



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieure et de la Recherche  
Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen  
Faculté des Sciences  
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire  
Laboratoire des Produits Naturels

## Mémoire

Présenté pour l'obtention du

Diplôme de Magister

en **BIOLOGIE**

Option

Substances naturelles, activités biologiques et synthèse

par

*Mme BELMEKKI Nacéra née TEBICHEK*

### Thème

Etude phytochimique, activités antimicrobiennes  
et antioxydantes de *Saccocalyx satureioides*, *Salvia verbenaca*  
et *Teucrium polium* de la région Ouest d'Algérie

Soutenu le : 15 / 06 / 2009

devant le jury composé de :

M <sup>r</sup> TALEB BENDIAB S. A.	Professeur (Université A. B. Tlemcen)	Président
M <sup>me</sup> ATIK BEKKARA F.	Professeur (Université A. B. Tlemcen)	Examinatrice
M <sup>r</sup> ABDELOUAHID D. E.	Maître de Conférences (Université A. B. Tlemcen)	Examineur
M <sup>r</sup> LAZOUNI H. A.	Maître de Conférences (Université A. B. Tlemcen)	Examineur
M <sup>me</sup> BEKHECHI C.	Maître de Conférences (Université A. B. Tlemcen)	Co-encadreur
M <sup>me</sup> BENDIMERAD N.	Maître de Conférences (Université A. B. Tlemcen)	Encadreur

Année Universitaire 2008 - 2009



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieure et de la Recherche

Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen

Faculté des Sciences

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Laboratoire des Produits Naturels

Mémoire

Présenté pour l'obtention du

Diplôme de Magister

en BIOLOGIE

Option

Substances naturelles, activités biologiques et synthèse

par

Mme BELMEKKI Nacéra née TEBICHEK

Thème

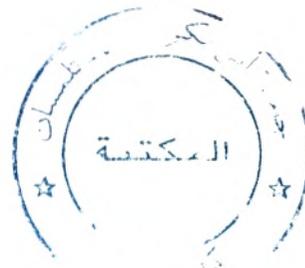
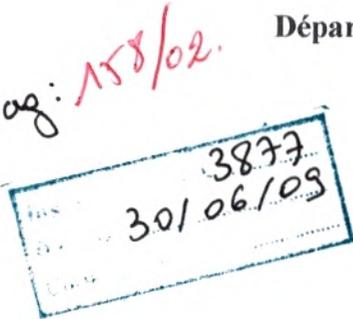
Etude phytochimique, activités antimicrobiennes  
et antioxydantes de *Saccocalyx satureioïdes*, *Salvia verbenaca*  
et *Teucrium polium* de la région Ouest d'Algérie

Soutenu le : 15 / 06 / 2009

devant le jury composé de :

M <sup>r</sup> TALEB BENDIAB S. A.	Professeur (Université A. B. Tlemcen)	Président
M <sup>me</sup> ATIK BEKKARA F.	Professeur (Université A. B. Tlemcen)	Examinatrice
M <sup>r</sup> ABDELOUAHID D. E.	Maître de Conférences (Université A. B. Tlemcen)	Examinateur
M <sup>r</sup> LAZOUNI H. A.	Maître de Conférences (Université A. B. Tlemcen)	Examinateur
M <sup>me</sup> BEKHECHI C.	Maître de Conférences (Université A. B. Tlemcen)	Co-encadreur
M <sup>me</sup> BENDIMERAD N.	Maître de Conférences (Université A. B. Tlemcen)	Encadreur

Année Universitaire 2008 - 2009



*DEDICACES*

*Je dédie ce travail à,*

*Mes parents*

*Mon mari*

*Mes filles, amani et wissal*

*Mes sœurs et mes frères*

*Tous les membres de ma famille*

*Mme Bendimerad Nassima.*

## REMERCIEMENTS

**J'ai** eu la chance d'effectuer ce travail de recherche dans le Laboratoire de Produits Naturels (LAPRONA) de l'université Abou Bakr BELKAID-TLEMCEN, sous la direction de Mme BENDIMERAD Nassima, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEN et Mme BEKHECHI Chahrazed, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEN.

**Je** remercie vivement Mme BENDIMERAD Nassima pour ses précieux conseils et son soutien à tous les instants. Sa gentillesse, ses grandes qualités scientifiques et humaines ont contribué au bon déroulement de ce travail. Ses critiques et sa compétence ont été un solide appui et un réconfort.

**Je** remercie très sincèrement Mme BEKHECHI Chahrazed pour ses précieux conseils, ses encouragements, son aide qu'elle m'a prodigués et d'avoir accepté d'être mon Co-encadreur, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance et gratitude.

**Je** veux exprimer mes vifs remerciements à Mr Sid Ahmed TALEB BENDIAB, Professeur à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEN pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant ce jury.

**J'adresse** mes vifs remerciements à Mme ATIK BEKKARA Fewzia, Professeur à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEN pour ses conseils pertinents, son encouragement et pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail, en acceptant de le juger.

**Je** remercie vivement Mr ABDELOUAHID Djamel Eddine, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEN pour avoir mis à ma disposition son laboratoire et pour avoir accepté de juger ce travail.

**Je** tiens également à remercier Mr LAZOUNI Hamadi Abderrahmane, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEN pour ses conseils et pour avoir accepté de juger ce travail.

**J'**exprime mes remerciements les plus vifs et ma profonde reconnaissance à Mr Xavier FERNANDEZ, Maître de Conférences à l'Université de Nice Sophia-Antipolis, pour nous avoir accueillis au sein du Laboratoire de Chimie des Molécules Bioactives et des Arômes (LCMBA) et pour toute l'aide qu'il nous a fourni afin de réaliser les analyses chromatographiques de nos huiles essentielles.

**Je** souhaite manifester toute ma gratitude et mes remerciements à Mr BENABADJI Noury, Professeur à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEM et membre du Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes pour l'aide qu'il nous a fourni dans l'identification des espèces végétales.

**Ma** gratitude et ma reconnaissance sont adressées à Mme BELARBI Meriem, Professeur à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEM, pour les services rendus au cours de la préparation de ce travail, pour ses conseils et son encouragement.

**Je** remercie aussi Mr BENKADA Daoudi, Chargé de Cours à la Faculté des Sciences, Université de TLEMCEM, pour toute l'aide qu'il m'a fourni.

**J'**adresse mes vifs remerciements à mon mari, pour ses encouragements, son aide et son soutien.

**Mes** remerciements vont aussi à mes collègues BELKACEM Nacéra et RAHMOUN Najib Mohamed pour toute l'aide qu'ils m'ont fourni, à tous mes collègues d'étude et à tous les membres du Laboratoire de Produits Naturels.

## Liste des abréviations

Abs	: Absorbance
Ac.	: Acide
AcOEt	: Acétate d'éthyle
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AINS	: Anti-inflammatoires non Stéroïdiens
ATB	: Antibiotique
ARN	: Acide ribonucléique
ARP	: Puissance antiradicalaire
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CG/SM	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse
cm	: Centimètre
DMSO	: Diméthyl sulfoxyde
DO	: Densité optique
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène
HE	: Huile essentielle
HIV	: Virus de l'Immunodéficience Humain
HPLC	: Chromatographie liquide haute performance.
M	: Molaire.
MH	: Mueller Hinton
mM	: Millimolaire
mm	: Millimètre
n-buOH	: n-butanol
NH <sub>4</sub> OH	: Ammoniaque
PDA	:Potatose Dextrose Agar
Rf	: Rapport frontal
RMN	: Résonance magnétique nucléaire.
UFC	: Unité Formant Colonie
UV	: Ultra Violet
v	: Volume
%	: Pourcentage
µg	: Microgramme
µ L	: Microlitre

# Résumés

## Résumé

L'étude des espèces *Saccocalyx satureioïdes*, *Teucrium polium* et *Salvia verbenaca* appartenant à la famille des Lamiaceae, a porté sur un screening phytochimique visant à caractériser les différentes familles de composés chimiques contenues dans leur partie aérienne, puis l'extraction sélective des classes dont les tests sont positifs.

L'analyse des huiles essentielles de *Saccocalyx satureioïdes*, *Teucrium polium* par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM), a permis d'identifier les constituants majoritaires suivants : le bornéol (23.93%), l' $\alpha$ -terpinéol (20.20%) et le thymol (18.01%) dans *Saccocalyx satureioïdes*, le D-germacrène (24.98 %), le B-germacrène (12.59%), le  $\beta$ - pinène (11.32 %) et le carvacrol (8.64%) pour *Teucrium polium*.

Les dosages des phénols totaux et des flavonoïdes ont été effectués à partir des extraits bruts, dont les teneurs ont été déterminées à l'aide des courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de la catéchine respectivement. Différentes classes de composés phénoliques ont été identifiées dans les trois espèces par chromatographie sur couche mince dont les flavonoïdes (flavanones et flavones), un acide phénol (l'acide férulique), ainsi que le pyrogallol, l'hydroquinone, le résorcinol, la catéchol et le phloroglucinol. Le rendement en saponosides dans *Teucrium polium* (2.65%) est deux fois plus élevé que celui révélé dans *Saccocalyx satureioïdes* (1.9%). L'huile essentielle de *Saccocalyx satureioïdes* est beaucoup plus active que celle de *Teucrium polium*. Toutes les souches bactériennes se sont révélées très sensibles à cette huile essentielle et ceci avec une CMI < 2 $\mu$ L/mL.

L'estimation du pouvoir antioxydant des trois espèces par piégeage du radical libre DPPH a permis d'obtenir les valeurs EC<sub>50</sub> suivantes : 2.95mg/mL, 3.11 mg/mL, 3.14 mg/mL pour les phases AcOEt de, *Teucrium polium*, *Saccocalyx satureioïdes* et *Salvia verbenaca* respectivement, ce pouvoir a été plus important que celui donné par les phases n-bu OH.

Ce pouvoir a été aussi exprimé à l'aide de la puissance antiradicalaire ou l'ARP.

**Mots clés :** *Saccocalyx satureioïdes*, *Teucrium polium*, *Salvia verbenaca*, huiles essentielles, phénols totaux, flavonoïdes, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

## Abstract

Study on species *Saccocalyx satureioides*, *Teucrium polium* and *salvia verbenaca*, belong to the Lamiaceae family on a screening phytochimic aiming to characterize the different families of composed chemical contained in aerial part, then the selective extraction of classes if tests are positive.

The analysis of essential oil of *Saccocalyx Satureioides*, *Teucrium polium* by gaseous chromatography (GC /SM) has permit to relieve the majority components : the borneol (23.93 %), the  $\alpha$ -terpineol (20.20 %) and thymol ( 18.01%) for *Saccocalyx satureioides* and the D-germacrene ( 24.98% ) the B-germacrene (12.59 %) the  $\beta$ -pinene (11.32%) and the carvacrol (8.64%) for *Teucrium polium*.

Whole phenols dosage and flavonoids have been done by primary extracts which the tenor have been determined by curved display of gallic acid and catechin also. Different categories of phenolic components have been identified in three species by Chromatography on fine slide even the flavonoids (flavanone and flavones), one phenol acid (ferulic acid), pyrogallol, hydroquinone, resorcinol catechol and phloroglucinol. The percentage of saponins in *Teucrium polium* (2.65%) is more important than one in *Saccocalyx satureioides* (1.9%).

The antimicrobial effect of essential oil of *Saccocalyx satureioides* has appeared more active on the majority of bacteria slides than the one of essential oil of *Teucrium polium* with a CMI < 2 $\mu$ L/mL.

Estimation of antioxidant activity of the three species by trapping of the free radical DPPH has relieved the values of EC<sub>50</sub> following: 2.95 mg/mL 3.11mg/mL and 3.14 mg/mL for phasis AcOEt of *Teucrium polium*, *Saccocalyx satureioides* and *salvia verbenaca* respectively. This activity was less important in the n-buOH phasis. An other value was calculated, it's the ARP.

**Keys:** *Saccocalyx satureioides*, *Teucrium polium*, *Salvia verbenaca*, essential oils, whole phenols, flavonoids, antimicrobiologic activity, antioxidant activity.

## الملخص

لقد انصب اهتمامنا على دراسة بعض النباتات من عائلة les Lamiaceae، فقد تم استخلاص بعض

من مركبات *Salvia verbenaca* و *Teucrium polium*، *Saccocalyx satureioides*.

أجريت تحاليل كروماتوغرافية غازية متجانسة مع منظار طيفي كتلي (CG/SM) على الزيوت الأساسية لـ *Saccocalyx satureioides* و *Teucrium polium* و التي أعطت تركيبة كيميائية أهم عناصرها bornéol (23.93%)،  $\alpha$ -terpinéol (20.20%) و thymol (18.01%) بالنسبة لـ *Saccocalyx*

*satureioides*. أما *Teucrium polium* فقد كانت أهم مركبات زيتة الأساسية هي: D- le carvacrol و  $\beta$ -pinène (11.32%)، B-germacrène (12.59%)، germacrène (24.9%)، كما أمكننا إجراء تحاليل كمية لالفينولات و الفلافونيدات بواسطة les courbes les saponosides و acide ascorbique لـ étalonnage و la catéchine على التوالي. وتحديد مردود في كل من *Teucrium polium* (2.65%) و *Saccocalyx satureioides* (1.9%).

أما الزيوت الأساسية المستخلصة من نباتي *Teucrium polium* و *Saccocalyx satureioides* فقد أظهرت فعالية زيت *Saccocalyx satureioides* على مقاومة أغلب الكائنات المجهرية المستخدمة لهذا الغرض.

و قد تم فصل بعض المركبات الفينولية من هذه النباتات بواسطة مذيبات عضوية، ثم فحصها على الطبقة الرقيقة و قد تبين من خلال التجارب المضادة للأكسدة أن المستخلصات النباتية المتحصل عليها بواسطة المحاليل الإيثيلية و البوتيلية ذات قدرة إرجاعية متوسطة إلى ضعيفة لجزيئة DPPH فقد أعطت قيما عالية لـ  $EC_{50}$  (*Teucrium polium* (2.95 mg/mL) ، *Saccocalyx satureioides* (3.11 mg/mL) و *Salvia verbaneca* (3.14 mg/mL) للمستخلصات الإيثيلية.

**الكلمات المفتاحية:** *Salvia verbaneca* ، *Teucrium polium* ، *Saccocalyx satureioides*

الزيوت الأساسية الفلافونيدات ، مضادات مكروبية، مضادات الأكسدة.

# SOMMAIRE

	<b>Page</b>
Remerciements	iii
Abréviations utilisées	v
Résumés	vi
Sommaire	x
Liste des figures	xiv
Liste des tableaux	xv
INTRODUCTION GENERALE	01
 <b>CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I. Les plantes médicinales	05
I.1. Introduction	05
I.2. Domaines d'utilisation	07
II. Présentation des plantes étudiées	07
II.1. Présentation des lamiacées	07
II.1.1. Introduction	07
II.1.2. Systématique des lamiacées	08
II.1.3. Espèce <i>Saccocalyx satureioïdes</i>	08
II.1.3.1. Description botanique et répartition géographique	08
II.1.3.2. Usage	08
II.1.4. Espèce <i>Teucrium polium</i>	09
II.1.4.1. Synonymes	09
II.1.4.2. Description botanique et répartition géographique	09
II.1.4.3. Usage	09
II.1.5. Espèce <i>Salvia verbenaca</i>	09
II.1.5.1. Synonymes	10
II.1.5.2. Description botanique et répartition géographique	10
II.1.5.3. Usages et propriétés	10
III. Travaux antérieurs	10
III.1. Espèce <i>Saccocalyx satureioïdes</i>	10
III.1.1. Composition chimique	11
III.1.2. Activités biologiques	12
III.2. Espèce <i>Teucrium polium</i>	12
III.2.1. Composition chimique	13
III.2.2. Activités biologiques	13
III.3. Espèce <i>Salvia verbenaca</i>	13
III.3.1. Composition chimique	14
III.3.2. Activités biologiques	14
IV. Quelques substances actives de la plante	16
IV.1. Les huiles essentielles	16

IV.1.1. Définition	16
IV.1.2. Composition chimique des huiles essentielles	16
IV.1.3. Répartition	18
IV.1.4. Localisation	18
IV.1.5. Activités biologiques	19
IV.1.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	20
IV.1.7. Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles	21
IV.2. Les composés phénoliques	23
IV.2.1. Généralités	23
IV.2.2. Classification	25
IV.2.3. Rôle biologique des composés phénoliques	27
IV.2.4. Les flavonoïdes	27
IV.2.4.1. Définition	27
IV.2.4.2. Biosynthèse	28
IV.2.4.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes	30
V. Les antioxydants	32
V.1. Généralités	32
V.2. Types d'antioxydants	32
V.3. Les sources d'antioxydants	32
V.3.1. Les médicaments	32
V.3.2. Source alimentaire	33
V.3.3. Antioxydants naturels	33

## **CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE**

I. Introduction	36
II. Matériel Végétal	36
II.1. Origine géographique et période de récolte des plantes	36
II.2. Identification botanique	38
II.3. Préparation des échantillons	38
III. Tests phytochimiques	38
III.1. Différentes classes recherchées	38
III.1.1. Les alcaloïdes	38
III.1.2. Les flavonoïdes	39
III.1.3. Les tanins	39
III.1.4. Les coumarines	39
III.1.5. Les anthocyanosides et émodols	40
III.1.6. Les saponosides	40
III.1.7. Les stérols et stéroïdes	40
III.1.8. L'amidon	40
III.1.9. Les composés réducteurs	40
III.2. Epuisement du matériel végétal	41
III.3. Réactifs et réactions de caractérisations	41
IV. Extractions sélectives	45

IV.1. Les huiles essentielles	45
IV.1.1. Techniques d'extraction	45
IV.1.2. Calcul du rendement	46
IV.1.3. Analyse chromatographique de la composition chimique des huiles essentielles par CG/SM.	47
IV.2. Les flavonoïdes	47
IV.2.2. Détermination du rendement en extrait brut sec	49
IV.2.3. Dosage des phénols totaux	49
IV.2.4. Dosage des flavonoïdes	
IV.2.5. Analyse qualitative des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM).	49
IV.3. Les tanins	50
IV.3.1. Protocole d'extraction	50
IV.3.2. Calcul du rendement	50
IV.3.3. Analyse de la composition chimique des tanins par CCM	50
IV.4. Les saponosides	51
IV.4.1. Protocole d'extraction	51
IV.4.2. Calcul du rendement	52
V. Pouvoir antimicrobien	53
V.1. Provenance des germes	54
V.2. Pouvoir antimicrobien des antibiotiques et des antifongiques	54
V.2.1. Antibiogramme	54
V.2.2. Pouvoir antimicrobien des antifongiques	55
V.3. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	55
V.3.1. Aromatogramme	55
V.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	56
V.3.3. Pouvoir antifongique des huiles essentielles	56
V.4. Préparation des inoculums	56
V.4.1. Bactéries	57
V.4.2. Moisissures	57
V.5. Milieux de cultures utilisés	58
VI. Pouvoir antioxydant : piégeage du radical libre DPPH	58
VI.1. Préparation de la solution DPPH	58
VI.2. Préparation des dilutions	58
VI.3. Préparation des échantillons	58
VI.4. Préparation des solutions de contrôle	59
VI.5. Préparation des essais à blanc	59
VI.6. Expression des résultats	59

### **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

I. Tests phytochimiques	61
I.1. Résultats des tests phytochimiques	61
I.2. Conclusion	63

II. Extraction sélective des huiles essentielles.	63
II.1. Calcul du rendement	64
II.1.1. Influence du type d'extraction sur le rendement	64
II.2. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Saccocalyx satureioides</i>	69
II.3. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i>	73
III. Extraction des phénols totaux	73
III.1. Rendements en extraits bruts	73
III.2. Teneur des extraits bruts en phénols totaux	73
III.3. Teneur des extraits bruts en flavonoïdes	75
III.4. Résultats de la chromatographie sur couche mince	76
III.4.1. Conclusion	80
IV. Extraction des tanins	81
IV.1. Rendement en tanins	82
IV.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince	82
V. Extraction des saponosides	85
VI. Pouvoir antimicrobien	86
VI.1. Antibiogramme	86
VI.2. Pouvoir antimicrobien de l'antifongique	87
VI.3. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	88
VI.3.1. Aromatogramme	88
VI.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	89
VI.3.3. Pouvoir antifongique des huiles essentielles	89
VI.4. Discussion	90
VII. Pouvoir antioxydant testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH	93
<b>Conclusion générale</b>	100
<b>Littérature citée</b>	103
<b>Annexes</b>	

<b>Liste des figures</b>	<b>Page</b>
Figure 01 : Photos de <i>Saccocalyx Satureioïdes</i> (sèche).	08
Figure 02 : Photos de <i>Teucrium polium</i> .	08
Figure 03 : Photos de <i>Salvia verbenaca</i> .	09
Figure 04 : Teulolin A et B isolés de <i>Teucrium polium</i> .	12
Figure 05 : (I) la verbénacine ; (II) la salvinine.	14
Figure 06 : Structures de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles chez les Lamiaceae.	17
Figure 07 : Glandule sécrétrice sur la surface supérieure de la feuille d'origan vulgaire montrant l'espace subcuticulaire rempli d'huile essentielle.	18
Figure 08 : Localisation des structures sécrétrices dans la graine de carvi.	18
Figure 09 : Graine de carvi, détail de la structure primaire.	
Figure 10 : Noyau flavone.	18
Figure 11 : Noyau flavane.	27
Figure 12 : Squelette de base des flavonoïdes.	27
Figure 13 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes.	27
Figure 14 : Structure moléculaire de quelques flavonoïdes.	28
Figure 15 : n-tocophérol.	30
Figure 16 : La morine	33
Figure 17 : Régions de récolte (Encarta, 2009).	37
Figure 18 : Représentation schématiques des tests phytochimiques.	42
Figure 19 : Représentation schématique des tests phytochimiques.	43
Figure 20 : Représentation schématique des tests phytochimiques.	44
Figure 21 : Schéma d'extraction des flavonoïdes	
Figure 22 : Diphénylpicrylhydrazyl (DPPH)	48
Figure 23 : Rendements (%) en huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau.	58
Figure 24 : Rendements (%) en huiles essentielles de <i>Teucrium polium</i> obtenues par deux types d'extraction	63
Figure 25 : Chromatogramme en CG-SM de <i>Saccocalyx satureioïdes</i> .	64
Figure 26 : Distribution de la composition chimique de l'huiles essentielles de <i>Saccocalyx satureioïdes</i> en fonction des types de composés.	67
Figure 27 : Chromatogramme en CG-SM de <i>Teucrium polium</i> .	68

Figure 28 : Distribution de la composition chimique d'huiles essentielles de <i>Teucrium polium</i> en fonction des types de composés.	72
Figure 29 : Rendements (%) en extraits bruts des espèces étudiées.	73
Figure 30 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	74
Figure 31 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.	75
Figure 32 : Teneur en flavonoïdes des trois espèces étudiées	76
Figure 33 : Photo du chromatogramme résultant de l'analyse des fractions (AcOEt et n-bu OH) par chromatographie sur gel de silice.	81
Figure 34 : Photo du chromatogramme résultant de l'analyse des extraits acétoniques par chromatographie sur gel de silice.	84
Figure 35: Rendements en (%) saponosides de <i>Saccocalyx satureioïdes</i> et <i>Teucrium polium</i> .	85
Figure 36 : Antibiogramme : moyenne des zones d'inhibition relatives aux différentes souches bactériennes testées.	86
Figure 37 : Antifongigramme : moyenne des zones d'inhibition relatives aux différentes souches mycéliennes testées.	87
Figure 38 : Diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles relatives aux souches bactériennes testées.	88
Figure 39 : Pourcentages d'inhibition des huiles essentielles sur la croissance des souches mycélienne testées.	90
Figure 40 : Pouvoir antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle de <i>Saccocalyx satureioïdes</i> .	93
Figure 41 : Pouvoir antioxydant de l'extrait n-butanol de <i>Saccocalyx satureioïdes</i> .	93
Figure 42: Pouvoir antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle de <i>Teucrium polium</i> .	94
Figure 43: Pouvoir antioxydant de l'extrait n-butanol de <i>Teucrium polium</i>	94
Figure 44 : Pouvoir antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle de <i>Salvia verbenaca</i> .	94
Figure 45 : Pouvoir antioxydant de l'extrait n- butanol de <i>Salvia verbenaca</i> .	94
Figure 46 : Pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique.	95
Figure 47 : EC <sub>50</sub> des six extraits étudiés et de l'acide ascorbique.	96
Figure 48: Puissance antiradicalaire des six extraits étudiées et de l'acide ascorbique.	97

<b>Liste des tableaux</b>	<b>Page</b>
Tableau 01 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Dur.	11
Tableau 02 : La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i> spp. <i>aurasiacum</i> issue d'Algérie.	13
Tableau 03 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia verbenaca</i> issue de la Grèce.	15
Tableau 04 : Activité biologique des molécules aromatiques terpéniques selon leur fonction chimique.	22
Tableau 05 : Principales classes des composés phénoliques.	24
Tableau 06 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.	26
Tableau 07 : Situation géographique des stations de récolte.	36
Tableau 08 : Liste des souches microbiennes testées.	53
Tableau 09 : Liste des antimicrobiens testés.	54
Tableau 10 : Résultats des tests phytochimiques.	62
Tableau 11 : Comparaison des rendements en huile essentielle des trois espèces étudiées avec ceux des travaux antérieurs.	63
Tableau 12: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Saccocalyx satureioides</i> .	65
Tableau 13 : Bilan de l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de <i>Saccocalyx satureioides</i> .	67
Tableau 14 : Comparaison des composés prépondérants dans l'huile essentielle de <i>Saccocalyx satureioides</i> issue de trois régions de l'Algérie.	68
Tableau 15: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i> .	69
Tableau 16 : Bilan de l'étude de la composition chimique d'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i> .	71
Tableau 17: Teneurs en phénols totaux dans les extraits bruts des espèces étudiées.	74
Tableau 18 : Les valeurs des Rf des étalons dans les systèmes 1 et 2.	77
Tableau 19 : Les composés mis en évidence dans les fractions (AcOEt et n-buOH) par le système de solvant 1.	78
Tableau 20 : Les composés mis en évidence dans les fractions (AcOEt et n-buOH) par le système de solvant 2	79
Tableau 21 : Rendements(%) en tanins des trois espèces étudiées.	82
Tableau 22 : Rf des différents étalons des tanins utilisés	82
Tableau 23 : Les composés mis en évidence dans les trois espèces étudiées.	83
Tableau 24 : Concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles testées vis-à-vis des bactéries utilisées.	89
Tableau 25: EC <sub>50</sub> et puissance antiradicalaire (ARP) des extraits naturels et de l'acide ascorbique.	96

# **Introduction générale**

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeables (15%) d'espèces endémiques (**Ozenda, 1977**). L'investigation de ces espèces représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances.

Chacune de ces plantes peut contenir des centaines voire des milliers de métabolites secondaires, ou de principes actifs qui peuvent produire différentes actions physiologiques sur le corps humain (**Edeoga et al., 2006**).

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme captateurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme ; se sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux, la surproduction de ces radicaux peut être néfaste pour l'organisme. Ils endommagent de nombreux composants cellulaires aussi divers que les protéines, les lipides ou l'ADN en entraînant un stress oxydatif.

Les capteurs de radicaux libres ont pour rôle de stopper ce processus en neutralisant ces composés très réactifs, pour réduire leur nocivité (**Boyd et al., 2003**). Plusieurs études ont porté aussi sur l'activité antimicrobienne des métabolites secondaires, principalement celle des huiles essentielles, qui de part de leur composition chimique peuvent entraîner des dommages considérable sur les souches microbiennes (**Bounatirou et al., 2007**).

La disparition de biens naturels de la flore étant irréversible, la nécessité de les conserver est fondée tout à la fois sur un impératif écologique, une raison économique et une exigence éthique.

Pour cela, notre laboratoire et particulièrement notre équipe s'intéresse à la chimie et aux activités biologiques (antimicrobiennes et antioxydantes) des extraits végétaux des plantes soupçonnées médicinales dans le but d'élargir les perspectives de valorisation des produits naturels (**Bendimerad et al., 2005 ; Bekhechi et al., 2007 ; Belarbi et al., 2007 ; Bendimerad et al., 2007 ; Benhammou et al., 2007 ; Atik Bekkara et al., 2008 ; Benhammou et al., 2008**).

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressé à l'étude de certaines espèces végétales ; *Saccocalyx satureioides*, *Teucrium polium* et *Salvia verbenaca*, appartenant toutes les trois à la famille des Lamiaceae et poussant à l'état spontané dans la région Ouest d'Algérie.

Le travail qui nous a été confié consiste à approfondir la connaissance de ces espèces et à les valoriser.

Dans la première partie, nous aborderons, l'état des connaissances bibliographiques incluant une présentation botanique de la famille des Lamiaceae et des trois espèces *Saccocalyx satureioïdes*, *Teucrium polium* et *Salvia verbenaca*, leur usages, la composition chimique de leur huiles essentielles, leur activités biologiques et leur métabolites secondaires, sélectivement les huiles essentielles et les composés phénoliques.

Dans la deuxième partie, qui est la partie expérimentale, nous appliquerons les méthodes utilisées pour :

- La détermination des différentes classes de familles chimiques par criblage phytochimique.
- L'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau (*Saccocalyx satureioïdes*, *Teucrium polium* et *Salvia verbenaca*) et par hydrodistillation (*Teucrium polium*).
- L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles par application de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).
- L'extraction des composés phénoliques.
- Le dosage des phénols totaux.
- Le dosage des flavonoïdes.
- L'analyse de la composition chimique des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince.
- L'extraction des tanins.
- L'analyse de la composition chimique des tanins par chromatographie sur couche mince.
- L'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Saccocalyx satureioïdes* et *Teucrium polium* vis-à-vis de quelques souches microbiennes (cinq souches bactériennes et quatre souches fongiques) et sa comparaison à quelques antimicrobiens (antibiotiques et antifongique).
- L'étude du pouvoir antioxydant des fractions acétate d'éthyle et n-butanol par la méthode du piégeage du radical libre DPPH.

Dans la troisième partie, nous discutons les résultats obtenus lors de cette étude.

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

## I. Les plantes médicinales

### I.1. Introduction

Les plantes médicinales ont fait l'objet de beaucoup d'études grâce aux principes actifs qui diffèrent d'une plante à une autre créant ainsi une biodiversité remarquable. Plus de cinq milles substances naturelles différentes ont été identifiées (**Farombi, 2003**).

Parmi ces substances, on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse (**Bahorun, 1997**).

Aujourd'hui, les traitements par les 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 se sont peu à peu adaptées aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Larousse, 2001**).

### I.2. Domaines d'utilisation

Les herbes ont été utilisées dans plusieurs domaines y compris la médecine, la nutrition, l'assaisonnement, la teinture, les cosmétiques, ainsi que dans d'autres domaines d'industrie (**Djeridane et al., 2006**).

Un certain nombre de plantes médicinales sont encore utilisées de nos jours sous forme de décoctions et d'infusions, mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent de comprendre l'activité préconisée par nos ancêtres (**Bourrel, 1993**).

Certaines plantes sont utilisées comme traitement du rhume et de la fièvre (*Marrubium vulgare* et *Rosmarinus officinalis*), troubles d'estomac (*Mentha spicata*) (**Venderjagt et al., 2002**), dans les traitements des maladies rénales (*coriandrum saturom*) (**Aissaoui et al., 2008**), et plusieurs d'entre elles sont utilisées pour leurs effets analgésiques, antipyrétiques et anti inflammatoires (**Rasekh et al., 2001; Kanko et al., 2004**).

Quelques espèces de *Helichrysun* ont été utilisées pendant 2000 ans passés comme forme de thé grâce à leurs effets régulateur de la bile et diurétique (**Süzgeç et al., 2005**).

En nutrition, plusieurs espèces sont utilisées comme épice, colorant, boisson, ou encore pour leur effet aromatique (**Süzgeç et al., 2005**).

*Hippomarathrum microcarpum* est utilisée en nutrition par la population Turque (**Hakan et al., 2007**).

D'autre part, il existe une augmentation en intérêt des antioxydants naturels, particulièrement ceux qui ont tendance à présumer les effets de délétion du radical libre dans le corps humain, et de prévenir la détérioration de la matière grasse et d'autres constituants de la denrée alimentaire (**Bounatirou et al., 2007**).

Plusieurs espèces appartenant à la famille des Lamiaceae, font actuellement l'objet d'études phytochimiques visant à découvrir de nouveaux antioxydants (**Hennebelle, 2006**).

## II. Présentation des plantes étudiées

### II.1. Présentation des lamiacées

#### II.1.1. Introduction

Les espèces étudiées font r  
comprend près de 200 genres et 40  
due à leur production d'huile essentielle.  
espèces dont 20 se trouvent en Algérie (Ka.  
près de 900 espèces majoritairement riches en diterpènes,  
de la famille des lamiacées sont des sources riches en  
iridoïdes glycosylés (Kabouche et al., 2005).

#### II.1.2. Systématique des lamiacées

C'est une famille très importante dans la flore de l'Algérie, ces espèces  
des arbustes, sous arbrisseaux, ou plantes herbacées, en général odorantes,  
quadrangulaires. Les feuilles sont en général opposées sans stipules. Les fleurs sont bisexuées  
et zygomorphes. Les inflorescences sont en cymes axillaires plus ou moins contractées  
simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des  
épis.

Le calice est synsépale, typiquement pentamères, parfois bilabiée et porte 5 à 15 nervures  
protubérantes. La corolle est sympétale et typiquement bilabiée, avec deux lobes formant une  
lèvre supérieure, et trois lobes formant la lèvre inférieure. L'androcée peut consister soit en  
quatre étamines didynames, soit en deux étamines soudées au tube de la corolle ou à la zone  
périgyne et alternant avec les lobes. Le gynécée consiste en un ovaire composé de deux  
carpelles soudées avec une fausse cloison et style terminal à gynobasique ; à l'extrémité des  
styles, les stigmates sont petits et peu apparents (Quezel et Santa, 1963).

