

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET  
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE CONSTANTINE 1



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة قسنطينة 1

N° de série :

.....

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

*Département de Biologie et Ecologie Végétale*

*Année universitaire 2013/2014*

*Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention*

*Du Diplôme de Master*

*Filière : Biologie et physiologie végétale*

*Option : Métabolisme secondaire et molécules bioactives*

*Thème :*

*Etude phytochimique et biologique de la plante*

*Satureja calamintha*

*Présenté par :*

**BENKHEDIMALLAH ROKIA**

**KISMOUN SOUMIA**

*Soutenu le : 2 3/06/2014*

*Devant le jury :*

- *Président : Mme. Chaib Gania // M.C.B. Université Constantine 1*
- *Promoteur : Mr. Chibani Salih // M.C.B. Université Constantine 1*
- *Examinatrice : Mme. NebachSalwa // M.A.A. Université Constantine 1*

# *DEDICACE*

*A la personne que j'ai tant aimé qu'il assiste à ma soutenance, le regretté : mon chère père.*

*A ma très chère mère qui a toujours été là pour moi, et qui m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, j'espère qu'elle trouvera dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

*Aux deux personnes qui comptent le plus pour moi au monde, avec qui j'ai tous partager, mes frères : Oussama et Youssef.*

*A mes tantes et à mes oncles.*

*A chaque cousin et cousine.*

*A mes amies : Soumia, Imen, Dounia et Nesrine .*

*Je dédie ce travail*

*ROKIA*



# DEDICACE

*Dieu soit loué d'avoir accepté mes prières et celles de ma famille pour cette victoire, « Joie de la réussite » que au monde ne peut atteindre ce rêve, Merci Dieu.*

*A mes grands-parents symbole de sacrifice, de tendresse et d'amour, Djedi, Mimi sont les moindres sentiments que je puisse vous témoigner. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour vos grands sacrifices que vous avez faits à mon frère Dawoud et à moi.*

*Aucune dédicace ne se pourrait exprimer mes grandes admirations, mes considérations et mes sincères affections pour vous, que Dieu vous protège et vous garde à nous supporter.*

*A mama : source de l'amour et de tendresse et de compréhension, nos efforts Mima que vous avez consentis pour nous, rien au monde ne peut les compenser. Thank you mom.*

*A mes oncles, Djamel, Azouz et Khaled*

*A mes tantes : Sabah, Zahia, Salma, Lynda, Sana, Samira, et Malika*



*A mes cousins*

*A mes cousines*

*A mes copines*

*A toi Kouki : pour toute ta gentillesse, ta noblesse, ta douceur pour les jours qu'on a passé ensemble pleins de fraternité et de bonté, Merci habibeti*

*A mes professeurs,*

*A mon adorable professeur.....*

*A mon cousin Mohamed Bendjaballah, Merci de ton aide, de m'avoir supporté dans cette période délicate*

*A la famille Bouandel*

*A tous ceux qui me sont chers et ont une place dans mon cœur.*

فسبحان الذي يعز من يشاء و يذل من يشاء

*Souma*



# *Remerciements*

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination, les deux années de maîtrise nous ont permis de comprendre la signification de cette phrase, ce parcours en effet ne s'est pas réalisé sans défit et soulever de nombreuses questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail.

Nous tenons à la fin de ce travail à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la foi et de nous avoir permis d'en arriver là

Nous remercions infiniment le professeur Mr. Chibani S. (professeur à l'Université de Constantine), dont la disponibilité, le savoir-faire et le soutien ne nous ont jamais fait défaut.

Nous tenons à remercier Melle. Chaib. (Professeur à l'université de Constantine) d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'il trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

On exprime nos profondes gratitude, et nos expressions de reconnaissance à nos chers professeurs Mr. Bakka, Mr. Gharoucha, Mr. Meraihia et Mme. Kaabouch (professeur à l'université de Constantine) pour leur aide et ses conseils précieux le long de notre travail.

Nous tenons à exprimer notre grande considération, et nos profonds respects à Mr. Nabil, Mr. Abbas, Mr. Hichem et Mme. hanan, Mme. Abla et Mme. Widad.

A la fin nos remerciements vont à toute personne qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.



Sommaire

# S O M M A I R E

<b>Introductions générale</b> .....	02
<b>Chapitre I: Synthèse bibliographique</b> .....	03
1. Présentation de la famille des <i>lamiacées</i> .....	04
1.1 Introduction .....	04
1.2. Systématique de lamiacées .....	04
1.3. Caractéristiques morphologiques des Lamiacées .....	05
1.4. Intérêt économique .....	06
2. Le genre <i>Satureja</i> .....	06
2.1. Nomenclature de la plante .....	07
2.2. Description botanique .....	07
2.3. Distribution géographique et habitat .....	08
2.4. Effets et usages thérapeutiques .....	09
2.5. Travaux antérieurs .....	09
<b>Chapitre II : Principales substances actives végétales</b> .....	13
1. Les métabolites secondaires .....	13
2. Les composés phénoliques .....	14
2.1. Les principales classes des composés phénoliques .....	14
2.1.1. Les flavonoïdes .....	16
2.1.1.1. Structure chimique et classification .....	16
2.1.1.2. Activités biologiques des flavonoides .....	20
2.1.2. Les Tanins .....	26
2.1.2.1. Structure chimique et classification des tanins .....	27
2.1.2.2. Activités biologiques des tanins .....	28
3. Les composés Terpénoides .....	29
3.1. Définition de terpénoides .....	29
3.2. Unité de base « l'isoprène » .....	29
3.3. Répartition .....	30
3.4 Localisation .....	30
3.5 Utilisation .....	30
3.6. Classification des terpinoides .....	31
3.7. Utilisations par l'Homme .....	34
3.8. Rôles pour la plante .....	34
4. Les composés azotiques .....	35
4.1. Définition des Alcaloïdes .....	35
4.2. Localisation .....	36
4.3. Classification des alcaloïdes selon la structure chimique .....	36
4.4. Le rôle des alcaloïdes .....	36
4.5.1. Activité antioxydante des alcaloides .....	37
4.5.1.1. Un radical libre .....	37

4.5.1.2. Les antioxydants .....	38
4.5.1.3. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant .....	40
5. Les plantes médicinales .....	40
5.1. Définition de l'aromathérapie .....	41
5.2. Définition de l'huile essentielle .....	41
5.2.1. Composition chimique .....	42
5.2.2. Classification des huiles essentielles .....	43
5.2.3. Localisation et structure histologique des huiles essentielles .....	43
5.2.4. Rôle des huiles essentielles .....	44
5.2.5. Obtention des huiles essentielles .....	44
6. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM) .....	46
<b>Chapitre III : Matériel et méthodes</b> .....	<b>49</b>
1. Matériel végétal .....	49
1.1. Présentation de la zone d'étude .....	49
1.2. Récolte du matériel végétal .....	49
1.3. Conservation de la plante .....	50
2. Les tests phytochimiques .....	50
2.1. Epuisement du l'extrait végétal hydro-alcoolique (7:1) .....	50
2.1.1. Criblage des Flavonoïdes .....	50
2.1.2. Criblage des Tanins .....	51
2.1.3. Criblage des Alcaloïdes .....	52
2.1.4. Criblage des Saponosides .....	52
2.1.5. Criblage des Stérols et Stéroïdes .....	53
2.2. Epuisement du l'extrait végétal Chloroformique et Etherique .....	53
2.2.1. Criblage des Anthraquinones .....	53
2.2.2. Criblage des Quinones .....	54
2.2.3. Criblage des Hétérosides Cyanogénétiques .....	54
3. Extraction des Métabolites Secondaires .....	54
3.1. Le principe .....	54
3.2. L'objectif .....	54
3.3. Protocole général d'extraction .....	54
4. Techniques d'extraction des huiles essentielles .....	56
5. La Chromatographie Analytique sur Couche Mince (CCM) .....	56
5.1. Principe .....	57
5.2. Mode opératoire .....	57
5.2.1. Préparation de la phase stationnaire (fixe) .....	57
5.2.2. Préparation de la phase mobile (éluant) .....	57
5.2.3. L'extrait : phase méthanolique .....	57
5.3. Le dépôt .....	58
5.4. Le développement des plaques .....	58
5.5. La révélation .....	59

6. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (En anglais Gas Chromatography-Mass Spectrometry ou GC-MS) .....	59
7. Dosage des phénols totaux .....	59
8. Activité Anti-Oxydante .....	61
8.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH .....	61
8.2. Expression des résultats .....	61
9. Pouvoir Antimicrobien .....	62
9.1. Etude de l'activité antibactérienne .....	62
9.1.1. Identification et isolement des souches .....	62
9.1.2. Stérilisation du matériel .....	63
9.1.3. Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne (test de sensibilité) .....	63
9.1.4. Lecture des antibiogrammes .....	64
9.2. Etude l'activité antifongique .....	64
<b>Chapitre IV : Résultats et discussion</b> .....	<b>66</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>86</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>88</b>

Introduction

générale

## **Introduction générale**

Depuis longtemps, les plantes ont présenté un rôle très important pour l'humanité, car elles peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes dotées souvent d'activités biologique potentielles. Elles constituent de merveilleuses usines végétales qui nous donnent la joie de guérir par un geste thérapeutique (**Jean., 2006**).

A l'instar de nombreux pays et contrées, l'Algérie possède une flore abondante, riche et variée dans laquelle il a été dénombré de nombreuses espèces aromatiques susceptibles de fournir des huiles essentielles.

De même, les hydrolats, sous-produits de l'hydrodistillation des végétaux sont devenus une valeur montante du marché au vu de leur importance notamment en aromathérapie.

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mise au profit dans l'alimentation, comestibilité et pharmacie ; parmi ces composés on trouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapie. C'est pour cela que l'industrie pharmaceutique se tourne vers la nature et a entrepris une vaste étude sur le terrain pour un répertoire des plantes les plus prometteuses parce qu'il est nécessaire aujourd'hui de valider l'usage traditionnel de ces plantes et d'évaluer scientifiquement leurs activités pharmacologiques retenus (**Bohrom., 1997**)

Toutefois, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydantes et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connues dans la médecine.

Le présent travail rentre dans le vaste cadre de la recherche de nouvelles substances naturelles extraites du règne végétal, et l'étude de leurs activités biologiques, antioxydantes et antimicrobiennes.

Chapitre I :  
Synthèse  
bibliographique

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

### 1. Présentation de la famille des *Lamiacées*

#### 1.1. Introduction

La famille des Lamiacées (*Lamiaceae*) ou Labiées (*Labiatae*) est une importante famille de plantes dicotylédones. Elle comprend environ 4000 espèces et près de 210 genres (**Naghbi et al., 2005**), dont le genre *Satureja* est étudié dans le présent travail.

Cette famille comporte de nombreuses plantes exploitées pour leurs essences ou cultivées pour l'ornementation. La plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (**Judd et al., 2002**).

Les représentants de la famille des Lamiacées contiennent une très large gamme de composés comme les terpénoïdes, les iridoïdes, les composés phénoliques, et les flavonoïdes. Les huiles essentielles et plus précisément les courtes chaînes des terpénoïdes sont responsables de l'odeur et la saveur caractéristiques des Lamiacées (**Naghbi et al., 2005**).

#### 1.2. Systématique de lamiacées

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

Règne : Végétal

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

- Classification des Lamiacées selon (**Cronquist, 1989**) :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

### 1.3. Caractéristiques morphologiques des Lamiacées

Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et rarement des arbres ou des lianes, producteurs d'huiles essentielles, largement répandus autour du monde dans tous les milieux.

La forme de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille. Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige et les feuilles opposées sont aussi des caractéristiques spécifiques. De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes mellifères, fréquentées par les abeilles.

- **Plantes herbacées**, rarement ligneuses, souvent velues, à tige généralement quadrangulaire.
- **Feuilles opposées**, disposées en paires se croisant d'un nœud à l'autre (= décussées), dépourvues de stipules, à limbe généralement denté.
- **Inflorescence** : fleurs en cymes, souvent réunies en faux-verticilles étagés, axillaires ou terminaux, rarement fleurs isolées.
- **Fleurs** Zygomorphes généralement hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire.
- **Calice** à 5-12 lobes égaux ou disposés en 2 lèvres.
- **Corolle** généralement caduque, constituée d'un tube se terminant par 4 ou 5 lobes, soit subégaux, soit formant une lèvre inférieure (la supérieure étant très réduite), soit le plus souvent formant 2 lèvres. Par tube de la corolle, il faut entendre la partie basilaire, plus ou moins cylindrique, de cet organe.
- **Étamines** insérées sur le tube de la corolle, soit accompagnées parfois de 2 autres étamines stériles et réduites, soit 4, en 2 paires souvent inégales. La forme et la position des étamines comme celles des lobes de la corolle jouent un rôle important dans la détermination et ne s'apprécient bien qu'à l'aide de matériel frais : on notera tout particulièrement si les étamines dépassent nettement, ou non, les lobes de la

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

corolle. La couleur de celle-ci et l'odeur de la plante au froissement doivent également être notées sur des exemplaires frais.

- **Carpelles:** deux, soudés entre eux, ovaire supère, à 4 ovules, 1 style bifide naissant le plus souvent entre les lobes de l'ovaire.

À la fructification, une fausse-cloison divise chaque carpelle en deux, formant ainsi un tétrakène,

Les Lamiacées possèdent souvent des poils glanduleux et des glandes sous-épidermiques à huiles essentielles les rendant très odorantes.

Chez diverses espèces de cette famille, existent fréquemment dans les populations naturelles, à côté d'individus hermaphrodites, des plantes dont toutes les fleurs (ou parfois seulement une partie d'entre elles) sont exclusivement femelles ; celles-ci présentent des étamines avortées ou rudimentaires (**Caroline et al., 2003**).

### 1.4. Intérêt économique

Cette famille est une importante source d'huiles essentielles, d'infusion et d'antibiotiques naturels pour l'aromathérapie et la parfumerie, même si les parfums de synthèse tendent à remplacer ces essences (**Fabienne, 2006**).

L'industrie des cosmétiques utilise également les Lamiacées pour leurs propriétés hydratantes et souvent antiseptiques.

On y rencontre beaucoup d'espèces cultivées comme plantes condimentaires (sauge, thym, basilic, menthe etc.

On y trouve aussi des plantes ornementales par exemple tant en extérieur qu'à l'intérieur (**Lambinon et al2012**).

### 2. Le genre *Satureja*

Le nom « *Satureja* » vient du mot latin "saturare" = nourrir ou "satura" = pot à fleurs (ornemental). Il existe plusieurs espèces, toutes sont remarquables par leur odeur forte et aromatique, qui rappelle celle de la menthe (**Várban et al., 2009**).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

### 2.1. Nomenclature de la plante

Nom commun : Sarriette, baume sauvage, pouliot de montagne.

Nom botanique : *Satureja calamintha* subsp. *nepeta* (L.) Briq.

Synonyme : *Calamintha nepeta*

Nom vernaculaire : Nabta, ketéya, menta, tourete.

**Tableau. 01** : Classification classique et moderne de *Satureja calamintha*

	Classification taxonomique classique	Classification taxonomique moderne
<b>Règne</b>	Plantes	Plantae
<b>Sous règne</b>	Plantes vasculaires	Plantes vasculaires
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes	Magnoliophyta
<b>Sous Embranchement</b>	Angiospermes	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones	Magnoliopsida
<b>Sous Classe</b>	Gamopétales	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Lamiales	Lamiales
<b>Famille</b>	Labiées	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Satureja</i>	<i>Satureja</i>
<b>Espèce</b>	<i>S. calamintha</i>	<i>S. calamintha</i>
<b>Sub .sp</b>	<i>S. calamintha nepeta</i>	<i>S. calamintha nepeta</i>

### 2.2. Description botanique

C'est une petite plante vivace qui ne dépasse pas 40 cm de haut au parfum mentholé. Les tiges sont molles et velues, elles portent des feuilles opposées à pétiole moyen légèrement dentées. Les fleurs, visibles de juillet à octobre, d'un joli rose ou pourpres. Elles sont groupées sur un pédoncule commun par deux ou trois (**Fig.1**). Le fruit est formé de quatre akènes ovales et lisses (**Baba Aissa, 2000**).



**Fig.01** : Photo de *Satureja calamintha* subsp. *nepeta*

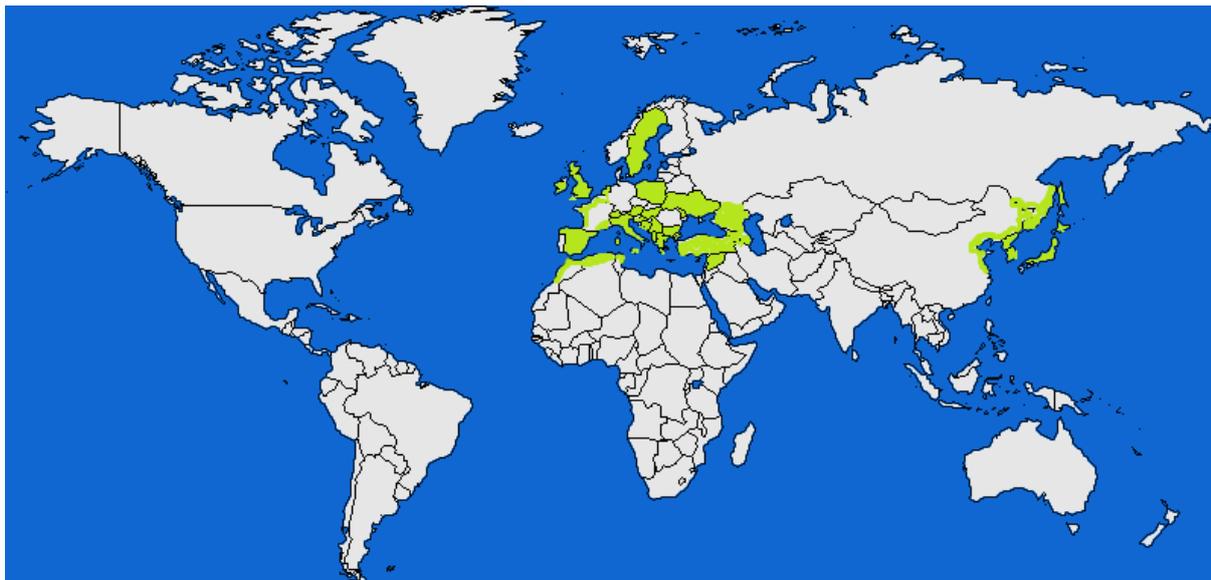
Le 26/12/2013 à la montagne Laaraba Sidi Abdelaziz –Jijel

### 2.3. Distribution géographique et habitat

Le pouliot de montagne pousse à l'état sauvage en Asie, en Europe, et notamment dans le bassin méditerranéen (**Grualbo et al., 1993**).

*Satureja calamintha* est une espèce de plantes vivaces à fleurs. Originaires d'Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie), Asie tempérée : Ouest asiatique (Turquie), du Caucase (Arménie, Azerbaïdjan, Géorgie, Russie, Cis Caucase, Daghestan) (**Fig.02**).

En Europe on la retrouve au Royaume-Uni, en Angleterre, à l'Autriche, la Hongrie, la Suisse, la Moldavie, l'Ukraine, l'Albanie, la Bulgarie, en Grèce, Italie. En Yougoslavie, France, et en Espagne (**Fig.02**).



**Fig.02 :** Carte de répartition géographique de *Satureja calamintha*

On rencontre le genre *Satureja* dans les sous-bois mais aussi sur les terrains incultes, le bord des routes et dans le tell, surtout en montagne, jusqu'à 1500 mètres d'altitude (**Quezel et Santa, 1963**).

### 2.4. Effets et usages thérapeutiques

*Satureja calamintha* est une excellente plante médicinale utilisée par la population locale sous forme de décoction pour traiter la flatulence, l'indigestion et les infections respiratoires bénignes. Cette espèce constitue un bon remède contre la toux et le rhume, souvent mélangée à d'autres plantes, comme le thym (*Thymus vulgaris*), elle favorise la sudation et fait baisser la fièvre.

*Satureja calamintha* est une espèce végétale connue par ses propriétés carminatives, toniques, antispasmodiques, sudorifiques et stomachiques (**Baba Aissa, 2000 ; Lamendin, 2007**).

### 2.5. Travaux antérieurs

Beaucoup de travaux ont été réalisés sur le genre *Satureja* qui est caractérisé par la présence des huiles essentielles, des flavonoïdes, des tanins, des acides phénols (acide rosmarinique, acide caféïques) et des saponines (**Vârban et al., 2009**).

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* a permis de déterminer la teneur la plus élevée en huile essentielle 1,60 % pour *Satureja calamintha* et 1,24 % pour *Satureja alpina*. Les huiles

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

essentielles de *Satureja calamintha* sont caractérisées par la présence du pcyène (20,9 %), du  $\alpha$ -terpinène (18,7 %) et du thymol (34,9 %) comme principaux constituants chimiques, alors que les huiles essentielles de *Satureja alpina* sont formées en majorité par le limonène (11,9 %), l'isomenthone (7,3 %), le néomenthol (6,5 %), la pulégone (25,1 %), la carvone (18%) et l'acétate de thymol (15,3 %) (**Satrani et al., 2001**).

**Fransisco et al., (1988)** ont isolé des flavones lipophiles, 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone (thymonine), et 5,6,4'-trihydroxy-7,3' diméthoxyflavone de tissus superficiels des feuilles de 24 genres appartenant à la famille des *Lamiaceae* y compris le genre *Satureja*.

L'étude de quelques espèces du genre *Satureja* rapporte que *Satureja salzmanii* renferme le 5,6-dihydroxy-7,3',4'-triméthoxyflavone, le 5,6,4'-trihydroxy-7,3'-diméthoxyflavone et la naringénine dans l'espèce *Satureja thymbra*. Alors que, l'espèce *Satureja hortensis* quant à elle contient une quantité importante d'acide rosmarinique (34 mg/g), d'acide caféique, des flavonoïdes glycosides et ainsi que des aglycones libres comme la lutéoline (30 mg/g) (**Ildiko et al., 2009**).

**Gohari et al., (2010)** ont isolé quatre flavonoïdes à partir de la partie aérienne d'une autre espèce *Satureja atropatana* Bonge : le 5,6',3'trihydroxy-7,8,4'-triméthoxyflavone, le 5,6-dihydroxy-7,8,3',4'tetraméthoxyflavone ou le 5-desméthoxynobiletine, le 5,6,4'trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone ou thymonine et lutéoline.

Des études biologiques ont montré que les huiles essentielles de *Satureja calamintha*, *Satureja hortensis*, *Satureja thymbra*, possèdent une activité antimicrobienne due principalement à la présence du thymol, du carvacrol et de l'alpha-terpinéol (**Satrani et al., 2001 ; Gören et al., 2004 ; Mihajilov-Krstev et al.,2009**).

