



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM  
FACULTÉ DE DES SCIENCES  
Département de chimie  
Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO)

Mémoire

Présenté Par: **RAHMANI Sara Meriem**

En vue de l'obtention du diplôme de **Master en Chimie**

Spécialité: **Chimie des produits naturels**

Thème :

**Etude phytochimique et activités biologiques  
de quelques extraits de *Teucrium polium***

Soutenu le : 27-09-2020

**Devant le jury composé de :**

Président :	Mr DIB Med El Amine	Pr	Université de Tlemcen
Examinatrice :	M <sup>me</sup> TABET ZATLA Amina	Dr	Université de Tlemcen
Encadreur de thèse :	Mr BENSALD Okkacha	Pr	Université de Tlemcen
Co-encadreur de thèse :	M <sup>me</sup> KADDOUR Faiza	MAB	Université de Tlemcen

Année universitaire: 2019-2020

## ***DEDICACE***

*Je dédie ce travail à mes très chers parents que dieu les garde.*

*Je vous remercie pour votre aide, votre soutien moral, vos sacrifices, vos conseils, et vos encouragements tout au long de ma vie.*

*A mes chers frères*

*A tous les membres de ma famille*

*A mes amis*

# ***REMERCIEMENTS***

Avant toute chose, je remercie ALLAH, le tout puissant de m'avoir donné la force, la patience, et la volonté pour réaliser ce travail.

J'adresse d'abord mes sincères remerciements à Mr BENSaid Okkacha professeur au département de Chimie, Université de Tlemcen, pour avoir encadré et dirigé ce travail. Merci pour votre aide, vos conseils et votre compréhension.

J'exprime mes profonds remerciements à M<sup>me</sup> KADDOUR Faiza maitre assistante au département de pharmacie, faculté de médecine et Co-encadreur de ce mémoire, pour son aide, ses conseils, ses encouragements et sa gentillesse.

Je tiens également mes remerciements à Mr DIB Med El Amine, pour l'honneur qu'il me fait pour avoir accepté de présider le jury.

Je remercie également M<sup>me</sup> TABET ZATLA Amina de me fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Le travail présenté a été effectué au Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), de la faculté des sciences, Université de Tlemcen sous la direction du Professeur GHALEM Saïd que je tiens à lui exprimer mes remerciements.

Un grand merci à toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# Résumé

Les principes actifs ou métabolites secondaires des végétaux constituent une grande source de molécules dotées de propriétés médicamenteuses très recherchées dans le domaine pharmaceutique.

Dans ce travail, nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et activités biologiques des différents extraits d'une plante médicinale *Teucrium polium* de la famille des Lamiaceae.

La mise en évidence des phytoconstituants par des tests chimiques de coloration et de précipitation, menée sur la poudre végétale de la partie aérienne de *Teucrium polium* a montré la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de tanins et de saponosides.

La partie aérienne de *Teucrium polium* a été extraite avec l'eau distillée par décoction, et avec l'hexane par deux méthodes : le soxhlet et la macération.

Mots clés : *Teucrium Polium*, screening phytochimique, polyphenols, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

## ملخص

تشكل المكونات النشطة أو المستقلبات الثانوية للنباتات مصدرًا كبيرًا للجزيئات التي تتمتع بخصائص طبية مطلوبة بشدة في المجال الصيدلاني.

في هذا العمل ، نحن مهتمون بالدراسة الكيميائية النباتية والأنشطة البيولوجية لمستخلصات مختلفة من نبات طبي *Teucrium polium* من عائلة Lamiaceae.

أظهر الكشف عن المكونات النباتية عن طريق اختبارات التلوين والترسيب الكيميائي ، التي أجريت على مسحوق نباتي للجزء الجوي من *Teucrium polium* ، وجود قلويدات وفلافونويد وعفص وصابونين.

تم استخلاص الجزء الهوائي من *Teucrium polium* بالماء المقطر عن طريق ديكوتيون ، ومع الهكسان بطريقتين Soxhlet و maceration.

الكلمات المفتاحية: *Teucrium Polium* ، الفحص الكيميائي النباتي ، البوليفينول ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات.

# *Abstract*

The active principles or secondary metabolites of plants constitute a great source of molecules endowed with medicinal properties which are highly sought after in the pharmaceutical field.

In this work, we are interested in the phytochemical study and biological activities of different extracts of a medicinal plant *Teucrium polium* from the family Lamiaceae.

The detection of phytoconstituents by chemical coloring and precipitation tests, carried out on the vegetable powder of the aerial part of *Teucrium polium*, showed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins and saponins.

The aerial part of *Teucrium polium* was extracted with distilled water by decoction, and with hexane by two methods: soxhlet and maceration.

Key words: *Teucrium Polium*, phytochemical screening, polyphenols, antioxidant activity, antimicrobial activity.

# Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Introduction générale.....	02

## 1ère Partie : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Principales Classes de Métabolites Secondaires

1. Définition des plantes médicinales.....	06
2. Substances naturels d'origine végétale.....	06
2.1. Les métabolites primaires.....	06
2.2. Les métabolites secondaires.....	06
2.2.1. Les composés phénoliques .....	06
2.2.1.1. Définition.....	06
2.2.1.2. Biosynthèse .....	07
2.2.1.3. Classification des composés phénoliques.....	07
1) les acides phénoliques.....	07
2) les flavonoïdes .....	08
3) Les tannins.....	09
4) Les coumarines.....	10
2.2.1.4. Propriétés biologiques des composés phénoliques.....	11
2.2.2. Les alcaloïdes.....	12
2.2.2.1. Définition.....	12
2.2.2.2. Classification des alcaloïdes.....	12
2.2.2.3. Propriétés biologiques des alcaloïdes.....	13
2.2.3. Les terpénoides.....	13
2.2.3.1. Définition.....	13
2.2.3.2. Classification des terpénoides .....	13
2.2.3.3. Propriétés biologiques des terpénoides.....	14
3. Méthodes d'extraction.....	14
3.1. L'infusion.....	14

3.2. La macération.....	14
3.3. La décoction.....	14
3.4. La décoction.....	14
3.5. L'extraction par sonication.....	15
3.6. L'extraction assistée par microondes.....	15

## **Chapitre II : Activités Biologiques (Antioxydante-Antimicrobienne)**

1. Activité antioxydante.....	17
1.1. Le stress oxydatif.....	17
1.2. Les radicaux libres.....	17
1.3. Maladies liées au stress oxydant.....	17
1.4. Les antioxydants.....	18
2. Activité antimicrobienne.....	18

## **Chapitre III : Etude Botanique la Plante**

1. Généralité sur l'espèce étudiée.....	21
1.1. Nom de la plante.....	21
1.2. Classification.....	21
1.3. Description botanique.....	21
1.4. Distribution géographique.....	22
1.5. Utilisation thérapeutique.....	22
2. Données phytochimiques et pharmacologiques.....	22
2.1. Composition chimique.....	22
2.2. Activités biologiques.....	23

# **2ème Partie : Partie expérimentale**

## **Chapitre I : Matériels et méthodes**

1. Matière végétale.....	27
2. Tests phytochimiques.....	28
3. Méthodes d'extraction.....	29
3.1. Extraction par décoction.....	29
3.2. Extraction par macération.....	29
3.3. Extraction par soxhlet.....	30

## **Chapitre II : Résultats et discussions**

<b>1. Tests phytochimiques</b> .....	33
<b>2. Extraction</b> .....	34

## **Chapitre III : Perspectives**

<b>1. Calcul du rendement</b> .....	36
<b>2. Analyse quantitative des composés phénoliques</b> .....	36
<b>2.1. Dosage des polyphénols totaux</b> .....	36
<b>2.2. Dosage des flavonoïdes</b> .....	37
<b>2.3. Dosage des tanins</b> .....	37
<b>3. Activités biologiques</b> .....	37
<b>3.1. Evaluation de l'activité antioxydante</b> .....	37
<b>3.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH</b> .....	37
<b>3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne</b> .....	39
<b>3.2.1. Activité antibactérienne</b> .....	39
<b>3.2.2. Activité antifongique</b> .....	40

<b>Conclusion</b> .....	42
-------------------------	----

## **Références bibliographiques**

## Liste des abréviations

**%** : Pourcentage.

**°C** : Degré Celsius.

**Abs** : Absorbance.

**BHA**: Butylhydroxyanisole.

**BHT**: Butylhydroxytoluène.

**DPPH**: 2, 2-Diphényl-1- Picrylhydrazyle.

**ERN** : Espèces réactives de l'azote.

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer.

**HCl** : Acide Chlorhydrique.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité.

**M** : Molarité.

**Mg** : Milligramme.

**Mg EAG/gMS**: Milligramme D'équivalent D'acide Gallique Par Gramme De Matière Sèche.

**Mg EC/ gMS** : Milligramme D'équivalent De Catéchine Par Gramme De Matière Sèche.

**Min** : Minute.

**ml** : Millilitre.

**NaOH** : Hydroxyle De Sodium.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.

**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniaque.

**Nm** : Nanomètre.

**v/v** : Volume sur volume.

**UV** : Ultra-violet.

**µl** : Microlitre.

## Liste des Figures

<b>Figure01:</b> Acide hydroxycinnamique (C6-C3).....	07
<b>Figure02:</b> Acide hydroxybenzoïque (C6-C1).....	08
<b>Figure 03:</b> Structures chimiques des principaux flavonoïdes .....	08
<b>Figure 04:</b> Structure chimique de tanins condensés.....	10
<b>Figure 05:</b> Structure chimique de Tanins hydrolysables .....	10
<b>Figure 06:</b> Structure de base de coumarine.....	10
<b>Figure07:</b> Structure chimique deFuranocoumarine.....	11
<b>Figure08:</b> Structure chimique de Pyranocoumarine.....	11
<b>Figure 09:</b> Structures chimiques de quelques alcaloïdes vrais .....	12
<b>Figure 10:</b> Structures chimiques de quelques pseudo-alcaloïdes.....	12
<b>Figure 11:</b> Structures chimiques de quelques proto-alcaloïdes .....	13
<b>Figure 12:</b> Structure chimique de la molécule d'isoprène.....	13
<b>Figure 13:</b> Aspect morphologique de <i>Teucrium polium</i> .....	22
<b>Figure 14:</b> Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	27
<b>Figure 15:</b> Partie aérienne de <i>Teucrium polium</i> broyée.....	27
<b>Figure 16:</b> Extraction successive avec des solvants organiques de la partie aérienne de <i>Teucrium polium</i> .....	30
<b>Figure 17:</b> Procédés d'extraction.....	31
<b>Figure18 :</b> Réaction de réduction du DPPH en DPPH-H en présence d'un antioxydant.....	38

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 01:</b> Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique.....	07
<b>Tableau 02:</b> Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque.....	08
<b>Tableau03:</b> Structures chimiques de quelques coumarines simples.....	10
<b>Tableau04:</b> Activités biologiques de quelques composés phénoliques.....	11
<b>Tableau 05:</b> Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne de <i>Teucrium polium</i> .....	33
<b>Tableau 06:</b> Rendements, couleurs, aspects des extraits obtenus de <i>Teucrium polium</i> .....	34

# *Introduction générale*

## Introduction générale

---

Depuis des milliers d'années, l'humanité a recours aux médecines traditionnelles, il a toujours utilisé diverses plantes trouvées, pour traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes constituent une source immense de molécules chimiques complexes appelées métabolites secondaires : les terpénoïdes, les alcaloïdes et les polyphénols, elles sont connues par leurs nombreuses activités biologiques, parmi lesquelles : l'actions antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobienne.