La systématique des Lamiacées selon **Quezel et Santa, (1963)** :

Règne : Végétal

Embranchement : Phanérogames

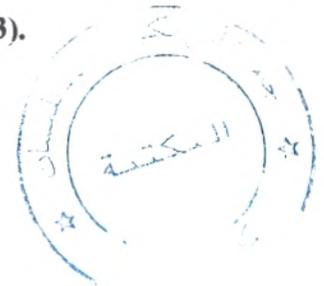
Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Sous classe : Gamopétales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae.



### II.1.3. Espèce *Saccocalyx satureioides*

Genre : *Saccocalyx*

Espèce : *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur.



Figure 1 : Photo de *Saccocalyx satureioides*.

#### II.1.3.1. Description botanique et répartition géographique

C'est un sous arbrisseau de 20-100 cm à tige érigée. Les feuilles sont ovales lancéolées de 4 – 6 x 2 – 3 cm, ciliées, hispides. Les fleurs sont en verticillastres, petites, blanches rosées ou pourpres. Le calice est à 5 dents, fortement accrescent, vésiculeux à la maturité. La corolle incluse à 4 lobes très courts, sub-égaux, les supérieurs plus ou moins émarginés.

Cette espèce s'élève sur les dunes de la zone prédésertique (Quezel et Santa, 1963).

#### II.1.3.2. Usage

La recherche auprès des autochtones sur cette espèce au niveau de la région d'Ain sefra a montré qu'une décoction est utilisée pour son effet antidiabétique, une tisane pour son effet digestif, et antiarthritique, et dans certain cas de brucellose.

Cependant, cet arbuste est peu connu, il n'a selon Biondi et al. (2006) aucun usage traditionnel dans la région de Bou-Saâda, Wilaya de M'sila.

### II.1.4. Espèce *Teucrium polium*

Genre : *Teucrium*

Espèce : *Teucrium polium* L.



Figure 2 : Photo de *Teucrium polium*

#### II.1.4.1. Synonymes : Bonnier, (1990)

Nom en Italie : Camedrio polio, Canitola, Polio.

Nom en espagnol : Poleo montano, Timo mascle, Tomillo terrero, Zamarilla.

Nom en français : Polio des montagnes, Germandrée tomenteuse.

Nom commun : El-Djaada.

#### II.1.4.2. Description botanique et répartition géographique

C'est une plante vivace recouverte de poils ligneux qui lui donne une couleur grise bleutée. L'aspect de la plante est très variable en général on la rencontre en touffe dense (Thoppil et al., 2001).

C'est une plante herbacée, ramifiée dès la base, et à feuilles linéaires, vert - grisâtres fortement révolutes sur les marges. Le calice est vert-grisâtre, la corolle est blanche. Les inflorescences en têtes compactes, les capituliformes sont situées au sommet des tiges (Quezel et Santa, 1963).

*Teucrium polium* est une plante à fleur (sauvage) qui se trouve abondamment dans le sud ouest de l'Asie, en Europe, et en nord africain (Hasani et al., 2007).

#### II.1.4.3. Usage

Une recherche auprès des autochtones au niveau de la wilaya de Tlemcen a révélé que cette espèce est surtout utilisée contre le diabète, et contre les troubles digestifs.

*Teucrium polium* est une plante médicinale encore utilisée dans la médecine traditionnelle comme hypoglycémiant (Esmaeili et Yazdanparast, 2004), diurétique, antipyrétique, diaphorétique, antispasmodique, tonic, anti-inflammatoire, analgésique et antibactérien (Thoppil et al., 2001).

#### II.1.5. Espèce *Salvia verbenaca*

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia verbenaca* L



Figure 3 : Photo de *Salvia verbenaca*

##### II.1.5.1. Synonymes

Selon Bonnier, (1990),

Nom en italien : Chiarella-minore

Nom en français : Prud'homme, Orvale sauge.

Nom en anglais : Vervain-Clary.

Nom commun : Essafaya.

Le nom générique, dérivé du latin «Salvus» Signifiant « sain et sauf » est dû aux propriétés médicinales de *Salvia officinalis* autre fois réputée quasiment universelle.

Verbenaca s'applique à l'aspect des feuilles – rappelant celle de la verveine- (latin= verbéna) (Beniston, 1984).

### II.1.5.2. Description botanique et répartition géographique

Le genre *Salvia* est un arbuste ou plante herbacée. Le calice bilabié est variable, à lèvre supérieure tridentée, l'inférieure bidentée. La corolle est bilabée.

Cette espèce se présente sous nombreuses formes qui ont les caractères communs suivants : La taille peut varier de 8 à 80cm, les fleurs sont d'un violet – bleu, parfois pâles et bleuâtres, rarement à lèvre inférieure rosée, pouvant s'épanouir, suivant les formes, ou suivant les régions.

Les feuilles ont un limbe dont le contour est ovale ou ovale-allongé et dont les bords sont fortement crénelés ou découpés en lobes ou encore profondément divisés ; les inférieures sont à long pétiole. Les fleurs sont groupées en faux – verticilles dont l'ensemble forme une grappe plus ou moins allongées (Bonnier, 1990).

Le calice est couvert sur toutes ses parties, de longs poils blanchâtres, sa lèvre supérieure, un peu élargie, est terminée par 3 petites dents dont la médiane est plus petite que les autres ; la lèvre inférieure du calice est formée par deux lobes aigus beaucoup plus grands que les dents de la lèvre supérieure. La corolle est de grandeur très variables et varie dans sa forme.

Cette espèce préfère souvent les terrains calcaires et argileux ; elle se trouve en général, à l'assez basse altitude ; elle peut s'élever jusqu'à 865m. Elle s'élève en Europe, au sud-ouest de l'Asie, en nord de l'Afrique et naturalisé dans l'Amérique du nord (Bonnier, 1990).

### II.1.5.3. Usages et propriétés

La recherche auprès des autochtones au niveau de la wilaya de Tlemcen, a montré que *Salvia verbenaca* est utilisée avec d'autres herbes médicinales pour traiter le rhume.

Les feuilles et les sommités fleuries sont stomachiques et stimulantes (Bonnier, 1990).

Bien que moins efficace que la sauge officinale, cette espèce sert à faire des infusions toniques et stimulantes (Beniston, 1984).

## III. Travaux antérieurs

### III.1. Espèce *Saccocalyx satureioides*

#### III.1.1. Composition chimique

L'espèce *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. a fait l'objet de deux études, celle de Biondi et al. (2006), pour l'espèce issue de la région de Bou-Saâda (Algérie) et celle de Laouer et al. (2006) pour la même espèce issue de la région de Sétif.

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation analysée par CG et CG – SM, a permis l'identification de quarante et un composés avec une prédominance de l' $\alpha$ -terpinéol, le thymol, et le bornéol (Tableau 1) (Biondi et al., 2006), et quarante deux composés avec prédominance de l' $\alpha$ -terpinéol (35.9%), le thymol (15.6%) et le bornéol (12.4%) (Laouer et al., 2006).

**Tableau 1** : Composition chimique de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. (Biondi et al., 2006).

Numéro	IK	Composés	%	Numéro	IK	Composés	%
1	924	Tricyclène	0.1	22	1191	Terpinèn-4-ol	1.2
2	929	$\alpha$ -Thujène	0.6	23	1193	$\alpha$ -Terpinéol	32.7
3	936	$\alpha$ -Pinène	1.8	24	1193	<i>Cis</i> -dihydroxycarvone	0.2
4	950	Camphène	2.9	25	1222	Formate d'isopronyl	0.2
5	975	Sabinène	t	26	1289	Acétate de bornyl	t
6	977	$\beta$ -Pinène	0.3	27	1291	Thymol	22.8
7	992	Myrcène	0.8	28	1297	Carvacrol	6.9
8	1003	Phellandrène	t	29	1352	Acétate de thymol	0.7
9	1017	Terpinène	0.6	30	1364	Acétate de carvacrol	0.1
10	1025	<i>p</i> -Cymène	5.0	31	1394	$\alpha$ -Gurjunène	t
11	1030	Limonène	1.5	32	1402	$\beta$ -Caryophyllène	0.8
12	1060	$\gamma$ -Terpinène	2.8	33	1437	$\alpha$ -Humulène	0.3
13	1087	Terpinolène	0.4	34	1444	<i>Allo</i> -aromadendrène	0.3
14	1070	Hydrate de <i>Cis</i> -sabinène	t	35	1478	$\beta$ -acoradiène	0.2
15	1097	Hydrate de <i>Trans</i> -sabinène	t	36	1494	$\gamma$ -Cadinène	0.1
16	1099	Linalol	0.4	37	1503	$\delta$ -Cadinène	0.3
17	1121	Déhydrocétone sabine	t	38	1556	Spathuléol	0.3
18	1125	$\alpha$ -Campholénal	t	39	1562	Oxyde de caryophyllène	0.3
19	1139	Pinocarvéol	t	40	1569	Viridiflorol	0.1
20	1143	Camphre	0.1	41	1663	Epi- $\alpha$ -muurolol	0.1
21	1165	Bornéol	11.6				

t : trace.

### III.1.2. Activités biologiques

Laouer et al. (2006), ont montré que l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* possède des activités antibactérienne et antifongique très importantes, et un effet modéré contre le virus de l'hépatite C.

### III.2. Espèce *Teucrium polium*

#### III.2.1. Composition chimique

Plusieurs travaux ont été réalisés sur le genre *Teucrium* et quelques uns sur l'espèce *Teucrium polium*.

L'étude menée par **Kamel et Sandra, (1994)**, montre que les huiles essentielles de la partie aérienne des deux variétés de *Teucrium polium* (album et pilosum) sont caractérisées par une richesse en sesquiterpènes, de **78.61%** à **92.07%** respectivement pour les deux variétés.

D'autre part, **Aburjai et al. (2006)**, rapportent que l'huile essentielle de *Teucrium polium* poussant à l'état spontané en Jordanie, a donné un faible rendement et contient une forte teneur en 8-cedron-13-ol. D'autres composés sont également présent en quantités appréciables : le  $\beta$ -caryophyllène, le D- germacrène et le sabinène.

L'huile essentielle de *Teucrium polium* spp *aurasiacum*, récoltée en Algérie a révélé un rendement important, et a donné une composition chimique caractérisée par la présence de l' $\alpha$ -cadinol, le 3,B-hydroxy- $\alpha$ - muurolène, l' $\alpha$ -pinène et le  $\beta$ -pinène essentiellement (**Kabouche et al., 2007**).

Deux diterpénoïdes (teulolin A et B), (Figure 4) ont été isolés de la partie aérienne du *Teucrium polium*, qui sont deux néo-clérodanes de formule  $C_{20}H_{26}O_7$  (**Bedira et al., 1999**).

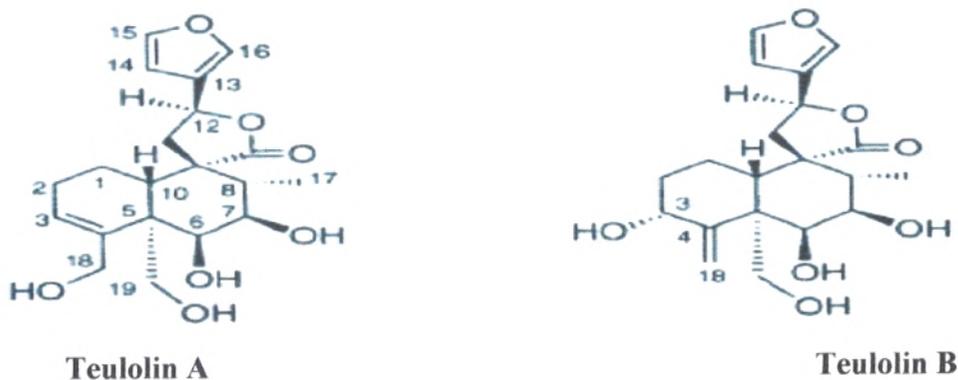


Figure 4 : Teulolin A et B isolés de *Teucrium polium*

### III.2.2. Activités biologiques

Des études biologiques ont montré que l'extrait aqueux de *Teucrium polium* possède des activités antispasmodique (Hassan et al., 1979), hypolipoïdique (Rasekh et al., 2001), antimicrobienne (Thoppil et al., 2001) et hypoglycémiant (Esmacili et Yazdanparast, 2004).

Les travaux effectués sur le pouvoir antioxydant de *Teucrium polium* ont suggéré que cette espèce pourrait être une source potentielle d'antioxydants (Hasani et al., 2007).

Ces activités peuvent être attribuées à la présence de nombreux composés tels que les dérivés diterpéniques, les flavonoïdes ... etc. (Esmacili et al., 2004).

**Tableau 2 :** La composition chimique de l'huile essentielle de *Teucrium polium* spp. *aurasiacum* issue d'Algérie (Kabouche et al., 2007).

Composé	IR	%	Composé	IR	%
$\alpha$ -pinène	940	9.5	Myrténal	1198	0.9
Camphène	953	t	Acétate de bornyle	1286	t
Sabinène	976	t	$\alpha$ -copaène	1376	0.3
$\beta$ -pinène	981	8.3	$\beta$ -caryophyllène	1420	0.4
Myrcène	991	0.5	$\alpha$ -humulène	1455	0.3
Limonène	1031	0.6	<i>Allo</i> -aromadendrène	1461	0.1
Linalol	1101	0.3	$\beta$ -selinène	1487	0.3
<i>Trans</i> -pinocarvéol	1142	0.5	Oxyde de caryophyllène	1585	0.2
Pinocarvone	1165	t	$\alpha$ -cadinol	1657	46.8
Terpinèn-4-ol	1179	t	3- $\beta$ -hydroxy- $\alpha$ -muurolène	1671	22.5
$\alpha$ -terpinéol	1192	t			

t: trace

IR : Indice de rétention.

### III.3. Espèce *Salvia verbenaca*

#### III.3.1. Composition chimique

L'espèce *Salvia verbenaca* a fait l'objet de quelques études chimiques ; une réalisée par Holeman et al. (1985), sur l'espèce issue du Maroc, qui a donné une teneur majoritaire de l'huile essentielle en  $\alpha$ -pinène, 1,8-cinéol, camphre, et en bornéol.

Pitarokili *et al.* (2006), rapportent que l'analyse de l'huile essentielle de *Salvia verbenaca* poussant à l'état spontané en Grèce, a permis d'identifier dix-neuf composés dont les principaux sont le  $\beta$ -Phellandrène, le (E)-Caryophyllène et le méthyl ester de l'acide 6-octadécénoïque.

Deux diterpènes (Figure 5) ont été isolés de la partie aérienne de *Salvia verbenaca* ; la verbénacine (3, $\alpha$ -hydroxy-19-carboxykaur-15-ène) et la salvinine (19-hydroxy-12,14-dioxolabda-15,17-diène) (Bahar *et al.*, 2004).

### III.3.2. Activités biologiques

Bel Hadj Salah *et al.* (2006), ont montré que l'extrait méthanolique de *Salvia verbenaca* provenant de la Tunisie, possède des activités antibactérienne et antioxydante modérées par rapport à d'autres espèces du genre *Salvia*.

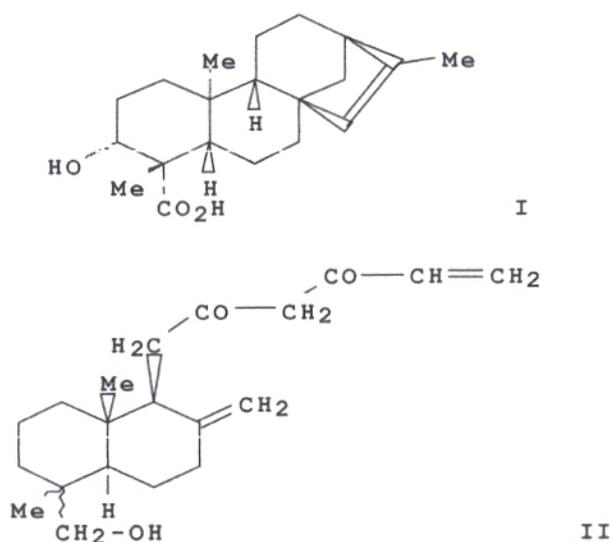


Figure 5 : (I) la verbénacine ; (II) la salvinine.

**Tableau 3** : Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia verbenaca* issue de la Grèce (Pitarokili et al., 2006).

Composés	IR	%
$\alpha$ -Pinène	918	t
Sabinène	955	t
$\beta$ -Pinène	958	t
Myrcène	961	t
$\beta$ -Phellandrène	999	30.3
$\delta$ -3-Carène	1001	t
(Z)- $\beta$ - Ocimène	1009	6.6
(E)- $\beta$ -Ocimène	1017	t
Fenchone	1052	9.4
Camphre	1110	7.0
(E)-Caryophyllène	1382	16.1
Aromadendrène	1405	4.0
$\alpha$ -Humulène	1418	3.7
<i>Allo</i> -Aromadendrène	1423	t
D- Germacrène	1451	t
Oxyde de caryophyllène	1551	t
Viridiflorol	1560	t
Isopropyl ester de l'acide laurique	1574	7.8
Méthyle ester de l'acide 6-octadécénoïque	2198	15.0

t : trace.

IR : indice de rétention.

## **IV. Quelques substances actives de la plante**

Une espèce végétale peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents, ceux-ci appartiennent à deux types de métabolisme : primaire et secondaire.

Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétale, conduisant à une grande biodiversité moléculaire (**Wichtl et Anton, 1999**).

### **IV.1. Les huiles essentielles**

#### **IV.1.1. Définition**

Les huiles essentielles (=essences = huiles volatiles) sont "des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation" (**Bruncton, 1993**).

**Padrini et Lucheroni, (1996)**, les définissent comme étant des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentent sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles.

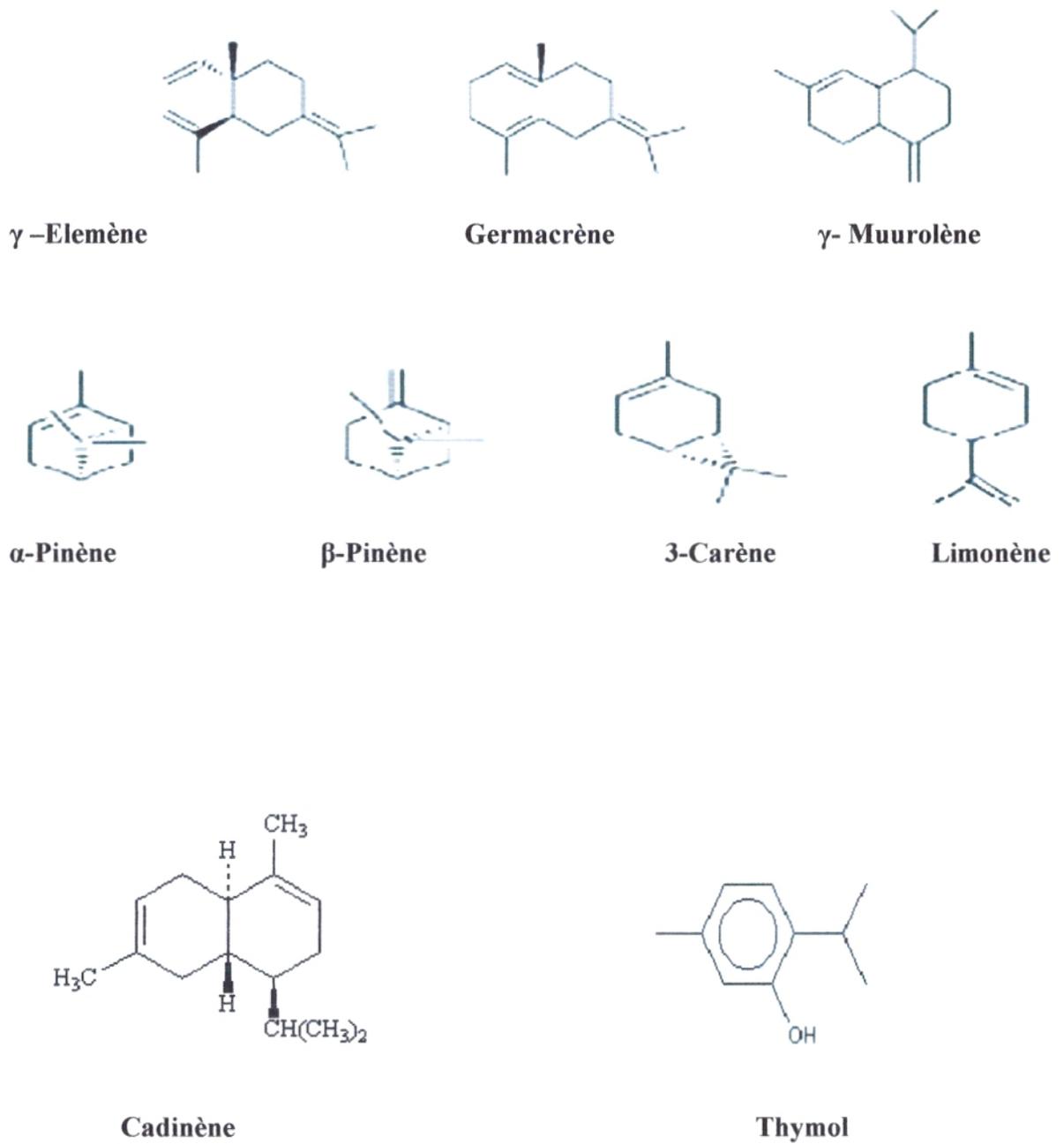
#### **IV.1.2. Composition chimique des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques unes. Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés.

Dans une huile essentielle, nous retrouvons presque exclusivement des mono- et sesquiterpènes.

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane (**Ganou, 1993**).

Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle (**Cu, 1990**).



**Figure 6** : Structures de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles chez les Lamiaceae (Hernandez, 2005 ; Ashnagar et al., 2007).

### IV.1.3. Répartition

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieures. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles dont beaucoup sont des Lamiacées, des Astéracées, des Rutacées, mais aussi des Lauracées ou des Magnoliacées (Bruneton, 1993).

### IV.1.4. Localisation

Les minuscules gouttelettes des huiles essentielles sont rencontrées dans tous les types d'organes : racines, tiges, bois, écorce, feuille, fruits, etc. Elles sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables.

L'huile essentielle est produite et stockée dans des tissus sécréteurs de la plante. Ces tissus sont divisés en deux groupes :

\*Les poils glandulaires épidermiques rencontrés souvent chez les *Lamiaceae*, les *Geraniaceae* et les *Rutaceae* : Ils produisent les essences dites superficielles.

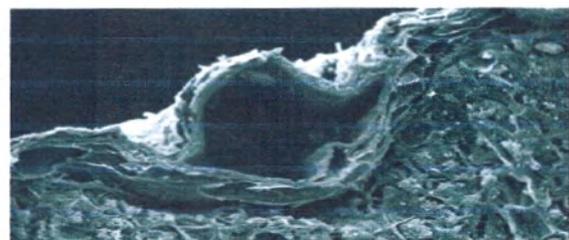
\*Les organes sécréteurs sous cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices au sein du tissu végétal chez les *Myrtaceae*, les *Aurantiaceae*, ainsi que des canaux sécréteurs chez les *Ombelliferaeae* (Paupardin et al., 1990).



**Figure 7 :** Glandule sécrétrice sur la surface supérieure de la feuille d'Origan vulgaire, montrant l'espace subcuticulaire rempli d'huile essentielle (x 420) ( Svoboda, 2003) .



**Figure 8 :** Localisation des structures sécrétrices dans la graine de Carvi. [x 48] (Svoboda, 2003).



**Figure 9 :** Graine de Carvi, détail de la structure primaire. [x 406] (Svoboda, 2003).

#### IV.1.5. Activités biologiques

L'activité biologique des huiles essentielles est en relation étroite avec la structure chimique de ses composants (**Bourrel, 1993**).

Les huiles essentielles, extraites de plantes aromatiques sont utilisées pour traiter les maladies et pour améliorer santé et bien être.

De récentes études ont pu revaloriser les essences et prouver que leurs actions sont exemptes de toutes réactions secondaires sur les fonctions de l'organisme.

- Propriétés antibactériennes :

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactériennes, par exemple contre les bactéries endocanalaire (**Pellecuer et al., 1980**) ou au niveau de la microflore vaginale (**Viollon et Chaumont, 1994**), ainsi le thymol est plus actif contre les bactéries à Gram négatif tandis que le carvacrol exerce une activité élevée contre les mycètes (**Daferera, 2000**), il est considéré comme biocide par perturbation de la membrane bactérienne en favorisant la fuite de l'ATP cellulaire et les ions potassium (**Ultee et al., 1999**).

- Propriétés antifongiques :

La teneur élevée de l'huile essentielle en acétate de bornyle, en oxyde de caryophyllène, en  $\beta$ -caryophyllène, en pinocarvone, et en alcools terpéniques peut expliquer l'activité antifongique des plantes (**Keita, 1993 ; Hakan et al., 2007**), et donc peut être utilisée comme antiseptique contre les dermatophytes (**Chaumont et Leger, 1989**).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiaceae: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc. (**Bourrel, 1993 ; Agnihotri, 2003**).

- Propriétés insecticides :

La teneur élevée en composés oxygénés rend l'espèce potentiellement intéressante pour des études sur les propriétés insecticides de son huile essentielle, ainsi l'agératochromène (précocène II et / ou ses dérivés) de l'huile essentielle d'*Ageratum conyzoides* acclimatée dans diverses régions est une hormone anti-juvénile utilisée contre certains insectes et pourrait même être utilisée dans la lutte biologique contre les ravageurs en agriculture (**Nébié et al., 2004**).

- Propriétés anti-oxydante :

**Hakan et al. (2007)**, ont montré que l'activité antioxydante des huiles essentielles est largement influencée par leur composition chimique, principalement les composés phénoliques, alors que **Miguel et al. (2003)**, confirment que les huiles essentielles qui ne contiennent pas de composés phénoliques présentaient aussi une activité antioxydante assez élevée.

#### **IV.1.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

- L'hydrodistillation :

Consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un ballon rempli d'eau et le porté ensuite à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 1999**).

- Entraînement à la vapeur d'eau :

Les plantes sont traversées par la vapeur d'eau, cette vapeur qui s'est chargée d'huiles essentielles, est condensée dans un serpentin refroidi par un courant froid, un séparateur ou essencier recueille l'eau et l'huile et permet de retirer cette dernière par différence de densité (**Viaud, 1993**).

- Extraction par pression :

Cette méthode consiste à écraser les parties odorantes d'une plante fraîchement coupée puis à les enfermer dans un sac en lin, que l'on tordait à l'aide de deux bâtons enfilés dans deux anneaux placés à l'extrémité du sac. L'essence filtrée à travers la toile est recueillie dans un récipient placé en dessous (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

- Extraction par enfleurage :

C'est une extraction des essences des fleurs par contact avec une matière grasse (**Pibiri, 2006**)

- Extraction avec des solvants :

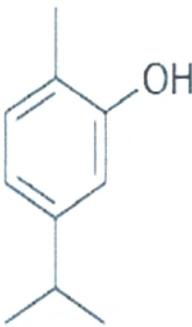
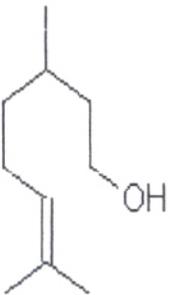
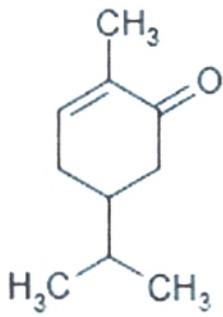
Utilisée pour les fleurs dont les molécules sont trop fragiles (**Pibiri, 2006**), et pour les composés non entraînés par la vapeur d'eau (**Richard, 1992**).

Il faut mentionner que les solvants organiques utilisés sont très dangereux aussi bien pour le manipulateur que pour celui qui absorbe les produits ainsi obtenus (**Negre, 1999**).

- Extraction par le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) :

L'extraction par le CO<sub>2</sub> est une technique qui permet d'obtenir à partir du matériel végétal des extraits volatils dépourvus de toute trace de solvant (**Reverchon, 1997**).

**Tableau 4** : Activités biologiques des molécules aromatiques terpéniques selon leur fonction chimique (Hernandez, 2005).

Composés aromatiques	Exemples : Formules développées	Propriétés
Phénols	<p style="text-align: center;">   <i>Carvacrol</i> </p>	<p>Stimulantes                      Toniques                      Antiseptiques                      Bactéricides                      Fongicides                      Antivirales</p>
Alcools Terpéniques	<p style="text-align: center;">   <i>Citronellol</i> </p>	<p>Bactéricides                      Fongicides                      Antivirales                      Antiseptiques                      Anti-inflammatoires                      Neurotoniques</p>
Aldéhydes Terpéniques	<p style="text-align: center;">   <i>Citral</i> </p>	<p>Anti-fongiques                      Insecticides                      Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde</p>
Cétones	<p style="text-align: center;">   <i>Carvone</i> </p>	<p>Calmantes                      Anti-virales                      Anti-fongiques                      Neurotoxiques                      Antiépileptiques</p>

## IV.2. Les composés phénoliques

### IV.2.1. Généralités

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement.

L'élément structurel fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton, 1993**).

Les composés phénoliques sont largement distribués dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques connues qui peuvent s'étendre de molécules simples, aux composés fortement polymérisés (**Lugasi et al., 2003**).

### IV.2.2. Classification

Il existe de nombreuses classes de composés phénoliques : phloroglucinols, quinones, coumarines, acides phénols, flavonoïdes, anthocyanes, tanins etc.

Ces structures peuvent également être acyclées, glycosylées, ce qui donne une grande variété de structures et de polarités.

Leur origine biosynthétique est proche, tous dérivant de l'acide shikimique.

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Les différentes classes principales de ces composés phénoliques isolées des plantes sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Principales classes des composés phénoliques (Hennebelle, 2006).

Nombre d'atomes de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple
6	C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénoliques	Acide salicylique
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acétophénones	3-acétyl-6 méthoxybenzaldéhyde
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques. Phénylpropènes. Coumarines. Isocoumarines.  Chromones.	Acide caféique. Eugénol. Ombelliphérone. 6,7-diméthoxy 8-hydroxy. 3- méthyl isocoumarine.  Eugénine
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthonés	1, 2, 3,7- tétraméthoxy xanthone
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes. Anthraquinones	Acide hunularique. Emodine.
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes. Isoflavonoïdes	Quercétine. Génistéine
18	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Podophyllotoxine
30	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes	Kayaflavone
n	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) n. (C <sub>6</sub> ) n. (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) n	Lignines. Catéchol mélanines. Flavolanes (tanins condensés)	- - -

**Tableau 6** : Activités biologiques de quelques composés phénoliques (Bahorun, 1997).

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités</b>
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Ani-bactériennes Anti-fongiques Anti-oxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydants

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes comme les vitamines, les caroténoïdes et les poly phénols. De nombreux travaux publiés ces dernières années ont démontré que les flavonoïdes possèdent un pouvoir antioxydant encore plus puissant que la vitamine C.

Les flavonoïdes sont des substances très répandues dans le règne végétal faisant partie intégrante de notre nourriture journalière. Ils ont été décrits comme ayant un grand nombre de propriétés biologiques.

Pour cette raison, nous allons développer essentiellement une recherche bibliographique sur cette classe de polyphénols.

#### IV.2.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont l'un des groupes des composés naturels connus. Ils ont plusieurs activités physiologiques (Medić-Sarić *et al.*, 2003).

Elle est l'une des classes les plus vastes des produits naturels, 4000 flavonoïdes sont identifiés et distribués dans les feuilles, les racines, les tiges, et les fleurs de la plante (Kelly *et al.*, 2002 ; Medić-Sarić *et al.*, 2003 ), tandis que Harborne et Williams, (2000) confirment qu'il existe plus de 6000 flavonoïdes identifiés dans le règne végétal.

##### IV.2.4.1. Définition

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone (un dérivé du noyau flavane de base) ou 2-phénylchromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glucosides.

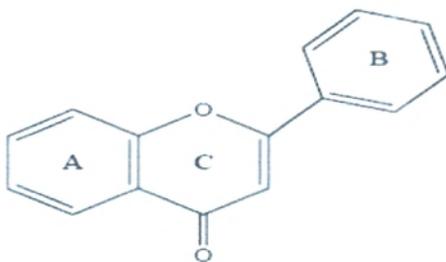


Figure 10 : Noyau flavone

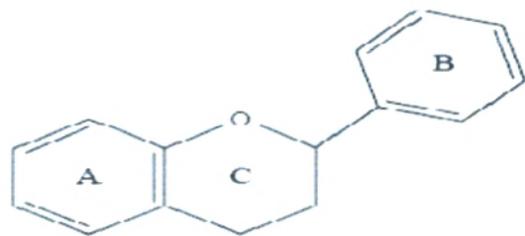


Figure 11 : Noyau flavane

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C).

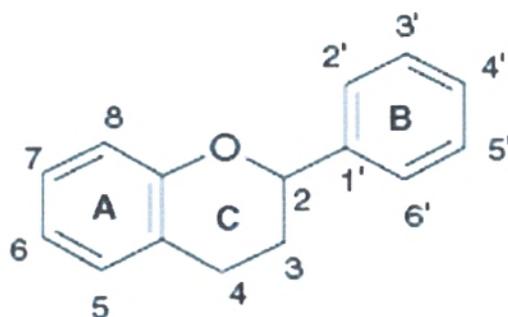


Figure12 : Squelette de base des flavonoïdes.