D'autre part, **Michaelakis et al., (2007)** ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja spinosa* L., *Satureja parnassica* subsp. *Parnassica* Boiss., *Satureja thymbra* et *Satureja montana* récolté en Grèce, ainsi que leur activité insecticide vis à-vis du moustique *Culex pipiens*.

En outre, **Hernandez et al., (2000)** rapportent que l'extrait des flavonoïdes de *Satureja parvifolia* poussant à l'état spontané en Argentine, a présenté une activité inhibitrice sur la croissance des microorganismes à Gram positif et à Gram négatif.

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

**Ćetković et al., (2007)** ont montré que l'extrait à l'éther de pétrole de l'espèce *Satureja montana* L. subsp. *Kitaibelii* présente une bonne activité antimicrobienne et aucune activité antioxydante.

**Mchedlishvili et al., (2005)** ont montré que les flavonoïdes isolés à partir de *Satureja hortensis* ont des propriétés hypolipidémiques.

**Bugandoura, (2011)** en Thème du Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha* subsp. *Nepta* (nabta) et *Ajugaiwa* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie a prouvé que le rendement en tanins est supérieur à celui des saponosides dans les feuilles des deux espèces. L'analyse par CCM des fractions de flavonoïdes et des tanins a permis de révéler la présence de la rutine, la catéchine et l'hydroquinone dans les feuilles de *Satureja calamintha*.

**(Abdellah et al., 2013)** ont publié un article pour Afrique Science Revue internationale des sciences et technologie. Ce travail vise l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc. Les constituants chimiques principaux de cette huile essentielle sont : borneol (34.52%),  $\alpha$ -campholenicaldehyde (14.26%), cedren-13-ol (6.45%) et manoyloxyde (3.78%).

**(Bensouici et al., 2013)** ont publié en thème du Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Satureja calamintha* ssp. *Sylvatica* from Jijel, Algeria. La composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* ssp. *sylvatica*, recueillies auprès de Jijel (Algérie orientale), a été analysée par GC et GC/MS. Ont été détectés 23 composantes représentant 94,45 % de l'huile essentielle : isopulégone (66,5%) et la pulégone (11,6%) en tant que composants principaux.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été testée contre 10 des bactéries Gram positives et gram négatives par l'utilisation de la diffusion du disque procédé.

Chapitre II :

Principales substances  
actives végétales

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### 1. Les métabolites secondaires

Le métabolisme secondaire implique les voies métaboliques primaires spécifiques à certain organismes végétaux. Donc les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt intervenaient dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction **(Laurent., 2012).**

Les composés de métabolisme secondaire ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultant de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires. Ces composés ne se trouvent pas dans toutes les plantes **(Laurent., 2012).**

Des découvertes récentes ont montrés que bon nombre d'entre eux ont un rôle défensif pour les plantes. Ils ont des intérêts multiples pour l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie.

Parmi ces composés on trouve les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes. Ces composés se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

Les métabolites secondaires comportent trois types de composés :

- ✓ Les composés phénoliques ou aromatiques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés : les anthocyanidines, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes et les tanins.
- ✓ les composés azotés qui comprennent les alcaloïdes, les glycosides et de l'acide cyanhydrique. Quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine; les terpènes, les poly-isoprènes.
- ✓ Les composés terpénoïdes et leur dérivés.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

**Tableau. 02 :** Les différents composés du métabolisme secondaire

Classes	Origine	Nombre de structure
-Terpénoides	l'IPP (isopentenylidiphosphate), une molécule à 5 C	<b>25000</b>
-Alcaloïdes	Acides aminés	<b>12000</b>
-Molécules phénoliques	Voie de l'acide shikimique et acétate/malonate	<b>8000</b>

### 2. Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (**Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006**).

L'expression « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Bloor., 2001**).

Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique.

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu.

#### 2.1. Les principales classes des composés phénoliques

Une classification de ces substances a été proposée par **Harborne (1980) (Tableau.03)**.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base. Deux principales classes sont largement répandues :

Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques),

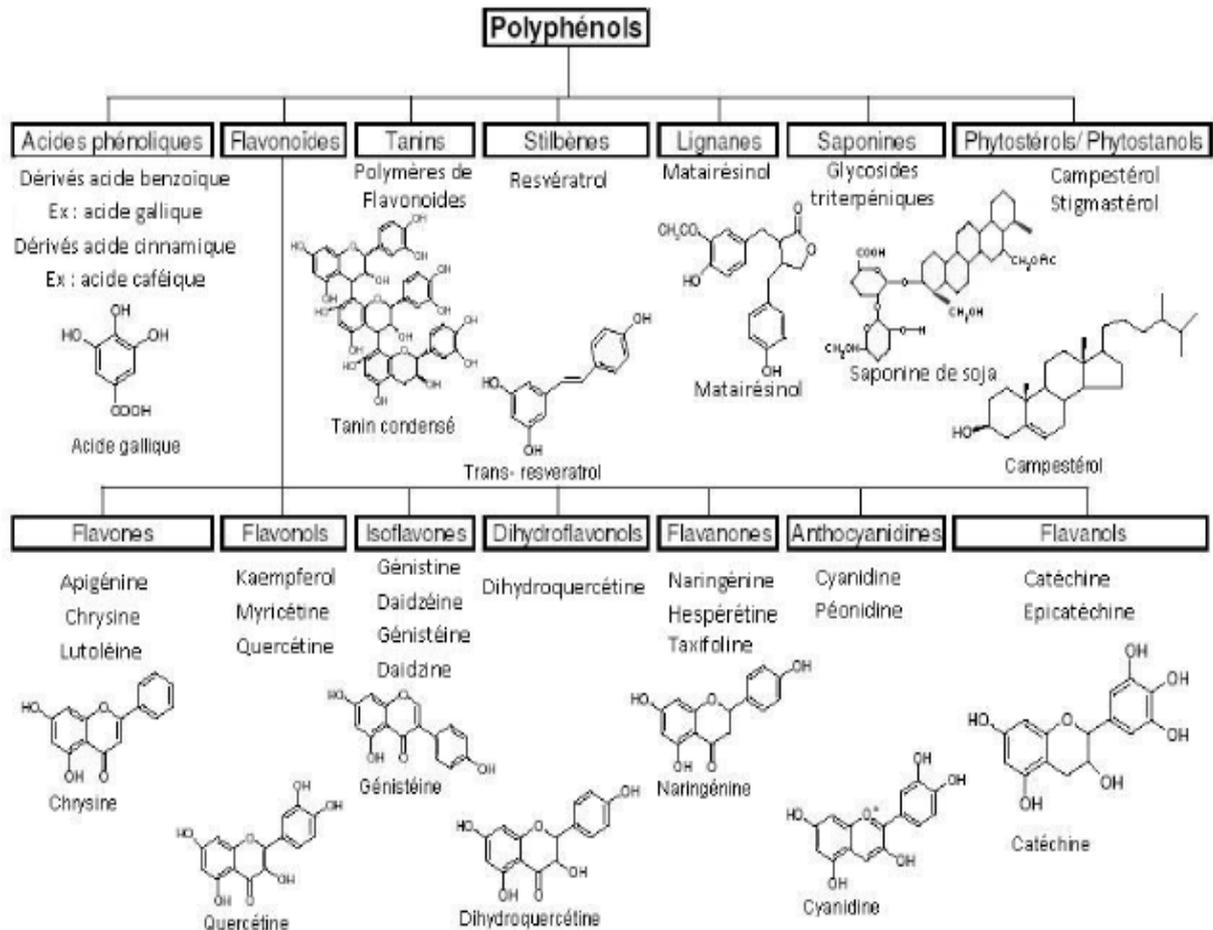
- ✓ Les flavonoïdes.
- ✓ Les tanins et lignines

Plus rares, les coumarines et les stilbènes, ne seront pas décrits en détail ici.

**Tableau. 03 :** Principales classes de composés phénoliques.

Nombre de carbone	Classe	Exemple	Origine
<b>C6</b>	Phénols simples	Catéchol, hydroquinine	Nombreuse espèces
<b>C6-C1</b>	Acides hydroxybenzoïques	<i>P</i> -hydroxybenzoïques	Epices, Fraise
<b>C6-C3</b>	Acides hydroxycinnamiques Phenylpropenes Coumarines Isocoumarine Chromones	Acide caféique, acide Férulique Myristicin, Eugénole Scopolétine Myristicin, Eugénole Eugénine	Pomme de terre Pomme, Citrus
<b>C6-C4</b>	Naphtoquinines Polyphénols	Juglone, Plumbagine	Noix
<b>C6-C1-C6</b>	Xanthones	Mangiferine	
<b>C6-C2-C6</b>	Stilbènes Anthraquinones	Resveratrol Anthraquinones	Vigne
<b>C6-C3-C6</b>	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, Cyanidine Daidzéine	Fruit, Légumes Fleurs, Soja, Pois
<b>(C6-C3)<sub>2</sub></b>	Lignanes Neolignanes	Pinorésinol Eusiderine	Pin
<b>(C6-C3-C6)<sub>2</sub></b>	Biflavonoides	Amentoflavone	
<b>(C6-C3)<sub>n</sub></b>	Lignines		Bois, fruits à noyaux, raisin, kaki
<b>(C6-C3-C6)<sub>n</sub></b>	Tanins condensés		

## Chapitre II : Principales substances actives végétales



**Fig.03** : Structures des polyphénols

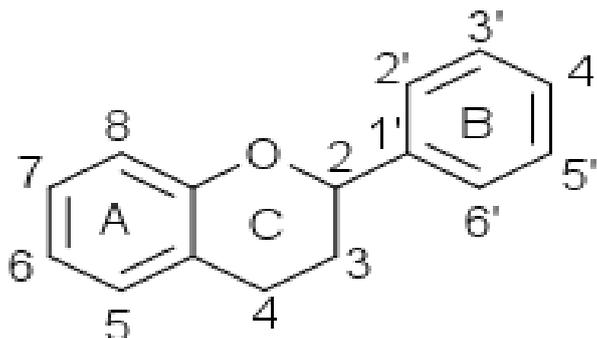
### 2.1.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. En effet plus de 6500 structures ont été identifiées (**Bruneton, 1999 ; Harborne et Williams, 2000**).

#### 2.1.1.1 Structure chimique et classification

Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atome de carbone (C6-C3-C6) constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux), que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C comme le montre la (**Fig.04**) (**Harborne et Williams, 2000**).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales



**Fig.04** : Structure de base des flavonoïdes.

On remarquera qu'afin de distinguer les positions sur l'anneau A et celles sur l'anneau B, la nomenclature normalisée a posé à ces dernières le symbole ' (prime). L'hétérocycle C est attaché au noyau B par une liaison carbone-carbone. De façon générale, les flavonoïdes peuvent être hydroxylés en position 3, 5, 7, 3', 4', 5'et/ou 6'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, ou sulfatés (**Bruneton, 1999**).

Ils existent soit à l'état libre (dans ce cas ils sont dits aglycones ou génines), soit sous forme de C- ou O- glycosides, ce qui tend à les rendre hydrosolubles (ils sont alors liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, le plus souvent aux positions 3 et 7). Ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (**Dacosta, 2003**).

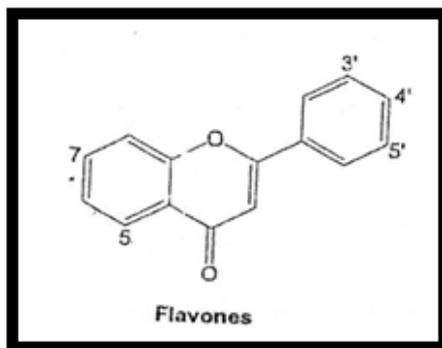
Les flavonoïdes se différencient par le degré d'oxydation de l'hétérocycle C et par les modes d'hydroxylation des anneaux A et B. Dans toutes les classes de flavonoïdes mentionnées ci-dessous, la biosynthèse justifie la présence fréquente d'au moins trois hydroxyles phénoliques en C-5, C-7 et C-4' de la génine ; cependant, l'un d'entre eux peut être absent. Six grandes classes de flavonoïdes peuvent être mentionnées. Les flavones et les flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus, alors que les flavanones, les flavanols, les chalcones et les anthocyanidines sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte (**Bruneton, 1999 ; Harborne et Williams, 2000 ; Havsteen, 2002 ; Dacosta, 2003**).

### a- Les flavones

Le noyau flavone dérivé du noyau flavane de base (dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) par la fixation à la position 4 d'un atome d'oxygène relié au carbone par une double liaison. Les

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

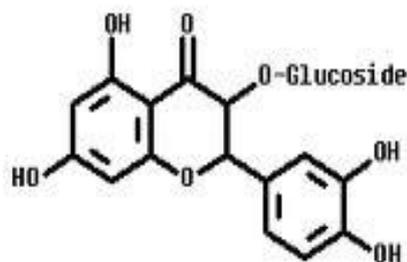
principaux flavones sont : l'apigénine et la lutéoline. Elles ont dans la majorité des cas la forme de glycosides.



**Fig.05** : Structure de base des flavones.

### b- Les flavonols

Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement OH en position C-3. En plus de ce radical OH, les diverses molécules de flavonols en comprennent deux, trois, quatre ou cinq autres. Les flavonols sont beaucoup plus abondants dans le règne végétal que les flavones et leurs concentrations sont plus élevées. Les principaux sont la quercétine, kaempférolet myricétine.



**Fig.06** : Structure de base des flavonols.

### c- Les flavanones

Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2, 3 et par la présence d'un centre d'asymétrie. Elles existent sous forme libre ou sous formes glycosylées. Sous forme libre, les carbones en position 5 et 7 sur le cycle A peuvent être hydroxylées ou méthoxylées. Le cycle B peut aussi être substitué en position 3', 4', 5' et 6'. La principale flavanone est : La naringénine.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

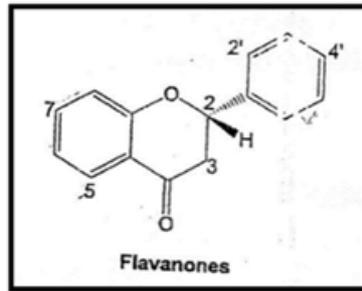


Fig. 07 : Structure de base des flavanones.

### d- Les flavanols

Ils se distinguent des flavanones par l'absence à la position 4 d'un atome d'oxygène relié au carbone par une double liaison la plus rencontré est la catéchine.

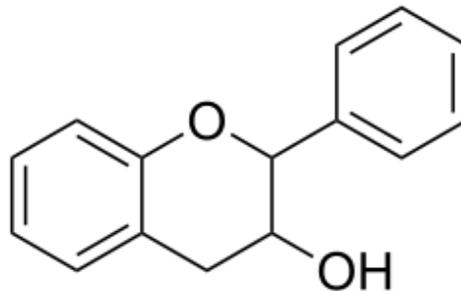


Fig. 08 : Structure de base des flavanols.

### e- Les chalcones

Les chalcones et par défaut les dihydrochalcones sont uniques au sein de la famille des flavonoïdes. Dépourvus du cycle C central, les deux cycles A et B sont reliés par une chaîne tricarbonée cétonique D, E insaturée (saturée dans le cas des dihydrochalcones). Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées. Les plus abondants sont : butéine et phlorétine.

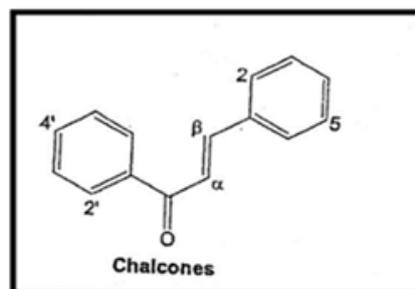


Fig. 09 : Structure de base des chalcones.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### f- Les anthocyanidines

Les anthocyanidines ne possèdent pas de groupe OH à la position 4 et ont une double liaison entre les positions 3 et 4. Les plus importants sont : pélargonidine, cyanidine et péonidine.

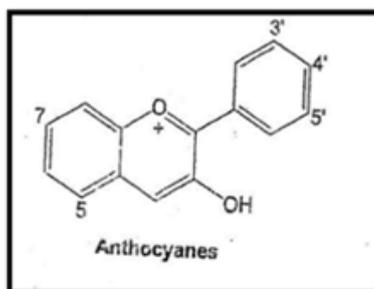


Fig. 10 : Structure de base des anthocyanidines

#### 2.1.1.2. Activités biologiques des flavonoïdes

De nos jours, les propriétés thérapeutiques des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités biologiques et pharmaceutiques.

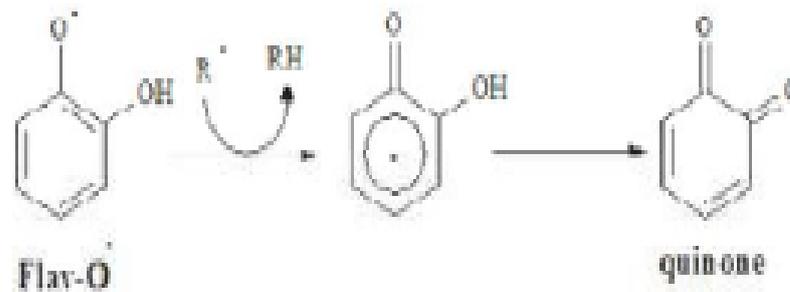
##### a- Effets antioxydants

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et al., 1995).

L'action antioxydante de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production de ROS (Halliwell, 1994 ; Cotelle, 2001).

A cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (Rx), comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyde, par transfert d'hydrogène et le radical flavonoxy (Fl-Ox) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (Jovanovic et al., 1998).

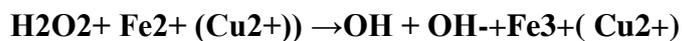
## Chapitre II : Principales substances actives végétales



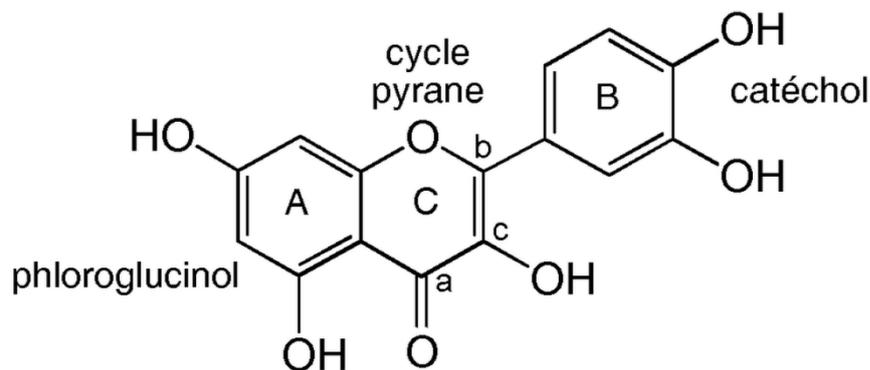
**Fig. 11 :** Piégeage des ROS (R<sub>x</sub>) par les flavonoïdes.

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase qui est une source biologique importante du radical superoxyde (**Hansaki et al., 1994 ; Cos et al., 1998**).

Les flavonoïdes sont aussi considérés comme de bons chélateurs d'ions métalliques (**Brown et al., 1998 ; Dacosta, 2003**), comme les ions du fer (Fe<sup>2+</sup>) et du cuivre (Cu<sup>+</sup>) qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques, mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante:



La quercétine est la plus active des flavonoïdes étudiés. Les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques : (a) un noyau catéchol sur le cycle B, (b) les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, et (c) les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (**Van Acker et al., 1996**).

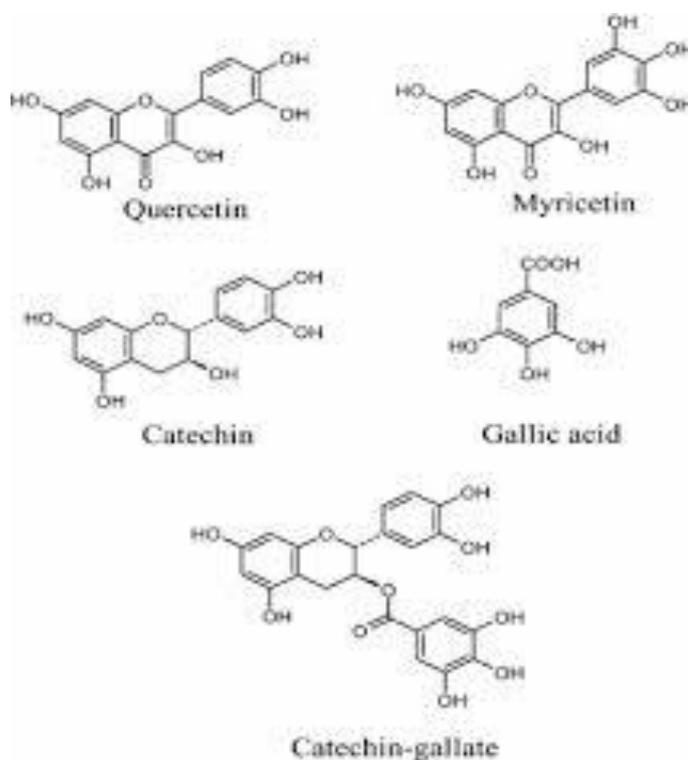


**Fig. 12 :** Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Men<sup>+</sup>) (D'après **Van Acker et al., 1996**)

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

Plusieurs travaux décrivent les relations structures-activités des flavonoïdes (**Rice-Evans et al., 1996 ; Van Acker et al., 1996 ; Harborne et Williams 2000 ; woodman et al. 2005**). Ces travaux permettent de connaître les activités anti-oxydantes de ces molécules en fonction de leurs caractéristiques structurales. En fait, leur activité antiradicalaire nécessite:

- Les molécules possédant une double liaison entre les carbones C2 et C3 et un groupement carbonyle en C4 sont les flavonoïdes dont les activités anti-oxydantes sont les plus marquées, ainsi l'activité de la quercétine (un flavonol) est deux fois plus élevée que celle de la catéchine (un flavan-3-ol). Ceci est dû au fait que la quercétine possède une double liaison C2-C3 et une fonction 4-oxo



**Fig. 13 :** Comparaison entre deux pentahydroxyphénols (**Harborne et Williams 2000**)

- La structure ortho-diphénolique du cycle B (=les groupements hydroxyles en position C3'-C4') ainsi qu'un nombre important de résidus hydroxyles augmenteraient le potentiel antioxydant des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé (**Fuhrman et al., 1995 ; woodman et al. 2005**).