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Favier, 2003). La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge grâce au vieillissement qui diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux.

Par ailleurs, la maîtrise des infections bactériennes devient complexe de fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui pose un grand problème de santé publique (Benbrinis, 2018).

L'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (Da Silva, 2004).

*Teucrium polium*, son nom commun la germandrée tomenteuse appartenant à la famille des lamiaceae. Cette plante est utilisée depuis plus de 2000 années en médecine traditionnelle, elle est connue par ses nombreuses propriétés thérapeutiques.

L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité biologique (antimicrobienne et antioxydante) de quelques extraits de la plante *teucrium polium*.

Ce mémoire s'articule autour de deux parties :

- La première partie est une revue de la littérature en la matière subdivisée en trois chapitres : Le premier chapitre décrit les principales classes des métabolites secondaires. Le deuxième chapitre traite les activités biologiques étudiées (antioxydante et antimicrobienne). Le troisième chapitre est réservé à l'étude botanique de la plante.
- La deuxième partie c'est la partie expérimentale divisée en trois chapitres :

## *Introduction générale*

---

Le premier chapitre illustre matériel et les méthodes utilisés. Dans le deuxième chapitre nous discutons les résultats obtenus. Le troisième chapitre est consacré aux perspectives et enfin nous terminons notre travail par une conclusion.

*1ère Partie : Synthèse  
bibliographique*

*Chapitre I : Principales Classes  
des Métabolites Secondaires*

## **1. Définition des plantes médicinales :**

Selon l'organisation mondiale de la santé une plante médicinale contient dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées en thérapie ou qui sont des précurseurs de médicaments utiles. Ils fournissent aux gens des médicaments pour prévenir les maladies, maintenir la santé ou guérir les maux.

## **2. Substances naturels d'origine végétale:**

Les plantes synthétisent une vaste gamme de composés organiques classifiées comme métabolites primaires et métabolites secondaires.

**2. 1. Les métabolites primaires:** glucides, protides, lipides et acides nucléiques sont synthétisés par des voies métaboliques primaires. Ils répondent aux besoins de base des activités vitales des plantes et sont donc présents dans toutes les plantes (Alamgir, 2017).

**2. 2. Les métabolites secondaires:** sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, Elles sont présentes en très grand nombre et d'une variété structurale extraordinaire. Ces composés constituent un groupe de produits naturels qui sont exploré pour des propriétés très diverses : antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses etc...(Epifano et al., 2007).

Selon leur origine biosynthétique, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois grandes familles (Mahmoud and Croteau, 2002), qui sont :

- 1- Les composés phénoliques.
- 2- Les alcaloïdes.
- 3- Les terpénoïdes.

### **2. 2. 1. Les composés phénoliques :**

#### **2. 2. 1. 1. Définition :**

Les composés phénoliques forment une très vaste classe de substances organiques cycliques, ils se caractérisent par la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant un ou plusieurs groupement hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction: éther, ester, hétéroside (Macheix et al., 2005). En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (Lugasi, 2003).

Ils se trouvent dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot and Charpentier, 2006), et représentent de 2% à 3% de la matière organique des plantes et peut aller, dans certains cas, jusqu'à 10% ou plus (Rakipov, 1987).

Leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les tissus et les stades physiologiques (Ribéreau-Gayon, 1968).

**2. 2. 1. 2. Biosynthèse :**

D'un point de vue biosynthétique, les composés phénoliques peuvent être synthétisés par deux voies métaboliques :

- ❖ **La voie de shikimate** : plus courante, conduit, entre autre, à la formation des acides phénoliques, des flavonoïdes et des lignanes.
- ❖ **La voie des polyacétates** : qui est à l'origine de composés polycycliques tels que les coumarines, les xanthones et les quinones (Bruneton, 2009).

**2. 2. 1. 3. Classification des composés phénoliques:**

Les principales classes des composés phénoliques sont : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les coumarines.

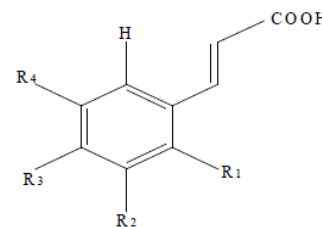
1) **les acides phénoliques:**

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 1993). On distingue deux principales classes d'acides phénoliques (Budić-Leto and Lovrić, 2002).

- ❖ **Les dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3)** : ont une structure générale de base de type (C6-C3). Ils sont souvent sous forme combinée avec des molécules organiques.

**Tableau 01:** Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique (Harborne, 1980).

Nom	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
L'acide cinnamique	H	H	H	H
L'acide <i>p</i> -coumarique	H	H	OH	H
L'acide <i>o</i> -coumarique	OH	H	H	H
L'acide <i>m</i> -coumarique	H	OH	H	H
L'acide férulique	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
L'acide sinapique	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
L'acide caféique	H	OH	OH	H



**Figure01:** Acide hydroxycinnamique (C6-C3)

- ❖ les dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1) : ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau (02).

Tableau 02: Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (Harborne, 1980).

Nom	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
L'acide benzoïque	H	H	H	H
L'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
L'acide salicylique	OH	H	H	H
L'acide vanillique	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
L'acide gallique	H	OH	OH	OH
L'acide syringique	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
L'acide protocatéchique	H	OH	OH	H

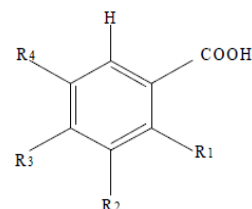


Figure02: Acide hydroxybenzoïque (C6-C1).

## 2) les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum et al., 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Ghestem et al., 2001; Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyranne (Škerget et al., 2005). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux cycles aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliées par un hétérocycle oxygéné, qui désignent la lettre C (Crozier et al., 2008).

En se basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en six classes principales: les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines.

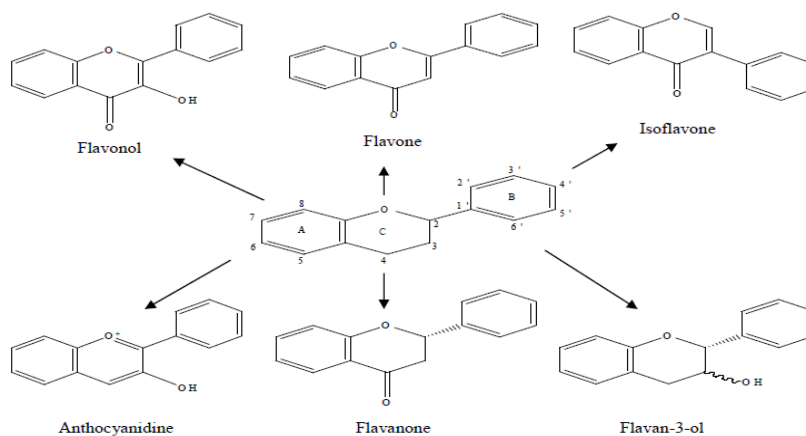


Figure 03: Structures chimiques des principaux flavonoïdes (Crozier et al., 2006).

### ❖ Les flavanones :

Ils sont caractérisés par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2(Afanas'eva et al., 2001;Thompsen and Mottola, 1984).

Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'héspéritine dans l'orange(Murota et al., 2004).

### ❖ Les flavonols:

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3. Ils peuvent être soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides (Korkina and Afanas' Ev, 1996).

Les principaux flavonols sont la quercétine, la rutine. Les sources les plus riches ont les oignons, le poireau, le thé, etc..(Kang et al., 2005).

### ❖ L'anthocyanidines :

Ce sont des pigments responsables de la couleur rouge, sous forme de glycosides. Leur structure est basée par un noyau « flavone» généralement glycolyse en position C-3, les plus répandues sont : Cyanidine, malvidine, et péonidine (Escandar and Sala, 1991).

### 3) Les tannins :

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée et de haut poids moléculaire (Atefeibu, 2002). Ils ont plusieurs effets connus dans la protection des plantes, dans les phénomènes d'amertume et d'astringence de certains fruits et dans les activités biologiques et pharmacologiques. Ces différents rôles sont, essentiellement, dus à trois propriétés principales des tanins (Haslam, 1996) :

- Leur aptitude à complexer les ions métalliques (fer, manganèse, vanadium, cuivre).
- Leur capacité à piéger les radicaux libres.
- Leur habilité à complexer des molécules, comme les protéines et les polysaccharides.

On distingue deux types de tannins : les tanins condensés et les tanins hydrolysables.

### ❖ Tanins condensés:

Les tanins condensés, appelés aussi procyanidoliques, sont des oligomères ou des polymères de flavan-3-ols. Leur structure est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation.les plus connus : épicatechine et catéchine (Özkan et al., 2007).

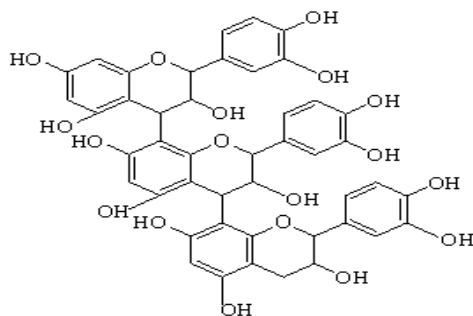


Figure 04: Structure chimique de tanins condensés.

❖ **Taninhydrolysable:**

Les tannins hydrolysables sont des polyesters d'un sucre qui est généralement le glucose et d'un acide phénol qui est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagittannins (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999).

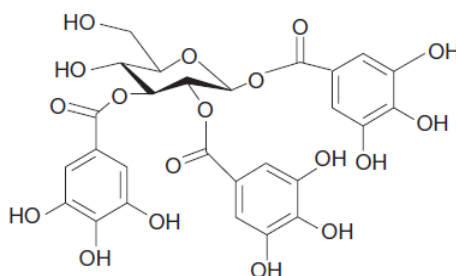


Figure 05: Structure chimique de Tanins hydrolysables (Pascal et al., 2007).

4) **Les coumarines :**

Les coumarines sont des substances naturelles largement distribuées dans le règne végétal. Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo pyranone-2, résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique C-2 (Harkati, 2011; Lake, 1999). Toutefois leurs structures restent très diverses et peuvent être classés en deux grands groupes (Smyth et al., 2009; Floc'h et al., 2002): Coumarines simples et Coumarines complexes.

❖ **Les coumarines simples :** ils ont des substituants dans le cycle benzénique. Elles peuvent être des dérivés hydroxylés, méthoxylés, alkylés, alcoxylés et glycosylés de la molécule mère (**Tableau 03**).

Tableau03: Structures chimiques de quelques coumarines simples (Cohen, 1979).

Nom	R1	R2	R3
Umbélliférone	H	H	OH
Esculétine	OH	OH	H
Scopolétine	OCH <sub>3</sub>	H	OH
Esculine	O-Glu	OH	H
Fraxoside	OCH <sub>3</sub>	O-Glu	OH

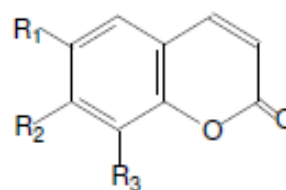
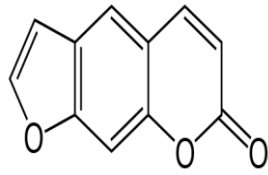
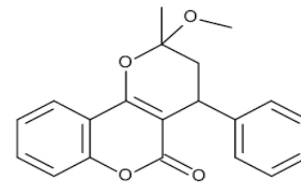


Figure 06 : structure de base de coumarine.