IV.2.4.2. Biosynthèse

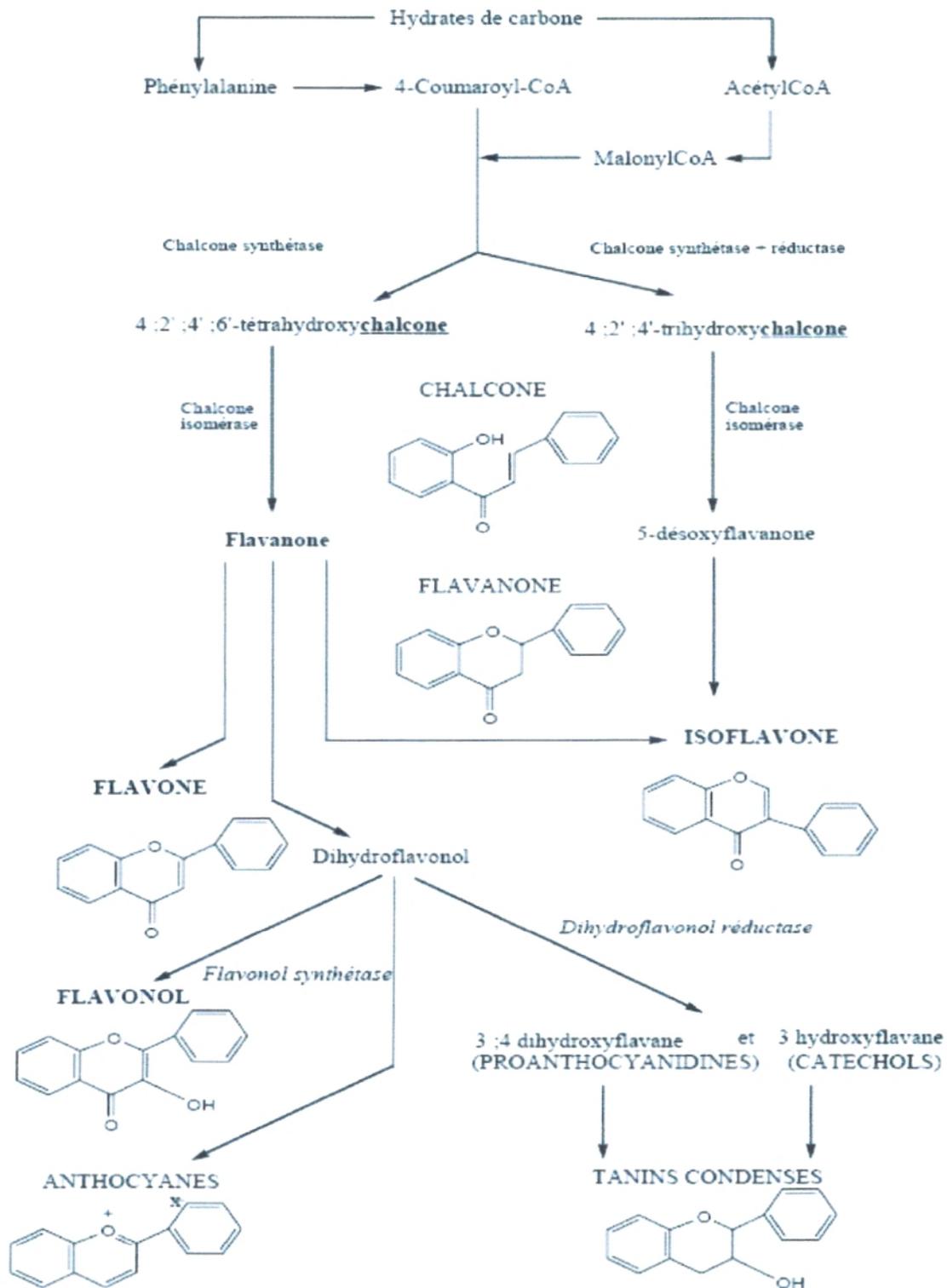
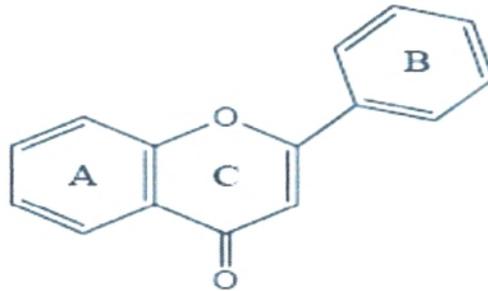


Figure 13 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Remesy et al., 1996).

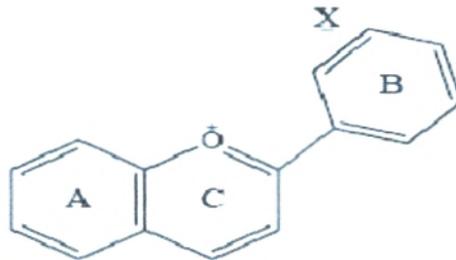
Selon Hadi, (2004), il existe un intermédiaire commun dans la biosynthèse des flavonoïdes une **tétrahydroxychalcone**, à partir de laquelle on différencie :

- Les **4-oxo-flavonoïdes** : encore appelés dérivés flavonoïques ou flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl-chromone :



Ils portent des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides, exemple : quercétine, kaempférol.

- Les **anthocyanidines** : sont des dérivés du flavylum ou 2-phénylbenzopyrylium:



Ils portent des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides exemple : Delphinidine,...

- Les **flavanes** ou tanins peuvent être divisés en 2 groupes :

Tanins hydrolysables = Tanins galliques

Ce sont des esters d'oses et d'acides phénols (acide gallique ou ellagique).

Tanins condensés = Tanins catéchiques

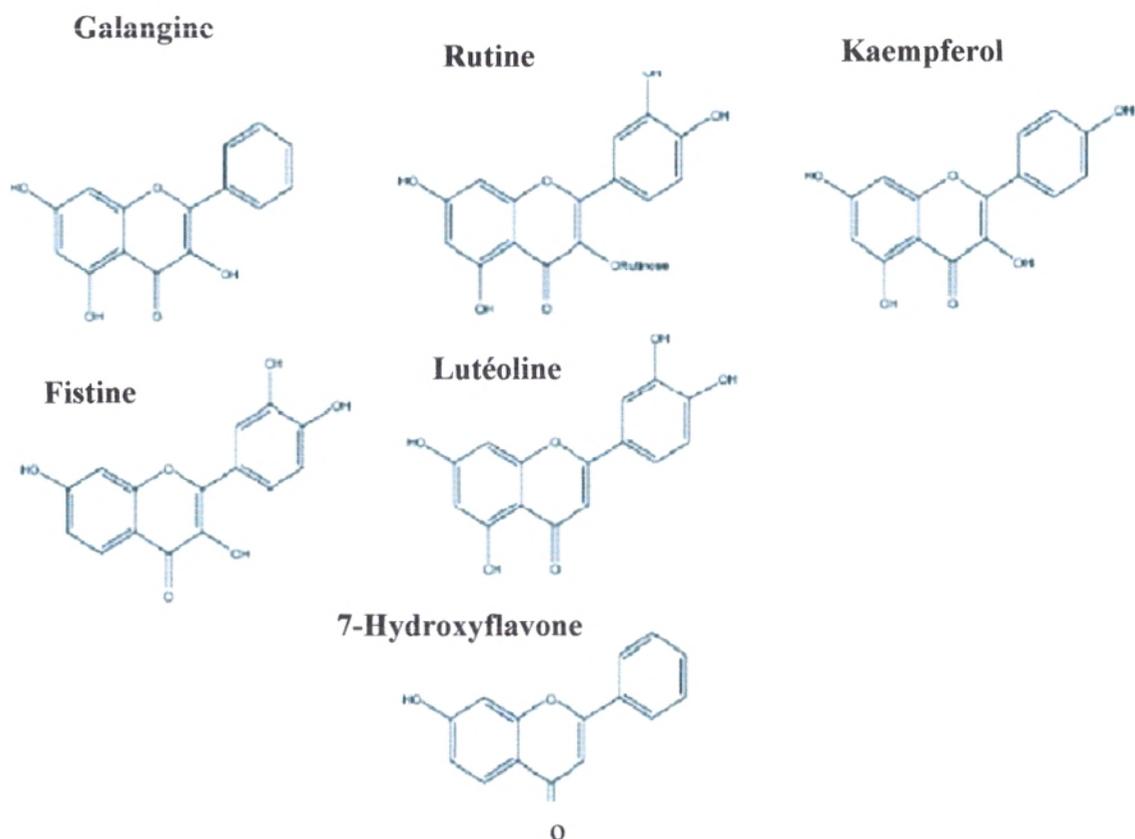
Ils sont non hydrolysables et correspondent à la condensation de 2 à 10 molécules monomères possédant le noyau flavane hydroxyle.

★ Catéchols = catéchines

Ce sont des dérivés du 3-hydroxy-flavane.

★ Proanthocyanidines = leucocyanidines

Ce sont des dérivés du 3,4-dihydroxyflavane.



**Figure 14 :** Structure moléculaire de quelques flavonoïdes.

#### IV.2.4.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes

##### ❖ Activité antioxydante

Plusieurs travaux cherchent de mettre en évidence l'activité antioxydante de cette classe de famille : les flavonoïdes ; en fonction de leurs caractéristiques structurales.

Vu la figure 12, les composés possédant un groupement carbonyle en  $C_4$  et une double liaison entre les carbones  $C_2$  et  $C_3$  sont les flavonoïdes dont l'activité antioxydante est la plus marquée, il en est de même pour les molécules où la délocalisation des électrons peut se réaliser de façon aisée (**Harborne et Williams, 2000**).

Par ailleurs, la présence d'un groupement hydroxyle en position  $C_3$  et  $C_3'$  ainsi qu'un nombre important de résidus hydroxyle augmenteraient le potentiel antioxydant de ces molécules (**Woodman et al., 2005**).

❖ **L'activité anti-inflammatoire**

De nombreux travaux mentionnent les propriétés anti-inflammatoires des flavonoïdes (**Da Silva et al., 1994 ; Galati et al., 1994 ; Read, 1996**).

En effet, l'acide arachidonique peut être métabolisé par la voie de la lipogénase pour aboutir à la formation de leucotriènes et par la voie de la cyclo-oxygénase pour produire des thromboxanes et des prostaglandines, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoire (**Girotti-Chanu, 2006**).

Les flavonoïdes lutéoline, morine, galangine et la catéchine inhibent de façon modérée la cyclo-oxygénase (**Baumann et al., 1980**), et la chrysin, l'apigénine et la phlorétine diminuent l'activité cycloxygénase et inhibent l'agrégation plaquettaire (**Landoifi et al., 1984**).

❖ **Propriétés antivirales et antibactériennes**

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales, ainsi **Mucsi et Pragai en 1985**, ont montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaire en AMPc dans des cellules infectées.

D'autres travaux ont mis en évidence un impact sur le rétrovirus HIV (**Hadi, 2004**).

Toutefois, les flavonoïdes se sont montrés de bons inhibiteurs de la reverse transcriptase (**Spedding et al., 1989**). Cependant, selon **Ono et al. (1990)**, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase virale.

Les flavonoïdes sont impliqués dans les traitements de la fièvre typhoïde et d'autres infections d'origines bactériennes particulièrement celles causées par *Staphylococcus aureus*, *E coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhi* (**Ofoansi et al., 2005**).

❖ **Propriétés anti-carcinogènes**

Des études réalisées sur les souris mettent en évidence les effets protecteurs des flavonoïdes vis-à-vis des promoteurs des tumeurs (**Kato et al., 1983**).

D'autre part, **Nishiuro et al. (1984)** expliquent l'action anti-tumorale de la quercétine par l'interaction de celle-ci avec le complexe Calcium-Calmoduline.

Les flavonoïdes peuvent également interférer avec le métabolisme des xéno biotiques (**Wattenberg, 1983 in Hadi, 2004**), en stimulant des systèmes de détoxication (**Bu Abbas et al., 1995**), par des effets divers sur les enzymes de détoxication (**Lasker et al., 1984**).

## V. Les antioxydants

### V.1. Généralités

Le concept selon lequel l'oxygène, molécule indispensable pour la vie, peut entraîner des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés activés tel que les radicaux libres, est encore mal perçu dans le milieu médical. Pourtant, de très nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont suggéré le rôle de ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose et la cancérogénèse.

Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants. Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit.

On désigne par antioxydant toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (Diallo, 2005).

### V.2. Types d'antioxydants

Il existe deux catégories d'antioxydants :

Les séquestrants de métaux et les phagocytes de radical libre. Les séquestrants de métaux précipitent un métal ou suppriment sa réactivité en occupant tous les sites de coordination ; les phagocytes de radical libre comprennent l'hydroxytoluène butylaté (BHT), l'hydroxyanisole butylaté (BAT), les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C) (Keïta, 2002).

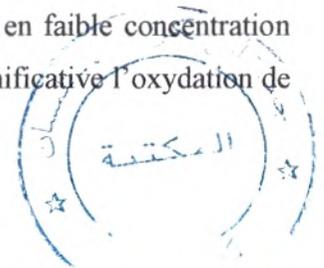
### V.3. Sources d'antioxydants

En plus des substances propres à l'organisme, les médicaments, l'alimentation et les plantes peuvent être également des sources d'antioxydants.

#### V.3.1. Médicaments : (Diallo, 2005).

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyperlipoprotéïnémiques, les bêtabloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes :

- **AINS** : Le mécanisme d'action commun de tous les AINS est la diminution de la production de prostaglandines du fait de l'inhibition de la cyclo-oxygénase.



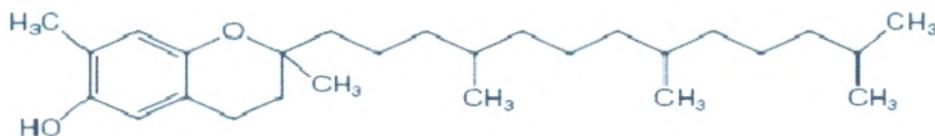
- **Antihypertenseurs** : Ils agissent en inhibant la réabsorption des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  à différents niveaux.

Le **probucol** par exemple est un médicament qui en plus de ses effets reconnus dans la baisse de cholestérol, prévient l'athérogénèse en agissant comme antioxydant et en supprimant la modification oxydative des lipoprotéines de basse densité (LDL).

### V.3.2. Source alimentaire : (Ahamet, 2003).

Certaines substances ingérées sont utilisées par l'organisme comme antioxydants. Ce sont principalement la vitamine C, la vitamine E, le sélénium et le  $\beta$ -carotène.

- **La vitamine C ou acide ascorbique** : c'est un puissant réducteur, il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes.
- **La vitamine E ou tocophérol** : prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes.



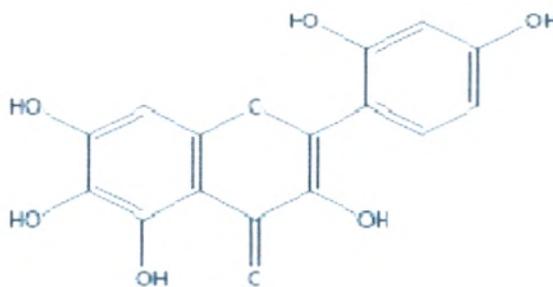
**Figure 15 : n-tocophérol**

- **Le sélénium** : Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers.
- **Le  $\beta$ -carotène** : possède la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est retrouvé dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, la papaye et d'autres fruits jaunes.

### V.3.3. Antioxydants naturels

- **Les flavonoïdes**

Des flavonoïdes comme l'hésperidine et la rutine, présents dans plusieurs plantes, dont le Sarrasin et le Citronnier, renforcent les parois capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins.



**Figure 16 : La morine**

- **Les tanins**

Toutes les plantes en contiennent à des degrés différents. Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections.

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (**Domart, 1981**).

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Cavin, 1999**).

- **Les coumarines :**

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses.

Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**).

- **Les phénols :**

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages.

Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol est le composé qui est le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin possède de fortes propriétés antioxydantes (**Igor, 2002**).

- **Les anthocyanosides :**

Les anthocyanosides sont issus du métabolisme général des flavonoïdes, comme beaucoup d'autres composés phénoliques, les pigments anthocyaniques se comportent comme des piègeurs de radicaux libres (**Bruneton, 1993**).

# **Chapitre II**

## **Partie expérimentale**

## I. Introduction

La découverte de ressources naturelles du monde végétal reste capitale par la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques.

Toutefois, cette étude n'est pas exhaustive et le domaine concerné, étant très vaste, nécessite plus d'approfondissement.

La méthode du travail que nous avons adoptée est basée sur une action pluridisciplinaire, visant la valorisation de trois espèces végétales de la même famille des Lamiaceae, à savoir *Saccocalyx satureioides*, *Teucrium polium* et *Salvia verbenaca*.

## II. Matériel Végétal

### II.1. Origine géographique et période de récolte des plantes

Les plantes mouillées de pluie ou de rosée s'altèrent, moisissent, fermentent et perdent toute valeur thérapeutique.

Le matin est le moment le plus favorable, mais on peut cueillir aussi le soir, avant la fraîcheur (Debuigue, 1984).

Nos espèces ont été récoltées durant la période de pleine floraison (avril à mai), dans deux stations à savoir :

*Saccocalyx satureioides* : a été récoltée dans la région d'Ain sefra, wilaya de Naâma (Figure 17).

*Teucrium polium* : a été récoltée dans la région de Beni snous (djebel melel), wilaya de Tlemcen (Figure 17).

*Salvia verbenaca* : a été récoltée dans la région de Beni snous (djebel melel), wilaya de Tlemcen (Figure 17).

**Tableau 7** : Situation géographique des stations de récolte.

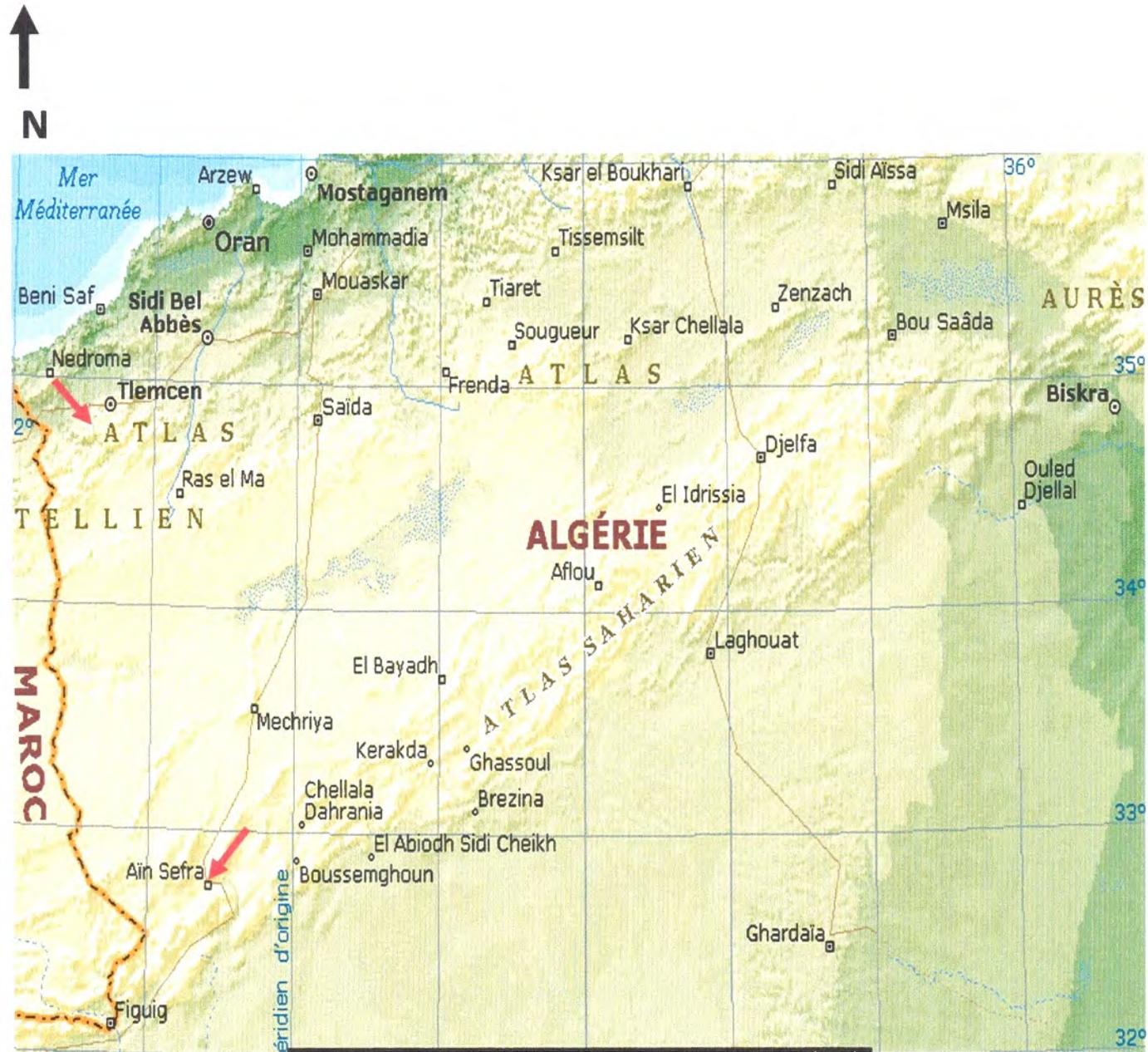
Région	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Ain sefra	32° 45' N	0° 34' O	Aride
Beni snous	34° 38' N	1° 34' O	Semi aride



**Légende de la carte :**

-  Limite d'Etat
-  Agglomération
-  Route principale
-  Autre routes
-  Cours d'eau
-  Cours d'eau non permanent
-  station de récolte

0Km | 10 | 20



**Figure 17 : Régions de récolte (Encarta, 2009).**

## II. 2. Identification botanique

Les trois espèces ont été identifiées par le professeur **BENABADJI N.** du Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels ; Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen (Algérie).

## II. 3. Préparation des échantillons

Après leur récolte, les échantillons ont été triés. Le séchage du matériel végétal a été réalisé dans un espace couvert (à l'abri du soleil) et bien aéré. Le matériel végétal était retourné au fur et à mesure de son séchage.

Les échantillons broyés ont été mis dans des bocaux, en verre hermétiquement fermés, conservés à basse température (congélateur) en vue de passer aux tests phytochimiques.

## III. Tests phytochimiques

L'un des buts essentiels d'une étude phytochimique est la détection des classes des composés existant dans les différents organes de la plante.

Trois solvants de polarités différentes (eau, éther diéthylique, éthanol) ont été utilisés au cours de ces tests qui sont basés sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation ainsi que des examens en lumière ultraviolette.

### III.1. Différentes classes recherchées

#### III.1.1. Les alcaloïdes

Formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent un atome d'azote (-N-) qui les rend pharmaceutiquement très actif. Il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels (**Iserin, 2001**).

Ils existent à l'état de sel et constituent avec les hétérosides, la majorité des principes actifs des plantes médicinales (**Bruneton, 1999**).

Leur caractérisation est faite en présence d'acide chlorhydrique, en additionnant quelques gouttes de réactif de Wagner, afin d'obtenir un précipité brun indiquant leur présence (**Memelink et al., 2001**).

### III.1.2. Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe de métabolites secondaires des plantes, présent sous forme de pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les feuilles et les fruits (**Bruneton, 1999**).

Ils donnent généralement avec le magnésium, en présence d'acide chlorhydrique, une coloration rose ou rouge (**Cavé, 1993**).

### III.1.3. Les tanins

Les tanins sont définis comme des composants polyphénoliques dont le poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Dalton (**Selvakumar et al., 2007**).

Ils peuvent être divisés selon **Scalbert, (1991)** en deux groupes:

\*Les tanins hydrolysables : appelés tanins pyrogalliques, ce sont des polyesters de glucides et d'acides-phénol. On distingue les tanins galliques et les tanins ellagiques.

Ils sont caractérisé par les sels ferriques, le précipité obtenu est bleu noir (**Trease et Evans, 1987**). Les tanins galliques donnent une coloration rose avec l'iodate de potassium (l'acide gallique libre est coloré en orange par ce réactif).

\*Les tanins condensés : leur structure est voisine de celle des flavonoïdes, ils ne possèdent pas de sucre dans la molécule. Ils sont formés de deux ou plusieurs molécules de flavan-3-ols, dont l'union se fait par des liaisons carbone-carbone.

Caractérisé par les sels ferriques, le précipité coloré obtenus est brun-verdâtre (**Trease et Evans, 1987**).

En présence de la vanilline chlorhydrique, les tanins condensés sont colorés en rouge (**Paris et Hurabielle, 1981**)

### III.1.4. Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « *coumaron* », nom vernaculaire de la fève tonka d'ou fût isolé, en 1820, la coumarine.

Ce sont des dérivés de la benzo  $\alpha$ - pyrone, près d'un millier de coumarines ont été décrites et les plus simples d'entre elles sont largement distribuées dans tout le règne végétal (**Bruneton, 1999**). Elles sont caractérisées par une fluorescence des solutions extractives.

L'examen en lumière UV permet leur révélation en milieu alcalin (KOH, NaOCH<sub>3</sub>).

La CCM présente des taches dont la coloration, exalté en présence d'ammoniaque, varie du bleu au jaune et au pourpre (**Bruneton, 1999**).

### III.1.5. Les anthocyanosides et émodols

Leur caractérisation fait appel à la réaction de Bornträger. Cette dernière n'est positive qu'avec les formes anthraquinoniques libres.

### III.1.6. Les saponosides

Doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau.

Les saponosides existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale (**Iserin, 2001**).

En pratique, les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse, déterminé sur un décocté obtenu par ébullition prolongée. Après agitation, la hauteur de mousse est mesurée (**Bruneton, 1999**).

### III.1.7. Les stérols et stéroïdes

Ce sont des composés terpéniques se présentant sous forme d'alcool libre (sitostérol), ou sous forme d'ester associés par le glucose (glucoside stérol) (**Linden et Lovient, 1994 ; Kamm et Dionisi, 2001**).

Leur caractérisation est basée sur la réaction de Liebermann-Burchardt.

### III.1.8. L'amidon

Principale forme de réserve glucidique des végétaux, il existe sous forme d'une structure correspondant à un homopolymère de D-glucose. Il est caractérisé au moyen du réactif à l'eau iodée par apparition d'une couleur bleue (**Guignard, 1979**).

### III.1.9. Les composés réducteurs

Les glucides, appelés hydrates de carbone ou saccharides, sont des composés organiques carbonylés (aldéhydiques ou cétoniques). Le caractère réducteur des aldoses ou des cétones vis-à-vis de la liqueur de Fehling donne un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

### III.2. Epuisement du matériel végétal

L'épuisement est réalisé dans un ballon monocol contenant 50 g de poudre de matériel végétal en présence de 300 mL de solvants : éthanol, éther diéthylique ou eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Le mélange filtré est soumis aux différents tests (Figures 18, 19 et 20).

### III.3. Réactifs et réactions de caractérisation

Les réactifs utilisés lors des tests sont les suivants :

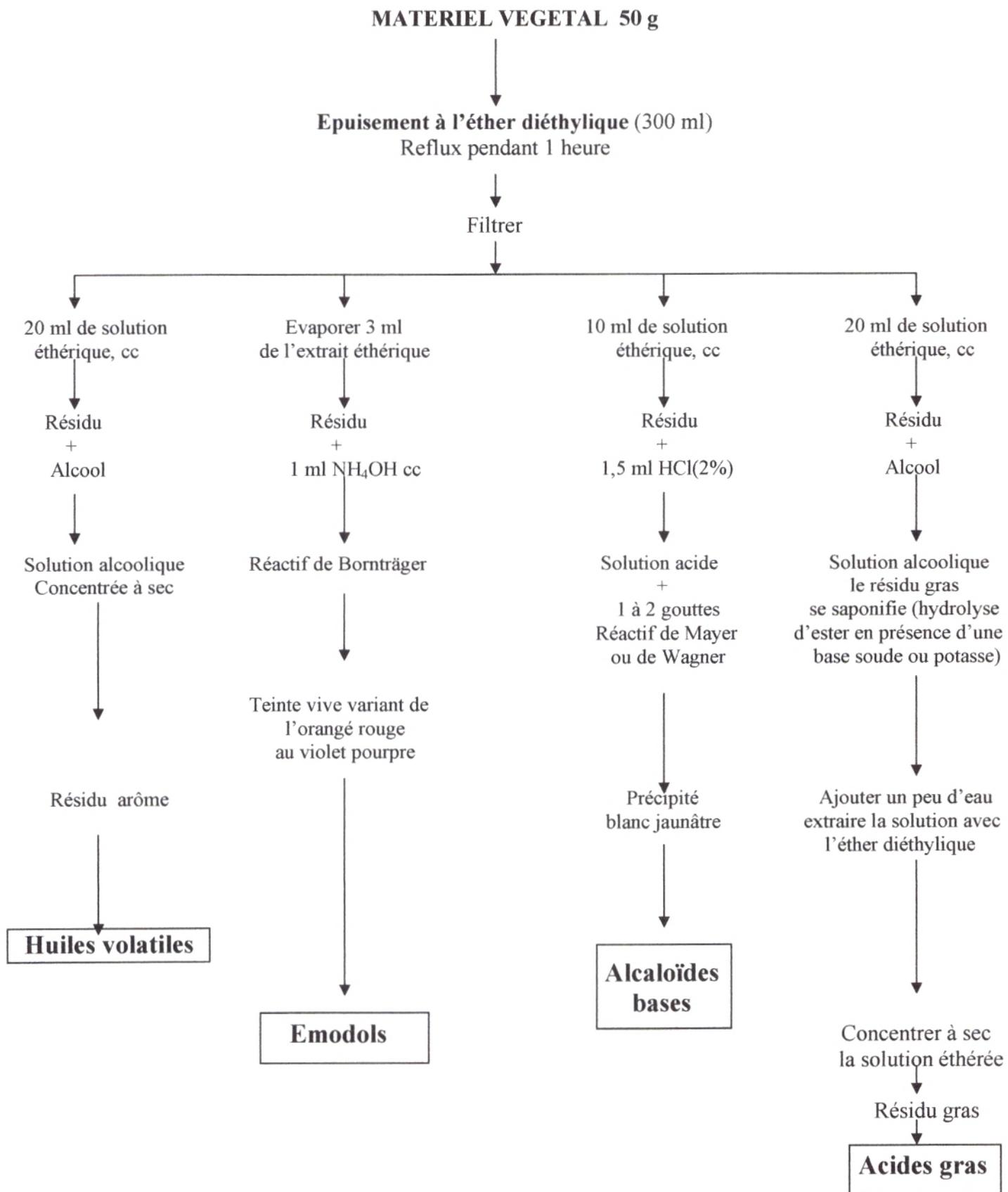
\* **Réactif de Wagner** : dissoudre 2 g de KI et 1,27 g de I<sub>2</sub> dans 75 mL d'eau. Ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

\* **Réactif de Mayer** : dissoudre 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> dans 60 mL d'eau. Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 mL d'eau.

\* **Réactif d'amidon** : dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 mL d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium. Chauffer, dans un bain-marie, 5 mL de la solution à tester avec 10 mL d'une solution de NaCl saturée jusqu'à ébullition.

\* **Réaction de Liebermann-Burchardt** : mélanger 5 mL de la solution à tester avec 5 ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter et laisser la solution reposer 30 minutes à 21°C. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée fugace virant au vert.

\* **Réaction de Bornträger** : En milieu alcalin aqueux (NH<sub>4</sub>OH), les anthracénosides et les émodols donnent à la solution une teinte vive variant, selon la structure et les substituants de la quinone, de l'orangé rouge au violet pourpre plus ou moins violacé.



**Figure 18 :** Représentation schématique des tests phytochimiques.

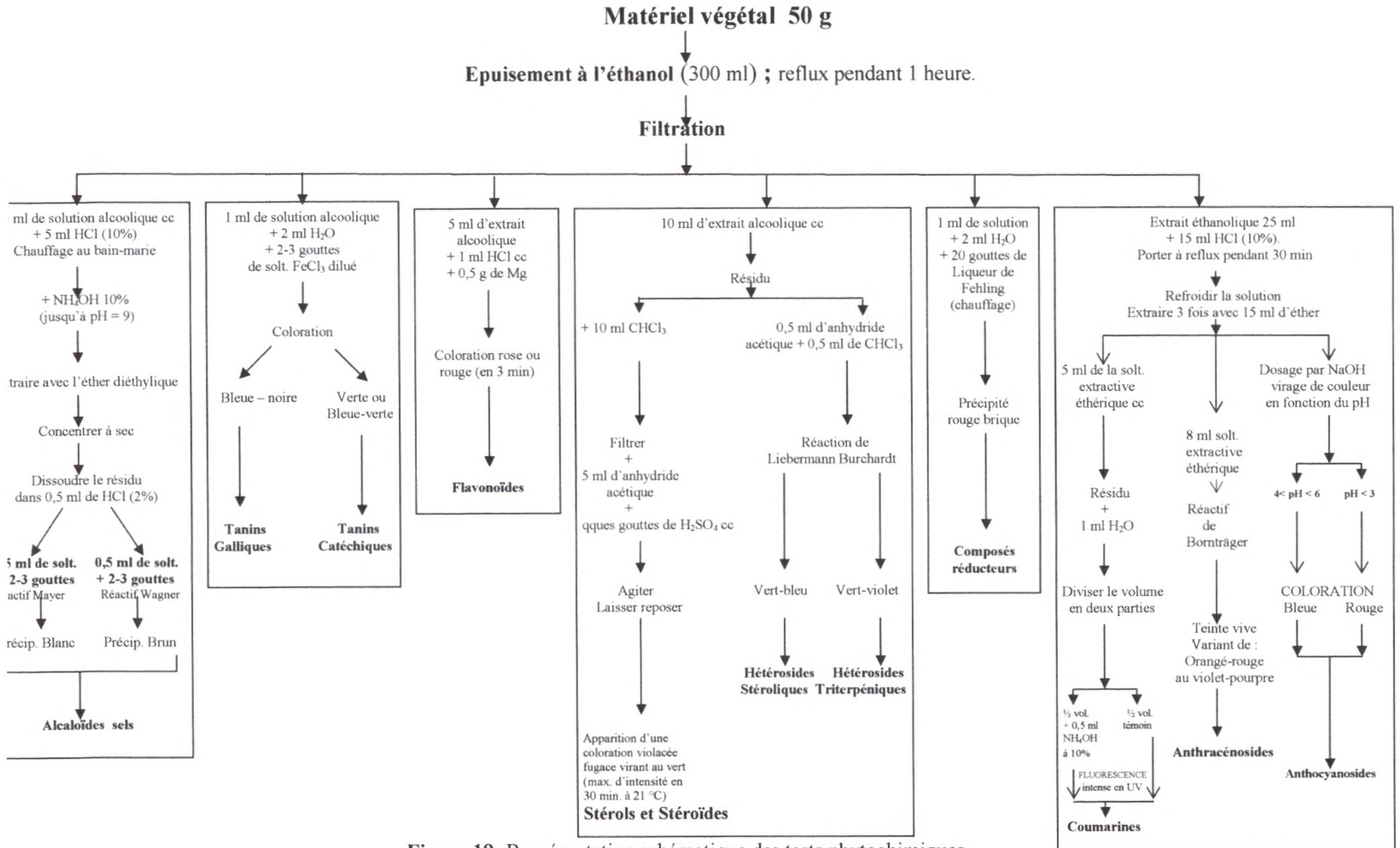


Figure 19: Représentation schématique des tests phytochimiques.