**Rice-Evans et ses collaborateurs (1996)** ont développé un test basé sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cation chromophore, l'activité des flavonoïdes est comparée avec celle du Trolox (une forme soluble de l' $\alpha$ -tocophérol), et exprimée en TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Il est à noter que plus la valeur de TEAC est élevée plus la

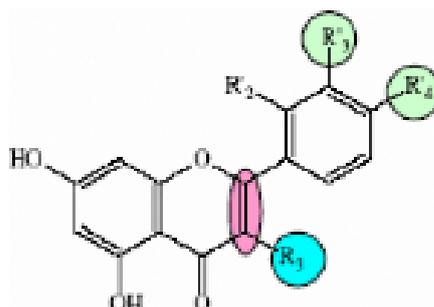
## Chapitre II : Principales substances actives végétales

molécule est active. Les résultats de cette étude ont montré que la morine avec deux groupements hydroxyles en méta et le kaempférol avec un seul groupement hydroxyle sont moins actifs que la quercétine (deux groupements hydroxyle en ortho).

Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. **Rice-Evans et ses collaborateurs (1996)** ont démontré l'importance de ce dernier.

En effet, La glycosylation du groupe 3-OH de la quercétine (cas de la rutine) ou sa suppression (cas de la lutéoline) diminue l'activité antioxydante.

En analysant tous ces résultats concernant la capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres on peut conclure que la quercétine satisfait à tous ces critères, elle dérive du motif flavonol, sa structure particulière lui confère les caractéristiques les plus souvent mises en avant dans l'activité d'un flavonoïde. Elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes (**Rice-Evans et al., 1996**).



**Fig. 14 :** Eléments essentiels pour l'activité anti-oxydante des flavonoïdes (**Rice-Evans et al., 1996**).

### b- Effets antimicrobiens

Les propriétés antimicrobiennes des flavonoïdes vis-à-vis de différents micro-organismes pathogènes ont été mises en évidence (**Jassim et Naji, 2003 ; Taguri et al., 2004 ; Takahashi et al., 2004 ; Yadava et Tiwari, 2005**).

Les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont été rapportés posséder une activité antimicrobienne (**Tereschuk et al., 1997 ; Essawi et Srour, 2000**).

Beaucoup de groupes de recherche ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié la structure des flavonoïdes qui possèdent l'activité antimicrobienne ou ont mesuré l'activité

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

des flavonoïdes disponibles dans le commerce (**Sakar1992 ; Kono et al., 1994 ; Verma et al. 1997 ; Hamilton-Miller et Shah, 2000**).

Les propriétés antibactériennes de propolis ont été attribuées à sa teneur élevée en flavonoïdes (**Grange et Davey, 1990**).

**Sato et ses collaborateurs (1995)**, ont démontré l'effet bactéricide de différentes flavanones sur un staphylococcus aureus.

Une étude plus récente a montré le pouvoir antibactérien d'un flavonoïde glycoside contre des souches de bactéries gram (+) et gram (-)(**Harikrishna et al., 2004**), En raison de la capacité répandue des flavonoïdes d'inhiber la germination des spores pathogènes des plantes, on leur a proposé pour l'usage contre les microbes fongiques pathogènes de l'homme (**Harborne et Williams, 2000**).

Deux nouveaux flavonoïdes, un flavone et un flavanone, respectivement isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été montré comme posséder l'activité contre le microbe pathogène opportuniste *Candida albicans* (**Valsaraj et al., 1997 ; Wachter 1999**).

Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi* ont été rapportés exhiber une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus*, une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseurs (**Zheng, 1996**).

Galangin, un flavonol généralement trouvé dans des échantillons de propolis a été montré avoir l'activité inhibitrice contre *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* (**Afolayan et Meyer, 1997**).

Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Récemment, des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV, empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte (**Mahmood et al., 1993**).

Le mécanisme des effets antimicrobiens des flavonoïdes est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on va citer :

- Inhibition de la synthèse d'acide nucléique (**Hilliard, 1995**),

## **Chapitre II : Principales substances actives végétales**

- Inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique (**Tsuchiya et Iinuma, 2000**),
- Séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne,
- Inhibition du métabolisme énergétique microbien (**Haraguchi et al., 1998**).

### **c- Effets anti-inflammatoires**

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique (acide gras C20:4) se métabolise respectivement en prostaglandines + thromboxane et en leucotriènes, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoires. In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire (**Middleton, 1998 ; Pelzer et al., 1998 ; Yeon, 2001**).

Ils ont même reporté que les effets de la quercétine et la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cyclooxygénase et la lipooxygénase. Cependant à de faibles concentrations, seule la lipooxygénase est affectée. En outre, d'autres flavonoïdes tels que la lutéoline, la morine, l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase (**Laughton, 1991 ; Read, 1995 ; Sánchez de Medina et al., 2002**).

### **d- Effets protecteurs vasculaires**

Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins pour le maintien d'une perméabilité vasculaire normale (**Youdim, 2002**).

Deux flavonoides, l'hespéridine et l'hespérétine (connus sous le terme citro-flavonoides) exercent des propriétés vasorelaxantes (**Orallo et al., 2004**).

D'autres flavonoides, la quercétine et la silybine, sont responsables d'une augmentation de la résistance des capillaires. Cette activité serait en rapport avec les effets de certains flavonoides sur les plaquettes, les leucocytes et sur les enzymes intervenant dans la coagulation sanguine (**Stoclet et al., 2004**).

### **e- Effets antiallergiques**

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ces effets sont attribués à leur influence sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca<sup>++</sup>-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca<sup>++</sup> dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules (Yamamura *et al.*, 1998).

En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur, de la libération d'histamine à partir des mastocytes, supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (Formica et Regelson, 1995).

### f- Autres effets biologiques

Les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire, mais leur action est complexe et demeure encore mal élucidé. A doses élevées, les flavones et flavonols sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T, mais, à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés (Namgoong *et al.*, 1994 ; Middleton, 1998).

Les flavonoïdes peuvent prévenir le diabète ou au moins le réduire en inhibant l'enzyme aldoseréductase. Une étude récente a montré que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques (Ong et Khoo, 2000).

Les flavonoïdes ont été également étudiées pour leurs propriétés anti-tumorales (Birt *et al.*, 2001). Parmi les flavonoïdes naturels anticancéreux, la catéchine témoigne d'une activité remarquable (Bracke, 1991).

Les flavonoïdes sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. La naringine et la quercétine exercent également une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez le rat dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol (Martin *et al.*, 1994)

### 2.1.2. Les Tanins

Les Tanins font partie des métabolites secondaires des plantes supérieures : classés en composés azotés (dont les Alcaloïdes), Terpénoïdes et composés phénoliques, et à la différence des métabolites primaires intervenant directement dans la nutrition et la croissance (acides aminés et nucléiques, lipides et sucres), les métabolites secondaires de la plantes eux participent à la vie de relation de la plante. La synthèse des tanins est ainsi un des mécanismes de défense contre les agressions des phytopathogènes (bactéries, champignons, virus) et des prédateurs (insectes, mammifères herbivores). (Haslam, 1989).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

Le terme " Tanin " (ou Tannin) vient du mot tannage. Les tanins sont des composés polyphénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire entre 500 et 3000, et qui présentent, à côté des réactions des phénols des propriétés de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (*Bruneton, 2009*).

### 2.1.2.1. Structure chimique et classification des tanins

Du point de vue biologique, l'importance des Tanins dans les plantes réside dans leur efficacité comme répulsif des prédateurs (animaux ou microbes). On distingue deux groupes :

#### a- Tanins hydrolysables:

Ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose se plus savants). Ce sont des Tanins galliques, on les trouve dans les noix et les framboises, ils sont très répandus dans les plantes comestibles. (*Mueller, et Harvey, 2006*).

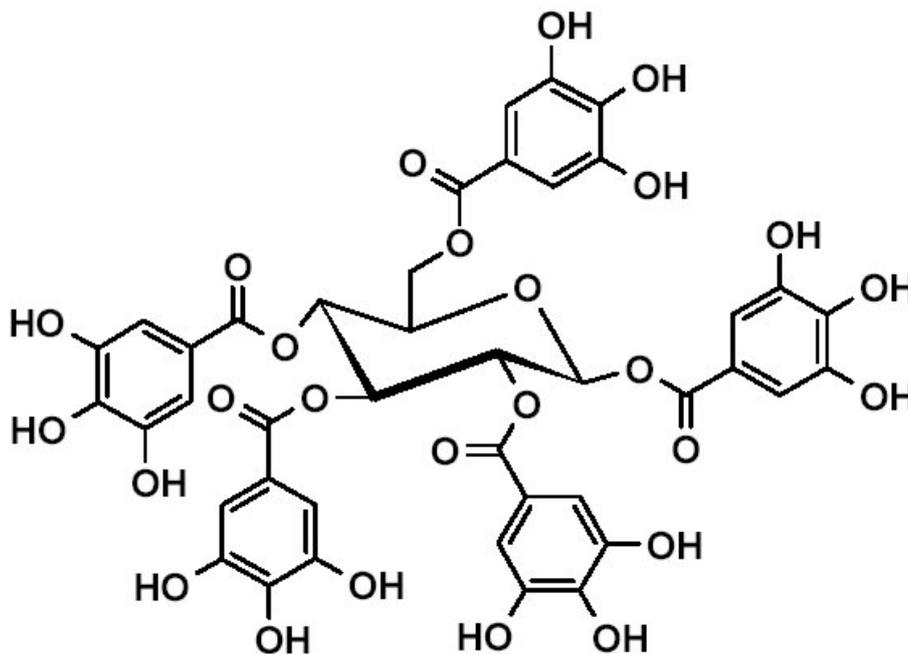


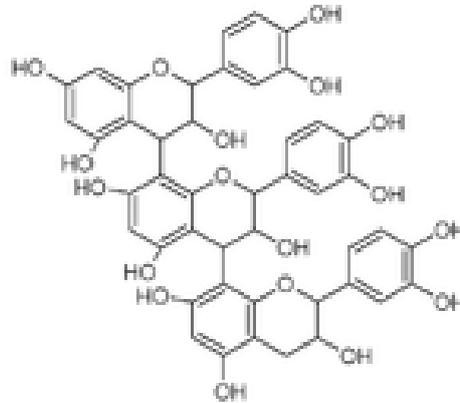
Fig. 15 : Structure générale des tanins hydrolysables

#### b- Tanins condensés

Ce sont des produits du polymère de flavone-3-oles (catechines) et flavane-3,4-dioles (leucoanthocyanidine), ils sont aussi les précurseurs et sur le nom de Tanin catechique le sont hydrolysables dans des conditions fortement acides.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

Nombreux fruits et légumes (raisins, fruits rouges), des boissons tels que le vin et le thé, contiennent des tanins condensés ou proanthocyanidines, ils sont plus complexes que les tanins galliques, ils possèdent un squelette phenyl-2-chromane de flavonoïdes (**Ramírez-Restrepo et Barry, 2005**).



**Fig. 16 :** Structure générale des tanins condensés

### 2.1.2.2. Activités biologiques des tanins

#### a- Effets des Tanins hydrolysables

Les Tanins hydrolysables, de par leur sensibilité à l'hydrolyse acide, vont être hydrolysés dans le tractus digestif des ruminants. Leurs produits de dégradation vont alors être rapidement absorbés par la suite et passer dans la circulation sanguine. Ils sont hépto- et néphro-toxiques responsables d'intoxications sévères allant parfois jusqu'à la mort des animaux ingérant des quantités massives de plantes riches en tanins (**Mueller, et Harvey, 2006**).

#### b- Effets des Tanins condensés :

Les Tanins étaient considérés communément et sans distinction comme des facteurs antinutritionnels ayant un impact négatif sur la santé animale. Les Tanins condensés sont toutefois rarement associés à une toxicité aiguë chez les ruminants. Principale fonction des Tanins c'est : taux de croissance et gain de poids et absorption nutriments, taux ovulation, production et qualité du lait production de laine (**Mueller-Harvey, 2006 ; Ramírez-Restrepo et Barry, 2005 ; Waghorn et Mc Nabb, 2003**).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### 3. Les composés Terpénoides

Terpénoïdes ou Isoprénoïdes constituent une classe de substances naturelles extrêmement abondante. Plus large famille de métabolisme secondaire, en nombre et en diversité, plus de 22 000 composés ont été répertoriés (**Connolly et Hill, 1992**).

De structure principalement répandus dans le règne végétale, elles existent aussi dans une moindre mesure chez les animaux.

#### 3.1. Définition de terpénoides

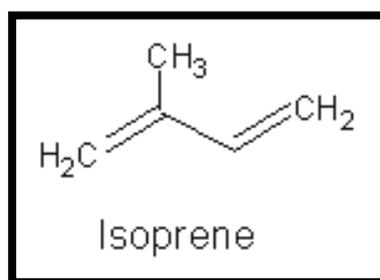
Le terme Terpénoides désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.).

Ce sont des substances du métabolisme secondaire qui dérivent des Isoprenoïdes dont certains interviennent dans la photosynthèse, ainsi que plusieurs hormones végétales sont de structure terpénique. Ce sont des produits hydrocarbonés naturels, de structures soit cyclique soit à chaînes ouverte formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivés du 2-Méthyle butadiène, appelées unités isoprénique (**Hopkins W.G. 2003**).

Le motif de base est l'isoprène qu'on appelle l'isopentenyl pyrophosphate. La dimérisation de ce motif de base donne naissance au géranyl pyrophosphate. La polymérisation conduit à la formation des caroténoïdes (**Roland J.C et F, 2001**)

#### 3.2 Unité de base « l'isoprène »

Toutes les composés de ce groupe prennent naissance à partir d'unités en 5 Carbons (isoprènes) est un chaîne hydrocarbonée insaturée. Cette dernière est ensuite modifiée secondairement par oxydation, par réduction ou par élimination de « C » (**SimicDet al 1997**).



**Fig. 17** : Structure chimique de l'isoprène.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### 3.3 Répartition

La très grande majorité des terpènes est spécifique du règne végétal, mais cette spécificité n'est pas absolue. On rencontre des sesquiterpènes et des diterpènes de structures variées chez les animaux marins (cœlentérés, spongiaires) et il n'est pas certain que les phéromones, monoterpéniques connus chez les insectes soient toutes élaborées à partir de monoterpéniques végétaux, apportés à ces insectes par leur alimentation. Les terpènes les plus volatils c'est à dire ceux dont le poids moléculaire n'est pas trop élevé, sont presque exclusives de l'embranchement des spermatophytes (**Leopoldo Luiz et al., 2006**).

### 3.4 Localisation

Les terpènes sont trouvés dans tous les organes végétaux: fleurs, feuilles, rhizomes, écorces et fruits ou grains. La synthèse des terpènes est généralement associée à la présence de structures histologiques spécialisées, localisées en certains points des autres tissus, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Hopkins W.G. 2003**). Ces formations sont les suivantes:

- ✓ Cellules à essence: Lauraceae, Zingiberacées...
- ✓ poils sécréteurs stipites (Prélargonium) ou sessiles et à tête pluricellulaire (Labiées)
- ✓ poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou schizolysigènes (Rutacées, Burséracées)
- ✓ canaux sécréteurs : Térébinthacées, Ombellifères, Composées (**Hopkins W.G. 2003**)

### 3.5 Utilisation

Les terpènes sont les constituants majeurs de l'huile essentielle. Cependant si l'on peut connaître les effets des monoterpènes ou des sesquiterpènes isolés, les résultats sont difficilement transposables à l'essence, mélange complexe et variable.

Beaucoup de drogues doivent aux composés terpéniques des essences leurs propriétés aromatiques. Les terpènes non-cycliques sont en grande partie responsables de l'odeur suave des plantes et des fleurs et dont quelques-unes employées en parfumeries.

Cette substance possède aussi des propriétés pharmacodynamiques très variées, en relation avec les différents squelettes terpéniques (**Leopoldo Luiz et al., 2006**).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### 3.6. Classification des terpinoïdes

La synthèse d'une grande variété des Terpénoïdes, nom cycliques et cycliques dans les plantes, fait intervenir un nombre variable d'éléments Isoprénique. Suivant le nombre entier d'unités penta-carbonées (C<sub>5</sub>) n ramifiées, dérivées du 2-Méthylebutadiène, on peut faire la classification suivante:

#### a- Hémiterpenes [C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>]

Hémiterpenes ne semblent pas s'accumuler dans les tissus végétaux, Il existe peu naturels ayant une formule de C<sub>5</sub> ramifiée ; hémiterpène constituée un seul l'isoprène à toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes (**Loomis et Croteau, 1980**) ; mais s'avèrent à la place pour être associés à d'autres composés comme des alcaloïdes, des coumarines et des flavonoïdes (**Abdesslam Z, 2006**)

#### b- Monoterpènes [C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>]

Les monoterpènes sont les composés naturels, la majorité étant insaturée hydrocarbures (C<sub>10</sub>). Mais, certains de leurs dérivés oxygénés tels que des alcools, des cétones, et des acides carboxyliques sont connus comme monoterpénoïdes. Les hydrocarbures C<sub>10</sub> à chaînes branchées comporte de deux unités d'isoprène. Ils sont largement distribué en nature avec plus de 400 monoterpènes naturels identifiés ces composées constituent, souvent les sesquiterpènes la plus grande partie des huiles essentielles, c'est leur point d'ébullition peu élevés qui déterminés le caractère volatiles de ces composées (**Gerhard R, 1993**).

D'ailleurs, sans compter qu'être les dérivés linéaires (géraniol, citronello), les monoterpènes peuvent être linéaires ou les molécules cycliques soit monocyclique ou bicyclique. Thujone (un monoterpène) est l'agent toxique trouvé dans l'absinthe d'armoise (l'absinthe) dont à partir la liqueur, absinthe, est faite. Le bornéol et le camphre sont deux monoterpènes communs. Le bornéol, dérivé de l'huile de pin, est employé comme désinfectant et désodorisant. Le camphre est employé en tant que contre irritant, anesthésique, fluidifiant, parmi beaucoup d'autres utilisations. (**Abdesslam Z; 2006 et Gerhard R, 1993**)

#### c- Sesquiterpènes [C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>]

Des sesquiterpènes sont biogénétiquement dérivés du pyrophosphate de farenstyl et dont la structure peut être linéaire, monocyclique ou bicyclique. Ils constituent un groupe très

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

grand de métabolites secondaires, certains qui s'avèrent des composés d'effort formés en raison de la maladie ou des dommages. Lactones de sesquiterpène :

Plus de 500 composés de ce groupe sont connus ; mais se produisent sporadiquement dans d'autres familles. Non seulement se sont-ils avérés être d'intérêt des points de vue chimiques et chémotaxonomique, mais possèdent- également beaucoup d'activités antitumorales, anti-leucémiques, cytotoxiques et antimicrobiennes. Ils peuvent être responsables des allergies de peau chez l'homme et ils peuvent également agir en tant que moyens de dissuasion d'alimentation d'insectes (**Roland J.C et F, 2001**).

### d- Diterpènes [C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>]

Les diterpènes se produisent dans toutes les familles et se composent de C<sub>20</sub> élaborées à partir de 4 unités d'isoprènes ; ils se forment à partir de leur précurseur, le géranyl géranylpyrophosphate (GGPP). Il y a environ 2700 diterpènes connus qui appartiennent à 20 types structuraux importants dans la nature.

Ces composés principalement présents dans les plantes supérieures dans les résines ou les gibbérellines, ainsi que dans les champignons Les gibbérellines et le phytol d'hormones se produisant comme chaîne latérale sur la chlorophylle sont les dérivés diterpenique. La biosynthèse se produit dans les plastides et intéressant les mélanges des monoterpènes et des diterpènes sont les constituants principaux des résines.

D'une façon semblable aux monoterpènes, les diterpènes résultent du métabolisme du pyrophosphate géranylique (GGPP). Des diterpènes acycliques, autre que la famille phytane dans le phytol est représentant le plus connu dans la chlorophylle ou vitamines K et E, ne sont pas généralement accumulés. Certains de ces composés sont des kairomones et des substances pheromonales pour les insectes.

Des diterpènes macrocyclic sont généralement isolés dans des gymnospermes. Les composés sont extrêmement caustiques. Ils ne sont pas cancérigènes, mais quand un animal est exposé aux co-carcinogènes et plus tard aux carcinogènes, l'activité de ce dernier est augmentés. Les propriétés et la co-cancérogénicité caustiques ne sont pas directement liées. Les diterpènes ont une importance thérapeutique limité et sont employés dans certains sédatifs (toux) aussi bien que dans des antispasmodiques et antoxiolytics (**Baricevic D, 2001**).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### e- Sesterpènes [C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>]

Les Sesterpènes sont des composés en C<sub>25</sub>, construits à partir de 5 unités d'isoprènes. L'acide mévalonique (MVA) semble être le précurseur de cette classe. Ils ont été isolés des plantes, des champignons, des insectes, et des éponges. Il y a plus de 150 sesterpènes bien connus, parmi lesquels une trentaine a une structure de furfurane, dérivé du 3-7-11-15-19-penta-méthyleicosane.

### f- Triterpènes [C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>]

Ces constituants C<sub>30</sub> sont produits à partir de deux molécules de farnésylpyrophosphate (FPP) par une fusion de tête-à-tête. Sont abondants en nature il y a plus de 1700 triterpènes

La plus part des triterpènes sont des alcools et forme esters ou glycosides (souvent appelés les saponines - molécules a composé des sucres liés aux stéroïdes ou aux triterpènes - dues à leur capacité de faire les solutés sembler mousseux). Ils sont dérivés essentiellement de l'accouplement de deux précurseurs de sesquiterpène. Il peut être aliphatique, tétracyclique ou pentacyclique. Les tétracycliques incluent les limonoïdes, la formes acyclique étant très rare (**Roland J.C et F, 2001**).

Les triterpènes semble être relativement non-toxique, et 30 à 100 fois plus doux que le sucrose, lui faisant un produit de remplacement potentiel de sucre. la vitamines D<sub>2</sub> est un produit dérivé de Triterpènes (**Roland J.C et F, 2001**).

Les triterpènes du quassinoid classent, comme le bruceantin, ont été montrés pour avoir l'activité antinéoplastique significative chez les systèmes animaux et ont été étudiées pour le traitement des cancers (**Hopkins W.G. 2003**).

### g- Tétraterpènes [C<sub>40</sub>H<sub>64</sub>]

Parmi ces derniers sont les colorants jaunes ou rouge-orange de C<sub>40</sub> de caroténoïde, de ce qu'environ 180 ont été rapportés. Le carotène a été isolé dans des carottes dès 1831. Les plus typiques étant les apocaroténoïdes, les diapocaroténoïdes, les mégastigmanes. Entre 1913 et 1915, l'existence d'un facteur de croissance soluble dans la graisse, maintenant connue sous le nom de vitamine A, a été avérée par des essais d'alimentation être présente en matériaux tels que l'huile de beurre ou de foie de morue (**Abdesslam Z; 2006**).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### h- Polyterpènes [C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>]

Les polyterpènes sont des composés macromoléculaire importants du point de vue technique se constitués de beaucoup d'unités d'isoprène (plus 8 unité d'isoprènes). Se situent au terme de la séquence des réactions de synthèse des isoprènoïde, ces composés terpénoïdes se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis et trans.