- ❖ **Coumarines complexes** : ils se constituent d'un noyau furane ou pyrane associé au noyau benzo- $\alpha$ -pyrone (Fettah, 2019).



**Figure07:** Structure chimique de Furanocoumarine.



**Figure08:** Structure chimique de Pyranocoumarine.

**2. 2. 1. 4. Propriétés biologiques des composés phénoliques:**

Les polyphénols constituent les principes actifs de plusieurs plantes médicinales; ils interviennent dans de nombreux processus tels que : la croissance, la germination, la morphogénèse des tiges et dans le processus de lignification (Merghem, 2009). Ils jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en particulier contre les radiations UV, les attaques microbiennes, lutte contre les prédateurs (Moheb et al., 2011).

En outre, un grand nombre de polyphénols sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes(Gómez-Caravaca et al., 2006), anticancéreuses, anti-inflammatoires, antiathérogènes, antithrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antiviraux (Ali et al., 2007), anti-allergènes et vasodilatateurs (Falleh et al., 2008; Hodgson and Croft, 2010 ). Ils participent aussi à la prévention des maladies cardio-vasculaires (Manach et al., 2005).

**Tableau04:** Activités biologiques de quelques composés phénoliques (Bruneton, 1999b; Hennebelle, 2006 ).

Composés phénoliques		Activités biologiques
<b>Acides Phénoliques</b>	Ac. cafeique	Antibactérienne, Antifongique, antioxydante
	Ac. salicylique	
<b>Tanins</b>	Tanin gallique	Antioxydant, antidiarrheique , antiseptique , effet vasoconstricteur
	Proanthocyanidine	
<b>Flavonoïdes</b>	Lutéoléine	Antitumorale, anticarcinogène, anti-inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, diurétique.
	Catéchine	
	Hespéridine	
	Quercétine	
	Naringénine	
<b>Coumarines</b>	Dicoumarol	Anticoagulant, antioxydant, antioedémateuse

### 2. 2. 2. Les alcaloïdes:

#### 2. 2. 2. 1. Définition:

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle, elles sont caractérisées par la présence d'au moins un atome d'azote et par leur forte activité biologique. L'atome d'azote accepte souvent un proton, ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution. La majorité des alcaloïdes sont hétérocycliques, bien que quelques composés azotés aliphatiques (non cycliques) comme la mescaline et la colchicine soient parfois classés dans les alcaloïdes. Il existe environ 10000 alcaloïdes (Zohra and Nassima, 2015).

Ils peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon les espèces, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, les racines, les feuilles ou dans les fruits (Harborne et al., 1994).

#### 2. 2. 2. 2. Classification des alcaloïdes:

Il existe trois grandes classes des alcaloïdes, selon leur précurseur biogénétique et la position de l'azote:

- ❖ **Alcaloïdes vrais** (Aniszewski, 2007): Ils dérivent d'acides aminés et possèdent un atome d'azote inclus dans l'hétérocycle. Ils se trouvent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde. Ce groupe représente la majorité des alcaloïdes.

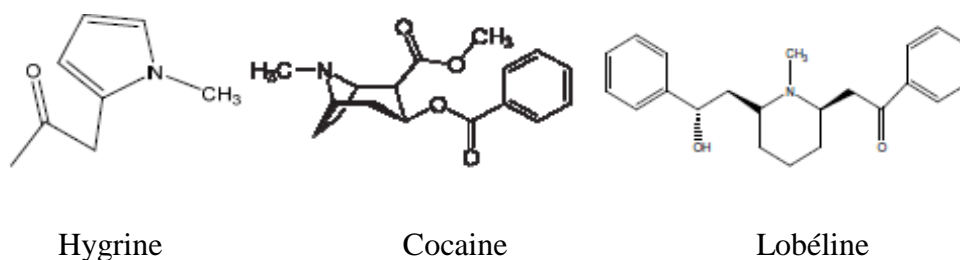


Figure 09: Structures chimiques de quelques alcaloïdes vrais (Fettah, 2019).

- ❖ **Pseudo-alcaloïdes** : ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

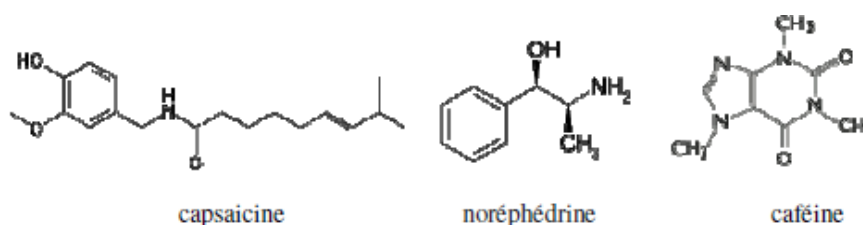


Figure 10: Structures chimiques de quelques pseudo-alcaloïdes (Fettah, 2019).

- ❖ **Les proto-alcaloïdes** : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocycle, ils ont une réaction basique et sont élaborés in vivo à partir des acides aminés (Bruneton, 1993).

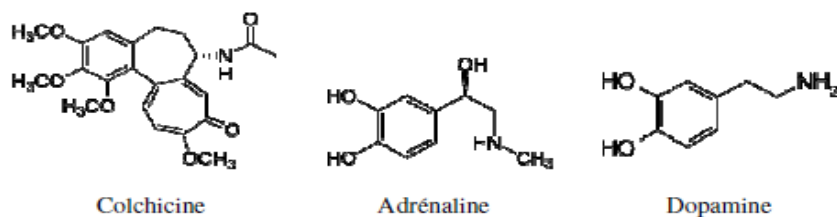


Figure 11: Structures chimiques de quelques proto-alcaloïdes (Fettah, 2019).

### 2. 2. 2. 3. Propriétés biologiques des alcaloïdes:

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme déprimeurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine etc...). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne) (Kansole, 2009). Ce sont aussi des composés amers, utilisés comme apéritifs (Bruneton, 1999).

### 2. 2. 3. Les terpénoïdes :

#### 2. 2. 3. 1. Définition :

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, leur structure, soit cyclique soit à chaîne ouverte, leur formule brute est  $(C_5H_8)_n$  dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs de (1-8) sauf dans les polyterpènes où il peut atteindre plus de 100 (caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule  $C_5H_8$ . Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky, 2008).

Ils existent chez toutes les plantes et représentent de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits.

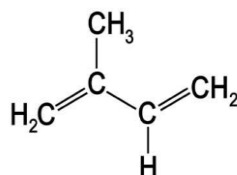


Figure 12: Structure chimique de la molécule d'isoprène.

#### 2. 2. 3. 2. Classification des terpénoïdes :

Selon le nombre d'unités isopréniques qui constituent les terpénoïdes, on distingue les monoterpènes (C<sub>10</sub>), les sesquiterpènes (C<sub>15</sub>), les diterpènes (C<sub>20</sub>), les triterpènes (C<sub>30</sub>), les tétraterpènes (C<sub>40</sub>) et les polyterpènes qui comportent plus de 500 carbones.

### 2. 2. 3. 3. Propriétés biologiques des terpénoïdes :

Les terpènes possèdent d'importantes propriétés thérapeutiques, notamment en cancérologie, dans le traitement de l'inflammation ou encore des infections bactériennes (Christianson, 2008). Ils ont aussi des effets cytostatique, antivirale, insecticide, molluscicide et analgésique (Fernández et al., 2001).

### 3. Méthodes d'extraction:

L'extraction de substances actives à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale est une étape très importante dans l'isolement, l'identification et l'utilisation de ces composés phénoliques. Elle est influencée par la méthode choisie en fonction des composés phytochimiques à étudier, le pH, la température, le rapport quantité de matière /volume du solvant, le temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles, jouent également un rôle important dans cette procédure (Muanda, 2010).

L'extraction solide-liquide est le procédé le plus utilisé. Les solvants d'extractions les plus utilisés sont les alcools (méthanol, éthanol), l'acétone, l'éther éthylique et l'acétate d'éthyle. Cependant, pour les composés très polaires tels que les acides phénoliques ne pouvant être extraits complètement avec les solvants organiques purs, les mélanges d'alcool-eau ou acétone-eau sont recommandés (Nsemi, 2010). Les solvants moins polaires (dichlorométhane, chloroforme, hexane, benzène) sont utilisés pour éliminer les composés apolaires (cires, huiles, chlorophylle).

Plusieurs techniques sont : l'infusion, la macération, la décoction, l'extraction au Soxhlet, l'extraction par sonication et l'extraction assistée par microondes.

#### 1. L'infusion :

L'infusion est une méthode utilisée pour extraire les principes actifs ou les arômes d'une matière végétale par dissolution dans un liquide initialement porté à ébullition que l'on laisse refroidir.

Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes et le thé.

#### 2. La macération :

La macération est similaire à l'infusion, elle s'effectue à température ambiante. Elle est généralement utilisée pour extraire les composés sensibles à la chaleur.

**3. La décoction :** Cette méthode consiste à réaliser l'extraction à température d'ébullition du solvant. Contrairement à la macération dans laquelle le solvant d'extraction est à température ambiante (Muanda, 2010).

#### 4. Le soxhlet :

Le soxhlet est l'un des procédés classiques pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Les inconvénients de cette méthode sont : la longue durée d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économiques mais pose aussi des problèmes sur le

plan environnemental. Etant donné la grande quantité de solvant utilisée, l'étape postérieure d'évaporation/concentration devient limitant (Grigonis et al., 2005; Penchev, 2010).

### **5. L'extraction par sonication :**

C'est une méthode efficace et peu coûteuse. Ses avantages sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Comme le Soxhlet, l'extraction par sonication permet d'utiliser une grande quantité de solvant pour obtenir des composés naturels différents (Wang and Weller, 2006 ; Penchev, 2010).

### **6. L'extraction assistée par microondes :**

C'est également une alternative aux méthodes d'extraction conventionnelles. Elle est rapide et n'est pas coûteuse. Elle utilise de plus petites quantités de solvant, Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement élevée (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes lors de l'extraction d'antioxydants (Penchev, 2010).

*Chapitre II : Activités Biologiques*  
*(Antioxydante-Antimicrobienne)*

### 1. Activité antioxydante :

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermie), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé et la production de radicaux dérivés de l'oxygène (Walker et al., 1982).

#### 1.1. Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif, c'est un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes de l'organisme, ce qui provoque des dommages cellulaires irréversibles (Pincemail et al., 1999). Cette perturbation peut avoir diverses origines, telle que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants, des facteurs environnementaux comme la pollution, l'exposition prolongée au soleil, la lumière UV, un contact avec le rayonnement gamma, certains pesticides et solvants, métaux toxiques, exercice intense ou mal géré, consommation excessive de tabac et d'alcool et des médicaments (Poirier, 2004).

#### 1.2. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des molécules qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leurs couches extérieures, ils sont donc très instables (Durand et al., 2013), ce qui les rend fortement réactifs, ils réagissent avec de nombreux composés pour gagner sa stabilité.

