



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEM**

# MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER EN CHIMIE**

Spécialité : Chimie des produits naturels

Par :

**Melle KAMRAOUI Souhila Narimen**

Sur le thème

---

Composition chimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire  
de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Glebionis segetum*  
(*Chrysanthemum segetum*)

---

Soutenu publiquement le 11 juin 2021 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mme MELIANI Nawel	MCB	Université de Tlemcen	Présidente
Mr BENSALD Okkacha	Professeur	Université de Tlemcen	Encadrant
Mme AIN SEBAA Nabila	MCA	Université de Tlemcen	Examinatrice

*Année Universitaire : 2020 ~ 2021*

## Remerciement

Avant tout je remercie Dieu le tout puissant, de m'avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de finir ce mémoire.

Je voudrai, dans un premier temps, remercier mon directeur de mémoire Pr. BENSAID Okkacha pour avoir dirigé et encadré ce mémoire.

Je remercie aussi Madame MELIANI Nawel d'avoir accepté de présider le jury de cette soutenance.

Je remercie Madame AINSBAA Nabila d'avoir accepté d'évaluer mon travail au sein du jury de soutenance.

En guise de reconnaissance, je tiens à remercier, très sincèrement, Pr.DIB Mohammed el Amine et les enseignants de la spécialité CPN, que j'ai eu l'honneur et la chance de bénéficier de leurs connaissances et compétences, de leurs précieux conseils.

Mes remerciements vont aussi aux doctorantes ACHIRI Radja et BENHMIDET Lina pour leur aide durant la préparation de ce mémoire et ma formation en Master.

Je ne remercierai jamais assez mes parents qui m'ont toujours encouragé dans la poursuite de mes études, ainsi que pour leur aide, leur compréhension et leur soutien.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches.

## **Dédicaces**

À mes très chers parents Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer mon affection, ma reconnaissance, ma gratitude, mon respect les plus profonds et tout l'amour que je vous porte.

À ma sœur Samia et mon frère Salah Eddine Je vous dis merci pour votre soutien, bienveillance et votre amour fraternel.

A ma tante Dalila pour m'avoir accordé son temps et relu mon mémoire

À mes amies Djazia et Imane pour votre bonne humeur, votre aide et vos encouragements

À mon binôme Khadidja pour ta gentillesse et ton aide

À tous qui me sont chers

## Résumé

*Chrysanthemum segetum* ou *Glebionis segetum* est une plante de la famille des astéracées peu étudiée malgré sa présence dans de vastes régions au tour du monde. La plupart des articles trouvés concerne différents extraits alors que l'huile essentielle et l'hydrolat ont rarement fait l'objet de recherches. Notre travail consiste d'abord à faire une extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle et l'hydrolat des parties aériennes de *Glebionis segetum*. Cet hydrolat récupéré est traité pour obtenir l'extrait d'hydrolat qu'on utilise ultérieurement afin d'évaluer les activités biologiques qui nous intéressent, l'activité anti-inflammatoire et antioxydante. L'activité a été évaluée pour l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat. On termine le travail par une conclusion dans laquelle on évoquera les perspectives et les objectifs visés pour valoriser *chrysanthemum segetum* qui fait partie de la flore algérienne.

Mots clés : *Chrysanthemum segetum*, antioxydant, anti-inflammatoire, huile essentielle, hydrolat

## Resume

*Chrysanthemum segetum* or *Glebionis segetum* is plant of the asteraceae family that has a few data despite its presence in vast regions around the world. Most of the articles found relate to different extracts while essential oil and hydrosol have rarely been researched. Our work consists first in extracting the essential oil and hydrosol from the aerial parts of *Glebionis segetum* by hydrodistillation. Then the hydrosol is treated to obtain the hydrosol extract which is used later in order to evaluate the biological activities that interest us, the anti-inflammatory and antioxidant activity. The activity was evaluated for the essential oil and the hydrosol extract. We end the work with a conclusion in which we will discuss the perspectives and objectives aimed at promoting *chrysanthemum segetum* which is part of the Algerian flora.

Keywords: *Chrysanthemum segetum*, antioxidant, anti-inflammatory, essential oil, hydrosol

## المخلص

*Chrysanthemum segetum* او *segetum Glebionis* هو نبات لم يكن موضع الكثير من البحوث رغم تواجده في العديد من المناطق الجغرافية حول العالم. معظم الأبحاث الموجودة تهتم بالمستخلصات وليس الزيت العطري او الماء. كأول خطوة قمنا باستخراج الزيت العطري والماء المعطر للأجزاء الهوائية عن طريق التقطير المائي. ثم يتم معالجة الماء المعطر للحصول على مستخلصه ليتم تقييم النشاط البيولوجي الذي يهمننا المتمثل في النشاط المضاد للالتهاب والنشاط المضاد للأكسدة.

النشاط البيولوجي قيم للزيت العطري والماء العطري. أنهينا العمل بخاتمة ناقشنا فيها الأهداف والتوقعات للترويج لهذه النبتة التي تشكل جزءا من الغطاء النباتي في الجزائر.

الكلمات المفتاحية: *Chrysanthemum segetum*. مضاد الاكسدة مضاد الالتهاب زيت عطري ماء عطري

## Liste des figures

**Figure 1** : Photo originale de *chrysanthemum segetum*

**Figure 2:** La réaction inflammatoire

**Figure 3** : Carte représentatif de la répartition géographique de l'espèce étudiée

**Figure 4** : Montage d'hydrodistillation

**Figure 5** : Hydrolat récupéré

**Figure 6** : Structure de l'éther diéthylique

**Figure 7** : Etape de décantation

**Figure 8** : Extrait d'hydrolat

**Figure 9** : Structure du Diclofenac

**Figure 10** : Mécanisme réactionnel du test de FRAP

**Figure 11** : Spectromètre UV-Visible

**Figure 12** : Mécanisme réactionnel du test de DPPH

**Figure 13** : Composés majoritaire identifiés dans l'HE de *chrysanthémum*

**Figure 14** : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de l'HE de *C.segetum* et du Diclofenac

**Figure 15** : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de l'extrait d'hydrolat de *C.segetum* et du Diclofenac.

**Figure 16** : Graphe représentant le pourcentage d'inhibition de l'HE de *C.segetum*

**Figure 16** : Graphe représentant le pourcentage d'inhibition de l'extrait d'hydrolat de *C.segetum*

**Figure 18** : Résultat de la méthode FRAP

**Figure 19** : Pouvoir antioxydant de l'HE de *C.segetum* par la méthode FRAP

**Figure 20** : Résultat de la méthode DPPH

**Figure 21** : Pouvoir antioxydant de l'HE de *C.segetum* par la méthode DPPH

## Liste des tableaux

**Tableau 1 :** Position Taxonomique De *chrysanthemum segetum*

**Tableau 2 :** Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *C.Segetum*

**Tableau 3 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *chrysanthémum* de la région de Tlemcen

**Tableau 4 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub>

## Liste des abréviations

HE : Huile Essentielle

HEs : Huiles Essentielles

*C.Segetum* : *Chrysanthemum Segetum*

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens

AIS : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens

COX-1 : Cyclooxygénase 1

COX-2: Cyclooxygénase 2

DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

FRAP: Ferric Reducing Ability of Plasma

ROS : les espèces réactives de l'oxygène

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxydant Capacity

HPLC: Chromatographie en phase Liquide Haute Performance

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

SM: Spectroscopie de Masse

HD: Hydrodistillaton

SEF: Extraction Par Fluide Supercritique

Rdt: Rendement

ABS: Absorbance

COV: composés organiques volatils

PBS : phosphate salin



# Table des matières

## Résumé

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Liste des abréviations

1	Introduction .....	1
2	Huiles essentielles .....	4
2.1	Introduction .....	4
2.2	Propriétés biologiques des H.Es .....	5
2.3	Facteurs influents sur la composition chimique des H.Es : .....	6
3	Les hydrolats .....	7
3.1	Introduction .....	7
3.2	Propriétés biologiques des hydrolats .....	8
4	Les activités biologiques .....	8
4.1	L'activité antiinflammatoire .....	8
4.1.1	Définition de l'inflammation .....	8
4.1.2	Mécanisme de l'inflammation .....	8
4.1.3	Les anti-inflammatoires .....	9
4.1.3.1	Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	9
4.1.3.2	Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) .....	9
4.1.3.3	Les anti-inflammatoires naturelles.....	10
4.2	Stress Oxydatif .....	10
4.2.1	Définition.....	10
4.2.2	Les radicaux libres.....	11
5	Généralités sur l'espèce étudiée .....	12
5.1	Etymologie .....	12
5.2	Noms vernaculaire.....	12
5.3	Classification systématique .....	13
5.4	Aire de répartition .....	13
5.5	Description botanique.....	14
5.6	Domaines d'applications .....	14
6	Travaux antérieurs.....	15
7	Provenance et identification de l'espèce végétale étudiée.....	17
8	Procédés d'extraction de l'huile essentielle.....	17
9	Méthodes d'analyse des huiles essentielles .....	19

9.1	Analyse par chromatographie en phase gazeuse .....	19
9.2	Identification des composants des huiles essentielles .....	20
10	Traitement de l'hydrolat .....	20
11	Evaluation de l'activité anti-inflammatoire .....	22
12	Evaluation de l'activité antioxydante .....	23
12.1	Méthode de la réduction du fer FRAP .....	23
12.2	Méthode de la réduction du radical libre DPPH .....	25
13	Calcul du Rendement .....	26
14	Composition chimique de l'huile essentielle .....	26
15	Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro .....	30
16	Evaluation de l'activité anti oxydante de l'huile essentielle .....	33
16.1	Méthode de la réduction du fer FRAP .....	33
16.2	Méthode de réduction du radical libre .....	34
	<b>Conclusion générale</b> .....	<b>36</b>

## Références

## 1 Introduction

Les plantes aromatiques ont été utilisées pour le traitement des humains et des animaux pendant de longs siècles. Les plantes dites médicinales sont principalement utilisées dans la médecine traditionnelle alors que les plantes dites aromatiques sont celles utilisées pour leurs arômes et saveurs.[1]

A partir des manuels historiques il a été prouvé que les plantes ont été utilisées comme médicaments puis comme composés modèles pour l'industrie pharmaceutique. Et il y a un siècle plusieurs médicaments efficaces étaient à base de plante comme la morphine venant du pavot à opium et l'aspirine à partir de l'écorce de saule. Cependant il existe beaucoup de limites autour de leur utilisation et autour des études scientifiques soutenant la croyance que les extraits de plantes médicinales sont absolument sûrs.[1]

Durant ces dernières années, l'utilisation des plantes médicinales pour trouver et étudier les composés bioactifs a considérablement augmenté. Les plantes de la famille des Astéracées par exemple sont connues pour leurs effets médicaux remarquables. [2] Cette famille se trouve un peu partout dans le monde mais avec plus de présence dans le bassin méditerranéen, Europe et Asie dont on connaît environ 25000 espèces intégrées dans 1000 genres. D'après plusieurs études les plantes de cette famille ont des activités intéressantes comme l'anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique..., cette bio activité est un bon axe de recherche avec un important potentiel d'exploitation pour l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. [3]

Il existe plusieurs revues de littérature qui montre des rapports sur les activités biologiques, pharmacologiques et autres activités thérapeutiques des astéracées considérés comme herbes précieuses. Leur intérêt médical est reconnu autour du monde et beaucoup d'espèces appartenant à cette famille sont incluses dans la pharmacopée nationale de plusieurs pays tel que : l'Allemagne, la France et la Suisse.[4]

Prenant en considération cette hypothèse, ce travail est concerné par une espèce de cette famille la *chrysanthemum segetum* qui est peu étudiée et a une grande chance d'intéresser les intervenants dans le domaine pharmaceutique ou cosmétique. Les objectifs sont de déterminer la composition chimique de l'huile essentielle et l'hydrolat de *chrysanthemum segetum* en plus de l'évaluation de quelques activités biologiques.