Le cis-polyisoprène se trouve dans le caoutchouc indien ; et le polyisoprène-trans est la partie principale de gutta-percha mais en plus Chicle représentés un mélange de 1:2 de deux isomères cis et trans.

Les preylchoinones sont des polyterpènes comptant jusqu'à 10 unités d'isoprènes, parmi eux; on rencontre les vitamines K1 et K2 et la vitamine E (**Gerharde R, 1993**).

### 3.7. Utilisations par l'Homme

De nombreux terpénoïdes ont la particularité de dégager de fortes odeurs, le menthol et le limonène permettent la fabrication d'huiles essentielles. Ils sont utilisés comme antiseptiques et dans certains domaines comme la cosmétique (parfum). Utilisés aussi pour traiter les malades de la respiration (**VALNET, J 2003**).

### 3.8. Rôles pour la plante

Les Terpénoïdes sont pour la plupart des anti-herbivores. Ils ont des effets différents selon la plante, ils peuvent provoquer des convulsions, des allergies de la peau. Ils ont un goût amer et peuvent également inhiber les microsymbioses de l'appareil digestif. Les terpénoïdes contenus dans le latex sont utiles à la plante pour lutter contre les prédateurs. En effet, quand des insectes, comme les chenilles, pénètrent dans l'écorce d'un arbre producteur de latex, celui-ci va réagir en leur envoyant un gel collant. Celui-ci empêche les insectes de se nourrir et ces derniers finissent par mourir de faim. Les terpénoïdes sont également utiles au développement de la plante

- ✓ Les Brassinostéroïdes stimulent la croissance des feuilles.
- ✓ Les Gibbérellines (diterpènes) sont des hormones végétales impliquées dans beaucoup de réponses de la plante, elles provoquent aussi un allongement de la tige et favorisent la floraison.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

- ✓ Les Caroténoïdes, quant à eux, sont impliqués dans la photosynthèse et l'aspect coloré des végétaux (carotte, tomate,...), mais sont aussi précurseurs d'hormones végétales (ABA et strigolactones).
- ✓ Les Huiles essentielles ont une fonction de défense contre les herbivores et les insectes.

Le Taxol, extrait de l'écorce de l'If du Pacifique, est un agent anti-cancéreux. Il inhibe la division cellulaire par stabilisation de la tubuline et du fuseau mitotique. Le latex de l'hévéa permet l'obtention du caoutchouc, utilisé dans de nombreuses industries.

Le Cis-polyisomérique se trouve dans le Caoutchouc, ils sont substances genre de beaucoup d'autres usines ont semblable composition. Chimiquement, le caoutchouc pur est cis-1,4-polyisoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>, bien que dans le normal Énoncer que d'autres matériaux sont présents. Son occurrence est confinée aux dicotylédons, et à celui La source commerciale importante est brésilienne d'hévéa. La gutta-percha est trans-1,4-polyisoprène, mais en plus Le Chiclerreprésente un mélange de 1-2 de deux isomères cis et trans, obtenu à partir du sapota d'Achras, contient un mélange de cis de faible poids moléculaire et des transpolyisoprènes.

### 4. Les composés azotiques

#### 4.1. Définition des alcaloïdes

Le mot alcaloïde en arabe al-kali qui vous dire un alcaloïde est un substance organique d'origine végétale et azotée à caractère alcalin.

Les alcaloïdes sont produit d'origine végétale, molécules organiques hétérocycliques azotées et pharmacologiquement actifs (**Friderich S., 1806 ; Meixni C., 1819**). Les alcaloïdes sont des composés de métabolisme secondaire, il existe environs 12000 répertoriés.

Les alcaloïdes constituent un vaste groupe de substance secondaire et paraissent servir comme moyen de dissuasion chimique contre les prédateurs. Ils se caractérisent par un goût assez amer. Chimiquement ils sont constitués de C, H, O, N. Ce sont essentiellement les acides aminés qui donnent naissance aux Alcaloïdes (**Bruneton J, 1999**).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### 4.2. Localisation

Les alcaloïdes sont stockée dans les cellules végétale aux niveaux de vacuole ils possèdent de nombreux propriétés soit pour la plante, soit pour l'homme (**Bruneton J. 2009**)

### 4.3. Classification des alcaloïdes selon la structure chimique

On divise les alcaloïdes selon la structure chimique en deux grands types:

- Les alcaloïdes hétérocycliques : ils peuvent être monocyclique ou polycyclique, ce sont les plus nombreux.
- les alcaloïdes aliphatiques : pouvant avoir un atome d'azote exocyclique (hétérocyclique)

Les alcaloïdes dérivent de différentes molécules par exemple :

- Les alcaloïdes ce dérivent de la pyridine
- Les alcaloïdes ce dérivent de la pyrodine
- Les alcaloïdes ce dérivent de la quinoléine
- Les alcaloïdes ce dérivent de l'indole (noyau benzopyrrole)
- Les alcaloïdes ce dérivent de la quinolizidine(**Conde Cet al 2007**)

### 4.4. Le rôle des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont plusieurs propriétés principales, et de ce fait ils jouent des rôles très important :

#### a- Le rôle par rapport à la plante

Principale rôle des alcaloïdes est de défendre la plante contre les mammifères et les insectes. Leur mode d'action dépend de l'espèce végétale, certain plantes produisant des nombreuses intoxications et la mort de bétails comme l'espèces « *Lupinus* » et « *Delphinium* ».

Les alcaloïdes sont réduits en molécules non chargées, toxiques en milieu alcalin. Mais quelques insectes ont la faculté de reconvertir les molécules toxiques en molécules non toxiques, ces insectes deviennent alors résistants à l'alcaloïde absorbé et peuvent par la suite les réémettre à leur tour pour se protéger. L'herbivore détourne alors les métabolites végétaux à son profit (**Guignard J.L., 1996**).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### b- Le rôle par rapport à l'homme

De nombreux alcaloïdes sont utilisés en pharmacies comme : morphine, antalgiques. Le tableau suivant représente l'activité des alcaloïdes et les plantes qui produisent ces composés

**Tableau. 04 :** Différent utilisation des alcaloïdes (**Guignard J.L., 1996**).

Molécules	La plante	Organes	Inter de molécules
Nicotine	Tabac ( <i>N tabacum</i> )	Feuille	Vasoconstriction
Caféine	Café ( <i>C arabica</i> )	Graine	Stimulant générale et de la pression sanguine
Atropine	<i>Atropa belladona</i>	Fruit	Soins oculaires
Quinine	Quinquina	Ecorce	Antipaludéen
St rychnine (curare)	Noix vomique	Graines	Effet sur les muscles
Colchicine	Colchique	Fruit	Antimitotique contre la goutte
Alcaloïdes opiaces (morphine)	Pavot	Fruit immature	Analgésique calmant

#### 4.5.1. Activité antioxydante des alcaloïdes

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis à la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert, 2005**).

##### 4.5.1.1. Un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003 ; Vansant, 2004**).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires [Radical peroxyde (ROO), Radical alkoxyde (RO)], se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Novelli, 1997).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène"(ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit [radical superoxyde (O<sub>2</sub>), radical hydroxyl (OH), monoxyde d'azote (NO)], mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante [l'oxygène singulet (O<sub>2</sub>), peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), peroxydinitrite (ONOO<sup>-</sup>)] (Dacosta, 2003 ; Favier, 2003).

### 4.5.1.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (Vansant, 2004).

Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

#### a- Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense (Fig. 19) est constituée de superoxydedismutase (SOD), decatalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Lehucher-Michel, 2001).

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :





## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### 4.5.1.3. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (**Favier, 2003**).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre production de radicaux libres et système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (**Sohal, 2002**).

Le stress oxydant est responsable du dommage cellulaire lié au vieillissement, aux maladies cardio-vasculaires, au cancer et à la plupart des maladies dégénératives. Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols.) (**Kohen et Nyska, 2002**).

## 5. Les plantes médicinales

La matière médicale « Materia Medica » est à l'origine, l'étude de toutes les matières premières naturelles à usage médical. Actuellement encore appelée Pharmacognosie, elle est le plus souvent limitée aux produits bruts d'origine végétale.

En dehors des plantes strictement médicinales, elle étudie aussi :

- ✓ Les plantes toxiques.
- ✓ Certains végétaux alimentaires, comme les plantes à caféine et les épices à propriétés physiologiques marquées, les huiles végétales utilisées en diététique, les fruits riches en vitamines.
- ✓ Les plantes à usage surtout industriel, mais ayant quelques applications en pharmacie: plantes à fibres (cotonnier, chanvre, lin), plantes oléagineuses (Arachide, Ricin, Soja), plantes à parfums (Lavande, Rose, etc...) .

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### 5.1. Définition de l'aromathérapie

Le terme « aromathérapie » est un néologisme créé en 1928 par le chercheur René-Maurice Gatte fossé, terme venant du latin aroma, odeur et du grec therapia, traitement.

L'aromathérapie est une thérapeutique utilisant les essences, les huiles essentielles et les hydrolats aromatiques extraits de plantes aromatiques.

L'aromathérapie est l'utilisation à des fins médicales des huiles essentielles.

Elle fait partie des médecines naturelles, c'est une « niche » de la phytothérapie. Comme en phytothérapie, on distingue deux types d'aromathérapie. Il y a l'aromathérapie de terrain grâce à laquelle l'Homme est considéré dans sa globalité (traitement de fond) et l'aromathérapie symptomatique pour traiter les manifestations ou les causes d'une maladie.

### 5.2. Définition de l'huile essentielle

Nous trouvons différentes définitions d'une huile essentielle dans :

la Pharmacopée européenne 7e édition qui définit une huile essentielle comme un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. » (**Pharmacopée européenne, 2013**).

Selon le Professeur Valnet, père de l'aromathérapie, « l'huile essentielle est la partie atomique de la plante et le concentré de ses propriétés ». Les huiles essentielles sont des assemblages de molécules complexes. Chacune ayant une propriété pharmacologique. Une goutte d'huile essentielle contient en moyenne 150 molécules différentes. On comprend alors aisément qu'une seule huile essentielle puisse avoir plusieurs vertus thérapeutiques donc plusieurs indications. Et inversement que plusieurs huiles essentielles peuvent traiter les mêmes maux.

Les huiles essentielles sont des substances odorantes concentrées, obtenues à partir de plantes par entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation ou expression (pression à froid).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

Le terme “huile essentielle” a été inventé au 16<sup>ième</sup> siècle par le médecin suisse Parascelsus von Hohenheim afin de désigner le composé actif d’un remède naturel. Il existe aujourd’hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l’industrie des arômes et des parfums (**Essawi et al., 2000**).

Les composants des huiles essentielles peuvent être classés également en deux groupes principaux:

- Les hydrocarbures qui consistent les terpènes, tels que monoterpenes, sesquiterpènes, et diterpènes.
- Les composés oxygénés, tels que les esters, les aldéhydes, les cétones et les alcools. Parfois la présence aussi des composés azotés et soufrés (**Raul L., 2005**).

### 5.2.1. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- ✓ le groupe de terpénoïdes .
- ✓ le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. D’après (**Guenter, 1975**)

La structure des composés des huiles essentielles est constituée d’un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d’oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés.

Selon (**Brunton, 1999**) Cette structure varie en fonction du nombre d’atomes de carbone qui les constitue (les monoterpènes, les sesquiterpènes, rarement les diterpènes), du caractère saturé ou insaturé des liaisons, de leur agencement : linéaire ou cyclique, de la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...), de la nature des groupes fonctionnels à savoir :

- Terpènes :  $R_1-HC=CH-R_2$ .
- Alcools terpéniques :  $R-OH$ .
- Cétones:  $R_1-CO-R_2$ .

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

- Phénols : C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-OH .
- Aldéhydes : R-CHO.
- Esters : R<sub>1</sub>-COO-R<sub>2</sub>.
- Ethers : R<sub>1</sub>-O-R<sub>2</sub>

### 5.2.2. Classification des huiles essentielles

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogramme, les huiles essentielles sont classées en groupes.

- Les huiles majeures
- Les huiles médiums
- Les huiles terrains (**Chakou et Bassou, 2007**).

### 5.2.3. Localisation et structure histologique des huiles essentielles

Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle.

- Les fleurs, exemples : oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylang-ylang)
- Les feuilles le plus souvent, exemples : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin
- Les organes souterrains, exemples : racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore)
- Les fruits, exemples : fenouil, anis, épicarpes des *Citrus*
- Les graines : noix de muscade, coriandre.
- Le bois et les écorces, exemples : cannelle, santal, bois de rose.

Les huiles essentielles sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables.

- les poils sécréteurs épidermiques rencontrés souvent chez les Lamiacées, Géraniacées et Verbénacées. Ils produisent les essences dites superficielles.
- les organes sécréteurs sous-cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les Myrtacées, Rutacées, ainsi que des canaux sécréteurs chez les Apiacées.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

La composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement :

- dans une même plante selon les organes (feuille, fleur, fruit, bois)
- dans l'année selon la saison pour une même plante,
- selon les conditions de culture pour une même espèce végétale (ensoleillement, humidité, longueur du jour, fertilité du sol),
- selon les races chimiques (ou chemotypes) pour une même espèce (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques)(**Koedam, 1982**)

### 5.2.4. Rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles aident à traiter les petites indispositions de la vie de tous les jours. Outre leur action curative, elles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que votre organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes et virales.

Parmi les propriétés les plus connues, on citera la propriété antiseptique. A l'heure où les germes microbiens deviennent de plus en plus résistants, ce qui implique pour l'industrie pharmaceutique de trouver des antibiotiques de plus en plus puissants (mais aussi de plus en plus destructeurs de la flore saprophyte responsable de notre immunité), les huiles essentielles offrent une véritable alternative (**Jean Botton A., 1999**).

Leur efficacité se révèle en effet stable dans le temps et la preuve est faite tous les jours de leur grande efficacité, là où certains antibiotiques échouent désormais. (**Zabeirou et Hachimou., 2005**).

### 5.2.5 Obtention des huiles essentielles

Deux procédés sont principalement utilisés pour l'extraction des huiles essentielles : l'expression à froid pour les zestes des fruits des Citrus et l'entraînement par vapeur d'eau. L'extraction d'une huile essentielle est une opération capitale qui ne doit pas altérer sa qualité.

#### a- Expression à froid

L'expression à froid est un procédé né en Sicile où il est toujours employé ; il est également utilisé dans tous les pays producteurs d'agrumes. Cette méthode est utilisée seulement pour les épicarpes ou « zestes » de *Citrus* issus des fruits frais.

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

### b- L'entraînement par vapeur d'eau

La plante aromatique est placée entière ou broyée s'il s'agit d'organes durs (racine ou écorce), dans une cuve et immergée dans l'eau. Le procédé consiste à faire traverser cette cuve par de la vapeur d'eau produite par une chaudière indépendante. La vapeur d'eau entraîne l'huile essentielle de la plante puis passe dans un serpentin baignant dans de l'eau fraîche. Ainsi, il y a condensation et le liquide aboutit dans l'«essencier» ou «vase florentin» dans lequel l'huile essentielle se sépare de l'eau par différence de densité.

Les huiles essentielles ont, pour la plupart, une densité inférieure à celle de l'eau, sauf exception (cas de l'HE de giroflier présentant une densité de 1,0594).

Ainsi, dans la majorité des cas, l'huile essentielle constitue la phase supérieure et flotte au-dessus de l'hydrolat aromatique ce qui permet de la recueillir par débordement. Cet hydrolat aromatique, aussi appelé eau florale, renferme une faible quantité de molécules aromatiques (moins de 5%) ; il est utilisé notamment chez les jeunes enfants ainsi qu'en cosmétologie.



**Fig. 19 :** Équipement nécessaire pour distiller une huile essentielle.

## **Chapitre II : Principales substances actives végétales**

Pour récupérer tous les composants aromatiques de l'huile essentielle, il faut une durée de distillation relativement longue afin que la distillation soit complète. Lors de la distillation, des modifications biochimiques ont lieu ; on voit ainsi apparaître dans l'huile essentielle des principes actifs qui n'existaient pas dans la drogue végétale. De plus, cette méthode ne permet pas d'entraîner les molécules non volatiles comme les flavonoïdes, les proanthocyanes, ou encore les molécules composant les résines, trop lourdes pour être entraînées

### **c- Autres méthodes**

#### **L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique**

L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique est une des techniques les plus chères et les plus récentes elle consiste à faire passer dans la masse végétale du CO<sub>2</sub> qui augmente la pression, fait éclater les poches à essences et entraîne les composés aromatiques (**Ollier., 2000**).

#### **La percolation**

Aussi appelé « hydrodiffusion », la percolation consiste à envoyer la vapeur de haut en bas à travers la plante aromatique. Son avantage est une rapidité et une meilleure qualité des composés aromatiques. Cette méthode a, par contre, l'inconvénient de charger les huiles essentielles en substances non volatiles ; le produit obtenu est appelé «essence de percolation» et non huile essentielle (**Ollier., 2000**).

#### **L'enfleurage**

Cette méthode se fait le plus souvent avec des fleurs qui sont mises en contact avec des graisses absorbantes (**Ollier., 2000**).

#### **Extraction par solvant**

L'extraction par solvant est dangereuse pour l'utilisateur de l'huile essentielle mais aussi pour les ouvriers manipulant des solvants toxiques et inflammables (**Faucon., 2012**).

### **6. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)**

Depuis 1975, les performances du couplage en ligne n'ont cessé d'évoluer, nombreux sont les domaines d'application : agroalimentaire (aliments, eau), produits pétroliers (carburants, matières synthétiques), produits naturels (parfumerie, cosmétique, médecine).

## Chapitre II : Principales substances actives végétales

L'analyseur de masse le plus fréquent pour l'analyse des composés volatils est le «quadripôle» qui utilise la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon le rapport masse sur charge. Les détecteurs les plus courants sont les channeltrons (multiplicateurs d'électrons) et les photomultiplicateurs ; ils convertissent les impacts ioniques en signaux. Le multiplicateur de photons permet la détection des ions positifs et, dans certains cas, des ions négatifs. L'ordinateur enregistre les signaux visualisés sous forme de pics d'intensités variables, rangés sur une échelle de masses.

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe. Pour l'analyse des huiles essentielle, le spectromètre de masse fonctionne selon deux méthodes d'ionisation : l'ionisation par impact électronique (IE) Et l'ionisation chimique (IC). Dans ce dernier cas, deux modes sont distingués : L'ionisation chimique positive (ICP) et l'ionisation chimique négative (ICN) (**De Hoffman, 1999**).

# Chapitre III :

## Matériel

### et

## méthodes

## Chapitre III : Matériel et méthodes

### 1. Matériel végétal

#### 1.1. Présentation de la zone d'étude

Sidi Abdelaziz est une commune et ville côtière de la wilaya de Jijel en Algérie. Le territoire de la commune de Sidi Abdelaziz se situe au Nord-est de la wilaya de Jijel, à environ 25 km à l'est de Jijel, à 100 km au Nord-ouest de Constantine et à proximité de l'embouchure de l'Oued-el-Kebir (واد الكبير), le Rhumel ou encore l'antique Ampsaga).

Climat méditerranéen, chaud et tempéré. Les pluies sont moins importantes qu'elles ne le sont en hiver. Sur l'année, la température moyenne à Sidi Abdelaziz est de 18.3 °C. Les précipitations annuelles moyennes sont de 910 mm.

La récolte de la plante est réalisée à Sidi Abdelaziz dans localités suivants :Aharbit,Boudjenah, Echouf, El Ghar, El Ma Echerkia, El Ma El Gharbia, Laaraba.



Fig. 20 : Carte géographique de la wilaya de Jijel avec la région d'étude

#### 1.2. Récolte du matériel végétal

L'espèce sélectionnée « *Satureja calamintha* » a été collecté depuis son habitat naturel entre le mois de Septembre et Novembre 2013 période de pleine floraison. La récolte est effectuée dans la région de Sidi Abdelaziz (wilaya de Jijel).

## Chapitre III : Matériel et méthodes

L'identification est réalisée au Laboratoire Obtention des Substance Therapeutiques (LOST) par **Mr. K. Kabouch** (Université Constantine 1).

### 1.3. Conservation de la plante

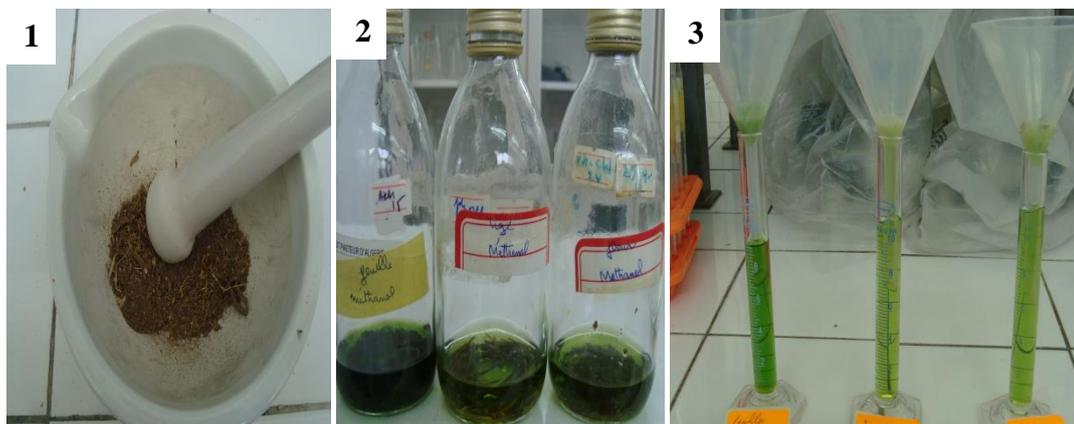
Les différentes parties de *Satureja calamintha* sont nettoyées, séchées à l'ombre et à température ambiante, puis stockées (conservées) à l'abri de la lumière. Les parties utilisées sont : les feuilles, les fleurs, les tiges, et les racines.

## 2. Les tests phytochimiques

L'espèce sélectionnée fait l'objet d'une étude phytochimique qui consiste à détecter les composants chimiques existant dans la plante. Quatre solvants de polarités différentes (eau, méthanol, éther de pétrole, chloroforme) 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 ultraviolet.