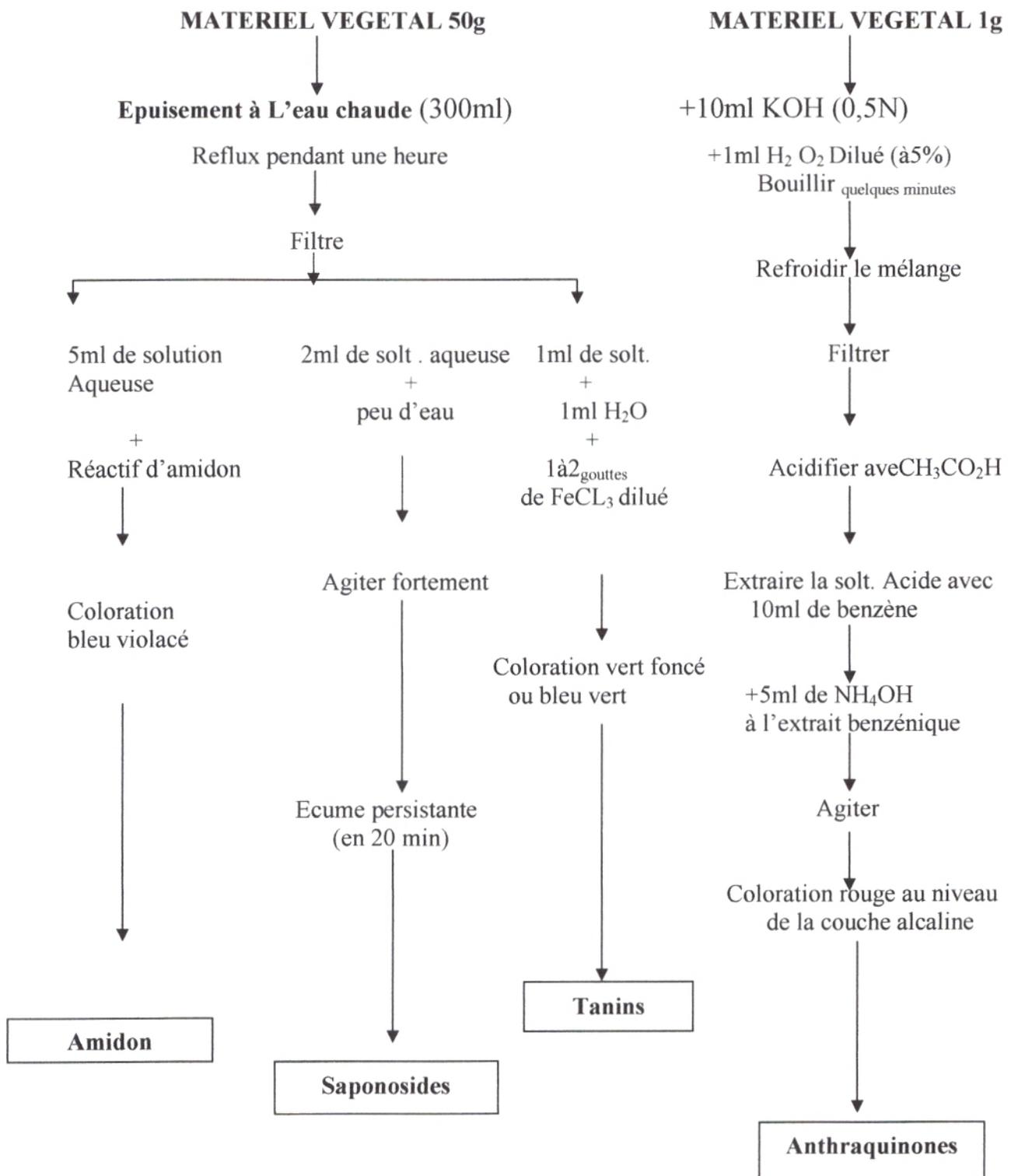


Figure 20 : Représentation schématique des tests phytochimiques.

## IV. Extractions sélectives

### IV.1. Les huiles essentielles

#### IV.1.1. Techniques d'extraction

De part la volatilité des composés considérés, l'extraction, souvent délicate, est l'étape cruciale.

Deux méthodes ont été utilisées pour l'extraction des huiles essentielles de *Teucrium polium* à savoir l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau, les deux autres espèces ont subi des extractions à l'aide de cette dernière.

❖ **Hydrodistillation** : 100 g de la plante sèche ont été introduits dans un ballon d'eau qui est ensuite porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide « réfrigérant » et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

❖ **Entraînement à la vapeur** : le montage utilisé est constitué d'un ballon métallique contenant 5 L d'eau, posé au dessus d'une source de chaleur et surmonté d'une enceinte contenant le matériel végétal placé sur une grille (Annexe A). L'enceinte est reliée à son tour à des réfrigérants qui condensent les vapeurs que l'on recueille sous forme de distillat dans une fiole à décanter. L'échantillon d'huile essentielle obtenu est conservé à -18°C jusqu'à analyse.

#### IV.1.2. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante sèche utilisée (Carré, 1953).

Le rendement, exprimé en pourcentage a été calculé par la formule :

$$R = [M/M_0] \times 100$$

**R** : Rendement en huile essentielle exprimé en %.

**M** : Masse en gramme de l'huile essentielle.

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal sec à traiter.

### IV.1.3. Analyse chromatographique de la composition chimique des huiles essentielles par CG/SM

L'identification des constituants des huiles essentielles nécessite plusieurs techniques chromatographiques et une ou plusieurs techniques spectroscopiques.

La chromatographie en phase gazeuse (CG) 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). La détection, qui est appliquée à la quasi-totalité des molécules organiques, est faite à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme.

La composition chimique des huiles essentielles a été déterminée par la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) au niveau du Laboratoire de Chimie des Molécules Bioactives et des Arômes (LCMBA) de l'Université de Nice Sophia-Antipolis.

#### Conditions opératoires

Un chromatographe, Hewlett-Packard 5890 série II, muni d'un injecteur automatique couplé à un spectromètre de masse Hewlett-Packard HP 5970 A.

- Gaz vecteur : Hélium ;
- Température de l'injecteur est de 250°C ;
- Température du détecteur est de 250°C ;
- Volume injecté : 0,2 µL;
- Mode splitless ;
- Ionisation par impact électronique à 70 eV ;
- Gamme de détection des ions : 35-400 amu ;
- Colonne capillaire apolaire HP-1 (50m x 0,2 mm x 0,5 µm) ;
- La température est programmée de 60-200°C à raison de 2°C/min, puis 200°C pendant 120 min.

Les indices de rétention ont été déterminés par injection d'une série d'alcane linéaires allant de C<sub>7</sub>-C<sub>28</sub>.

Les résultats ont été comparés avec ceux obtenus sur des colonnes de même type dans la littérature (Jennigs et Shibamoto, 1980 ; Mc Lafferty et Stauffer, 1989 ; Davies, 1990 ; Adams, 1995 ; Joulain et König, 1998 ; BACIS, 1999 ; Joulain *et al.*, 2001).

## IV.2. Les flavonoïdes

### IV.2.1. Protocole d'extraction

La méthode utilisée est celle décrite par **Bekkara et al. (1998)** :

- 2 g de la plante sèche rendu en poudre en présence de 100 mL d'une solution de méthanol aqueux à 70% (70 : 30), (v/v) placée dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant ;
- L'ensemble a été porté à reflux pendant 3 heures à 70°C ;
- Après une première filtration sur papier filtre n°589, 13 cm de diamètre ;
- Le filtrat est évaporé sous vide à sec (50°C) en utilisant un rota vapor BÜCHI Rotavapor R-200 (résidu sec) ;
- Au résidu résultant on ajoute un volume (eau /acétate d'éthyle) ; (v/v), le mélange est laissé décanter pendant 24 heures ;
- La phase acétate est évaporée, le résidu est récupéré dans 3 mL du méthanol, et conservé à (-18°C) ;
- A la phase aqueuse en ajoute un volume (v) du n-butanol, pour aboutir à un rapport de volume qui est égale à 1 (v/v), et le mélange est laissé décanter pendant 24 heures ;
- La phase n-butanol est évaporée, le résidu est récupéré dans 3 mL du méthanol, et conservé à (-18°C).

**N.B :** Le résidu sec obtenu après la première filtration est l'extrait brut sec, qui servira aux dosages des phénols totaux et des flavonoïdes.

### IV.2.2. Détermination du rendement en extrait brut sec

Les rendements ont été calculés par rapport à 100g de la matière végétale sèche.

$$R(\%) = (P_1 - P_2) / M \times 100$$

**R (%) :** Rendement exprimé en %.

**P<sub>1</sub>** : Poids du ballon après évaporation.

**P<sub>2</sub>** : Poids du ballon avant évaporation.

**M** : Masse de la matière végétale à traiter.

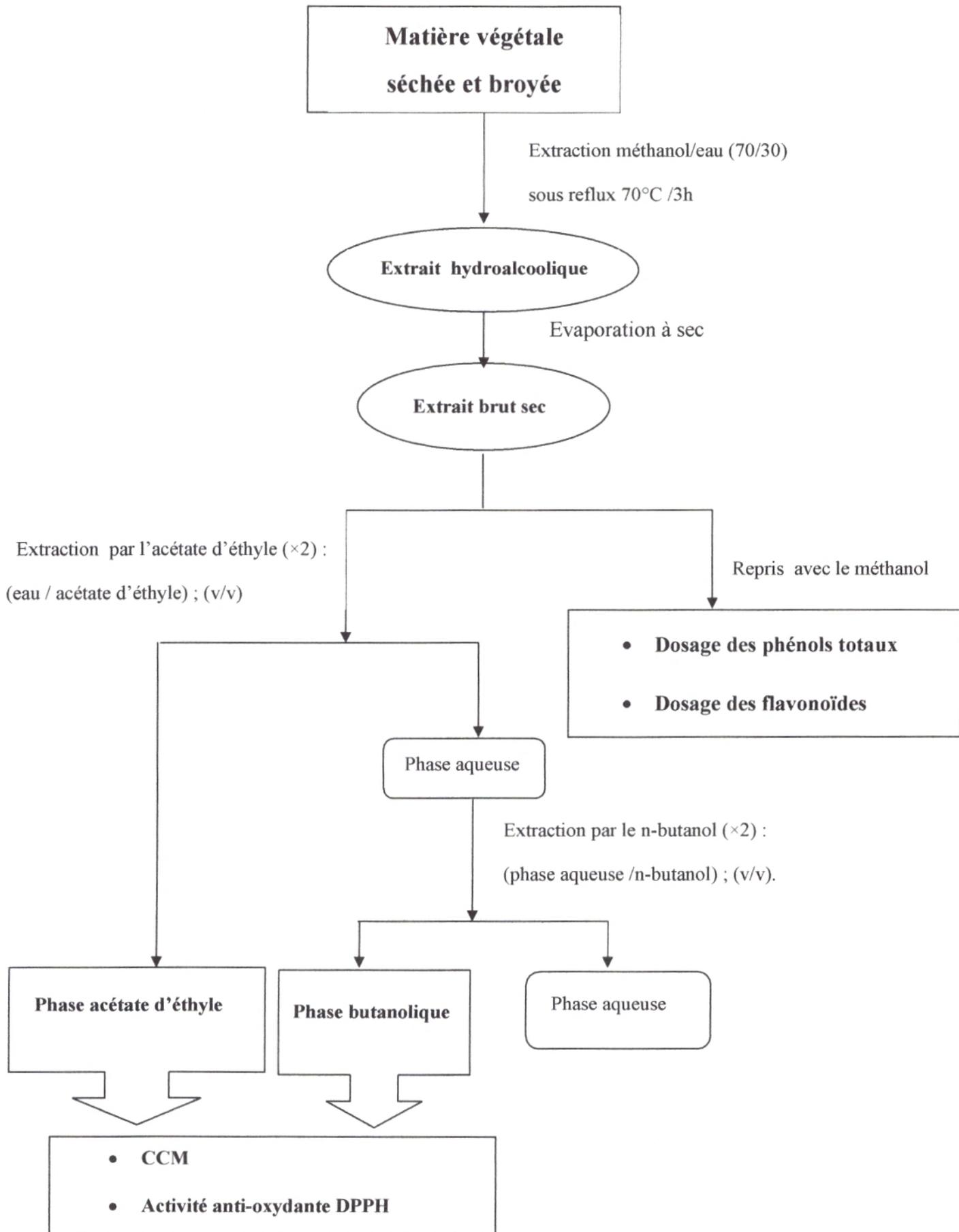


Figure 21 : Schéma d'extraction des flavonoïdes .

**NB :** les opérations de fractionnement par l'acétate d'éthyle et le n-butanol ont été répétées deux fois pour extraire le maximum des flavonoïdes.

#### **IV.2.3. Dosage des phénols totaux**

La teneur totale en phénols totaux des extraits a été déterminée en utilisant la méthode de Folin –Ciocalteu (Wong et al., 2006 ; Biglari et al., 2008 ; Wang et al., 2008).

À 100 µL de l'extrait dilué on a additionné 2,5 mL du réactif Folin – Ciocalteu (10 fois dilué) après 5 min (temps de réaction), on a ajouté 2,5 mL d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, après 1 heure à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 725 nm (Wong et al., 2006).

Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique /g de matière végétale sèche. Une courbe d'étalonnage ( $y = a x + b$ ) réalisée à l'aide de l'acide gallique à différentes concentrations a été pratiquée dans les mêmes conditions que les échantillons.

#### **IV.2.4. Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de Kim et al. (2003).

À 100µL de l'extrait brut, on a additionné 0.4 mL d'eau distillée, 0.03 mL d'une solution de nitrite de sodium à 5%, après 5min, on a ajouté 0.02 mL d'une solution de chlorure d'aluminium à 10%.

Les tubes ont été ensuite incubés pendant 5 min à la température ambiante.

Au mélange résultant, on a ajouté 0.2 mL d'une solution Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 1M et immédiatement 0.25 mL d'eau distillée.

Finalement, le mélange a été vigoureusement agité à l'aide d'un vortex, et l'absorbance de la couleur rose a été mesurée à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée par la catéchine à différentes concentrations pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons.

Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de catéchine /g de matière végétale sèche.

#### **IV.2.5. Analyse qualitative des flavonoïdes par Chromatographie sur Couche Mince (CCM).**

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption et s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites), et aux échantillons biologiques.

Les analyses ont été réalisées sur une plaque en aluminium recouverte de gel de silice G60 ; 20×20 cm de 0.5 cm d'épaisseur.

4  $\mu\text{L}$  de chaque phase extraite ; de chaque plante, ont été déposés à des points précis, à 1 cm du bord inférieur de la plaque.

Après plusieurs essais de systèmes de solvants suivant la littérature, nous avons opté pour deux systèmes selon **Medić- Šarić et al. (2004)** :

- n-hexane /acétate d'éthyle / acide acétique ; (31 : 14 : 5) ; (v / v / v).
- tétrachlorure de carbone /acétone /acide formique ; (70 : 20 : 10) ; (v / v / v).

La lecture été faite, par observation des plaques après développement dans la cuve en verre, sous la lampe UV à 365 nm.

Les Rf ont été comparés avec ceux de la littérature donnés par **Medić- Šarić et al. (2004)**, par manque des étalons.

### IV.3. Les tanins

#### IV.3.1. Protocole d'extraction

Le protocole utilisé est celui décrit par **Bruneton, (1999)**.

a - Dégraissage du matériel végétal :

\* Extraction en continue : avec l'utilisation de l'appareil de Soxhlet, une extraction de 100 g de la matière végétale broyée, a été réalisée en présence de 150 mL d'éther de pétrole ; tout en chauffant pendant 2 heures.

b - Extraction des tanins :

Dans un ballon de 500 mL surmonté d'un réfrigérant à reflux, 100 g du matériel végétal broyé et dégraissé ont été mis en présence de 250 mL d'eau distillée et 160 mL d'acétone.

L'ensemble a été porté à une macération pendant 4 jours. Après filtration et élimination de l'acétone, la solution a été extraite deux fois avec 50 mL de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides, et décantée afin d'extraire la phase aqueuse, quatre fois avec 50 mL d'acétate d'éthyle. La phase organique a été séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis évaporée, le résidu sec résultant a été conservé dans de l'acétone.

#### IV.3.2. Calcul du rendement :

Le pourcentage en tanins est calculé par la formule :

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

**R** : Rendement des tanins en (%).

**M** : Masse en grammes de l'extrait sec résultant.

**M<sub>0</sub>** : Masse en grammes du matériel végétal obtenu après dégraissage.

### IV.3.3. Analyse de la composition chimique des tanins par CCM

Les analyses ont été réalisées par CCM, sur une plaque en aluminium recouverte de gel de silice G60 ; 20×20 cm à 0.5 cm d'épaisseur.

4 µL d'extrait conservé dans l'acétone ; de chaque plante, ont été déposés à des points précis, à 1 cm du bord inférieur de la plaque.

Le système de solvant utilisé est celui donné par **Lea, (1978)** :

- acétone / toluène / acide formique, (30 : 30 : 10) ; (v / v / v).

La lecture été faite par observation des plaques après développement dans la cuve en verre, sous la lampe UV à 365 nm et les Rf ont été comparés avec ceux des étalons.

## IV.4. Les saponosides

### IV.4.1. Protocole d'extraction

Le mode opératoire utilisé est celui donné par **Okwu et Josiah, (2006)** :

- Une prise d'essai de 20 g du matériel végétal de chaque plante (dont le test des saponosides a été positif) rendu en poudre a été dispersée dans 200 mL d'une solution à 20% d'éthanol ;
- Une première extraction a été réalisée dans un bain marie à 55°C sous rotation pendant 4 heures ;
- Après filtration, le résidu obtenu a subit une deuxième extraction avec 200 mL d'une solution aqueuse à 20% qui a été filtré ensuite ;
- Les filtrats collectés ont été concentrés, dans un bain marie à 90°C pour obtenir un volume de 40 mL ;
- Dans une ampoule à décanter, on mélange la solution concentrée avec 20 mL d'éther diéthylique, en agitant vigoureusement ;
- Cette opération a été répétée 3 fois ;
- La phase aqueuse récupérée a subit une extraction avec 20 mL du n- butanol ;
- Cette opération a été répétée 3 fois ;
- Les extraits combinés du n-butanol ont été lavés deux fois avec 10 mL d'une solution aqueuse à 5% de NaCl puis chauffés dans un bain marie ;
- Après évaporation, le résidu obtenu est déterminé en poids pour calculer le rendement en saponosides.

#### IV.4.2. Calcul du rendement :

Le pourcentage en saponosides a été calculé par la formule :

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

**R(%)** : Rendement en saponosides en (%).

**M** : Masse en grammes de l'extrait sec résultant.

**M<sub>0</sub>** : Masse en grammes du matériel végétal à traiter.

## V. Pouvoir antimicrobien

Aujourd'hui, les traitements par les plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tel que les antifongiques et en particulier les antibiotiques décroît.

Pour cela, nous avons jugés intéressant de tester ces huiles essentielles vis-à-vis de souches bactériennes et fongiques, et de comparer leur activité à celle des antibiotiques et antifongique utilisés.

Dans cette partie, nous allons traiter les points suivants :

- Provenance des germes.
- Pouvoir antimicrobien des antibiotiques et de l'antifongique.
- Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.

### V.1. Provenance des germes

Nous avons étudié l'activité antimicrobienne de nos huiles essentielles, à savoir l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioïdes* et celle de *Teucrium polium*, vis-à-vis deux groupes de micro organismes (Tableau 8), qui sont en général des contaminants fréquents provoquant ainsi des infections importantes.

En raison du très faible rendement en huile essentielle de *Salvia verbenaca*, les tests antimicrobiens n'ont pas pu être réalisés.

**Tableau 8** : Liste des souches microbiennes testées.

Bactéries	Espèces	Code de la souche	Origine
Bacilles à Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Laboratoire de Microbiologie de l'université de Tlemcen
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	
Bacilles à Gram (+)	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	
Cocci à Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	
Moisissures	<i>Aspergillus flavus</i>	O <sub>2</sub>	Laboratoire des Produits Naturels de l'université de Tlemcen
	<i>Fusarium oxysporium</i>	F <sub>16</sub>	
	<i>Penicilium spp</i>	BT <sub>2</sub>	
	<i>Rhizopus stolonifer</i>	O <sub>1</sub>	

## V.2. Pouvoir antimicrobien des antibiotiques et de l'antifongique

Les antibiotiques sont des substances chimiques produites par des microorganismes (ATB naturels) ou par synthèse chimique de molécules dérivant de composés naturels. Ils empêchent le développement d'autres microorganismes et peuvent dans certains cas les détruire (**Bessard, 1987**).

**Tableau 9** : Liste des antimicrobiens testés

Antibiotiques	Sigle	La dose	La famille
Triméthoprim+Sulfaméthoxazole	SXT	25µg	Sulfamides
Tétracycline	TE	30 µg	Tétracyclines
Céfalexine	CI	30 µg	Céphalosporines
Amoxicilline+Acide Clavulanique	AMC	30 µg	β- lactamine
Antifongique			
Amphotéricine B	AB	200 µg/mL	Macrolides

### V.2.1. AntibioGramme

La méthode utilisée est celle de diffusion sur disque.

Après ensemencement des boîtes par la suspension bactérienne et élimination du surnageant, des disques imprégnés d'antibiotiques de doses connues sont appliqués à la surface (4 disques / boîte). Les boîtes sont laissées à la température ambiante pendant 30 minutes pour avoir une bonne diffusion de l'ATB puis incubées à  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures. La lecture des résultats a été faite par mesure des zones d'inhibition puis comparée à une échelle étalonnée fournie par la Société Française de Microbiologie (**Recommandation, 2008**).

### V.2.2. Pouvoir antimicrobien de l'antifongique

Pour les champignons filamenteux, il est habituel d'utiliser des suspensions de spores. Or, les études *in vitro* ont montré que les résultats diffèrent selon que l'on utilise des spores ou des filaments. L'agent pathogène est souvent sous forme de filaments chez le malade, il devient délicat d'interpréter un résultat obtenu *in vitro* avec des spores (**Ouraïn et al., 2007**). C'est pourquoi la sensibilité des champignons a été établie par la même méthode utilisée pour l'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles.

### V.3. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

Nous avons testé l'action de nos huiles essentielles par une méthode rapide, celle de diffusion sur disque, et dans l'affirmation nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (C.M.I) en milieu solide.

#### V.3.1. Aromatogramme : (Lesueur et al., 2007)

Afin de tester l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque.

1 mL d'inoculum a été étalé sur les boites de pétrie contenant la gélose Mueller – Hinton (MH) pendant 5 à 10 minutes et l'excédant de l'inoculum a été éliminé

A la surface de chaque boite, 3 disques de papier filtre stérile de 6 mm de diamètre ont été imbibés de 15 $\mu$ L d'huiles essentielles en présence de DMSO à 10% (v/v).

Un témoin négatif a été réalisé avec du DMSO.

Les boites ont été laissées 30 minutes à la température ambiante, puis incubées à 37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C pendant 24 h.

La lecture des résultats a été faite par mesure du diamètre des zones d'inhibition en millimètre, disque inclus.

Les expériences ont été répétées 3 fois.

#### V.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (C.M.I): (Lesueur et al., 2007).

Sur la base des résultats, la concentration minimale inhibitrice correspond à la plus faible concentration d'huile qui est corrélée à une absence de croissance (Joffin et al., 1996).

Pour déterminer les CMI (concentration minimale inhibitrice), nous avons suivi les mêmes étapes que pour l'évaluation de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion sur disque, en variant les concentrations des huiles essentielles.

Les huiles essentielles ont été disposées dans chaque boîte afin d'effectuer une gamme de concentration de 2 ( $\mu$ L/mL) à 6 ( $\mu$ L/mL), avec pour chacune, son équivalent en DMSO, puis additionnées chacune à 20 mL du milieu MH en surfusion. Le mélange est homogénéisé à la main.

10 $\mu$ L des solution bactériennes ont été alors déposées sur chaque boite et étalées avec une pipette râteau.

Les boites ont été ensuite retournées et incubées à 37 $^{\circ}$ C pendant 24 heures.

Un témoin négatif a été préparé à l'aide du DMSO.

### V.3.3. Pouvoir antifongique des huiles essentielles

Afin de tester le pouvoir antifongique de nos huiles essentielles, nous avons procédé à la méthode de contact directe, décrite par **Fandohan, (2004)**.

L'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* et celle de *Teucrium polium* ont été testées avec les concentrations de 0.25, 0.5, 1.25, 2.5, 5 et 10 µL/mL, qui ont été obtenues par l'addition de 05, 10, 25, 50, 100, 200 µL d'huile essentielle à 20 mL du milieu PDA en surfusion dans un tube à essai.

Après agitation des tubes, le milieu a été coulé dans les boîtes de pétri.

L'inoculation a été faite par le dépôt au centre de la boîte d'un disque mycélien d'environ 6 mm de diamètre d'une pré-culture de 3 à 5 jours.

Une boîte de pétri contenant 20 mL du milieu PDA sans huile essentielle, inoculée d'un disque du mycélium a servi comme témoin.

Après incubation à 25±2°C pendant 3 à 5 jours, on a calculé l'indice antifongique ou le pourcentage d'inhibition, déterminé par la formule donnée par **Wang et al. (2005)** :

$$\text{Indice antifongique} = (1 - Da / Db) \times 100$$

**Da** : diamètre de la zone de croissance de l'essai.

**Db** : diamètre de la zone de croissance du témoin

Pour chaque concentration 3 tests ont été réalisés.

Pour les boîtes qui ne présentent pas de croissance, le disque de mycélium a été transféré sur un milieu PDA neuf pour confirmer s'il s'agit d'un effet fongistatique ou fongicide.

## V.4. Préparation des inoculums

### V.4.1. Bactéries

Les souches ont été revifiées dans du bouillon nutritif à 37°C pendant 24 heures. Puis, des gouttelettes de la suspension bactérienne sontensemencées en strie dans des boîtes de pétri préalablement coulées de gélose nutritive d'une manière aseptique.

Après incubation des boîtes, deux à trois colonies, bien isolées, ont été prélevées et mise en culture dans 10 ml de bouillon nutritif.

Après 18 heures d'incubation à 37°C, nous avons effectué des dilutions de la suspension afin de standardiser l'inoculum. Ce dernier doit être ajusté à une densité optique entre 0,08-0,1 à 625nm soit environ  $10^8$  UFC/mL. Nous avons effectué des dilutions au 1/10 pour *Staphylococcus aureus* et au 1/100 pour les autres souches.

#### V. 4.2. Moisissures

Les souches conservées dans de PDA acidifié inclinée à 4°C, sontensemencées sur le milieu PDA coulé en boîtes de pétri. Ensuite, les boîtes sont incubées à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 48 h pour *Rhizopus stolonifer* et 5 jours pour les autres souches.

#### V. 5. Milieux de culture utilisés

- Pour les bactéries, nous avons utilisé deux milieux de culture.

Pour la revivification des souches, nous avons utilisé gélose nutritive, qui est un milieu usuel, ordinaire, pouvant servir à la culture des bactéries n'ayant pas d'exigences particulières

Pour réaliser les différents tests, nous avons utilisé la gélose Mueller Hinton, milieu riche en éléments nutritifs, habituellement utilisé pour vérifier la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

- Pour les moisissures, le milieu choisi pour l'antifongigramme est Potato Dextrose Agar (PDA). C'est un milieu de base utilisé pour la culture des moisissures.

## VI. Pouvoir antioxydant : piégeage du radical libre DPPH

La présence de différents composés antioxydants dans les tissus de la plante rend difficile leurs quantification -chacun séparé - (Djeridane *et al.*, 2006).

Le radical stable (DPPH) ou diphénylpicrylhydrazyl a été généralement utilisé pour la détermination d'une activité antioxydante primaire (Wong *et al.*, 2006).

Ce radical libre (Figure 22), possède une coloration violette foncée qui devient jaune pâle après réduction.

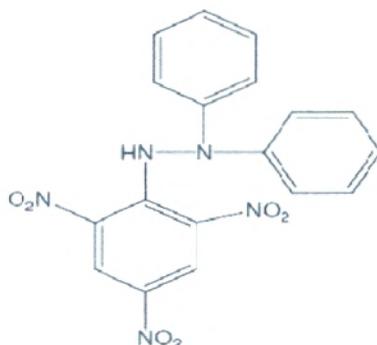


Figure 22 : Diphénylpicrylhydrazyl (DPPH)

Nos extraits méthanoliques ont été testés par la méthode de Leong et Shui, (2006) en utilisant un spectrophotomètre [6405UV/Vis].

### VI. 1. Préparation de la solution DPPH

Une solution méthanolique de DPPH à 0,1 mM a été préparée.

### VI. 2. Préparation des dilutions

Des dilutions dans du méthanol ont été préparées, en prenant en considération les deux phases : acétate et n- butanol, pour chaque plante.

### VI. 3. Préparation des échantillons

On a introduit 3 mL de la solution méthanolique du DPPH dans des tubes secs et stériles, dans lesquels, on a ajouté 40 µL de chaque dilution.

**NB** : 3 essais ont été préparés.

### VI. 4. Préparation des solutions de contrôle

Dans des tubes secs et stériles on a mis 3 mL de la solution DPPH avec 40 µL du méthanol absolu.

### VI. 5. Préparation des essais à blanc

Pour calibrer l'appareil (U V – VIS spectrophotomètre), on a préparé un blanc pour chaque dilution, contenant 3ml du méthanol absolu additionné de 40 µL de la solution test (dilution).

Après agitation par un vortex, les tubes ont été placés dans l'obscurité à la température ambiante pendant 30 minutes. Une mesure de l'absorbance a été effectuée à 515 nm.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

### VI. 6. Expression des résultats

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(Abs_c - Abs_e) / Abs_c] \times 100$$

**Abs<sub>c</sub>** : Absorbance mesurée du contrôle.

**Abs<sub>e</sub>** : Absorbance mesurée de l'échantillon test.

Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne des trois mesures obtenues.

Pour chaque extrait, nous avons déterminé la valeur EC<sub>50</sub> qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (**Samarth et al., 2008**).

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance antiradicalaire (**Brand Williams et al., 1995**):

$$\text{ARP} = \frac{1}{EC_{50}}$$

**ARP** : Puissance antiradicalaire.

**EC<sub>50</sub>** : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH.

## I. Tests phytochimiques

### I.1. Résultats des tests phytochimiques

Les méthodes de détection consistent en une précipitation ou une coloration par des réactifs spécifiques.

Les tests phytochimiques (réalisés sur les parties aériennes de *Saccocalyx satureioides*, de *Teucrium polium* et de *Salvia verbenaca*) ont permis de détecter les différentes familles de composés par des réactions qualitatives de caractérisation.

Ces dernières présentent quatre possibilités :

- + : Est enregistré si le réactif présente une légère opacité (présence en faible quantité).
- ++ : Est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation (présence en quantité moyenne).
- +++ : Est enregistré si le réactif produit une floculation ou un précipité lourd (présence en forte quantité).
- : Absence de turbidité et de floculation.

L'analyse (Tableau 10) a révélé que les émodols, les anthraquinones, les anthocyanosides, les anthracénosides, les composés réducteurs, les stérols, les stéroïdes et les coumarines sont des classes de familles chimiques totalement absentes dans les parties aériennes des espèces étudiées.

Les alcaloïdes et les saponosides sont des classes de familles chimiques présentes en faible quantité, dans les parties aériennes de *Saccocalyx satureioides* et de *Teucrium polium*.

Ces deux classes ont été totalement absentes dans la partie étudiée de *Salvia verbenaca*. Les acides gras ont été aussi faiblement caractérisés dans les trois espèces étudiées.

Les tanins sont une classe présente en quantité moyenne dans les parties aériennes de *Teucrium polium* mais faiblement caractérisés dans *Saccocalyx satureioides* et *Salvia verbenaca*.

Les huiles volatiles sont une classe de famille chimique fortement caractérisées dans *Saccocalyx satureioides*, présente en quantité moyenne dans *Teucrium polium* et en faible quantité dans *Salvia verbenaca*.

Nous nous sommes intéressés particulièrement à l'extraction sélective des huiles essentielles, des flavonoïdes, des tanins, et des saponosides.

Tableau 10 : Résultats des tests phytochimiques.