La présentation de nos travaux est répartie comme suit :

Une première partie est consacrée pour une synthèse bibliographique qui englobe deux chapitres :

Chapitre 1 : Pour détailler une étude théorique sur les huiles essentielles, les hydrolats, les facteurs influençant leur composition chimique et des généralités sur les différentes activités biologiques anti-inflammatoires et antioxydants.

Chapitre 2 : Concerne la description botanique de l'espèce *chrysanthemum segetum* qui fait objet de nos recherches, puis nous ferons une synthèse des travaux antérieurs publiés dans la littérature concernant cette espèce.

Une deuxième partie est dédiée au travail fait, cela englobe aussi deux chapitres organisés comme suit :

Chapitre 1 : consacré au matériel utilisé pour l'extraction de l'HE et la séparation de l'extrait d'hydrolat ainsi que les différents protocoles pour l'évaluation des deux activités biologiques.

Chapitre 2 : Consacré à la discussion des résultats obtenus lors de l'évaluation des activités *in vitro*.

Une conclusion générale résumera l'ensemble des résultats issus de cette étude et présentera les perspectives de recherches pour confirmer l'efficacité anti-inflammatoire en menant des recherches *in vivo*.

## Partie une : synthèse bibliographique

## CHAPITRE I: Etude théorique

### 2 Huiles essentielles

#### 2.1 Introduction

Les plantes à épices ont une grande influence sur l'histoire du monde. En général, ces plantes ont constitué la base de la médecine traditionnelle et certaines de leurs substances dérivées ont été utilisées pour traiter différentes maladies humaines. La découverte et le développement de composés bioactifs à partir de ces produits naturels, sur la base de leurs utilisations traditionnelles, jouent un rôle important dans le développement des preuves scientifiques de leurs applications pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires potentielles.[5]

Les HEs de différentes herbes ont été utilisées comme arômes alimentaires, médicaments et dans la préparation de parfums. Elles ont diverses applications dans les industries alimentaires, sanitaires, biomédicales, pharmaceutiques, des emballages actifs et des cosmétiques en raison de leurs propriétés biologiques, notamment les activités antioxydantes, antimicrobiennes, antiseptiques, pesticides, analgésiques et anti cancérigènes.[6]

Les HEs obtenues à partir des plantes aromatiques, sont riches en composés biologiquement actifs dont plusieurs sont la raison de cette activité comme les composés terpéniques et phénoliques qui sont responsables de l'activité antimicrobienne et antioxydante.[7]

## 2.2 Propriétés biologiques des H.Es

Les huiles essentielles sont des composés volatils, naturels et complexes caractérisés par une forte odeur et sont considérés pour les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Ils sont généralement obtenus par vapeur ou hydro-distillation développée pour la première fois au Moyen Âge par les Arabes. Connus pour leurs propriétés antiseptiques, c'est-à-dire bactéricides, virucides et fongicides, médicinales et leurs parfums, ils sont utilisés dans l'embaumement, la conservation des aliments et comme remèdes antimicrobiens, analgésiques, sédatifs, anti-inflammatoires, spasmolytiques et localement anesthésiques. Les huiles essentielles sont extraites de diverses plantes aromatiques, présentes dans les pays méditerranéens et tropicaux où ils représentent une part importante de la pharmacopée traditionnelle. Ils sont liquides, volatils, limpides et rarement colorés, liposolubles et solubles dans les solvants organiques avec une densité généralement inférieure à celle de l'eau.[8]

Les propriétés biologiques des H.Es ont été démontrées durant plusieurs années dans un nombre importants de recherches pour le traitement de plusieurs maladies et l'amélioration de la biodisponibilité de plusieurs médicaments. Dans la nature et durant la vie de la plante, les composés d'huiles essentielles peuvent jouer un rôle important dans la protection des plantes en tant qu'antibactériens, antiviraux, antifongiques, insecticides et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour de telles plantes ou en repoussant les autres indésirables.[9]

Récemment, l'industrie alimentaire a accordé une attention accrue à l'application d'additifs naturels dans les systèmes d'emballage alimentaire en raison des préoccupations des consommateurs, concernant les résidus chimiques présent dans les aliments et leurs impacts sur la santé humaine. Les huiles essentielles, qui ont des activités antimicrobiennes et antioxydantes, sont des alternatives exceptionnelles aux conservateurs chimiques, dont parmi l'huile essentielle de clou de girofle qui s'est avérée la plus efficace contre les micro-organismes à forte activité antioxydante.[10]

Cependant, l'ajout direct d'huiles essentielles aux aliments peut avoir un impact négatif sur la perception sensorielle des aliments appliqués. Des travaux antérieurs ont expliqué que l'ajout d'huiles essentielles dans les films comestibles a un certain impact sur leurs propriétés optique, structurelle, à la perméabilité à la vapeur d'eau et à la traction, etc. [11]

Les produits naturels obtenus à partir de sources végétales sont largement utilisés en phytothérapie pour traiter divers problèmes de santé humaine. Les plantes médicinales sont

largement consommées dans le monde et leur utilisation ne cesse d'augmenter. Actuellement, diverses espèces de plantes médicinales et aromatiques sont cultivées à grande échelle pour répondre aux besoins de l'industrie en métabolites végétaux. Bien que ces cultures industrielles produisent des produits relativement moindres, leur commerce assure un revenu raisonnablement plus élevé aux agriculteurs. Les industries des arômes et des parfums consomment près de 90% des huiles essentielles pour fabriquer des cosmétiques, des parfums, des aliments et d'autres produits de santé.[12]

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 constituants à des concentrations assez différentes. Ils sont caractérisés par deux ou trois composants majeurs à des concentrations élevées par rapport aux autres présents à l'état de traces.

Par exemple, le carvacrol et le thymol sont les principaux composants de l'huile essentielle d'*Origanum compactum*, le linalol de l'huile essentielle de *Coriandrum sativum*, l' $\alpha$ - et  $\beta$ -thuyone et le camphre de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*, 1,8-cinéole du *Cinnamomum* huile essentielle de camphre,  $\alpha$ -phellandrène et limonène de feuille et carvone et limonène de graine Huile essentielle d'*Anethum graveolens*, menthol et menthone d'huile essentielle de *Mentha piperita*.[8]

### 2.3 Facteurs influents sur la composition chimique des H.Es :

La composition chimique des HEs peut être influencée par plusieurs paramètres internes et externes, dont parmi les conditions environnementales et climatiques, l'âge de la plante et son stade de maturation.[13]

Il existe plusieurs autres facteurs tel que : lieu et période de récolte de la plante, il a été remarqué aussi que le rendement et la composition de l'HE sont fortement influencés par l'organe de la plante d'où l'HE est extraite. Les compositions chimiques dominantes sont également affectées par la méthode d'extraction.[14]



### 3 Les hydrolats

#### 3.1 Introduction

Les composés d'origine végétale produits par métabolisme secondaire tels que les huiles essentielles, sont bien connus pour leurs propriétés antioxydantes et antifongiques. Considérés comme coproduits de distillation à la vapeur de plantes aromatiques, les hydrolats sont des substances naturelles utilisées dans le domaine des cosmétiques et des arômes alimentaires. Les hydrolats distillés à partir d'une large gamme de fleurs, de racines, de feuilles, d'écorces, de résines ou de fruits sont des substances naturelles. L'activité antioxydante des hydrolats a également été évaluée et s'est révélée efficace en tant qu'antioxydant.

En revanche, avec le regain d'intérêt actuel pour l'application de matériaux organiques sûrs, au lieu de matériaux synthétiques connus pour leur cancérogénicité et d'autres toxicités possibles, les huiles essentielles et les hydrolats sont de plus en plus recherchés comme alternatives naturelles.[15]

Les hydrolats sont des eaux obtenues lors de l'hydro-distillation de matière végétale, qui peuvent être des produits supplémentaires d'isolement d'huiles essentielles ou le seul produit de la distillation de matière végétale. Étant les coproduits lors de la distillation à l'eau ou à la vapeur, les hydrolats étaient couramment utilisés en aromathérapie et en cosmétique pour les propriétés thérapeutiques comme antibactériennes, anti-infectieuses, antioxydantes, anticoagulantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes, analgésiques, digestives ou respiratoires. L'applicabilité pratique des hydrolats a été observée comme fumigeant dans le système alimentaire dans des récipients de stockage en plastique.[16]

### 3.2 Propriétés biologiques des hydrolats

Historiquement, les hydrolats ont été largement utilisés dans la région des pays méditerranéens dans la médecine traditionnelle. Leur activité antagoniste semble être due à leur composition chimique, étant principalement constituée de composés phénoliques, qui peuvent interférer avec les membranes microbiennes, la paroi cellulaire ou avec l'action des enzymes microbiennes. L'utilisation des hydrolats est déjà très répandue dans le domaine cosmétique, mais les recherches menées jusqu'à présent suggèrent également leur application dans l'industrie agro-alimentaire afin de freiner le développement de microorganismes pathogènes dans les produits alimentaires.[17]

Les hydrolats de différentes parties ont montré des activités antioxydantes et antibactériennes intéressantes, cela peut être expliqué par leur composition chimique riche en : hydrocarbures, alcools, cétones, aldéhydes, esters, acides et autres composés chimiques de différentes classes.[16]

## 4 Les activités biologiques

### 4.1 L'activité antiinflammatoire

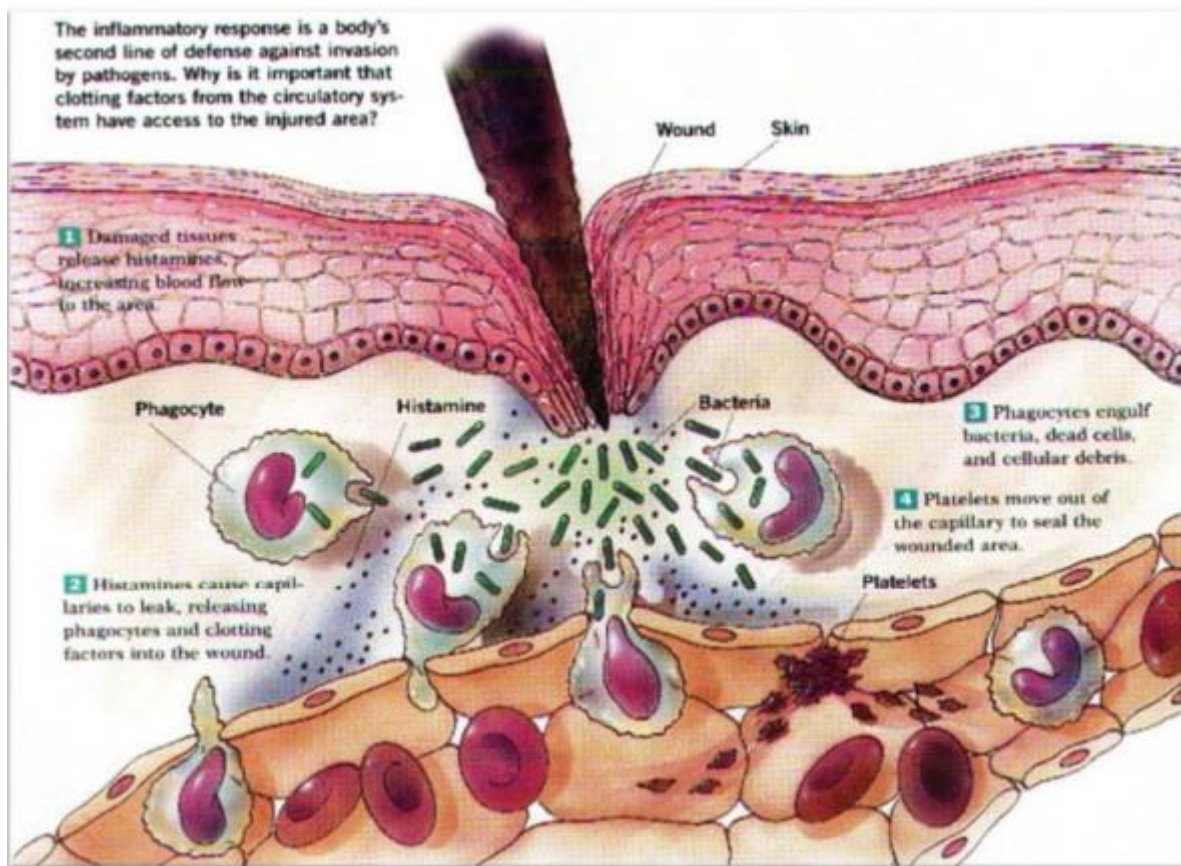
#### 4.1.1 Définition de l'inflammation

L'inflammation est une réponse corporelle à une blessure, une infection ou une destruction caractérisée par la chaleur, la rougeur, la douleur, l'enflure et des fonctions physiologiques perturbées. L'inflammation est une réponse protectrice normale aux lésions tissulaires causées par un traumatisme physique, des agents chimiques ou microbiens nocifs. C'est la réponse du corps pour inactiver ou détruire les organismes envahisseurs, pour éliminer les irritants et préparer le terrain pour la réparation des tissus. Elle est déclenchée par la libération de médiateurs chimiques à partir des tissus lésés et des cellules en migration.[18]

#### 4.1.2 Mécanisme de l'inflammation

Le mécanisme d'inflammation se compose de deux phases principales : l'initiation et la progression.

