Nombre de groupe |
|----------|----------------|---|------------------|
| OEB | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| EL TAREF | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| OUARGLA | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 52 : Résultats du test de Tukey pour l'extrait acétate d'éthyle de *R.officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de doses homogènes | Nombre de groupe |
|----------|----------------|---|------------------|
| OEB | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| EL TAREF | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| OUARGLA | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |

B. Plante1 : *Tamarix gallica*

Les résultats statistiques de la recherche de groupe de doses homogènes par station et par temps, à l'aide de test de Tukey pour l'activité antiproliférative de *T. gallica* pour les trois extraits (extrait aqueux, extrait acétate d'éthyle et l'huile essentielle) sont présentés par les tableaux 53 à 55,

Ces résultats sont généralement présentés sous la forme de moyennes soulignées, Les soulignements correspondent à des moyennes ou à des groupes de moyennes, qui ne sont pas significativement différentes les unes des autres,

L'examen des résultats des tableaux 53 à 55 montre qu'il existe à chaque fois pour les trois extraits 4 à 5 groupes de doses homogènes pour les trois stations, cela signifie que chaque dose réagit différemment sur les cellules cancéreuses,

Pour les résultats de l'extrait acétate d'éthyle (tableau 55) et l'huile essentielle (tableau 53), on a entre 02 et 03 groupes de doses homogènes, c'est-à-dire les doses ont la même réaction sur les cellules cancéreuses,

Tableau 53 : Résultats du test de Tukey pour l'HE de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de doses homogènes | Nombre de groupe |
|----------|----------------|---|------------------|
| OEB | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D2</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D1</u> <u>D4</u> | 02 |
| EL TAREF | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 02 |
| OUARGLA | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D2</u> <u>D4</u> | 04 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 54 : Résultats du test de Tukey pour l'extrait aqueux de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de doses homogènes | Nombre de groupe |
|----------|----------------|---|------------------|
| OEB | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| EL TAREF | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 24 | <u>D1</u> <u>D5</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 36 | <u>D1</u> <u>D5</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 48 | <u>D1</u> <u>D5</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| OUARGLA | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 36 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 05 |

Tableau 55 : Résultats du test de Tukey pour l'extrait acétate d'éthyle de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de doses homogènes | Nombre de groupe |
|----------|----------------|---|------------------|
| OEB | 12 | <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 24 | <u>D5</u> <u>D2</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 36 | <u>D2</u> <u>D5</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 48 | <u>D5</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D1</u> <u>D4</u> | 02 |
| EL TAREF | 12 | <u>D1</u> <u>D5</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 24 | <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D5</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 36 | <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D5</u> <u>D4</u> | 04 |
| | 48 | <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D3</u> <u>D5</u> <u>D4</u> | 04 |
| OUARGLA | 12 | <u>D1</u> <u>D2</u> <u>D5</u> <u>D3</u> <u>D4</u> | 03 |
| | 24 | <u>D2</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D5</u> <u>D4</u> | 02 |
| | 36 | <u>D2</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D5</u> <u>D4</u> | 02 |
| | 48 | <u>D2</u> <u>D1</u> <u>D3</u> <u>D5</u> <u>D4</u> | 02 |

5,2,3 Test de DUNNETT

A. Plante 1 : *Rosmarinus officinalis*

Les résultats du test de DUNNETT de la comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour les trois extraits (extrait aqueux, extrait acétate d'éthyle et l'huile essentielle) de *R. officinalis* sont synthétisés dans les tableaux 56 à 58, Pour les résultats de l'huile essentielle (tableau 56), il existe des groupes de moyennes semblables à celle de la dose témoin D5, au niveau des trois sites d'étude, à différentes doses, L'huile essentielle a une bonne activité antiproliférative au niveau des trois sites d'étude et à différentes concentration,

Tableau 56 : Résultats du test de DUNNETT pour l'HE de *R. officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de moyennes semblables à celle de la station témoin, résultat du test de DUNNETT | | | | | Dose identique à la dose témoin |
|----------|----------------|--|-------------------|-------------------|-----------|------------------|---------------------------------|
| OEB | 12 | 0,1 <u>D1</u> | 0,11 <u>D2</u> | 0,3 <u>D3</u> | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1, D2, D3 |
| | 24 | 0,0 <u>D3</u> | 0,01 <u>D1</u> | 0,02 D2 | 0,8 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D3, D1 |
| | 36 | 0,0 <u>D1</u> | 0,01 <u>D2</u> | 0,02 <u>D3</u> | 1,0 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1, D2, D3 |
| | 48 | 0,0 <u>D1</u> | 0,1 <u>D2</u> | 0,11 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1, D2 |
| EL TAREF | 12 | 0,1 <u>D1</u> | 0,11 D3 | 0,12 D2 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 24 | 0,0 <u>D1</u> | 0,1 D3 | 0,11 D2 | 0,8 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 36 | 0,0 <u>D1</u> | 0,1 D2 | 0,2 D3 | 1,0 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 48 | 0,1 <u>D1</u> | 0,3 D2 | 0,31 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| OUARGLA | 12 | 0,1 <u>D1</u> | 0,2 D3 | 0,21 D2 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 24 | 0,1 <u>D1</u> | 0,2 <u>D3</u> | 0,21 D2 | 0,9 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1, D3 |
| | 36 | 0,1 <u>D1</u> | 0,4 D2 | 0,41 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 48 | 0,2 <u>D1</u> | 0,7 D2 | 0,71 D3 | 1,3 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Selon le tableau 57, il existe un groupe de moyennes semblables à celle de la dose témoin D5, au niveau du site Ouargla, Cela peut être expliqué par l'effet positif de la dose D1 (250 µg/ml) sur la prolifération des cellules cancéreuses,

Tableau 57 : Résultats du test de DUNNETT pour l'extrait aqueux de *R. officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de moyennes semblables à celle de la dose témoin, résultat du test de DUNNETT | | | | | Dose identique à la dose témoin |
|----------|----------------|---|------------|------------|-----------|------------------|---------------------------------|
| OEB | 12 | 0,2 D1 | 0,4 D2 | 0,41 D3 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 24 | 0,3 D1 | 0,4 D2 | 0,5 D3 | 0,8 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 36 | 0,5 D1 | 0,51 D2 | 0,6 D3 | 1,0 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 48 | 0,5 D1 | 0,6 D2 | 0,8 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| EL TAREF | 12 | 0,2 D1 | 0,3 D2 | 0,4 D3 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 24 | 0,1 D1 | 0,3 D2 | 0,4 D3 | 0,8 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 36 | 0,1 D1 | 0,4 D2 | 0,6 D3 | 1,0 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucun |
| | 48 | 0,1 D1 | 0,5 D2 | 0,6 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| OUARGLA | 12 | 0,1 D1 | 0,3 D2 | 0,31 D3 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 24 | 0,1 <u>D1</u> | 0,3 D2 | 0,4 D3 | 0,8 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 36 | 0,1 <u>D1</u> | 0,4 D2 | 0,5 D3 | 1,0 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 48 | 0,0 D1 | 0,5 D2 | 0,6 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |

Chapitre V : Résultats et discussions

Pour les résultats de l'extrait acétate d'éthyle (tableau 58), il existe des groupes de moyennes semblables à celle de la dose témoin D5, au niveau des trois sites d'étude, Effectivement, l'extrait acétate d'éthyle de *R. officinalis* a de bons effets antiprolifératifs à forte dose D1 (250 µg/ml),

Tableau 58 : Résultats du test de DUNNETT pour l'extrait acétate d'éthyle de *R.officinalis*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de moyennes semblables à celle de la dose témoin, résultat du test de DUNNETT | | | | | Dose identique à la dose témoin |
|----------|----------------|---|------------|-----------|-----------|------------------|---------------------------------|
| OEB | 12 | 0,1 <u>D1</u> | 0,3 D2 | 0,4 D3 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 24 | 0,1 <u>D1</u> | 0,4 D2 | 0,5 D3 | 0,9 D4 | 0,0 <u>D5</u> | Aucune |
| | 36 | 0,1 <u>D1</u> | 0,3 D2 | 0,6 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 48 | 0,0 <u>D1</u> | 0,5 D2 | 0,6 D3 | 1,3 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| EL TAREF | 12 | 0,0 <u>D1</u> | 0,3 D2 | 0,4 D3 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 24 | 0,1 <u>D1</u> | 0,4 D2 | 0,5 D3 | 0,9 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 36 | 0,0 <u>D1</u> | 0,4 D2 | 0,6 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 48 | 0,0 <u>D1</u> | 0,5 D2 | 0,7 D3 | 1,3 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| OUARGLA | 12 | 0,1 <u>D1</u> | 0,11 D2 | 0,3 D3 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 24 | 0,0 <u>D1</u> | 0,2 D2 | 0,6 D3 | 0,9 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 36 | 0,0 <u>D1</u> | 0,3 D2 | 0,6 D3 | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |
| | 48 | 0,0 <u>D1</u> | 0,3 D2 | 0,7 D3 | 1,3 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1 |

Chapitre V : Résultats et discussions

B. Plante 2 : *Tamarix gallica*

Les résultats du test de DUNNETT de la comparaison des moyennes entre les 05 doses pour le même temps et la même station pour les trois extraits (extrait aqueux, extrait acétate d'éthyle et l'huile essentielle) de *T. gallica* sont synthétisés dans les tableaux 59 à 61,

L'examen des résultats du test de DUNNETT de l'huile essentielle du *T. gallica* (tableau 59), montre qu'aucune dose n'est identique à la dose témoin D5 au niveau des trois stations, Ceci est dû à l'absence de l'activité antiproliférative de cette huile,