### 2.1. Epuisement de l'extrait végétal hydro-alcoolique (7:1)

Après le broyage du matériel végétal dans un mortier, 25g sont mis en contact avec 150 ml de méthanol plus l'eau distillée dans un flacon pendant 24 heures. Le mélange est filtré et l'extrait méthanolique est soumis aux différents tests.



**Fig. 21** : Etapes de la préparation de l'extrait méthanolique : 1-broyage du matériel, 2-extrait méthanolique, 3-filtrage de l'extrait méthanolique.

#### 2.1.1. Criblage des Flavonoïdes

Le criblage des flavonoïdes se réalise à partir de l'extrait Hydro-alcoolique des différentes parties de la plante, et réparti dans quatre tubes, chacun des 4 tubes proprement

### Chapitre III : Matériel et méthodes

étiquetés 1, 2, 3 et 4 (racines, tiges, feuilles, fleurs) pour ajouter quelques gouttes des réactifs suivants les deux tests (de Wilstater, de Bate – Smith) :

#### ➤ Test de Wilstater

Traiter 5 ml de l'extrait préparé avec 1ml de l'HCl concentré. Ajouter tout doucement quelques fragments de tournures de Magnésium (laisser agir) sous la haute. La présence des Flavones est confirmée par l'apparition d'une couleur virage au rouge pourpre (Flavonols), rouge violacées (Flavanones et Flavanols) (Bruneton, 1993).

#### ➤ Test de Bate-Smith

Additionner dans chacun des 4 tubes l'HCl concentré (0,5ml) et porter au bain marie à trente minutes. L'apparition d'une Coloration rouge dénote la présence de Leucoanthocyanes qui sont des dérivés du Flavan-3,4-diols.

#### 2.1.2. Criblage des Tanins

100mg d'extrait hydro-alcolique sont dissout dans 25ml de l'eau distillée chaude puis additionner de trois à quatre gouttes de NaCl 10 %. La solution ainsi obtenue est filtrée, le filtrat est ensuite réparti dans quatre tubes à essai le 4<sup>ème</sup> tube servant de témoin (Rizk, 1982).

- **Tube N° 1** : addition de quatre à cinq gouttes de gélatine à 1 % ;
- **Tube N° 2** : addition de quatre à cinq gouttes de gélatine salée ; gélatine (1%) + NaCl(10%). L'apparition d'une précipitation par la gélatine salée signifie la présence de tanins.
- **Tube N° 3** : addition de quatre à cinq gouttes de FeCl<sub>3</sub> en solution méthanolique. Une coloration :
  - ✓ Bleu-vert ou vert noir est dû aux tanins du type catéchols.
  - ✓ Noir bleuâtre signifie la présence de tanins de type pyrogallols.
  - ✓ Une réaction négative à la salée accompagnée d'une coloration verte ou bleu noir avec FeCl<sub>3</sub> ; sont dues à la présence de deux types de composés phénoliques.

#### 2.1.3. Criblage des Alcaloïdes

**Essai 1** : il consiste à :

Dans un tube à essai de 16 ml, introduire :

### Chapitre III : Matériel et méthodes

- ✓ 200 mg environ de poudre végétale ;
- ✓ 10 ml environ de l'acide sulfurique dilué à 10 % ;
- ✓ Agiter pendant 2 mn, puis filtrer sur papier filtre ;

Partager le filtrat entre 3 tubes :

- le 1<sup>er</sup> tube servira de témoin
- le 2<sup>ème</sup> tube, ajouter quelques gouttes de **réactif de MAYER**
- le 3<sup>ème</sup> tube, ajouter quelques gouttes de **réactif de DRAGENDORFF**

Observer les précipitations caractéristiques

**Essai 2** : il consiste à :

➤ **Test de Mayer**

0,5 g de matériel végétal en poudre, on ajoute 15 ml d'éthanol 70 %. Après une agitation de 5 mn, on laisse reposer l'extrait jusqu'à décantation complète, suivie d'une filtration et d'une évaporation à sec.

Le résidu est repris dans quelques ml d'HCl 50 %. La formation d'un précipité jaune, après ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer (Mercuritétraiodure de potassium), témoigne de la présence d'alcaloïdes (**Memelink et al, 2001**).

➤ **Test de Dragendorff**

Une chromatographie sur couche mince que nous appellerons CCM1 (gel de silice type Camag CH-4132 Mutteng, plaque de 200 x 200 mm, 0,3 mm d'épaisseur, support plastique) est effectuée pour quelques µl de l'extrait méthanolique. Le solvant de migration est **AcEt / MeOH / NH<sub>4</sub>OH** 50 % (9:1:1). Après migration, les spots fluorescents à 365 nm sont pulvérisés avec le réactif de Dragendorff (Tétraiodobismuthate de potassium). L'apparition en lumière visible de taches orange témoigne de la présence d'alcaloïdes.

#### 2.1.4. Criblage des Saponosides

Les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse (**Bruneton, 1999**). Leur détection est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, après l'agitation, le mélange est abandonné pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée (**Karumi et al., 2004**).

## Chapitre III : Matériel et méthodes

- ✓ Pas de mousse = test négatif
- ✓ Mousse moins de 1cm = test faiblement positif
- ✓ Mousse de 1 à 2cm = test positif
- ✓ Mousse plus de 2cm = test très positif

### 2.1.5. Criblage des Stérols et Stéroïdes

Dépigmenter 100mg de l'extrait hydro-alcoolique par addition de 10ml de cyclohexane et agitation pendant 5minutes. Dissoudre le résidu dépigmenté dans 10ml de chloroforme. Sécher la solution obtenue sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre, puis filtrer. Répartir le filtrat dans quatre tubes à essai, le 4<sup>ème</sup> tube servira de témoin.

- **Tube N° 1** (test de Salkowski) : Incliner le tube à 45°, ajouter 1 à 2ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Le changement de coloration est noté immédiatement. Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence de stérols insaturés.
- **Tube N° 2**(test de Libermann-Burschard) :Additionner trois gouttes d'anhydride acétique puis agiter légèrement. Ajouter une goutte de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré. Le changement de coloration est observé pendant une heure: une coloration bleu-vert indique la présence de stéroïdes tandis que, le rouge-violet à rose dénote la présence de triterpènes.
- **Tube N° 3**(test de Badjet-Kedde) : Additionner quelques grains d'acide picrique. L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques.

## 2.2. Epuisement du l'extrait végétal Chloroformique et Etherique

50g de matériel végétalsèche (feuilles, fleurs, tiges et racine) sont mis en contact avec 300 ml de chloroforme et d'éther de pétrole dans desflacons pendant 24 heures, le mélange est filtré et l'extrait chloroformique et étherique est soumis aux différents tests.

### 2.2.1. Criblage des Anthraquinones

L'extrait chloroformique de chacun des organes (feuilles, fleurs, tiges et racines). On ajoute KOH aqueux 10 %. Après agitation, la présence des Anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge (**Rizk, 1982**).

## **Chapitre III : Matériel et méthodes**

### **2.2.2. Criblage des Quinones**

On pèse 1g de matériel végétal (feuille, fleurs, tiges et racine) sec, broyé et placé dans des tubes avec 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 heures, les extraits sont filtrés. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH (1:10), lorsque la phase aqueuse vire au jaune rouge ou violet. (Ribérreau, 1968).

### **2.2.3. Criblage des Hétérosides Cyanogénétiques**

Humecter dans un Erlenmeyer 2g de poudre végétale avec une quantité suffisante d'eau. Ajouter 1ml de chloroforme. Tremper une bande de papier filtre Whatman N° 1 dans une solution fraîchement préparée de picrate de sodium (5g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ; 0,5g d'acide picrique et 100ml de l'eau distillée) puis égoutter.

Introduire un morceau de la bande de papier ainsi préparée dans l'Erlen Meyer juste au-dessus de la drogue et plier sur le bord du récipient. Fermer l'Erlenmeyer et laisser à la température ambiante pendant trois heures. L'absence de glycosides cyanogénétiques est prouvée si aucun changement de coloration ne se produit pendant trois heures (Al-Yahya, 1986).

## **3. Extraction des Métabolites Secondaires**

### **3.1. Le principe**

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales, dont leur nature chimique et teneurs sont extrêmement variables d'une espèce à l'autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la caractérisation de ces molécules.

### **3.2. L'objectif**

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules chimiques contenant dans les parties aériennes de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

### **3.3. Protocole général d'extraction**

Pour la macération, on utilise 100 g des parties aériennes de la plante *Satureja calamintha*, sous forme de poudre dans un bécher contenant un mélange de solvant Méthanol et l'eau distillée (70 :30), agiter de temps en temps, ensuite couvrir le tout et laisser macérer

### Chapitre III : Matériel et méthodes

pendant 24h. Cette macération est répétée 03 fois, ce qui permet d'extraire le maximum de produits. Après filtration, le mélange hydro-alcoolique est concentré à sec au moyen d'un évaporateur rotatif. Cette étape consiste à reprendre le résidu sec avec 100 ml d'eau distillée bouillante.

#### Exemple d'évaporateur rotatif

Un évaporateur rotatif est un appareil de laboratoire utilisé généralement en chimie organique pour évaporer rapidement des solvants après avoir été utilisés dans une extraction ou dans un milieu réactionnel. Le plus souvent, l'évaporation du solvant est menée sous pression réduite (afin d'accélérer l'étape) que l'on obtient au moyen d'une trompe à eau ou d'une pompe à vide. L'évaporateur rotatif est souvent appelé, par abus de langage, *Rotavapor* ou "Büchi" (noms de deux marques très courantes).



**Fig. 22** : Evaporateur rotatif

### Chapitre III : Matériel et méthodes

#### 4. Technique d'extraction des huiles essentielles (Hydrodistillation à la vapeur d'eau)

Les huiles essentielles ont été extraites (100 g) de La partie aérienne fraîche de *Satureja calamintha*, par hydrodistillation pendant 3 heures, en utilisant un appareil de type Clevenger.

Les rendements en huile ont ensuite été estimés sur la base du poids sec de la matière végétale. Huiles ont été récupérés directement, au-dessus du distillat sans ajouter de solvant, et stockés dans des flacons obscurité à 4 ° C.



**Fig. 23** : Photographie de la hydro-distillation d'HE par le Clevenger

#### 5. La Chromatographie Analytique sur Couche Mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une plaque semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium (Antonot *et al.*, 1998).

## Chapitre III : Matériel et méthodes

### 5.1. Principe

Le principe de la chromatographie sur couche mince repose sur l'entraînement d'un échantillon dissous par une phase mobile à travers une phase stationnaire. Après que l'échantillon a été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant (**Antonot *et al.*, 1998**).

### 5.2. Mode opératoire

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

- ✓ La cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle.
- ✓ La phase stationnaire : une couche d'environ 0,25µm de gel de silice ou d'un autre adsorbant et fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un éluant.
- ✓ L'échantillon : environ un microlitre de solution diluée du mélange à analyser.
- ✓ L'éluant : un solvant pur ou un mélange qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.

#### 5.2.1. Préparation de la phase stationnaire (fixe)

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur une plaque d'aluminium recouverte de gel de silice : G60 ; 20 x 20 cm à 0,5 cm d'épaisseur, sont commercialisées.

#### 5.2.2. Préparation de la phase mobile (éluant)

La phase mobile est constituée par un mélange des solvants organiques :

- S1 : hexane /acétate d'éthyle, (2 : 8) ; (v/v)
- S2: acétate d'éthyle/méthanol/eau distillée, (10 : 1 : 0,5) ; (v/v/v)
- S3 : éther de pétrole /acétate d'éthyle, (8 : 2) ; (v/v)
- S4 : chloroforme /méthanol, (9 : 2) ; (v /v)

#### 5.2.3. L'extrait méthanolique

Préparé préalablement suivant le protocole déjà cité.

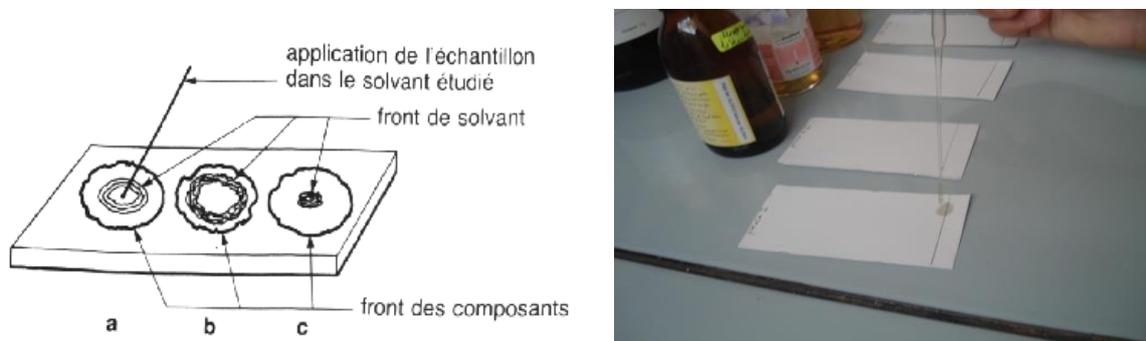
## Chapitre III : Matériel et méthodes

### 5.3. Le dépôt

Le dépôt se fait avec des pipettes pasteur à usage unique d'une façon perpendiculaire et linéairement. Chaque phase doit être déposée en solution diluée dans le méthanol, le soluté est déposé en un point de la plaque situé à environ 1cm de la partie inférieure.

Il est important que le diamètre de la tâche produite au moment du dépôt soit faible (ne dépassant pas 3 mm). Ce sont généralement les dépôts les moins étalés qui permettent les meilleures séparations (**Kabouche, 2007**).

On peut effectuer plusieurs dépôts successifs de la même solution au même endroit, cette pratique permet de concentrer l'analyte (**Sine, 2003**).



**Fig. 24 :** Dépôt de l'échantillon

### 5.4. Le développement des plaques

Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans une cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque.



**Fig. 25 :** Développement des plaques CCM

## Chapitre III : Matériel et méthodes

### 5.5. La révélation

Si les constituants sont colorés, ils seront directement visible sur la plaque, sinon la révélation (la visualisation) des plaques est effectuée sous :

- Système révélateur composé de (16 ml H<sub>2</sub>O, 4ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 80 ml acide acétique.)
- la lampe UV, en utilisant deux longueurs d'onde : 254 nm et 366 nm.

### 6. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (En anglais Gas Chromatography-Mass Spectrometry ou GC-MS)

Est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. Les applications de la GC/MS comprennent le dosage de médicaments ou de stupéfiants, l'analyse environnementale, la médecine légale et l'identification de toutes substances inconnues même sous forme de traces.



Fig. 26 : Appareillage utilisé pour la GC-MS

### 7. Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols se fait avec le réactif de Folin-Ciocalteu qui, en milieu alcalin, se réduit en oxyde de Tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols.

#### ✓ Protocole expérimental :

- **SM 1** on pèse (03 mg d'extrait méthanolique sec) +3ml MeOH % (absolu)
- **SM 2** on pèse (3.5 mg protocole expérimentale) + 3.5 ml MeOH % (absolu)

### Chapitre III : Matériel et méthodes

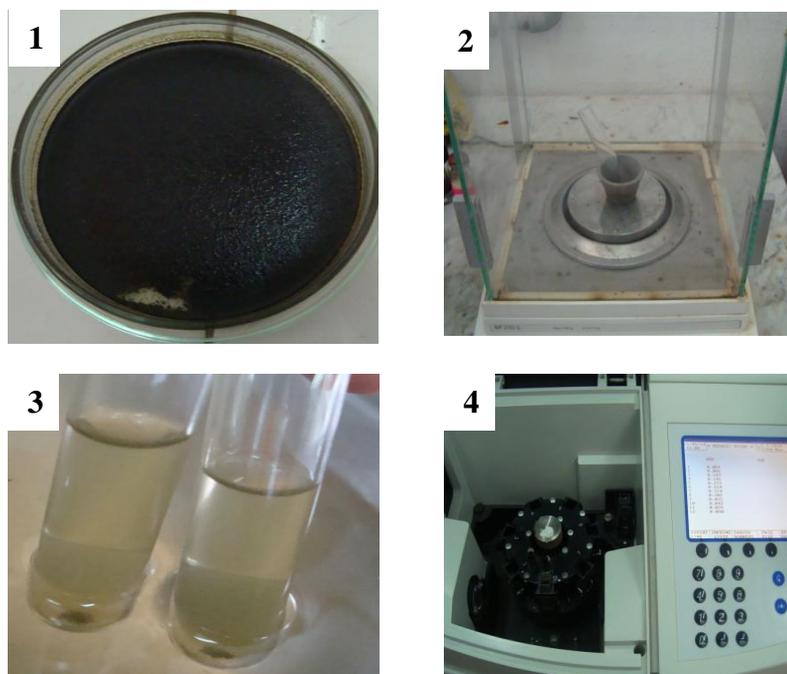
- Une prise de 125  $\mu\text{L}$  de l'extrait dilué (selon le solvant et l'organe) est mélangée avec 500 $\mu\text{L}$  d'eau distillée et 125 $\mu\text{L}$  de réactif de Folin-Ciocalteu.
- Après une agitation vigoureuse du mélange suivi d'un repos trois minutes, une prise de 125  $\mu\text{L}$  de  $\text{CO}_3(\text{Na})_2$  à 7 % est additionnée.
- Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml.
- Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm.
- La gamme étalon est préparée avec l'acide gallique à des concentrations variables de 50, 100, 200, 300, 400, 500  $\text{mg}^{-1}$ .
- Les résultats ont été exprimés en (**mgEAG.g<sup>-1</sup>MS**), milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec de la plante en poudre en appliquant la formule suivante :  $C = (c \times V) / m$  Où :

**C** : La teneur en phénols totaux (mg d'acide gallique / g de matière sèche).

**c**: La concentration de l'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

**V** : Volume de l'extrait méthanolique ou aqueux

**m** : Le poids de la matière sèche (g).



**Fig. 27** : Etapes du protocole de dosage des phénols totaux

## Chapitre III : Matériel et méthodes

### 8. Activité Anti-Oxydante

#### 8.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH

Pour évaluer l'activité antioxydant, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par **Sanchez-Moreno et al., (1998)**.

Dans ce test les antioxydants réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

Trente microlitres de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations ou de standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,0025 g/l). En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

#### 8.2. Expression des résultats

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

**% d'inhibition = [(Abs c – Abs e)/ Abs c] x 100** où :

Abs c : Absorbance du contrôle

Abs e : Absorbance de l'échantillon testé

Les résultats seront exprimés en tenant compte de la moyenne de trois mesures obtenues. Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC50 qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité du DPPH (**Samarth et al., 2008**).

### Chapitre III : Matériel et méthodes

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance anti-radicalaire (**Brandwilliams et al., 1995**) selon la formule suivante :  $ARP = 1/IC50$  où :

ARP : Puissance anti-radicalaire

IC50 : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50 % la concentration initiale du radical DPPH.

#### 9. Pouvoir Antimicrobien

Les tests antibactériens et antifongiques ont pour but de rechercher l'activité biologique de chaque extrait de la partie aérienne de l'espèce *Satureja calamintha* vis-à-vis des différents microorganismes : bactéries et moisissures. Les extraits actifs pourraient ainsi justifier l'usage en médecine traditionnelle des plantes dont ils sont extraits et permettraient, à partir du présent travail, d'ouvrir d'autres pistes à la recherche.

**Tableau. 05** : Provenance des germes étudiés

Souches utilisés	Provenance
<b>a-Bactéries :</b> <u>Bactéries à Gram (+) :</u> <i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas sp</i> <u>Bactéries à Gram (-) :</u> <i>Escherichia coli</i>	Laboratoire de microbiologie de l'Université Constantine 1 (Mme Malek)
<b>b-moisissure :</b> <i>Fusarium sp.</i> <i>Rhizopus sp .</i>	

#### 9.1. Etude de l'activité antibactérienne

##### 9.1.1. Identification et isolement des souches

On a choisit de travailler sur 4 souches bactériennes (*E.coli*, *Bacillus cerus*, *Staphilococcus aureus*, *Pseudomonas sp.*) qui sont identifiées par Laboratoire de microbiologie du CHU de Constantine.

## Chapitre III : Matériel et méthodes

### 9.1.2. Stérilisation du matériel

On stérilise à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes :

- ✓ L'eau distillée et les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes (**inoculums**), ainsi que dans la préparation des dilutions de nos échantillons.
- ✓ Les disques en papier **Whatman** (6 mm de diamètres) après enrobage dans du papier aluminium.

### 9.1.3. Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne (test de sensibilité)

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion de disques (**Rahal et al., 2005**).

Milieu Gélose **Mueller-Hinton**, coulée en boîtes de Pétri et séchée avant l'emploi.

#### Préparation des inoculums

- ✓ Dans la zone septique du bec bunsen et à partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement gélose nutritive, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester.
- ✓ Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile Bien homogénéisé.
- ✓ L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau distillée stérile s'il est trop fort.
- ✓ L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

#### Ensemencement et dépôt des disques

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement(en le tournant) sur la paroi interne du tube.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées Répéter l'opération deux fois.
- Recharger l'écouvillon à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

### Chapitre III : Matériel et méthodes

- Des disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont imprégnés ensuite d'une petite quantité des extraits ou huiles essentielle (plus de 20  $\mu$ l par disque) et déposés sur la surface de la gélose inoculée.
- Des disques de papier Whatman sec servant de témoin négatif, sont aussi déposés sur la surface de la gélose inoculée.
- Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

#### La méthode des puits

Des trous (puits) dans la gélose sont découpés avec la partie inférieure de pipette pasteur de 5mm de diamètre.



**Fig. 28** : la méthode des puits

#### 9.1.4. Lecture des antibiogrammes

Mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse, elle a été réalisée à l'extérieur de la boîte pour les milieux.

Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 6mm. (Lesueur et al., 2007).

#### 9.2. Etude de l'activité antifongique

La même procédure de l'activité antibactérienne a été suivie pour tester l'activité antifongique de *Satureja calamentah*, sauf le milieu de culture Sabouraud. La durée d'incubation de l'antifongigramme est de 48 heures.