Les premières réactions normales lors d'une inflammation est la libération des messages qui diffusent en induisant des signaux de mort cellulaire voire de nécrose. La phase de progression de l'inflammation périphérique se caractérise en effet par une activation des terminaisons nerveuses qui provoque une vasodilatation facilitant la diffusion des molécules dans l'espace extracellulaire. [19] (**Figure 1**)



**Figure 1** : La réaction inflammatoire [20]

#### 4.1.3 Les anti-inflammatoires

##### 4.1.3.1 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont l'un des médicaments les plus utilisés dans le monde. Souvent prescrits contre plusieurs types d'arthrite, douleurs menstruelles, maux de tête et les fractures de tissus mous. Il faut savoir que les AINS sont des inhibiteurs non sélectifs c'est-à-dire ils inhibent de la même manière la COX-1 et COX-2. Cela engendre leurs effets anti-inflammatoire et analgésique grâce à leur action sur la COX-2 mais en même temps leur action sur la COX-1 responsable des régularisations des fonctions physiologiques, homéostatique du gastro-intestinale et des reins, et est responsable des effets indésirables des AINS.[21]

##### 4.1.3.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les corticoïdes ont une action hormonale, Ces stéroïdes analogues ou précurseurs de la cortisone, naturellement sécrétée par les glandes surrénales, possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques dont beaucoup sont à l'origine d'effets indésirables. Contrairement aux anti-inflammatoires non stéroïdiens, les glucocorticoïdes sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire. Par leur effet antiprolifératif sur les histiocytes macrophages et monocytes de tous les types, les lymphocytes, les plasmocytes, les

fibroblastes et les polynucléaires neutrophiles, ils inhibent les phénomènes cellulaires précoces et tardifs de l'inflammation.[19]

#### 4.1.3.3 Les anti-inflammatoires naturelles

Durant l'histoire de l'homme sur terre et dans plusieurs civilisations, les plantes ont depuis toujours été source de thérapie traditionnelle pour les maladies. De nos jours, l'inflammation est considérée comme un problème de santé majeur au tour du monde pour les patients.[22]

Les stilbénoides sont une classe de composés ayant de multiples propriétés pharmaceutiquement pertinentes. Chez les plantes, leur fonction principale est de protéger les plantes contre les agents pathogènes et les champignons; par conséquent, leur contenu est très variable et augmente avec l'exposition au stress. Les plantes contenant des stilbénoides ont été largement utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des maux d'estomac, de l'hépatite, de l'arthrite, des infections des voies urinaires, des maladies fongiques ou de l'inflammation cutanée. Répandus dans plusieurs familles de plantes tel que : les cypéracées et vitacées...[23]

En Afrique, il existe un bon nombre de plantes pouvant être source d'anti-inflammatoires. En Algérie par exemple les extraits de *Genista quadriflora* ont montré un bon potentiel anti-inflammatoire, au Cameroun aussi on trouve la *Carica papaya* et *Eremomastax speciosa*. Au Nigéria plus de 80% de la population dépend des plantes pour le traitement des maladies aiguës et chroniques, dont parmi on trouve l'utilisation des racines de *Colocasia esculenta* en cas d'inflammation. [24]

## 4.2 Stress Oxydatif

### 4.2.1 Définition

C'est un phénomène causé par le déséquilibre entre l'accumulation et la production des différentes espèces réactives à l'oxygène dans les cellules et tissus. Les ROS sont générés en tant que sous-produits métaboliques par les systèmes biologiques. La présence des ROS doit être maintenue à des doses très faibles dans la cellule car lors de leur augmentation ils commencent à montrer des effets néfastes sur les structures cellulaires. Un nombre important d'études et de recherches montrent que le stress oxydatif est responsable de beaucoup de maladies.[25]

#### 4.2.2 Les radicaux libres

Les principales espèces réactives de l'oxygène sont : l'oxygène singulier, l'anion superoxyde le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle et l'ozone.

Il existe plusieurs raisons qui augmentent le stress oxydatifs dans le corps, dont parmi : l'activité sportive intense, L'ischémie des tissus suite à une défaillance du fonctionnement des mitochondries .[26]

Les antioxydants utilisés en médecine et dans l'industrie sont divisés en deux groupes: naturels et synthétiques. Comme les antioxydants synthétiques les plus répandus sont soupçonnés d'avoir un effet nocif sur le corps humain, de plus en plus d'attention est accordée aux composés antioxydants naturels trouvés dans les plantes. Parmi eux, les plus populaires sont les composés poly phénoliques qui contiennent un ou plusieurs groupes hydroxyle dans leur structure.[27]

## Chapitre II : Etude botanique de *chrysanthemum segetum*

### 5 Généralités sur l'espèce étudiée

#### 5.1 Etymologie

*Glebionis segetum* (L.) Fourr. [28] Le nom scientifique *Glebionis* est inspiré du latin *gleba*, -*ae* qui veut dire le terrain cultivé, le sol, l'épi thèque *segetum* signifie le champ ensemencé, la moisson. Il existe un synonyme connu qu'est : *chrysanthemum segetum* (L.) E.H.L.Krause . et *Chrysanthemum holophyllum* Pau. [29](Figure 2)



**Figure 2** : Photo originale de *chrysanthemum segetum*

#### 5.2 Noms vernaculaire

- ✓ le nom vernaculaire français : chrysanthème des moissons, marguerite dorée, marguerite jaune
- ✓ le nom vernaculaire arabe : ourdjit
- ✓ le nom vernaculaire anglais : Corn marigold [29]

### 5.3 Classification systématique

la classification systématique est décrite dans le tableau suivant [30]

**Tableau 1** : Position Taxonomique De *chrysanthemum segetum*

Taxonomie	Description
Règne	plante
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae (composées)
Sous-famille	Asteroideae
Genre	<i>Glebionis</i>
Espèce	<i>Glebionis segetum</i>

### 5.4 Aire de répartition

*Glebionis segetum* est une plante présente de quelques pays d'Europe, Asie du sud-ouest et d'Afrique septentrionale et le bassin méditerranéen mais aussi naturalisé en Amérique du nord et a été introduite dans quelques régions d'Australie. C'est une herbe originaire de la méditerranée orientale souvent présente dans les pâturages.[31] (**Figure 3**)





**Figure 3** : carte représentatif de la répartition géographique de l'espèce étudiée

Elle est répandue dans les champs en général. Sa période de floraison dans les régions froides est entre juin et août et peut apparaître bien avant dans les zones plus chaudes.

### 5.5 Description botanique

Plante herbacée annuelle dressée à racine primaire effilée. Tige sillonnée, simple ou ramifiée de 20 à 60 cm, rameaux alternes, allongés et étalés-ascendants. Plante glabre et glauque. Feuilles supérieures, entières ou dentées. Feuilles un peu charnues, surtout celles du bas. Têtes bractées de l'involucre ovales, vert glauque avec de larges bordures scarieuses brun clair. Fleurs ligulées longues, largement linéaires, jaunes dorées.[31]

### 5.6 Domaines d'applications

Les fleurs, la partie de la plante la plus valorisée, car elles sont souvent destinées à la consommation alimentaire, en Turquie par exemple les fleurs sont ajoutées aux salades et consommées fraîches.

Dans les anciennes civilisations, la *Glebionis segetum* a longtemps été utilisé en médecine pour guérir les plaies en raison de son effet antiseptique. [32]

Elles peuvent également être utilisées comme plante d'accompagnement pour les cultures biologiques, étant répulsives pour les maladies et les ravageurs.[33]



## 6 Travaux antérieurs

En 2014, une étude effectuée en Algérie plus exactement à l'université d'El ARBI BEN MHIDI dans la wilaya d'Oum Elbouaghi par **Amar Zellagui, et al.** Sur l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits de fleurs de *Chrysanthemum Segetum*.

L'étude a montré que l'inhibition du DPPH augmente relativement avec la concentration et/ou le temps, les résultats de cette évaluation montre une bonne activité antioxydante dans les deux extraits butanoïques et celui de l'acétate d'éthyle. Et pour l'activité antimicrobienne, il a été prouvé que *Chrysanthème Segetum* est efficace contre quelques bactéries tel que : *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*. [34]

Une autre étude faite sur *Chrysanthemum Segetum* en Algérie l'an 2016 par **Samira Kennouche, et al.** dont le but était d'évaluer in vitro l'activité antioxydante et de déterminer la contenance en phénols et flavonoïdes des différents extraits.

Les résultats ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle a une meilleure activité antioxydante par rapport aux autres extraits et elle a été évaluée par deux méthodes : DPPH et CUPRAC extrait aussi montre la plus grande contenance en phénols par rapport aux extraits des solvants suivants : chloroforme, butanol. [35]

Durant la même année en Algérie **Serine Amokrane, et al.** ont fait une recherche qui avait pour but d'évaluer les effets de deux plantes riche en phénols sur la fermentation rumina et la production du méthane parmi elles la *C.Segetum*. Après analyses phytochimiques ,les résultats ont montré que *C.Segetum* est une plante riche en phénol et tanins. [36]

Une des premières études faites sur cette plante a été effectuée en 1995 par **Renata, et al.** en Pologne dans le but de doser les coumarines par électrophorèse capillaire en utilisant les parties aériennes et les racines séchées. [37]

Le marché mondial enregistre une perte de 10% à 25% des récoltes chaque année pour plusieurs raisons parmi elles : les insectes. De nombreuses études ont démontré l'activité insecticide de plusieurs plantes. En 2008 **Haouas, et al.** ont étudié l'activité insecticide de différentes espèces du genre Chrysanthème. En préparant des extraits méthanoïques avec les fleurs et tiges des espèces suivantes : *C. coronarium*, *C. macrotum*, *C. myconis*, *C. fuscatum*, *C. paludosum*, *C. trifurcatum*, et *C. grandiflorum*, *C. segetum*. L'activité a été étudiée sur *Tribolium confusum* connu sous le nom le « petit ver de la farine ».

Les résultats obtenus ont montré que les extraits étaient toxiques surtout ceux des fleurs, cela peut être dû à la présence des sesquiterpènes isolés de l'espèce *C. coronarium*. Et il faut mentionner que *C. segetum* est l'espèce la moins toxique.[38]

En 2009, une recherche publiée par **Bruno Marongiu, et al.** Concernant une comparaison chimique et biologique sur les extraits supercritiques de *Tanacetum cinerariifolium* avec trois espèces apparentées de chrysanthèmes, *C. segetum* est une des plantes étudiées.

Par la méthode SFE : en utilisant comme fluide CO<sub>2</sub> d'une pureté de 99% et l'identification des composés volatils est déterminée par CPG-SM et l'analyse du montant de pyrèthrine par HPLC.