Tableau 59 : Résultats du test de DUNNETT pour l'HE de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de moyennes semblables à celle de la dose témoin, résultat du test de DUNNETT | | | | | Dose identique à la dose témoin |
|----------|----------------|---|------------|------------|------------|-----------|---------------------------------|
| OEB | 12 | 0,5 D1 | 0,6 D2 | 0,7 D3 | 0,71 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 24 | 0,7 D2 | 0,71 D1 | 0,72 D3 | 0,8 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 36 | 0,8 D1 | 0,81 D2 | 0,82 D3 | 1,0 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 48 | 1,0 D3 | 1,1 D2 | 1,2 D1 | 1,3 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| EL TAREF | 12 | 0,1 D1 | 0,3 D3 | 0,4 D2 | 0,7 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 24 | 0,1 D1 | 0,4 D3 | 0,5 D2 | 0,9 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 36 | 0,2 D1 | 0,8 D3 | 0,9 D2 | 1,1 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 48 | 0,2 D1 | 1,2 D3 | 1,21 D2 | 1,3 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| OUARGLA | 12 | 0,3 D1 | 0,6 D2 | 0,61 D3 | 0,7 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 24 | 0,5 D1 | 0,8 D3 | 0,81 D2 | 0,9 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 36 | 0,6 D1 | 0,9 D3 | 1,0 D2 | 1,1 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 48 | 0,7 D1 | 1,1 D3 | 1,12 D2 | 1,3 D4 | 0,0 D5 | Aucune |

Chapitre V : Résultats et discussions

L'analyse des résultats du test de DUNNETT pour l'extrait aqueux au niveau des trois sites, montre qu'au niveau du site d'El Taref il existe un groupe de moyennes semblable à celle de la dose témoin D5, Ceci peut être expliqué par l'effet positif de la dose D1 (250 µg/ml) sur la prolifération des cellules cancéreuses,

Tableau 60 : Résultats du test de DUNNETT pour l'extrait aqueux de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de moyennes semblables à celle de la dose témoin, résultat du test de DUNNETT | | | | | Dose identique à la dose témoin |
|----------|----------------|---|------------|------------|-----------|-----------|---------------------------------|
| OEB | 12 | 0,2 D1 | 0,3 D2 | 0,31 D3 | 0,7 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 24 | 0,2 D1 | 0,3 D2 | 0,31 D3 | 0,8 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 36 | 0,2 D1 | 0,3 D2 | 0,31 D3 | 1,0 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 48 | 0,2 D1 | 0,3 D2 | 0,4 D3 | 1,1 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| EL TAREF | 12 | 0,1 D1 | 0,2 D2 | 0,3 D3 | 0,7 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 24 | 0,1 D1 | 0,11 D2 | 0,2 D3 | 0,8 D4 | 0,0 D5 | D1 |
| | 36 | 0,1 D1 | 0,11 D2 | 0,2 D3 | 1,1 D4 | 0,0 D5 | D1 |
| | 48 | 0,1 D1 | 0,11 D2 | 0,2 D3 | 1,1 D4 | 0,0 D5 | D1 |
| OUARGLA | 12 | 0,2 D1 | 0,3 D2 | 0,31 D3 | 0,7 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 24 | 0,2 D1 | 0,3 D2 | 0,4 D3 | 0,8 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 36 | 0,2 D1 | 0,5 D2 | 0,6 D3 | 1,0 D4 | 0,0 D5 | Aucune |
| | 48 | 0,3 D1 | 0,6 D2 | 0,7 D3 | 1,1 D4 | 0,0 D5 | Aucune |

Chapitre V : Résultats et discussions

Pour les résultats de l'extrait acétate d'éthyle (tableau 61), il existe des groupes de moyennes semblables à celle de la dose témoin D5, au niveau des trois sites d'étude, à différentes doses, En effet l'extrait acétate d'éthyle de *Tamarix gallica* a de bons effets antiprolifératifs à différentes concentrations,

Tableau 61 : Résultats du test de DUNNETT pour l'extrait acétate d'éthyle de *T. gallica*

| Stations | Temps (Heures) | Groupes de moyennes semblables à celle de la dose témoin, résultat du test de DUNNETT | | | | | Dose identique à la dose témoin |
|----------|----------------|---|-------------------|-------------------|-----------|------------------|---------------------------------|
| OEB | 12 | 0,1 <u>D1</u> | 0,11 <u>D2</u> | 0,12 D3 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1, D2 |
| | 24 | 0,0 <u>D2</u> | 0,01 <u>D1</u> | 0,1 <u>D3</u> | 0,9 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D2, D1, D3 |
| | 36 | 0,0 <u>D2</u> | 0,1 <u>D1</u> | 0,11 <u>D3</u> | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D2, D1, D3 |
| | 48 | 0,0 <u>D2</u> | 0,1 <u>D3</u> | 0,11 <u>D1</u> | 1,3 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D2, D3, D1 |
| EL TAREF | 12 | 0,0 <u>D1</u> | 0,01 <u>D2</u> | 0,1 <u>D3</u> | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1, D2, D3 |
| | 24 | -0,1 D1 | 0,0 <u>D2</u> | 0,01 <u>D3</u> | 0,9 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D2, D3 |
| | 36 | -0,1 D1 | 0,0 <u>D2</u> | 0,01 <u>D3</u> | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D2, D3 |
| | 48 | -0,1 D1 | 0,0 <u>D2</u> | 0,01 <u>D3</u> | 1,3 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D2, D3 |
| OUARGLA | 12 | 0,0 <u>D1</u> | 0,01 <u>D2</u> | 0,1 D3 | 0,7 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1, D2 |
| | 24 | 0,0 <u>D2</u> | 0,01 <u>D1</u> | 0,02 <u>D3</u> | 0,9 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D2, D1, D3 |
| | 36 | -0,2 <u>D2</u> | 0,0 <u>D1</u> | 0,01 <u>D3</u> | 1,1 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D2, D1, D3 |
| | 48 | -0,1 <u>D2</u> | 0,0 <u>D1</u> | 0,01 <u>D3</u> | 1,3 D4 | 0,0 <u>D5</u> | D1, D3 |

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Les facteurs abiotiques dont le climat représente généralement un élément déterminant sur la qualité et la quantité des métabolites secondaires dans une espèce végétale. Dans notre étude nous avons réalisé une exploitation des données climatiques pour définir le climat des trois zones d'étude, cela impose l'utilisation des indices climatiques; le diagramme pluviométrique de Bagnouls et Gaussen et l'indice pluviométrique d'EMBERGER. L'étude bioclimatique a montré un gradient pluviométrique décroissant du Nord au Sud qui peut être considéré comme facteur de diversité floristique El Taref appartient à l'étage bioclimatique de végétation subhumide, Oum El Bouaghi appartient à l'étage bioclimatique de végétation semi-aride, et Ouargla appartient à l'étage bioclimatique de végétation saharien (aride).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci est lié aux conditions climatiques (la température, exposition solaire, sécheresse, salinité, etc.), qui stimulent la biosynthèse de ces métabolites tels que les polyphénols et les huiles essentielles dont on a opté pour mettre en évidence l'influence de ces conditions climatiques pour les deux espèces végétales.

L'analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse GC/MS a révélé, pour le *Tamarix gallica*, l'identification de trois composés (Ethyl benzène, Benzène 1,3- dimethyl, Benzène 1,2- dimethyl). En effet, il n'existe pratiquement pas de travaux antérieurs sur les huiles essentielles de cette espèce en raison de la pauvreté de ce type en huiles essentielles.

Pour le *Rosmarinus officinalis*, 25 composés différents ont été identifiés dans tous les échantillons, (16 composés dans l'échantillon prélevé à Oum El Bouaghi, 21 dans l'échantillon prélevé à El Taref et 21 dans l'échantillon prélevé à Ouargla), représentant plus de 99% du total des huiles. Tous les composants identifiés ont déjà été rapportés chez cette espèce. Les constituants: α -pinène, camphène, limonène, eucalyptol, linalol, camphre, isobornéol et verbénone représentent plus de 82% du poids dans tous les échantillons.

L'identification et le dosage des composés phénoliques des extraits aqueux et acétate d'éthyle des deux plantes, montre une variation significative d'un site à l'autre. En effet la quantité des composés phénoliques des extraits des plantes étudiées dépend essentiellement : de leur origine, la variété, la saison de culture, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante et la durée de conservation.

La quantité de composés phénoliques totaux étudiés dans les extraits de plantes est plus ou moins corrélée à leur activité anti-proliférative. Deux tests utilisés pour évaluer l'activité antiproliférative ont montré que les extraits à l'acétate d'éthyle et à l'eau des deux plantes présentaient une bonne activité antiproliférative à 250 μg / ml lorsqu'ils étaient évalués par BrdU ELISA et xCELLigence. Les emplacements géographiques et, donc, les facteurs abiotiques semblent jouer un rôle important dans le contenu phénolique ou du pouvoir cytotoxique des extraits bruts. Sur la base de ces résultats, les deux plantes peuvent constituer une source potentielle d'agents cytotoxiques naturels. Des études *in vivo* sont nécessaires pour confirmer davantage la qualité avantageuse de ces extraits.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Abdelhafeez A. T., Harssema H., Veri G. and Vekerck K (1971). Effects of soil and air temperature on growth, development and water use of tomatoes. *Neth. J. Agric. Sci.*, 19 (6): 67-75.

AFNOR (Agence Française de Normalisation). (2000). Recueil de normes : les huiles essentielles. *Monographies relatives aux huiles essentielles (H à Y)*. AFNOR, Paris, 661.

Akroum S. (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Doctorat en science université de Constantine., 12-13.

Amaral, G.P.; de Carvalho, N.R.; Barcelos, R.P.; Dobrachinski, F.; Portella, R.D.; daSilva, M.H.; Lugokenski, T.H.; Dias, G.R.M.; da Luz, S.C.A.; Boligon, A.A.; Athayde, M.L.; Villetti, M.A.; Soares, F.A.A.; Fachineto, R. (2013). Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by thanol in rats. *Food Chem Toxicol*, 55 : 48-55.

Ames BN, Gold LS, Willett WC. (1995). The causes and prevention of cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 5258-65.

Amlan K., Patra J.S., (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. 71 : 1198–1222.

Anton R, (1999). Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinales, science et thérapeutique. 3e édition, Technique documentation, Paris, 22-30.

Anton R et Lobestein. (2005). Plantes aromatiques Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec ET DOC, paris, 522.

Aqel, M.B., (1991). Relaxant effect of the volatile oil of *Rosmarinus officinalis* on tracheal smooth muscle. *J. Ethnopharm.* Vol. 33: 57 – 62.

Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P. (1995). Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris.

Aruoma O.I., Spencer J.P.E., Butler J et Hlliwel B. (1995). Commùentary reaction of plant derived and syntitic antioxidants whith tricoloromethylperoxyl radicals. *Free rad. Res.* 22, 187-190.