# Chapitre IV :

## Résultats

### et

## discussion

## Chapitre IV : Résultats et discussion

### 1. Résultat des tests phytochimiques sur l'espèce *Satureja calamintha*

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans les parties étudiées de la plante *Satureja calamintha* par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les (feuilles, fleurs, tiges et racines) de la plantes étudiées épuisés par le méthanol, éther de pétrole et le chloroforme sont consigné dans le tableau suivant :

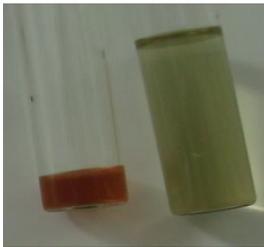
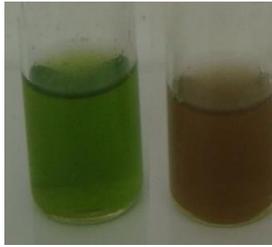
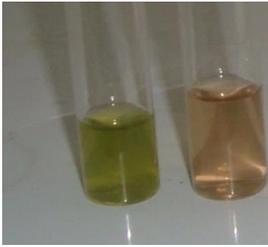
**Tableau. 06 :** Flavonoïdes

Classes de composés recherchées	Extraits	Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Flavonoïdes	Test de Bath Smith (Méthanolique)	HCl concentré	++	+++	+++	+
	Au bain marie					
	Test de Wilstater (Méthanolique)	HCl+ Magnésium	++	+++	+++	+

- : Test négatif ++ : Test positif

+ : Test faiblement positif +++ : Test fortement positif

**Tableau. 07 :** Photographie des résultats des Flavonoïdes

Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
HCl conc. (Au bain marie)				
HCl Conc. + Mg				

## Chapitre IV : Résultats et discussion

Les résultats de criblage phytochimique des flavonoïdes indiqués dans les tableaux 6 et 7 illustrent la présence de ces métabolites secondaires fortement positif dans les Feuilles, fleurs et tiges par contre dans les racines de l'espèce *S. calamintha* sont faiblement positif.

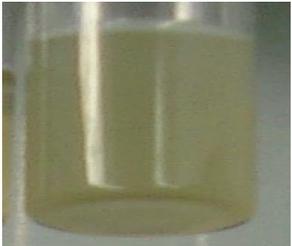
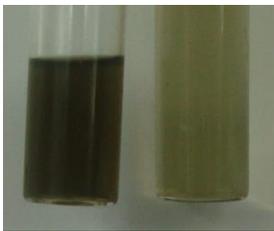
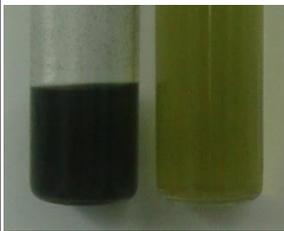
**Tableau. 08 :** Tanins

Classes de composés recherchées	Extraits	Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Tanins	Méthanolique	Gélatine	+++	+++	+++	+++
	Méthanolique	Gélatine salée	+++	+++	+++	+++
	Méthanolique	FeCl <sub>3</sub>	+++	+++	+++	+++

- : Test négatif ++ : Test positif

+ : Test faiblement positif +++ : Test fortement positif

**Tableau. 09 :** Photographie des résultats des Tanins

Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Gélatine				
Gélatine salée				
FeCl <sub>3</sub>				

## Chapitre IV : Résultats et discussion

Dans le tableau 9 les résultats indiquent qu'il y a une précipitation et une coloration qui présente deux types de tanins :

- ✓ Le 1<sup>er</sup> catéchols dans les feuilles et les fleurs (couleur bleu-vert).
- ✓ Les 2<sup>ème</sup> pyrogallols dans les tiges et racines (couleur noir bleuâtre).

**Tableau. 10** : Alcaloïdes

Classes de composés recherchées	Extraits	Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Alcaloïdes	Méthanolique	MAYER	+++	+++	+	+++
	Méthanolique	DRAGENDORFF	++	+++	+	+++

- : Test négatif ++ : Test positif

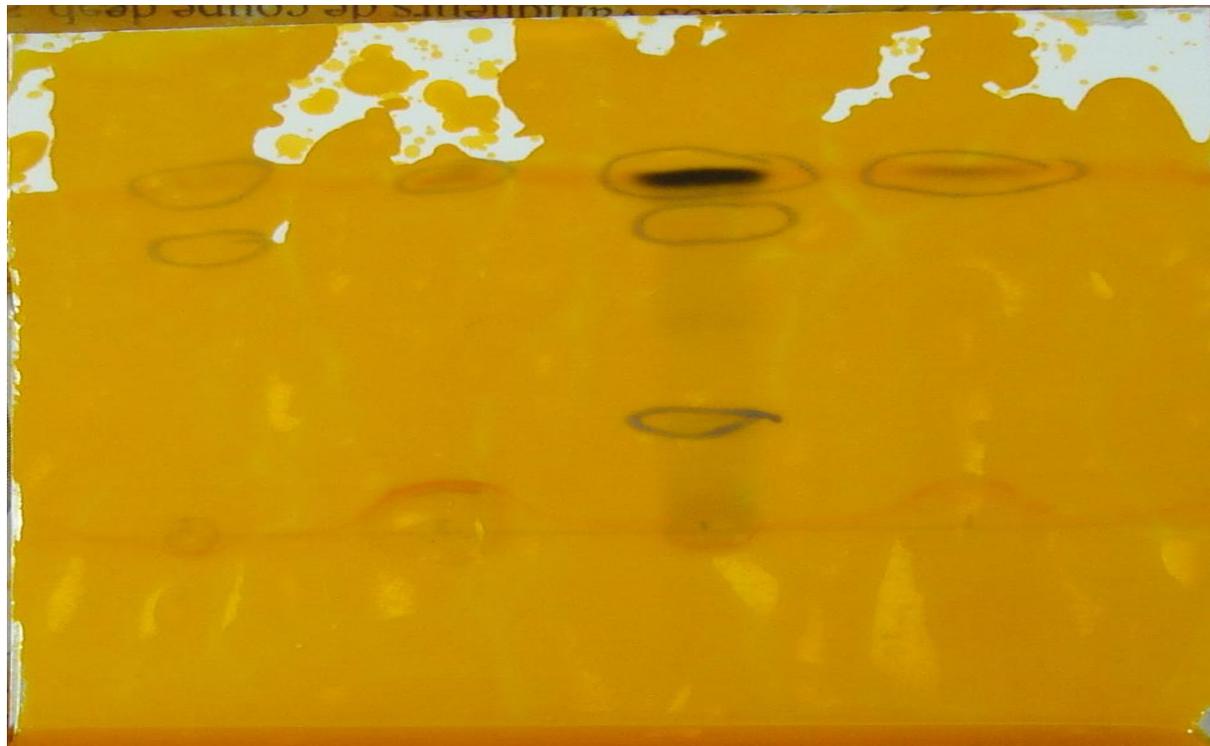
+ : Test faiblement positif +++ : Test fortement positif

**Tableau. 11** : Photographie des résultats des Alcaloïdes

Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Témoin				
MAYER				
DRAGENDORFF				

## Chapitre IV : Résultats et discussion

La plante *Satureja Calamintha* paraît plus riche en alcaloïdes surtout les feuilles, fleurs et tiges (forte précipitation). Par contre les racines contiennent des quantités plus au moins abondante.



**Fig. 29** : C.C.M des alcaloïdes

Les taches rouge-orange dans la plaque CCM révélée avec le système Dragendorff sont bien remarquables et significatif des alcaloïdes.

**Tableau. 12** : Saponosides

Classes de composés recherchées	Extraits	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Saponosides	Aqueux	++	++	++	++

- : Test négatif ++ : Test positif

+ : Test faiblement positif +++ : Test fortement positif

## Chapitre IV : Résultats et discussion

**Tableau. 13 :** Photographie des résultats des Saponosides

Extraits	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Témoin				
Hydraulique				

Les tests phytochimiques de détection des saponosides par calcul de l'indice de mousse ont élucidé la présence de ces métabolites dans les organes suivants : feuilles, fleurs, tiges et racines respectivement.

**Tableau. 14 :** Stérols et Stéroïdes

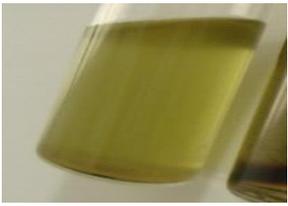
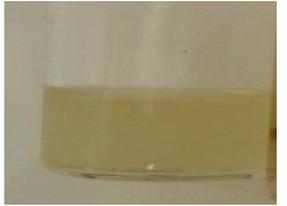
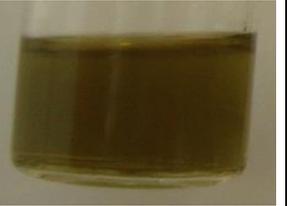
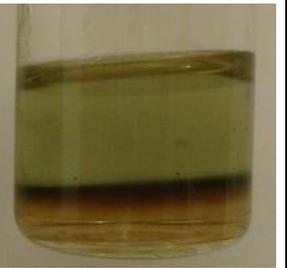
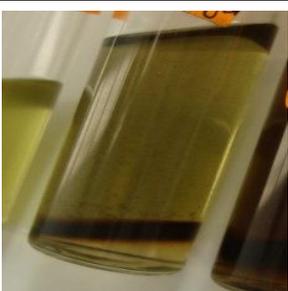
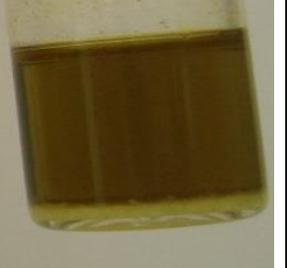
Classes de composés recherchées	Extraits	Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Stérols et Stéroïdes	Méthanolique	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+++	+++	+++	+++
	Méthanolique	Anhydridacétique + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+++	+++	+++	+++
	Méthanolique	Acides Picrique	-	+++	-	-

- : Test négatif ++ : Test positif

+ : Test faiblement positif +++ : Test fortement positif

## Chapitre IV : Résultats et discussion

**Tableau. 15 :** Photographie des résultats des Stérols et Stéroïdes

Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Témoin				
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré.				
Anhydridacétique + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
Acide Picrique				

Le criblage phytochimiques des stérols insaturés a montré que les organes (feuilles, fleurs, tiges et racine) de l'espèce étudié *satureja calamintha* sont riches.

Tous les organes de l'espèce étudiée sont aussi très riches en triterpènes.

Le réactif acide Picrique utilisé pour la détection des stéroïdes lactonique a donné une coloration oronge avec les extrais méthanolique des feuilles et fleurs ce qui indique que sont riches en stéroïdes lactonique.

## Chapitre IV : Résultats et discussion

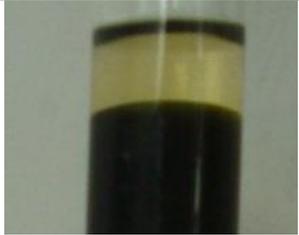
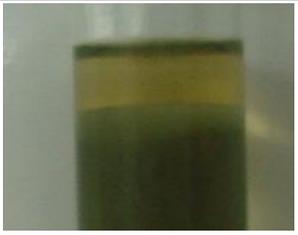
**Tableau. 16 :** Anthraquinones

Classes de composés recherchées	Extraits	Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Anthraquinones	Chloroformique	KOH	++	+++	+	+

- : Test négatif ++ : Test positif

+ : Test faiblement positif +++ : Test fortement positif

**Tableau. 17 :** Photographie des résultats des Anthraquinones

Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
KOH				

Le réactif KOH utilisé pour la détection des Anthraquinones a démontré que feuilles, fleurs, tige et racine de l'espèce *Satureja calmentha* sont riches en ces métabolites secondaires.

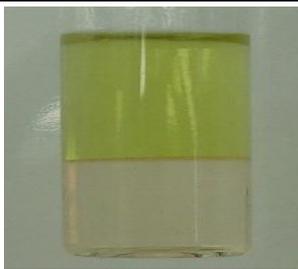
**Tableau. 18 :** Quinones

Classes de composés recherchées	Extraits	Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Quinones	Ethérique	NaOH	+++	+	++	++

- : Test négatif ++ : Test positif

+ : Test faiblement positif +++ : Test fortement positif

**Tableau. 19 :** Photographie des résultats des Quinones

Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
NaOH				

## Chapitre IV : Résultats et discussion

Le criblage phytochimique des Quinones a montré que les tiges, feuilles, racines et fleurs contiennent des quantités considérables en Quinones.

**Tableau. 20 :** Hétérosides cyanogénétiques

Classes de composés recherchés	Extraits	Réactifs	Feuilles	Fleurs	Tiges	Racines
Cyanogénétiques	Chloroformique	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + acide picrique + H <sub>2</sub> O	-	-	-	-

- : Test négatif ++ : Test positif

+ : Test faiblement positif +++ : Test fortement positif

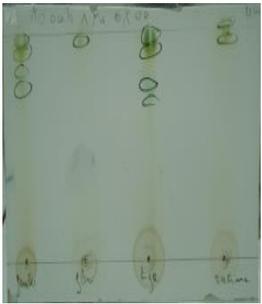
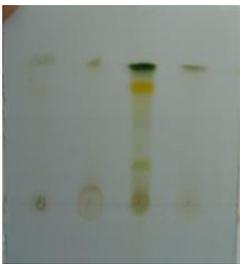
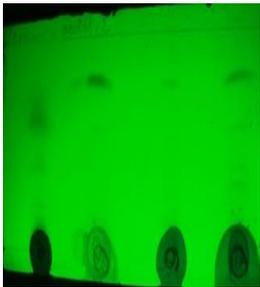
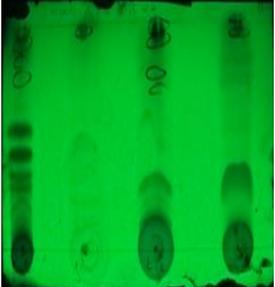
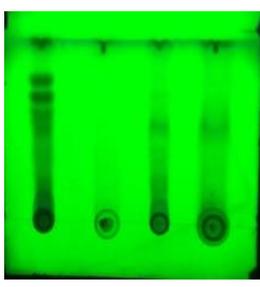
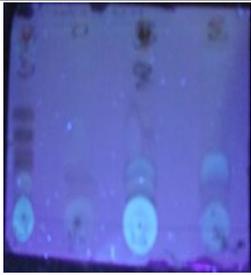
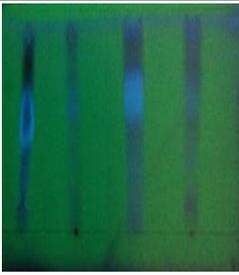
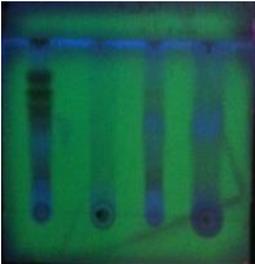
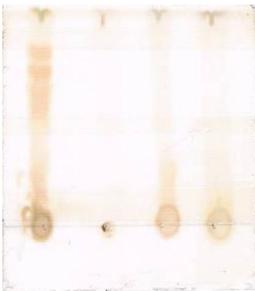


**Fig. 30 :** Photo des extraits chloroformiques de : la racine, la tige, les feuilles et la fleur.

L'interprétation est faite à partir de la différence de couleur des bandes de Whatman pour les quatre parties. On observe aucun changement de coloration après 3h ce qui signifie l'absence des Hétérosides.

## Chapitre IV : Résultats et discussion

**Tableau. 21** : Les différentes observations des plaques C.C.M

Systèmes	S1	S2	S3	S4
Naturel	/			
UV 254				
UV 360				
Révéléateur				

S1 : hexane/ acétate d'éthyle 8 :2    S2 : Acétate d'éthyle / méthanol / eau distillé 10:1:0,5  
 S3 : Éther de pétrole / acétate d'éthyle 8:2    S4: chloroforme/ méthanol

On utilisant les systèmes solvants suivants (tableau 21) ; visualisés avec UV 250, UV366 et révélée par révélateur acide (Tableau. 21)

## Chapitre IV : Résultats et discussion

Les résultats des chromatogrammes des extraits (feuilles, tiges, fleurs et racines) sont très riches en métabolites secondaires surtout flavonoïdes et terpènes ce qui confirme des résultats obtenus par le criblage précédant.

L'identification des taches est la coprésent avec **Bensouci et al., 2013** résumé dans les tableaux suivants :

**Tableau. 22 :** les taches obtenues avec le rapport frontal  $R_f$  (système : hexane/ acétate d'éthyle 8 :2)

Extrait méthanolique Les taches	Feuille		Fleur		Tige		Racine	
	couleur	$R_f$	Couleur	$R_f$	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$
Tache 01	Violet	0.23	Violet	0.3	Violet	0.26	Violet	0.3
Tache 02	Vert	0.46	Marron	0.46	Marron	0.46	Marron	0.5
Tache 03	Marron	0.63	Violet	0.66	-	-	-	-
Tache 04	Rose	0.86	-	-	-	-	Violet	1.01
Tache 05	Marron	1.13	Marron	1.06	vert	1.06	Marron	1.016

Les taches colorées avec du rouge (flavonol) et du marron (phenol simple). les couleurs sont identiques à celles des taches du **Bensouci, et al., 2013**, mais les diamètres du  $R_f$  sont différents.

**Tableau. 23 :** les taches obtenues avec le rapport frontal  $R_f$  (système : Acétate d'éthyle / méthanol / eau distillé 10:1:0,5)

Extrait méthanolique Les taches	Feuille		Fleur		Tige		Racine	
	Couleur	$R_f$	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$
Tache 01	Jaune	0.36	-	-	Violet	0.43	-	-
Tache 02	Jaune	0.46	-	-	-	-	-	-
Tache 03	Jaune	0.6	-	-	-	-	-	-
Tache 04	Jaune	0.8	-	-	-	-	Violet	0.8
Tache 05	Marron	1.33	-	-	Vert	1.33	Marron	1.33

Ce Système est le plus efficace : il a révélé plusieurs taches de flavonoïdes.

## Chapitre IV : Résultats et discussion

**Tableau. 24 :** Les taches obtenues avec le rapport frontal  $R_f$  (système : Éther de pétrole / acétate d'éthyle 8:2)

Extrait méthanolique	Feuille		Fleur		Tige		Racine	
	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$
Les taches								
Tache 01	Violet	0.4	Violet	0.4	Vert	0.4	Violet	0.3
Tache 02	Marron	0.7	-	-	violet	0.7	Violet	0.6
Tache 03	Vert	0.8	Violet	0.9	vert	0.7	-	-
Tache 04	Rose	1.06	-	-	Violet	1.1	Vert	1.1
Tache 05	Marron	1.2	Marron	1.2	-	-	Marron	1.3

Le système de mélange des solvants a permis une bonne migrations des variables taches des métabolites : d'après la couleur et le  $R_f$  on a pu identifier des flavonoles et du phénole.

**Tableau. 25 :** les taches obtenues avec le rapport frontal  $R_f$  (système : chloroforme/ méthanol)

Extrait méthanolique	Feuille		Fleur		Tige		Racine	
	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$	couleur	$R_f$
Les taches								
Tache 01	-	-	-	-	Jaune	0.4	Marron	0.36
Tache 02	Jaune	0.66	-	-	-	-	-	-
Tache 03	Jaune	0.8	-	-	-	-	-	-
Tache 04	Jaune	0.9	-	-	-	-	-	-
Tache 05	Jaune	1.0	-	-	-	-	-	-

Le tableau rapporte que ce système de solvants est moins efficace par rapport aux autres systèmes solvants utilisés et présentés dans les tableaux ci-dessus.

## Chapitre IV : Résultats et discussion

### 2. Extraction de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

L'HE est extraite par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger: l'extraction a duré 3h' en plaçant 100 g du partie aérienne fraiche de la plante dans un ballon avec 400 ml de l'eau distillée, puis chauffer, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles se séparent de l'eau par différence de densité.

L'huile essentielle obtenue est mise dans un flacon à l'abri de la lumière et stockée à 4C° jusqu'aux tests.

Calcul du rendement : le calcul du rendement est définit comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse de matière végétale à traiter (**Belyagoubi, 2006**) :

$$R_{HE} = \frac{MHE}{MS} \cdot 100$$

R : Rendement en extrait fixe en g/100g

MHE : Quantité d'extrait récupéré en g

Ms : Quantité de matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

**Tableau. 26** : rendement de l'huile essentiel de *Satureja calamentha*

Répétition	Rendement%
R1	1.25
R2	1,29
R3	1.16
R4	1,40
Moyenne	1,275

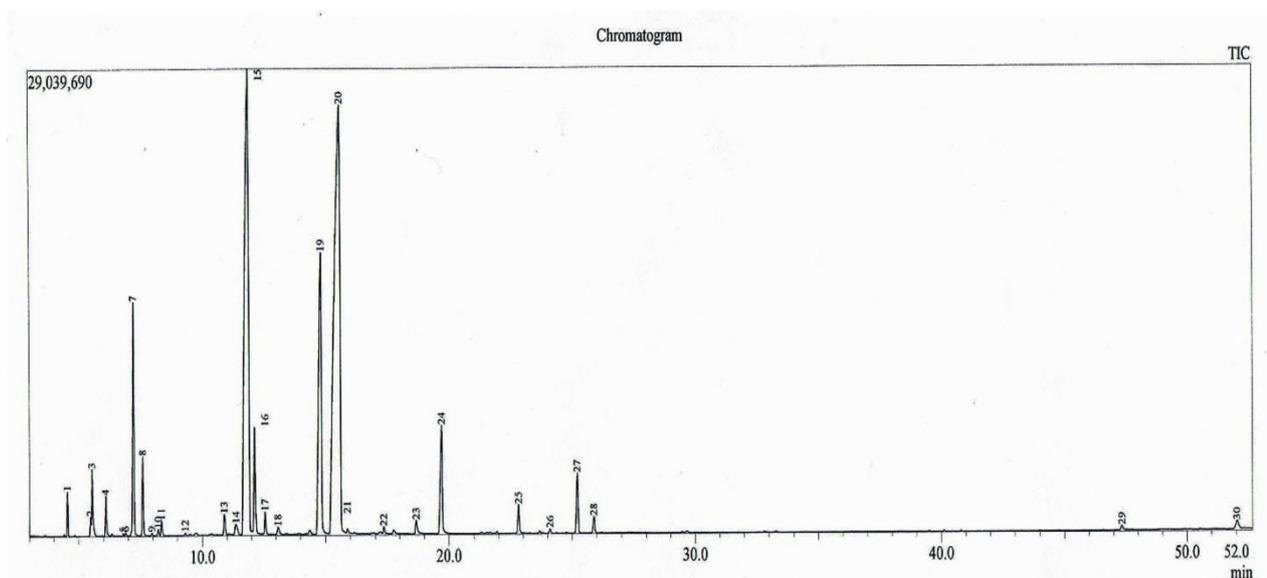
Le Tableau représente le rendement de l'huile essentielle. La moyenne du rendement de l'huile est de 1,275 %, elle est inferieure à celle de (**Bensouici et al., 2013**) (2.1 %=)

**Tableau. 27** : Caracteristiques de l'huile essentiel de *Satureja calamentha*

Caractéristiques physico-chimique	lieu	Odeur	Aspect	couleur	Miscibilité l'éthanol à 70 %	ph
<i>Satureja calamentha</i>	Jijel	Fraiche	Limpide	Jaune claire A transparent	1V HE/3V éthanol	7