Les résultats ont montré que pour la *C. Segetum* la composition chimique est comme suit :

$\alpha$ -farnesene (43.1% en SFE. 67.8% HD),  $\alpha$ -humulene (23.4% SFE. 11.5% en HD) et

$\beta$ -longipinene (4.7%. 1.8% en HD). Le rendement de l'HE avec SFE et par HD était 0.5% , 0.1% respectivement.[39]

## Partie deux : Etude expérimentale

## Chapitre I : Matériels et méthodes

### 7 Provenance et identification de l'espèce végétale étudiée

La matière végétale étudiée est constituée des parties aériennes de la plante *Chrysanthemum Segetum* récolté pendant le mois de Mai.

La plante *Chrysanthemum Segetum* a été récoltée dans un jardin de maison au niveau de la ville de Tlemcen à une distance de 2 Km des ruines de Mansourah.

La matière végétale a été séchée dans l'ombre pendant une semaine sur du tissu afin d'avoir un rendement significatif.

L'identification a été faite par Professeur BENABADJI NOURY du laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

### 8 Procédés d'extraction de l'huile essentielle

L'hydrodistillation est le procédé utilisé pour les extractions des huiles essentielles, et est assuré par un appareil de type Cleavenger qui est la méthode recommandée par la pharmacopée européenne.

Une quantité de matière de 130 g de matière végétale sèche est introduite dans un ballon de contenance de 6L contenant environ 4 L d'eau du robinet.

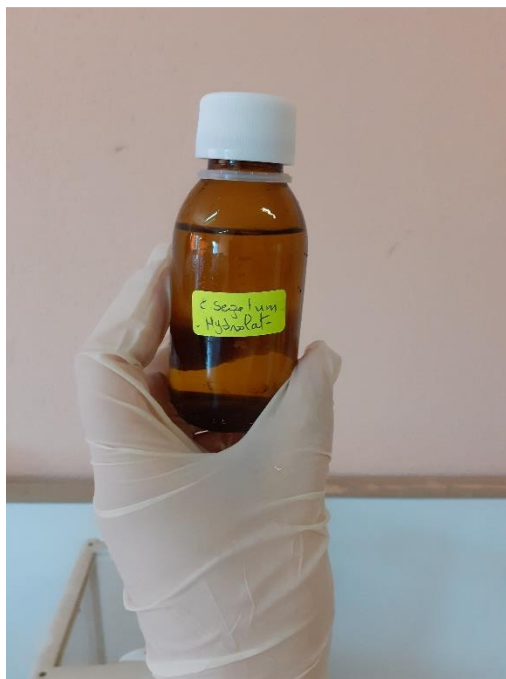
Le procédé d'extraction se fait comme suite quand l'eau bouille, la vapeur d'eau monte dans le montage emportant avec elle les molécules odorantes jusqu'au réfrigérant afin de se condensée et être récupéré en fin d'extraction qui ont duré 4 h calculé dès le début des premières gouttes tombantes dans le compartiment de récupération. (**Figure 4**)



**Figure 4** : Montage d'hydrodistillation

Dans un tube à essai, on récolte en ouvrant le robinet l'huile essentielle mélangée avec l'eau, on la passe au congélateur afin de bien séparer l'huile de l'eau puis on récupère dans un pilulier sec et ombré de 3 ml et il est gardé dans un endroit ombré à 4°C.

Pour l'hydrolat, on le récupère en utilisant une pipette pasteur dans une bouteille de sirop durant la première heure et demie des différentes extractions et il est conservé au frais. **(Figure5)**



**Figure 5** : Hydrolat récupéré

### Calcul du rendement :

Le rendement est le rapport entre la masse d'huile essentielle extraite et la masse de la matière végétale fraîche ou sèche utilisée.

- ❖ Pour le faire la formule suivante est utilisée :

$$\text{Rdt}_{\text{HE}} = (M_{\text{HE}} / M_{\text{MV}}) * 100$$

- ❖ Où : Rdt : Rendement en huile essentielle en pourcentage.

$M_{\text{HE}}$  : Masse en huile essentielle.

$M_{\text{MV}}$  : Masse en matière végétale.

## 9 Méthodes d'analyse des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles a principalement un objectif technique : obtenir les meilleures performances de séparation possibles en utilisant la technologie la plus efficace et disponible du jour. Cela peut être à des fins de comparaison, lorsqu'une huile est comparée à une autre pour le contrôle de la qualité ou l'enquête sur l'adultération, pour découvrir de nouveaux composants ou pour caractériser les classes chimiques des composés présents.[40]

Jusqu'à présent, il existe plusieurs méthodes qui ont été largement utilisées pour l'identification de tous les composés phytochimiques présents dans les HE extraites et celles-ci incluent la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse, la chromatographie liquide à haute performance, la chromatographie liquide à haute performance avec spectrométrie de masse, spectrométrie de résonance magnétique nucléaire, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, etc.[41]

### 9.1 Analyse par chromatographie en phase gazeuse

Le but de la séparation est de distinguer différents COV dans un mélange. La technique de séparation communément utilisée est la chromatographie en phase gazeuse qui permet de séparer des mélanges gazeux complexes par une suite continue d'équilibres s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire appropriée.[42]

L'un des problèmes persistants de la chimie des arômes a été l'identification de composants actifs sur les odeurs parmi les nombreux produits chimiques inodores présents dans les aliments. La chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectroscopie de masse permet aux chimistes de proposer l'identité de constituants chimiques sans qu'il soit nécessaire de produire des isolats purs.[43]

## 9.2 Identification des composants des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles est réalisée généralement par deux méthodes d'analyse, la CPG et la CPG/SM.

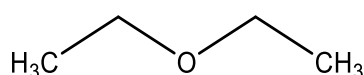
L'appareil est piloté par un ordinateur menu d'un logiciel et d'une banque de données NIST qui permet l'identification des composés. Le temps de sortie de chaque pic, le « temps de rétention », caractérise qualitativement la substance concernée. L'aire limitée par ces pics permet de mesurer la concentration de chaque composé séparé.[44]

L'analyse de l'HE de *Chrysanthème* est faite dans le laboratoire de Corse.

## 10 Traitement de l'hydrolat

Une extraction liquide-liquide est nécessaire pour obtenir l'extrait d'hydrolat, cela passe par plusieurs étapes :[45]

- ❖ L'extraction est faite par l'éther diéthylique, dans une ampoule à décanter. (**Figure 6**)



**Figure 6** : Structure de l'éther diéthylique

- ❖ En sachant que la densité du solvant est de 713Kg/m<sup>3</sup> en comparant avec celle de l'eau qui est de 997Kg/m<sup>3</sup> cela indique que l'extrait d'hydrolat se trouve dans la phase organique qui est moins lourde. Cette phase est extraite 3 fois de suite afin de récupérer le maximum de la phase organique. (**Figure 7**)



**Figure 7** : Etape de décantation

- ❖ On a fait deux extractions supplémentaires de la phase aqueuse dans le but de récolter le maximum de phase organique pouvant être passé dans la phase aqueuse.
- ❖ Le produit récupéré en fin d'extraction est séché avec du sulfate de sodium, afin d'éliminer les traces d'eau.
- ❖ Par la suite on a procédé à une filtration simple afin d'éliminer le produit de séchage.
- ❖ La dernière étape consiste au passage du filtrat au rotavapor afin d'éliminer l'éther diéthylique présent à une température de 35°C qu'est la température d'ébullition du solvant.
- ❖ Le produit final obtenu est l'extrait d'hydrolat. (**Figure 8**)



**Figure 8** : Extrait d'hydrolat

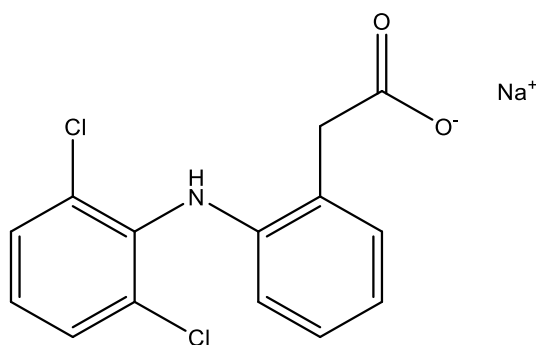


- ❖ La masse de l'extrait est aussi pesée en fin du processus.

## 11 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Durant l'histoire humaine, les plantes ont toujours été source de substances médicamenteuses. Pour cette raison la recherche d'agents anti-inflammatoires naturels fait part de plusieurs recherches.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* est faite sur l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de *chrysanthemum segetum* par la méthode de dénaturation des protéines. En utilisant le Diclofenac sodique, un médicament anti-inflammatoire de classe AINS comme référence.[46] (**Figure 9**)



**Figure 9** : Structure du Diclofenac

Le mode opératoire pour l'HE et l'extrait d'hydrolat est le même sauf que les intervalles de travail sont différents et sont pris par tâtonnement jusqu'à arriver à un résultat intéressant.

La méthode de dénaturation des protéines pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de *chrysanthemum segetum* se fait selon le protocole décrit :[47]

- ❖ Le milieu réactionnel est constitué de 0.2 ml d'albumine d'œuf frais, de 2ml des différentes dilutions des huiles ou du control (eau distillée) et 2.8 ml du tampon phosphate salin (PBS, pH 6.4).
- ❖ ensuite le mélange est incubé à 37° C pendant 15 minutes.
- ❖ La dénaturation de l'albumine est induite en bain marie à 70°C pendant 5 min.
- ❖ après refroidissement, on mesure l'absorbance à 660 nm
- ❖ Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation est calculé selon la formule suivante :

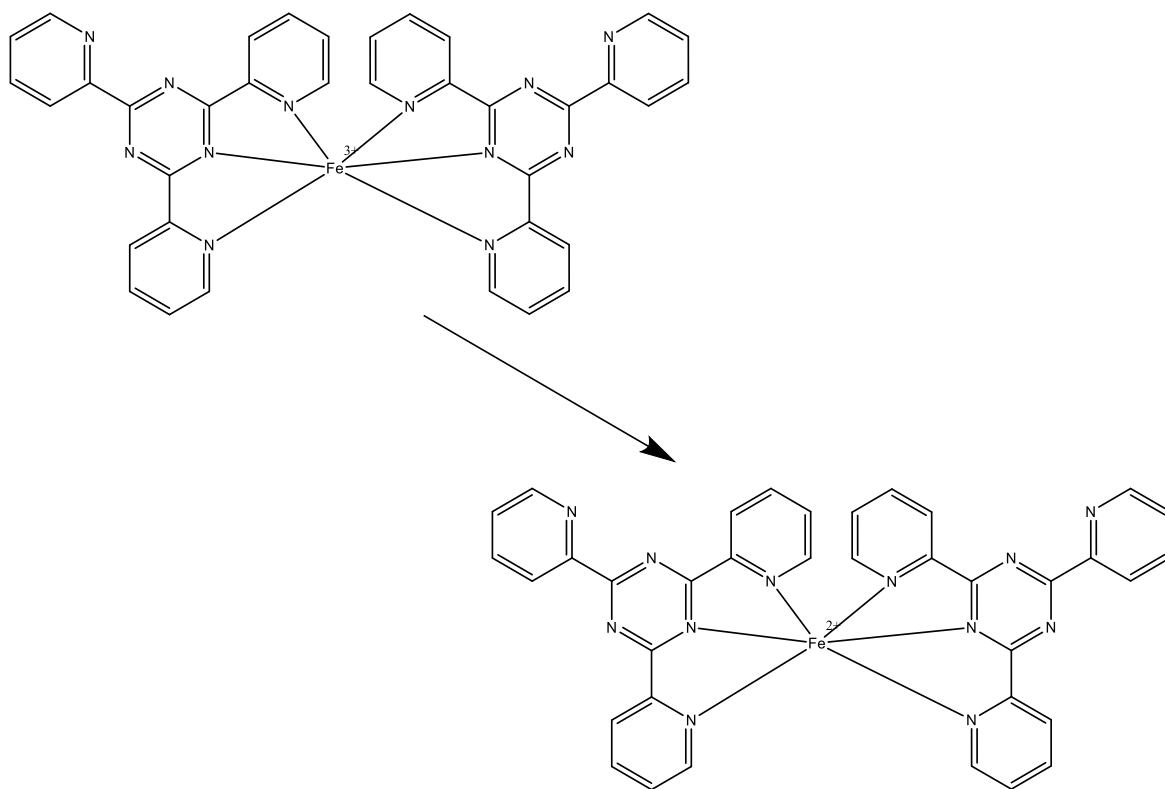
$$\% \text{inhibition} = (A_{\text{test}} / A_{\text{control}}) - 1 * 100$$

## 12 Evaluation de l'activité antioxydante

L'utilisation des préparations médicales à partir des plantes et la considération des herbes comme alternatifs pour la production des principes actifs continue à jouer un rôle important sur l'état générale de la santé des populations autour du monde. Donc la recherche de nouveaux antioxydants est devenue une nécessité.