Athamena S.(2009). Etude Quantitative Des Flavonoïdes Des Graines De *Cuminum Cyminum* Et Les Feuilles De *Rosmarinus Officinalis* Et L'évaluation De L'activite Biologique. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de magister Université El-Hadj Lakhdar-Batna.

B

Baize D. (2000), Guide des analyses en pédologie : choix, expression, présentation, interprétation. INRA. Paris, 625.

Références Bibliographiques

- Bahorun T.** (1997). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS. Food and agricultural research council. Reudit. Mauritius.
- Bajalan I, Rouzbahani R, Ghasemi Pirbalouti A & Maggi F.** Quali-quantitative variation of essential oil from Iranian rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) accessions according to environmental factors. Journal of Essential Oil Research, <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2017.1380542>
- Baker H. G.,** (1972). Seed weight in relation to environment conditions in California. *Ecol*, 53 (6): 997- 1010.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.,** (2008). Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology*. 46 : 446–475.
- Bagnouls, F., & Henri Gaussen,** (1957). Les climats biologiques et leur classification. *Annales de Géographie*, 66° année, N." 335:193-220.
- Baskin J. M., Ludlow C. J., Harris T. M. and Wolf F. T.** (1967). Psoralen, an inhibitor in the seeds of *Psoralea subacaulis* (Leguminosae). *Phytochemistry*, 6: 1209-1213.
- Barbero.M et Quezel P.** (1982). Caractérisation bioclimatique des étages de végétation forestière sur le pourtour méditerranéen. Aspects méthodologiques posés par la zonation. Coll. Int. Ecol. Haute altitude. 24:191- 202.
- Belâiche P.,** (1979). Traité de phytothérapie et l'aromatothérapie. Tome I : L'aromatogramme. Ed : maloine S.A., Paris, 204.
- Belgat, S.** (1987). Etude édaphique en vue de l'aménagement du cordon dunaire du littoral de la région de Mostaganem (Algérie). Doct-Ing. Univ. Aix Marseille III. 213.
- Bellakhdar, J.** (1997) La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed). Paris, 764.
- Beloued, A.** (1998) Plantes médicinales d'Algérie. 2ème Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger, 274.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A., Del Rio, J.A.** (1997). Uses and properties of Citrus flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 4505–4515.
- Bendif H.** (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse De Doctorat Présentée à L'école Normale Supérieure De Kouba-Alger, 115.
- Bengrba A.** (2008). Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *inula crithmoides l.* Mémoire de magister, université de Constantine.
- Bendahou, M.; Muselli, A.; Grignon-Dubois, M.; Benyoucef, M.; Desjobert, J.M.; Bernardini, J.F.; Costa, J.** (2007). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum*

Références Bibliographiques

glandulosum Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chem.* 106,132-139.

Bensatal A; Ouahrani MR. (2008). *Urological Research.*, 36(6), 283-287.

Bernardes, W.A.; Lucarini, R.; Tozatti, M.G.; Souza, M.G.M.; Silva, M.L.A.; da Silva, A.A.; Martins, C.H.G.; Crotti, A.E.M.; Pauletti, P.M.; Groppo, M.; Cunha, W.R. (2010). Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* against Oral Pathogens: Relevance of Carnosic Acid and Carnosol. *Chem. Biodivers.*, 7(7), 1835-1840.

Bidet D, Gagnault J, Girard P et Trotin F. (1987). Inflammation, allergie douleurs et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: les flavonoïdes. *L'actualité chimique.* 89-97

Bonniere .G, R. Douin (1992). *Labiata*, 5, 396.

Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Et Jovin E., (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia Officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 55, 7879–7885.

Bouakaz, I., (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.

Boulaaba, M.;Tsolmon, Soninkhishig.;Ksouri, R.;Han, J.;Kawada, K.;Smaoui A.;Abdelly, C.; and Isoda, H. (2013). Anticancer effect of *Tamarix gallica* extracts on human colon cancer cells involves Erk1/2 and p38 action on G₂/M cell cycle arrest. *Cytotechnology.* ,65(6), 927–936.

Boulaaba M, Snoussi M, Saada M, Mkadmini K, Smaoui A, Abdelly C, Ksouri R. (2015). *Industrial crops and products*, 76, 1114-1122.

Boudet A. M.(2000). L'usine chimique. 9^{ème}conférence de l'université de tous les savoirs. France, 1-16.

Boughrara B .(2016). Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala. THESE de Doctorat en Sciences, Université Badji Mokhtar-Annaba.

Bourgaud F. (1990). Etude de la biologie de plantes du genre *Psoralea* (Légumineuses), production de furocoumarines à intérêt pharmaceutique. Essais de culture *in-vitro*. *Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine en Sciences Agronomiques*, France, 135.

Bousbia N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, 53-58.

Boutekedjiret C, Bentahar F, Belabbes R and Bessiere J. (1998). The essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Essential Oil Research.*, 10:680–682.

Bouzaïd W. (2009). Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Mémoire de Magister, université de Batna, 16-25.

Références Bibliographiques

Bracke, M.; Vyncke, B.; Opdenakker, G.; Foidart, J.M.; De Pestel, G.; Mareel, M. (1991). Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro. *Clin Exp Metastasis.*, 9 :13-25.

Brotherson J. D., Field D., (1987). Tamarix: impacts of a successful weed. *Rangelands*, New Mexico, 3: 110-112.

Brownlee H, Hedjer J et Scott I. (1992). Effects of a range of procyanidins on the cocoa pathogen *Crinipallis perniciosa*. *Phys. Mol. Plant pathol.* 40, 227-232

Bruneton J., (1987). Mono et sesquiterpènes In éléments de phytochimie et de pharmacognosie. Ed : Tec & Doc., Lavoisier, Paris, 223-234.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.

Bruneton, J. (1999) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, 575.

Bukhari S A, Waqas A, Rasool N, Hussain A I, Tareen R B, Zia-Ul-Haq M, Moga M, Dima L, Festila D G. (2016). Biological Studies And GC/MS Analysis of *Tamarix arceuthoides*, Oxidation Communications., 39, 4(1):2999–3011

Bughio S H, Samejo M Q, Memon S, Bano S, Mughal M A & Memon A A. (2018). Chemical composition of the essential oils from *Tamarix dioica* and determination of its antibacterial activity. *International Journal of Food Properties.*: DOI: 10.1080/10942912.2017.1387138

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223-253.

C

Calabrese V., Scapagnini G., Catalano C., Dinotta F., Geraci D. Et Morganti P. (2000). Biochemical studies of a natural antioxidant isolated from rosemary and its application in cosmetic dermatology. *Int. J. Tissue React.*, Vol. 22: 5–13.

Calcabrini, A.; Stringaro, A.; Toccaceli, L; Meschini, S.; Marra, M.; Colone, M.; Salvatore, G.; Mondello, F.; Arancia, G.; Molinari, A. (2004). Terpinen-4-ol, the main component of *Melaleuca aitemifolia* (tea tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma cells. *J. invest. Dermatol.* 122, 349-360.

Callery & Emma. (1998). Le grand livre des herbes. Le guide pratique de la culture du séchage et des vertus de plus de 50 herbes. Edition Koinemancologue, 128.

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science.* 90 : 2580–2595.

Carmona-Ramirez, I.; Santamaria, A.; Tobon-Velasco, J.C.; Orozco-Ibarra, M.; Gonzalez-Herrera, I.G.; Pedraza-Chaverri, J.; Maldonado, P.D., Curcumin restores Nrf2 levels and prevents quinolinic acid-induced neurotoxicity, *J. Nutr. Biochem.* **2013**, *24*, 14–24.

Références Bibliographiques

Cattaneo L., Cicconi R., Mignogna G. (2015). Anti-proliferative effect of *Rosmarinus officinalis* L. extract on human melanoma A375 cells. *PLoS One*,10(7).

Celiktas O. Y, Hames Kocabas E. E., Bedir E., Sukan F. V., Ozek T., Baser K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100, 553-559.

Chaudhry, P.S.; Cabrera, J.; Juliani, H.R.; Varma, S.D. (1983). Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochem Pharmacol.* 32:

Chadhary S.K., Ceska O., Warrington P.J. et Ashwood-Smith M. J. (1985). Increased furocoumarin content of celery during storage. *J. Agr. Food. Chem.*, **33** (6):1153-1157.

Chalchat, J C, Garry R P, Michet A, Benjlali B and Chabart J. (1993). Essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). The chemical composition of oils of various origins (Morocco, Spain, France). *Journal of Essential Oil Research.*, 5:613–618.

Chang S.S., Ostric-Manjasevic B., Hsieh O.L. Et Huang C.L. (1977). Natural antioxidants from Rosemary and sage. *J. Food Sci.* Vol. 42: 1102 – 1106.

Chaturvedi S, Drabu S, Sharma M. (2012). Antioxidant activity total phenolic and flavonoid content of aerial parts of *Tamarix gallica*. *International Journal of Phytomedicine*, 176.

Cheung S. et Tai J. (2007). Anti-proliferative and antioxidant properties of rosmarin *Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports.*, **17** (6) : 1525-1531.

Chevallier, A (2001). *Encyclopedia of medicinal plants* 2nd edition, 10.

Clevenger, J.F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **17**, 341.

Chemat F., M. Abert Vian, O. Dangles. (2007) *International Journal of Essential Oil Therapeutics*,1.

Couderc V.L. (2001). Toxicité des huiles essentielles. Thèse de grade Docteur Vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse, 61.

Crins W. J., (1989).The Tamaricaceae in the Southern United States. *J. Arboretum*, 70: 403-425.

Croteau R., Kitchan T.M., Lewis N.G. (2000). Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Buchanan B., Griseham W, Jones R. (eds). *Americ. Soc. of Plant Physiologists*. 1250-1318.

D

Dacosta, E. (2003). *Les phytonutriments bioactifs*. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317.

Dagneli. P. (2009). *Statistique descriptive et base de l'inférence statistique*. Bruxelles-université. DE BOEK et LARCIER, 511.