Classes recherchées	<i>Saccocalyx satureioides</i>	<i>Teucrium polium</i>	<i>Salvia verbenaca</i>
Flavonoïdes	+++	+++	+++
Tanins	+	++	+
Stérols et Stéroïdes	-	-	-
Alcaloïdes	+	+	-
Anthracénosides	-	-	-
Amidon	-	-	-
Emodols	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-
Composés réducteurs	-	-	-
Huiles volatiles	+++	++	+
Saponosides	+	+	-
Acides gras	+	+	+
Coumarines	-	-	-

## I.2. Conclusion

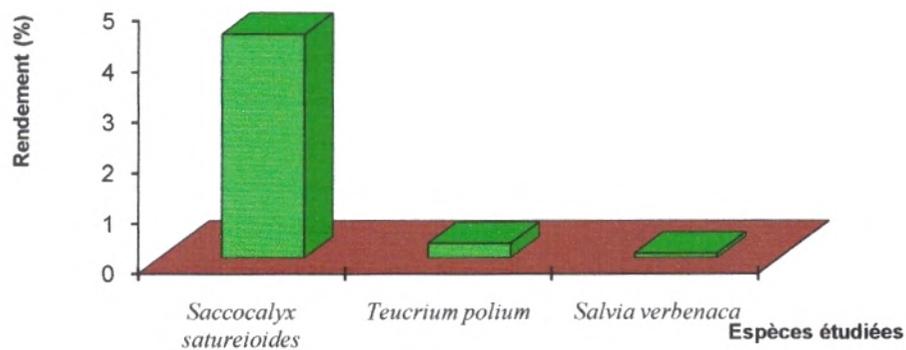
Le criblage phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de caractériser les familles de composés chimiques existantes dans les parties aériennes des trois espèces étudiées.

## II. Extraction sélective des huiles essentielles.

Les extractions ont été réalisées par deux méthodes à savoir l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau, qui ont fournis des huiles essentielles de couleur jaunâtre avec une très forte et persistante odeur.

### II.1. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle varie d'une plante à une autre, *Saccocalyx satureioides* a présenté le rendement le plus élevé (4.42%), alors que *Salvia verbenaca* a donné le rendement le plus faible (0.09%). La teneur en huile essentielle du *Teucrium polium* est de (0.21%) (Figure 23).



**Figure 23** : Rendements (%) en huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau.

**Tableau 11** : Comparaison des rendements en huiles essentielles des trois espèces étudiées avec ceux des travaux antérieures.

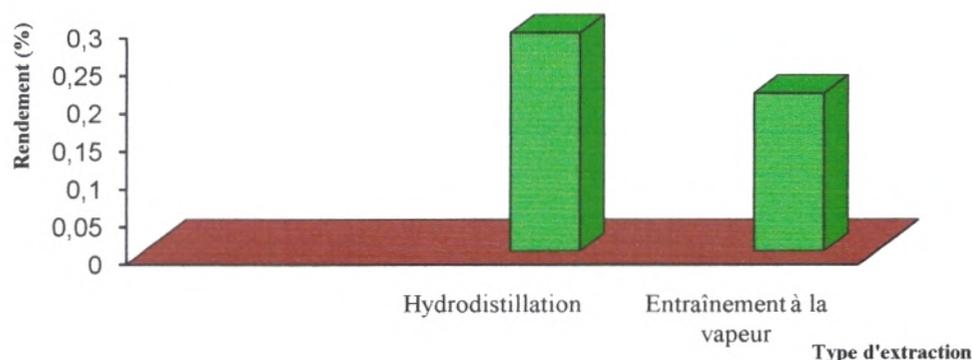
Plante	Type d'extraction	Rendement (%)	Références bibliographiques
<i>Saccocalyx satureioides</i>	Hydrodistillation	3.5	<b>Biondi et al., 2006</b>
	Entraînement à la vapeur d'eau	4.42	<b>Nos travaux</b>
<i>Teucrium polium</i>	Hydrodistillation	0.8	<b>Aburjai et al., 2006</b>
	Hydrodistillation	1.7	<b>Kabouche et al., 2007</b>
	Hydrodistillation	0.29	<b>Nos travaux</b>
	Entraînement à la vapeur d'eau	0.21	<b>Nos travaux</b>
<i>Salvia verbenaca</i>	Hydrodistillation	0.15	<b>Pitarokili et al., 2006</b>
	Entraînement à la vapeur d'eau	0.09	<b>Nos travaux</b>

De ces résultats, on peut déduire que le rendement en huile essentielle d'une même espèce peut varier, et ceci en fonction de plusieurs paramètres.

### II.1.1. Influence du type d'extraction sur le rendement

Comme déjà noté dans la partie bibliographique, le rendement en huile essentielle varie en fonction de plusieurs paramètres.

L'extraction de l'huile essentielle du *Teucrium polium* a été faite par deux méthodes, à savoir l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau, qui ont donné des rendements de (0.29%), (0.21%) respectivement (Figure 24).



**Figure 24** : Rendements (%) en huiles essentielles de *Teucrium polium* obtenues par deux types d'extraction.

Les rendements en huiles essentielles du *Teucrium polium* obtenues par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur d'eau sont relativement proches.

La méthode d'extraction est un facteur qui influe sur le rendement en huile essentielle (**Hadi, 2004**), pour notre cas nous avons adopté l'hydrodistillation comme technique d'extraction.

### II.2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides*

La composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Saccocalyx satureioides* est donnée dans le tableau 12 et est répartie dans des familles chimiques différentes (Tableau 13).

Cette étude a permis d'identifier 40 composés représentant 92.18 % de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Saccocalyx satureioides* et a donné 11 composés non identifiés qui représentent 7.82 % de la composition chimique de cette huile essentielle.

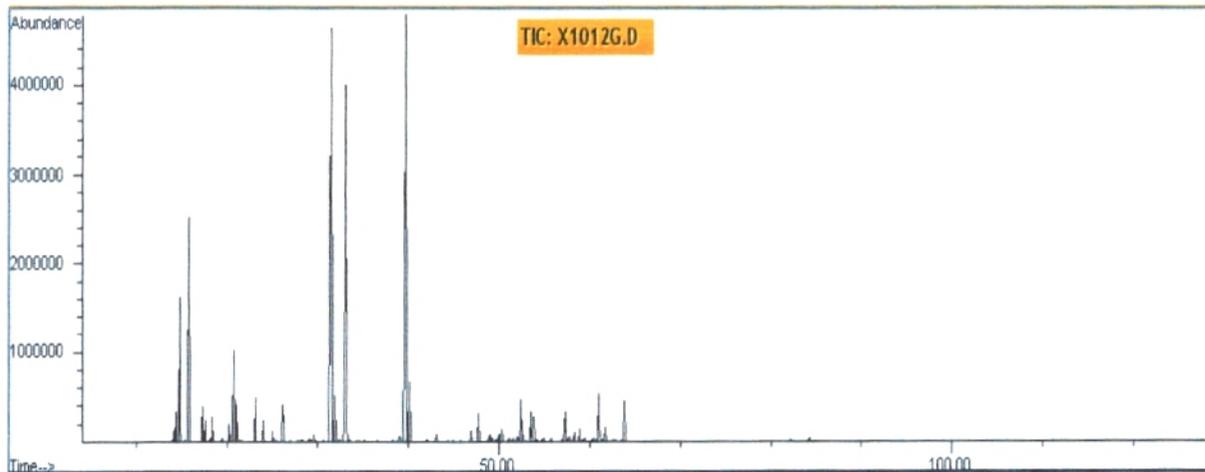
**Tableau 12** : Composition chimique d'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides*.

composés	Indice/HP1	%
Tricyclène	921	0,26
$\alpha$ -Thujène	924	0,64
$\alpha$ -Pinène	931	3,68
Camphène	948	5,94
Sabinène	971	0,87
$\beta$ - Pinène	976	0,55
3-Octanone	980	0.06
Myrcène	988	0,71
$\alpha$ -Phellandrène	1005	0,06
$\delta$ -3-Carène	1010	0.01
$\alpha$ -Terpinène	1016	0,40
<i>Para</i> cymène	1023	2,53
Limonène	1028	1,06
Eucalyptol	1040	0.02
$\gamma$ -Terpinène	1057	1.24
Inconnu 1	-	0,70
Terpinolène	1084	0,27
<i>Cis</i> -Hydrate de sabinène	1095	0,67
Linalol	1099	1.13
Thujanol	1110	0.05
$\alpha$ -Campholénal	1145	0.04
<b>Bornéol</b>	1154	<b>23,93</b>
Inconnu 2	-	0.16
Terpinèn-4-ol	1180	1,54
<b><math>\alpha</math>-terpinéol</b>	1197	<b>20,20</b>
Inconnu 3	-	0.35
Formiate d'isobornyl	1270	0.06
Acétate d'isobornyl	1280	0,17
Inconnu 4	-	0,14
<b>Thymol</b>	1292	<b>18.01</b>

Carvacrol	1299	1,86
Acétate de thymyl	1322	0,21
$\alpha$ -Gurgunène	1403	0,35
$\beta$ - Caryophyllène	1416	1,03
$\beta$ - Gurgunène	1429	0,03
Aromadendrène	1435	0.11
Inconnu 5	-	0.11
$\alpha$ -Humulène	1452	0.17
<i>Allo</i> -Aromadendrène	1457	0.42
Inconnu 6	-	0.15
Germacrène	1492	0.02
Inconnu 7	-	1.70
$\alpha$ -Murolène	1495	0.13
$\gamma$ -Cadinène	1510	0,86
$\delta$ -Cadinène	1515	0.62
Spathulénol	1574	1,20
Oxyde de caryophyllène	1577	0.48
Inconnu 8	-	0.32
Inconnu 9	-	0.45
Inconnu 10	-	1.63
Inconnu 11	-	2.11

Le chromatogramme de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Saccocalyx satureioides* (Figure 25) est caractérisé par la présence de trois composés majoritaires qui représentent à eux seul : 62.14% de la composition chimique de cette huile essentielle.

Le composé majoritaire est le bornéol (23.93 %) suivi du  $\alpha$ -terpinéol (20.20%), et du thymol (18.01%).

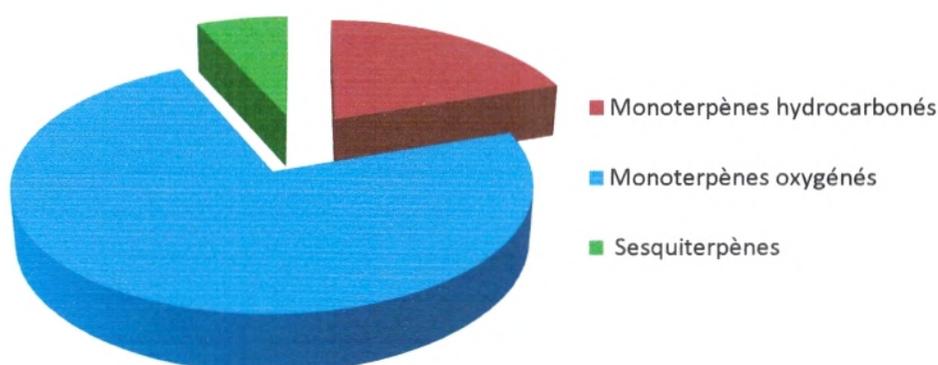


**Figure 25** : Chromatogramme en CG-SM de *Saccocalyx satureioides*.

D'autre part, on constate que l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* est très riche en monoterpènes oxygénés (67.66%), quant aux monoterpènes hydrocarbonés et aux sesquiterpènes sont présent à des proportions de 18.3% et 6.22% respectivement (Tableau 13 ; Figure 26).

**Tableau 13** : Bilan de l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides*.

Types de composés	Nombre de composés et leur (%)
Monoterpènes hydrocarbonés	16 (18.3)
Monoterpènes oxygénés	12 (67.66)
Sesquiterpènes	12 (6.22)
	<b>Composés identifiés au total</b>
	40 (92.18%)
	<b>Composés non identifiés</b>
	11 (7.82%)



**Figure 26** : Distribution de la composition chimique de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* en fonction des types de composés.

L'étude comparative (Tableau 14) montre que le constituant majoritaire de notre huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* est le bornéol ; l' $\alpha$ -terpinéol prédomine la composition chimique de l'huile essentielle de la même espèce issue de la région de Bou-Saâda wilaya de M'Sila (Biondi et al., 2006), et de celle poussant dans la wilaya de Sétif (Laouer et al., 2006).

**Tableau 14** : Comparaison des composés prépondérants dans les huiles essentielles de *Saccocalyx satureioides* issue de trois régions de l'Algérie.

Le composé chimique majoritaire	Bornéol	$\alpha$ -terpinéol	Thymol
Origine de la plante. (Référence bibliographique)			
<b>Bou-Saâda (wilaya de M'Sila)</b> (Biondi et al., 2006).	11.6%	<b>32.7%</b>	22.8%
<b>Wilaya de Sétif</b> (Laouer et al., 2006).	12.4%	<b>35.9%</b>	15.6%
<b>Ain sefra (wilaya de Naâma)</b> (Nos travaux, 2009).	<b>23.93%</b>	20.20%	18.01%

### II.3. Composition chimique de l'huile essentielle de *Teucrium polium*

L'analyse d'huile essentielle de *Teucrium polium* a permis d'identifier 29 composés représentant 86.24% de la composition chimique de cette huile essentielle et a donné 22 composés non identifiés qui représentent 13.76% de (Tableau 15)

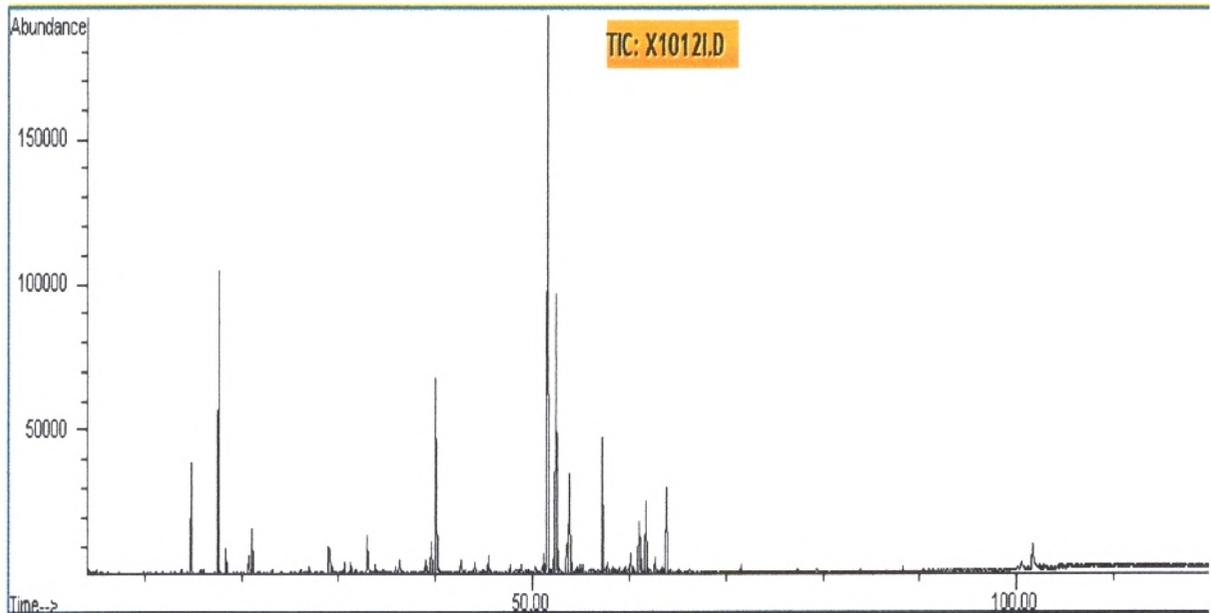
**Tableau 15 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Teucrium polium*.

Composés	Indice/HP1	%
$\alpha$ - Pinène	931	3,83
Camphène	951	0,10
<b><math>\beta</math>-Pinène</b>	975	<b>11,32</b>
myrcène	988	0,85
Ortho cymène	1023	0,63
Limonène	1028	1,71
$\gamma$ - Terpinène	1057	0,14
Linalol	1099	0,13
Inconnu1	1111	0,20
Pinocarvone	1140	1,60
Inconnu2	1145	0,20
Bornéol	1162	0,46
Terpinèn-4-ol	1171	0,38
$\alpha$ - Terpinéol	1179	0,11
Inconnu3	1195	1,80
Inconnu4	1207	0,33
Citronellol	1218	0,10
Inconnu5	1237	0,21
Inconnu6	1243	0,37
Thymol	1282	0,52
Inconnu7	1285	0,25
Inconnu8	1290	1,25
<b>Carvacrol</b>	1298	<b>8,64</b>
Inconnu9	1337	0,50

Inconnu10	1344	0,14
Oxyde de pipériténone	1359	0,42
$\alpha$ -Copaène	1372	0,14
$\beta$ -Bourbonène	1380	0,63
$\beta$ -Caryophyllène	1416	0,37
$\gamma$ -Elémène	1426	0,16
Inconnu11	1435	0,33
$\alpha$ -Humulène	1456	0,22
Inconnu12	1469	0,15
$\gamma$ - muurolène	1472	0,78
<b>D-germacrène</b>	1478	<b>24,98</b>
Inconnu13	1488	0,74
<b>B-germacrène</b>	1492	<b>12,59</b>
$\alpha$ - Muurolène	1495	0,70
Inconnu14	1512	0,24
$\delta$ - Cadinène	1515	4,17
Calaménène	1519	0,66
Inconnu15	1530	0,17
Inconnu16	1534	0,31
Inconnu17	1539	0,22
Spathulénol	1574	6,33
Inconnu18	1640	1,46
Citronnelle	1653	3,52
Inconnu19	1670	0,62
Inconnu 20	1688	0,15
Inconnu21	1691	3,90
Inconnu 22	1837	0,22

Le chromatogramme de l'huile essentielle de *Teucrium polium* (Figure 27) est caractérisé par la présence de quatre composés majoritaires, qui représentent à eux seul 57.53% de la composition chimique de cette l'huile essentielle.

Ces composés sont : le D-germacrène (24.98%), le B-germacrène (12.59), le  $\beta$ - pinène (11.32%), le carvacrol (8.64%).

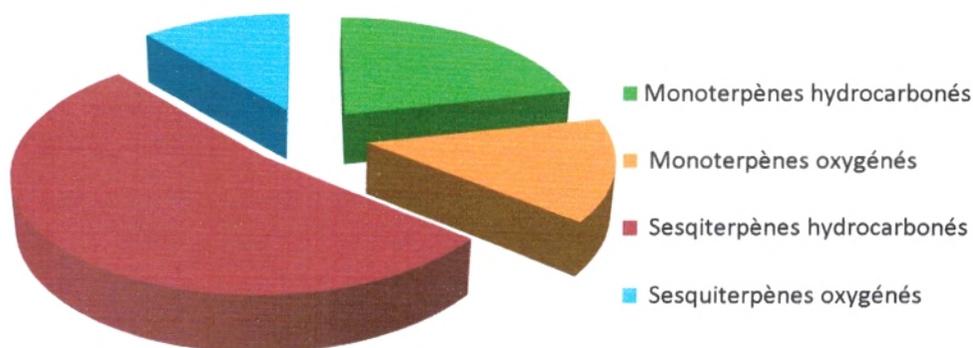


**Figure 27:** Chromatogramme en CG-SM de *Teucrium polium*

Les composés chimiques de cette huile essentielle sont répartis en quatre groupes (Tableau16 ; Figure 28), dont les sesquiterpènes hydrocarbonés représentent le groupe majoritaire avec (45.4%) suivi du groupe des monoterpènes hydrocarbonés (18.58%), des monoterpènes oxygénés (12.36%) et du groupe des sesquiterpènes oxygénés (9.85%).

**Tableau 16 :** Bilan de l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Teucrium polium*.

Types de composés	Nombre de composés et leur (%)
Monoterpènes hydrocarbonés	7 (18.58)
Monoterpènes oxygénés	9 (12.36)
Sesquiterpènes hydrocarbonés	11 (45.4)
Sesquiterpènes oxygénés	2 (9.85)
	<b>Composés identifiés au total</b>
	29 (86.24%)
	<b>Composés non identifiés</b>
	22 (13.76%)



**Figure 28** : Distribution de la composition chimique de l'HE de *Teucrium polium* en fonction des types de composés.

Le composé majoritaire de notre huile essentielle de *Teucrium polium* (le D-germacrène) est le même que celui des huiles essentielles des deux espèces issues de l'Iran (**Eikani et al., 1999**), et de la Yougoslavie (**Kovacevic et al., 2001**) avec les teneurs de 23.6% et 11.9% respectivement.

Le pourcentage et la présence de certains constituants diffèrent de manière considérable selon les conditions de croissance d'une plante, ainsi l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle, menée par **Aburjai et al. (2006)** a révélé que cette espèce d'origine Jordanien est caractérisée par l'abondance de 8-cédren-13-ol (24.8%).

Alors que l'huile essentielle de la même espèce issue de l'Aurès (Algérie) est dominée par l' $\alpha$ -cadinol (46.8%) et le 3 $\beta$ -hydroxy- $\alpha$ -muurolène (22.5%) (**Kabouche et al., 2007**).

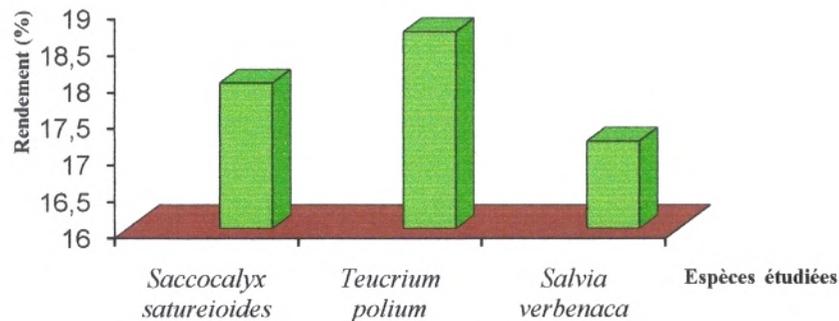
### III. Extraction des phénols totaux

Les poids résultants après évaporation à sec et sous pression réduite des solutions méthanoliques aqueuses, ont été établis pour déterminer les rendements en extraits bruts sec puis récupérés dans le méthanol.

#### III.1. Rendements en extraits bruts sec

Les rendements (Figure 29) ont été déterminés par rapport à 100 g de la matière végétale sèche, rendu en poudre.

Ces rendements sont de 18.7% pour *Teucrium polium*, 18% pour *Saccocalyx satureioides*, et 17.2% pour *Salvia verbenaca*.



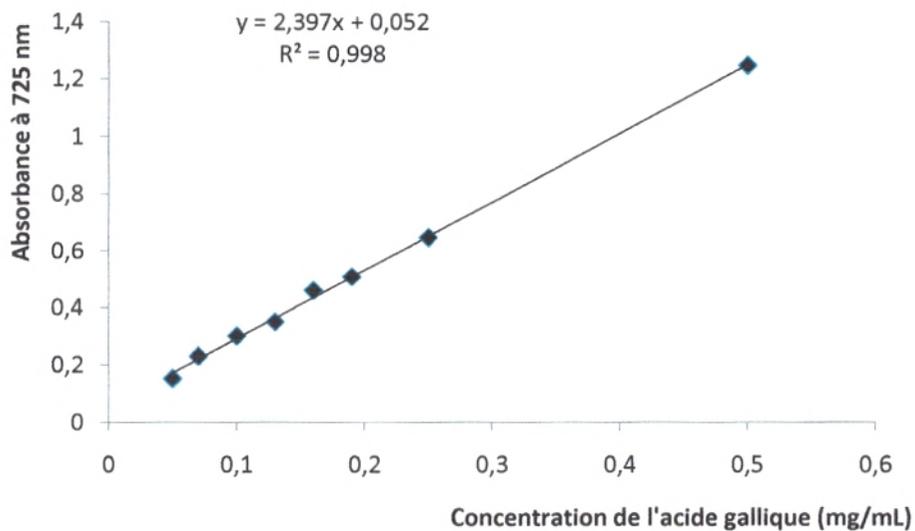
**Figure 29** : Rendements (%) en extraits bruts sec des espèces étudiées.

**NB** : Les extraits bruts ont fait l'objet d'une étude quantitative qui consiste à des dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes.

#### III.2. Teneur des extraits bruts en phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des espèces étudiées ont été déterminées en utilisant le réactif Folin –Ciocalteu, on se basant sur le fait que les composés phénoliques forment un complexe redox avec les acides phosphotungstiques et phosphomolibdiques de ce réactif. Néanmoins, les essais ont montré qu'il n'existe pas de spécificité en vers seul les phénols totaux mais aussi vers toutes les substances qui peuvent être oxydées par le réactif Folin-Ciocalteu (Escarpa et González, 2001 ; Singleton et al., 1999).

L'étude comparative en phénols totaux a été faite grâce à une courbe d'étalonnage (Figure 30), réalisée avec un extrait d'acide gallique à différentes concentrations.



**Figure 30 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Dans le tableau 17, figurent les teneurs en phénols totaux (exprimées en mg équivalent d'acide gallique /g de la matière sèche) des trois espèces étudiées.

**Tableau 17 :** Teneurs en phénols totaux dans les extraits bruts des espèces étudiées.

Plantes	Teneur en phénols totaux (mg/g)
<i>Saccocalyx satureioides</i>	3.405
<i>Teucrium polium</i>	3.810
<i>Salvia verbenaca</i>	0.845

Les teneurs en phénols totaux des deux espèces (*Saccocalyx satureioides* et *Teucrium polium*) sont assez proches, elles sont quatre fois plus importante que celle de *Salvia verbenaca*.

La teneur en phénols totaux varie d'une famille à une autre et d'une espèce à une autre (Tsai et al., 2008), c'est ainsi que l'étude réalisée par Liu et al. (2008) sur la teneur en

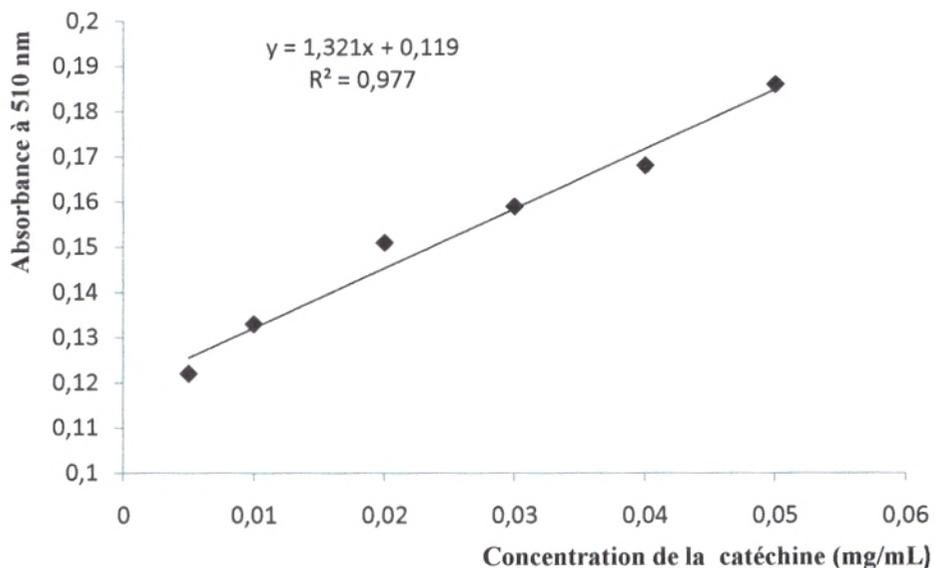
phénols totaux de quelques plantes à utilisation médicinale et alimentaire a donné un intervalle de (0.57 à 280.46 mg équivalent d'acide gallique /g du matériel végétal sec).

La teneur phénolique totale de *Teucrium polium* révélée par **Djeridane et al., (2006)**, est de 4.91 (mg équivalent d'acide gallique / g du matériel végétal sec), donc légèrement élevée par rapport à notre résultat ( 3.81 mg équivalent d'acide gallique / g du matériel végétal sec).

### III.3. Teneur des extraits bruts en flavonoïdes

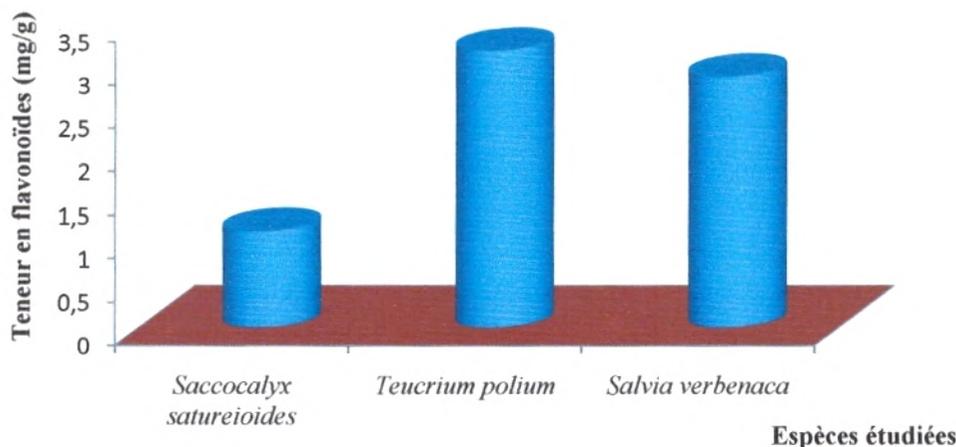
Des dosages spectrophotométriques ont été effectués à partir des extraits bruts méthanoliques des trois espèces étudiées afin de déterminer la teneur totale des flavonoïdes.

Une courbe d'étalonnage (Figure 31) a été réalisée avec un extrait de catéchine à une longueur d'onde 510 nm.



**Figure 31** : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Les quantités des flavonoïdes correspondantes des espèces étudiées ont été rapportées en mg équivalent de catéchine /g du matériel végétal sec.



**Figure 32 :** Teneur en flavonoïdes des trois espèces étudiées.

La différence entre les teneurs en flavonoïdes de *Teucrium polium* (3.2 mg/g) et de *Salvia verbenaca* (2.9 mg/g) est peu significative mais, elle est supérieure à celle de *Saccocalyx satureioides* qui est de 1.11 mg/g.

La teneur en flavonoïdes de *Teucrium polium* révélée par **Djeridane et al., (2006)**, est de 4.63 (mg équivalent d'acide gallique / g du matériel végétal sec), plus importante que notre résultat.

On peut déduire que la teneur en flavonoïdes peut être influencée par l'origine de l'espèce.

#### III.4. Résultats de la chromatographie sur couche mince

Les différentes classes des flavonoïdes ont été recherchées dans les deux phases (acétate d'éthyle et n-butanol) en utilisant deux systèmes solvants donnés par **Medić- Šarić et al. (2004)** :

- **Système 1** : n-hexane / acétate d'éthyle /acide acétique ; (31 : 14 : 5) ; (v : v : v).
- **Système 2** : tétrachlorure de carbone /acétone /acide formique ; (70 : 20 : 10) ; (v : v : v).

Après révélation sous lampe UV à 365 nm, les Rf (par manque de témoins) ont été comparés avec ceux de référence révélés par **Medić- Šarić et al. (2004)**, (Tableau 18).

Dans les tableaux 19 et 20, figurent les Rf des différents spots apparus, révélées sous la lampe UV à 365 nm, les composés mis en évidence dans les deux phases (acétate d'éthyle et n-butanol) et leurs classes correspondantes.

**Tableau 18** : Les valeurs des Rf des étalons donnés par **Medić- Šarić et al. (2004)**, dans le :

**Système de solvant 1** : n-hexane / acétate d'éthyle / acide acétique ; (31: 14 :5) ; (v/ v / v).

**Système solvant 2** : tétrachlorure de carbone / acétone / acide formique (70 : 20 : 10) ; (v/v/ v).

Étalons	Rf donné par le système de solvant 1	Rf donné par le système de solvant 2
Flavanone	0.75	0.71
Naringénine	0.52	0.38
Flavone	0.91	0.80
3- Hydroxyflavone	0.82	0.64
6- Hydroxyflavone	0.75	0.62
6- Hydroxyflavone	0.56	0.50
7- Hydroxyflavone	0.47	0.43
3,6-Dihydroxyflavone	0.56	0.45
3,7-Dihydroxyflavone	0.54	0.45
Morine	0.13	0.13
Chrysine	0.68	0.51
Quercétine	0.30	0.34
Galangine	0.72	0.77
Apigénine	0.39	0.34
Kaempferol	0.47	0.27
acide <i>o</i> -coumarique	0.73	0.41
acide <i>p</i> -coumarique	0.69	0.37
Acide férulique	0.63	0.45

**Tableau 19** : Les composés mis en évidence dans les fractions (AcOEt et n-bu OH ) par le :

Système de solvant 1 : n-hexane / acétate d'éthyle /acide acétique ; (31 : 14 : 5).

Adsorbant : gel de silice.

Plante	Phase	Rf	Composés mis en évidence	Classe
<i>Saccocalyx satureioides</i>	AcOEt	0.066	-	-
		0.12	Morine	Flavones
		0.20	-	-
		0.28	-	-
		0.32	-	-
		0.50	-	-
	n-bu OH	0.56	3, 6-Dihydroxyflavone	Flavones
		0.06	-	-
		0.09	-	-
<i>Teucrium polium</i>	AcOEt	0.36	-	Flavones
		0.1	-	-
		0.16	-	-
		0.25	-	-
		0.3	Quercétine	Flavones
		0.47	7-Hydroxyflavone	Flavones
	n-bu OH	0.16	-	-
		0.36	-	Flavones
<i>Salvia verbenaca</i>	AcOEt	0.03	-	-
		0.06	-	-
		0.3	Quercétine	Flavones
		0.50	-	-
		0.64	Acide férulique	Acides phénols
		0.70	-	-
	n-bu OH	0.32	-	-

**Tableau 20 :** Les composés mis en évidence dans les fractions (AcOEt et n-bu OH) par le :  
**Système solvant 2:** tétrachlorure de carbone / acétone / acide formique ; (70 : 20 : 10).  
**Adsorbant :** gel de silice.

