

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biotechnologies
Spécialité : *Biotechnologie et Biothérapie*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Évaluation des activités biologiques de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L. en vue de son application en biothérapie

Présenté par : BERRABAH Hadil
RECHACHI Aicha

Le 20/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Dr. KARA ALI Mounira (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinateur 1 : Dr. BELLIL Inès (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinateur 2 : Dr. BOULAHBAL Bilel (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciement

*Avant tout, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la force d'accomplir ce projet de fin d'étude.*

*Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements à notre promotrice **Dr Kara Ali Mounira**, pour avoir accepté d'encadrer ce travail. Elle s'y est grandement impliquée par ses remarques et ses encouragements. Nous tenons à la remercier pour la confiance et le degré d'autonomie qu'elle nous accordé tout au long de l'étude.*

*Nos remerciements les plus dévoués aux membres du jury : **Dr. Bellil Inès** et **Dr. BOULAHBAL Bilel** pour avoir accepté la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et d'examiner ce travail. Merci infiniment.*

*Avec pleine de gratitude nous tenons à remercier le professeur **NOREDDINE KACEM CHAUCHE** directeur du département biologie appliquée, directeur du laboratoire LaMyBAM, pour la qualité de son enseignement, son encouragement et son intérêt qu'il porte à tous les étudiants.*

*Nous exprimons nos remerciements profonds Monsieur **Mekki Habib**, qui nous a donné la chance de travailler au sein du Laboratoire de l'Annexe de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie Nationale à Constantine où l'analyse chromatographique a été effectuée. Il nous a tellement aidé et épaulé pour accomplir ce travail,*

*Nous sincères remerciements vont également au Monsieur **Chikhi Hamid**, gérant de l'entreprise BIOEXTRAPAMAL pour la bienveillance et la sympathie avec laquelle il nous a accueilli, pour ses conseils pratiques au cours de la phase de récolte et de la distillation.*

*Nous exprimons nos profondes gratitudes à tout l'ensemble du personnel de laboratoire microbiologique et physicochimique de l'unité de Saidal-Médéa, en particulier **Omar, Fouad** et **Karim** pour leurs aides et leurs générosités.*

*Nous adressons nos remerciements également à Mr. **Chawki Bensouiki**, chef de service du Laboratoire de Biochimie au Centre National en Biotechnologie pour nous avoir accueilli. Et aussi, à Mr. **Derouiche Mohammed Taher**, responsable de l'expérimentation animal au niveau du Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques pour son aide dans l'étude de l'activité antalgique in vivo, et nous remercions aussi le docteur **Boukerrou Nadjib** pour accepter de réaliser l'activité anticoagulante au sein de sa clinique médicochirurgicale.*

Dédicace

Comme un geste de gratitude, je dédie ce travail à :

*Ma chère mère **Hamidi Ben Hamida Raja***

À mon support de la vie, à celle qui m'arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour. Elle n'a jamais cessé de me soutenir et de m'encourager par ses prières et ses sacrifices. Elle m'a toujours poussé et motivé dans mes études. Elle est toujours là et proche de moi, sans elle, je n'aurais certainement pas continué mes études supérieures. Je t'aime maman et je t'adore énormément. Que dieu te garde et t'accorde la santé, le bonheur et une longue vie.

À ma famille

*À toute personne qui porte le nom **Rechachi, Hamidi Ben Hamida & Mahmoudi Bouziani***

À mes grands-pères et grands-mères, Tantes et Oncles, cousines et cousins, pour l'amour qu'ils ont témoigné à mon égard. Merci pour votre soutien. Que dieu vous préserve

À mes frères et sœurs Malak, Karima & Younes, à Salsabil, Anfel & Siradj. Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'amour que je porte pour vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. Que dieu vous garde

*Ma binôme **Berrabah Hadile***

Grâce à qui j'ai obtenu de magnifiques souvenirs et moments. Elle m'a soutenu, tout au long de cette mémoire, dans les moments les plus difficiles, Merci infiniment pour votre patience.

Que dieu te protège

À mes amis

À ma meilleure ami Ayou, à mes adorables cousines Zahra et Nesrine. Merci pour le courage, les sourires et les bons moments ensemble. Je vous aime et je vous souhaite une vie pleine de réussite, de santé et de bonheur. Que dieu vous protège mes BESTIES.

À toute personne qui occupe une place dans mon cœur

Aicha

Dédicace

À mon idole, à mon amour éternel à celui qui m'a marqué mes premiers pas et qui ma portée sur son dos et me porte toujours avec son cœur...

*À mon seul héro que j'adore, mon cher papa **Abdellatif**.*

À mon ange, mon paradis, à celle qui m'a donnée la vie et éclairée mes jours qui m'a amené là où je suis...

*À ma vie, ma chère maman **Sihem Smati**.*

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Je n'arrive jamais à vous rendre tout ce que vous m'avez donné, J'espère que vous êtes fière de moi.

*À mon cher frère **Mokhtar** et mes chères sœurs **Hanna, Rayen, Riheb, Yousra et Farah**, aucune dédicace ne pouvait exprimer mon amour et mon attachement à vous..., je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussite. Que tous vos rêves soient exaucés.*

*À mon oncle **Sadet**, mon deuxième père. Qu'**ALLAH** le Plus Haut vous garde en bonne santé et vous prête une longue vie pleine de bonheur et de prospérité.*

*À mes chères grandes mères ; l'exemple de tendresse, l'amour et le sacrifice. Que **dieu** vous garde pour moi.*

*À toute les membres de la famille **Berrabah et Smati**.*

*À mon binôme, **Aicha** ; qui a partagé avec moi les moments heureux et difficiles de ce travail. Ces mots ne suffiront pas à exprimer tout ce que j'ai sur le cœur et toute la gratitude que je porte. Merci pour ta positivité, ton soutien et ton aide dans les moments durs. Je te souhaite un avenir plein de joie et de prospérité*

*À mes très chères copines, **Mouna et Safa** ; vous êtes pour moi des sœurs plus que des amies. Soyez toujours comme je vous connais.*

À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Hadil

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

1- Introduction.....	01
2- Revue bibliographique.....	03
2.1- Plantes médicinales.....	03
2.1.1- Définition.....	03
2.1.2- Composition des plantes médicinales.....	03
2.1.2.1- Huile essentielles.....	03
2.1.2.2- Alcaloïdes.....	03
2.1.2.3- Flavonoïdes.....	04
2.1.2.4- Phénols.....	04
2.1.2.5- Tannins.....	05
2.1.3- Préparation des plantes médicinales.....	05
2.1.3.1- Récolte.....	05
2.1.3.2- Séchage.....	05
2.1.3.3- Conservation.....	06
2.2- Plante étudiée : <i>Lavandula dentata</i>	07
2.2.1- Généralités	06
2.2.2- Taxonomie.....	07
2.2.3- Répartition géographique.....	07
2.2.4- Applications thérapeutiques et utilisations.....	08
2.3- Huile essentielle : bref aperçu.....	08
2.3.1- Méthodes d'extraction.....	09
2.3.1.1- Techniques conventionnelles.....	09
2.3.1.1.1- Distillation.....	09
A- Hydrodistillation.....	09
B- Entraînement à la vapeur d'eau.....	10
C- Hydro-diffusion.....	11
2.3.1.1.2- Expression à froid.....	11
2.3.1.1.3- Extraction par solvant.....	12
2.3.1.1.4- Enfleurage.....	12

2.3.1.2- Techniques innovantes.....	12
2.3.1.2.1- Extraction par fluide supercritique.....	13
2.3.1.2.2- Extraction assistée par micro-onde.....	13
2.3.1.2.3- Extraction par ultrason.....	14
2.3.2- Composition chimique.....	15
2.3.2.1- Terpénoïdes.....	15
2.3.2.2- Phénylpropanoïdes.....	16
2.3.2.3- Autres constituants.....	16
2.3.3- Propriétés et caractéristiques physico-chimiques.....	17
2.3.4- Méthodes d'analyse.....	17
2.3.4.1- Chromatographie en phase gazeuse.....	17
2.3.4.2- Chromatographie en phase gazeuse/un détecteur FID	17
2.3.4.3- Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse	18
2.3.5- Intérêts des huiles essentielles.....	18
2.3.6- Toxicité des huiles.....	19
2.4- Activités biologiques.....	19
2.4.1- Activité antimicrobienne.....	19
2.4.2- Activité antalgique.....	21
2.4.3- Activité anticoagulante.....	21
2.4.4- Activité anti-Alzheimer.....	22
2.4.5- Activité antidiabétique.....	23
2.4.6- Activité antioxydante.....	23
3- Matériel et Méthodes.....	25
3.1- Plante étudiée.....	25
3.2- Huile essentielle.....	27
3.2.1- Extraction	27
3.2.2- Rendement.....	28
3.2.3- Caractéristiques.....	28
3.2.3.1- Caractéristiques organoleptiques.....	28
3.2.3.2- Caractéristiques physico-chimiques.....	28
3.2.3.2.1- Densité relative.....	28
3.2.3.2.2- Indice de réfraction.....	28
3.2.3.2.3- Pouvoir rotatoire.....	29