### 12.1 Méthode de la réduction du fer FRAP

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *chrysanthemum segetum* est évalué d'abord par la méthode de réduction de fer qui consiste à mesurer la capacité de cette huile à réduire les ions ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ).[48] (**Figure 10**)



**Figure 10** : Réaction du test de FRAP

L'intensité de la coloration est mesurée par l'augmentation de l'intensité à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, l'éthanol dans notre expérience.

En utilisant un appareil (UV-visible) spectrophotomètre. (**Figure 11**)



**Figure 11** : Spectromètre UV-Visible

Le protocole utilisé est le suivant :

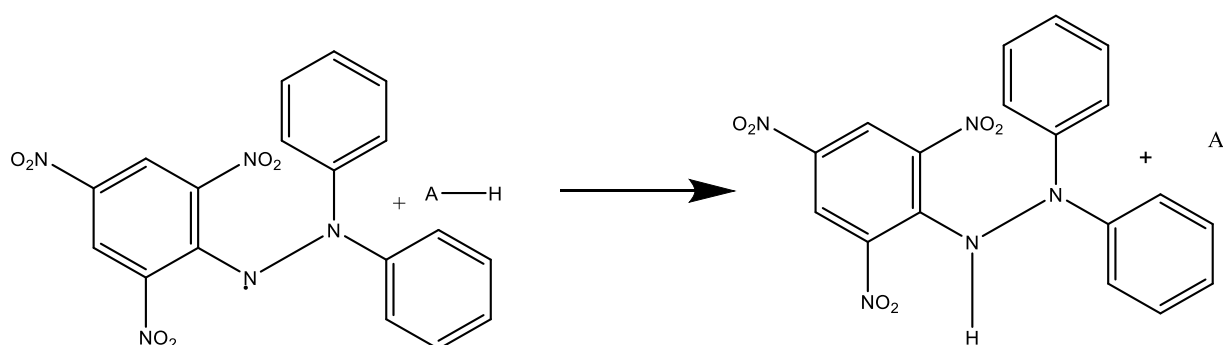
- ❖ Différentes concentrations de l'HE, les dilutions sont préparés avec l'éthanol comme diluant.
- ❖ Dans des tubes à essai on a mis 1 ml d'extrait.
- ❖ 0.5 ml d'une solution tampon phosphate 0.2 M (PH=6.6).
- ❖ 0.5ml d'une solution de ferricyanure de potassium (1%).
- ❖ L'ensemble est incubé dans l'étuve à 50°C pour une période de 20mn.
- ❖ 0.5 ml d'acide trichloracétique à 10 % est ajouté à la sortie de l'incubation afin de stopper la réaction.
- ❖ Tous les échantillons sont passés dans la centrifugeuse pendant 10 minutes à 3000 tour/minutes.
- ❖ A la fin 1 ml du surnageant de chaque extrait est récupéré dans des tubes.
- ❖ 1 ml d'eau distillée et y ajouté avec 0.2ml d'une solution de chlorure ferrique (0.1%) fraîchement préparé.
- ❖ Les échantillons sont mis dans des cuves sèches et propres pour l'analyse.
- ❖ Pour chaque échantillon, nous avons préparé un blanc constitué de la solution de FRAP et un control positif qui est un antioxydant de référence à différentes concentrations.

## 12.2 Méthode de la réduction du radical libre DPPH

Le test DPPH consiste à mesurer le pouvoir anti-radicalaire de molécules pures. Dans notre cas, on a fait l'analyse DPPH pour l'HE, en mesurant la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène.

Le DPPH°, initialement violet, se transforme en couleur jaune pâle. Cette réduction est mesurée par un (UV-visible) spectrophotomètre à une longueur d'onde de 517 nm.[49]

(Figure 12)



**Figure 12** : Réaction du test de DPPH

Le protocole utilisé est comme suit:

- ❖ La préparation de la solution du DPPH est faite dans une fiole de 100 ml avec une quantité de 0.003g dilué dans de l'éthanol.
- ❖ La fiole est recouverte de papier aluminium pour éviter l'influence de la lumière, puis mise dans le frais pendant 30 minutes.
- ❖ Différentes concentrations de l'HE, les dilutions sont préparées avec l'éthanol comme diluant.
- ❖ Dans des tubes à essais propres et secs, 1 ml de solution de DPPH est ajouté à 1 ml des échantillons.
- ❖ Les différents échantillons sont mis dans des cuves et l'absorbance est mesurée par un appareil (UV-visible) spectrophotomètre

Pour le calcul du pourcentage d'inhibition, la formule suivante est utilisée :

$$\% \text{ de réduction DPPH} = ((\text{ABS}_{\text{control}} - \text{ABS}_{\text{échantillon}}) / \text{ABS}_{\text{control}}) * 100$$

## Chapitre II : Résultats et discussion

### 13 Calcul du Rendement

Le rendement de l'huile essentielle calculé par rapport à la masse sèche de la plante *C.Segetum* de la région de Tlemcen est de l'ordre de 0.62 % ; Considéré comme un rendement faible en comparaison à d'autres HEs utilisées en industrie , Mais bon par rapport à la même huile essentielle de l'Italie avec des valeurs de rendement de l'ordre de 0.1% et 0.5%. [39]

Le rendement de l'extrait d'hydrolat après l'extraction liquide-liquide et l'évaporation du solvant est de 0.8%.

Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle :

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle sont représentées dans le tableau 2 ci-dessous.

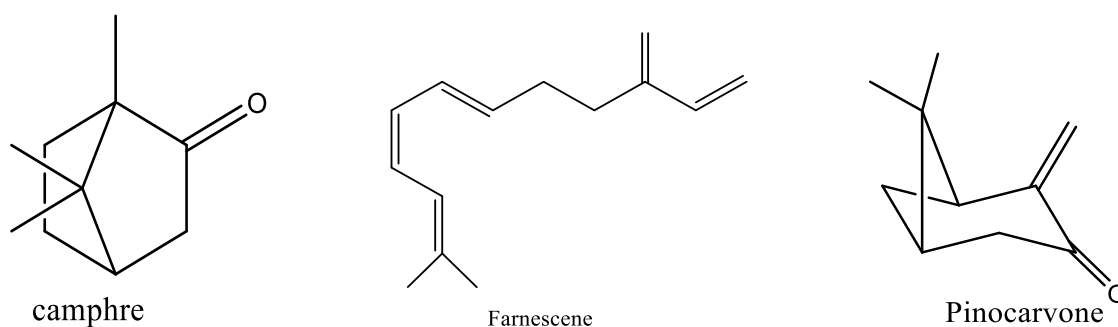
**Tableau 2** : Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *C.Segetum*

Huile essentielle	Aspect	Odeur	Couleur
<i>C.segetum</i>	Fluide	Forte	Transparente

### 14 Composition chimique de l'huile essentielle

La composition chimique de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes du genre *chrysanthémum* a été analysée par CPG et CPG /SM. Les résultats nous ont été proposés par le Laboratoire. Cette analyse a permis l'identification de quarante composés qui représentent 66.1% du mélange, Dont trois mono terpènes hydrocarbonés, quatorze mono terpènes oxygénés, onze sesquiterpènes hydrocarbonés et sept sesquiterpènes oxygénés en plus de quelques composés non terpéniques. (Tableau 3)

L'HE de cette espèce est constitué principalement de mono terpènes oxygénés (24.3%) et de sesquiterpènes hydrocarbonés (24%). Les composés majoritaires de l'HE sont le Camphre (12.5%), le Farnescene (6.2%) et le Pinacarvone (5.5%). (**Figure 13**)



**Figure 13** : Composés majoritaires identifiés dans l'HE de *chrysanthémum*

**Tableau 3** : Composition chimique de l'huile essentielle de *chrysanthémum* de la région de Tlemcen

N°	Composés	Ira	IRp	%	Identification
	Pinène	934	1016	0,2	RI, MS
	Myrcène	982	1153	0,6	RI, MS
	Yomogi alcool	985	1381	0,4	RI, MS
	Limonène	1021	1196	0,7	RI, MS
	Linalol	1081	1545	0,8	RI, MS
	Camphre	1120	1516	12,5	RI, MS
	Citronellal	1133	1495	0,2	RI, MS
	Pinocarvone	1139	1644	5,5	RI, MS
	Isomenthone	1140	1495	1,9	RI, MS
	Bornéol	1148	1776	0,9	RI, MS
	Lyratol	1159	1780	0,2	RI, MS
	Terpinèn-4-ol	1163	1589	0,2	RI, MS
	Cymene-8-ol	1169	1833	0,4	RI, MS
	Terpinéol	1177	1714	0,2	RI, MS
	Géranyle isovalerate	1202	1663	0,1	RI, MS
	Pulégone	1212	1620	0,1	RI, MS

Bornyl acetate	1264	1572	1,1	RI, MS
Lavandulol acetate	1270	1597	0,2	RI, MS
Myrtenyl acetate	1326	1729	0,8	RI, MS
Verbenone	1358	1604	0,7	RI, MS
Caryophyllene	1380	1593	3,1	RI, MS
6,8-Nonadien-2-one, 6-methyl-5-(1-methylethylidene)	1404	1750	1,1	RI, MS
Bergamotene	1414	1581	0,5	RI, MS
Farnescene	1446	1771	6,2	RI, MS
Alpha farnesene	1459	1687	1,5	RI, MS
Isovalerate de lyratyle	1472	1801	4,4	RI, MS
Germacrène-D	1476	1782	5,1	RI, MS
Murolène	1490	1740	0,4	RI, MS
Beta sesquiphallandrène	1516	1768	3,1	RI, MS
Alpha cadinène	1525	1715	0,6	RI, MS
(E)- $\alpha$ -Bisabolène	1532	1750	0,4	RI, MS
Cis, trans farnésène	1548	1734	0,2	RI, MS
Nérolidol	1552	1843	0,3	RI, MS
Cis-3-hexenyl benzoate	1559	1971	5,3	RI, MS
Spathuléol	1566	2107	1,1	RI, MS
Pinocarvéol	1571	1683	0,7	RI, MS
Caryophyllène oxyde	1579	1905	2,9	RI, MS
Shyobunol	1586	2262	0,2	RI, MS
Isoaromadendrène	1590	1616	0,2	RI, MS
Viridiflorol	1598	2064	0,8	RI, MS
Acorénol	1610	2123	0,3	RI, MS

---

<b>Total d'identification%</b>	<b>66,1</b>
<i>Composés hydrocarbonés</i>	25,5
Monoterpènes hydrocarbonés	1,5

---

Sesquiterpènes hydrocarbonés	24
<i>Composés oxygénés</i>	27,3
Monoterpènes oxygénés	24,3
Sesquiterpènes oxygénés	3
<i>Composé non-terpénique</i>	8,5