Plante	Phase	Rf	Composés mis en évidence	Classe
<i>Saccocalyx satureioides</i>	AcOEt	0,88	-	-
		0,91	-	-
		0,95	-	-
	n-bu OH	0,71	Flavanone	Flavanones
		0,80	Flavone	Flavones
		0,87	-	-
<i>Teucrium polium</i>	AcOEt	0,71	Flavanone	Flavanones
		0,87	-	-
		0,91	-	-
		0,95	-	-
	n-bu OH	0,71	Flavanone	Flavanones
		0,80	Flavone	Flavones
		0,84	-	-
		0,95	-	-
<i>Salvia verbenaca</i>	AcOEt	0,58	-	-
		0,64	3- Hydroxyflavone	Flavone
		0,71	Flavanone	Flavanones
		0,88	-	-
		0,96	-	-
	n-bu OH	0,86	-	-
		0,94	-	-

- *Saccocalyx satureioides*

Dans la phase acétate d'éthyle, Le système **1** a permis de révéler deux composés : la morine et le 3, 6-dihydroxyflavone, mais aucun composé n'a été séparé par le système de solvant **2**.

Dans la phase n-butanol, deux composés ont été mis en évidence par le système **2**, qui sont la flavanone et la flavone, mais aucun composé n'a pu être séparé par le système de solvant **1**.

- *Teucrium polium*

Deux composés ont été séparés par le système **1** ; la quercétine et le 7-hydroxyflavone à partir de la phase acétate d'éthyle et un seul composé par le système **2** ; la flavanone.

La phase n-butanol a permis de ségréguer deux composés par le système **2** : la flavanone et le flavone, mais aucun composé n'a pu être séparé par le système de solvant **1**.

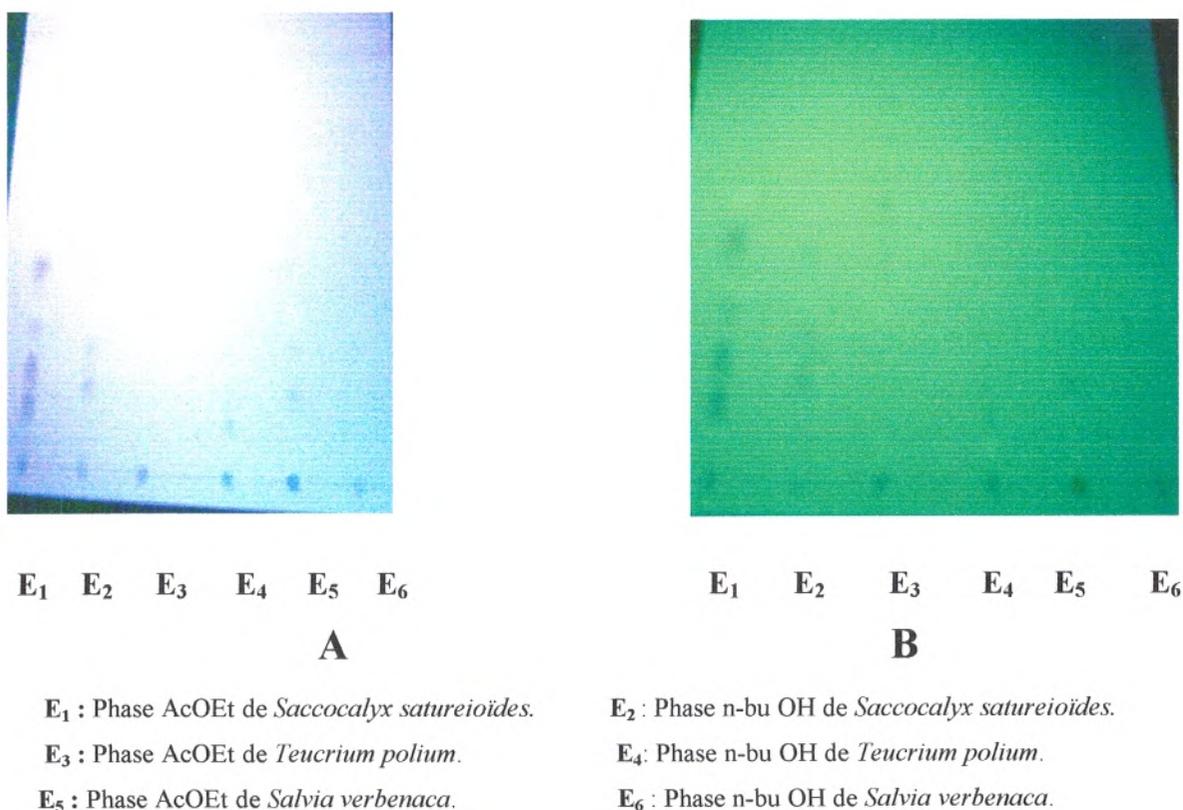
- *Salvia verbenaca*

Le système de solvant **1** a permis de séparer deux composés : la quercétine et l'acide férulique à partir de la phase acétate d'éthyle, alors que deux composés : le 3- hydroxyflavone et la flavanone ont été mis en évidence par le système **2** dans la même phase.

Par ailleurs, dans la phase n-butanol, aucun composé n'a été identifié par les deux systèmes de solvant.

### III.4.1. Conclusion

Au regard des résultats, ces deux systèmes ont permis de mettre en évidence deux classes des composés phénoliques, à savoir les flavonoïdes (flavanones et flavones) et un acide phénol (acide férulique).



**Figure 33** : Photos des chromatogrammes résultant de l'analyse des fractions (AcOEt et n-bu OH) par chromatographie sur gel de silice.

**A** : Chromatogramme photographié sous lampe UV à 365 nm, en utilisant le système de solvant : n-hexane / acétate d'éthyle / acide acétique ; (31 : 14 : 5).

**B** : Chromatogramme photographié sous lampe UV à 356 nm, en utilisant le système de solvant : tétrachlorure de carbone / acétone / acide formique ; (70 : 20 : 10)

#### IV. Extraction des tanins

Les tanins sont une classe de familles chimiques qui caractérise les trois espèces étudiées, pour cela on a procédé à des extractions successives à l'acétone et au dichlorométhane afin de débarrasser les extraits de la chlorophylle, des pigments et des lipides.

Les extraits obtenus ont été par la suite concentrés sous pression réduite et les rendements ont été calculés.

#### IV.1. Rendements en tanins

Les poids résultants ont été pesés pour déterminer les rendements en tanins puis récupérés dans l'acétone.

**Tableau 21** : Rendements (%) en tanins des trois espèces étudiées.

Plante	Rendement (%)
<i>Saccocalyx satureioides</i>	0.23
<i>Teucrium polium</i>	0.68
<i>Salvia verbenaca</i>	0.20

Les résultats obtenus montrent que la teneur en tanins de *Teucrium polium* est importante (0.68%), par rapport à celle des autres espèces.

Les rendements en tanins de *Saccocalyx satureioides* et *Salvia verbenaca* sont très proches.

#### IV.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince

Un seul système de solvant a été utilisé pour la détection des différents tanins récupérés dans l'acétone : (acétone / toluène / acide formique), (30 / 30 / 10) ; (v / v / v).

La lecture a été faite par observation des plaques sous la lampe UV à 365 nm, et les Rf ont été comparés avec ceux des étalons.

Dans le tableau 22 figurent les Rf des différents étalons utilisés.

Dans le tableau 23 figurent les Rf des différents spots apparus et les composés mis en évidence.

**Tableau 22** : Rf des différents étalons utilisés.

Etalons	Rf
phloroglucinol	0.66
pyrogallol	0.70
hydroquinone	0.72
résorcinol	0.74
catéchol	0.76

**Tableau 23** : Les composés mis en évidence dans les trois espèces étudiées.

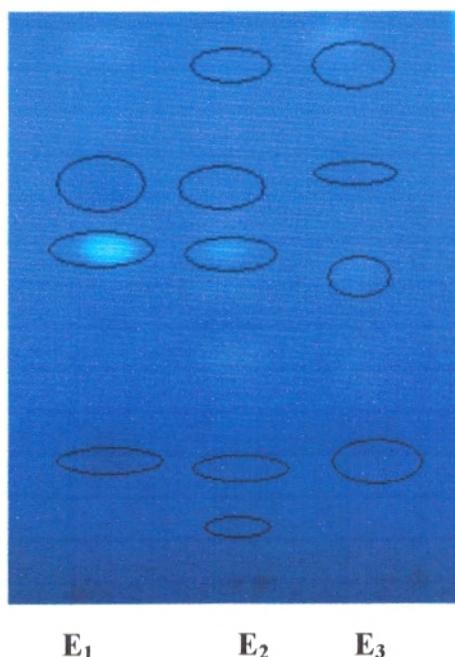
**Système solvant** : acétone / toluène / acide formique ; (30 / 30 / 10) ; (v / v / v).

**Adsorbant** : gel de silice.

Plante	Rf	Composé mis en évidence
<i>Saccocalyx satureioides</i>	0.47	-
	0.70	pyrogallol
	0.72	hydroquinone
	0.74	résorcinol
<i>Teucrium polium</i>	0.56	-
	0.58	-
	0.62	-
	0.66	phloroglucinol
	0.70	pyrogallol
	0.72	hydroquinone
	0.74	résorcinol
	0.76	catéchol
	0.90	-
<i>Salvia verbenaca</i>	0.61	-
	0.70	pyrogallol
	0.72	hydroquinone
	0.74	résorcinol
	0.75	-
	0.76	catéchol
	0.78	-
	0.91	-

Trois composés ont été mis en évidence dans la partie aérienne de *Saccocalyx satureioides*, à savoir, le pyrogallol, l'hydroquinone et le résorcinol.

En plus de ces trois composés, le catéchol a été révélé dans *Salvia verbenaca*, alors que dans *Teucrium polium* on a pu mettre en évidence le phloroglucinol, en plus des quatre composés mis en évidence dans *Salvia verbenaca*.



**E<sub>1</sub>** : Extrait acétonique de *Saccocalyx satureioides*.

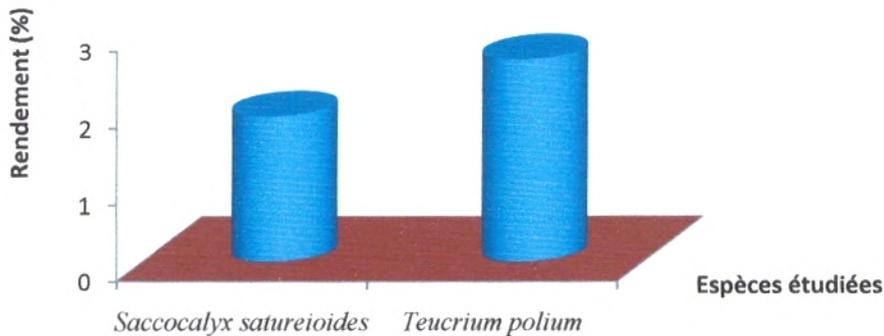
**E<sub>2</sub>** : Extrait acétonique de *Teucrium polium*.

**E<sub>3</sub>** : Extrait acétonique de *Salvia verbenaca*.

**Figure 34** : Photo du chromatogramme résultant de l'analyse des extraits acétoniques par chromatographie sur gel de silice en utilisant le système de solvant acétone / toluène / acide formique ; (30 / 30 / 10) ; (v / v / v).

## V. Extraction des saponosides

Après une série d'extractions liquide-solide et liquide –liquide, et évaporation sous vide, le rendement en saponosides dont les tests ont été positifs (*Saccocalyx satureioïdes* et *Teucrium polium*) a été calculé par rapport à 100 g de la matière sèche (Annexe F).



**Figure 35** : Rendements en (%) des saponosides de *Saccocalyx satureioïdes* et de *Teucrium polium*.

Le rendement en saponosides de *Teucrium polium* est de 2.65%, il est deux fois plus élevé que celui révélé dans *Saccocalyx satureioïdes* (1.9%).

Les saponosides sont des substances naturelles, composés de deux parties : une partie aglycone (triterpène ou stéroïdes) et une autre partie osidique à une, deux ou trois chaînes de sucres (**Bruneton, 1993**).

Les saponosides ont la capacité de neutraliser quelques enzymes d'un effet néfaste, et jouent un rôle important lors des blessures en renforçant le système immunitaire (**Akinmoladun et al., 2007**), comme elles influent sur l'absorption intestinale du cholestérol (**Okwu, 2004**). Parmi les potentialités des saponosides on notera aussi les propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et antioedémateuses (**Bruneton, 1993**).

Par conséquent la teneur d'une telle quantité en saponosides dans nos espèces leurs donne un intérêt biologique considérable.

## VI. Pouvoir antimicrobien

Beaucoup de travaux ont été réalisés sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles (Lesueur *et al.*, 2007).

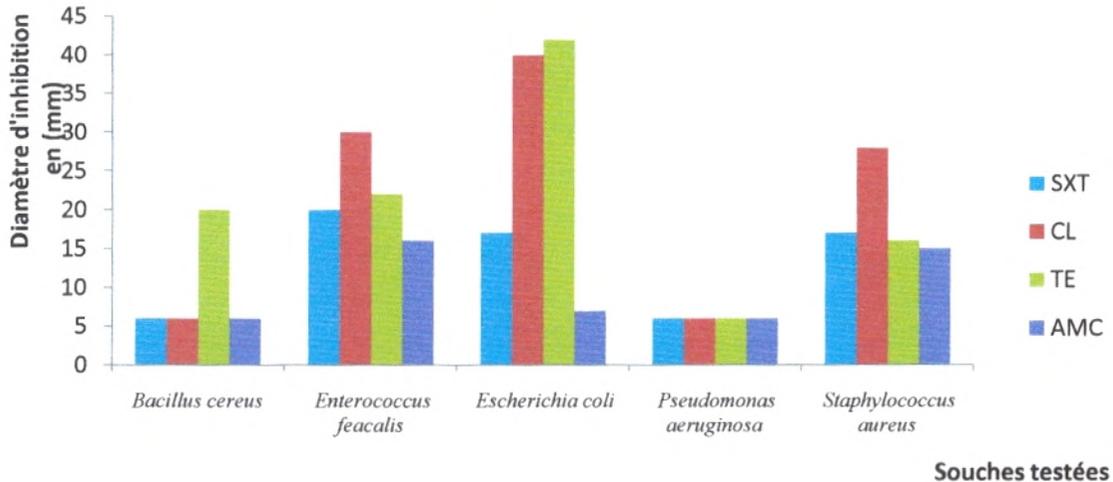
Lors de cette étude, nous avons testé l'action des huiles essentielles des deux espèces végétales (*Saccocalyx satureioïdes* et *Teucrium polium*) vis-à-vis des souches bactériennes de référence, par la méthode de diffusion sur disque, et dans l'affirmation, nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices (C.M.I) en milieu solide.

Parallèlement, nous avons testé l'effet de ces huiles essentielles vis-à-vis quelques souches mycéliennes.

### VI.1. Antibiogramme

La réalisation d'un antibiogramme a pour but la détermination de la sensibilité d'un microorganisme vis-à-vis un ou plusieurs antibiotiques.

Les diamètres des zones d'inhibition (Figure 36) nous ont permis de classer les souches testées suivant leur sensibilité vis-à-vis les ATB utilisés (Annexe G).



**Figure 36 :** Antibiogramme : Moyennes des zones d'inhibition relatives aux différentes souches testées.

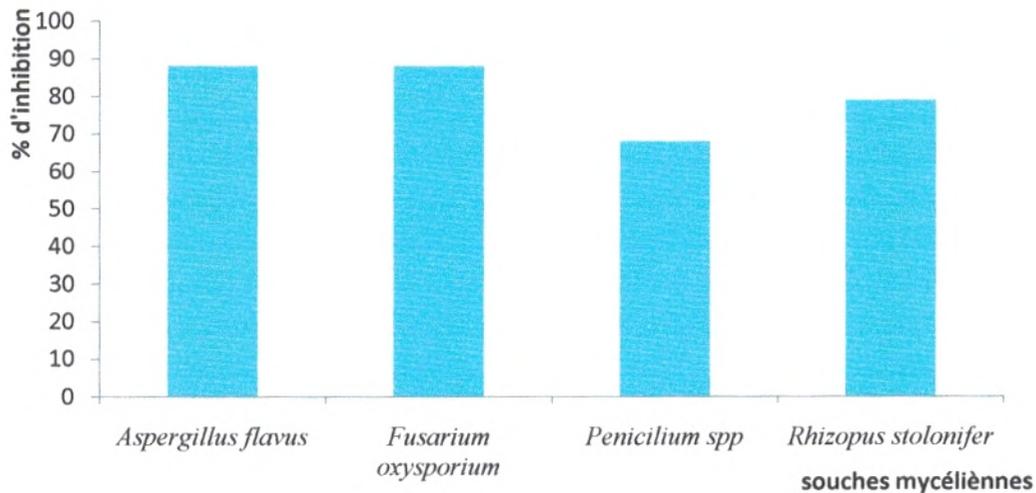
Les souches bactériennes ont montré des sensibilités aux antibiotiques à l'exception de l'amoxicilline-acide clavulanique où nous observons des zones d'inhibition faibles à nulles.

Par ailleurs, la souche *Pseudomonas aeruginosa* a présenté une résistance vis-à-vis de tous les ATB utilisés, la même observation a été faite pour la souche *Bacillus cereus*, qui s'est montré sensible uniquement en contact avec la tétracycline.

La souche *E. coli* s'est révélée plus sensible à la tétracycline et à la cefalexine, alors que les *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* se sont montrées plus sensible en contact de la cefalexine.

## VI.2. Pouvoir antimicrobien de l'antifongique

Nous avons déterminé le pourcentage d'inhibition des souches mycéliennes vis-à-vis d'un seul antifongique (amphotéricine B), et ceci à partir des diamètres des zones d'inhibition obtenus (Figure 37).



**Figure 37** : Antifongramme : moyenne des zones d'inhibition relatives aux différentes souches testées.

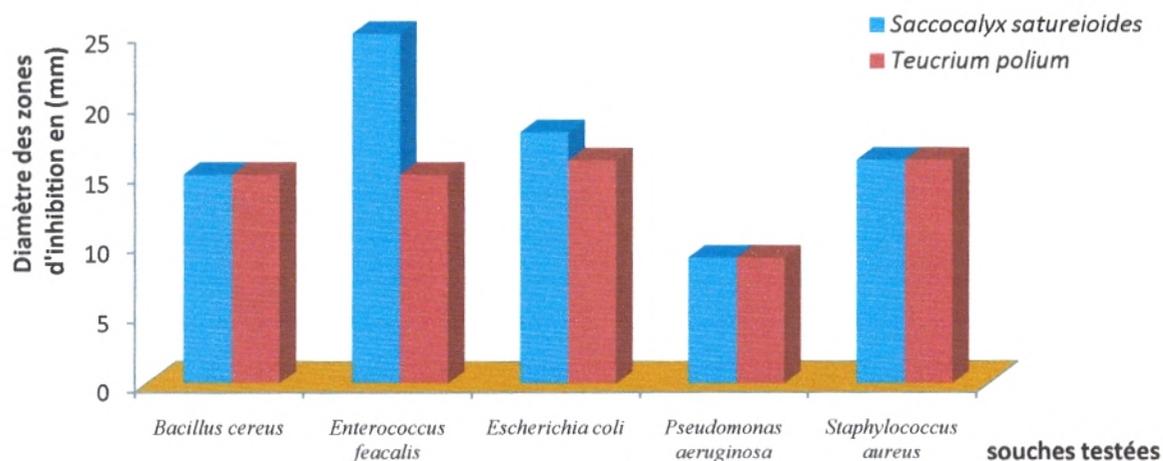
Les résultats obtenus montrent que l'antifongique utilisé réduit fortement le taux de croissance des colonies mycéliennes et a pu entraîner un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 88.1% et 88.0 sur la croissance de *Fusarium oxysporium* et *Aspergillus flavus* respectivement.

Par contre, les souches mycéliennes *Rhizopus stolonifer* et *Penicillium spp* se sont révélées moins sensibles avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 79.6, et 68.0 respectivement.

### VI.3. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

#### VI.3.1. Aromatogramme

Nous rapportons sur la figure 38 les diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles relatives aux souches bactériennes testées.



**Figure 38 :** Diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles relatives aux souches bactériennes testées.

Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 15 mm (Rossi, 2003).

La souche *Pseudomonas aeruginosa* s'est révélée très résistante vis-à-vis des deux huiles essentielles étudiées.

Nous constatons également que l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* a agi de façon active sur la majorité des bactéries testées, avec une zone d'inhibition très remarquable sur *Enterococcus faecalis*, par contre, celle de *Teucrium polium* a révélé une activité antibactérienne faible vis-à-vis de la majorité de ces souches.

### VI.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (C.M.I)

Cette technique consiste à mettre en culture les bactéries sur une gamme d'huile essentielle à concentrations croissantes.

Nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles vis-à-vis des bactéries ayant des zones d'inhibition  $\geq 15$  mm (Tableau 24).

**Tableau 24** : Concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles testées vis-à-vis des bactéries utilisées.

Souches	Concentrations minimales inhibitrices ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	
	Huile essentielle de <i>Saccocalyx satureioïdes</i>	Huile essentielle de <i>Teucrium polium</i>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	2	5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2	5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2	3

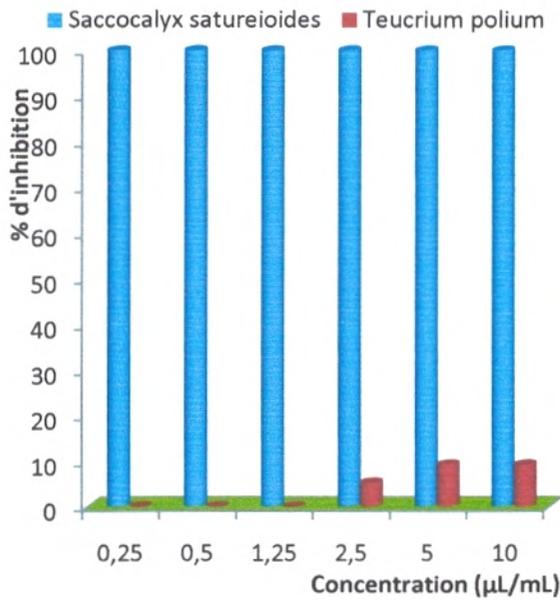
Ces résultats concordent avec ceux obtenus avec l'aromatogramme, une inhibition totale de toutes les souches bactériennes a été observée vis-à-vis de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioïdes*.

L'huile essentielle de *Teucrium polium*, montre un effet inhibiteur faible par rapport à celui de *Saccocalyx satureioïdes*. Les concentrations minimales inhibitrices de cette huile essentielle sont de l'ordre de 3 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), 4 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), pour les souches *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* respectivement, et 5 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) pour les souches *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis*.

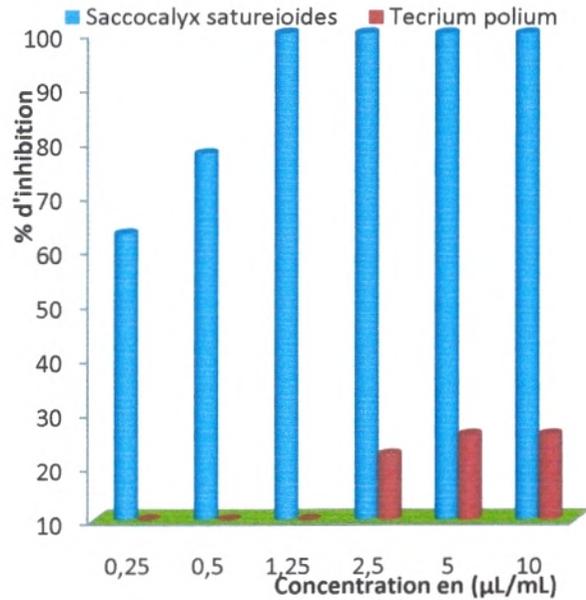
### VI.3.3. Pouvoir antifongique des huiles essentielles

Dans cette partie, nous avons étudié l'activité antifongique de nos huiles essentielles, en déterminant le pourcentage d'inhibition. D'autre part, nous avons déterminé les concentrations fongistatiques et fongicides des huiles essentielles lorsque le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 100%.

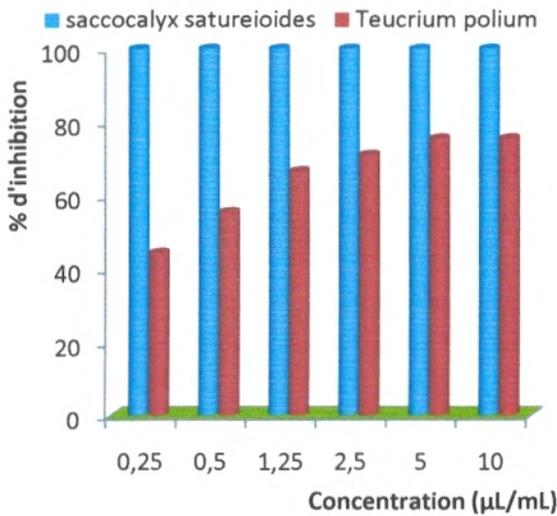
Les résultats de l'essai de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Saccocalyx satureioides* et de *Teucrium polium* sont représentés dans la figure 39.



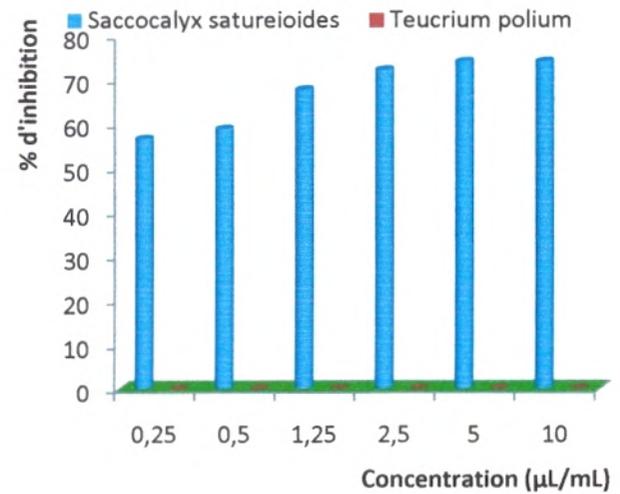
*Fusarium oxysporium*



*Aspergillus flavus*



*Penicillium spp.*



*Rhizopus stolonifer*

**Figure 39** : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur la croissance des souches mycéliennes testées.

Les résultats obtenus montrent que nos huiles essentielles ont des effets divers sur la croissance des moisissures testées.

L'huile essentielle de *Saccocalyx satureioïdes* a pu entraîner un pourcentage d'inhibition de 100% sur la croissance de *Fusarium oxysporium* et *Penicillium spp* à une concentration de 0.25 µL/ mL, cette inhibition totale n'est observée sur la croissance d'*Aspergillus flavus* qu'à partir de la concentration de 1.25µL/ mL.

Nous constatons également que l'effet de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioïdes* sur la croissance de *Rhizopus stolonifer* est un peu moins important par rapport à celui observé sur les autres souches mycéliennes.

Notant que la concentration de 1.25µL/mL de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioïdes* a un effet fongistatique sur la croissance de *Fusarium oxysporium* et *Penicillium spp*, cette concentration est de l'ordre de 2.5 µL/ mL sur la croissance d'*Aspergillus flavus*.

La concentration fongicide de cette huile essentielle sur la croissance de *Fusarium oxysporium* et *Penicillium spp* est de l'ordre de 5 µL/ mL, et de 10 µL/ mL pour *Aspergillus flavus*.

La souche *Penicillium spp* apparut la plus sensible vis-à-vis de l'huile essentielle de *Teucrium polium*, avec un pourcentage d'inhibition de 44.4% à une concentration de 0.25 µL/ mL. Les autres souches sont moins sensibles, et cette huile essentielle est sans effet sur la croissance de *Rhizopus stolonifer*.

#### VI.4. Discussion

Lors de cette étude, les huiles essentielles étudiées ont montré des activités antimicrobiennes variables vis-à-vis des souches testées (bactériennes et fongiques), celle de *Saccocalyx satureioïdes* s'est montrée beaucoup plus active sur toutes les souches microbiennes que l'huile essentielle de *Teucrium polium*.

La souche *Pseudomonas aeruginosa* a montré une résistance importante vis-à-vis des deux huiles essentielles étudiées et des antibiotiques testés.

L'huile essentielle de *Saccocalyx satureioïdes* a pu entraîner des diamètres d'inhibition importants sur la croissance des bactéries utilisées et une concentration minimale inhibitrice (CMI) inférieure à 2µL/mL. Elle a agi de façon très active sur les quatre souches, particulièrement sur *Enterococcus faecalis* et a montré un effet inhibiteur plus important que

celui entraîné par l'amoxicilline-acide clavulanique, le triméthoprime-sulfaméthoxazole et la tétracycline.

Son effet sur *Bacillus cereus* a été plus important que celui de la céfalexine, l'amoxicilline-acide clavulanique et le triméthoprime-sulfaméthoxazole qui n'ont donné aucune zone d'inhibition.

L'huile essentielle de *Teucrium polium* a révélé des diamètres d'inhibition proches de ceux entraînés par le triméthoprime-sulfaméthoxazole et l'amoxicilline-acide clavulanique, mais beaucoup moins importants que les zones d'inhibition données par la céfalexine et la tétracycline.

Les concentrations minimales inhibitrices de cette huile essentielle sont de l'ordre de 3 µL/mL, 4 µL/mL, pour les souches *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* respectivement et 5 µL/mL pour les souches *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis*.

Ces huiles essentielles ont montré une activité sur *S. aureus*, en effet plusieurs études rapportent que les Cocci à Gram (+) sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles que celles à Gram (-) (**Mimica-Dukić et al., 2003**), ce qui est très intéressant puisque cette bactérie est de plus en plus difficile à traiter par les antibiotiques.

L'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* présente, en général, un potentiel antifongique important que celui de l'amphotéricine B, avec un effet fongicide sur la croissance de *Fusarium oxysporium*, *Penicillium spp* et *Aspergillus flavus*.

Par contre, l'huile essentielle de *Teucrium polium* a révélé un pouvoir antimicrobien faible part rapport à celui de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* et de l'antifongique.

L'activité importante de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* est due à sa composition qui est riche en bornéol (23.93%),  $\alpha$ -terpinéol (20.20%) et le thymol (18.01%).

Il a été démontré que les terpènes phénoliques, comme le thymol ; sont souvent utilisés comme antibactériens et antifongiques (**Zambonelli et al., 2004**), et que l'activité antifongique décroît selon le type de fonctions chimiques :

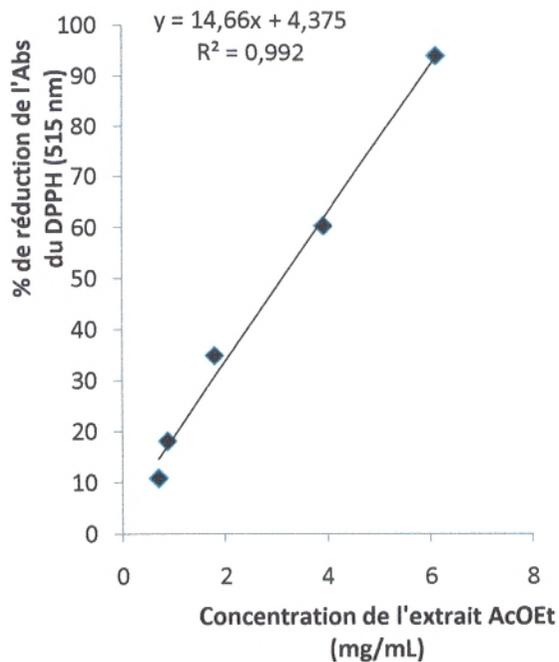
⊕ Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures.

Pour l'huile essentielle de *Teucrium polium*, bien qu'elle soit très riche en D-germacrène (24.98%), en B-germacrène (12.59%), en  $\beta$ -pinène (11.32%) et en carvacrol (8.64%), son effet a été faible part rapport à celui de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* et des antimicrobiens.

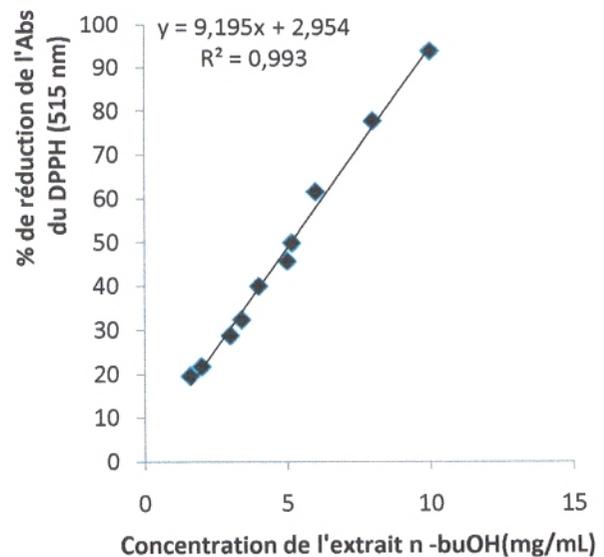
## VII. Pouvoir antioxydant testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH.

Dans le but de déterminer l'activité antioxydante des fractions obtenues pour les trois espèces (phases acétate d'éthyle et n-butanol), on a utilisé la méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

L'essai est basé sur la réduction du DPPH dissout dans du méthanol ce qui cause une diminution de l'absorbance mesurée à 515 nm.



**Figure 40 :** Pouvoir antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle de *S. saturoioides*.



**Figure 41 :** Pouvoir antioxydant de l'extrait n-butanol de *S. saturoioides*.

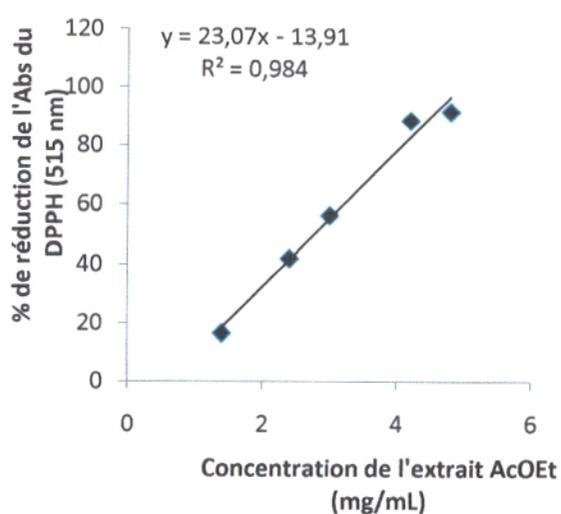


Figure 42 : Pouvoir antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle de *T. polium*.