Ils sont répartis en espèces réactives de l'oxygène (ERO) et espèces réactives de l'azote (ERN). Les ERO comprennent des dérivées radicalaires : l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), alkoxy ( $RO^{\bullet}$ ), et hydroperoxy ( $HO_2^{\bullet}$ ) ainsi que certains dérivés non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). l'oxygène singlet  $^1O_2$  et le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ) (Favier, 2003).

#### 1.3. Maladies liées au stress oxydant :

Le stress oxydant est la cause de plusieurs maladies telles que la sclérose, le syndrome de détresse respiratoire aigu (Mcguire et al., 1982), le vieillissement accéléré des tissus (Sohal et al., 2002), les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Montagnier et al., 1997).

Il entraîne des complications diabétiques au niveau macro ou micro-vasculaire ainsi qu'une augmentation de la résistance à l'insuline (Sato et al., 1979). Les ERO sont impliqués dans les premières étapes de la progression tumorale (Roberts et al., 2010).

### 1.4. Les antioxydants :

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des radicaux libres. Les molécules contrôlant cette production sont appelées «antioxydant».

Les antioxydants sont des substances qui présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent, significativement, l'oxydation de ce substrat » (Halliwell, 1990), chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques et son environnement.

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes et la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

Les antioxydants peuvent être divisés selon leurs origines : antioxydants synthétiques et naturels.

#### ❖ Les antioxydants synthétiques :

Les antioxydants synthétiques tel que : l'hydroxytoluènebutylé (BHT), l'hydroxyanisolebutylé (BHA) et l'hydroquinone de butyle tertiaire (TBHQ), ils sont très utilisés dans l'industrie alimentaire parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels, mais ils peuvent présenter certaine toxicité (Ribeiro et al., 2001; Marongiu et al., 2004).

#### ❖ Les antioxydants naturels :

Ce sont des molécules exogènes tel que : la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les composés phénoliques, ... etc. (Kohen and Nyska, 2002).

L'activité antioxydante d'un composé phénolique peut être issue d'une combinaison d'évènements chimiques, dont l'inhibition enzymatique, la chélation de métaux, ou bien la donation d'un atome d'hydrogène (Parr and Bolwell, 2000).

## 2. Activité antimicrobienne

Les infections microbiennes sont causées par différents microorganismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues, la thérapeutique de ces infections se base principalement sur l'utilisation des antibiotiques.

Cependant, une mal utilisation de ces antibiotiques conduit à l'apparition de la multirésistance bactérienne (Hemaiswarya et al., 2008), d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles substances actives et efficaces à partir des plantes.

La rareté des maladies chez les plantes sauvages s'explique par l'élaboration d'un système de défense naturelle, qui leur permet de lutter, efficacement contre les pathogènes. Pour se protéger contre les bactéries,

les champignons et les virus, les plantes synthétisent, de manière constitutive, une multitude de molécules antimicrobiennes (Jones and Dangl, 2006; Gibbons, 2008).

Plusieurs études ont été réalisées pour l'évaluation des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales des polyphénols. Les composés appartenant aux acides phénoliques les plus représentatifs de ces effets sont les acides cinnamiques et caféiques et sont particulièrement efficaces contre de nombreuses souches de bactéries, de champignons et de virus (Cowan, 1999; Cheng et al., 2008).

*Chapitre III : Etude Botanique la  
Plante*

## 1. Généralité sur l'espèce étudiée:

*Teucrium polium* est une espèce très variable appartenant à la famille des Lamiaceae. Son nom dérive de l'union du terme Grecs « teucrion », en l'honneur d'un ancien roi troyen qui, selon l'historiographe romain Pliny, fut le premier à l'utiliser à des fins médicales et « polion » signifiant gris, blanchâtre ; se référant à la couleur des fleurs (Venditti et al., 2017). Le genre *Teucrium* fait partie des genres les plus importants de la famille des Lamiaceae, il comprend plus de 300 espèces, présent dans toutes régions et plus spécialement dans la région méditerranéenne.

### 1. 1. Nom de la plante: (Bonnier et al., 1990)

**Nom arabe :** El-Djaada

**Nom français :** Pouliot de Montagne, Germandrée tomenteuse

**Nom en Italien :** Camedrio polio, Canitola polio.

**Nom en espagnol :** Poleomontano, Tomilloterrero, Zamarilla

### 1.2. Classification: (Capasso et al., 1984)

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	Spermatophytes
<b>Classe</b>	<i>Angiospermes</i>
<b>Sous classe</b>	<i>Asteridae</i>
<b>Ordre: Famille</b>	<i>Lamiacées</i>
<b>Genre</b>	<i>Teucrium</i>
<b>Espèce</b>	Polium

### 1. 3. Description botanique:

*Teucrium polium* est une plante vivace herbacée, de 10 à 35 cm de hauteur à tiges nombreuses et ramifiées, révolutées sur les marges. Les feuilles sessiles, oblongues ou linéaires à bords plus ou moins enroulés, régulièrement dentés d'une couleur verte pâle en dessus et blanche en dessous. Les fleurs ont une corolle blanche ou jaunâtre en grappes denses au sommet des rameaux. Leur caractéristique principale est de ne posséder qu'une lèvre la lèvre inférieure regroupant les 5 lobes soudées alors que la lèvre supérieure est absente.

La plante dégage une odeur forte, aromatique, agréable (Quezel and Santa, 1963).



La tige et les feuilles



Les fleurs



La partie végétative

**Figure 13:** Aspect morphologique de *Teucrium polium*.

#### 1. 4. Distribution géographique :

*Teucrium* est originaire du Sud-Ouest d'Asie, d'Europe et d'Afrique du Nord. Elle est présente principalement dans les pays méditerranéens et dans le Moyen-Orient. En Algérie, la plante est assez commune dans l'espace méditerranéo-saharien, plus rare au Sahara septentrional et au Tassili, elle pousse dans les rocailles et secs, les lits arides, les roches et les sables (Abdollahi et al., 2003).

#### 1. 5. Utilisation thérapeutique:

*T. polium* a été employée comme plante médicinale pendant plus de 2000 années. Elle est utilisée comme hypoglycémiant (Esmaeili and Yazdanparast, 2004), diurétique, antipyrétique, diaphorétique, antispasmodique, tonique, anti-inflammatoire, analgésique et antibactérienne (Thoppil et al., 2001).

C'est une plante d'odeur aromatique poivrée utilisée pour relever les salades ou parfumer les fromages de chèvres. L'infusion des feuilles et des fleurs était consommée comme boisson régénératrice (Boullard, 2001).

Elle est utilisée aussi pour combattre les rhumatismes, les troubles gastriques, la fièvre et les mucosités abondantes, et pour la cicatrisation des blessures (Iserin et al., 2007; Rajabalian, 2008).

## 2. Données phytochimiques et pharmacologiques:

### 2.1. Composition chimique :

Plusieurs chercheurs ont évalué la composition chimique de *T. polium* développée dans différents secteurs géographiques. La plupart de ces études, basées sur l'analyse des extraits par les méthodes chromatographiques en phase gazeuse, ont indiqué la présence de plusieurs composés tels que : les flavonoïdes, polyphénols (Proestos et al., 2004, Djabou et al., 2012), iridoïdes, tannins, huiles essentielles et alcaloïdes (Parsae and Shafiee-Nick, 2006).

Les flavonoïdes identifiés sont : luteoline, apigénine, diosmétine (KadifkovaPanovska *et al.*, 2005), cirsimaritrine, cirsilole, cirsilinéol, 5-hydroxy-6,7,3',4'- tétraméthoxyflavone, salvigénine, apigénine 5-galloylglucoside, apigénine-7-glucoside, vicénine, luteoline-7-glucoside (Krache *et al.*, 2017).

Aussi En 2009, six flavones ont été isolés : aglycones: luteoline, apigénine, diosmétine, cirsiliol, cirsimaritrine et cirsilinéol(Stefkov *et al.*, 2009).

## 2.2. Activités biologiques :

Les études réalisées ont démontré certains effets pharmacologiques parmi lesquelles on cite l'action antibactérienne, anti-inflammatoire, anti-ulcérigène, anti-nociceptive, antispasmodique, antidiabétique, diurétique, hypolipidémique, antifongique, cytotoxique (Abdollahi *et al.*, 2003).

### ❖ Anti-nociceptive, antispasmodique :

L'extrait aqueux des parties aériennes de *T. polium* a des effets antispasmodiques et anti-nociceptifs. D'autres études affirment des propriétés antiscérales de son extrait éthanolique contre la douleur. La présence des flavonoïdes et des stérols pourrait être responsable de l'activité anti-inflammatoire de cette plante (Abdollahi *et al.*, 2003 ; Kaileh *et al.*, 2007).

### ❖ Antidiabétique :

L'extrait aqueux de *T. polium* présente un effet hypoglycémiant chez les rats.

La propriété insulino-tropique de cet extrait a été encore évaluée, *in vitro*, en utilisant des îlots pancréatiques de rat (Esmaili., Yazdanparast., 2004). Les données ont montré que l'extrait brut aqueux peut réduire le taux du glucose sérique principalement en augmentant la sécrétion d'insuline par le pancréas par comparaison aux îlots témoins. Cependant, les composés responsables de l'activité hypoglycémique ne sont pas encore élucidés (Rasekh *et al.*, 2001).

### ❖ Antifongique :

L'extrait de *T. polium* est utilisé pour traiter les abcès fongiques (Esmaili., Yazdanparast., 2004).

Ainsi que l'activité antifongique pour les huiles essentielles a été estimée par dilution en milieu liquide. Les résultats ont montrés un pouvoir antifongique très important pour l'H.E de *T. polium* durant la saison de floraison (Dridi *et al.*, 2016).

### ❖ Antipyrétique, Antimicrobien :

L'extrait éthanolique de *T. polium* possède un effet antipyrétique contre la levure et le pyrexia de carragénine. Cependant, l'extrait de *T. polium* a montré une activité antibactérienne contre les bactéries Gram positive et Gram négative. D'autre part, il présente des degrés élevés de résistance à nombreux agents antimicrobiens (Capasso *et al.*, 1984; Aggelis *et al.*, 1998).

#### ❖ Cytotoxique :

Les résultats indiquent que l'extrait éthanolique de *T. polium* présente un potentiel antitumoral très efficace par l'inhibition, *in vivo*, de la génération de colonies de quelques lignées cellulaires en milieu d'agarose et la suppression de leur croissance (Nematollahi-Mahani et al., 2007).

#### ❖ Antioxydante :

L'activité antioxydante a été évaluée par trois méthodes : la mesure de la capacité de piégeage du radical libre DPPH, la mesure du pouvoir réducteur du fer et la méthode au molybdate d'ammonium et pour les trois méthodes, l'acide ascorbique a été utilisé comme standard. Les résultats ont montré une activité antioxydante de l'extrait méthanolique largement plus importante que celle de l'huile essentielle (Dridi et al., 2016).