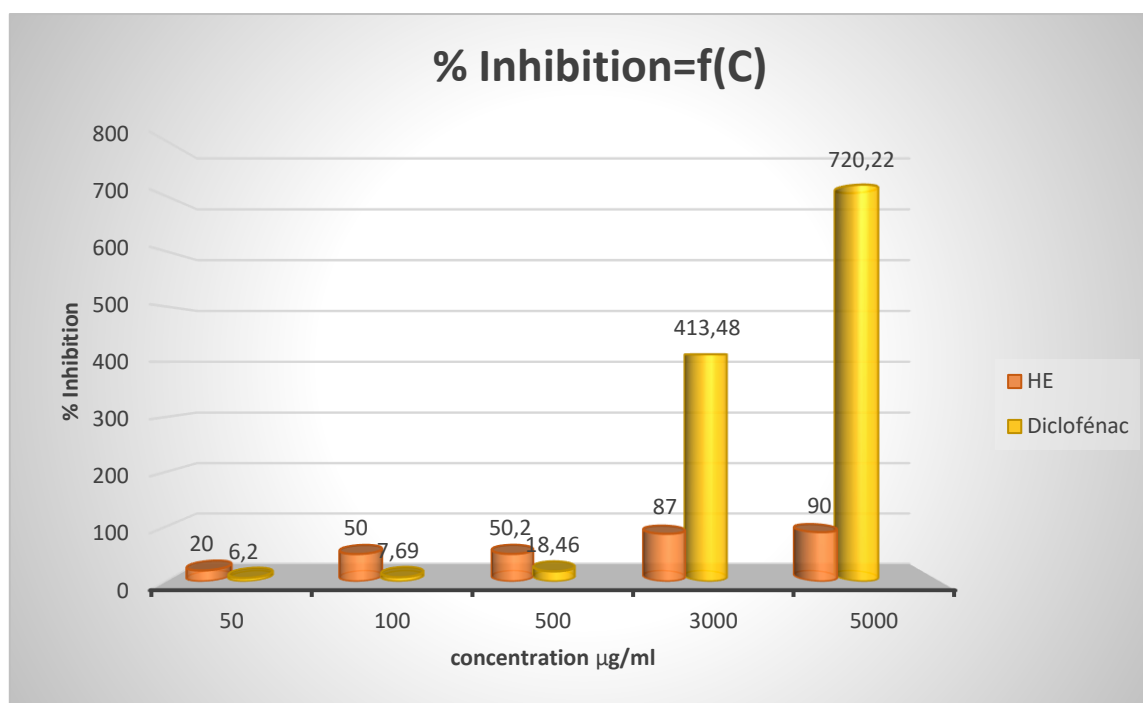
## 15 Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro

La méthode de dénaturation des protéines d'albumine d'œuf est utilisée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat des parties aériennes de *chrysanthemum segetum in-vitro*. La dénaturation peut être définie au sens large comme toute modification de la structure secondaire, tertiaire ou quaternaire des molécules protéiques qui n'implique pas la rupture des liaisons covalentes. La dénaturation affecte presque toutes les propriétés physico-chimiques des molécules de protéines. [50]

L'activité anti-inflammatoire de l'HE et de l'extrait d'hydrolat de *chrysanthemum segetum* en comparaison avec celle du Diclofénac est estimée d'abord par le calcul des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines puis par le calcul d'IC<sub>50</sub>. L'effet de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat sur les protéines de l'albumine de l'œuf a été évalué à différentes concentrations.

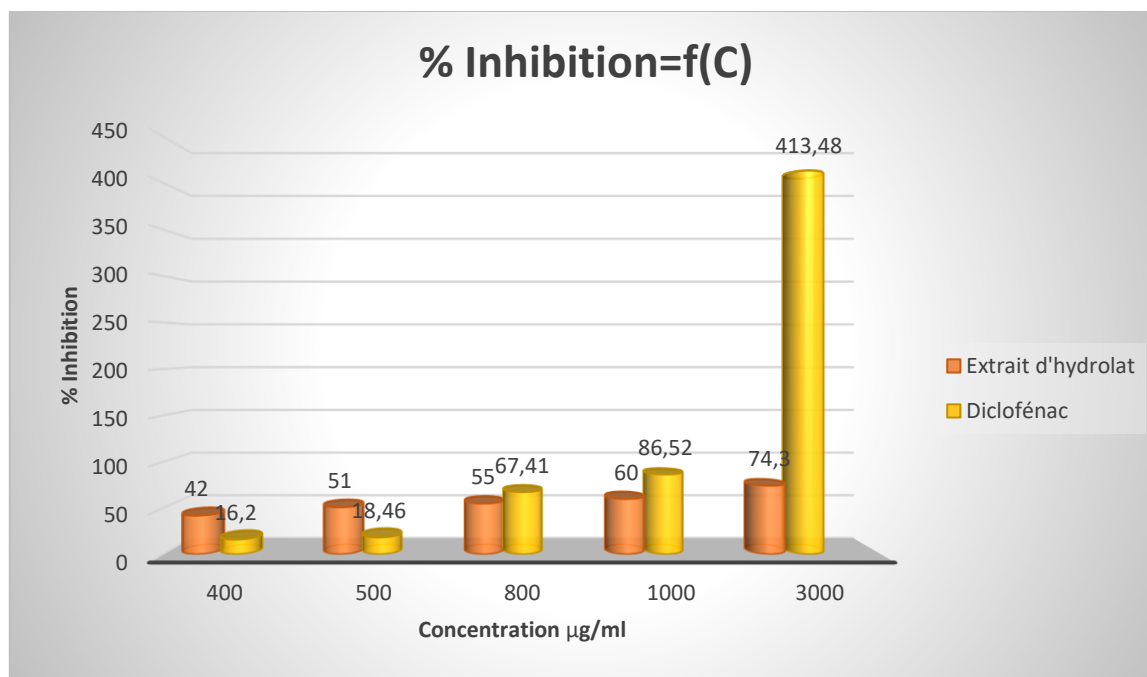
L'effet inhibiteur de la dénaturation de l'albumine d'œuf par l'HE et l'extrait d'hydrolat de *chrysanthemum segetum* montre qu'ils ont une activité anti-inflammatoire. Cela peut être dû à la richesse en composés bioactifs tel que les phénols.

Les histogrammes suivant récapitulent les pourcentages obtenus. (Figure 14,15)



**Figure 14** : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de l'HE de *C.segetum* et du Diclofenac

L'huile essentielle a protégée l'albumine d'œuf contre la dénaturation des protéines avec un pourcentage variant de 20% jusqu'à 90%. On remarque aussi que le pourcentage d'inhibition est directement proportionnel à la concentration mais cela reste faible par rapport à la référence.



**Figure 15 :** Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de l'extrait d'hydrolat de *C.segetum* et du Diclofenac.

L'extrait d'hydrolat a protégé l'albumine d'œuf contre la dénaturation des protéines avec un pourcentage variant de 42% jusqu'à 74.3% ; le pourcentage d'inhibition étant directement proportionnel à la concentration.

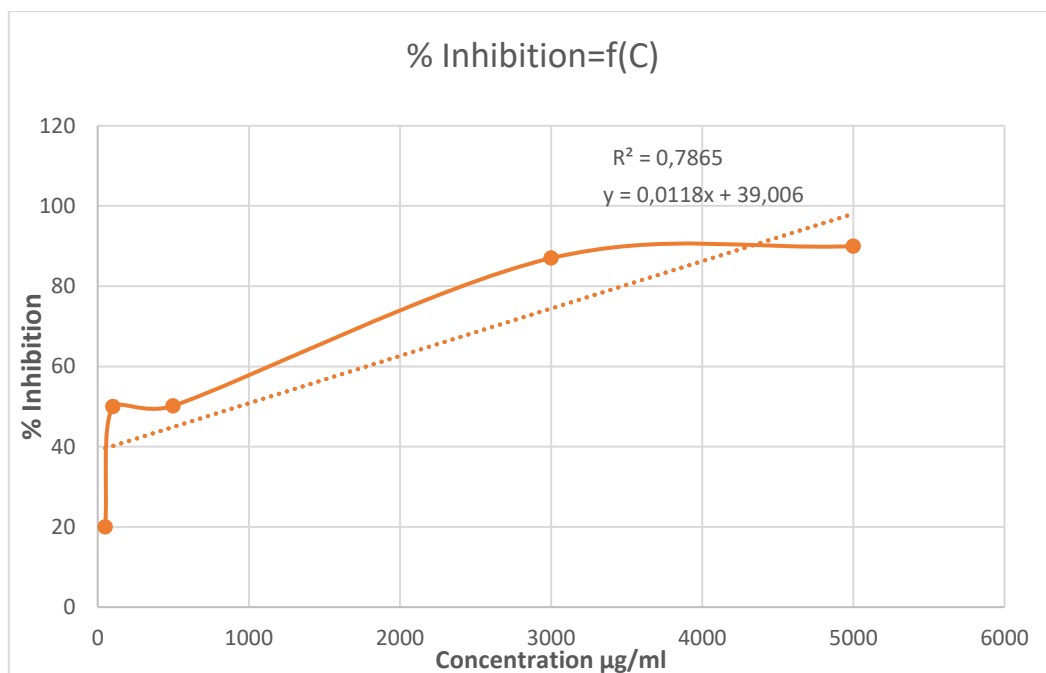
Le calcul des  $IC_{50}$  pour l'HE, l'extrait d'hydrolat et la référence est faite à partir des équations de graphe. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 4.

**Tableau 4 :** Valeurs d' $IC_{50}$

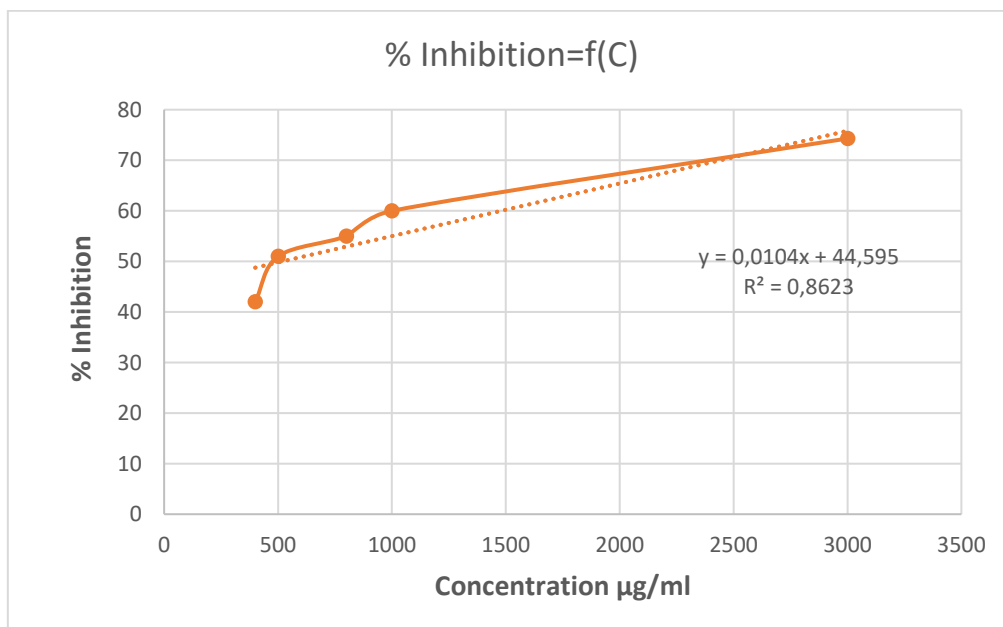
Echantillon	$IC_{50}$
Référence	198,08 µg/ml
Huile Essentielle	931,69 µg/ml
Extrait d'hydrolat	519,71 µg/ml

Les résultats montrent que les  $IC_{50}$  du Diclofenac, HE et l'extrait d'hydrolat sont de l'ordre de 198.08 µg/ml ,931.69 µg/ml et 519.71 µg/ml respectivement.

Les courbes sont représentées dans les figures suivantes.



**Figure 16** : graphe représentant le pourcentage d'inhibition de l'HE de *C.segetum*



**Figure 17** : graphe représentant le pourcentage d'inhibition de l'extrait d'hydrolat de *C.segetum*

Cela montre que l'extrait d'hydrolat de *C.segetum* a une meilleure activité anti-inflammatoire par rapport à l'HE. Ces deux dernières en comparaison avec la référence sont moins efficaces.