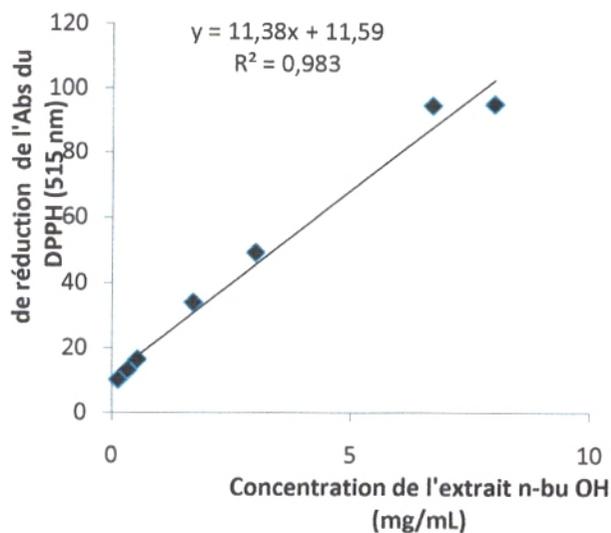


Figure 43 : Pouvoir antioxydant de l'extrait n-butanol de *T. polium*.

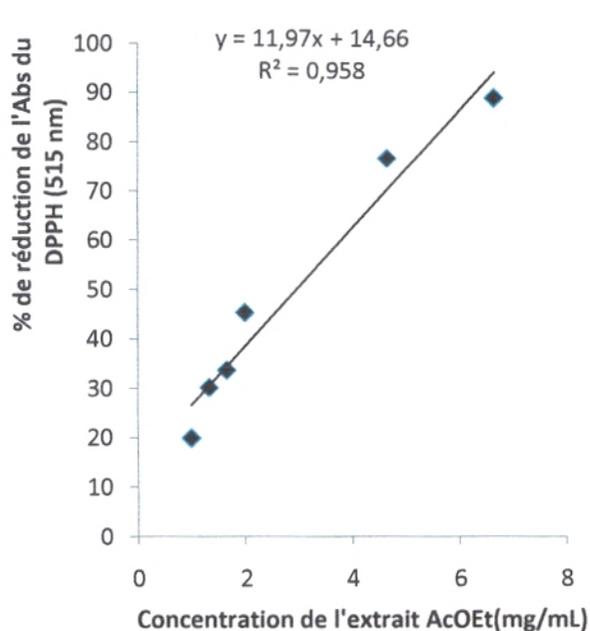


Figure 44: Pouvoir antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle de *S. verbenaca*.

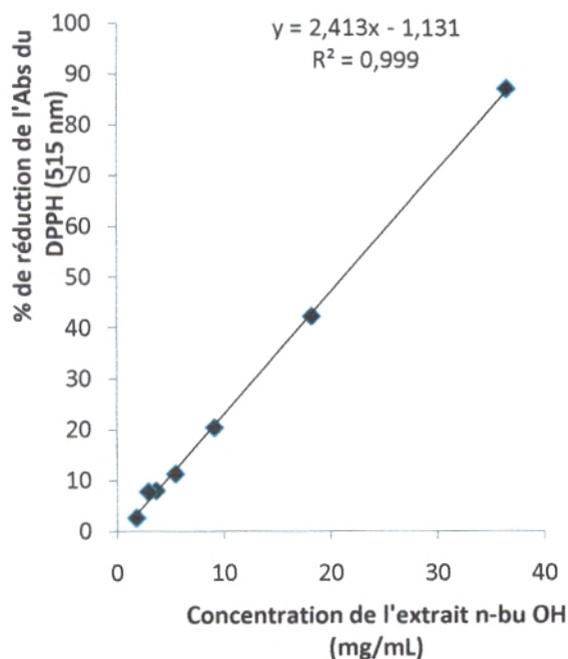
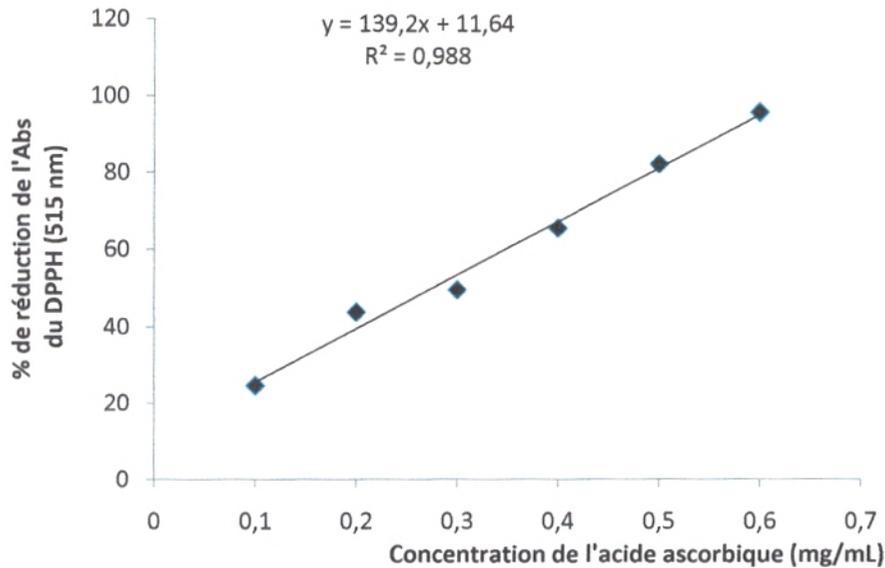


Figure 45 : Pouvoir antioxydant de l'extrait n-butanol de *S. verbenaca*.



**Figure 46** : Représentation des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations en acide ascorbique.

Nous avons souhaité connaître dans cette partie, si nos extraits ont un pouvoir antioxydant important et quelle est la fraction la plus antioxydante ? et de comparer cette activité antioxydante à celle de l'acide ascorbique qui est un antioxydant puissant.

Ainsi, nous avons exprimé l'activité antioxydante de nos fractions en  $EC_{50}$  (Tableau 25), cette dernière définit la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH en solution.

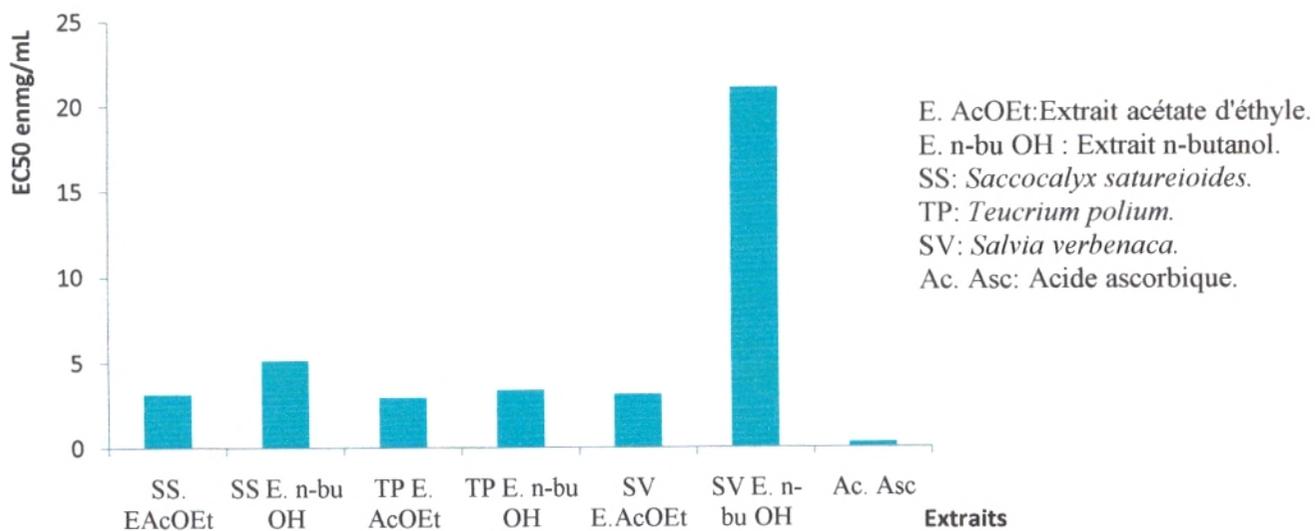
Dans la gamme des concentrations étudiées, l' $EC_{50}$  a été estimée en utilisant la courbe de régression linéaire  $y = a x + b$ , où  $y$  représente le pourcentage de réduction de DPPH et  $x$  la concentration en extrait (acétate d'éthyle, n-butanol, acide ascorbique).

Pour  $y = 50$ , on calcul  $x$  qui donne donc la  $EC_{50}$ .

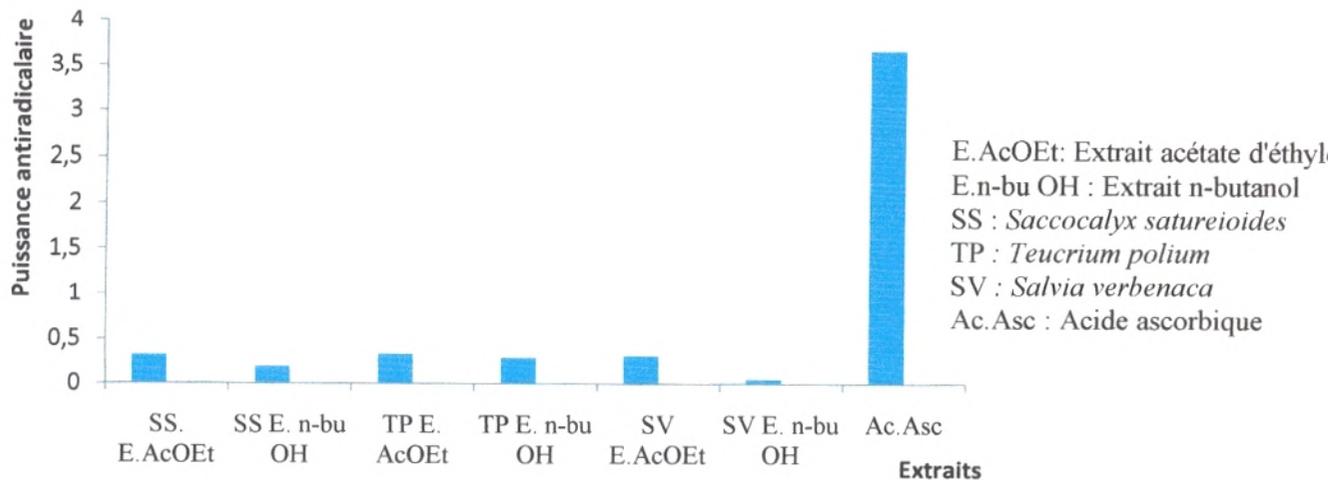
Un autre paramètre utilisé pour exprimer la puissance antiradicalaire ; ARP, il est calculé par la formule :  $1/EC_{50}$ .

**Tableau 25** : EC<sub>50</sub> et puissance antiradicalaire (ARP) des extraits naturels et de l'acide ascorbique.

L'extrait	EC <sub>50</sub> (mg/mL)	ARP
Extrait acétate d'éthyle de <i>Saccocalyx satureioïdes</i>	3.11	0.32
Extrait n-butanol de <i>Saccocalyx satureioïdes</i>	5.11	0.19
Extrait acétate d'éthyle de <i>Teucrium polium</i>	2.95	0.33
Extrait n-butanol de <i>Teucrium polium</i>	3.37	0.29
Extrait acétate d'éthyle de <i>Salvia verbenaca</i>	3.14	0.31
Extrait n-butanol de <i>Salvia verbenaca</i>	21.18	0.047
Acide ascorbique	0.27	3.70



**Figure 47** : EC<sub>50</sub> des extraits étudiés et de l'acide ascorbique.



**Figure 48 :** Puissance antiradicalaire des six extraits étudiés et de l'acide ascorbique.

#### ✓ *Saccocalyx satureioides*

A l'issue des résultats obtenus, et par comparaison du pouvoir antioxydant des deux phases, la concentration nécessaire pour le piégeage de 50% du radical libre DPPH (5.11 mg/mL) donnée par la phase n-butanol est un peu plus importante que celle révélée par la phase acétate d'éthyle (3.11 mg/mL).

#### ✓ *Teucrium polium*

La phase n-butanol possède une  $EC_{50}$  (3.37 mg/mL), plus élevée que celle de la phase acétate d'éthyle (2.95 mg/mL), ce qui signifie une activité antioxydante moins importante que celle de cette dernière.

#### ✓ *Salvia verbenaca*

La différence du pouvoir antioxydant entre les deux phases dans ce cas est très importante. La phase acétate d'éthyle a donné une  $EC_{50}$  de 3.14 mg/mL, environ sept fois moins que celle révélée par la phase n-butanol (21.18 mg/mL), par conséquent une activité antioxydante très faible, de plus si on la compare avec celle de l'acide ascorbique.

#### ✓ Acide ascorbique

L'acide ascorbique est connu par sa propriété antioxydante, il est donc utilisé comme contrôle positif (Frei et al., 1990). Il présente un bon pouvoir antioxydant qui est très

important avec une  $EC_{50}$  de l'ordre de 0.27 mg/mL, donc un bon pouvoir antiradicalaire (3.70)

Les fractions acétate d'éthyle des trois plantes ont donné un pouvoir antioxydant plus important que celui des fractions n-butanol. Ceci vient renforcer ce qu'ils avancent **Fabri et al., 2009** et **Tian et al., 2009**, que les fractions acétate d'éthyle ont un pouvoir antioxydant plus important que les fractions n-butanol.

D'une manière générale, et quel que soit la phase nos espèces possèdent une activité antioxydante très faible en comparaison avec celle de l'acide ascorbique qui est un antioxydant puissant.

# **Conclusion générale**

L'exploitation du potentiel biologique des espèces végétales revêt un intérêt important, ainsi les nouvelles démarches consistent à s'intéresser à la recherche des principes actifs dans les produits naturels d'origines végétales.

Notre travail a porté sur la partie aérienne des trois espèces de la famille des Lamiaceae, une des familles les plus importantes dans la flore de l'Algérie.

Une identification botanique détaillée a été effectuée sur les trois espèces végétales étudiées (*Saccocalyx satureioides*, *Teucrium polium* et *Salvia verbenaca*), suivie d'un examen phytochimique indispensable à la détermination des différentes familles de composés existantes dans la partie aérienne des trois espèces. Ce criblage phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de caractériser les huiles essentielles, les flavonoïdes, les tanins dans la partie étudiée des trois espèces. Les alcaloïdes et les acides gras sont présents en très faible quantité. Les saponosides ont été mis en évidence dans *Saccocalyx satureioides* et dans *Teucrium polium*.

La détermination du rendement en huiles essentielles a montré une richesse de l'espèce *Saccocalyx satureioides* (4.42%), une faible teneur dans l'espèce *Teucrium polium* (0.29%) et des traces d'huile essentielle dans *Salvia verbenaca* (0.09%).

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles des espèces *Saccocalyx satureioides* et *Teucrium polium* a été réalisée par application de la technique chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). Celle de *Salvia verbenaca* n'a pu être déterminée et ceci en raison du très faible rendement.

Pour *Saccocalyx satureioides*, l'analyse de ces huiles essentielles a permis l'identification de 40 composés, et a donné un chromatogramme caractérisé par la présence de trois constituants majoritaires : le bornéol (23.93%), l' $\alpha$ -terpinéol (20.20%) et le thymol (18.01%).

Pour *Teucrium polium*, l'analyse de ses huiles essentielles a permis d'identifier 29 composés, avec une abondance des sesquiterpènes hydrocarbonés (46.86%).

Le D-germacrène est le composé majoritaire puisqu'il représente à lui seul (24.98%).

Les rendements en extraits bruts secs sont de l'ordre de 18.7% pour *Teucrium polium*, 18% pour *Saccocalyx satureioides*, et 17.2% pour *Salvia verbenaca*.

Le dosage des phénols totaux des trois extraits méthanoliques a révélé des teneurs considérables dans *Saccocalyx satureioides* (3.405mg/g) et dans *Teucrium polium* (3.810mg/g), alors qu'elle est quatre fois plus faible dans *Salvia verbenaca* que les deux précédentes (0.845mg/g).

D'autre part, le dosage des flavonoïdes a donné une teneur modérée dans *Teucrium polium* (3.2mg/g) et *Salvia verbenaca* (2.9mg/g) et beaucoup moins importante dans *Saccocalyx satureioïdes* (1.11mg/g). Les analyses par chromatographie sur couche mince des fractions acétate d'éthyle et n-butanol des flavonoïdes correspondantes aux trois espèces étudiées, avec deux systèmes de solvant différents, ont montrés la présence de quelques composés appartenant généralement à deux classes de composés phénoliques dont les flavonoïdes (flavanones et flavones) et les acides phénols (l'acide férulique).

L'extraction sélective des tanins, a donné un rendement de l'ordre de 0.68% dans l'espèce *Teucrium polium*, et de 0.23% et 0.20% dans les deux espèces *Saccocalyx satureioïdes* et *Salvia verbenaca* respectivement. L'analyse par chromatographie sur couche mince a permis de mettre en évidence un certain nombre de composés dont le pyrogallol, l'hydroquinone, le résorcinol, le phloroglucinol et la catéchol, dans les trois espèces étudiées.

Une extraction des saponosides a été effectuée pour les espèces *Saccocalyx satureioïdes* et *Teucrium polium* en raison de leur test positif. Les rendements sont de 1.9% et 2.65% pour les deux espèces *Saccocalyx satureioïdes* et *Teucrium polium* respectivement.

Le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Saccocalyx satureioïdes* et *Teucrium polium* vis-à-vis de quelques souches microbiennes (cinq souches bactériennes et quatre souches fongiques) a permis de montré que l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioïdes* possède un effet antibactérien très important sur la croissance de la souche *Enterococcus faecalis* même par rapport à celui des antibiotiques (amoxicilline-acide clavulanique, la tétracycline et la triméthoprime-sulfaméthoxazole), avec une concentration minimale inhibitrice de 2µL/mL et un pouvoir antifongique plus important que celui de l'amphotéricine B sur la croissance de *Fusarium oxysporium* et *Penicillium spp* avec une concentration fongicide de l'ordre de 5 µL/mL et sur celle d'*Aspergillus flavus* où la concentration fongicide est de l'ordre de 10 µL/mL. Le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *Teucrium polium* s'est révélé faible.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, des fractions acétate d'éthyle et n-butanol correspondantes aux trois espèces étudiées a révélé les valeurs des EC<sub>50</sub> suivantes : 2.95 mg/mL, 3.11 mg/mL, 3.14 mg/mL pour les phases acétate d'éthyle de *Saccocalyx satureioïdes*, *Teucrium polium* et *Salvia verbenaca* respectivement, ce pouvoir est plus important que celui donné par la phase n-butanol. Ce pouvoir antioxydant a été comparé par la suite à celui de l'acide ascorbique qui est un antioxydant puissant.

Nos résultats ont été exprimés aussi par la puissance antiradicalaire, ce qui nous a permis de classer les fractions étudiées comme suite :

Nos résultats ont été exprimés aussi par la puissance antiradicalaire, ce qui nous a permis de classer les fractions étudiées comme suite :

ARP (acide ascorbique) > ARP (AcOEt de *Teucrium polium*) > ARP (AcOEt de *Saccocalyx satureioïdes*) > ARP (AcOEt de *Salvia verbenaca*) > ARP (n-bu OH de *Teucrium polium*) > ARP (n-bu OH de *Saccocalyx satureioïdes*) > ARP (n-bu OH de *Salvia verbenaca*).

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substance de source naturelle biologiquement active.

Des essais complémentaires seront nécessaires comme :

- Un fractionnement des huiles essentielles de *Saccocalyx satureioïdes*, *Teucrium polium* et l'étude de l'effet des composés majoritaires ;
- Un fractionnement, une purification et une identification des molécules isolées des phases acétate d'éthyle et n-butanol des espèces étudiées par diverses techniques chromatographiques, dont la chromatographie liquide haute performance (HPLC analytique et préparative) et des méthodes spectrales adaptées de RMN s'imposent.

Toutefois, il serait intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques sur ces espèces afin de d'isoler les molécules responsables des activités observées, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.

D'ores et déjà, nous venons de prouver une fois de plus, que les plantes médicinales regorgent d'énormes potentialités thérapeutiques vérifiables par des méthodes simples et fiables sur le plan scientifique.

Nous invitons enfin les populations à une utilisation à bon escient des plantes médicinales, car un usage abusif de ces plantes conduira sans doute à une raréfaction, voire leur totale disparition.

# **Littérature citée**

**Aburjai T., Hudaib M., Cavrini V. ; (2006).**

Composition of the Essential Oil from Jordanian Germander (*Teucrium polium* L.).  
*Journal of Essential Oil Research* ; 18; 97-99.

**Adams R. P. ; (1995).**

In identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography (Mass Spectroscopy Allured). Publishing : Carol Stream, IL.

**Agnihotri A., Khatoon S., Shanta M. ; (2003).**

Pharmacognostical evaluation of an antioxidant plant-*Acorus calamus* linn.  
*Nat. Prod. Sci.* ; 9(4) ; 264-269.

**Ahamet S. ; (2003).**

Etude phytochimique des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (*Balanitaceae*).  
Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie.  
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Bamako. Mali.

**Aissaoui A., El-Hilaly J., Israili Z. H., Lyoussi B. ; (2008).**

Acute diuretic effect of continuous intravenous infusion of an aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. in anesthetized rats.  
*Food Chemistry* ; 115 ; 89-95.

**Akinmoladun A. C., Ibukun E. O., Afor E., Akinrinlola B. L., Onibon T. R., Akinboboye A. O., Obuotor E. M., Farombi E. O. ; (2007).**

Chemical constituents and antioxidant activity of *Alstonia boonei*.  
*African Journal of Biotechnology* ; 6(10) ; 1197-1201.

**Arpino P., Prévot A., Serpinet J., Tranchant J., Verniol A et Witier P. ; (1995).**

Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse.  
Ed. Masson. Paris.

**Ashnagar A., Gharib N. N., Foroozafar S. ; (2007).**

Isolation and Identification of the Major Chemical Components Found in the Upper Parts of *Teucrium Polium* Plants Grown in Khuzestan Province of Iran.

*Chinese Journal of Chemistry*; 25; 1171-1173.

**Atik Bekkara F., Benhammou N., Panovska K. T. ; (2008).**

Biological activity of essential oil and the extract of the phenolic compounds of *inula viscosa* of the area of Tlemcen (Algeria)

*Advances in Food Science (AFS)* ; 30 ; 132-139.

**BACIS (Boelens Aroma Chemical Information Service) ; (1999).**

ESO 2000, the complete database of essential oils. M. H. Boelens : the Netherlands.

**Bahar A., Al-Howiriny T., Al-Rehaily A. J., Mossa J. S. ; (2004).**

Verbenacine and salvinine: two new diterpenes from *Salvia verbenaca*.

*Journal of Biosciences* ; 59(2); 9-14.

**Bahorun T. ; (1997).**

Substances naturelles activités : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle.

Ed. AMAS. *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*; 83-94.

**Baumann J., Von B. F., Wu G. O ; (1980).**

Flavonoids and related compounds as inhibition of arachidonic acid.

*peroxidation.prostaglandin* ; 20(4); 627-639.

**Bedira E., Tasdemira D., Čalis T, Zerbeb O., Sticherb O. ; (1999).**

Neo-clerodane diterpenoids from *Teucrium polium*.

*Phytochemistry* ; 51 ; 921-925.

**Bekkara F., Jay M., Viricel M. R., Rome S. ; (1998).**

Distribution of phenolic compounds within seed and seedling of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudation .

*Plants and Soil* ; 203 ; 27-36.

**Bekhechi C., Atik Bekkara F., Abdelouahid D.E. Tomi F., Casanova J. ; (2007).**

Composition and antibactériale activity of the essential oil of *Thymus fontanesii* Bioss. et Rent. from Algeria.

*J. Essent. Oil Res.* ; 19 ; 594-596.

**Belarbi M., Vassilev N., Mashev N. ; (2007)**

Contribution to the investigation of food and antioxidant value of acorns of various oak species in the Algerian region.

*Oxidation Communication* ; 29(3); 35-42

**Bel Hadj Salah K., Mahjoub M. A. , Ammar S., Michel L., Millet-Clerc J., Chaumont J. P., Mighri Z., Mahjoub A. ; (2006).**

Antimicrobial and antioxidant activities of the methanolic extracts of three *Salvia* species from Tunisia.

*Natural Product Research* ; 20(12); 1110 – 1120.

**Bendimerad N., Taleb Bendiab S. A., Benabadji A. B., Fernandez X., Valette L., Lizzani-Cuvelier L. ; (2005).**

Composition and antibacterial activity of *Pseudocytisus integrifolius* (Salisb.) Rehder essential oil from Algeria.

*J. Agric. Food Chem.*; 53; 2947-2952.

**Bendimerad N., Taleb Bendiab S. A., Breme k. Fernandez X. ; (2007).**

Essential oil composition of aerial parts of *Sinapis arvensis* L. from Algeria.

*J.E.O.R.*, 19, 206-208 (May/June)

**Benhammou N., Atik Bekkara F., Panovska K. T. ; (2007)**

Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* Desf.

*Advances in Food Science (AFS)* ; 29(3) ; 155-161

**Benhammou N., Atik Bekkara F., Panovska K. T. ; (2008).**

Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts.

*African Journal of Pharmacy and Pharmacology* ; 2 ; 022-028

**Beniston TN et WS. ; (1984).**

Fleurs d'Algérie.

Ed. Entreprise Nationale du livre. Alger ; 88.

**Biglari F., Alkarkhi A. F. M., Easa A. M. ; (2008).**

Antioxydant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran.

*Food Chemistry* ; 107; 1636-1641.

**Biondi D.M., Madani S., Zedam A.G., Giuseppe R. ; (2006).**

Essential oil of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss et Dur.

*Flavour and Fragr. J.* ; 2; 546-548

**Bonnier G. ; (1990).**

La grande flore en couleurs.

Ed. Belin. Paris. 4 tomes, 1401p+ index ; 913-914.

**Bounatirou S., Smiti S., Miguel M. G., Flleiro L., Rejeb M. N., Neffati M., Costa M. M., Figueiredo A. C., Barosso J. G., Pedro L. G. ; (2007).**

Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link.

*Food Chemistry* ; 105; 146-155.

**Bourrel C. ; (1993).**

Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées.

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Biochimie. Institut National Polytechnique de Toulouse. France.

**Boyd D., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S., McAnalley B. ; (2003).**

Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé.

*Gluc Science & Nutrition* ; 4(6) ; 7.

**Brada M., Mohamed B., Michel M., Annabelle C. ; (2007).**

Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie.

*Biothnol. Argon. Soc. Environ.* ; 11(1) ; 3-7.

**Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. ; (1995).**

Use of a free radical method to evaluate antioxydant activity.

*Lebensmittel- Wissenschaft and Technology* ; 28 ; 25-30.

**Bruneton J. ; (1993).**

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.

2<sup>ème</sup>Ed. Tec. & Doc. Eds. Lavoisier. Paris ; 111-265.

**Bruneton J. ; (1999).**

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.

3<sup>ème</sup>Ed. Tec. & Doc. Eds. Lavoisier. Paris ; 199-388.

**Bu-Abbas A., Clifford M. N., Ioannides C., Walker R.; (1995).**

Stimulation of rat hepatic UDPglucuronosyl transferase activity following treatment with green tea.

*Food chem. Toxicol.* ; 33(1) ; 27-30.

**Carré P. ; (1953).**

Précis de technologie et de chimie industrielle.

Ed. Ballière JB et fils, T3.

**Cavé A. ; (1993).**

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.

2<sup>ème</sup> Ed. Tec. et Doc. Ed. Lavoisier, Paris ; 274-285.

**Cavin A. ; (1999).**

Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : *Tinospora crispa* (Ménispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneandra* (annonacées).

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Biochimie, Université de Lausanne. Suisse.

**Chakraborty M. et Mitra A. ; (2008).**

The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera mesocarp*.

*Food Chemistry* ; 107; 994-999.

**Chaumont J. P., Leger D. ; ( 1989).**

Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure –activité.

*Plant Med. Phyto.* ; 23(2) ; 124-126.

**Cu J.Q. ; (1990).**

Extraction de compositions odorantes végétales par divers solvants organiques.

Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Biochimie. Institut Nationale Polytechnique. Toulouse, France.

**Daferera D.J., Ziogas B.N., Polissiou M.G. ; (2000).**

GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungi toxicity on *Penicillium digitatum*.

*J. Agric. Food Chem.* ; 48; 2576-2581.

**Da Silva E. J. A., Oliveira A. B., Lapa A.J. ; (1994).**

Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice.

*J. Pharm. Pharmacol.* ; 46(2) ; 118-122.

**Davies N. W. ; (1990).**

Gas chromatographic retention indexes of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phases.

*J. Chromatogr.* ; 503 ; 1-24.

**Debuigue G. ; (1984).**

Larousse des plantes qui guérissent.

Ed. Larousse. Paris ; 5-6.

**Fandohan P., Gbenou J.D., Gbolofin B. ; (2004).**

Effect of essential oils on the Growth of *Fusarium verticilloides* and Fumonisin Contamination in Corn.

*J. Agric. Food Chem.* ; 52; 6824-6829.

**Farombi E.O. ; (2003).**

African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents.

*African Journal of Biotechnology* ; 2(12); 662-671.

**Frei B., Stocher R., Angletterre L., Ames B. N. ; (1990).**

Ascorbate : Antioxydant le plus efficace dans le plasma sanguine humain.

*Biol. D'Exp. Médi. D'Adv.* ; 264 ; 63-155.

**Furukawa M., Yoshimoto T., Ochi K., Yamamoto S. ; (1984) .**

Studies on arachidonate 5-lipoxygenase of rat basophilic leukaemia cells.

*Biochim. Biophys. Acta.* ; 795(3); 458-465.

**Galati E. M., Monforte M .T., Kirjavainen S., Forestieri A. M., Trovato A., Tripodo M. M. ; (1994).**

Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I) : anti-inflammatory and analgesic activity.

*Farmaco* ; 40(11) ; 709-712.

**Ganou L. ; (1993).**

Contribution a l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles.

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Biochimie. Institut National Polytechnique de Toulouse. France.

**Girotti-Chanu C.; (2006).**

Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la Cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis*.

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Biochimie. Ecole Doctorale Interdisciplinaire Science- Santé. Lyon. France.

**Grzegorzcyk I., Matkowski A., Wysokińska H. ; (2007).**

Antioxidant activity of extracts from *in vitro* cultures of *Salvia officinalis* L.  
*Food Chemistry* ; 104 ; 536-541.

**Guignard J. L. ; (2001).**

Botanique systématique moléculaire.  
Ed. Masson. Paris ; 105.

**Guignard J. L. ; (1979).**

Abrégé de biochimie végétale.  
2<sup>ème</sup> Ed. Masson. Paris ; 84.

**Hadi M. ; (2004).**

La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques.  
Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Pharmacochimie. Université Louis Pasteur. Strasbourg I.

**Hakan Ö., Münevver S., Medine G., Ahmet A., Fikrettin Ş., Atalay S., Hamdullah K., Ozlem B. ; (2007).**

Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of *Hippomarathrum microcarpum* (Bieb.) from Turkey.  
*J. Agric. Food Chem.* ; 55 ; 937-942.

**Harborne J. B. and Williams C. A. ; (2000).**

Advances in flavonoid researchs since 1992.  
*Phytochemistry* ; 55(6) ; 481-504.

**Hasani P., Yasa N., Mohammadirad A., Dehghani G., Abdollahi M. ; (2007).**

*In vivo* antioxidant potential of *Teucrium polium* as compared to  $\alpha$ -tocopherol.  
*Acta Pharm.* ; 57 ; 123-129.

**Hassan M. M. A., Muhtadi F. J., Al-Badre A. ; (1979).**

Antispasmodic GLC-mass spectrometry of *Teucrium polium* L.essential oil.

*J. Pharm. Sci.* ; 68 ; 800-801.

**Hemmerle H., Burger H., Bellow P., Schubert G., Rippel R., Chindler S. P.W. ; (1997).**

Chrogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives : Novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase.

*Journal of Medicinal Chemistry* ; 40 ; 137-145.

**Hennebelle T. ; (2006).**

Investigation chimique, chimio taxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées).

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologie de Lille-Lille1, Ecole Doctorale Sciences de la Matière du Rayonnement et de l'Environnement. France.

**Hernandez O. L .R. ; (2005).**

Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale.

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur. Sciences des Agro ressources. Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques. Toulouse. France.

**Holeman M., Berrada M., Bellakhdar J., IlidrissiA., Pinel R. ; (1985).**

Comparative chemical study on essential oils from *Salvia officinalis*, *S. aucheri*, *S.verbenaca* , *S. phlomoides* and *S.argente* .

*Chim. Org. Struct.* ; 55(3); 143-8

**Igor Passi L. B. ; (2002).**

Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxylodes* Lam. (*Rutaceae*).

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Bamako. Mali.

**Iserin P. ; (2001).**

Larousse Encyclopédie des plantes médicinales.

Ed. Larousse ; 10-132.

**Jacob M., Pellecuer J., Tomei R. ; (1979).**

Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique.

*Rivista Italiana EPPOS.* ; 11 ; 26-30.

**Jennings W., Shibamoto T. ; (1980).**

An qualitative analysis of flavor and fragrance volatils by Glass Capillary Gas chromatography.

Academic Press. New York.