*2<sup>ème</sup> Partie : Partie  
expérimentale*

# *Chapitre I : Matériels et méthodes*

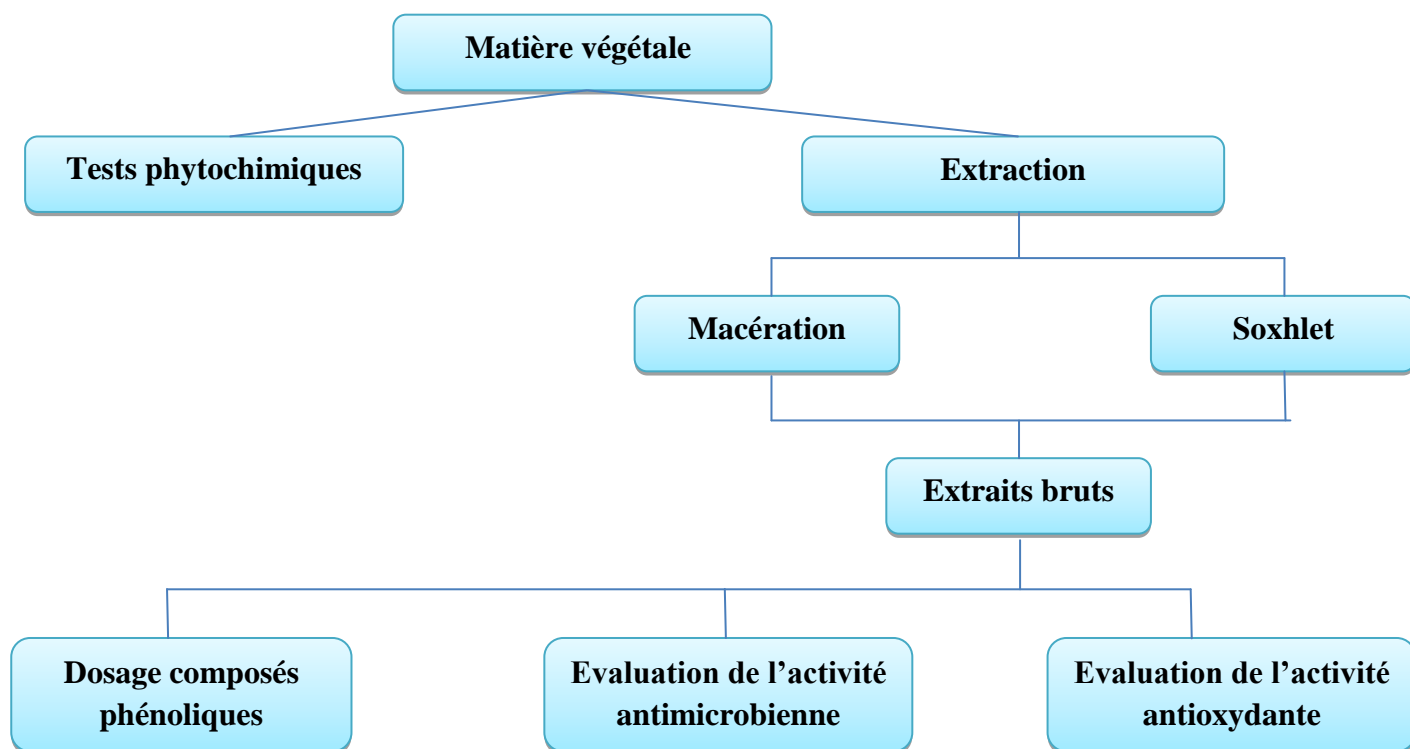


Figure 14: Schéma récapitulatif du protocole expérimental

## 1. Matière végétale :

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de *Teucrium polium*, il a été acheté secs chez un herboriste du centre-ville de Tlemcen, il a été broyé à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre presque fine et conservé dans des flacons en verre jusqu'à son utilisation.



Figure 15: Partie aérienne de *Teucrium polium* broyée.

### 2. Tests phytochimiques :

Le screening chimique est un ensemble de réactions physico-chimiques qui permet de déterminer différents groupes chimiques présents dans la matière végétale. Il est basé sur des réactions de solubilité, de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra violette.

#### 2.1. Flavonoïdes :

Macérer 3g de la matière végétale broyée dans 45ml d'HCl à 1% pendant 24h. Après filtration, prendre 10ml du filtrat, et ajouter NH<sub>4</sub>OH afin de rendre le milieu basique. L'apparition d'une coloration jaune claire indique la présence de flavonoïdes (Dridi et al., 2016).

#### 2.2. Tanins :

Mettre 5g de la poudre végétale dans un erlenmeyer contenant 50 ml d'eau bouillante, Fermer l'erlenmeyer et laisser infuser pendant 15 minutes. Après filtration, ajuster le filtrat à 50 ml.

Verser 5ml de l'infusé dans un tube à essai, ajouter 1ml de FeCl<sub>3</sub> à 1%. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence de tanins catéchiques, une coloration bleue noirâtre indique la présence de tanins galliques (Dridi et al., 2016).

#### La différenciation entre les tanins galliques et catéchiques se réalise par le réactif de Stiasny.

Prendre 30ml de l'infusé, ajouter 15ml de réactif de Stiasny (3ml de formol à 30% 1ml d'HCl concentré), et chauffer au bain-marie à 90°C pendant 30 min. L'observation d'un précipité orange indique la présence de tanins catéchiques, l'absence de précipité combinée à une réaction positive avec le FeCl<sub>3</sub> indique la présence de tanins hydrolysables (Dridi et al., 2016).

#### 2.3. Alcaloïdes :

Macérer 5g de la poudre végétale dans 50ml d'HCl à 1% pendant 24H à température ambiante. Filtrer le mélange et ajouter au filtrat quelques gouttes de réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité orangé indique la présence d'alcaloïdes (Dridi et al., 2016).

- **Réactif de Dragendorff :**

- il s'agit d'un mélange (V/V) de deux solutions A et B :

Solution A : 1.7g de nitrate de bismuth et 20g d'acide tartrique concentré dans 100ml d'eau distillée.

Solution B : 10g de potassium dans 100ml d'eau.

Ajouter au mélange 10g d'acide tartrique et ajuste le volume total à 100 ml d'eau.

### **2.4. Saponosides :**

Dans un bécher, introduire 1g de la poudre végétale avec 40ml d'eau distillée, les chauffer sur une plaque chauffante, filtrer et refroidir la solution. Agiter le filtrat, l'apparition de la mousse indique la présence des saponosides (Fettah, 2019).

### **2.5. Coumarines :**

Mettre dans un erlen 1,5g de matière végétale, 4ml d'éthanol et 2ml de l'eau distillée. Agiter pendant 2min puis filtrer. Prendre 2ml de filtrat et ajouter 0,5ml de NaOH 10%, chauffer jusqu'à l'ébullition, refroidir puis ajouter 4ml d'eau distillée. Ajouter quelque goutte de HCl concentré, la présence de la couleur jaune indique la présence des coumarines (Fettah, 2019).

## **3. Méthodes d'extraction :**

Les méthodes d'extraction que nous avons utilisées sont : la décoction pour l'obtention de l'extrait aqueux, la macération et le soxhlet par trois solvants à polarité croissante il s'agit de l'hexane, chloroforme et de l'éthanol).

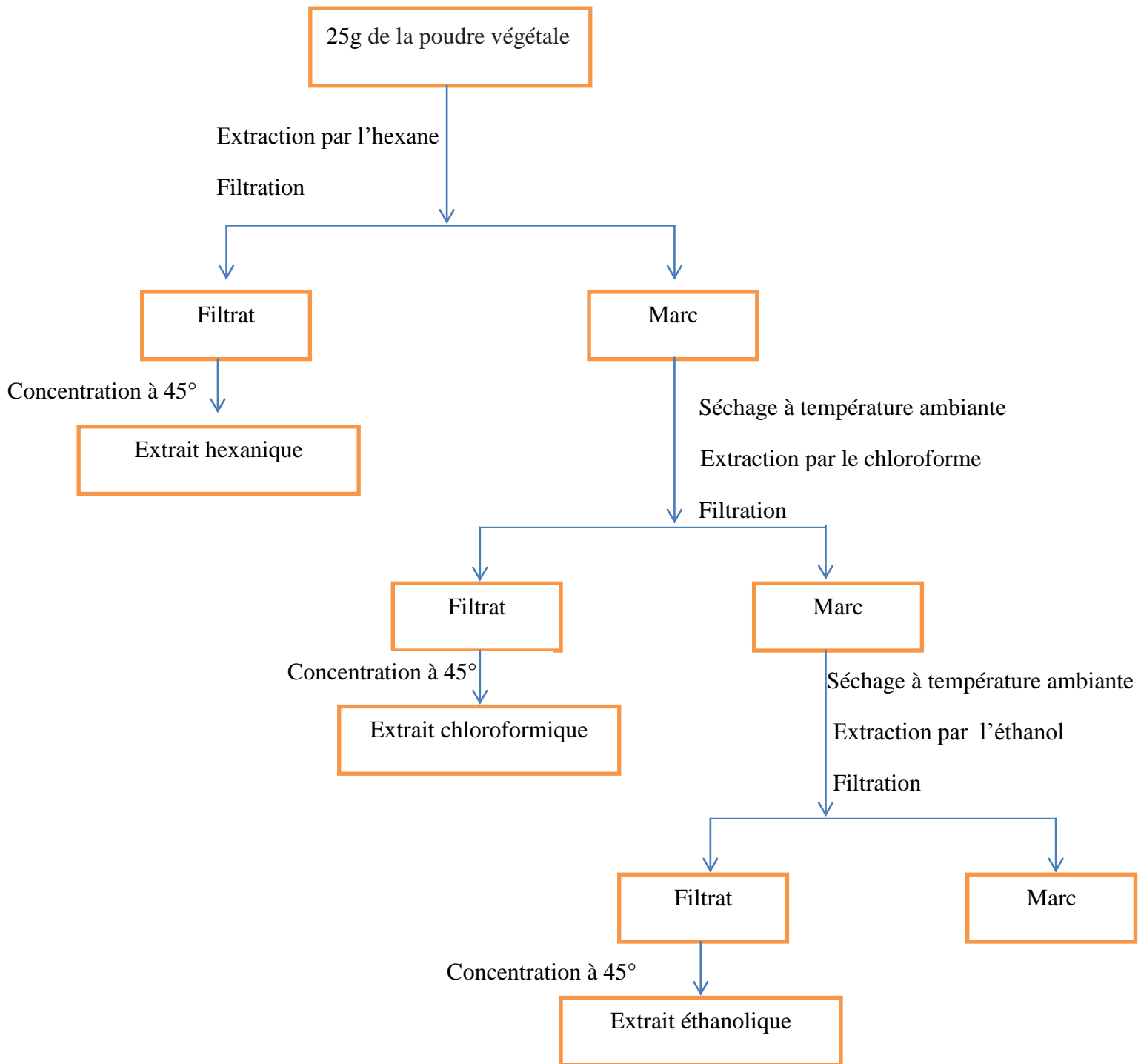
### **3.1. Extraction par décoction:**

10 g de la matière végétale broyée sont mise en contact avec 100ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant environ 30min. L'extrait aqueux obtenu est filtré puis séché dans l'étuve (40°C). Après séchage, l'extrait sec est pesé puis stocké au réfrigérateur à 4°C avant l'utilisation (Othman et al., 2017).

### **3.2. Extraction par macération :**

Les extraits bruts sont obtenus par des extractions successives avec des solvants en fonction de l'ordre croissant de leur polarité. Dans cet ordre, nous avons utilisé trois solvants : hexane, chloroforme, éthanol.

25g de la poudre végétale sont macérées dans 250ml d'hexane pendant 24 h, sous agitation et à température ambiante. La solution hexanique est filtrée, le filtrat est concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à 45°C. Séchage de l'extrait obtenu dans l'étuve puis stockage à 4°C. Le marc est séché à température ambiante, la même opération sera reprise sur le marc séché avec respectivement 250ml de chloroforme et 250ml d'éthanol.