Références Bibliographiques

- Das H, Wong J et Lien E.** (1994). Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity-relationship (SSAR) analysis.
- Delporte. G., Mascolo. N., Izzo. A. A.** (1999). *Life. Scien.*, 65(4), 337-53
- De Oliveira M, Sampaio M, Simon F, Gibert B et Mors W.** (1972). Antitumor activity of condensed flavonols. *An.Acad. Brazil.* 41-44
- Demirtas, I.; Sahin-Yaglioglu, A.** (2012). Bioactive Volatile Content of the Stem and Root of *Centaurea carduiformis* C. subsp. *carduiformis* var. *carduiformis*. *Journal of Chemistry*.;doi: 10.1155/2013/125286.
- Derango, R.; Page, J.** (1996). The quantitation of coupled bead antibody by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Immunoassay*, 17:145-53
- De Sousa, A.; Alviano, A.; Blank, A.; Alves, P.; Alviano, C; Gattass, C.** (2004). *Melisa officinalis* L essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *J. Pharm. Pharmacol.* 56, 677-681.
- Dias P.C., Foglio M.A., Possenti A. et De Carvalho J.E.** (2000). Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L., *J. Ethnopharmacol.* Vol. 69: 57 – 62
- Diallo, D., Maiga, A., Chiaka, Diakitè. Et Merlin, Willcox.** (2005). development of an antimalarial phytomedicine in Mali. In *Traditional Herbal Medicines for Modern times: Traditional medicinal plants and Malaria* edited by Merlin Willcox, Gerard Bodeker and Philippe Rasoanaivo, CRC PRESS, London, 117-130.
- Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A.A.; Capasso, F.** 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Review. Life Sci.*, 65: 337-53.
- Didry N, Pinkas M et Torck M.** (1982). La composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *gairdelia*. *PI med. Phytother.* XVI. 7-15
- Dimitrijevic S. I., K. R. Mihajlovski, D. G. Antonovic, M. R. Milanovic-Stevanovic, D. Z. Mijin.** (2007). A study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal dose of lactic acid and essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Origanum vulgare* L. *Food Chemistry*, 104, 774-782.
- Djebaili, H** (2013). L'effet des facteurs d'environnement sur la variation de quelques métabolites secondaires chez deux espèces médicinales : *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressacées) et *Schinus molle* L. (Anacardiacees). Mémoire de Magister, université d'Oum El Bouaghi, 3-4.
- Djeddi, S., Bouchenah, N., Settar, I. and Skaltsa, H.D.** (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds* 43(4): 487-490.
- Djeddi S.** (2012). Les huiles essentielles « des mystérieux métabolites secondaires ». manuel de formation destiné aux étudiants de master, 40-41.

Références Bibliographiques

Djurdjevic L., Mitrovic M., Avlovic P., Gajic G., Ostic O., (2006). Phenolic acids as bioindicators of flyash deposit revegetation. *Arch Environ Contam Toxicol*, 50(4):488–495.

Domart A et Bourneuf J, (1981). Le nouveau Larousse médical. Edition Hérissé et Jombart, 778.

Doudach, L.; Benbacer, L.; Meddah, B.; Faouzi, M.E.A.; Hammani, K.; El Mzibri, M.; Herrah, Y., Extract of 1:5 mixture of five Moroccan medicinal plants has cytotoxic effect on some human cancer cell lines, *Int. J. Pharm.* **2013**, 3, 301-307.

Drabu. S, Chaturvedi. S, Sharma. M. (2012). *Tamarix gallica* – An Overview *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 5, Issue 3, 2012, 17-19

Dubai, N.; Larkov, O.; PuTievsky, E.; Lewinsohn, E. (2001). *Annals of Botany*, 88, 349-354

Duchauffour. Ph. (1984). Pédologie, Edition Masson, Paris. 220p.

E

Edris, A.E.; Shalaby, A.; Fadel, H. (2003). Evaluation of a chemotype of spearmint (*Mentha spicata* L.) growing in Siwa Oasis, Egypt. *Eur. Food Technol.* 218, 74-78.

Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

Emberger, L. (1955). Une classification biogéographique des climats. Recueil. Trav. Lab. Géol. Zool. Fac. Sci. Montpellier, 3-43.

Emerenciano V. P., Barbosa K. O., Scotti M. T. et Ferrero M. J. P. (2007). Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of Brazilian Chemical Society*, **18** (5) : 891-899.

Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. (2008) Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem.* 110: 76-82.

F

Fabian, D.; Sabol, M.; Domaracké, K.; Bujnéková, D. (2006). Essential oils – their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicol. in vitro* 20, 1435-1445.

Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. 64 (2): 159-164.

Fattahi, S.; Ardekani, A.M.; Zabihi, E.; Abedian, Z.; Mostafazadeh, A.; Pourbagher, R.; Akhavan-Niaki, H., Antioxidant and apoptotic effects of an aqueous extract of *Urtica dioica* on the MCF-7 human breast cancer cell line, *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **2013**, 14, 5317-5323

Flück, H., (1955) The influence of climate on the content of active principles in medicinal plants ", *J. Pharm. Lond.*, 7, 361-383

Références Bibliographiques

Frankel E. N., Huang S.W., Kanner J. and German J. B. (1994) Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs. emulsions. *J. Agric. Food Chem.* **42**:1054-1059.

Funatogawa K, Hayashi S, Shimomura H, Yoshida T, Hatano T, Ito H, Hirai Y. (2004) Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.*, 48 (4): 251-61

G

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Astaneh S. A., Rasooli I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102, 898-904.

Gîrd C E, Nencu I, Popescu M L, Costea T, Duțu L E, Balaci T D, Olaru O T. (2017). Chemical, Antioxidant and Toxicity Evaluation of Rosemary Leaves and its Dry Extract, *Farmacia* , 65, (6): 978-983

Genena A.K, Haihou H, Artur Smania J, Simone M de Souza. (2008). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*)- a Study of the composition ,antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Tec de alim* , 28(2): 463-469.

Gerwick WH, Fenical W., et Norris JN. (1985): Chemical variation in the tropical seaweed *Styopodium zonale* (Dictyotaceae). *Phytochem.* 24: 1279 - 1283.

Ghermaoui. M. (2006). Contribution a une étude écologique du genre *Rhamnus* dans la région de Tlemcen (Oranie- Algérie), Mémoire de fin d'étude, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, 153.

Gonzalez-Trujano, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara-Fefér, P., Deciga Campos, M., Lopez-Munoz, F.J. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* **111**: 476-482.

Goudjil M.B, Ladjel S, Bencheikh E.D , Zighmi S. (2015). Influence du séchage sur le rendement de l'extraction des huiles essentielles de *Mentha piperita*.

Granger et al., (1973). L'essence de *Rosmarinus officinalis* L. influence du mode de traitement du matériel végétal.

Guignard J.L. (1983), *Abrégé de botanique*, Masson, 5^{ème} édition, Paris, 259.

Guignard, J. L.(2000). *Biochimie végétal*. 2^o édition. Dunod, Paris, ISBN 2 10004527.

Guignard J. L., (2001). *Botanique systématique moléculaire*, Masson, Paris, 221-225.

Gurbuz B, Bagdat R B, Uyanik M and Rezaeieh K A P. (2015). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) cultivation studies under Ankara ecological conditions. *Industrial Crops and Products*. 2016, 88:12–16, DOI 10.1016/j.indcrop..12.028

H

Habiba U; Bose U; Rahman AA. (2010). *Pharmacologyonline.*, 1, 275-283.

Références Bibliographiques

Hacini, N. (2007). Biologie, Autoécologie et Phytochimie d'une plante médicinale « *Cytisustriflorus* » au niveau de l'aulnaie de Ain Khia, site classé du parc National d'El Kala. Mémoire de Magistère. Univ Annaba. 57-59.

Hale A. L., Meepagala K. M., Oliva A., Aliotta G., Duke S. O. (2004). Phytotoxins from the Leaves of *Ruta graveolens*. *J. Agric. Food Chem.* **52**(11): 3345-3349.

Haloui M., Louedec L., Michel J.-B. Et Lyoussi B., (2000). Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *J. Ethnopharmacol.*, Vol. 71, pp : 465 – 472.

Hart, P.H.; Brand, C; Carson, CF.; Riley, T.V.; Prager, R.H.; Finlay-Jones, J.J. (2000). Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Malaleuca altemifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm. Res.* **49**, 619-626.

Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* **96**, 67– 202.

Hayase F et Kato M. (1984). Antioxydant compounds of sweet potatoes. *J. Nutri. Sci. vitaminol.* **30**, 37-46.

Hcini K, Sotomayor J A, Jordan M J and Bouzid S. (2013). Chemical Composition of the Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) of Tunisian Origin. *Asian Journal of Chemistry.*, **25**(5): 2601-2603

Ho, S.C., Tsai, T.H., Tsai, P.J., Lin, C.C. (2008). Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology.* **46**: 920-928.

Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact.*, **139**: 1–21.

Huang M. T., Ho C. T., Wang Z. Y., Ferraro T., Lou Y. R., Stanber K., Ma W., Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Rizenhaler C., Meyer D., Lepierre C., Pollet B. et Legrand M. (1994). Silencing of Hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell.*, **16** (4) : 1446-1465.

Hutzler P., Fishbach R., Heller W., Jungblut T. P., Reuber S., Schmitz R., Veit M., Weissenböck G. et Schnitzler J. P. (1998). Tissue localisation of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *Journal of experimental botany.*, **49** (323) : 953-965.

I

Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F. J., Cavero S., Reglero G. et Hawthorne S. B. (2003). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary Plants. *Journal of Agricultural and Food Chem.*, **51** (2): 375-382.

J

Jitaru M., Lowy D. A., Toma M., Toma B. C., Oniciu L. (1997). Electrochemical reduction of carbon dioxide on flat metallic cathodes, *Journal of Applied Electrochemistry*, **27**: 875-989.

Références Bibliographiques

JiL.Xu.Z., PanJ.,YangJ., (1997).GC-MS analysis of constituents of essential oilfrom twigs and leaves of *Tamarix Chinensis* Lour. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 22: 360-362.

Jung K.J., Min K.J., Bae J.H. (2015). Carnosic acid sensitized TRAIL-mediated apoptosis through down-regulation of c-FLIP and Bcl-2 expression at the post translational levels and CHOP-dependent up-regulation of DR5, Bim, and PUMA expression in human carcinoma caki cells. *Oncotarget*, ; 6(3) ; 1556-68

K

Kahoul I, (2010). Effet Antioxydant D'extraits De Plantes (*Laurus Nobilis* L., *Rosmarinus Officinalis*, *Origanum Majorana*, *Oléa Europea* L.) Dans L'huile De Canola Chauffée, 39.