**Joffin J. N., Leyral G ; (1996).**

Microbiologie technique : dictionnaire des techniques.

*Centre régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine* ; 131.

**Joulain D., König W. A. ; (1998).**

The atlas of spectra data of sesquiterpene hydrocarbhone. E. B.-Verlag : Hambourg.

**Joulain D., König W. A., Hochmuth D. H. ; (2001).**

Terpinoids and related constituents of essential oils.

Library of Mass Finder 2.1.

**Kabouche A., Kabouche Z., Ghannadi A., Sajjadi S. E. ; (2007).**

Analysis of the Essential Oil of *Teucrium polium* ssp.aurasiacum from Algeria.

*Journal of Essential Oil Research* ; 19 ; 44-46.

**Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., Benlabeled K. ; (2005).**

Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essentials oils from Algeria.

*The international J. Of Aromatherapy* ; 15 ; 129-133.

**Kamel A. et Sandra P. ; (1994).**

Gas Chromatography-Mass Spectrometry analysis of the volatil oil of tow *Teucrium polium* varieties.

*Biochemical Systematics and Ecology* ; 22( 5); 529-532.

**Kamm W., et Dionisi F. ; (2001).**

Analysis of steryl in cocoa butter by on-line liquid chromatography-gas chromatography.

*J. of Chromatography A* ; 918 ; 341-349.

**Kanko C., Swaliho B. E. H, Kone S., Koukoua G., N'Guessan Y. T. ; (2004).**

Etude des propriétés physico-chimique des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*.

*C. R. Chimie* ; 7 ; 1039-1042.

**Kareru P. G., Keriko J. M., Gachanja A. N., Kenji G. M. ; (2008).**

Direct detection of triterpenoid saponins in medicinal plants.

*African Journal of Traditional* ; 5 (1); 56-60.

**Kato R., Nakadate T., Yamamoto S., Sugimura T. ; (1983).**

Inhibition of 12-Otetradecanoylphorbol 13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin: possible involvement of lipoxygenase inhibition.

*Carcinogenesis* ; 4(10); 1301-1305.

**Keita A. ; (1993).**

Terpènes de l'huile essentielle des inflorescences de « Ce Kala » *Cymbopogon anteus* chiov.

*Médecine d'Afrique Noir* ; 40(4) ; 423-428.

**Keïta R. ; (2002).**

Etude de l'activité antifongique et antioxydante de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles.

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie. Faculté de Médecine et de Pharmacie Bamako. Mali.

**Kelen M., Tepe B. ; (2007).**

Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish.

*Flora Bioresour. Technol.* ; 10 ; 758-764.

**Kelly E. H., Anthony R. T., Dennis J. B.; (2002).**

Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.

*Journal of Nutritional Biochemistry* ; 13 ; 572-584.

**Kim D. O., Chun O. K., Kim Y. J., Moon H. Y., Lee C. Y.; (2003).**

Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums.

*J. Agric. Food Chem.* ; 51; 6509-6515.

**Kovacevic N. N., Lakusic B. S., Ristic M. S. ; (2001).**

Composition of the essential oil of seven *Teucrium* species of Serbia and Montenegro.

*J. Essent. Oil Res.* ; 13; 163-165.

**Kwon H. C., Jung C. M., Shin C. G., Lee J. K. Choi S.U., Kim S.Y., et al. ;(2000).**

A new coffeoyl quinic acid from *Asterscaber* and its inhibitory against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) integrase.

*Chemical and pharmacology Bulletin* ; 48; 1796-1798.

**Landolfi R., Mower R.L., Steiner M. ; (1984).**

Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations.

*Biochemical. Pharmacology* ; 33(9) ; 1525-1530.

**Laouer H., Akkal S., Debarnot C., Canard B., Meierhenrich U.J., Baldovini N. ; (2006).**

Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur.

*Natural Product Communications* ; 1(8); 645-650.

**Larousse (2001).**

Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparation, soin.

**Lasker J. M., Huang M. T., Conney A. H. ; (1984).**

*In vitro* and *in vivo* activation of oxidative drug metabolism by flavonoids.

*J. pharmacol. exp. Ther.* ; 229(1) ; 162-170.

**Lea A. G. H. ; (1978).**

The phenolics of ciders : oligomeric and polymeric procyanidins.

*J. Sci. Food and Agr.* ; 29 ; 471-479.

**Leong L. P., Shui G. ; (2002).**

An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets.

*Food Chemistry* ; 76 ; 69-75.

**Lesueur D., de Rocca Serra D., Bighelli D., Hoi T. M., Ban N. K., Thai T. H., Casanova J. ; (2007).**

Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Michelia faveolata* Merrill ex Dandy from Vietnam,

*Flavour and Fragrance Journal* ; 22 : 317 – 321.

**Linden G. et Lovient D. ; (1994).**

Biochimie agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production agricole.

Ed. Masson. Paris ; 104-109.

**Liu H., Qiu N., Ding H., Yao R. ; (2008).**

Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or foods uses.

*Food Research International* ; 12(12) ; 52-59.

**Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V., Biro L. ; (2003).**

The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.

*Acta Biologica Szegediensis* ; 47 ; 119-125.

**Mc Lafferty F. W., Stauffer D. B. ; (1989).**

The Wiley NBS Registry of Mass Spectral Data.

J. Wiley & Sons. New York. .

**Medić-Šarić M., Jasprica I., Smolčić-Bubalo A., Mornar A. ; (2004).**

Optimization of Chromatographic Condition in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids.

*Croatica Chimica Acta* ; 77; 361-366.

**Memelink J., Verpoort R., Kigine J. W. ; (2001).**

Organisation of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism.

**Miguel G., Simões M., Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. J., Carvalho. L.; (2004).**

Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespitius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*.

*Food Chemistry* ; 8 ; 183-188.

**Mimica-Dukić N., Božin B., Soković M., Mihajlović B., Matavulj M. ; (2003).**

Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essentials oils.

*Planta Medica* ; 69 ; 413-419.

**Mucsi I., Pragai B. M. ; (1985).**

Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids.

*Experientia* ; 41(7) ; 930-931.

**Nébié R. H.C., Rigobert T.Y., André B., Faustin S. S. ; (2004).**

Composition chimique des huiles essentielles d'*Agregatum conyzoides* du Burkina Faso.

*C. R. Chimie* ; 7; 1019-1022.

**Negre D. ; (1999).**

Le guide du jardinier, Plantes aromatiques. Koeneman verlagsells.

**Nishino H., Naito E., Iwashima A., Tanaka K., Matsuura T., Fujiki H., Sugimura T. ;(1984).**

Interaction between quercetin and calcium-calmodulin complex: possible mechanism for anti-tumor-promoting action of the flavonoid.

*Gann.*; 75(4) : 311-16.

**Okwu D. E. ; (2004).**

Phytochemicals and vitamin content of indigenous spices of Sooutheastern Nigeria.

*J. Sustain. Agric. Environ.* ; 6(1) ; 30-37

**Okwu D. E. et Josiah C. ; (2006).**

Evaluation of the chemical composition of two Nigerian medicinal plants.

*African Journal of Biotechnology* ; 5(4) ; 357-361.

**Ono K., Nakane H., Fukushima M., Chermann J. C., Barre-Sinoussi F. ; (1990).**

Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases.

*Eur. J. Biochem.* ; 190(3) ; 469-476.

**Ouraïni D., Agoumi A., Ismaïli M. A., Alaoui K., Cherrah Y., Alaoui M. A., Belabbas M. A. ;(2007).**

Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparé aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques.

*Phytothérapie* ; 1 ; 6-14.

**Özyurt D., Demirata B., Apak R. ; (2007).**

Determination of total antioxidant capacity by a new spectrophotometric method based on Ce (IV) reducing capacity measurement.

*Talanta* ; 71 ; 1155-1165.

**Padrini F., Lucheroni M. T. ; (1996).**

Le grand livre des huiles essentielles: Guide pratique pour retrouver vitalité, bien être et beauté avec les essences et l'aromassage énergétique avec plus de 100 photographies.

Ed. De Vecchi ; 15.

**Paris M., Hurabielle M. ; (1981).**

Abrégé de matière médicales" pharmacognosie". Tome 1. Généralités, morphologie.

Ed. Masson. Paris ; 182-216.

**Paupardin C., Leddet C., Gautheret R. ; (1990).**

Genetics, selection and multiplication. Amelioration of *Artemisia* species (*Artemisia ubelliformis* and *E. genipi*) by meristem culture.

*J. Jap. Bot.* ; 65 ; 33.

**Pellecuer J., Roussel J. L, Andary C. ; (1980).**

Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles.

*Rivista Italiana Essenzo (EPPOS)* ; 23 ; 45-50.

**Peyrin-Biroulet L., Barraud H., Petit-Laurent F., Ancel D., Watelel J., Chone L., Hudziak H., Bigard M –A., Bronowicki J-P. ; (2004).**

Hépto toxicité de la phytothérapie : données cliniques, biologiques, histologiques et mécanismes en cause pour quelques exemples caractéristiques.

*Gastroenterol Clin. Biol.* ; 28 ; 540-550.

**Pibiri M. C. ; (2006).**

Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles .Thèse présentée à la Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit Institut des Infrastructures, des Ressources et de l'Environnement section d'architecture pour l'obtention du grade de Docteur Es-Sciences. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne. Suisse.

**Pitarokili D., Tzakou O., Loukis A. ; (2006).**

Essential oil composition of *Salvia verticillata*, *S.verbenaca*, *S.glutinosa* and *S.candidissima* growing wild in Greece.

*Flavour and Fragr. J* ; 21 ; 670-673.

**Quezel P. et Santa S. ; (1963).**

Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

Tome II. Ed. C.N. R. S. Paris ; 781-799.

**Rahimtula A.D., Zachariah P.K., O'Brien P.J. ; (1977).**

*Biochem.* ; 164 ; 473-475.

**Rasekh H. R., Khoshnood-Mansourkhani M. J., Kamalinejad M. ; (2001).**

Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats.

*Fitoterapia* ; 72; 937-939.

**Read M. A. ; (1995).**

Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents Vascular.

*Am. J. Pathol.* ; 147(2) ; 235-237.

**Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Regeat F. ; (1996).**

Intérêt nutritionnel des flavonoïdes.

*Méd. Nut.* ; 32(1) :17-27.

**Reverchon E. ; (1997).**

*J. Supercrit, fluids* ; 10 ; 1-38.

**Richard H. ; (1992).**

Epices et herbes aromatiques.

Eds. Tec. et doc. Lavoisier. Paris. E.N.S.I.A- Massy Cedex. 54-62.

**Robinson W. E., Cordeiro M., Abdel-Malek S., Jia Q., Chow S. A., & Reinecke M. g. ; (1996).**

Dicaffeoylquinic acid inhibitors of human immunodeficiency virus integrase : inhibition of the core catalytic domain of human immunodeficiency virus integrase.

*Molecular Pharmacology* ; 50 ; 846-855.

**Sağdaç O. ; (2003).**

Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols.

*Lebensm- Swiss. U.-Technol.*; 36; 467-473.

**Samarth R. M., Panwar M., Kumar M., Soni A., Kumar M., Kumar A. ; (2008).**

Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts.

*Food Chemistry* ; 106 ; 868-873.

**Scalbert A. ; (1991).**

Antimicrobial properties of tannins.

*Photochemistry* ; 30 ; 3875-3883.

**Sekiya K. et Okuda H. ; (1982).**

Selective inhibition of platelet lipoxygenase by baicalein.

*Biochim. Biophys. Res. Commun* ; 105(3) ; 1090-1095.

**Selvakumar G., Saha S., Kundu S. ; (2007).**

Inhibitory activity of pine needle tannin extracts on some agriculturally resourceful microbes.

*Indian J. Microbial.* ; 47 ; 267-270.

**Simonnet X., Gaudin M., JacquemettazP., Plantini U., Rey C. ; (2006).**

Stade phénologique et qualité des hampes florales du genépi blanc.

*Revue Suisse Vitic. Arbortic.* ; 38(3) ; 189-193.

**Singh R., Sawhney S. K. ;(1988).**

Advances in frontier areas of Plant Biochemistry.

*Prentice Hall in India Private Ltd* ; New Delhi ; 487.

**Singleton V. L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R. M.; (1999).**

Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent.

*Methods in Enzymology* ; 29 ; 152-172.

**Spedding G., Ratty A., Middleton E. J. ; (1989).**

Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids.

*Antivir. Res.* ; 12(2) ; 99-110.

**Süzgeç S., Meriçli A. H., Houghton P.J., Çubukçu B. ; (2005).**

Flavonoids of *Helichrysum compactum* and their antioxidant and antibacterial activity.

*Fitoterapia* ; 76 ; 269-272.

**Svoboda K. P. ; ( 2003).**

Investigation of volatile oil gland of *satureja hortensis* L. (Summer savory) and phytochemical comparison of different varieties.

*Int. Jour. Arom.* ; 13 (4) ; 196-202.

**Thoppil J. E., Miniya J., Tajo A., Deena M. J. ; (2001).**

Antimicrobial activity of *Teucrium polium* plectranthoides Gambel essential oil.

*J. Nat. Remedies* ; 1 ; 155-157.

**Trease E., Evans W. C. ; (1987).**

Pharmacognosy. Billiare. Tindall.

London 13 Edn ; 61-62.

**Tsai P-J., Wu S-C., Cheng Y-K. ; (2008).**

Role of polyphenols in antioxidant capacity of napiergrass from different growing seasons.

*Food Chemistry* ; 106 ; 27-32.

**Ultee A., Kets E. P. W., & Smid E. J. ; (1999).**

Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*.

*Applied and Environmental Microbiology* ; 45 ; 65-75.

**Venderjagt T. J., Ghattas R., Venderjagt D. J., Crossey M., Glew R. H. ; (2002).**

Comparisan of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico.

*Life Sciences* ; 70 ; 1035-1040

**Viaud H. ; ( 1993).**

Distillateur thérapeutique naturelles -GNOMA.

**Viollon C., Chaumont J. P. ; ( 1994).**

Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*.

*Mycopathologia* ; 128(3) ; 151-153.

**Wang H., Zhao M., Yang B., Jiang Y., Rao G. ; (2008).**

Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities.  
*Food Chemistry* ; 107 ; 1399-1406.

**Wang S.-Y., Chen P.-F., Chang S.-T. ; (2005).**

Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*cinnamomum osmophleoum*) leave against wood decay fungi.  
*Bioresources. Technology* ; 96 ; 813-818

**Wichtl M., Anton R. ; (1999).**

Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique, officinale, science et thérapeutique.  
*Ed.Tec. & Doc.*

**Wilsmen P. K., Spada D. S., Salvador M. ; (2005).**

Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems.  
*J. Agric. Food Chem.* ; 53(12) ; 4757-4761.

**Wong S. P., Leong L. P., Koh J. H. W. ; (2006).**

Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants.  
*Food Chemistry* ; 99 ; 775-783.

**Woodman O. L., Meeker W.F., Boujaoude M. ; (2005).**

Vasorelaxant and antioxidant activity of flavonols and flavones: structure-activity relationships.  
*J. Cardiovasc. Pharmacol.* ; 46(3) ; 302-309.

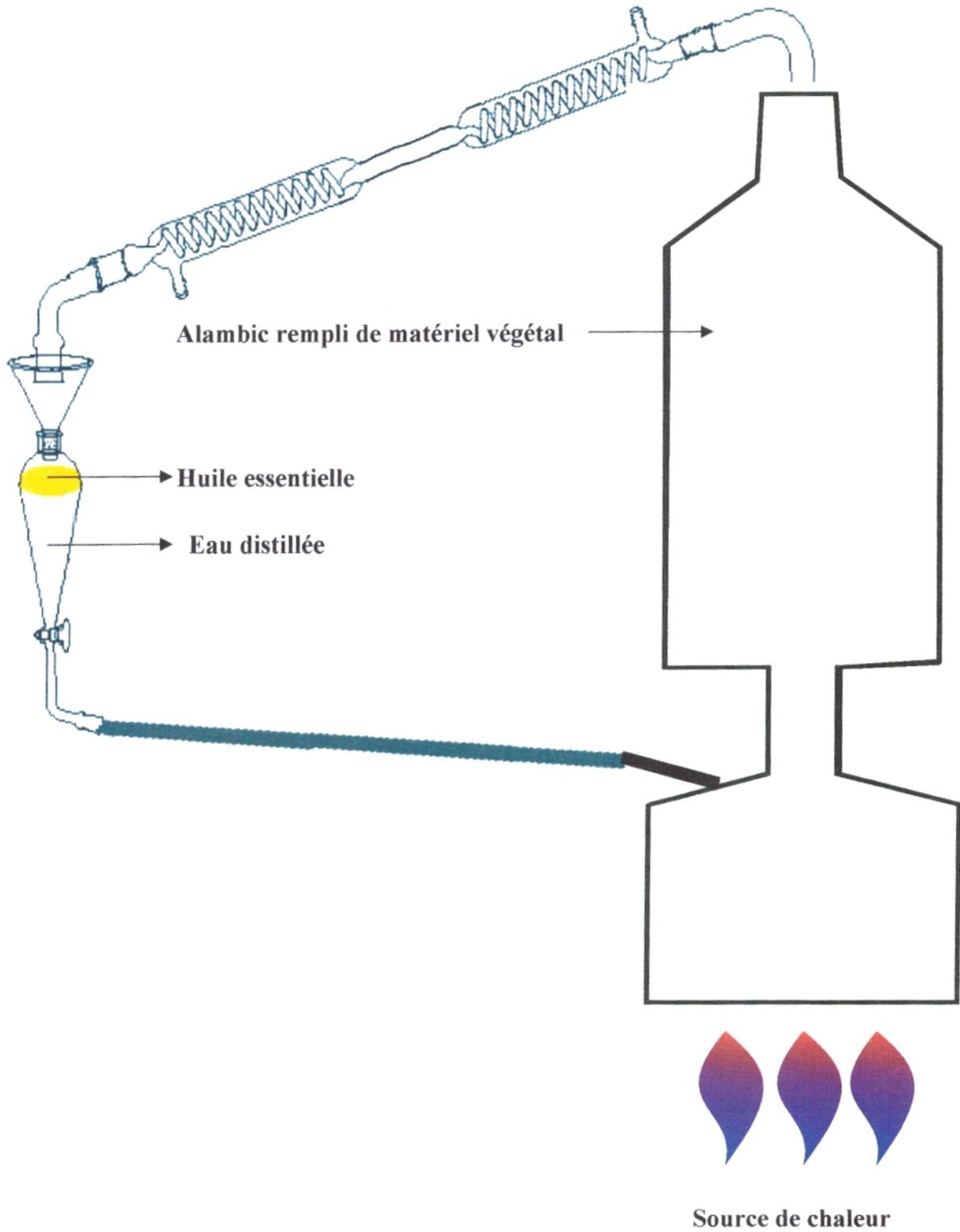
**Zambonelli A., D'Aurelio A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A ; (2004).**

Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymus vulgaris* L.  
*J. Essent. Oil. Res.* ; 16(1) ; 69-74.

**Zhao G. R., Jun Xiang Z., XiangYe T., -Jin Yuan Y., Xin Guo Z. ; (2006).**

Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*.  
*Food Chemistry* ; 99 ; 767-774.

# **Annexes**

**ANNEXE A : Appareillage d'extraction (entraînement à la vapeur d'eau).**

**ANNEXE B** : Rendement (%) en huiles essentielles des espèces étudiées obtenues par entraînement à la vapeur d'eau.

Plante	Rendement en (%)
<i>Saccocalyx satureioïdes</i>	4,42
<i>Teucrium polium</i>	0,29
<i>Salvia verbenaca</i>	0,09

**ANNEXE C** : Rendement (%) en extrait brut (g/100g de la matière végétale sèche).

Plante	Rendement en (%)
<i>Saccocalyx satureioïdes</i>	18
<i>Teucrium polium</i>	18,7
<i>Salvia verbenaca</i>	17,2

**ANNEXE D** : Valeur de l'absorbance pour la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Concentration en (mg/mL)	0.05	0.07	0.1	0.13	0.16	0.19	0.22	0.25	0.5
Absorbance à 725 nm	0,150	0,230	0,292	0,347	0,491	0,509	0,573	0,646	1,254
	0,154	0,214	0,301	0,353	0,431	0,510	0,588	0,649	1,249
	0,152	0,247	0,311	0,35	0,461	0,508	0,603	0,647	1,244
Moyennes de l'absorbance	0,1520	0,230	0,3015	0,350	0,461	0,509	0,588	0,647	1,249

**ANNEXE E** : Valeurs moyennes de l'absorbance de la courbe d'étalonnage de la catéchine.

<b>Dose en (mg/mL) de catéchine</b>	0.005	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
<b>Moyennes de l'absorbance à 510 nm</b>	0.122	0.133	0.151	0.159	0.168	0.186

**ANNEXE F** : Rendement en saponosides dans *Saccocalyx satureioïdes* et dans *Teucrium polium*.

<b>Plante</b>	<b>Rendement en saponosides (%)</b>
<i>Saccocalyx satureioïdes</i>	1.9
<i>Teucrium polium</i>	2.65

**ANNEXE G** : Antibiogramme : Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques testés.

ATB		SXT	CL	TE	AMC
souches		(25 µg)	(30 µg)	(30 µg)	(30µg)
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	R	R	S	R
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	S	S	S	I
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	S	S	S	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	R	R	R	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	S	S	R	I

- ✓ **R** : souche résistante.
- ✓ **I** : souche intermédiaire.
- ✓ **S** : souche sensible.

**ANNEXE H** : Antifongigramme : Moyennes des pourcentages d'inhibition de l'amphotéricine B sur la croissance des souches mycéliennes.

Souche	Pourcentage d'inhibition (%)
<i>Aspergillus flavus</i>	88.0 ± 1.57
<i>Fusarium oxysporium</i>	88.1 ± 0.42
<i>Penicillium spp</i>	68.0 ± 5.23
<i>Rhizopus stolonifer</i>	79.6 ± 00

**ANNEXE I :** Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles relatifs aux souches bactériennes testées.

Souches		HE	<i>Saccocalyx satureioïdes</i>	<i>Teucrium polium</i>	Témoin
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778		15.0	15.0	6.0
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212		25.0	15.0	6.0
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922		18.0	16.0	6.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853		09.0	09.0	6.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923		16.0	16.0	6.0

**ANNEXE J :** Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles relatifs aux souches mycéliennes testées.

Souches	HE de <i>Saccocalyx satureioïdes</i>					HE de <i>Teucrium polium</i>				
	témoin	05	10	25	50	témoin	25	50	100	200
<i>Aspergillus flavus</i> (O <sub>2</sub> )	54	2	12	0	0	54	5	42	4	4
<i>Fusarium oxysporium</i> (f <sub>16</sub> )	75	0	0	0	0	79	76	71	68	68
<i>Penicillium spp</i> (BT <sub>2</sub> )	75	0	0	0	0	75	15	13	11	11
<i>Rhizopus stolonifer</i> (O <sub>1</sub> )	90	39	37	29	25	90			90	90

**ANNEXE K :** Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* sur la croissance des souches mycéliennes testées.

Concentration / Souches mycéliennes	0.25	0.5	1.25	2.5	5	10
<i>Fusarium oxysporium</i>	100	100	100	100	100	100
<i>Aspergillus flavus</i>	62.6	77.8	100	100	100	100
<i>Penicillium spp</i>	100	100	100	100	100	100
<i>Rhizopus stolonifer</i>	56.7	58.9	67.8	72.2	74.1	74.1

**ANNEXE L :** Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de *Teucrium polium* sur la croissance des souches mycéliennes testées.

Concentration / souches mycéliennes	0.25	0.5	1.25	2.5	5	10
<i>Fusarium oxysporium</i>	0	0	0	5.3	9.3	9.3
<i>Aspergillus flavus</i>	0	0	7.4	22.2	25.92	25.9
<i>Penicillium spp</i>	44.4	55.5	66.7	71.1	75.5	75.5
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0	0	0	0	0	0

**ANNEXE M** : Essai antioxydant ; réduction de l'Abs en fonction de la concentration des extraits AcOEt et n-bu OH de *Saccocalyx saturoioides*.

<b>Plante</b>	<b>Phase</b>	<b>Volume (µL)</b>	<b>Concentration de l'extrait en (mg/ml)</b>	<b>DO (valeurs moyennes)</b>	<b>% de réduction du DPPH</b>
<i>Saccocalyx saturoioides</i>	AcOEt	08	0,7	0,568	10,97
		10	0,875	0,522	18,18
		15	1,8	0,415	34,95
		45	3,93	0,252	60,5
		70	6,125	0,037	94,2
	n-bu OH	8	1,6	0,855	19,71
		10	2	0,832	21,87
		15	3	0,757	28,92
		17	3,4	0,719	32,48
		20	4	0,638	40,09
		25	5	0,577	45,82
		30	6	0,408	61,69
		40	8	0,236	77,84
		50	10	0,064	93,99

**ANNEXE N** : Essai antioxydant ; réduction de l'Abs en fonction de la concentration des extraits AcOEt et n-bu OH de *Teucrium polium*.

<b>Plante</b>	<b>Phase</b>	<b>Volume (µL)</b>	<b>Concentration de l'extrait en (mg/ml)</b>	<b>DO (valeurs moyennes)</b>	<b>% de réduction du DPPH</b>
<i>Teucrium polium</i>	AcOEt	15	1.4	0.682	16.52
		20	2.4	0.474	41.98
		25	3	0.146	56.34
		35	4.2	0.068	88.54
		40	4.8	0.159	91.67
	n-bu OH	2	0.13	0.780	10.24
		5	0.33	0.754	13.23
		8	0.53	0.724	16.6
		15	1.7	0.573	34.06
		30	3	0.440	49.3
		100	6.7	0.046	94.7
		120	8	0.040	95.19

**ANNEXE O** : Essai antioxydant ; réduction de l'Abs en fonction de la concentration des extraits AcOEt et n-bu OH de *Salvia verbenaca*.

<b>Plante</b>	<b>Phase</b>	<b>Volume (µL)</b>	<b>Concentration de l'extrait en(mg/mL)</b>	<b>DO (valeurs moyennes)</b>	<b>% de réduction du DPPH</b>
<i>Salvia verbenaca</i>	AcOEt	15	1	0.778	19.9
		20	1.33	0.680	30.2
		25	1.66	0.644	33.7
		30	2	0.530	45.4
		70	4.66	0.225	76.8
		100	6.66	0.104	89.2
	n-bu OH	5	1.82	0.83	2.58
		8	2.92	0.784	7.74
		10	3.65	0.786	7.98
		15	5.47	0.756	11.26
		25	9.12	0.678	20.42
		50	18.25	0.491	42.37
		200	73	0.044	94.83

**ANNEXE P** : Pourcentage de réduction de l'Abs du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

<b>Concentration de l'acide ascorbique en (mg/mL)</b>	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
<b>Absorbance à 515 nm</b>	0.747	0.526	0.484	0.350	0.177	0.044
	0.719	0.567	0.498	0.318	0.165	0.044
	0.746	0.546	0.496	0.349	0.164	0.045
<b>Absorbance (valeurs moyennes)</b>	0.733	0.546	0.491	0.334	0.171	0.044
<b>% de réduction de l'Abs du DPPH à 515 nm</b>	24.74	43.94	49.58	65.70	82.44	95.89

## Résumé

L'étude des espèces *Saccocalyx saturoioides*, *Teucrium polium* et *Salvia verbenaca* appartenant à la famille des Lamiaceae, a porté sur un screening phytochimique visant à caractériser les différentes familles de composés chimiques contenues dans leur partie aérienne, puis l'extraction sélective des classes dont les tests sont positifs.

L'analyse des huiles essentielles de *Saccocalyx saturoioides*, *Teucrium polium* par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM), a permis d'identifier les constituants majoritaires suivants : le bornéol (23.93%), l' $\alpha$ -terpinéol (20.20%) et le thymol (18.01%) dans *Saccocalyx saturoioides*, le D-germacrène (24.98%), le B-germacrène (12.59%), le  $\beta$ -pinène (11.32%) et le carvacrol (8.64%) pour *Teucrium polium*.

Les dosages des phénols totaux et des flavonoïdes ont été effectués à partir des extraits bruts, dont les teneurs ont été déterminées à l'aide des courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de la catéchine respectivement. Différentes classes de composés phénoliques ont été identifiées dans les trois espèces par chromatographie sur couche mince dont les flavonoïdes (flavanones et flavones), un acide phénol (l'acide férulique), ainsi que le pyrogallol, l'hydroquinone, le résorcinol, la catéchine et le phloroglucinol. Le rendement en saponosides dans *Teucrium polium* (2.65%) est deux fois plus élevé que celui révélé dans *Saccocalyx saturoioides* (1.9%).

L'huile essentielle de *Saccocalyx saturoioides* est beaucoup plus active que celle de *Teucrium polium*. Toutes les souches bactériennes se sont révélées très sensibles à cette huile essentielle et ceci avec une CMI < 2 $\mu$ L/mL.

L'estimation du pouvoir antioxydant des trois espèces par piégeage du radical libre DPPH a permis d'obtenir les valeurs EC<sub>50</sub> suivantes : 2.95mg/mL, 3.11 mg/mL, 3.14 mg/mL pour les phases AcOEt de, *Teucrium polium*, *Saccocalyx saturoioides* et *Salvia verbenaca* respectivement, ce pouvoir a été plus important que celui donné par les phases n-bu OH.

Ce pouvoir a été aussi exprimé à l'aide de la puissance antiradicalaire ou l'ARP.

**Mots clés :** *Saccocalyx saturoioides*, *Teucrium polium*, *Salvia verbenaca*, huiles essentielles, phénols totaux, flavonoïdes, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

## Abstract

Study on species *Saccocalyx saturoioides*, *Teucrium polium* and *salvia verbenaca*, belong to the Lamiaceae family on a screening phytochimic aiming to characterize the different families of composed chemical contained in aerial part, then the selective extraction of classes if tests are positive.

The analysis of essential oil of *Saccocalyx Saturoioides*, *Teucrium polium* by gaseous chromatography (GC /SM) has permit to relieve the majority components : the borneol (23.93 %), the  $\alpha$ -terpineol (20.20 %) and thymol ( 18.01%) for *Saccocalyx saturoioides* and the D-germacrene ( 24.98%) the B-germacrene (12.59 %) the  $\beta$ -pinene (11.32%) and the carvacrol (8.64%) for *Teucrium polium*.

Whole phenols dosage and flavonoids have been done by primary extracts which the tenor have been determined by curved display of gallic acid and catechin also. Different categories of phenolic components have been identified in three species by Chromatography on fine slide even the flavonoids (flavanone and flavones), one phenol acid (ferulic acid), pyrogallol, hydroquinone, resorcinol catechol and phloroglucinol. The percentage of saponins in *Teucrium polium* (2.65%) is more important than one in *Saccocalyx saturoioides* (1.9%).

The antimicrobial effect of essential oil of *Saccocalyx saturoioides* has appeared more active on the majority of bacteria slides than the one of essential oil of *Teucrium polium* with a CMI < 2 $\mu$ L/mL.

Estimation of antioxidant activity of the three species by trapping of the free radical DPPH has relieved the values of EC<sub>50</sub> following: 2.95 mg/mL 3.11mg/mL and 3.14 mg/mL for phasis AcOEt of *Teucrium polium*, *Saccocalyx saturoioides* and *salvia verbenaca* respectively. This activity was less important in the n-buOH phasis. An other value was calculated, it's the ARP.

**Keys :** *Saccocalyx saturoioides*, *Teucrium polium*, *Salvia verbenaca*, essential oils, whole phenols, flavonoids, antimicrobiologic activity, antioxidant activity.

## المخلص

لقد انصب اهتمامنا على دراسة بعض النباتات من عائلة Lamiaceae، فقد تم استخلاص بعض من مركبات *Saccocalyx saturoioides*، *Teucrium polium* و *Salvia verbenaca*. أجريت تحاليل كروماتوغرافية غازية متجانسة مع منظار طيفي كتلي (CG/SM) على الزيوت الأساسية لـ *Teucrium polium* و *Saccocalyx saturoioides* والتي أعطت تركيبة كيميائية أهم عناصرها bornéol (23.93%)،  $\alpha$ -terpinéol (20.20%) و thymol (18.01%) بالنسبة لـ *Saccocalyx saturoioides*. أما *Teucrium polium* فقد كانت أهم مركبات زيتة الأساسية هي: D-germacrène (24.9%)، B-germacrène (12.59%)،  $\beta$ -pinène (11.32%) و le carvacrol (8.64%). كما أمكننا إجراء تحاليل كمية لالفينولات و الفلافونيدات بواسطة les courbes d'étalonnage لـ acide ascorbique و la catéchine على التوالي. وتحديد مردود les saponosides في كل من *Teucrium polium* (2.65%) و *Saccocalyx saturoioides* (1.9%).

أما الزيوت الأساسية المستخلصة من نباتي *Teucrium polium* و *Saccocalyx saturoioides* فقد أظهرت فعالية زيت *Saccocalyx saturoioides* على مقاومة أغلب الكائنات المجهرية المستخدمة لهذا الغرض.

و قد تم فصل بعض المركبات الفينولية من هذه النباتات بواسطة مذيبات عضوية، ثم فحصها على الطبقة الرقيقة و قد تبين من خلال التجارب المضادة للأوكسدة أن المستخلصات النباتية المتحصل عليها بواسطة المحاليل الإيثيلية و البوتيلية ذات قدرة إرجاعية متوسطة إلى ضعيفة لجزيئة DPPH فقد أعطت قيمة عالية لـ EC<sub>50</sub> (*Teucrium polium* (2.95 mg/mL) ، *Saccocalyx saturoioides* (3.11 mg/mL) و *Salvia verbaneca* (3.14 mg/mL) للمستخلصات الإيثيلية.

الكلمات المفتاحية: *Salvia verbaneca*، *Teucrium polium*، *Saccocalyx saturoioides*: الزيوت الأساسية الفلافونيدات، مضادات ميكروبية، مضادات الأوكسدة.