3.2.3.2.4- Indice d'acide.....	30
3.2.3.2.5- Indice de saponification.....	30
3.2.3.2.6- Indice d'ester.....	32
3.2.3.2.7- Indice de peroxyde.....	32
3.2.3.2.8- Teneur en eau.....	32
3.2.3.2.9- Potentiel d'hydrogène.....	33
3.2.4- Analyse chromatographique.....	33
3.3- Evaluation des activités biologiques.....	35
3.3.1- Activité antimicrobienne.....	35
3.3.1.1- Evaluation qualitative.....	36
3.3.1.1.1- Préparation des suspensions microbiennes et ensemencement.....	36
3.3.1.1.2- Dépôts des disques.....	36
3.3.1.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	37
3.3.2- Activité antalgique.....	37
3.3.3- Activité anticoagulante.....	39
3.3.3.1- Préparation du plasma pool déplaquetés.....	39
3.3.3.2- Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène.....	39
3.3.3.3- Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène.....	39
3.3.4- Activité anti-Alzheimer.....	40
3.3.5- Activité antidiabétique.....	42
3.3.6- Activité antioxydante.....	43
4- Résultats et discussion.....	48
4.1- Rendement d'extraction.....	48
4.2- Caractéristiques de l'huile.....	48
4.2.1- Caractéristiques organoleptique.....	49
4.2.2- Caractéristiques physico-chimiques.....	49
4.3- Analyse chromatographique.....	51
4.4- Activités biologiques.....	53
4.4.1- Activités antimicrobienne.....	54
4.4.1.1-Evaluation qualitative.....	54
4.4.1.2- Détermination de la CMI.....	59
4.4.2- Activité antalgique.....	61
4.4.3- Activité anticoagulante.....	62

4.4.4- Activité anti Alzheimer.....	65
4.4.5- Activité antidiabétique.....	67
4.4.6- Activité antioxydante.....	68
5- Conclusion et perspectives.....	70
Références bibliographiques.....	72

Annexes

Abstract

ملخص

Liste des figures

N°	Titre de figure	P
01	Structure de morphine et de quinine	04
02	Structure générale des flavonoïdes	04
03	Structure générale des phénols.....	04
04	Structure générales des tanins	05
05	Photo de <i>Lavandula dentata</i> L.....	07
06	Schéma de montage de l'hydrodistillation	10
07	Schéma de montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	10
08	Schéma de dispositif de l'hydro-diffusion.....	11
09	Photo de dispositif de l'expression à froid.....	12
10	Schéma du procédé de l'extraction par CO ₂ supercritique.....	13
11	Schéma de montage de l'extraction sans solvant assisté par micro-onde.....	14
12	Extraction aux ultrasons bac et sonde	15
13	Structure chimique des composants prépondérants des HEs.....	16
14	Sites et mécanismes d'action des HEs sur les bactéries	20
15	Mécanisme d'action des antioxydants.....	24
16	Photo de récolte de <i>L. dentata</i>	26
17	Photo de la zone de récolte.....	27
18	Photo de dispositif d'hydrodistillation	27
19	Photo de réfractomètre	29
20	Photo de polarimètre	29
21	Photo de montage de saponification	31
22	Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse.....	34
23	Lecteur des zones SCAN1200.....	36
24	Etapes expérimentales pour l'étude de l'activité antalgique.....	38
25	Etapes expérimentales pour l'étude de l'activité anticoagulante.....	40
26	Protocole suivi pour l'étude de l'activité anti-Alzheimer.....	41
27	Protocole suivi pour l'étude de l'activité anti- α -amylase.....	42
28	Mécanisme de piégeage de DPPH.....	44
29	Protocole suivi pour mesurer l'activité antioxydante DPPH	44
30	Mécanisme de piégeage de l'ABTS+.....	45
31	Protocole suivi pour l'étude de l'activité antiradicalaire ABTS+.....	46

32	Protocole suivi pour l'étude de l'activité antioxydante "pouvoir réducteur"....	47
33	Chromatogramme des composants de l'HE de <i>L. dentata</i>	52
34	Pourcentage des composants majoritaires par rapport aux autres constituants...	52
35	L'activité antibactérienne de l'HE brute.....	54
36	L'activité antifongique de L'HE brute.....	57
37	Détermination de la CMI.....	59
38	Moyennes du temps de latence des souris.....	61
39	Temps de coagulation par voie exogène.....	63
40	Temps de coagulation par voie endogène.....	64
41	Résultats de l'activité anti-Alzheimer sur microplaque.....	65
42	Pourcentage d'inhibition de BChE.....	66
43	Résultats de l'activité antidiabétique sur microplaque.....	67
44	Inhibition d' α -amylase par l'HE.....	68
45	Résultats de l'étude de l'activité antioxydante sur microplaques.....	69

Liste des tableaux

N°	Titre	P
01	Classification de la plante <i>L. dentata</i>	07
02	Caractéristiques de la région de récolte de <i>L. dentata</i>	26
03	Conditions opératoires des analyses par CPG/SM.....	34
04	Souches microbiennes testées.....	35
05	Caractéristiques organoleptiques de l'HE de <i>L. dentata</i>	49
06	Indices physicochimiques de l'HE de <i>L. dentata</i>	49
07	Composition chimique de l'HE de <i>L. dentata</i>	51
08	Composants majoritaires de l'HE selon la provenance.....	53
09	L'action inhibitrice de l'HE de <i>L. dentata</i> contre les souches bactériennes...	56
10	Valeurs de la concentration minimale inhibitrice.....	61
11	Résultats de test d'inhibition de l'enzyme BChE.....	65
12	Résultats de test d'inhibition de l'enzyme α -amylase.....	67
13	Résultats des tests DPPH, ABTS ⁺ et pouvoir réducteur.....	69
14	Concentration d'inhibition de 50 % des radicaux libres et A0.5 du fer.....	70

Liste des abréviations

Plante médicinale	PM
Huile(s) essentielle(s)	HE(s)
<i>Lavandula dentata</i> L.	<i>L. dentata</i>
Extraction par fluide supercritique	SFE
Dioxyde de carbone	CO ₂
Chromatographie en phase gazeuse	CPG
Chromatographie en phase gazeuse couplé à la Spectrométrie de masse	CPG/SM
Spectrométrie de masse	SM
Détecteurs à ionisation de flamme	FID
Organisation Mondiale de la Santé	OMS
Société nationale de développement de la recherche	NRDC
Concentration minimal inhibitrice	CMI
Concentration minimal bactéricide	CMB
Radicaux libres	ROS
Association Française de Normalisation	AFNOR
Organisation Mondiale de la Santé	OMS
Hydroxyde de potassium	KOH
Hydroxyde de sodium	NaOH
Acide chlorhydrique	HCL
Chlorure de sodium	NaCL
Thiosulfate de sodium	Na ₂ S ₂ O ₃
Potentiel d'hydrogène	Ph
Inhibitive Concentration of 50 %	IC50
1,1-Diphényl-2- picryl hydrazyl	DPPH
maladie d'Alzheimer	MA
Diméthyl Sulfoxide	DMSO
Iodure de potassium-Iode	IKI
Diamètre de zone d'inhibition	DZI
Temps de Céphaline Kaolin	TCK
Taux de Prothrombine	TP
Temps de Quick	TQ

2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)	ABTS ⁺
Concentration correspondant à 0.50 d'absorbance	A0.5
Pourcentage d'inhibition	I%
acétylcholinestérase	AChE
acétylcholine	ACh
inhibiteurs de cholinestérases	IChE
butyrylcholinestérase	BChE

Introduction

1- Introduction

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment, ceux d'origine végétale constituent une source d'intérêt primordial pour l'homme qui a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement afin de traiter et de soigner toute sortes de maladies (Justus, 2018).