## Chapitre IV : Résultats et discussion

### 3. Etude chémotype de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*



**Fig. 31 :** Chromatogramme de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

**Tableau. 28 :** Résultats de la GC-MS de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

N°	composants	pourcentage (%)	type de composant
03	$\beta$ -Pinène	3,18	Monoterpène
07	D-limonene	11,01	Terpène
08	trans- $\beta$ -Ocimene	3,77	Monoterpène
15	D-Menthone	22,09	Monoterpène
16	trans-Menthone	5,05	Monoterpène
19	Pulégone	13,27	Monoterpène
20	Acide chrysanthemique	20,24	Pyréthrine
24	Isophorone	5,12	Phénol
/	Composés minoritaires	16,27	/
/	Composés identifiés	98,62	/

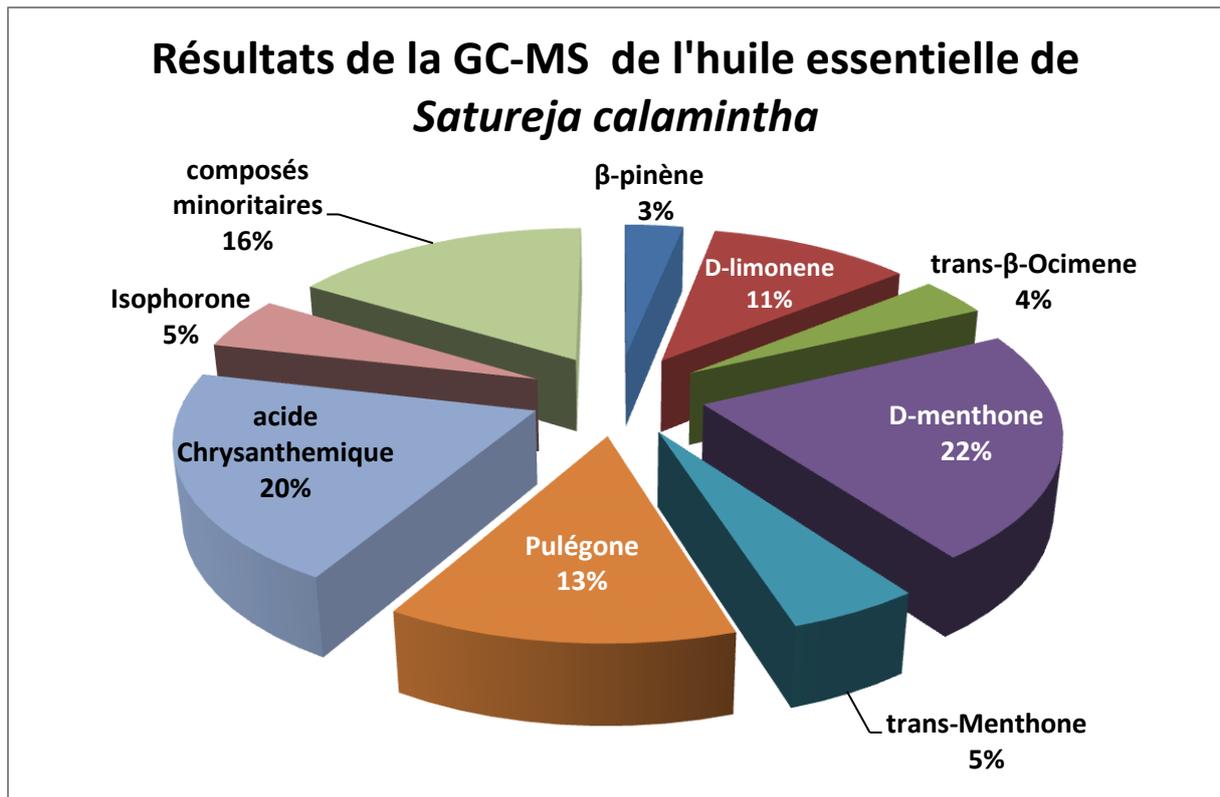


Fig. 32 : Résultats de la GC-MS de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

### 3.1. Dosage des polyphénols de l'extrait méthanolique de *Satureja calamintha*

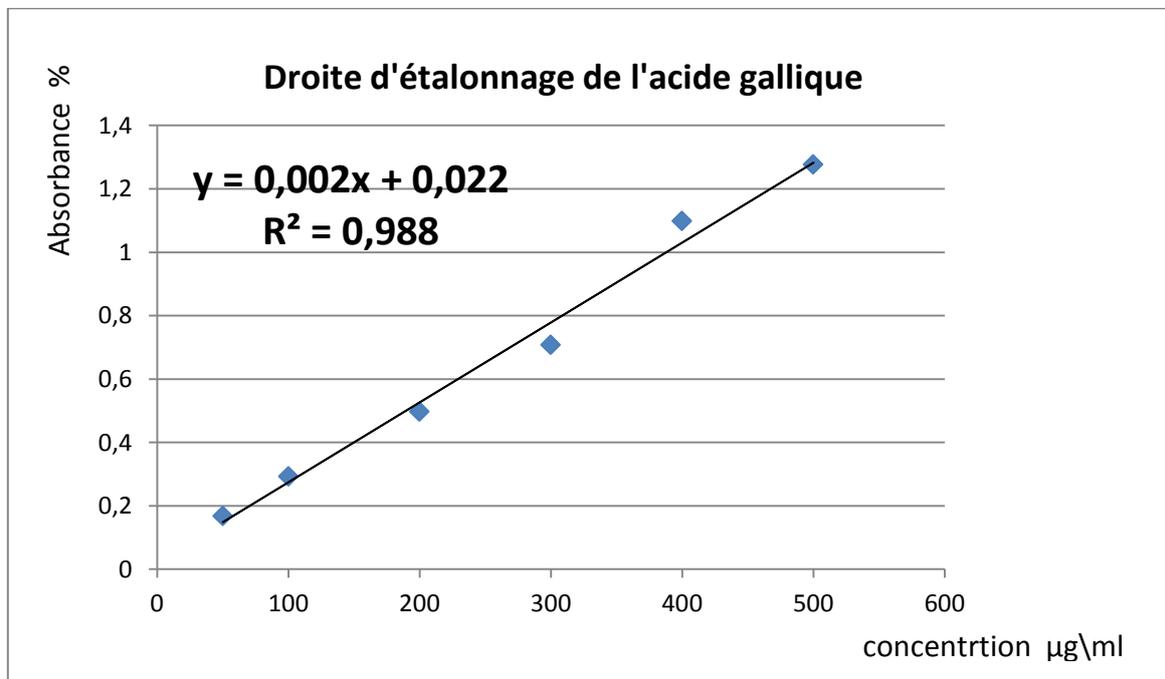


Fig. 33 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

## Chapitre IV : Résultats et discussion

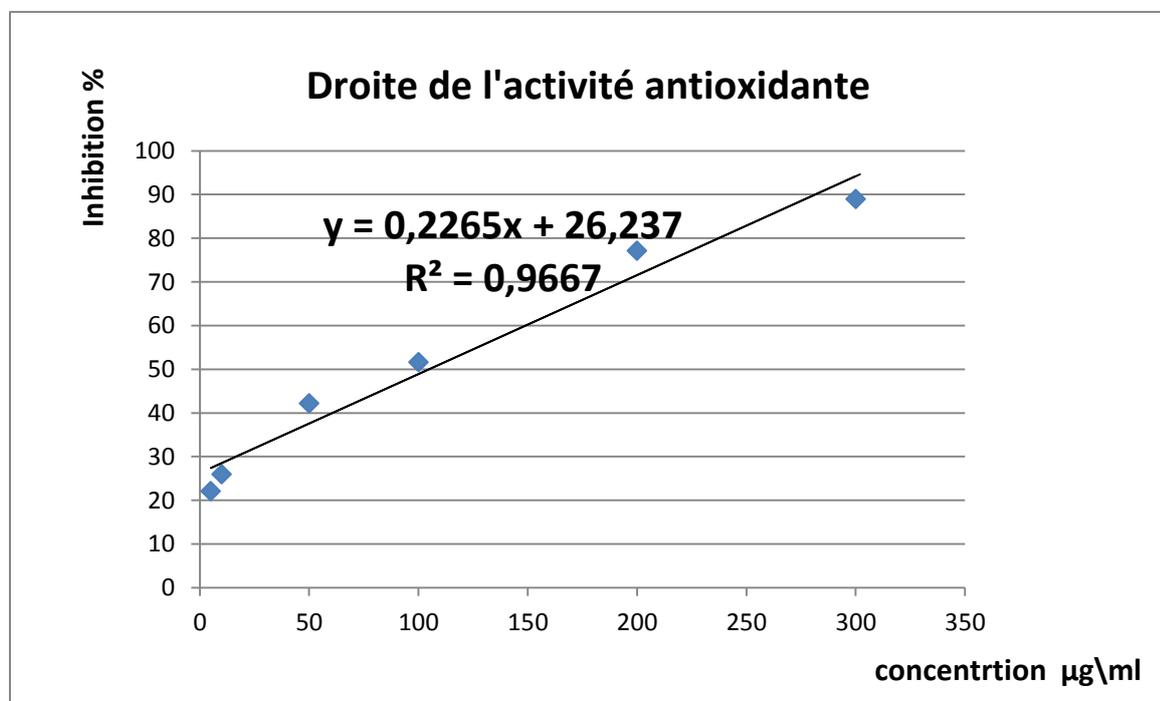
Les taux de polyphénols existant dans les extraits méthanolique (EMSC) calculés sont présentés dans le tableau X ainsi que ce de la référence standard dans ce cas l'acide gallique.

**Tableau. 29 :** Taux de polyphénols existant dans l'EMSC.

Echantillon dosé	Taux de polyphénols (mg EAGg <sup>1</sup> MS )
EMSC	131 ,28 ± 3,76
Acide gallique	30,70

Il apparait que l'EMSC est très riche en polyphénols. Comparativement au référence standard, nous pouvons conclure que notre extrait est très riche en polyphénols.

### 4. Activité antioxydant de l'extrait méthanolique de *Satureja calamintha*



**Fig. 34 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations l'extrait méthanolique de *Satureja calamintha*

Ces résultats montre un meilleur effet antioxydant de l'EMSC a une concentration 300 µg/ml car environ 88.84 % du DPPH sont inhibes comparativement à la VE et a la Quercetine la valeur de CI50 (108.04) de EMSC permet de conclure que cette extrait procède une bonne activité antioxydant si on compare ces valeurs avec le têt des polyphenoles totaux de l'EMSC (131 ,28 ± 3,76) est proportionnel

## Chapitre IV : Résultats et discussion

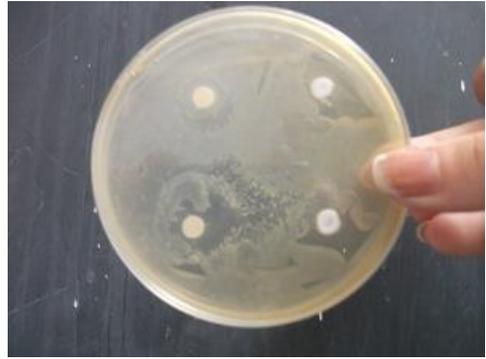
### 5. Activité antimicrobienne

**Tableau. 30** : Activité antibactérienne de l'extrait de *Satureja calamintha*

Souche bactérienne	Diamètre (mm)		Photographie
	Puits	Disque	
<i>E.coli</i>	Puits	25,50	
	Disque	11,75	
<i>Staphilococcus aureus</i>	Puits	23,25	
	Disque	15,50	
<i>Pseudomonas sp.</i>	Puits	15,75	
	Disque	11,00	
<i>Bacillus cereus</i>	Puits	27,50	
	Disque	23,00	

## Chapitre IV : Résultats et discussion

**Tableau. 31** : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Saturejacalamintha*

Souche bacterienne	Diametre (mm)		Photographie
	Puits	Disque	
<i>E.coli</i>	Puits	25,75	
	Disque	17,50	
<i>Staphilococcus aureus</i>	Puits	29,25	
	Disque	22,25	
<i>Pseudomonas sp.</i>	Puits	18,25	
	Disque	16	
<i>Bacillus cereus</i>	Puits	28,50	
	Disque	21,84	

Les tests préliminaires de l'activité antibactérienne testée par les méthodes de diffusion sur disque et puits ont montrés que l'extrait méthanolique et les HE De *Satureja*

## Chapitre IV : Résultats et discussion

*calamintha* ont un effet positif sur la croissance des bactéries : *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* et *Pseudomonas sp.*

### L'extrait méthanolique *Satureja calamintha*

L'évolution de l'activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique de *S. calamintha* a été effectuée par la méthode des disques et méthode des puits vis-à-vis des quatre souches bactériennes *E. Coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas sp.* et *B. cereus*.

L'extrait méthanoliques du Genre *Satureja* présente un effet inhibiteur très efficace contre les quatre espèces bactériennes mais avec des diamètres variables. Et le diamètre des zones puits est différent de celui des disques :

Technique puits : contacte directe avec les souches bactériennes +++

Technique disc : contacte indirecte avec les souches bactériennes ++

On peut résumer que l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique selon le diamètre de la zone d'inhibition comme suit :

<b><i>Bs</i></b>	<	<b><i>E. coli</i></b>	<	<b><i>St</i></b>	<	<b><i>Ps</i></b>
( $\emptyset_{\text{inhi}} = 27,50$ )		( $\emptyset_{\text{inhi}} = 25,50\text{m}$ )		( $\emptyset_{\text{inhi}} = 23,25$ )		( $\emptyset_{\text{inhi}} = 15,75$ )

### L'huile essentielle de *Satureja calamintha*

Une zone d'inhibition a été autours des puits à la charge de 1 $\mu$ l / puit après fin d'incubation des souches bactériennes de *E. coli*, *St*, *Bs*, *Ps* pendant 24h à 37°C.

Ces souches possèdent un faible potentiel de résistance contre l'action antibactérienne de cette huile.

La zone d'inhibition la plus élevée a été enregistrée avec (61mm) par rapport à celles des : (57,5 mm), *E. coli* ( 28 mm).

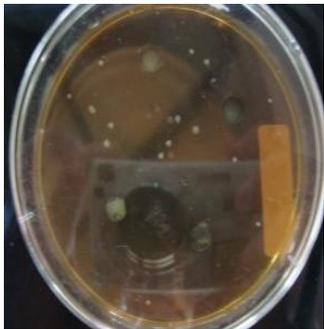
<b><i>St</i></b>	<	<b><i>Bs</i></b>	<	<b><i>E. coli</i></b>	<	<b><i>Ps</i></b>
( $\emptyset_{\text{inhi}} = 29,25$ )		( $\emptyset_{\text{inhi}} = 28,50\text{m}$ )		( $\emptyset_{\text{inhi}} = 25,75$ )		( $\emptyset_{\text{inhi}} = 18,25$ )

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentiel du Genre *satureja* est plus élevé par rapport aux celle des extrait méthanolique mais on constate que l'inhibition varie entre les différentes espèces bactériennes et ça due aux composes de l'huile essentiel riche en

## Chapitre IV : Résultats et discussion

métabolites secondaire. On conclue que l'huile essentielle de *Satureja calamintha* a une puissante activité antibactérienne contre les souches : *E. coli*, *St*, *Ps* et *Bs*.

**Tableau. 32** : Activité antifongique de *Satureja calamintha*

Champignon	Extrait	Huile essentielle
<i>Fusarium sp.</i>		
<i>Rhizopus sp.</i>		

Le **tableau. 32** rapporte les résultats du pouvoir antifongique de l'extrait organiques méthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Satureja calamintha* et de l'HE vis-à-vis des deux souches fongiques par la méthode de contact direct (puits) et indirecte (disc). Les résultats obtenus ont montré que l'HE de *Satureja calamintha* produit des zones d'inhibition très grandes (inhibition 100%).

Conclusion!

## Conclusion

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

La présente étude a porté sur l'espèce *Satureja calamintha* qui appartient à la famille des lamiacées, une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et les plus utilisées en médecine traditionnelle. Elle a permis de mettre en évidence à travers un criblage phytochimique la présence des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes et des triterpènes, des huiles volatiles et des saponosides.

Le dosage des phénols totaux de l'extrait méthanolique a révélé des teneurs considérables dans *Satureja calamintha* ( $131,28 \pm 3,76$  mg/g).

L'analyse par chromatographie sur couche mince des fractions obtenues avec quatre systèmes de solvant différents, a permis de séparer un certain nombre de métabolites secondaires dont les terpènes et les flavonoïdes sont les plus intéressants.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de réduction du piégeage du radical libre DPPH des extraits méthanoliques a montré que notre extrait possède un pouvoir antioxydant puissant, le pourcentage d'inhibition à une concentration de 300 mg/ml de l'extrait est d'environ 90%. La valeur de CI50 (108.04) de EMSC permet de confirmer que cet extrait possède une bonne activité antioxydante si on compare ces valeurs avec le t<sub>0</sub>t des polyphénols totaux de l'EMSC ( $131,28 \pm 3,76$ ) est proportionnel.

Par ailleurs, l'étude du pouvoir antifongique des extraits méthanoliques *Satureja calamintha* de vis-à-vis de deux souches mycéliennes a permis de visualiser une action inhibitrice à 100 %.

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion de disque et par la méthode des puits, nos résultats montrent que l'extrait méthanolique et les HE de *Satureja calamintha* ont un effet positif sur la croissance des bactéries : *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* et *Pseudomonas sp.*

L'espèce *Satureja calamintha* est riche en métabolites secondaires, une exploitation de leurs propriétés antioxydante et antimicrobienne implique une recherche plus poussée de ses principes actifs.

# Bibliographie

## B I B L I O G R A P H I E

**Afnor, 2000** : Association française de normalisation, huiles essentielles - Tome 2, monographies relatives aux huiles essentielles. 6<sup>e</sup>édition, Ed. AFNOR, Paris La défense, , 663 pp

**Arhab Rabah, Khenaka Karima, Leulmi Nassima, Belaidi Hakim, Harzallah Besma and Bousseboua Hacene, 2013**: the effect of essential oils extracted from *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* and *Juniperus phoenicea* on in vitro methanogenesis and fermentation traits of vetch-oat hay by. 140-144, Academic Journals African Journal of Environmental Science and Technology

**Arthur Cronquist, 1989**: The Evolution and Classification of Flowering Plants edition new book Vol. 64, No.4 p242

**Associated products, Indian essential oil industry 2005**: Focus on Surfactants, 2005, 4.

**Baba Aissa F. 2000**: Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba, 46.

**Baptiste Rahal et Christian Lartillot, 2005** : Vers le parc Jean-Jacques Rousseau, Beauvais, Conseil général de l'Oise, 130 p. (ISBN 2-11-095732-8

**Baricevic D, Sosa S, Della Loggia R, Tubaro A, Simonovska B, Krasna A, Zupancic A. 2001**: Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. J Ethnopharmacol. May;75(2-3):125-32.

**Baudoux., D. 2008** : L'aromathérapie. Amyris, Bruxelles, 253 pp

**Bensouici C, Benmerache A, Chibani S, Kabouche A, Abuhamdah S, Semra Z, Kabouche Z. 2013** :Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Satureja calamintha ssp. Sylvatica* from Jijel, Algeria .Der Pharmacia Lettre, , 5 (2):224-227

**Birt D. F., Hendrich, S., Weiqun, W. 2001** : Dietary agents in cancer prevention : flavonoids and isoflavonoids. Pharmacol Therap. 90 : 157-177

**Bloor S. J., 2001**: Method. Enzymol,335, 3-14.

**Bohrom N. 1997** : les huiles essentielles extraites des plantes médicinales : moyen efficace de lutte contre les ravageurs de denrées alimentaires stockées . Université du Maroc pp162

**Bracke M., Vyncke B., Opdenakker G., 1991** : Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro. Clin. Exp. Metastasis. 9:13-25.

**Brown J. E., Khodr H., Hider R. C., Rice-Evans C. 1998** : Structural dependence of flavonoid interactions with Cu<sup>2+</sup> ions. Biochem. J. 330 : 1173-1178  
Dacosta, Y. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.

**Bruneton J, 1999** : Pharmacognosie Phytochimie des plantes médicinales, Lavoisier Tec &Doc Paris – 3<sup>ème</sup> édition

**Bruneton J. ; 1993** Organization of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism. Trends in Plant Science, 6 , 212-221.388.

**Bruneton J. ; 1999** : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier. Paris, 199-Memelink J., Verpoort R., Kijine J.W. ; 2001.

**Bruneton J. 2009** : Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>e</sup> éd., revue et augmentée. Paris, France : Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1288 p.

**Caroline Foley, Jill Nice et Marcus A. Webb 2003** : Le Grand Guide des Herbes First Editions, pp156-157

**Cetković D.D. 2007** : Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts. Int. J. Mol. Sci., 8(10), 1013-1027.

**Conde C., Silva P., Fontes N., Pires D.A.C., Tavares R. M., Sousa, M.J., Agasse, A., Delrot S. and H. Gerós, 2007** : Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. Food 1:1-22. Global Science Books.

**Dacosta, Y. 2003** : Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.

**De Hoffman E., Charrette J., Strootbant V., 1999** : Spectrométrie de masse. Librairie Dunod, Paris, , p. 339.

**Essawi, T. et Srour, M. 2000** : "Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity." Journal Of Ethnopharmacology, 70: 343-349.

**Fabienne Maleysson 2006:** Les huiles glissent sur l'essentiel, Magazine Que choisir, février, no 434, p. 39, 40, 41 ;

**Faucon M., 2012 :** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale. Ed. Sang de la terre et Médical, Paris, , 879 pp.

**Fleuriet A, 1982 :** . Thèse Doc. Etat, Montpellier.

**Formica J. V., Regelson W. 1995 :** Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. Food Chem. Toxicol. 33: 1061-1080.

**Franchomme P., Penoël D. & Jollois 2003 :** R. L'aromathérapie exactement. Ed. Jollois, Bayeux, , 490 pp.

**Francisco A., Tomas-Barber N., Syed Z-H., Maria I-G. ; 1988.** The Distribution of Methylated Flavones in the Lamiaceae. Biochemical Systematics and Ecology, 16, 43-46.

**Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. 1995 :** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. Am. J. Clin. Nutr. 61: 549-554.

**Gerhard R. 1993 :** Métabolisme des végétaux, Physiologie et biochimie, Presses polytechniques et universitaire romandes CH-1015 Lausanne

**Gohari A.R., Saeidnia S., Gohari M.R., Moradi-Afrapoli F., Malmir M., Hadjiakhoondi A. ; 2010 :** Bioactive flavonoids from *Satureja atropatana* Bonge. Natural Product Research, 23, 609-14.

**Gören A.C., Topçu G., Bilsel G., Bilsel M., Wilkinson J.M., Cavanagh Heather M.A.; 2004. :** Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation thermal desorber and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity. Natural Product Research, 18 (2), 189-195.