Kaloustian J. J., Chevalier. C., Mikail. M., Martino. L., Abou. M.-F. (2008). Vergnes *Phytothérapie*, 6, 160–164

Kapoor S. (2013) Carnosic acid and its inhibitory effect on tumor growth in systemic malignancies. *Oral Diseases*,19: 427.

Katerinopoulos H. E., Pagona G., Afratis A., Stratigakis N., Roditakis N. (2005). Composition and insect attracting activity of the essential oil of *rosmarinus officinalis*. *Journal of Chemical Ecology*, 31 : 111–122.

Kendour, Z.; Ladjel, S.; Gherraf, N.; Ouahrani, M.R., Antimicrobial activity of nine medicinal plants growing in the south of Algeria, *Annals of Biological Research*, 2010, 1 (4): 145-14.

Kenny TP, Keen CL, Schmitz HH, Gershwin ME. (2007). Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Exp. Biol. Med.*, 232:293-300.

Koldaş, S.; Demirtas, I.; Ozen, T.; Demirci, M.A.; Behçet, L. (2015) Phytochemical screening, anticancer and antioxidant activities of *Origanum vulgare* L. ssp. *viride* (Boiss.) Hayek, a plant of traditional usage. *J. Sci. Food Agric.* 95:786-1482.

Krief S.(2003). Métabolites Secondaires Des Plantes Et Comportement Animal. Thèse de doctorat du muséum national d'histoire naturelle, 18.

Ksouri R , Hanen Falleh a,c, Wided Megdiche a, Najla Trabelsi a, Baya Mhamdi b, Kamel Chaieb d, Amina Bakrouf d, Christian Magné c, Chedly Abdelly . (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology* 47 (2009) 2083–2091

Ksouri R, Megdiche W, Debez A, Falleh H, Grignon C, Abdelly C.(2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*.

Kukreja, A. K., Dhawan, O. P., Ahuja, P. S, Shunshil, K.& Kumar, S. (2000). Yield potential and stability behaviour of in vitro derived somaclones of Japanese mint (*Mentha arvensis*) under different environments. *J Genet Breed*; 54: 109-115.

L

Laib I. (2011). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de magister, université de Constantine, 21-30

Références Bibliographiques

Lainé E, Hano C, Lamblin F. (2007). Les lignanes phyto-oestrogènes du lin sont-ils des bienfaiteurs méconnus *Phytothér.* 5: 121-8.

Lakušić D V, Ristić M S, Slavkovska V N, ŠinžarSekulić J B and Lakušić B S. (2012). Environment-related variations of the composition of the essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in the Balkan Peninsula. *Chemistry & Biodiversity*, 9, 1286–1302. doi: 10.1002/cbdv.201100427

Lefahal, M.; Benahmed, M.; Louaar, S.; Zallagui, A.; Duddeck, D.; Medjroubi, K.; Akkal, A. (2010). Antimicrobial Activity of *Tamarix gallica* L. Extracts and Isolated Flavonoids. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 4(3), 289-292

Lefahal, M.; Zaabat, N.; Djarri, L.; Benahmed, M.; M, Kamel; Laouer, H.; Akkal,S., Evaluation of the antioxidant activity of extracts and flavonoids obtained from *Bunium alpinum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) and *Tamarix gallica*L. (Tamaricaceae) *Curr, Issues Pharm. Med. Sci.*, **2017**, 30(1), 5-8.

Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C. 1. (1996). Study of the embryotoxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). *Brazilian journal of medical and biological research.*, **29** (2) : 223-227.

Leplat M. (2017). Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de docteur en pharmacie, Université d'Aix-Marseille.

Leung, A.Y. Et Foster, S. (1996). *Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Foods, Drugs, and Cosmetics*, second ed. Wiley, New York, 446–448.

Liusia J et Penuelas J. (2000). Seasonal patterns of terpene content and emission from seven Mediterranean woody species in field condition *American journal of botany.*, 87, 133 – 140.

Loreto, F., Forster, a, Durr, M., Csiky, O., Seufert, G. (1998). On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes. *Plant, Cell and Environment* 21, 101-107.

Lucchesi, M.E.; Smadja, J.; Bradshaw, S.; Louw, W.; Chemat, F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *J. Food Engineer.* 79,1079-1086.

Lucarini, R.; Bernardes, W.A.; Ferreira, D.S.; Tozatti, M.G.; Furtado, R.; Bastos, J.K.;Pauletti, P.M.; Janeiro, A.H.; Silva, M.L.A.E.; Cunha, W.R.(2013). In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of *Rosmarinus officinalis* aqueous extracts, rosmarinic acid and its acetyl ester derivative. *Pharm Biol* , , 51(9), 1087-1090.

Luicita. L R. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.

M

Ma C.H.; Song, K.G.; Yu, J.H.; Yang, L.; Zhao, C.J.; Wang, W.J.; Zu, G.; Zu, Y.G. (2013). Pyrolysis process and antioxidant activity of pyroligneous acid from *Rosmarinus officinalis* leaves. *J Anal Appl Pyrolysis.*, 104, 38-47.

Références Bibliographiques

- Mabry T et Ulubelen A. (1980). Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins and lignans. *J. Agric. Food Chem.* 28, 188-196
- Machado, D.G.; Cunha, M.P.; Neis, V.B.; Balen, G.O.; Colla, A.; Bettio, L.E.B.;Oliveira, A.; Pazini, F.L.; Dalmarco, J.B.; Simionatto, E.L.; Pizzolatti, M.G.;Rodrigues, A.L.S. (2013). Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol andbetulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *Food Chemistr.*, , 136(2), 999-1005.
- Macheix J. J., Fleuriet, A. et Jay, A. C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaire d'importance économique, presses polytechnique et universitaires romandes, p Viii, 1, 3, 5, 7, 10.
- Madjour S. (2014). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* master. Mémoire de Master, université Biskra, 15.
- Maignien. R. (1969), Manuel de prospection pédologique, Série ORSTOM, 11eme édition, 132.
- Makimura, M.; Hirasawa, M.; Kobayashi, K.; Indo, J.; Sakanaka, S.; Taguchi, T.; Otake, S. (1993). Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity. *J Periodontol.* 64: 630-636.
- Malešev D. et Kuntić V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society.*, 72 (10) : 921-939.
- Mangena T., Muyima N. Y. O. (1999). Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*, 28, 291-296.
- Marfak Abdelghafour. (2003). Radiolyse Gamma Des Flavonoides. Etude De Leur Reactivite Avec Les Radicaux Issus Des Alcools : Formation De Depsides. Thèse de doctorat université limoges, 40-42
- Marian P. (2008). Etude Des Huiles Essentielles D'espèces Végétales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activités Pharmacologiques Et Hémi-Synthèse. Université de Québec, 5-31
- Maruyama, N.; Sekimoto, N.; Ishibashi, H. (2005). Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *J. inflamm*, 2,1-11.
- Masquelier J, Dumon M et Dumas J. (1979). Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique.* 1, 101-104.
- Mehrizi M. Hejazi , Shariatmadari.H, Khoshgoftarmanesh.A.H, and F. Deghani. (2012) .Copper Effects on Growth, Lipid Peroxidation, and Total Phenolic Content of Rosemary Leaves under Salinity Stress *J. Agr. Sci. Tech*, (14): 205-212.
- Mengel, P.; Beh, D.; Bellido, G.M.; Monpon, B. (1993). VHMD: extraction d'huile essentielle par micro-ondes. *Parfums Cosmétiques Arômes* 114, 66-67.

Références Bibliographiques

Middleton Jr E, Kandaswami C & Theoharides TC. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.* 52, 673-751

Milner, J.Â. (2001). A historical perspective on garlic and cancer. Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as a supplement. *J. Nutr.* 131, 1027- 1031.

Milner, J.Â. (2006). Preclinical perspectives on garlic and cancer. Significance of garlic and its constituents in cancer and cardiovascular disease. *J. Nutr.* 136, 827-831.

Mirza KalamUrfi, Md. Mujahid, Badruddeen, JuberAkhtar, Mohammad Khalid, Mohammad Irfan Khan and AfreenUsmani. (2016). *Tamarix gallica*: For traditional uses, phytochemical and pharmacological potentials, 810-813.

Mockute, D.; Bernotiene, G.; Judzentiene, A. (2001). The essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Phytochemistry* 57, 65-69.

Muchuweti M., Kativu E., Mupure C. H., Chidewe C., Ndhala A. R. et Benhura M. A.N.(2007). Phenolic composition and antioxidant properties of some species. *Amer j of food tech.*, 2 (5) : 414-420.

Munoz-Munoz, J.L.; Garcia-Molina, F.; Ros, E.; Tudela, J.; Garcia-Canovas, F.;Rodriguez-Lopez, J.N. (2013). Prooxidant and Antioxidant Activities of Rosmarinic Acid. *J Food Biochem.*, 37(4), 396-408

N

Naveed SA; Reddy MS; Kumar CHP; Suhasini B; Dontamalla SK. (2015). *International Journal of Pharmacy.*, 6(4) :7880-7895.

Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology.*, 33 : 2-16.

Nawwar M.A.M., Hussein S.A.M., (1994).Gall polyphenolics of *Tamarix aphylla*. *Phytochemistry*, 36(4):1035-1037.

Nelroy E. Jackson,(1996). Chemical Control of Saltcedar (*Tamarix ramosissima*),Saltcedar Management Workshop, The Agricultural Group, Monsanto Company.

Népomuscène M. J.. B.sc. Chem. Eng.(1995).Caractérisation des huiles essentielles du bleuet nain, *vaccinium angustifolium* aiton. Thèse de l'Université du Québec à Chicoutimi.

O

Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., Malnoë A. et Pfeifer A. M. (1995). Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis.*, 16 (9) : 2057-2062.

Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K. ET Y a g h i A. (1994). Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*, 37 (5): 1463-1466.