Récemment, la médecine connaît un engouement extraordinaire à travers le monde entier, par l'utilisation des plantes médicinales (PM), qui sont actuellement l'objet de nombreuses recherches scientifiques pour le traitement des différentes pathologies (Lammari, 2021).

Les PM représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Les huiles essentielles (HEs) représentent l'un des principaux composés qui nécessitent une attention particulière, en effet, leur secteur a bénéficié d'une croissance rapide, soutenue par l'étendu et la diversité des secteurs de leurs application (Bedou, 2019 ; Alatawi, 2021).

L'Algérie, vue de sa situation géographique et sa diversité climatique, dispose d'une richesse floristique naturelle. Elle compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques. Les espèces de la famille Lamiacée constituent l'un des espèces les plus dominant et les plus riches en HEs. Elles sont largement utilisées en aromathérapie grâce à leurs vertus thérapeutiques intéressantes (Hamel *et al.*, 2018).

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'explorer des biomolécules d'origine naturelle issu d'une plante médicinale. En effet, l'accent est mis sur l'extraction, l'étude physicochimique et l'évaluation de différentes activités biologiques de l'HE de *Lavandula dentata* L. en vue de son application en biothérapie.

Pour ce faire, plusieurs étapes s'avèrent nécessaires :

Une étude bibliographique concernant des généralités sur les PM ; une description de la plante étudiée *Lavandula dentata* L., et un bref aperçu sur les huiles essentielles, ainsi qu'une présentation aux différentes activités biologiques qui ont été mise en évidence.

La partie matériel et méthode est consacrée aux différentes approches illustrant l'extraction de l'HE de *Lavandula dentata* L., la détermination de ses propriétés physico-chimiques, (caractéristiques organoleptiques et analyse chromatographiques) et l'évaluation de ses activités biologiques à savoir ; L'activité antimicrobienne, l'activité antalgique, l'activité anticoagulante, l'activité anti-Alzheimer, l'activité antidiabétique et l'activité antioxydante.

La partie résultats et discussion est portée sur la comparaison entre les recherches précédentes et celle obtenue dans la présente étude. Finalement, le mémoire se termine par une conclusion qui ouvre des perspectives futures sur le thème étudié.

*Revue
bibliographique*

2- Revue bibliographique

2.1- Plantes médicinales

2.1.1- Définition

Les PM possèdent dans leurs organes (feuilles, fleurs, racines...*etc.*) des molécules à vertus préventives ou curatives. Ces plantes peuvent avoir également des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. L'action thérapeutique de la PM est liée à son utilisation entière sous forme de totum, et non réduite à des molécules de principes actifs (Bonnafous, 2013 ; Bellamine, 2017).

2.1.2- Composition des plantes médicinales

Chaque PM contient plusieurs centaines de composants, certains jouent un rôle important dans l'activité thérapeutique et sont désignés comme substances bioactifs. Les composants les plus importants des PM sont : les HEs, les phénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les tannins qui sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (Rombi et Robert, 2015).

2.1.2.1- Huiles essentielles

Les HEs sont des molécules à noyau aromatique, offrant à la plante une odeur caractéristiques. Elles jouent un rôle dans la protection des plantes contre un excès de lumière et attire les insectes pollinisateurs. Elles sont utilisées pour soigner des maladies en raison de leurs effets thérapeutiques, aussi dans l'industrie cosmétique et alimentaire (Iserine *et al.*, 2001 ; Dunstan *et al.*, 2013).

2.1.2.2- Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles azotées à réaction basique fréquente issus d'acides aminés. Ils portent le nom du végétal qui les contient. Tous les alcaloïdes ont une action physiologique intense, médicamenteuse ou toxique, les alcaloïdes ont donné naissance à de nombreux médicaments. Exemples : quinine et morphine (figure 1) (Ali-Delille, 2013).

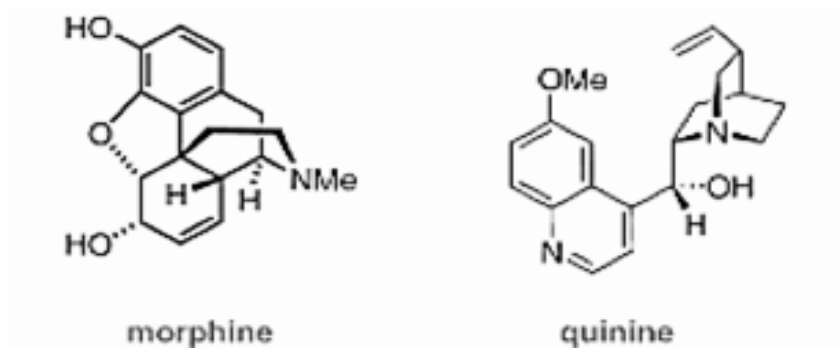


Figure 1 Structure de morphine et de quinine (Boutefnouchet *et al.*, 2020)

2.1.2.3- Flavonoïdes

Les flavonoïdes (figure 2) sont à l'origine de la coloration des feuilles, fleur, fruit ainsi que d'autres parties végétales. Ils sont des antibactériennes qui possèdent aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales. Ils peuvent être utilisés dans plusieurs industries comme l'industrie cosmétique, alimentaire et pharmaceutique (Wichtl et Anton, 2009).

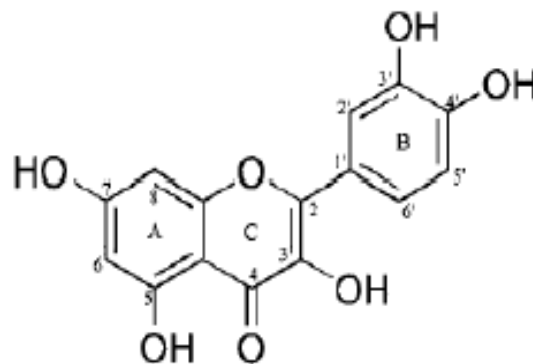


Figure 2 Structure générale des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002)

2.1.2.4- Phénols

Les phénols sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle (figure 3), ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ils possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (Iserin *et al.*, 2001).

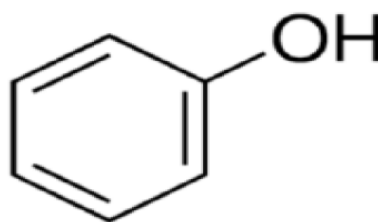


Figure 3 Structure générale des phénols (Laurent, 2017)

2.1.2.5- Tannins

Les tannins (figure 4) sont des composés phénoliques (polyphénols) accumulés dans les racines, l'écorce, les feuilles et quelquefois dans les fruits de certaines plantes (arbres, arbustes, arbrisseaux ...etc.). Ils se caractérisent par leur saveur amère et astringente. Ils possèdent en outre des propriétés antiseptiques, antibiotiques, astringentes, anti-inflammatoires, anti-diarrhéiques, anticoagulantes et Vasoconstrictrices (Baba Aïssa, 2011).

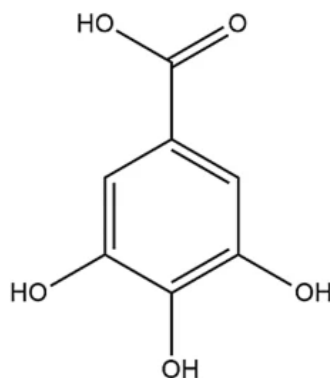


Figure 4 Structure générales des tannins (Kavitha et Kandasubramanian, 2020)

2.1.3- Préparation des plantes médicinales

2.1.3.1- Récolte

En médecine traditionnelle, la récolte des PM est une étape très importante. Certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance. La récolte doit être effectuée au moment le plus favorable afin de conserver l'efficacité des principes actifs (Debuigne et Couplane, 2013).