**Figure 16:** Extraction successive avec des solvants organiques de la partie aérienne de *Teucrium polium*.

### 3.3. Extraction par soxhlet :

- **Principe :**

La poudre végétale est placée dans une cartouche en papier filtre insérée dans l'extracteur. Ce dernier est positionné sur un ballon contenant le solvant, puis un réfrigérant est adapté au-dessus de l'extracteur. Lorsque le ballon est chauffé, les vapeurs se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps dans

lequel est insérée la cartouche faisant ainsi, macérer la plante dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, qui entraîne le retour du liquide contenant les substances extraites, dans le ballon (Handa, 2008, Allal).

### ▪ Mode opératoire :

10 g de matière végétale broyée (partie aérienne) sont extraites par 100 ml d'hexane. Après 5h d'extraction par soxhlet, l'extrait obtenu est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, pesé puis stocké au réfrigérateur jusqu'à utilisation.

La poudre végétale sera ensuite soumise à une autre extraction dans les mêmes conditions mais avec d'autres solvants, il s'agit de chloroforme et de l'éthanol.



**Décoction**



**Macération**



**Soxhlet**



**Evaporation**

**Figure 17:** Procédés d'extraction.

## *Chapitre II : Résultats et discussions*

### 1. Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques réalisés sur la poudre végétale, ils nous ont permis de détecter différents familles de composés phénoliques présentes dans la partie aérienne de *Teucrium polium*. Les résultats obtenus pour ces tests sont montrés dans le tableau suivant :

Métabolite secondaire	Résultat
Flavonoïdes	+
Alcaloïdes	+
Tannis	+
Saponosides	+
Coumarines	-

**Tableau 05:** Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne de *Teucrium polium*.

(-) Absence

(+) Présence

D'après les résultats mentionnés dans ce tableau, nous avons remarqué la présence de certains métabolites secondaires dans la partie aérienne de *teucrium polium* tels que : les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et les saponosides par contre l'absence totales des coumarines.

Cette étude qualitative montre que la plante *teucrium polium* est riche en composés phénoliques, ces composé ont des propriétés pharmacologiques diverses; cela explique l'intérêt et l'attention portée par les chercheurs, à travers les études scientifiques sur la plante (Naghibi et al., 2005).

Les alcaloïdes possèdent plusieurs propriétés biologiques (Okwu, 2007) A faible dose, ils sont d'anesthésiques locaux, analgésique, antibiotique, antipaludique antiparasitaire, anti-tumoraux et amoebicides (CHENNI, 2010). Ils ont aussi des effets sur le système nerveux central (Bruneton, 1999).

Les tannins donne un gout amer aux plantes notamment l'écorce ou aux feuilles et les rendent ainsi impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (Teuscher et al., 2005). Ils possèdent une action

thérapeutique liée à l'astringence, des activités antifongique, antibactérienne, antivirale, et antiseptique. Ils ont aussi un effet anti-oxydant (Yessoufou et al., 2013) et hémostatique (Agunu et al., 2005).

Les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoire, hépato-protectrice et diurétique (Park et al., 2008). Les plantes médicinales contenant les flavonoïdes considèrent comme solutions de plusieurs maladies telles que les maladies vénériennes et infectieuses qui peuvent causer l'infertilité féminine (Pouka et al., 2015, Houmenou et al., 2017). Chez les végétaux, les flavonoïdes protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présents dans les sols, protègent les aliments d'origine végétales de l'oxydation (MAKHLOUFI, 2010), comme ils jouent un rôle dans la coloration des végétaux (Ribéreau-Gayon, 1968).

Les saponosides possèdent des propriétés tensioactives, antivirales, antibactériennes et antifongiques; ils présentent aussi des effets protectrices des veines et des capillaires ainsi que des activités oedémateuse et hormonale (Macheix et al., 2005).

Les tanins et les flavonoïdes, parmi les composés qui présentent de puissantes activités antioxydantes qui agissent comme des poubelles à radicaux libres en prévenant et en arrangeant les dommages causés par ceux-ci (Houmènou et al., 2018).

## 2. Extraction :

Trois extraits sont préparés, un extrait aqueux par décoction et deux extraits hexaniques par deux méthodes différentes la macération et le soxhlet, les résultats sont mentionnés dans le tableau suivant :

Extrait	couleur	Aspect
Extrait aqueux	brune	Pâteux
Extrait hexanique obtenu par vert macération		Pâteux
Extrait hexanique obtenu par vert soxhlet		Pâteux

**Tableau 06:** Couleurs, aspects des extraits obtenus de *Teucrium polium*.

## *Chapitre III : Perspectives*

Notre étude a été limitée par de nombreux facteurs dont la durée de l'étude et la situation sanitaire actuelle qui a engendré un retard significatif dans la réalisation des travaux de recherche. En vue d'améliorer la qualité de notre travail, nous avons établis des objectifs à atteindre :

### 1. Calcul du rendement :

Le rendement est le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après évaporation de solvant et la masse de la matière première végétale traitée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante (Bachiri et al., 2016).

$$R(\%) = (M_{Ex} / M_{MV}) \times 100$$

$M_{Ex}$  : masse de l'extrait obtenu après évaporation en (g).

$M_{MV}$  : masse de la matière première végétale en (g).

## 2. Analyse quantitative des composés phénoliques:

### 2.1. Dosage des polyphénols totaux :

#### ▪ Principe :

Le taux des composés phénoliques sera déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu, Ce dernier est un réactif de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Lors de l'oxydation des polyphénols ce réactif est réduit en un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène de couleur bleue. L'intensité de cette couleur est proportionnelle au taux des polyphénols oxydés, présents dans les extraits végétaux dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm (Boizot and Charpentier, 2006).

#### ▪ Mode opératoire :

Mélanger 125 $\mu$ l d'extrait avec 125 $\mu$ l de réactif de Folin- Ciocalteu (10 fois dilué) Après 3 minutes d'incubation, ajouter 1250 $\mu$ l de la solution de carbonate de sodium  $Na_2CO_3$  (75g/l). Ajuster le mélange avec 1ml d'eau distillée et laisser incuber pendant 90 min dans l'obscurité à température ambiante. Mesurer La lecture de L'absorbance à 760 nm (Michel, 2011, Gómez-Caravaca et al., 2006).

Les concentrations des polyphénols totaux seront calculées à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique effectuée parallèlement dans les mêmes conditions opératoires et seront exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EAG/g MS).

### 3.2. Dosage des flavonoïdes :

#### ▪ Principe :

Le taux des flavonoïdes sera déterminé par la méthode de trichlorure d'aluminium et la soude décrite par (Dewanto et al., 2002) et (Kim et al., 2003)

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510nm.

#### ▪ Mode opératoire :

Mélanger 250µl d'extrait dilué avec 75µl d'une solution de NaNO<sub>2</sub> à 5%, laisser le incuber Pendant 6min à température ambiante puis ajouter 150 µl de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>, 10%). Après 5 min d'incubation, additionner 500µl de soude (NaOH, 1M). Ajuster le mélange à 2500µl avec de l'eau distillée. Lire L'absorbance à 510 nm.

La concentration des flavonoïdes, sera déterminée à partir de la gamme d'étalonnage de la catéchine et exprimée en mg d'équivalents catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg CE/g MS).

### 2.3. Dosage des tanins

#### ▪ Principe :

Le dosage des tanins condensés sera réalisé en utilisant la méthode à la vanilline En milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesuré à 500 nm (Sun et al., 1998).

#### ▪ Mode Opératoire :

Mélanger 500 µl d'extrait avec 3 ml de vanilline à 4% et 1,5 ml d'acide Chlorhydrique, laisser incuber pendant 15-20min à température ambiante. Mesurer l'absorbance à 500 nm.

Les concentrations des tanins condensés seront déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage de la catéchine et seront exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg CE/g MS).

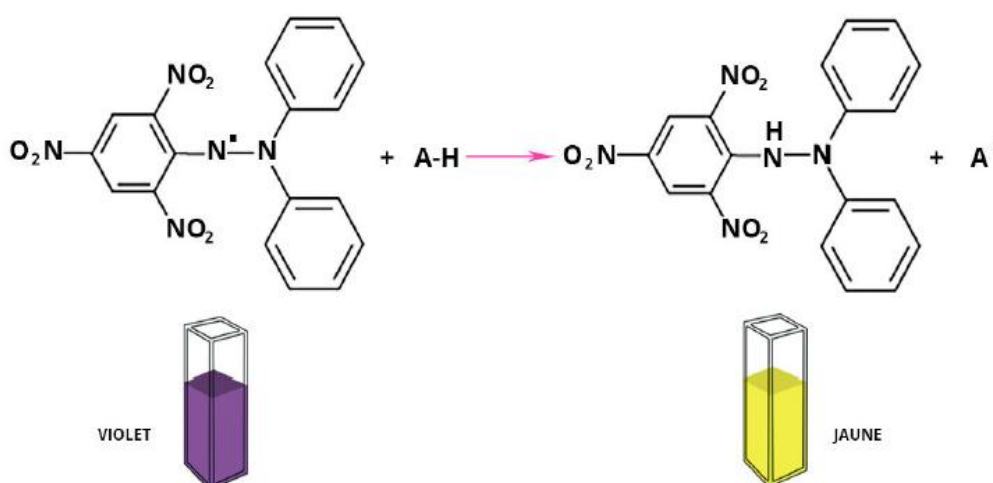
## 3. Activités biologiques:

### 3.1 Evaluation de l'activité antioxydante :

#### 3.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH:

### Principe :

Le DPPH est un radical libre stable, sa présence donne lieu à une coloration violette intense de la solution, qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine, ce qui entraîne une décoloration ainsi qu'une diminution de l'absorbance. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sánchez-Moreno, 2002)



**Figure18** : Réaction de réduction du DPPH en DPPH-H en présence d'un antioxydant (Dridi et al., 2016).

### Mode opératoire :

Le test sera effectué avec la méthode au DPPH (Sánchez-Moreno et al., 1998)

Mélanger 50  $\mu$ L de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (de 1 à 10 mg/mL) avec 1,95 mL de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/L). En Parallèle, préparer un contrôle négatif mélanger 50  $\mu$ L de méthanol avec 1,95 mL de la solution méthanolique de DPPH (sans extrait). Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante, l'absorbance sera lue contre un blanc qui est représenté par le méthanol pour chaque concentration à 517 nm.

Le contrôle positif sera représenté par l'acide ascorbique dont l'absorbance sera mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le test sera répété 3 fois pour chaque concentration.

Les résultats seront exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

### Calcul des pourcentages d'inhibition :

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

% I: Pourcentage d'inhibition

AC : Absorbance du contrôle ;

AT : Absorbance du test effectué.

### Calcul des IC50

L'IC50 ou la concentration inhibitrice de 50 % est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des extraits testés (Scherer and Godoy, 2009, Fabri et al., 2009).

### 3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne:

#### 3.2.1. Activité antibactérienne :

Les activités antibactériennes des extraits seront évaluées par la technique de diffusion sur gélose (méthode de disques) ;

La méthode de disques permet de déterminer la susceptibilité des bactéries aux agents antibactériens. L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 h sur milieu gélosé non sélectif. 3 à 5 colonies bien distinctes sont suspendues dans l'eau physiologique 0.85 %, ensuite, la suspension est ajustée au standard 0.5 McFarland avec un spectrophotomètre à 625 nm qui correspond à une densité optique de 0.08 – 0.1. Donc, la suspension bactérienne contient approximativement  $1 \text{ à } 2 \times 10^8$  UFC/ml.