**Grualbo R., Sesé J. A., Villar L. ; 1993 :** Nouvelle localité de *Calamintha grandiflora* (L.) Moench (Labiatae) dans les Pyrénées espagnoles. Le monde des plantes, 447, 7-11.

**Guenter., E. 1975 :** The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van Nostrand Ed. New York USA

**Guignard, J.-L 1996 :** Biochimie végétale Edition Masson.

**Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R., Bernigault R. 2005 :** Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole. Pp : 554-558.

**Halliwell B. 1994 :** Free radicals and antioxidants. *Nutr. Rev.* 52: 253-265. Cotelle, N. (2001) Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem.* 1: 569-590.

**Hamilton-Miller J. M. T., Shah S. 2000 :** Activity of the tea component epicatechin gallate and analogues against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* 46 : 852-853.

**Harborne J. B., Williams C. A. 2000 :** advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry.* 55:481-504.

**Harborne J.B., 1980 :** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series ,8, 329-402.

**Haslam E. 1989 :** Plant polyphenols - Vegetal tannins revisited. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 230 p (BioEssays, volume 12).

**Havsteen B. H. 2002 :** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therap.* 96: 67-202.

**Hernandez N.E., Tereschuk M.L., Abdala L.R. ; 2000 :** . Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafí del Valle (Tucumán, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology,* 73, 317-322.

**Hopkins W.G. 2003 :** Physiologie Végétale, De Boeck Université, 2ème édition

**Ildiko B., Maria-Loredana S., Dominca R., Simona Codruta C. ; 2009 :** HPTLC quantification of some flavonoids in extracts of *Satureja hortensis* L. obtained by use of different techniques. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC,* 22(1), 25-28.

**Jassim S.A., Naji M.A. 2003 :** Novell antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Appl. Microbiol.* 95(3) : 412-27.

**JEAN BOTTON A 1999 :** Pharmacognosie « Photochimie plante « médicinales 3eme éd TEC.DOC Paris. P484-p540

**Jean-Michel Hurtel, 2006 :** Huiles essentielles et medecine . Aromatherapie

**Jovanovic S.V., Steenken S., Simic M.G., Hara Y. 1998 :** Antioxidant properties of flavonoids . AHDIEQ Journal. 7 : 137-161.

**Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.F. ; 2002 :** Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. 1ère Edition De Boeck Université. Paris, 383.

**Koedam, A. 1982 :** "The influence of some distillation conditions on essential oil composition." World Crops: Production, Utilization, Description, 7: 229-236.

**Kohen R., Nyska A. 2002 :** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. Toxicolo Pathol. 30: 620-650.

**Kono K., Tatara I., Takeda S., Arakawa K., Hara Y. 1994 :** Antibacterial activity of epigallocatechin gallate against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Kansenshogaku Zasshi. 68 : 1518–1522.

**L.Raul. H. OCHOA. 2005 :** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » D'origine végétale. Thèse De L'institut National Polytechnique De Toulouse.

**Lamendin H. 2007 :** Soignez votre bouche par les plantes : remède d'hier et aujourd'hui. 5ème Edition L'Harmattan. Paris, 34.

**Laurent Bray. 2012 :** initiation à la botanique et découverte des petits secrets du monde vert  
Interactions végétales Conservation du jardin botanique de la ville Paris science végétale la guerre biologique est déclarée vu da8ns6l'officiel jardin motoculture - n°150 janvier/février le magazine référence de l'acmotoculture de jardin –espaces verts l'officiel jardin tualité jardin – espaces verts

**Lehucher-Michel M. P., Lesgards J. F., Delubac O. 2001 :** Stress oxydant et pathologies humaines. Press Med. 30: 1076-1081.

**M. Paris, M. Hurabielle. 1981 :** Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie). Tome 1 Masson, Paris, p 1-3,5-10.

**Macheix et coll., 2006 :** Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier 1-28

**Martin M. J., Marhuenda E., Perez-Guerrero C., 1994 :** Antiulcer effect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rats. Pharmacology 49(3) : 144-150.

**Mchedlishvili D., Kuchukashvili Z., Tabatadze T., Davitaia G. ; 2005 :** Influence of flavonoids isolated from *Saturejahortensis* L. on hypercholesterolemic rabbits. *Indian Journal Pharmacol.*, 37, 259-260. Vol.9, N°3 (2013) Article Composition chimique d'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc

**Michaelakis A., Spiridon A.T., Georgios Koliopoulos G., Nikos G.C. ; 2007:** Essential Oils of *Satureja* Species : Insecticidal Effect on *Culex pipiens* Larvae (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 12, 2567-2578.

**Middleton E. J. 1998 :** Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 439: 175-182.

**Mihajilov-Krstev T., RadnovićD., KitićD., ZlatkovićB., RistićM., BrankovićS. ; 2009 :** Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil. *Cent.Eur. J. Biol.*, 4(3), 411–416.

**Mueller-Harvey I. 2006 :** Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.* 86(13), 2010-2037

**Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S-M, Ghorbani A.; 2005 :** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79.

**Namgoong S. Y., Son K. H., Chang H. W., Kang, S. S., Kim H. P. 1994 :** Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 54 (5) : 313-320.

**Novelli G. P. 1997 :** Role of free radicals in septic shock. *J Physiol Pharmacol.* 48 : 517-527.

**OLLIER C. 2000 :** L'essentiel de l'aromathérapie. Ed. Le Moniteur des pharmacies. Cahier II du n°2341, 26 février 1-16 pp.

**Ong K.C. , Khoo H.E. 2000 :** Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sci.* 67: 1695-1705.

**Orallo F., Alvarez E., Basaran H., Lugnier C. 2004 :** Comparative study of the vasorelaxant activity superoxide-scavenging ability and cyclic nucleotide phosphodiesterase-inhibitory effects of hesperetin and hesperidin. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 370: 452-463.

**Pharmacopée française., 2013** : 11e édition. (dernière consultation : octobre 2013)

**Quezel P., Santa S. ; 1963** : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, 788-789.

**Ramírez-Restrepo CA and Barry TN. 2005** : Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. An. FeedSci. Technol. 120(3-4), 179-201.

**Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. 1996** : Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radic. Biol. Med. 20 : 933-956.

**Roland J.C et F, 2001** : Atlas de biologie végétale, T2 : Organisation des plantes à fleurs, Dunod, 8ème édition

**Sakar M.K., Engelshowe R., Tamer A.U. 1992** : Isolation and antimicrobial activity of flavonoids from *Prunus spinosa* L. flowers. Hacettepe Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi.12 : 59-63

**Samarth R.M., Panwar M., Soni A., Kumar M., Kumar A.; 2008** : Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract Food Chemistry, 106, 868-873.

**Sanchez-Moreno, C., J.A. Larrauri and F. Saura-Calixto, 1998.** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. J. Sci. Food Agric., 76: 270-276.

**Satrani B., Arah Abdella Fechtal Mohamed, Talbi Blaghen, Chaouch A. ; 2001** : Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* du Maroc. Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, 94(956), 241-250.

**Simic D, Vukovic-Gacic B, Knezevic-Vukcevic J, Trninic S, Jankov R. M. 1997** : Antimutagenic effect of terpenoids from sage (*Salvia officinalis* L.). Journal of environmental pathology, toxicology and oncology

**Sohal R. S., Mockett R. J., Orr W. C. 2002** : Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis, Free Rad. Biol. Med. 33 (5) :575.

**Stoclet J. C., Chataigneau T., Ndiaye M., et al. 2004** : Vascular protection by dietary polyphenols. Eur. J.Pharmacol.500 : 299-313.

**T. Stanojkovic ,B. Kolunzija, A. Ćiric, M. Sokovic,D.Nikolic, T.Kundakovic, 2013:** cytotoxicity and antimicrobial activity of *satureja kitai* beliiwierz. ex heuff (lamiaceae), Academic Journals Vol. 7(4), pp. 140-144,

**T.Stanojkovic, B.kolundzija, A.CiriC , M. Sokovic , D. Nikolic , T. Kundakovic** publier en Digest Journal of Nanomaterial's and Bio structures une etude sur cytotoxicity and antimicrobial activity

**Taguri T., Tanaka T., Kouno I. 2004** : Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. Biol. Pharm. Bull. 27(12) .

**Takahashi T, Kokubo R, Sakaino M 2004** : Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from Eucalyptus maculata. Lett. Appl. Microbiol. 39(1) : 60-4

**Tereschuk M. L., Riera M.V., Castro G.R., Abdala L. R. 1997:** Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of Tagetes minuta. J. Ethnopharmacol. 56 : 227–232.

These **Bugandoura N. 2011** : Au niveau d'Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen pour l'obtention duDiplôme de magister en Biologie en Thème du Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales Satureja calaminthas esp nepta (nabta) et Ajugaiva L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie.

**Van Acker S.A.B.E., van den Berg D.J., Tromp M.N.J.L., et al. 1996** : Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. Free Rad. Biol. Med.20: 331-342.

**Vansant G. 2004** : Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone.

**Vârban D.I., Duda M., Vârban R., Muntean S.; 2009:** Research Concerning the Organic Technology for Satureja Hortensis L. Culture. Bulletin UASVM Agriculture, 66(2), 225-229.

**Verma D. K., Singh S. K., Tripathi V. 1997:** A rare antibacterial flavone glucoside from Lantana camara. Indian Drugs. 34: 32–35.

**Vqlent, J. 2003** : Aromathérapie, 11ème édition Edition Vigot,.

**Waghorn G and McNabb WC. 2003** : Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants.Proc. Nutr. Soc. 62, 383-392.

**Woodman O. L., Meeker W. F., Boujaoude M. 2005** : Vasorelaxant and antioxidant activity of flavonols and flavones. *J. Cardiovasc.Pharmacol.* 46: 302-309.

**Yadava R.N., Tiwari L. 2005** : A potential antiviral flavone glycoside from the seeds of *Butea monosperma*.O. Kuntze. *J. Asian. Nat. Prod. Res.* 7(2): 185-188.

**Youdim K. A., McDonald J., Kalt W., et al. 2002** : Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). *J.*

**Yusuf Y., 2006** : *Trends Food Sci. Tech*,17, 64-71.

Annexes

## Liste des figures

- Fig.01** : Photo de *Satureja calamintha* subsp. *Nepeta* Le 26/12/2013 à la montagne Laaraba Sidi Abdelaziz –Jijel
- Fig.02** : Carte de répartition géographique de *Satureja calamintha*
- Fig.03** : Structures des polyphénols
- Fig.04** : Structure de base des flavonoïdes.
- Fig.05** : Structure de base des flavones.
- Fig.06** : Structure de base des flavonols.
- Fig. 07** : Structure de base des flavonones.
- Fig. 08** : Structure de base des flavanols.
- Fig. 09** : Structure de base des chalcones
- Fig. 10** : Structure de base des anthocyanidines
- Fig. 11** : Piégeage des ROS (Rx) par les flavonoïdes.
- Fig. 12** : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Men+)  
(D' après Van Acker et al., 1996)
- Fig. 13** : Comparaison entre deux pentahydroxyphénols (Harborne et Williams 2000)
- Fig. 14** : Éléments essentiels pour l'activité anti-oxydante des flavonoïdes (Rice-Evans et al., 1996).
- Fig. 15** : Structure générale des tanins hydrolysables
- Fig. 16** : Structure générale des tanins condensés
- Fig. 17** : Structure chimique de l'isoprène.
- Fig. 18** : Les systèmes de défense contre les radicaux libres.
- Fig. 19** : Équipement nécessaire pour distiller une huile essentielle.
- Fig. 20** : Carte géographique de la wilaya de Jijel avec la région d'étude (Sidi Abdelaziz)
- Fig. 21** : Etapes de la préparation de l'extrait méthanolique : 1-broyage du matériel, 2-extrait méthanolique, 3-filtrage de l'extrait méthanolique.
- Fig. 22** : Evaporateur rotatif
- Fig. 23** : Photographie de la hydro-distillation d'HE par le Clvenger
- Fig. 24** : Dépôt de l'échantillon
- Fig. 25** : Développement des plaques CCM
- Fig. 26** : Appareillage utilisé pour la GC-MS
- Fig. 27** : Etapes du protocole de dosage des phénols totaux
- Fig. 28** : la méthode des puits

**Fig. 29 :** C.C.M des alcaloïdes

**Fig. 30 :** Photo des extraits chloroformiques de : la racine, la tige, les feuilles et la fleur.

**Fig. 31 :** Chromatogramme de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

**Fig. 32 :** Résultats de la GC-MS de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

**Fig. 33 :** Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

**Fig. 34 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations l'extrait méthanolique de *Satureja calamintha*

## Liste des tableaux

- Tableau. 01** : Classification classique et moderne de *Satureja calamintha*
- Tableau. 02** : Les différents composés du métabolisme secondaire
- Tableau. 03** : Principales classes de composés phénoliques.
- Tableau. 04** : Différent utilisation des alcaloïdes (**Guignard J.L., 1996**).
- Tableau. 05** : Provenance des germes étudiés
- Tableau. 06** : Flavonoïdes
- Tableau. 07** : Photographie des résultats des Flavonoïdes
- Tableau. 08** : Tanins
- Tableau. 09** : Photographie des résultats des Tanins
- Tableau. 10** : Alcaloïdes
- Tableau. 11** : Photographie des résultats des Alcaloïdes
- Tableau. 12** : Saponosides
- Tableau. 13** : Photographie des résultats des Saponosides
- Tableau. 14** : Stérols et Stéroïdes
- Tableau. 15** : Photographie des résultats des Stérols et Stéroïdes
- Tableau. 16** : Anthraquinones
- Tableau. 17** : Photographie des résultats des Anthraquinones
- Tableau. 18** : Quinones
- Tableau. 19** : Photographie des résultats des Quinones
- Tableau. 20** : Hétérosides cyanogénétiques
- Tableau. 21** : Les différentes observations des plaques C.C.M
- Tableau. 22** : les taches obtenues avec le rapport frontal  $R_f$  (système : hexane/ acétate d'éthyle 8 :2)
- Tableau. 23** : les taches obtenues avec le rapport frontal  $R_f$  (système : Acétate d'éthyle / méthanol / eau distillé 10:1:0,5)
- Tableau. 24** : Les taches obtenues avec le rapport frontal  $R_f$  (système : Éther de pétrole / acétate d'éthyle 8:2)
- Tableau. 25** : les taches obtenues avec le rapport frontal  $R_f$  (système : chloroforme/ méthanol)
- Tableau. 26** : rendement de l'huile essentiel de *Satureja calamentha*
- Tableau. 27** : Caracteristiques de l'huile essentiel de *Satureja calamentha*
- Tableau. 28** : Résultats de la GC-MS de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

**Tableau. 29 :** Taux de polyphénols existant dans l'EMSC.

**Tableau. 30 :** Activité antibactérienne de l'extrait de *Satureja calamintha*

**Tableau. 31 :** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

**Tableau. 32 :** Activité antifongique de *Satureja calamintha*

## Liste des abréviations

ABSC : absorbance contrôle  
ABSE : absorbance l'échantillon  
AcoET : acétate d'éthyle  
Bs : Basilusse Sp.  
BuOH : buthanol  
CCM : chromatographie sur couche mince  
Ci : concentration d'inhibition du 50 %  
CPG : chromatographie en phase gazeux  
DPPH : 2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl  
E.Colie : *Echirichya Colie*  
EAg : Equivalent d'acid galique  
EMSC : extrait methanolique du *Satureja Calamintha*  
Et<sub>2</sub>O : Éthère de pétrole  
Fig : Figure  
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Acide sulfurique  
H<sub>2</sub>O : eau distiller  
HCl : acide Chlorohydrique  
HE : huile essentielle  
MeOH : méthanol  
Mg : magnesium  
Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : carbonate de sodium  
NH<sub>4</sub>OH : Oxyde d ammonium  
NO<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Anhydrid acetique  
Ø inhi : zone d'inhibition  
Ps : Pseudomonace  
R<sub>f</sub> : Rapport frontal  
S 3 : Systeme3 solvant 3  
S 4 : Systeme4 solvant 4  
S1 : Systeme solvant 1  
S2 : Systeme2 solvant 2-  
SM : Solution Mère  
St : Staphylo Cocus

## Liste des unités

$\mu\text{m}$  : micromètre

$^{\circ}\text{C}$  : degré cellcuse

cm : centimètre

g : gramme

h : heure

$\text{mgEAG.g}^{-1}\text{MS}$  : milligramme équivalent d'acide gallinique par gramme de matière sèche

ml : millilitre

mm : millimètre

## **Résumé :**

Notre étude a porté sur un screening phytochimique visant à caractériser les différentes classes de métabolites secondaires chez *Satureja calamintha* ss.p *nebta*. Ainsi que leurs activités biologiques. La plante à été récoltée à Jijel au Nord-est de l'Algérie et appartient à la famille des *Lamiaceae*.

L'analyse par CCM des fractions de flavonoïdes et des tanins a permis de révéler la présence des flavonoïdes et des terpènes dans les différents organes de *Satureja calamintha*

Le dosage des phénols totaux effectué sur l'extrait méthanolique été déterminé à partir de courbe d'étalonnage d'acide gallique de valeur appréciable.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de réduction de piégeage de radical libre DPPH sur l'extrait méthanolique a montré que L'extrait possède un pouvoir antioxydant modéré.

L'huile essentielle de *Satureja calamintha*, obtenue par hydrodistillation s'avère composer de D-Menthone 22,09 % , Acide chrysanthemique 20,24%, Pulégone 13,27 % , D-limonene 11,01 % ont été identifiés comme composant majoritaires .

L'effet antifongique de l'extrait méthanoïque de la plante est plus important. Par ailleurs, nous avons constaté que l'extrait méthanolique est moins actif sur les souches bactériennes. Par contre l'huile essentielle de *Satureja calamintha* à montrer Une meilleure activité antifongique et antibactérienne.

**Mots clés :** *Satureja calamintha*, Algérie, screening phytochimique, huile essentielle, Activité biologique.

## **Summary :**

Our study focused on a phytochemical screening to characterize different classes of secondary metabolites in *Satureja calamintha* ss.p *nebta*. And their biological activities. The plant was harvested in Jijel north-eastern Algeria and belongs to the Lamiaceae family.

CCM analysis of secondary metabolites revealed the presence of flavonoids and terpenes in different organs of *Satureja calamintha*

The determination of total phenols performed on the methanol extract was determined from calibration curve of gallic acid of significant value.

Evaluation of antioxidant activity by the method of reducing DPPH free radical scavenging on the methanol extract showed that the extract has a moderate antioxidant power.

The essential oil of *Satureja calamintha* obtained by hydrodistillation turns consist of : D-Menthone 22.09% chrysanthemic acid 20.24%, 13.27% Pulegone, D-limonene 11.01% were identified as major component .

The antifungal effect of the methanoic extract of the plant is more important. Furthermore, we found that the methanol extract is less active on bacterial strains. Against by the essential oil of *Satureja calamintha* to show a better antifungal and antibacterial activity.

Keywords: *Satureja calamintha*, Algeria, phytochemical screening, essential oil, organic activity.

## ملخص:

ركزت دراستنا على الفحص الكيميائي النباتي لتوصيف فئات مختلفة من المركبات الثانوية في *Satureja calamintha* وss.p nebta والأنشطة البيولوجية. وكان حصاد النبات في جيجل شمال شرق الجزائر، وينتمي إلى عائلة العائلة الشفوية.

وكشف تحليل CCM من المركبات الثانوية وجود مركبات الفلافونويد وتربين في مختلف أعضاء *Satureja calamintha*

تقرر تحديد مجموع الفينولات تجرى على مستخلص الميثانول من منحنى معايرة حمض الغال من قيمة كبيرة. وأظهر تقييم النشاط المضادة للأكسدة من خلال طريقة للحد من ارتباط الجذور الحرة DPPH على مستخلص الميثانول أن لديه القوة المضادة للأكسدة معتدلة.

الزيوت الطيارة لـ *Satureja calamintha* التي حصلنا عليها عن طريق hydrodistillation تتكون من-D :  
22.09% Menthone ، 20.24% حمض chrysanthemic ، 13.27% بوليغون، الليمونين-D حددت 11.01% كمكون رئيسي.

تأثير المستخلص الميثانولي من النبات على الفطريات هو أكثر أهمية. وعلاوة على ذلك، وجدنا أن مستخلص الميثانول هو أقل نشاطا على السلالات البكتيرية. الزيوت الطيارة *Satureja calamintha* أظهرت النشاط الأفضل ضد للفطريات وضد للجراثيم.

الكلمات الرئيسية *Satureja calamintha*: والجزائر والفحص الكيميائي النباتي، من الضروري النفط، والنشاط العضوية.

**Noms et Prénoms : KISMOUN SOUMIA et BENKHEDDIM ALLAH ROKIA**

**Mémoire de fin de cycle**

**Pour l'obtention du diplôme de Master**

**Filière : Biologie et physiologie végétale**

**Option : Métabolisme secondaire et molécules bioactives**

**Thème : Etude phytochimique et biologique de la plante**

***Satureja Calamintha***

**Résumé :**

Notre étude a porté sur un screening phytochimique visant à caractériser les différentes classes de métabolites secondaires chez *Satureja calamintha* ss.p *nebta*. Ainsi que leurs activités biologiques. La plante a été récoltée à Jijel au Nord-est de l'Algérie et appartient à la famille des *Lamiaceae*.

L'analyse par CCM des fractions de flavonoïdes et des tanins a permis de révéler la présence des flavonoïdes et des terpènes dans les différents organes de *Satureja calamintha*

Le dosage des phénols totaux effectué sur l'extrait méthanolique été déterminé à partir de courbe d'étalonnage d'acide gallique de valeur appréciable.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de réduction de piégeage de radical libre DPPH sur l'extrait méthanolique a montré que L'extrait possède un pouvoir antioxydant modéré.

L'huile essentielle de *Satureja calamintha*, obtenue par hydrodistillation s'avère composer de D-Menthone 22,09 % , Acide chrysanthemique 20,24%, Pulégone 13,27 % , D-limonene 11,01 % ont été identifiés comme composant majoritaires .

L'effet antifongique de l'extrait méthanoïque de la plante est plus important. Par ailleurs, nous avons constaté que l'extrait méthanolique est moins actif sur les souches bactériennes. Par contre l'huile essentielle de *Satureja calamintha* à montrer Une meilleure activité antifongique et antibactérienne.

**Mots clés :**

**Soutenu le : 23/06/2014**

**Devant le jury :**

- **Président : Mme Chaib Gania // Professeur. Université Constantine 1**
- **Promoteur : Mr Chibani Salih // M.A.C. Université Constantine1**
- **Examinatrice : Mme NebachSalwa // Professeur. Université Constantine1**