2.1.3.2- Séchage

Le séchage des PM est une technique qui consiste à déshydrater le végétal. Il est effectué juste après la récolte en respectant certaines conditions et quelques règles génériques. En effet, quelques conditions s'avèrent nécessaires pour sécher les PM à savoir ; la température reste stable et relativement chaude (comprise entre 30 et 40°C) et l'humidité relative de l'air soit minimale. En revanche, des températures de séchages supérieures à 40°C peuvent détruire les composants médicinaux des HES qui sont très sensibles à la chaleur, ce qui entraîne la perte de ces intérêts thérapeutiques. Le séchage doit être rapide et dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière (Debuigne et Couplane, 2013).

2.1.3.3- Conservation

Des PM parfaitement séchées et bien conservées gardent très bien leurs vertus et peuvent être employées durant une année. Au-delà de cette période, leur pouvoir diminue et l'action thérapeutique disparaît. Le stock de plantes doit être renouveler chaque année. La conservation est, en effet, réalisée dans des bocaux de verre ou dans des sacs en papiers, dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Une plante séchée saine et utilisable doit garder le même aspect, la même couleur et un bon parfum identique à celui constaté le jour de la fin de séchage (Debuigne et Couplan, 2013).

2.2- Plante étudiée : *Lavandula dentata*

2.2.1- Généralités

Lavandula dentata (*L. dentata*) appartenant à la famille des lamiacées, qui représente une grande famille, très typique du monde végétal et possède une importance économique due à sa richesse en HEs. Elle s'agit de l'une des principales familles de plantes dicotylédones qui comprend environ 7200 espèces, avec 258 genres répartis en sept ou huit sous-familles qui représentent des plantes herbacées, des arbustes et très rarement des arbres ou des lianes. (Lazarin et Couplan, 2010).

Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres des Lamiacées affilié à la sous-famille des Népétoïdes. Il est composé d'environ 39 espèces toutes originaires des régions sèches, ensoleillées et rocailleuses du monde. Les plantes de ce genre sont mellifères et célèbres pour leurs fleurs en épis blancs, roses, bleus ou violets, elles sont agréablement parfumées de mars à septembre (Bachiri *et al.*, 2016).

En Algérie *L. dentata* est connu sous le nom Djaida. Appelée aussi, Lavande frangée, Khzama et Helhal en arabe, Dentée et Lavande anglaise en français (Lim, 2014 ; Bousmaha *et al.*, 2005 ; Hui *et al.*, 2019).

L. dentata est une plante vivace aromatique. Elle est un arbuste au port dressé branches, ligneuses à la base et longuement dénudées sous les épis floraux (figure 5). Elle mesure entre 50 à 90 cm et atteindre jusqu'au 1 m de haut et de large (Giuliani *et al.*, 2020).



Figure 5 Photo de *Lavandula dentata* L. (Original,2022)

2.2.2- Taxonomie

Selon le Catalogue of life (2022), la classification de *L. dentata* est décrite dans le tableau1

Tableau 1 Classification de la plante *L. dentata*

Règne	Plantae
Embranchement	<i>Tracheophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Lamiales</i> <i>Bromhead</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Lavandula</i> L.
Espèce	<i>Lavandula dentata</i> L.

2.2.3- Répartition géographique

La lavande dentée pousse sur les sols siliceux et les garrigues des régions arides méditerranéennes ou sahariennes. Leurs stations naturelles s'étendent du bord de mer jusqu'à des altitudes de 2500 m. Généralement, elle habite les lieux à climat tempéré et doux, dont les sols est pauvre et rocheux. En effet, elle présente sur toute la largeur de l'Afrique du nord et jusqu'au sud de la péninsule arabique : au Maroc, Espagne, Algérie, Ethiopie, Yémen, Arabie Saoudite, Erythrée, Jordanie. Elle est considérablement cultivée pour ses fleurs aromatiques

dans différentes régions de France Italie, Angleterre, et même à l'extrême nord de la Norvège (Bousmaha *et al.*, 2005 ; Rebey *et al.*, 2017).

2.2.4- Applications thérapeutiques et utilisation

Des recherches pharmacologiques se montrent que *L. dentata* possède un large spectre d'activité biologique principalement les propriétés sédatives, antibactériennes, antifongiques, antidépressives, anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antivirales. La lavande dentée est une PM utilisée dans la médecine traditionnelle comme antidiabétique, antispasmodique, antihypertenseur contre la grippe et les coliques néphrétiques, ainsi que la prévention des maladies cardiovasculaires et dégénératives (Balasundram, 2006 ; Imelouane *et al.*, 2019).

L. dentata est utilisée également dans la préparation des parfums, des savons, des poudres de talc et des bougies parfumées), aussi dans l'ornementation et comme plante mellifère (Qneibi, 2018 ; Imelouane *et al.*, 2019).

2.3- Huile essentielle : bref aperçu

Selon AFNOR NF T 75-006, l'HE est définie comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation ».

Selon la Pharmacopée Européenne, (2008), une HE est 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 HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de composition »

Les HEs sont largement répandues dans le monde végétal mais n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques, parmi lesquelles les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées, les Cannelacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées (Al Abed et Kambouche, 2003 ; Amri, 2015).

Les HEs se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante, aussi bien dans les fleurs ; les feuilles ; les fruits et les tiges que dans les écorces, les graines, les racines, les rhizomes ou le bois. Elles se forment dans des cellules sécrétrices variables selon l'organe végétal considéré,

puis elles s'accumulent avant qu'elles soient stockées dans des cellules spécialisées regroupées en poches ou en canaux sécréteurs (Abdelli, 2017 ; Chenni, 2016).

2.3.1- Méthodes d'extraction

L'extraction des HEs est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet de capter et recueillir les produits les plus volatils et fragiles qu'élabore la plante, et cela sans altérer la qualité. Il existe deux méthodes d'extraction des HEs à savoir ; les méthodes conventionnelles et les méthodes innovatrices (Boukhatem *et al.*, 2019).

Le choix de la méthode la mieux adaptée à l'extraction de l'HE se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'extrait et son usage (Hessas et Simoud, 2018).

2.3.1.1- Techniques Conventionnelles

Plusieurs procédés des techniques conventionnelles sont mentionnés dans la littérature. En effet, les techniques qui vont être décrites ci-dessous sont les plus utilisées.

2.3.1.1.1- Distillation

Lors de la distillation des HEs ; nombreux phénomènes sont à la base des échanges de matière entre les phases : solide, liquide et vapeur, d'où l'influence des plusieurs paramètres sur la qualité et le rendement de la production de ces essences végétales. Il existe trois différents procédés utilisant le principe de la distillation à savoir : l'hydrodistillation ; l'hydro-diffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau (Ouis, 2015).

A- L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la technique la plus répandue pour l'extraction. Elle consiste à immerger le matériel végétal sec ou frais à traité dans une cuve remplie d'eau, l'ensemble est ensuite porté à ébullition. Après, Les vapeurs hétérogènes formés sont condensées par un système de réfrigération par courant d'eau, et L'HE se sépare de l'hydrolat par différence de densité (Chenni, 2016). L'opération est décrite dans la figure 6

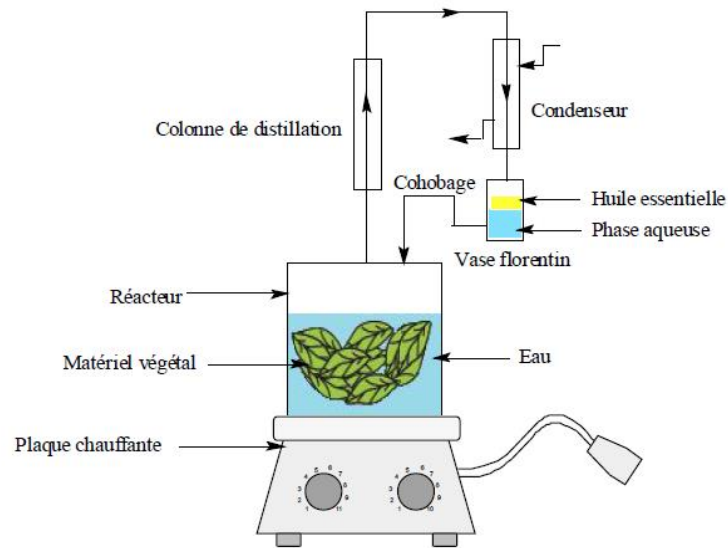


Figure 6 Schéma de montage de l'hydrodistillation (Chenni, 2016)

B- Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est la technique la plus récente de distillation dans laquelle il n'y a pas de contact direct entre la matière végétale et l'eau. Elle apporte une amélioration à la qualité de l'HE en réduisant les altérations hydrolytiques. Son procédé consiste à produire un vapeur d'eau dans une chaudière séparée, puis l'injecter à la base de l'alambic. Ensuite elle remonte à l'intérieur et traverse la plante en dissolvant et évaporant les molécules aromatiques. Après, la vapeur hétérogène passe par un système de refroidissement qui entraîne sa condensation en liquide saturé d'eau sur lequel flotte l'HE (Deschepper, 2017). La figure 7 illustre le montage de cette méthode.