Des disques en papier filtre Wattman n° 4 de 6 mm de diamètre sont stérilisés par autoclavage, puis imprégnés par une solution d'extrait étudié. Un antibiotique de référence est utilisé pour la comparaison. Le milieu de culture recommandé est la gélose Mueller Hinton à pH 7.2 à 7.4.

L'ensemencement se fait par écouvillonnage de l'inoculum sur la gélose grâce à des stries serrées tout en tournant la boîte à 60° à trois reprises. Ensuite, les disques sont déposés dans les boîtes sur la gélose préalablement ensemencé. Après 15 min de l'application des disques, les boîtes Pétri sont incubées à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 18 à 24 h. La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition uniformément circulaire (mm). Ce test a été répété trois fois.

### 3.2.2. Activité antifongique:

Dans cette méthode, le milieu de culture utilisé est la gélose Sabouraud à un pH de 7.2 à 7.4, ce qui permet de produire des zones d'inhibition visibles.

L'inoculum est préparé par suspension de 5 colonies distinctes d'une culture jeune de 24 h dans 5 ml d'eau physiologique stérile (0.85%). L'inoculum est ajusté au standard 0.5 McFarland par un spectrophotomètre à 530 nm soit une densité optique de 0.12 à 0.15 pour avoir de  $1 \times 10^6$  à  $5 \times 10^6$  cellules/ml. Après 15 minutes de la préparation de la suspension de levures, la surface de la gélose Sabouraud estensemencé par écouvillonnage 3 fois avec une rotation de la boîte de Pétri de 60° pour assurer une bonne distribution de l'inoculum.

Des disques stériles en papier filtre (6 mm) sont imprégnés par une solution d'extrait et sont déposés sur la gélose.

Un antifongique de référence est utilisé. Après 15 min de l'application des disques, les boîtes sont incubées à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 20 à 24 h. La lecture des résultats se fait par la mesure des zones d'inhibition (mm).

La sensibilité des souches testées envers est classée selon les diamètres des halos d'inhibition :

- Diamètre < 8mm: non sensible (-) ou résistante
- Diamètre compris entre 9 à 14 mm: sensible (+)
- Diamètre compris entre 15 à 19 mm: très sensible (++)
- Diamètre > 20 mm: extrêmement sensible (+++)

# *Conclusion*

## Conclusion

---

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Selon l'OMS, plus de 80% de la population mondiale dépendent encore de la médecine traditionnelle pour prendre soin de leur santé.

La région méditerranéenne, en dépit de sa localisation dans une zone tempérée, possède des zones biogéographiques parmi les plus rares au monde et une biodiversité de première importance avec beaucoup de plantes d'intérêt thérapeutique. Près de 25.000 espèces sont présentes, ce qui correspond à 9.2% des espèces identifiées sur un territoire représentant seulement 1.5% de la surface terrestre et un pourcentage très élevé de ces dernières sont endémiques. En Algérie les gens faisaient toujours appel à la phytothérapie, ce qui a permis le maintien d'une tradition thérapeutique vivante en dépit du développement spectaculaire de la médecine moderne.

*Teucrium polium* est une plante de la famille des lamiaceae elle est connue pour sa richesse en métabolites secondaire et ses propriétés thérapeutiques. La partie aérienne de cette plante a fait l'objet d'un criblage phytochimique et des différentes extractions.

Le criblage phytochimique réalisé sur la partie aérienne de *Teucrium polium* nous a permis de mettre en évidence la présence des composés phénoliques, notamment, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et les saponosides dotés de diverses propriétés pharmacologiques.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

1. ABDOLLAHI, M., KARIMPOUR, H. & MONSEF-ESFEHANI, H. R. 2003. Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharmacological Research*, 48, 31-35.
2. AFANAS'eva, I. B., OSTRAKHOVITCH, E. A., MIKHAL'CHIK, E. V., IBRAGIMOVA, G. A. & KORKINA, L. G. 2001. Enhancement of antioxidant and anti-inflammatory activities of bioflavonoid rutin by complexation with transition metals. *Biochemical pharmacology*, 61, 677-684.
3. AGGELIS, G., ATHANASSOPOULOS, N., PALIOGIANNI, A. & KOMAITIS, M. 1998. Effect of a *Teucrium polium* L. extract on the growth and fatty acid composition of *Saccharomyces cerevisiae* and *Yarrowia lipolytica*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 73, 195-198.
4. AGUNU, A., YUSUF, S., ANDREW, G. O., ZEZI, A. U. & ABDURAHMAN, E. M. 2005. Evaluation of five medicinal plants used in diarrhoea treatment in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 27-30.
5. ALAMGIR, A. 2017. *Therapeutic use of medicinal plants and their extracts: volume 1: pharmacognosy*, Springer.
6. ALLAL, A. *Etude phytochimique et activités antioxydantes de quelques extraits d'une plante de la région de Tlemcen: Psoralea bituminosa L.*
7. ALI, M. B., HAHN, E.-J. & PAEK, K.-Y. 2007. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12, 607-621.
8. ANISZEWSKI, T. 2007. *Alkaloids-Secrets of Life:: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*, Elsevier.
9. ATEFEIBU, E. 2002. *Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne de Acacia nilotica var adansonii*. Thèse de pharmacie Université de Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal, 37p.
10. BACHIRI, L., ECHHEGADDA, G., IBIJBIJEN, J. & NASSIRI, L. 2016. Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc: «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 12, 313-333.
11. BENBRINIS, S. 2018. *Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus*.
12. BOIZOT, N. & CHARPENTIER, J.-P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, In: Numéro spécial, 79-82.
13. BOIZOT, N. & CHARPENTIER, J.-P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
14. BONNIER, G., DOUIN, R. & POINSOT, J. 1990. [La grande flore en couleurs]; *La grande flore en couleurs de Gaston Bonnier: France, Suisse, Belgique et pays voisins*, Belin.

## Références bibliographiques

---

15. BOULLARD, B. 2001. *Plantes médicinales du monde: réalités et croyances*, Estem.
16. BRUNETON, J. 1993. Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales.
17. BRUNETON, J. 1999. Pharmacognosie. *Phytochimie. Plantes médicinales, Paris, Ed. Tec-Doc*.
18. BRUNETON, J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). *Tec & Doc/Lavoisier, Paris*, 841-842.
19. BUDIĆ-LETO, I. & LOVRIĆ, T. 2002. Identification of phenolic acids and changes in their content during fermentation and ageing of white wines Pošip and Rukatac. *Food Technology and Biotechnology*, 40, 221-225.
20. CAPASSO, F., DE FUSCO, R., FASULO, M., LEMBO, M., MASCOLO, N. & MENGHINI, A. 1984. Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium* (L.). *Pharmacological research communications*, 16, 21-29.
21. CHENG, S.-S., LIU, J.-Y., CHANG, E.-H. & CHANG, S.-T. 2008. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource technology*, 99, 5145-5149.
22. CHENNI, M. 2010. *Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale: Bryonia dioica Jacq.* Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.
23. CHRISTIANSON, D. W. 2008. Unearthing the roots of the terpenome. *Current opinion in chemical biology*, 12, 141-150.
24. COHEN, A. 1979. Critical review of the toxicology of coumarin with special reference to interspecies differences in metabolism and hepatotoxic response and their significance to man. *Food and cosmetics toxicology*, 17, 277-289.
25. COWAN, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12, 564-582.
26. CROZIER, A., CLIFFORD, M. N. & ASHIHARA, H. 2008. *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*, John Wiley & Sons.
27. DA SILVA, J. A. T. 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of biotechnology*, 3, 706-720.
28. DJABOU, N., MUSELLI, A., ALLALI, H., DIB, M. E. A., TABTI, B., VARESI, L. & COSTA, J. 2012. Chemical and genetic diversity of two Mediterranean subspecies of *Teucrium polium* L. *Phytochemistry*, 83, 51-62.
29. DRIDI, A., HADEF, Y. & BOULOUDANI, L. 2016. Determination of total phenol, flavonoid, antioxidant and antimicrobial activity of methanolic extract of *Teucrium polium* L. *Algerian East. J. Pharmacogn. Phytochem. Res*, 8, 1566-1570.
30. DURAND, D., DAMON, M. & GOBERT, M. 2013. Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48, 218-224.

## Références bibliographiques

---

31. DEWANTO, V., WU, X., ADOM, K. K. & LIU, R. H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 3010-3014.
32. EPIFANO, F., GENOVESE, S., MENGHINI, L. & CURINI, M. 2007. Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68, 939-953.
33. ESCANDAR, G. M. & SALA, L. F. 1991. Complexing behavior of rutin and quercetin. *Canadian journal of chemistry*, 69, 1994-2001.
34. ESMAEILI, M. A. & YAZDANPARAST, R. 2004. Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *Journal of Ethnopharmacology*, 95, 27-30.
35. FABRI, R., NOGUEIRA, M., BRAGA, F., COIMBRA, E. & SCIO, E. 2009. *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource Technology*, 100, 428-433
36. FALLEH, H., KSOURI, R., CHAIEB, K., KARRAY-BOURAOUI, N., TRABELSI, N., BOULAABA, M. & ABDELLEY, C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 372-379.
37. FAVIER, A. 2003. Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
38. FAVIER, A. Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques françaises*, 2006. Elsevier, 390-396.
39. FERNÁNDEZ, M. A., DE LAS HERAS, B., GARCIA, M. D., SÁENZ, M. T. & VILLAR, A. 2001. New insights into the mechanism of action of the anti-inflammatory triterpene lupeol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 1533-1539.
40. FETTAH, A. 2019. *Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra.* UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA.
41. FLOC'H, F., MAUGER, F., DESMURS, J.-R., GARD, A. & BAGNERIS, F. 2002. Coumarin in plants and fruits: implication in perfumery. *Perfumer & flavorist*, 27, 32-36.
42. GHESTEM, A., SEGUIN, E., PARIS, M. & ORECCHIONI, A. 2001. Le préparateur en pharmacie. *Dossier*, 2, 272.
43. GIBBONS, S. 2008. Phytochemicals for bacterial resistance-strengths, weaknesses and opportunities. *Planta medica*, 74, 594-602.
44. GÓMEZ-CARAVACA, A., GÓMEZ-ROMERO, M., ARRÁEZ-ROMÁN, D., SEGURA-CARRETERO, A. & FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220-1234.