A notre connaissance, il n'existe aucune étude *in vitro* sur l'activité anti-inflammatoire de l'HE ni l'hydrolat extraits des parties aériennes de *chrysanthemum segetum*. En revanche des études *in vivo* ont prouvé que d'autres espèces de ce genre montrent une bonne activité.

L'extrait de fleurs de *chrysanthemum indicum* par exemple a prouvé une bonne activité anti-inflammatoire en plus d'être riche en composés phénoliques, cela pouvant être utilisé dans le traitement des inflammations et pour le développement d'anti-inflammatoire pour les aliments fonctionnels. [51]

Une autre recherche sur les extraits aqueux de *chrysanthemum morifolium cv. Fubaiju* a montré une grande capacité anti-inflammatoire expliquée par une composition riche en phénols. [52]

## 16 Evaluation de l'activité anti oxydante de l'huile essentielle

Les antioxydants jouent un rôle essentiel dans la santé humaine, car ils se sont avérés capables de réduire l'incidence de nombreuses maladies, telles que les néoplasies malignes. Actuellement, une plus grande attention est accordée aux antioxydants naturels en raison de l'insécurité possible des antioxydants synthétiques. Ainsi, le développement de techniques ou de méthodes efficaces pour séparer les antioxydants des sources naturelles est demandé de toute urgence. [53]

### 16.1 Méthode de la réduction du fer FRAP

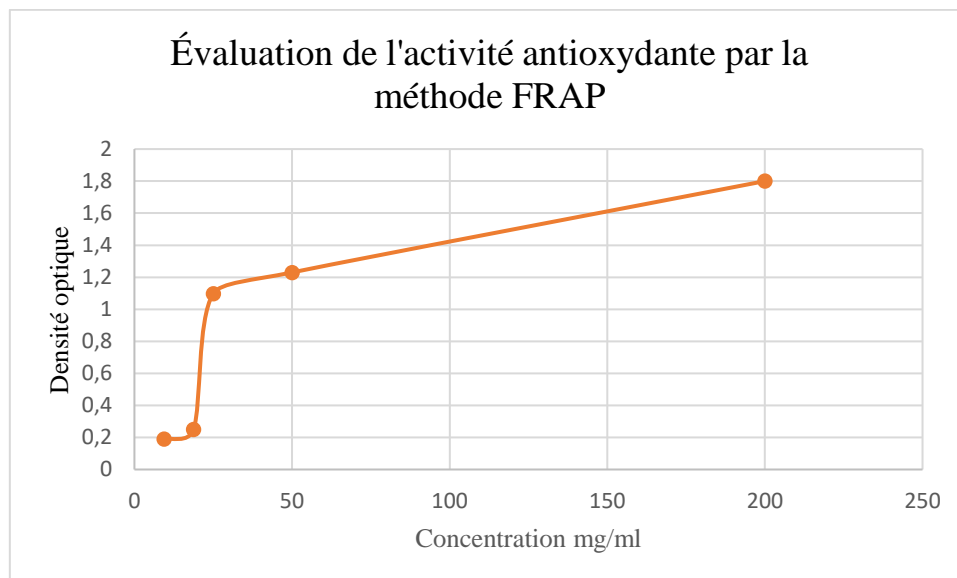
La méthode de FRAP est basée sur le changement de couleur observé lors de la réduction de l'ion ferrique en ion ferreux en présence d'un antioxydant. L'HE n'a montré aucun effet visible sur le changement de couleur. (Figure 16)

Les résultats obtenus sont représentés sur le graphe ci-dessous. (Figure 17)

Nous remarquons que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits, mais cela reste à des densités faibles qui ne dépassent pas le 1.8, ce qui signifie que l'activité antioxydante de l'HE est relativement faible ; un résultat que nous allons confirmer par une deuxième méthode par la suite.



**Figure 18** : Résultat de la méthode FRAP



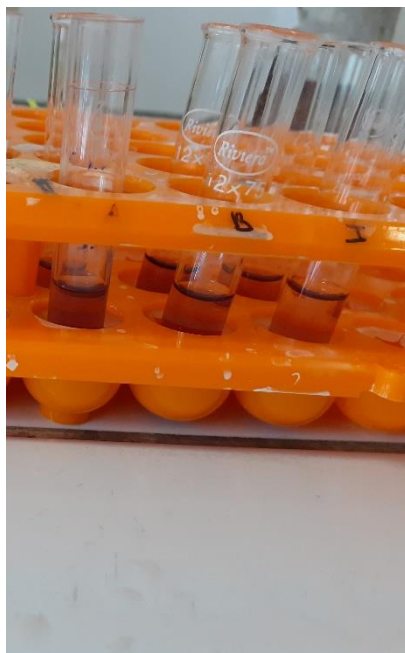
**Figure 19** : Pouvoir antioxydant de l'HE de *C.segetum* par la méthode FRAP

### 16.2 Méthode de réduction du radical libre

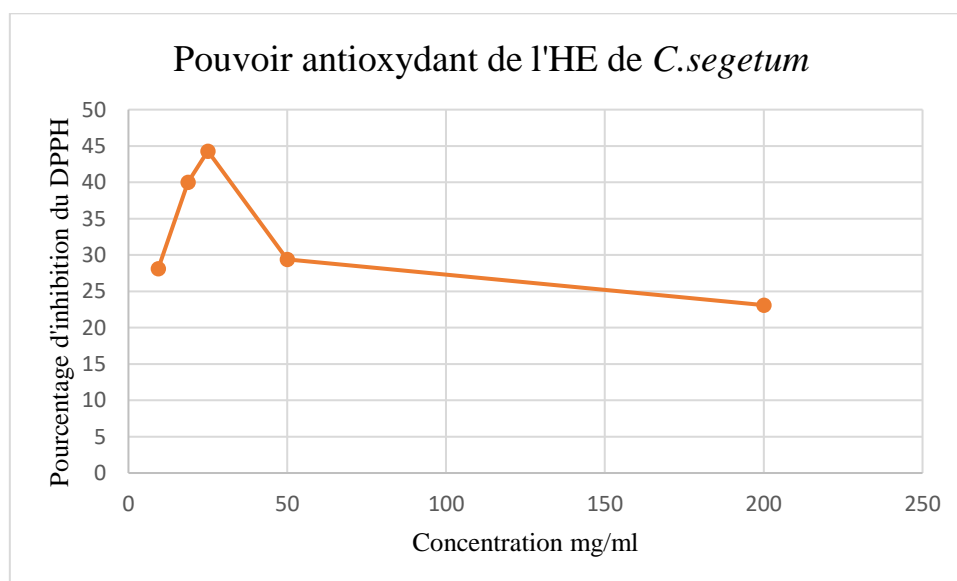
La coloration du DPPH dans une solution est violette, lors de l'action d'un antioxydant sur les radicaux libres produits, la couleur se transforme en jaune. Un intervalle important de concentration de l'HE de *chrysanthemum segetum* a été étudié lors de l'expérience ; cependant, nous n'avons obtenu qu'un petit changement de couleur à de très faibles concentrations (**Figure 17**).

Le graphe suivant montre les pourcentages d'inhibition du DPPH. D'après le graphe de la figure 19 nous remarquons qu'à de faibles concentrations le pourcentage d'inhibition du DPPH

augmente jusqu'à une valeur maximum de 44.3%. Puis, plus la concentration augmente plus le pourcentage d'inhibition diminue (**Figure 19**).



**Figure 20** : Résultat de la méthode DPPH



**Figure 21** : Pouvoir antioxydant de l'HE de *C.segetum* par la méthode DPPH

Les résultats de ce travail ont conclu que l'huile essentielle de *chrysanthemum segetum* de la région de Tlemcen possède un faible pouvoir antioxydant et cela à des concentrations faibles et même élevés.

## Conclusion générale

Un nombre important de plantes médicinales ont fait l'objet de plusieurs études scientifiques en raison de leurs contenances en composés bioactifs pouvant être utilisés dans l'industrie. Plusieurs travaux de recherches ont été focalisés sur les huiles essentielles et les hydrolats des plantes aromatiques.

En Algérie, un pays riche en ressources végétales, ses plantes aromatiques sont de plus en plus valorisées. Plusieurs résultats publiés ont montré que la flore algérienne est dotée d'un bon nombre de propriétés biologiques. Cependant, les travaux sur *chrysanthemum segetum* sont rares, sur l'huile essentielle et l'hydrolat aussi. Par conséquent, porter un intérêt à cette plante et évaluer ses activités biologiques devient une tâche utile et intéressante.

Dans ce contexte nous avons essayé d'évaluer *in vitro* deux des activités biologiques : l'anti-inflammatoire de l'huile essentielle et l'hydrolat de *chrysanthemum segetum* en plus de l'effet antioxydant de l'huile essentielle

*chrysanthemum segetum* a été cultivé dans la région de Tlemcen. L'extraction de l'huile essentielle est faite par la méthode d'hydrodistillation assurée par un appareil Cleavenger et cela consiste à utiliser de la matière sèche avec un rendement voisin de 0.62 %. La récupération de l'hydrolat a été faite durant les premières périodes d'extraction afin de pouvoir étudier son activité. Mais avant cela l'hydrolat a fait l'objet d'une extraction liquide-liquide.

L'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat a été évaluée par la méthode de dénaturation des protéines d'albumine d'œuf et l'activité antioxydante de l'huile essentielle a été évaluée par deux méthodes : la méthode de la réduction du fer FRAP et la méthode de réduction du radical libre DPPH.

En comparant avec le Diclofenac, l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat ont montré une activité anti-inflammatoire moins importante que la référence. Et en même temps l'extrait d'hydrolat a une meilleure activité que l'huile essentielle.

En dernier, l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle par deux méthodes FRAP et DPPH a conduit à une conclusion : le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle des parties aériennes de *chrysanthemum segetum* est faible.

Prenons en considération que *chrysanthemum segetum* contient des molécules intéressantes et que l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat des parties aériennes de cette plante est remarquable.

Nous proposons de développer la recherche sur la composition chimique de cette plante afin d'expliquer de façon plus significative et concrète sa relation avec les activités biologiques, ainsi que de développer des anti-inflammatoires à base d'huile essentielle pouvant être utilisés en industrie dans le but de remplacer les anti-inflammatoires synthétiques.



## Références

- (1) Reichling, J.; Schnitzler, P.; Suschke, U.; Saller, R. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. *Complement Med Res* **2009**, *16* (2), 79–90.
- (2) Aghraz, A.; Gonçalves, S.; Rodríguez-Solana, R.; Dra, L. A.; Di Stefano, V.; Dugo, G.; Cicero, N.; Larhsini, M.; Markouk, M.; Romano, A. Antioxidant Activity and Enzymes Inhibitory Properties of Several Extracts from Two Moroccan Asteraceae Species. *South African Journal of Botany* **2018**, *118*, 58–64.
- (3) Bessada, S. M. F.; Barreira, J. C. M.; Oliveira, M. B. P. P. Asteraceae Species with Most Prominent Bioactivity and Their Potential Applications: A Review. *Industrial Crops and Products* **2015**, *76*, 604–615.
- (4) Achika, J.; Arthur, D.; Gerald, I.; Adedayo, A. A Review on the Phytoconstituents and Related Medicinal Properties of Plants in the Asteraceae Family. *IOSR Journal of Applied Chemistry* **2014**, *7*, 01–08.
- (5) Diniz do Nascimento, L.; Moraes, A. A. B. de; Costa, K. S. da; Pereira Galúcio, J. M.; Taube, P. S.; Costa, C. M. L.; Neves Cruz, J.; de Aguiar Andrade, E. H.; Faria, L. J. G. de. Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from Spice Plants: New Findings and Potential Applications. *Biomolecules* **2020**, *10* (7), 988.
- (6) Hadidi, M.; Pouramin, S.; Adinepour, F.; Haghani, S.; Jafari, S. M. Chitosan Nanoparticles Loaded with Clove Essential Oil: Characterization, Antioxidant and Antibacterial Activities. *Carbohydrate Polymers* **2020**, *236*, 116075.
- (7) Abou Baker, D. H.; Al-Moghazy, M.; ElSayed, A. A. A. The in Vitro Cytotoxicity, Antioxidant and Antibacterial Potential of *Satureja Hortensis* L. Essential Oil Cultivated in Egypt. *Bioorganic Chemistry* **2020**, *95*, 103559.
- (8) Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological Effects of Essential Oils – A Review. *Food and Chemical Toxicology* **2008**, *46* (2), 446–475.
- (9) Poma, P.; Labbozzetta, M.; Notarbartolo, M.; Bruno, M.; Maggio, A.; Rosselli, S.; Sajeva, M.; Zito, P. Chemical Composition, in Vitro Antitumor and pro-Oxidant Activities of *Glandora Rosmarinifolia* (Boraginaceae) Essential Oil. *PLoS ONE* **2018**, *13* (5), e0196947.
- (10) Lee, M. H.; Kim, S. Y.; Park, H. J. Effect of Halloysite Nanoclay on the Physical, Mechanical, and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Clove Essential Oil. *Food Hydrocolloids* **2018**, *84*, 58–67.
- (11) Song, X.; Zuo, G.; Chen, F. Effect of Essential Oil and Surfactant on the Physical and Antimicrobial Properties of Corn and Wheat Starch Films. *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, *107*, 1302–1309.
- (12) Swamy, M. K.; Sinniah, U. R. Patchouli (*Pogostemon Cablin* Benth.): Botany, Agrotechnology and Biotechnological Aspects. *Industrial Crops and Products* **2016**, *87*, 161–176.