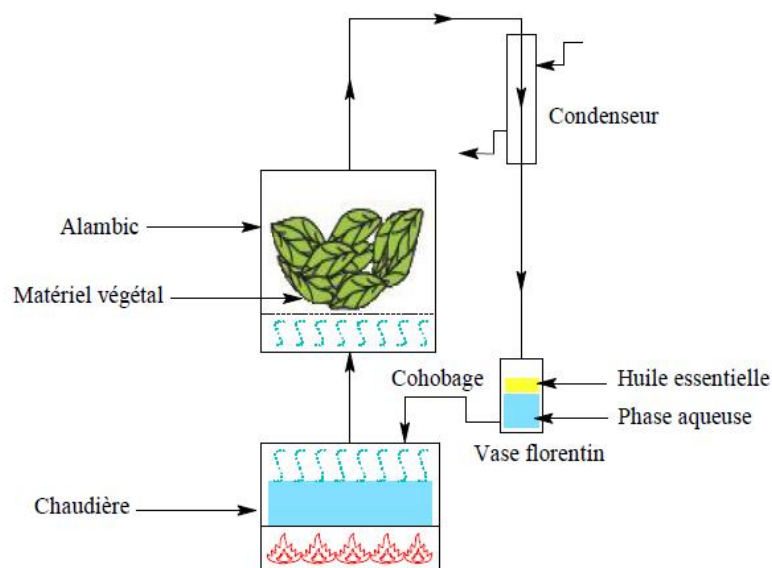


Figure 7 Schéma de montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (Chenni, 2016)

C- Hydro-diffusion

L'hydro-diffusion (figure 8) est une technique relativement récente. C'est une variante de l'entraînement à la vapeur d'eau. Son principe consiste à pulser du haut vers le bas de la vapeur d'eau à pression réduite de sorte qu'il traverse la masse végétale. La condensation du mélange de vapeur contenant l'HE se produit sous la grille retenant la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils (Abdelli, 2017 ; Hesses, 2018).

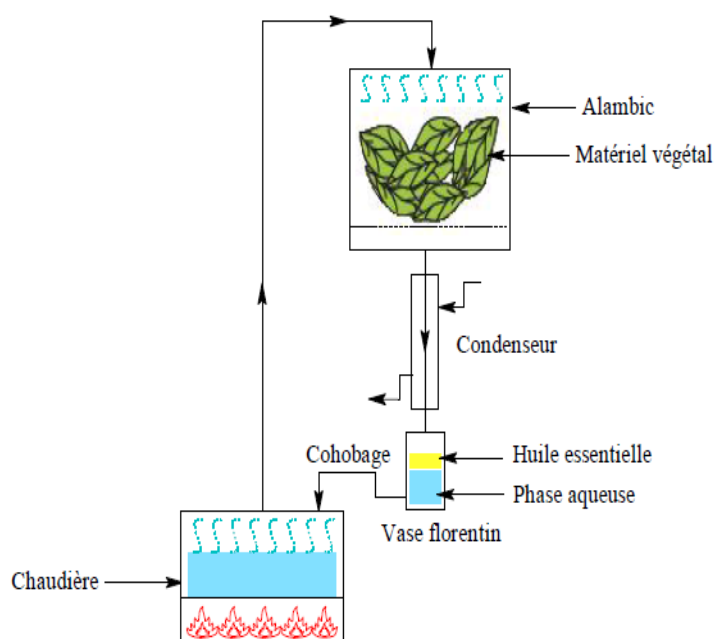


Figure 8 Schéma de dispositif de l'hydro-diffusion (Chenni, 2016)

2.3.1.1.1- Expression à froid

L'expression à froid (figure 9) est une technique sans chauffage. Elle est réservée à l'extraction des zestes des agrumes. Elle est fondée sur la rupture des péricarpes réservoirs d'essence olfactive. Son principe consiste à rompre les poches à essences par un moyen mécanique, pression, incision ou abrasion à froid. L'HE entraînée par un courant d'eau sera séparée par décantation ou centrifugation (Bonnafous, 2013 ; Alloun, 2018).

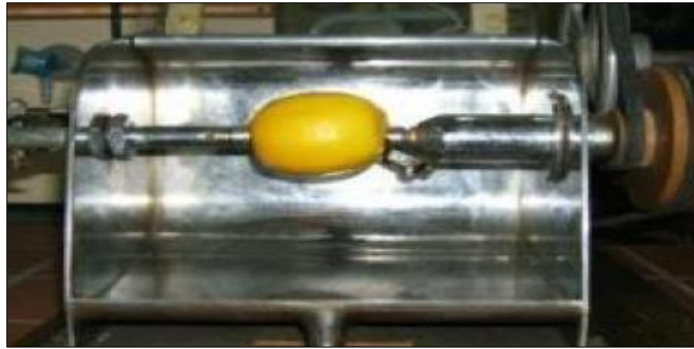


Figure 9 Photo de dispositif de l'expression à froid (Chenni, 2016)

2.3.1.1.2- Extraction par solvant

L'extraction par solvant est une technique utilisée pour extraire des substances odorantes volatiles à partir des organes de végétaux trop fragile et qui ne supportent pas la chaleur. Cette méthode consiste à épuiser la matière végétale à l'aide d'un solvant approprié pendant une durée déterminée. Après décantation et concentration, le solvant est ensuite éliminé par distillation partielle et on obtient un mélange pâteux odorant appelé concrète. Ce dernier ne contient pas uniquement des molécules volatiles mais également des cires et des acides gras. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont : l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (Boukhatem, 2019 ; Bouyahyaoui, 2020).

2.3.1.1.3- Enfleurage

L'enfleurage est une technique utilisée pour extraire les substances odorantes des fleurs fragiles qui ne supportent pas la chaleur de la distillation. Elle est fondée sur l'affinité pouvant exister entre un corps gras et une HE. Son principe consiste à déposer les pétales des fleurs à une température ambiante, sur des plaques enduites de graisses solides sur lesquelles, elles séjournent de 24 à 78 heures. On obtient ainsi une pommade (graisse saturée en constituants volatils) à partir de laquelle, on récupère les produits volatils floraux au moyen d'un alcool (Alloun, 2018).

2.3.1.2- Techniques innovantes

Pour surmonter les limites des méthodes d'extraction conventionnelles, de nouvelles techniques d'extraction prometteuses sont introduites appelées méthodes innovantes. Elles regroupent l'extraction par fluide supercritique, l'extraction assistée par micro-onde et l'extraction assistée par ultrason (Triaux, 2019)

2.3.1.2.1- Extraction par fluide supercritique

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique (SFE), provient de l'utilisation de solvant dans des conditions de températures et de pressions où il se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquides et gazeuses et présente des propriétés physicochimiques différentes. Le solvant le plus utilisé est le dioxyde de carbone (CO_2), pour des raisons pratiques. Ainsi que sa facilité d'obtention grâce à ses pressions et températures critiques relativement basses. Il est non toxique, non inflammable, inerte et disponible à haute pureté et à faible coût (Bonnafous, 2013 ; Boukhatem *et al.*, 2019).

SFE est une alternative à l'utilisation de solvants chimiques, et une avancée vers la séparation de composés à hautes valeurs ajoutées. Elle consiste à charger la matière végétale dans l'extracteur, puis le CO_2 introduit sous pression est réfrigéré. Ensuite le CO_2 reprend sa forme gazeuse par une réduction de pression, et il conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant. Après évaporation du solvant, l'extrait est décanté pour obtenir l'absolu. Enfin le CO_2 est récupéré dans un condensateur et recyclé pour de nouvelles opérations (Chenni, 2016). La figure 10 ci-dessous présente le schéma de cette technique.