Références Bibliographiques

Okuda T, Kimura Y, Yoshida T, Hatano T, Okuda H et Arichi S. (1983). Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal and drugs. Inhibitory effects of lipid peroxidation in mitochondria and microsome of liver. *Chem. Pharm. Bull.* 31, 1625-1631

Ojeil A., El Darra N., El Hajj Y., Bou Mouncef P., Rizk T. J. et Maroun R. G., (2010). Identification et caractérisation de Composés phénoliques extraits du Raisin chateau ksara. *Lebanese Science Journal*, 11,2.

Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat science*; vol 73 : 236-244.

P

Paris A., Strukelj B., Renko M., Turk V., Pukl M., Umek A. et Korant B. D. (1993). Inhibition effects of carnosic acid on HIV-I protease in cell free assays. *Journal of natural products.*, **56** (8) : 1426-1430.

Pathak M. A., Farrington D. J. and Fitzpatrick T. B. (1962). The presently known distribution of furocoumarins (psoralens) in plants. *Journal of investigative Dermatology*, **39**: 225-299.

Pauli, A. (2001). Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11, 126-133.

Pérez M. B., Calderón N. L. et Croci C. A. (2007). Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). *Food chemistry.*, 104 : 585-592.

Petiwala S.M., Johnson J.J. (2015). Diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): defining their potential for anti-cancer activity. *Cancer Letters*, 367 : 93-102

Pillet J.(2011). Impact du microclimat sur le métabolisme de la baie de raisin. Thèse de Doctorat De L'université Bordeaux 2, 28.

Pino J A, Estarrón M and Fuentes V. (1998). Essential oil of rosemary (*Rosemary officinalis L.*) from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 10:111–112.

Porter N., (2001). Essential oils and their production. *Crop & Food Research*. Number 39.

Q

Quezel P., Santa S.,(1963).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS,Paris.

R

Ramade, F. (1984). *Elément d'Écologie fondamentale*. Dunod, Paris.

Randrianarivelo R. (2010). Etude De L'activité Antimicrobienne D'une Plante Endémique De Madagascar« *Cinnamosma Fragrans* », Alternative Aux Antibiotiques En Crevetticulture, thèse de doctorat en Science de la vie de l'Université d'Antananarivo, 10.

Références Bibliographiques

Rasmussen, K. E. et Baerheims V. (1972). Quantitative determination of the various compounds of the volatile oil in small amounts of plant material by means of gas liquid chromatography. Terpenes and related compounds XVIII, Pharm Weekblad, 107, 277-284.

Ravn H, Andary C, Kovacs G et Molgaard P. (1984). caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. Biochimie. Syst. Ecol. 17, 175-184

Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Pearson DA, Schmitz HH, Gosselin R, Keen CL. (2000). Cocoa inhibits platelets activation and function, Am. J. Clin. Nutr. 72:30-5.

Ribereau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod.paris.

Richard, H. (1992). Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier. Paris, 339 .

Rivero, R.M., Ruiz, J.M., García, P.C., López-Lefebvre, L.R., Sánchez, E., Romero, L. (2001). Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. Plant science (Shannon, Ireland) 160, 315-321.

Robert, G. (2000). Les Sens du Parfum. Osman Eroyles Multimedia. Paris, 224.

Robert A. et Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 522.

Rouvillois & Brigol N. (1975) : Le pays de Ouargla variation et organisation d'un espace rural en milieu désertique. Univ. Sorbone, Paris.

Ruggiero P, Tombola F, Rossi G, Pancotto L, Lauretti L, Del Giudice G, Zoratti M. (2006). Polyphenols reduce gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection or VacA toxin administration in mice. Antimicrob. Agents Chemother. 50 (7): 2550-52.

S

Saïdana D, Mahjoub M A, Boussaada O, Chriaa J, Chéraïf I, Daami M, Mighri Z, Helal A N. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of volatile compounds of *Tamarix boveana* (Tamaricaceae). Microbiol Res. , 163(4):445-55. doi:10.1016/j.micres.2006.07.009

Samate A.D. (2002). Compositions Chimiques D'huiles Essentielles Extraites De Plantes aromatiques De La Zone Soudanienne Du Burkina Faso: Valorisation. Diplômé d'Études approfondies Docteur de 3ème cycle (Mention: Chimie Organique univ de Ouagadougou, 21-22

Sehrawat A; Sultana S.(2006). Life Sciences, 79(15) :1456-1465.

Simirgiotis M. J., Schmeda-Hirschmann G. (2013). Antioxidant capacity, polyphenolic content and tandem HPLC-DAD-ESI/MS profiling of phenolic compounds from the south American berries *Luma apiculata* and *L. chequén*, Food chemistry, 139: 289-299.

Souza C. R. F., Schiavetto I. A., Thomazini F. C. F. et Oliveira W. P. (2008). Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spotted bed dryers. *Brazilian journal of chemical engineering.*, 25 (1) : 59-69.

Références Bibliographiques

Srivastava RC, Husain MM, Hasan SK, Athar M. (2000). Green tea polyphenols and tannic acid act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties. *Cancer Lett.*, 153 (1-2): 1-5

Stavric B et Matula T. (1992). Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. 274-294

Stefanovits-Banyai E., M. H. Tulok, A. Hegedus, C. Renner, I. S. Varga, (2003). *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4), 111-113.

Sultanova, N., Makhmoor. T., Abilov Z. A., Parween Z., Omurkamzinova V. B., Atta-ur-Rahman., Iqbal Choudhary M., (2001). Antioxidant and antimicrobial activities of *Tamarix ramosissima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 78: 201-205.

Sylvestre, M.; Legault, J.; Dufour, D.; Pichette, A. (2005). Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L *Phytomedicine* 12, 299-304.

Sylvestre, M.; Pichette, A.; Lavoie, S.; Longtin, A.; Legault, J. (2007). Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrina*: L *Phytother. Res.* 6, 536 540.

T

Tagarelli, G., Tagarelli. A.; and Piro, A. (2010). Folk medicine used to heal malaria in Calabria (southern Italy). *J. Ethnobiol. Ethnomed*, 6, 27-27

Tavassoli S and Emam D Z. (2011). Total Phenols, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Methanol Extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Global Veterinaria*, 7 (4): 337-341

Touafek O, (2010). Etude Photochimique De Plantes Médicinales Du Nord Et Du Sud Algériens. Thèse de doctorat en science, université de Constantine, 226-227.

Tsai, P., Tsai, T., Ho, S. (2007) *In vitro* inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food Chem.* (in press).

V

Van Acker, S., van Balen, G.P., van den Berg, D.J., van der Vijgh, W.J.F. (1996). Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56 : 935–943.

Valls R, Piovetti L., et Praud A. (1993): The use of diterpenoids as chemotaxonomic markers in the genus *Cystoseiraceae*. *Hydrobiol.* 260-261: 549-556.

Valls R., et Piovetti L. (1995) : The chemistry of the *Cystoseiraceae* (Fucales: Phaeophyceae): Chemotaxonomical relationships. *Biochem. Syst. Ecol.* 23: 723 - 745.

Vilain, M. (1987). La production végétale. Les composants de la production. Volume 1. Tec & Doc.

Références Bibliographiques

Vu T D. (2008). Effets de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill cultivé en conditions hors sol ; impact des facteurs biotiques et abiotiques, thèse de doctorat à l'INPL , 17 : 71-80.

W

Wahid, A., (2007). Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. Journal of plant research 120, 219-28.

Wang W., Wu N., Zu Y. G. and Fu Y. J. (2008). Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L oil compared to its main compounds. *Food chemistry.*, **108** (3) : 1019-1022.

Wang, H.; Liu, F.; Yang, L.; Zu, Y.G.; Wang, H.; Qu, S.Z.; Zhang, Y. (2011). Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food chemistr.*, *128*(1), 93-99.

W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J. (2007). Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, **137** (3 supp 1) : 718 s-737 s.

Y

Y.; Li, M.; Wang, L.; Jiang, Z.; Li, W.; Li, H. (2004). Induction of apoptosis of cultured hepatocarcinoma cell by essential oil of *Artemisia annul* L. Sichuan Da ue Xue Bao Yi Xue Ban (article en chinois). 35, 337-339.

Yamanaka N, Samu O, Nagao S. (1996). Green tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate Cu²⁺ induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. *FEBS Lett*, 401: 230-4.

Yang R. Y., Lin S. et Kuo G. (2008). Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition*. 17 (S1): 275-279.

Younous C., Soulimani R., Seddiqui N., Baduri O., Dicko A., (2005). Etude ethnobotanique et historique des tamaris (*Tamarix* sp ., tamaricaceae) et leur usages actuels en Afganistan. *Phytothérapie*, 6 : 248-251.

Z

Zaouli Y., Boussaid M. (2008). Isozyme markers and volatiles in Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae): A comparative analysis of population structure *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 11-21.

Zeghad, N (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister, université de Constantine, 8-10

Ziech, D.; Anastopoulos, I.; Hanafi, R.; Voulgaridou, G.P.; Franco, R.; Georgakilas, A.G.; Pappa, A.; Panayiotidis, M.I., Pleiotrophic effects of natural products in ROS-induced carcinogenesis: the role of plant derived natural products in oral cancer chemoprevention, *Cancer Lett.* **2012**, *327*, 16–25.

Références Bibliographiques

Zobel A. M. and Brown S. A. (1990). Dermatitis-inducing furanocoumarins on leaf surfaces of eight species of Rutaceous and Umbelliferous plants. *Journal of Chemical Ecology* **16**, 3: 693-700.