- (13) Aprotosoae, A. C.; Şpac, A.; Hancianu, M.; Miron, A.; Tănăsescu, V.; Dorneanu, V.; Stănescu, U. The Chemical Profile of Essential Oils Obtained from Fennel Fruits (*Foeniculum Vulgare* Mill.). *Farmacia* **2010**, *58*, 46–53.
- (14) Nadjat Chrif; Ghriga Djema. Etude Statistique Sur l'influence de La Culture de Quelques Plantes Medecinales Sur La Qualité Des Huiles Essentielles. Université de Ghardaïa September 2020.
- (15) Belabbes, R.; Dib, M. E. A.; Djabou, N.; Ilias, F.; Tabti, B.; Costa, J.; Muselli, A. Chemical Variability, Antioxidant and Antifungal Activities of Essential Oils and Hydrosol Extract of *Calendula Arvensis* L. from Western Algeria. *Chem. Biodiversity* **2017**, *14* (5), e1600482.
- (16) Shen, X.; Chen, W.; Zheng, Y.; Lei, X.; Tang, M.; Wang, H.; Song, F. Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Hydrosols from Different Parts of *Areca Catechu* L. and *Cocos Nucifera* L. *Industrial Crops and Products* **2017**, *96*, 110–119.
- (17) D'Amato, S.; Serio, A.; López, C. C.; Paparella, A. Hydrosols: Biological Activity and Potential as Antimicrobials for Food Applications. *Food Control* **2018**, *86*, 126–137.
- (18) Chandra, S.; Chatterjee, P.; Dey, P.; Bhattacharya, S. Evaluation of in Vitro Anti-Inflammatory Activity of Coffee against the Denaturation of Protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2012**, *2* (1), S178–S180. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60154-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60154-3).
- (19) Raymondjean, M. Les mécanismes de l'inflammation périphérique. *Revue Francophone des Laboratoires* **2007**, *2007* (389), 21–28.
- (20) Busse, R.; Fleming, I. Vascular Endothelium and Blood Flow. In *The Vascular Endothelium II*; Moncada, S., Higgs, A., Eds.; Handbook of Experimental Pharmacology; Springer: Berlin, Heidelberg, 2006; pp 43–78.
- (21) Boursinos, L.; Karachalios, T.; Poultsides, L.; Malizos, K. Do Steroids, Conventional Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Selective COX-2 Inhibitors Adversely Affect Fracture Healing. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* **2009**, *9*, 44–52.
- (22) Narayanaswamy, R.; Veeraragavan, V. Natural Products as Antiinflammatory Agents. In *Studies in Natural Products Chemistry*; Elsevier, 2020; Vol. 67, pp 269–306.
- (23) Dvorakova, M.; Landa, P. Anti-Inflammatory Activity of Natural Stilbenoids: A Review. *Pharmacological Research* **2017**, *124*, 126–145.
- (24) Oguntibeju, O. Medicinal Plants with Anti-Inflammatory Activities from Selected Countries and Regions of Africa. *JIR* **2018**, *Volume 11*, 307–317.
- (25) Pizzino, G.; Irrera, N.; Cucinotta, M.; Pallio, G.; Mannino, F.; Arcoraci, V.; Squadrito, F.; Altavilla, D.; Bitto, A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2017**, *2017*, 1–13.
- (26) Ayoub. BENSACKHRIA. Le stress oxydatif. In *Toxicologie générale*; 2019; p 17.
- (27) Olszowy, M. What Is Responsible for Antioxidant Properties of Polyphenolic Compounds from Plants? *Plant Physiology and Biochemistry* **2019**, *144*, 135–143.

- (28) Western Australian Herbarium, B. and C. S. Florabase—the Western Australian Flora <https://florabase.dpaw.wa.gov.au/browse/profile/46134> (accessed 2021 -07 -12).
- (29) <https://Efloramaghreb.Org/Specie/137673>.
- (30) [https://Inpn.Mnhn.Fr/Espece/Cd\\_nom/100304/Tab/Taxo](https://Inpn.Mnhn.Fr/Espece/Cd_nom/100304/Tab/Taxo).
- (31) Howarth, S. E.; Williams, J. T. Chrysanthemum Segetum L. *The Journal of Ecology* **1972**, *60* (2), 573.
- (32) [https://En.Wikipedia.Org/Wiki/Glebionis\\_segetum](https://En.Wikipedia.Org/Wiki/Glebionis_segetum).
- (33) GRIGORAȘ Claudia-Daniela; VÂȘCĂ-ZAMFIR Diana; VÎNĂTORU C; MUȘAT Bianca; BRATU Camelia; DOBRE Ovidia; BARCANU-TUDOR Elena. Glebionis Coronaria (Edible Chrysanthemum), a Multi-Purpose Plant. 2019, p 6.
- (34) Derouiche, K.; Zellagui, A.; Gherraf, N.; Belbout, A. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Flowers Extracts of Chrysanthemum Segetum L. *World Journal of Environmental Biosciences* **2018**, *7* (3), 106–111.
- (35) Kennouche, S.; Sabrina, B.; Bentamene, A.; Crèche, J.; Benayache, F.; Samir, B. In Vitro Antioxidant Activity, Phenolic and Flavonoid Contents of Different Polarity Extracts from Chrysanthemum Segetum L. Growing in Algeria. *IJPPR* **2016**, *8*, 1522–1525.
- (36) Amokrane, S.; Arhab, R.; Tudisco, R.; Rahab, H.; Infascelli, F.; Calabro, S. Effect of Chamaemelum Nobile and Chrysanthemum Segetum Extracts on Ruminal Methanogenesis in Vitro Degradability and Methane Forming Population. *IJAR* **2016**, *4* (5), 141–154.
- (37) Ochocka, R. J.; Rajzer, D.; Kowalski, P.; Lamparczyk, H. Determination of Coumarins from Chrysanthemum Segetum L. by Capillary Electrophoresis. *Journal of Chromatography A* **1995**, *709* (1), 197–202.
- (38) Haouas, D.; Ben Halima, M.; Ben Hamouda, M. . . Insecticidal Activity of Flower and Leaf Extracts from Chrysanthemum Species Against Tribolium Confusum. *Tunisian Journal of Plant Protection* **2008**, *3*, 87–93.
- (39) Marongiu, B.; Piras, A.; Porcedda, S.; Tuveri, E.; Laconi, S.; Deidda, D.; Maxia, A. Chemical and Biological Comparisons on Supercritical Extracts of *Tanacetum Cinerariifolium* (Trevir) Sch. Bip. with Three Related Species of Chrysanthemums of Sardinia (Italy). *Natural Product Research* **2009**, *23* (2), 190–199.
- (40) Marriott, P. J.; Shellie, R.; Cornwell, C. Gas Chromatographic Technologies for the Analysis of Essential Oils. *Journal of Chromatography A* **2001**, *936* (1–2), 1–22.
- (41) Madhumita, M.; Guha, P.; Nag, A. Extraction of Betel Leaves (Piper Betle L.) Essential Oil and Its Bio-Actives Identification: Process Optimization, GC-MS Analysis and Anti-Microbial Activity. *Industrial Crops and Products* **2019**, *138*, 111578.
- (42) Paris, M.-H. *L'analyse des composés organiques volatils (COV) et leur réglementation dans les produits cosmétiques.*; école nationale supérieur des sciences de l'information et des bibliothèques; p 72.
- (43) Acree, T. E.; Barnard, J.; Cunningham, D. G. A Procedure for the Sensory Analysis of Gas Chromatographic Effluents. *Food Chemistry* **1984**, *14* (4), 273–286.

- (44) Mentouri, C. Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs séchées de *lavendula officinalis*. - *Institut de Nutrition, d'Alimentation et des Technologies Agro alimentaires, Université de Constantine Mentouri, Algérie* **2011**, 89–101.
- (45) Djabou, N.; Dib, M. E. A.; Tabti, B.; Costa, J.; Muselli, A. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Hydrosol Extracts Obtained by Liquid–Liquid Extraction (LLE) of *Daucus Muricatus* L. *Journal of Essential Oil Research* **2014**, *26* (6), 393–399.
- (46) Adeyeye, C. M.; Li, P.-K. Diclofenac Sodium. In *Analytical Profiles of Drug Substances*; Elsevier, 1990; Vol. 19, pp 123–144. [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(08\)60366-4](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60366-4).
- (47) Chandra, S.; Chatterjee, P.; Dey, P.; Bhattacharya, S. Evaluation of Anti-Inflammatory Effect of Ashwagandha: A Preliminary Study in Vitro. *Pharmacognosy Journal* **2012**, *4* (29), 47–49.
- (48) Bączek, K. B.; Kosakowska, O.; Przybył, J. L.; Pióro-Jabrucka, E.; Costa, R.; Mondello, L.; Gniewosz, M.; Synowiec, A.; Węglarz, Z. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Extracts from Costmary ( *Tanacetum Balsamita* L.) and Tansy ( *Tanacetum Vulgare* L.). *Industrial Crops and Products* **2017**, *102*, 154–163.
- (49) Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology* **1995**, *28* (1), 25–30.
- (50) Grant, N. H.; Alburn, H. E.; Kryzanasuskas, C. Stabilization of Serum Albumin by Anti-Inflammatory Drugs. *Biochemical Pharmacology* **1970**, *19* (3), 715–722.
- (51) Luyen, B. T. T.; Tai, B. H.; Thao, N. P.; Cha, J. Y.; Lee, H. Y.; Lee, Y. M.; Kim, Y. H. Anti-Inflammatory Components of Chrysanthemum Indicum Flowers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2015**, *25* (2), 266–269.
- (52) Li, Y.; Hao, Y.; Gao, B.; Geng, P.; Huang, H.; Yu, L.; Choe, U.; Liu, J.; Sun, J.; Chen, P.; Wang, T. T. Y.; Yu, L. (Lucy). Chemical Profile and in Vitro Gut Microbiota Modulatory, Anti-Inflammatory and Free Radical Scavenging Properties of Chrysanthemum Morifolium Cv. Fubaiju. *Journal of Functional Foods* **2019**, *58*, 114–122.
- (53) Gong, Y.; Huang, X.-Y.; Pei, D.; Duan, W.-D.; Zhang, X.; Sun, X.; Di, D.-L. The Applicability of High-Speed Counter Current Chromatography to the Separation of Natural Antioxidants. *Journal of Chromatography A* **2020**, *1623*, 461150.