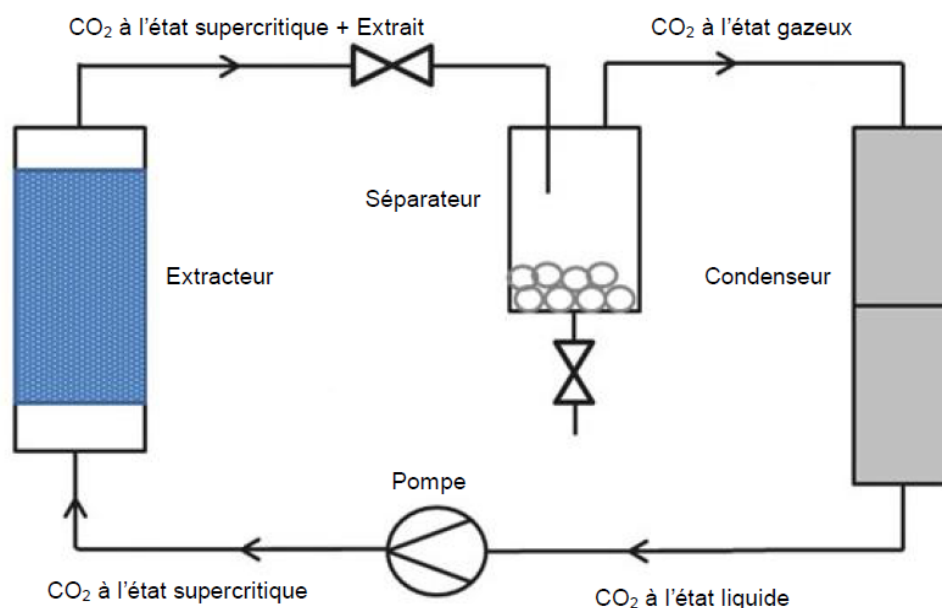


Figure 10 Schéma du procédé de l'extraction par CO_2 supercritique (Negahban *et al.*, 2012)

2.3.1.2.2- Extraction assistée par micro-onde

L'extraction par micro-onde (figure 11) est une technique récente qui combine l'utilisation des microondes et d'autres méthodes conventionnelles. Elle consiste à placer la matière végétale dans un réacteur au sein d'un four et chauffé par les micro-ondes sans l'ajout d'eau ou de

solvant. Les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier (Lucchesi, 2006).

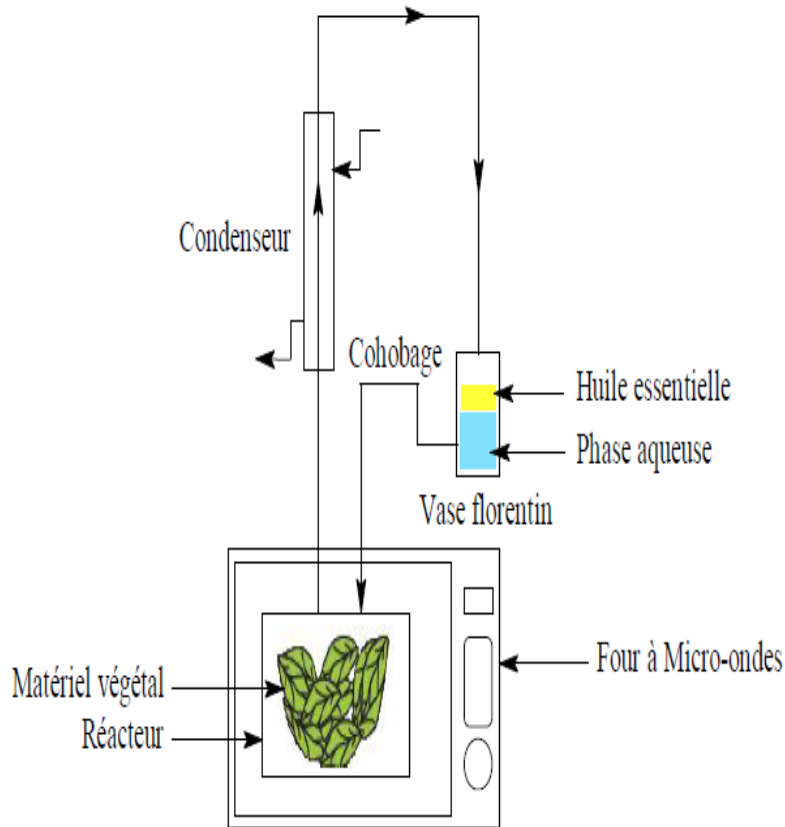


Figure 11 Schéma de montage de l'extraction sans solvant assisté par micro-ondes (Chenni,2016)

2.3.1.2.3- Extraction par ultrason

L'extraction par ultrason est une technologie émergente qui a été mise au point dans le but d'améliorer l'efficacité et le rendement d'extraction, et de réduire le temps et la consommation d'énergie durant l'extraction. Son principe consiste à immerger la matière végétale dans l'eau ou le solvant, et de la soumettre à l'action des ultrasons. Elle est utilisée pour l'extraction des composés aromatiques ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique. Les types d'équipements couramment utilisés dans les laboratoires sont le bac et la sonde à ultrason (figure12) (Mnayer, 2014 ; Chenni, 2016).

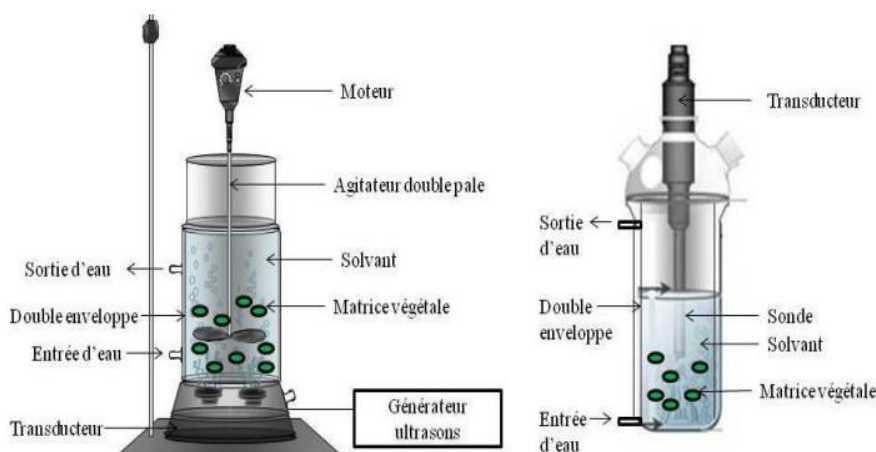


Figure 12 Extraction aux ultrasons bac et sonde (Mnyayer,2014)

2.3.2- Composition chimique des HEs

Une HE est un mélange complexe et variable, constituée de dizaines vers centaines des composés chimiques. La plupart du temps elle comporte un ou deux composants majoritaires qui jouent le rôle central de ses propriétés thérapeutiques. En effet, les constituants d'une HE appartiennent à deux groupes distincts : Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes. (Laurent, 2017), La structure des composants prépondérants des HEs est schématisée dans la figure 13.

2.3.2.1- Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont définis comme une classe modifiée des terpènes qui sont des molécules chimiques synthétisées à partir d'isoprène (C_5H_8) avec des groupes fonctionnels différents, et groupes méthylés-oxydés déplacés ou supprimés à divers endroits. Les monoterpènes sont les composants majoritaires des HEs avec 90%, suivi des sesquiterpènes. Tandis que, les diterpènes, triterpènes, et les tétraterpènes avec leurs dérivés oxygénés sont détectés en petites quantités (Stephane *et al.*, 2020 ; Masyita *et al.*, 2022).

- **Les monoterpènes** : sont des hydrocarbures aliphatiques, saturés ou insaturés. Ils ont constitué de deux unités isopréniques(C_{10}). Selon le mode de couplage « tête-queue », ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. Souvent, rattachant à certain nombre de substances à fonctions chimiques à titre d'exemple ; Ethers, Esters, Alcools, Cétones, Phénols, Aldéhydes (Chaib, 2018).
- **Les sesquiterpènes** : sont constitués de trois unités isopréniques. Ils ont une structure similaire de celle des monoterpènes. Les carbures alcools et cétones étant les plus fréquents (Guinard, 2016).