ANNEXES

Annexes

Annexe 1 : Données climatiques des trois sites d'étude (2006-2015)

Données climatiques de la région de Ouargla (2006-2015) (O.N.M, 2015).

| Paramètres Mois | T (°C) | | | P (mm) |
|--------------------|--------|--------|--------|--------|
| | T min. | T max. | T moy. | |
| Janvier | 6,36 | 19,95 | 13,16 | 9,42 |
| Février | 6,29 | 21,48 | 13,89 | 3,16 |
| Mars | 10,00 | 26,46 | 18,23 | 2,93 |
| Avril | 14,48 | 31,69 | 23,09 | 1,78 |
| Mai | 19,51 | 36,11 | 27,81 | 1,61 |
| Juin | 24,24 | 41,05 | 32,64 | 0,79 |
| Juillet | 27,61 | 44,10 | 35,86 | 0,35 |
| Aout | 27,25 | 43,32 | 35,28 | 0,56 |
| Septembre | 23,03 | 38,79 | 30,91 | 3,73 |
| Octobre | 16,69 | 32,74 | 24,71 | 4,14 |
| Novembre | 9,79 | 25,19 | 17,49 | 1,16 |
| Décembre | 5,50 | 20,02 | 12,76 | 3,78 |
| Moyenne | 15,90 | 31,74 | 23,82 | 2,78 |

Données climatiques de la région d'Oum El Bouaghi (2006-2015) (O.N.M, 2015).

| Paramètres Mois | T (°C) | | | P (mm) |
|--------------------|--------|--------|-------|--------|
| | T min. | T max. | T moy | |
| Janvier | 1,1 | 11,95 | 7,14 | 36,90 |
| Février | 1,15 | 11,35 | 5,95 | 30,64 |
| Mars | 3,70 | 15,65 | 9,55 | 40,45 |
| Avril | 6,85 | 20,75 | 13,90 | 40,45 |
| Mai | 9,75 | 24,94 | 17,50 | 50,15 |
| Juin | 14,60 | 30,15 | 22,65 | 7,15 |
| Juillet | 17,75 | 34,80 | 26,45 | 11,25 |
| Aout | 17,95 | 34,35 | 26,05 | 14,35 |
| Septembre | 14,85 | 28,55 | 21,90 | 39,30 |
| Octobre | 11,35 | 24,05 | 17,15 | 29,75 |
| Novembre | 5,60 | 16,50 | 11,50 | 13,40 |
| Décembre | 1,80 | 12,30 | 7,15 | 22,40 |

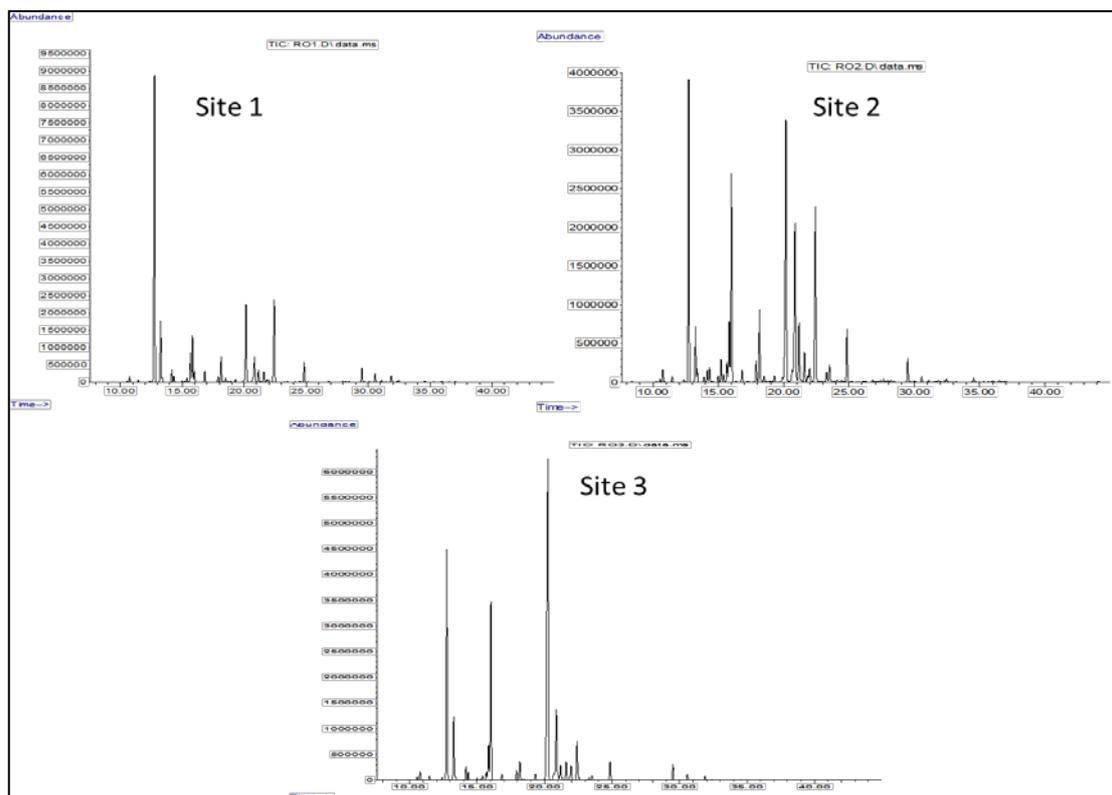
Annexes

Données climatiques de la région d'El Taref (2006-2015) (O.N.M, 2015).

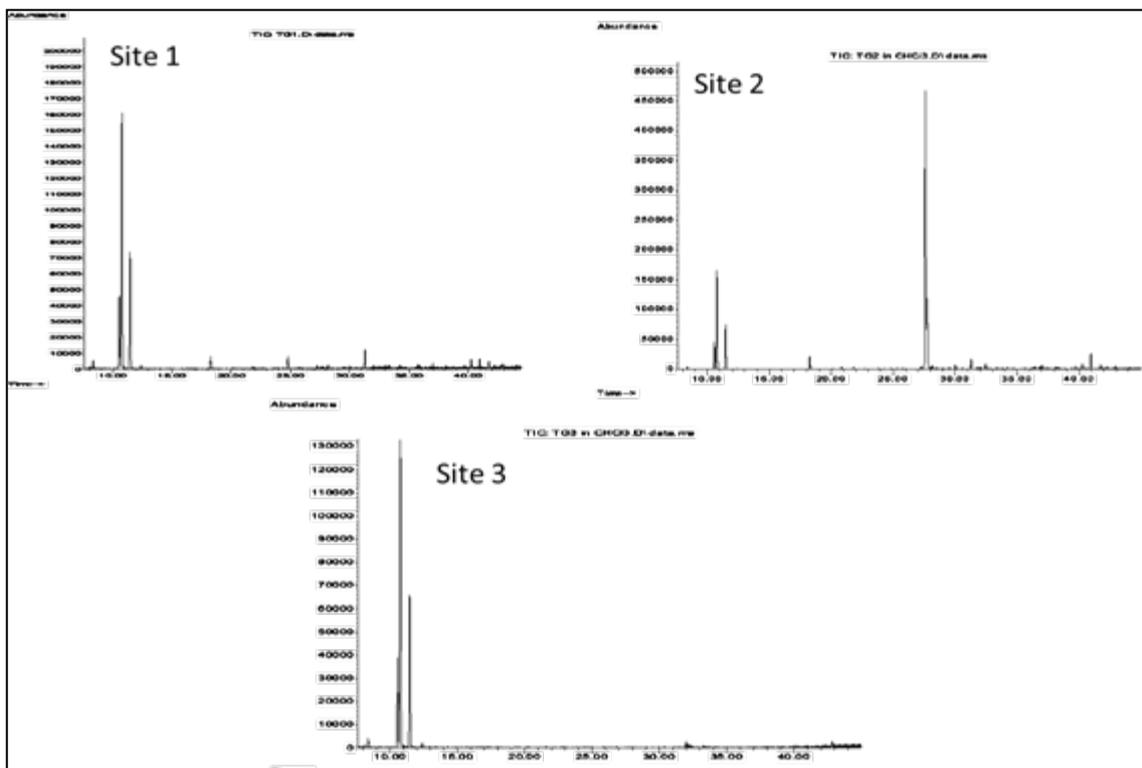
| Paramètres Mois | T (°C) | | | P (mm) |
|--------------------|--------|--------|--------|--------|
| | T min. | T max. | T moy. | |
| Janvier | 7,39 | 16,58 | 11,23 | 102,80 |
| Février | 6,54 | 17,05 | 10,88 | 102,55 |
| Mars | 8,35 | 18,23 | 12,84 | 72,33 |
| Avril | 10,35 | 21,06 | 15,74 | 29,60 |
| Mai | 13,25 | 24,65 | 18,63 | 29,55 |
| Juin | 16,03 | 27,3 | 22,28 | 3,85 |
| Juillet | 19,55 | 30,85 | 25,23 | 2,10 |
| Aout | 19,80 | 31,30 | 25,68 | 13,40 |
| Septembre | 18,89 | 29,10 | 23,53 | 35,95 |
| Octobre | 15,71 | 26,63 | 20,67 | 64,55 |
| Novembre | 11,66 | 21,20 | 15,50 | 66,75 |
| Décembre | 8,05 | 17,45 | 11,90 | 86,80 |

Annexe 2: Chromatogrammes des huiles essentielles

GC /MS de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* pour les trois sites d'étude