## Références bibliographiques

---

45. GRIGONIS, D., VENSKUTONIS, P., SIVIK, B., SANDAHL, M. & ESKILSSON, C. 2005. Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloa odorata*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 33, 223-233.
46. HANDA, S. 2008. An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 1.
47. HALLIWELL, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications*, 9, 1-32.
48. HARBORNE, J. B., BAXTER, H. & WEBSTER, F. X. 1994. Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants. *Journal of Chemical Ecology*, 20, 815-818.
49. HARBORNE, J. B. 1980. Secondary Plant Products: Encyclopedia of Plant Physiology, New Series Volume 8: edited by EA Bell and BV Charlwood. Springer, Berlin, 1980. 674+ xvi pp. DM 198 (café 50). Pergamon.
50. HARKATI, B. 2011. Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae.
51. HASLAM, E. 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of natural products*, 59, 205-215.
52. HEMAISWARYA, S., KRUTHIVENTI, A. K. & DOBLE, M. 2008. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 15, 639-652.
53. HENNEBELLE, T. 2006. *Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiacées productrices d'antioxydants: Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbenacées)*. Lille 1.
54. HODGSON, J. M. & CROFT, K. D. 2010. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Molecular aspects of medicine*, 31, 495-502.
55. HOUMENOU, V., ADJATIN, A., TOSSOU, M. G., YEDOMONHAN, H., DANSI, A., GBENOU, J. & AKOEGNINO, A. 2017. Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement de la stérilité féminine dans les départements de l'Ouémé et du plateau au Sud Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11, 1851-1871.
56. HOUMÈNOU, V., ADJATIN, A., ASSOGBA, F., GBÈNOU, J. & AKOÈGNINO, A. 2018. Etude Phytochimique Et De Cytotoxicité De Quelques Plantes Utilisées Dans Le Traitement De La Stérilité Féminine Au Sud-Benin. *European Scientific Journal*, 14, 156-171.
57. ISERIN, P., MASSON, M. & RESTELLINI, J.-P. 2007. *Encyclopédie des plantes médicinales*, Larousse.
58. JONES, J. D. & DANGL, J. L. 2006. The plant immune system. *nature*, 444, 323-329.
59. KAILEH, M., BERGHE, W. V., BOONE, E., ESSAWI, T. & HAEGEMAN, G. 2007. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *Journal of ethnopharmacology*, 113, 510-516.

## Références bibliographiques

---

60. KANG, J., SU, B. & LU, X. 2005. Synthesis and characterization of coordination compounds of Cd (II), Co (II), Ni (II), Cu (II) and Zn (II) with rutin.
61. KANSOLE, M. M. R. 2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia oppositifolia* et *Orthosiphon pallidus* (Royle) ex Benth.
62. 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. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51, 6509-6515.
63. KOHEN, R. & NYSKA, A. 2002. Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30, 620-650.
64. KORKINA, L. G. & AFANAS'EV, I. B. 1996. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Advances in pharmacology*. Elsevier.
65. KRACHE, I., BOUSSOUALIM, N., OUHIDA, S., AMRAOUI, N., BAGHIANI, A. & ARRAR, L. 2017. Acute and Chronic Effects of Methanolic Extract of *Teucrium polium* on Blood Parameters and Histopathology of Liver and Kidney in Female Rats. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 1-11.
66. LAKE, B. 1999. Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: relevance for human risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 423-453.
67. LUGASI, A. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47, 119-125.
68. MACHEIX, J.-J., FLEURIET, A. & JAY-ALLEMAND, C. 2005. *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*, PPUR presses polytechniques.
69. MAHMOUD, S. S. & CROTEAU, R. B. 2002. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends in plant science*, 7, 366-373.
70. MAKHLOUFI, A. 2010. *Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.*
71. MALECKY, M. 2008. *Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins*. Paris, AgroParisTech.
72. MANACH, C., MAZUR, A. & SCALBERT, A. 2005. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current opinion in lipidology*, 16, 77-84.
73. MARONGIU, B., PORCEDDA, S., PIRAS, A., ROSA, A., DEIANA, M. & DESSÌ, M. A. 2004. Antioxidant activity of supercritical extract of *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* and *Melissa officinalis* subsp. *inodora*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18, 789-792.

## Références bibliographiques

---

74. MCGUIRE, W. W., SPRAGG, R. G., COHEN, A. B. & COCHRANE, C. G. 1982. Studies on the pathogenesis of the adult respiratory distress syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 69, 543-553.
75. MERGHEM, R. 2009. Eléments de biochimie végétale. *Edition Bahaeddine*, 107-133.
76. MICHEL, T. 2011. *Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophae rhamnoides)*.
77. MOHEB, A., IBRAHIM, R. K., ROY, R. & SARHAN, F. 2011. Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation. *Phytochemistry*, 72, 2294-2307.
78. MONTAGNIER, L., OLIVIER, R. & PASQUIER, C. 1997. *Oxidative stress in cancer, AIDS, and neurodegenerative diseases*, CRC Press.
79. MUANDA, F. N. 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Thèse de doctorat en Chimie organique. Ecole doctorale SESAMES Université Paul Verlaine-Metz*, 294.
80. MUROTA, K., MITSUKUNI, Y., ICHIKAWA, M., TSUSHIDA, T., MIYAMOTO, S. & TERAOKA, J. 2004. Quercetin-4'-glucoside is more potent than quercetin-3-glucoside in protection of rat intestinal mucosa homogenates against iron ion-induced lipid peroxidation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 1907-1912.
81. NAGHIBI, F., MOSADEGH, M., MOHAMMADI, M. S. & GHORBANI, A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology.
82. NEMATOLLAHI-MAHANI, S., REZAZADEH-KERMANI, M., MEHRABANI, M. & NAKHAEI, N. 2007. Cytotoxic effects of *Teucrium polium*. On some established cell lines. *Pharmaceutical biology*, 45, 295-298.
83. NSEMI, F. M. 2010. *Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques*.
84. OKWU, D. 2007. NMAP. *Science and Biotechnology*, 1, 90-96.
85. OTHMAN, M. B., SALAH-FATNASSI, K. B. H., NCIBI, S., ELAISSI, A. & ZOURGUI, L. 2017. Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Teucrium polium* L. subsp. *gabesianum* (LH) from Tunisia. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 723-729.
86. ÖZKAN, G., KULEAŞAN, H., ÇELİK, S., GÖKTÜRK, R. S. & ÜNAL, O. 2007. Screening of Turkish endemic *Teucrium montbretii* subsp. *pamphylicum* extracts for antioxidant and antibacterial activities. *Food control*, 18, 509-512.
87. PARK, H.-H., LEE, S., SON, H.-Y., PARK, S.-B., KIM, M.-S., CHOI, E.-J., SINGH, T. S., HA, J.-H., LEE, M.-G. & KIM, J.-E. 2008. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of pharmacal research*, 31, 1303.

## Références bibliographiques

---

88. PARR, A. J. & BOLWELL, G. P. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 985-1012.
89. PARSAEE, H. & SHAFIEE-NICK, R. 2006. Anti-spasmodic and anti-nociceptive effects of *Teucrium polium* aqueous extract. *Iranian Biomedical Journal*, 10, 145-149.
90. PASCAL, C., PONCET-LEGRAND, C., IMBERTY, A., GAUTIER, C., SARNI-MANCHADO, P., CHEYNIER, V. & VERNHET, A. 2007. Interactions between a non glycosylated human proline-rich protein and flavan-3-ols are affected by protein concentration and polyphenol/protein ratio. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55, 4895-4901.
91. PENCHEV, P. I. 2010. *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*.
92. PINCEMAIL, J., MEURISSE, M., LIMET, R. & DEFRAIGNE, J. 1999. L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, cœur, poumons*, 4, 12-23.
93. POIRIER, J. 2004. *L'indispensable pour vivre en santé*, Merlin Éditeur.
94. POUKA, M. K., NGENE, J.-P., NGOULE, C. C., OTTOU, P. M., NDJIB, R. C., DIBONG, S. D. & MPONDO, E. M. 2015. Caractérisation des plantes médicinales à flavonoïdes des marchés de Douala (Cameroun). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9, 1494-1516.
95. PROESTOS, C., SERELI, D. & KOMAITIS, M. 2006. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food chemistry*, 95, 44-52.
96. QUEZEL, P. & SANTA, S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
97. RAJABALIAN, S. 2008. Methanolic extract of *Teucrium polium* L potentiates the cytotoxic and apoptotic effects of anticancer drugs of vincristine, vinblastine and doxorubicin against a panel of cancerous cell lines. *Experimental Oncology*.
98. RAKIPOV, N. 1987. *Biochimie des cultures tropicales* (Ed.) MIR. Moscou.
99. RASEKH, H., KHOSHNOOD-MANSOURKHANI, M. & KAMALINEJAD, M. 2001. Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. *Fitoterapia*, 72, 937-939.
100. RIBEIRO, M., BERNARDO-GIL, M. & ESQUIVEL, M. 2001. *Melissa officinalis*, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. *The Journal of Supercritical Fluids*, 21, 51-60.
101. RIBÉREAU-GAYON, P. 1968. *Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon*, Dunod.
102. ROBERTS, R. A., SMITH, R. A., SAFE, S., SZABO, C., TJALKENS, R. B. & ROBERTSON, F. M. 2010. Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, 276, 85-94.
103. SÁNCHEZ-MORENO, C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8, 121-137.

## Références bibliographiques

---

104. SÁNCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J. A. & SAURA-CALIXTO, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 270-276.
105. SATO, Y., HOTTA, N., SAKAMOTO, N., MATSUOKA, S., OHISHI, N. & YAGI, K. 1979. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. *Biochemical medicine*, 21, 104-107.
106. SCHERER, R. & GODOY, H. T. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food chemistry*, 112, 654-658.
107. SEYOUM, A., ASRES, K. & EL-FIKY, F. K. 2006. Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67, 2058-2070.
108. ŠKERGET, M., KOTNIK, P., HADOLIN, M., HRAŠ, A. R., SIMONIČ, M. & KNEZ, Ž. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89, 191-198.
109. SMYTH, T., RAMACHANDRAN, V. & SMYTH, W. 2009. A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents*, 33, 421-426.
110. SOHAL, R. S., MOCKETT, R. J. & ORR, W. C. 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 575-586.
111. STEFKOV, G., KARAPANDZOVA, M., STEFOVA, M. & KULEVANOVA, S. 2009. Seasonal variation of flavonoids in *Teucrium polium* L.(Lamiaceae). *Maced Pharm Bull*, 55, 33-40.
112. SUN, B., RICARDO-DA-SILVA, J. M. & SPRANGER, I. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46, 4267-4274.
113. TEUSCHER, E., ANTON, R. & LOBSTEIN, A. 2005. *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*, Tec & Doc.
114. THOMPSEN, J. C. & MOTTOLA, H. A. 1984. Kinetics of the complexation of iron (II) with ferrozine. *Analytical chemistry*, 56, 755-757.
115. THOPPIL, J., MINIJA, J., TAJO, A. & DEENA, M. 2001. Antimicrobial activity of *Teucrium plectranthoides* Gamble essential oil. *Journal of Natural Remedies*, 1, 155-157.
116. VENDITTI, A., FREZZA, C., TRANCANELLA, E., ZADEH, S. M. M., FODDAI, S., SCIUBBA, F., DELFINI, M., SERAFINI, M. & BIANCO, A. 2017. A new natural neo-clerodane from *Teucrium polium* L. collected in Northern Iran. *Industrial crops and products*, 97, 632-638.
117. WANG, L. & WELLER, C. L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300-312.
118. WALKER, J. E., SARASTE, M., RUNSWICK, M. J. & GAY, N. J. 1982. Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The EMBO journal*, 1, 945-951.

## *Références bibliographiques*

---

119. YESSOUFOU, A., GBENOU, J., GRISSA, O., HICHAMI, A., SIMONIN, A.-M., TABKA, Z., MOUDACHIROU, M., MOUTAIROU, K. & KHAN, N. A. 2013. Anti-hyperglycemic effects of three medicinal plants in diabetic pregnancy: modulation of T cell proliferation. *BMC complementary and alternative medicine*, 13, 77.
120. ZOHRA, B. F. & NASSIMA, M. 2015. *Etude des propriétés antimicrobienne de Marrubium Vulgare L. et Teucrium polium.*