2.3.2.2- Phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes sont des composés biologiquement actifs des PM. La structure de base est l'unité C6-C3 de cycle benzénique (C6) généralement, lié à une chaîne latérale à trois carbones (C3) en position 1 et oxygéné en troisième/quatrième/cinquième position/s. parmi Les phénylpropanoïdes les plus retrouvées dans les HEs ; les phénols et les éthers de phénols (Stevanovic *et al.*, 2020).

2.3.2.3- Autres constituants

Les essences peuvent contenir des traces des autres composants. Il s'agit de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles provenant d'acides gras insaturés, de lactones, de terpènes, de glycosides, et composés contenant du soufre et de l'azote (Hyldgard *et al.*, 2012).

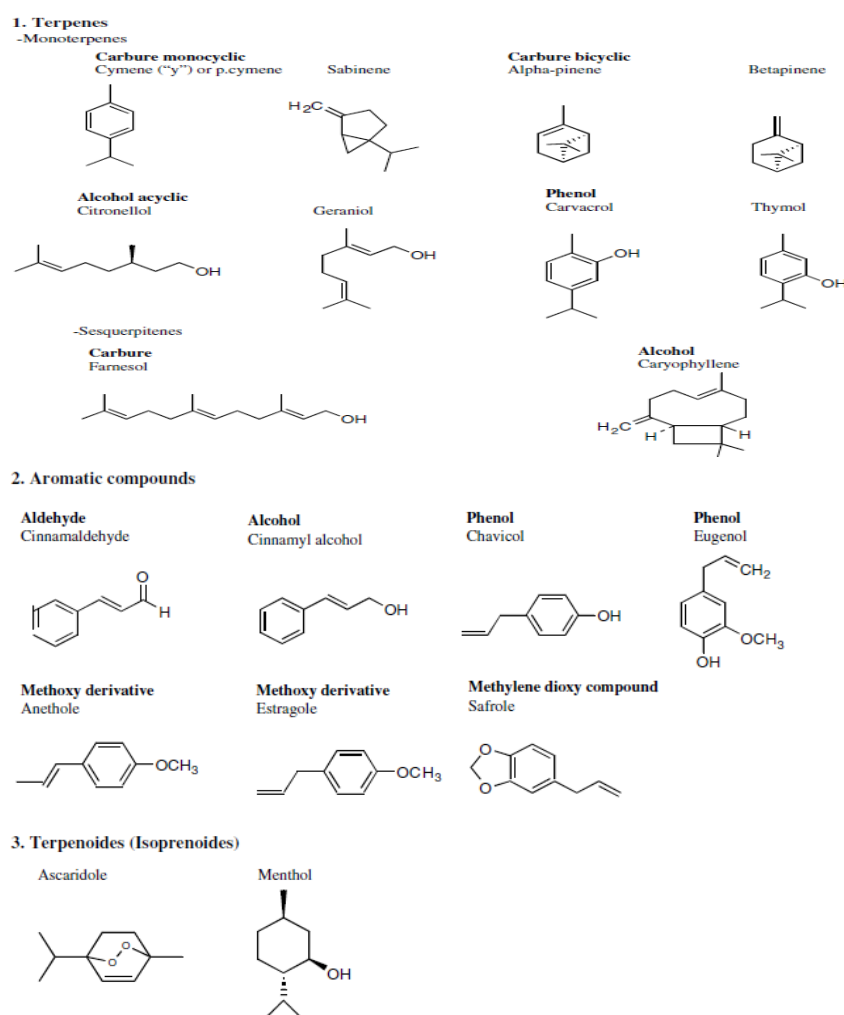


Figure 13 Structure chimique des composants prépondérants des HEs (Bakkali *et al.*, 2008)

2.3.3- Propriétés et caractéristiques physico-chimiques

Les HEs sont constituées des molécules aromatiques de très faible masse moléculaire. Elles sont très odorantes, volatiles, inflammables, liquides à température ambiante. Leurs couleurs varient du jaune au vert en passant par le rouge ou le marron foncé. Leur densité est inférieure à celle de l'eau, exception faite pour les HEs de clou de girofle, cannelle et saffran qui sont plus lourdes. Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les émulsifiants, acide gras et dans la plupart des solvants organiques et insolubles dans l'eau. L'HE a un indice de réfraction élevé et elle est optiquement active (Bruneton, 1999).

2.3.4- Méthodes d'analyse des HEs

De nombreuses techniques d'analyse sont utilisées pour vérifier l'authenticité de HE et déterminer sa composition chimique, on cite entre autres, la chromatographie en phase gazeuse (CPG), le couplage CPG/MS (spectrométrie de masse) et le CPG/FID (détecteurs à ionisation de flamme) (NurAidha *et al.*, 2020).

2.3.4.1- Chromatographie en phase gazeuse

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux mélanges complexes. Elle est parfaitement adaptée aux composés volatils et permet la détection et l'individualisation des constituants chimiques mineurs à partir d'un échantillon de l'ordre de milligramme voire microgramme, en particulier, lorsqu'elle est utilisée en association avec un détecteur ou un appareil spécifique. La phase stationnaire représente un liquide non volatil réparti ou greffé sur un support inerte. La phase mobile est constituée de gaz inerte (H_2 , N_2 , He). La solution est injectée au moyen d'une seringue soit manuellement, soit avec un injecteur automatique qui permet d'obtenir une meilleure reproductibilité. La chambre d'injection est maintenue à une température dont la vaporisation de l'échantillon se fasse dans un temps le plus court possible. La séparation des composés dépend du type de colonne utilisée et de la polarité de la phase stationnaire (Moghaddam et Mehdizadeh, 2017).

2.3.4.2- Chromatographie en phase gazeuse/un détecteur FID

Après avoir choisi le type de colonne appropriée et un programme de température adéquat, la détection des composés élués est obtenue par un détecteur FID. Dans le cas des HEs, le FID est le détecteur le plus cité dans la littérature (Figueredo, 2007).

Le FID est une méthode de détection efficace, sensible et polyvalente, particulièrement indiquée pour l'analyse de produits naturels volatils. Elle repose sur une flamme générée par la combustion d'un flux hydrogène mêlé à l'air ultra pur. Le gaz porteur qui sort de la colonne

capillaire passe à travers cette flamme. Lorsqu'une molécule organique portée par le gaz atteint la flamme, elle est oxydée et génère des ions chargés électriquement. Des électrodes près de la flamme mesurent en temps réel le courant électrique ainsi généré, qui est reporté sur un chromatogramme (Gelais, 2014).

2.3.4.3- Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

Le couplage CPG/SM, est la technique utilisée en routine pour la détermination de la composition chimique des HEs. Elle est une méthode qui se base sur la séparation des constituants à l'aide de CPG et leur identification par le biais de la SM- Elle permet d'identifier avec précision les molécules séparées dans le système chromatographique en mesurant le rapport m/z de l'ion moléculaire, aussi en étudiant leurs profils de fragmentation dans des conditions analytiques définies (Moutaouakkil *et al.*, 2018).

2.3.5- Intérêts des huiles essentielles

Les HEs constituent une matière première destinée à divers secteurs d'activités. Leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années. En effet, la recherche industrielle de ces composées à forte valeur ajoutée est hautement demandée, et ce grâce à la multiplicité de leurs usages dans de nombreux secteurs industriels et l'engouement des consommateurs pour ces produits de qualité.

L'intérêt accru de la population pour les produits de santé naturels a contribué au développement de l'industrie des HEs. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80 % de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire.

Les HEs représentent un outil thérapeutique très efficace qui permet d'élargir le champ des traitements médicaux. Elles peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de principes actifs.

L'utilisation des HEs dans différentes pathologies (digestive, infectieuse, ...*etc.*) fait appel à leurs propriétés : anti-infectieuse, antalgique, anti-inflammatoire, sédative, antimicrobien, antispasmodique et antioxydante (Bessah, 2015).

L'industrie des cosmétiques, savonneries et parfums constitue le plus gros consommateur d'HEs. Il représente 60% de la demande totale en substances naturelles, selon la société nationale de développement de la recherche (NRDC). Ce secteur se caractérise par une très grande variété de produits et de prix souvent élevé. Les HEs sont utilisées comme matière première de base dans la fabrication des parfums et aussi pour soigner la peau (l'acné, les rides), les cheveux

(contre les pellicules, cheveux cassants, ternes, sec, gras...*etc.*) et la silhouette (vergetures, cellulite).