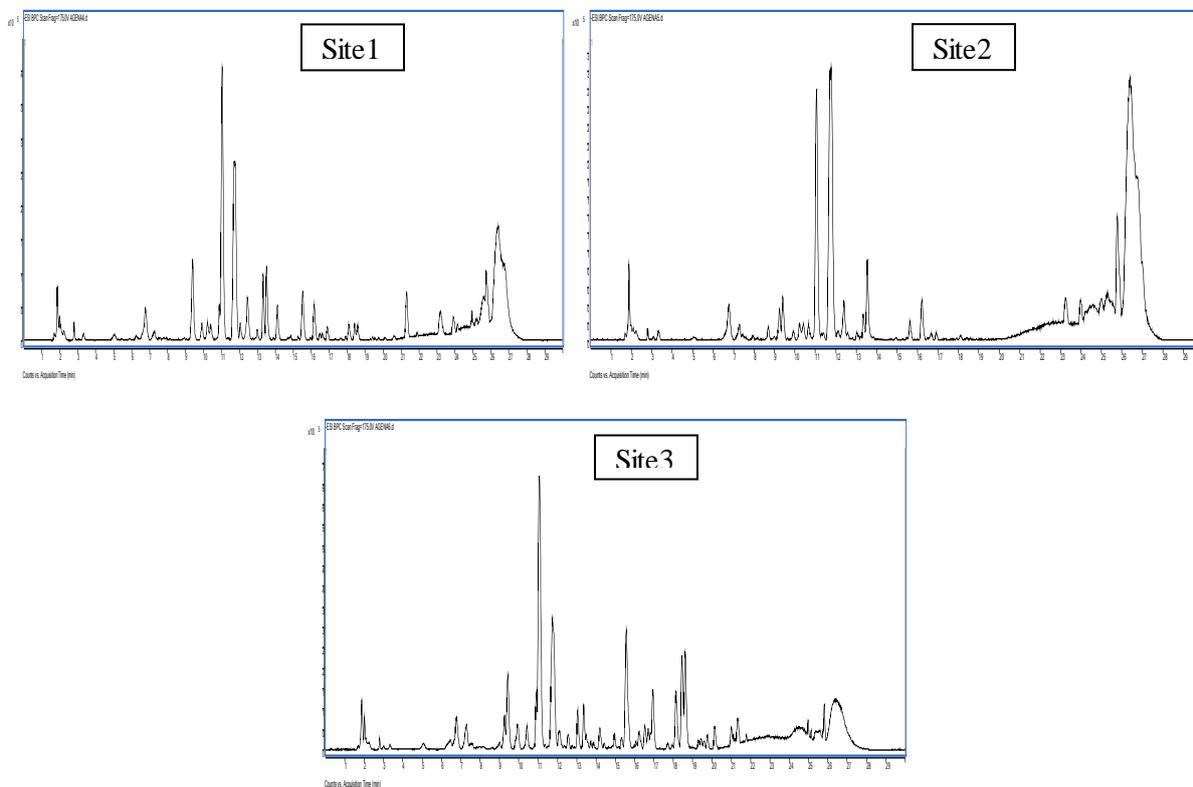


GC /MS de l'huile essentielle de *Tamarix gallica* pour les trois sites d'étude

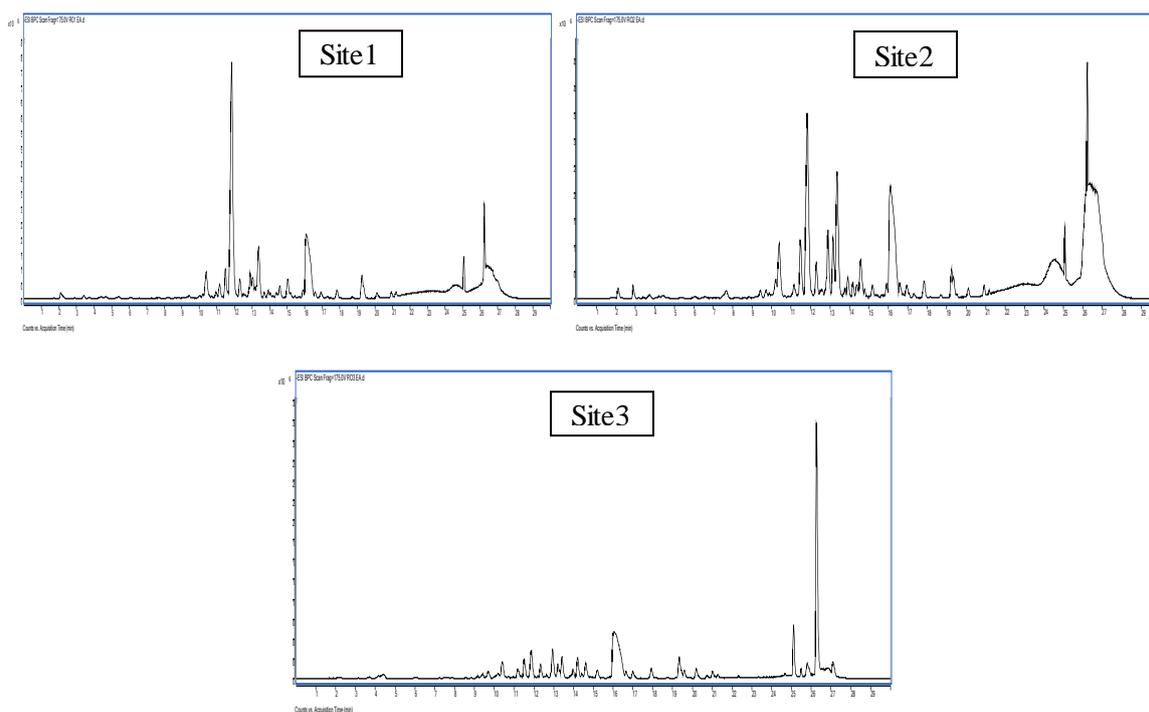


Annexe 3: Chromatogrammes des extraits aqueux et acétate d'éthyle

Chromatogrammes de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* aux trois sites d'étude

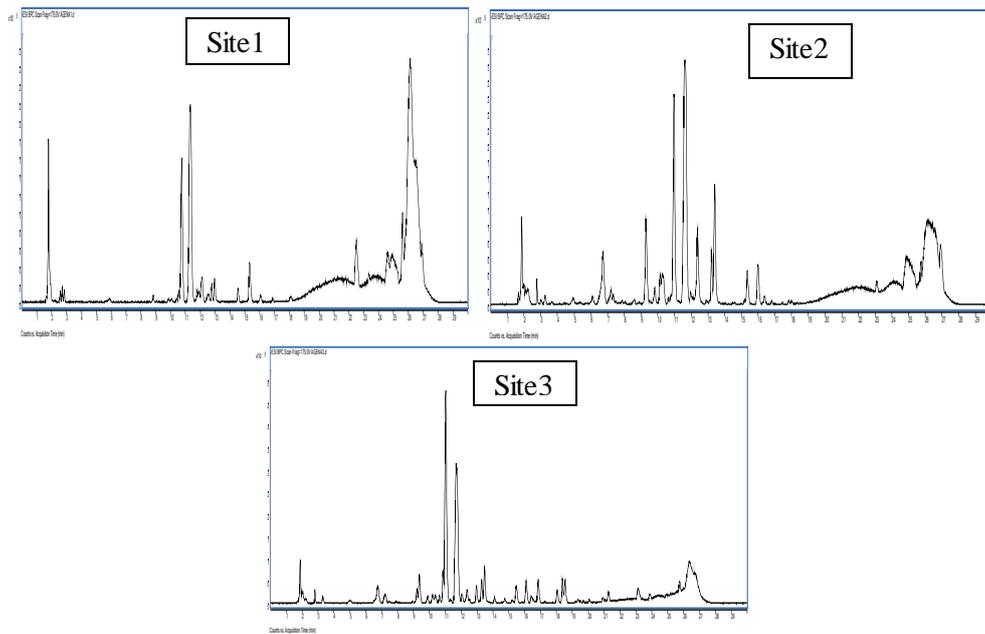


Chromatogrammes de l'extrait acétate d'éthyle de *Rosmarinus officinalis* aux trois sites d'étude

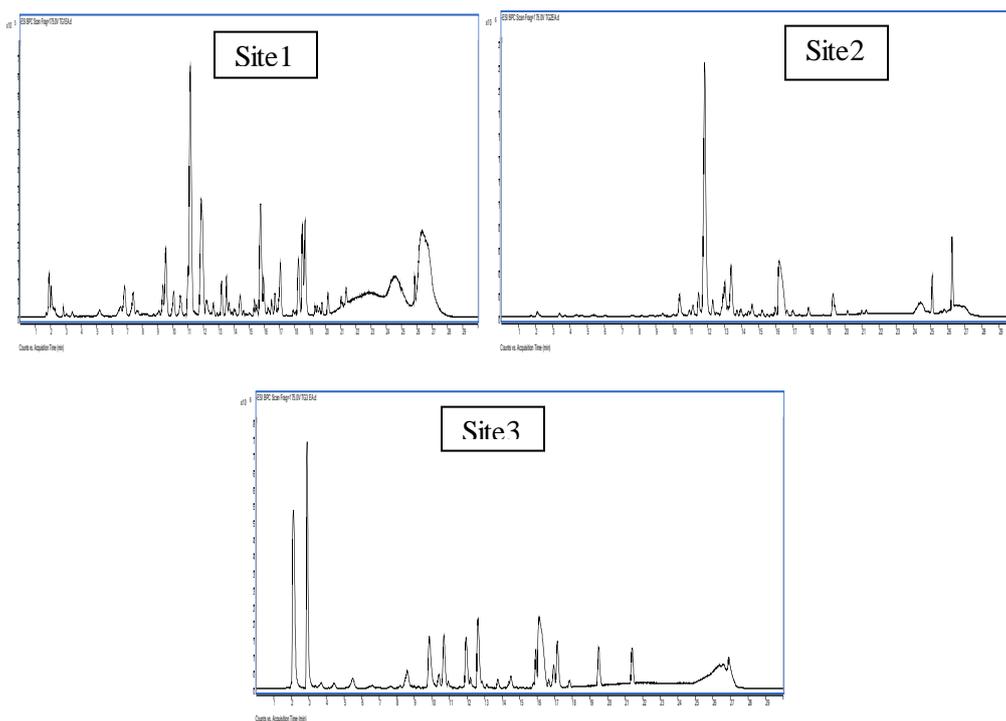


Annexes

Chromatogrammes de l'extrait aqueux de *Tamarix gallica* aux trois sites d'étude.



Chromatogrammes de l'extrait acétate d'éthyle de *Tamarix gallica* aux trois sites d'étude



Annexes

Annexe 4: Productions scientifiques

Publications internationales

1. Ouroud Fellah, Naziha Bourenane¹, Samir Hameurlaine, Muhammed Altun, Noureddine Gherraf, Amar Zellagui, Tahar Ali¹, Abdennabi Abidi, Ibrahim Demirtas, Ayse Sahin Yaglioglu. (2018). Anticancer Activity of *Rosmarinus Officinalis* Aqueous Extracts from Three Locations in Algeria. *World Journal of Environmental Biosciences*.
2. Ouroud Fellah, Samir Hameurlaine, Naziha Bourenane, Noureddine Gherraf, Amar Zellagui, Abdenabi Abidi, Ali Tahar, Muhammed Altun, Ibrahim Demirtas & Ayse Sahin Yaglioglu. (2018). Climatic factors as quality determinant of essential oils and phenolics in *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiales Lamiaceae) collected from three geographic areas in Algeria. *Biodiversity Journal*
3. Ouroud Fellah, Samir Hameurlaine, Noureddine Gherraf, Amar Zellagui, Tahar Ali, Abdennabi Abidi, Muhammed Altun, Ibrahim Demirtas, Ayse Sahin Yaglioglu. (2018). Anti-proliferative activity of ethyl acetate extracts of *Tamarix gallica* L. grown at different climatic conditions in Algeria. *Acta Scientifica Naturalis*.