Les HEs sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire comme des rehausseurs de goût des aliments et la conservation grâce aux effets antimicrobiens et antioxydants de certains de leurs constituants. Ces agents naturels viennent réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques qui présentent des effets néfastes sur la santé. Elles sont également employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, thym, laurier...*etc.*) et aussi utilisées en confiserie (bonbons, chocolat...*etc.*) (Bessah et benyoussef, 2015 ; Ouis, 2016).

2.3.6- Toxicité des huiles essentielles

Malgré les activités bénéfiques des HEs, elles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisées sans risque. Elles sont toxiques à fortes doses et peuvent induire des troubles très graves. Elles sont dangereuses, en raison de leur hépatotoxicité, dermatotoxicité, neurotoxicité, et néphrotoxicité. Elles ont aussi des effets tératogènes, abortifs et cancérigènes. Notons que, certaines précautions, sont nécessaires pour évaluer le danger potentiel des HEs qui sont susceptibles de représenter à un certain niveau d'exposition afin d'éviter tout risque. Il est impératif de se souvenir que produit naturel issu de plante n'implique pas innocuité absolue (Bouhadouda, 2016 ; Deschepper, 2017).

2.4- Activités biologiques des huiles essentielles

Les HEs et leurs composants possèdent nombreuses activités biologiques spécifiques. Elles ont montré plusieurs capacités thérapeutiques et médicinales tels que l'activité antimicrobienne, antalgique, anticoagulante, anti-Alzheimer, antidiabétique et antioxydante ainsi que d'autres activités qui sont démontrées dans des recherches récentes (Ismaili *et al.*, 2017).

2.4.1-Activité antimicrobienne

L'utilisation des antibiotiques pour lutter contre les microorganismes pathogènes est limitée en raison de leurs effets cancérigènes, leur toxicité aiguë et leur danger pour l'environnement en plus du problème de la résistance bactériennes à cette classe thérapeutique. L'augmentation de la résistance aux antimicrobiens a orienté la recherche pour l'identification de nouvelles biomolécules avec une large activité antibactérienne. Pour cela, l'exploitation des HEs pour lutter contre diverses maladies infectieuses est utile (Rudramurthy *et al.*, 2016).

Les HEs possédant un pouvoir antimicrobien vis-à-vis des bactéries gram-positif et gram-négatif, les champignons et les virus. Un large éventail de pathogènes fongiques humains,

animaux et agricoles ont montré une importante sensibilité aux HEs in vitro ce qui accroît l'intérêt pour leur application thérapeutique et industrielle (Bertella, 2019).

Les principales méthodes de détermination du pouvoir antimicrobien des HEs sont la technique de micro atmosphère et les techniques par contact direct. Les méthodes utilisées par cette dernière sont la technique de diffusion des disques (aromatogramme) ou des puits (cylindres) ainsi que la méthode de dilution en milieu liquide ou solide qui serve à déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) (Bertella, 2019).

Malgré le grand nombre des recherches sur l'activité antimicrobienne des HEs, le nombre des études sur les mécanismes d'action de ce pouvoir reste négligeable. Le mode d'action des HEs sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé. Du fait, de la diversité quantitative et qualitative des constituants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (figure 14) (Bajpai et Kang, 2010).

De façon générale, il a été observé d'une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules.

Le mode d'action des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela, peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K^+) (Daouda, 2015).

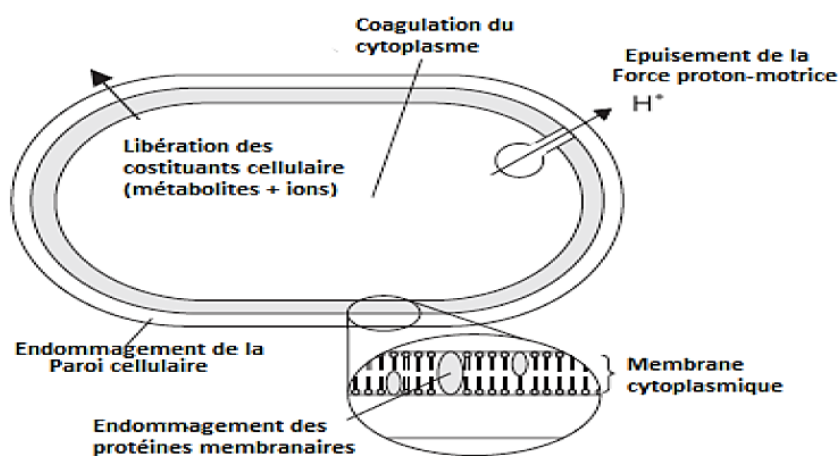


Figure 14 Sites et mécanismes d'action des HEs sur les bactéries (Burt, 2004)

2.4.2- Activité antalgique

La douleur est définie par l'association internationale pour l'étude de la douleur comme étant une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite en ces termes. La transmission douloureuse est un phénomène complexe, impliquant des mécanismes électrophysiologiques et neurochimiques. L'énergie du stimulus va être transformée en un message nerveux grâce aux nocicepteurs, les récepteurs sensoriels de la douleur. Les nocicepteurs peuvent être stimulés directement (par stimuli mécanique ou thermique) ou indirectement suite à une inflammation. Il existe deux types de douleur ; la douleur aiguë et la douleur chronique. La durée d'évolution est l'élément prépondérant qui permet de distinguer entre les deux (Athamena, 2020).

Les antalgiques ou les analgésiques sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent les sensations contrairement aux anesthésiques. Il existe deux types ; les antalgiques morphiniques ou centraux atténuent ou suppriment la douleur d'une façon globale et leur point d'impact est central, ainsi que, les antalgiques non morphiniques qui sont moins forte. Les plante et leurs extraits continueront d'être la source de nouveaux médicaments. Elles sont composées de plusieurs molécules actives agissant souvent en synergie pour fonction de soulager les douleurs. La morphine fait parti des médicament antalgiques, qui ont été isolée depuis des sources naturelles (Bounihi, 2016).

2.4.3- Activité anticoagulante

L'hémostase est un mécanisme de réponse physiologique pour limiter les pertes sanguines après blessure vasculaire. Elle est essentielle à la conservation de l'intégrité de système vasculaire et par la même à la survie de l'organisme Elle comprend trois étapes l'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse (Schved, 2015).

La coagulation est le mécanisme qui permet de passer du clou plaquettaire issu de l'hémostase primaire au caillot définitif), grâce à une cascade enzymatique entraînant l'activation en chaine des facteurs plasmatiques circulant sous forme de précurseurs inactifs. La coagulation est déclenchée par deux voies métaboliques ; la voie endogène qui est la voie minoritaire, activée par stimulation du facteur XII, et la voie exogène qui est la voie majoritaire, activée par mise en contact et complexation du facteur tissulaire (exprimé par des cellules sanguines ou endothéliales activées) et du facteur VII. L'excès de la coagulation cause la thrombose qui est une maladie vasculaire la plus fréquente, résulte d'une perturbation de cascade de l'hémostase. De ce fait, deux types de thrombose sont distingués la thrombose artérielle et la thrombose veineuses. Les deux sont distinctes et différent entre elles dans les facteurs de risque, les

mécanismes physiopathologiques et les manifestations chimiques. La thrombose peut provoquer des maladies cardiovasculaires donc l'augmentation de la possibilité d'avoir une crise cardiaque (Lacut *et al.*, 2008 ; Ifrah et Maynadié, 2018 ; Laly, 2018 ; Lopez *et al.*, 2019). Les anticoagulants classiques comme l'aspirine et le clopidogrel jouent des rôles prédominants dans le traitement, la gestion et la prévention de thrombose. Cependant, ils présentent des effets secondaires graves tels que la toxicité gastro-intestinale, saignement et tolérance chez certains patients. Il existe donc un besoin clinique de médicaments antiplaquettaires plus efficaces et plus sûrs pour prévenir et traiter les thromboses. Des substances naturellement disponibles dérivées de plantes sont restées un élément majeur comme une source d'ingrédients pharmaceutiques actifs pour la découverte de nouveaux médicaments (Alatawi *et al.*, 2021). Les HEs possèdent une utilité plus large dans le traitement des saignements externes que les médicaments anticoagulants actuels grâce aux leurs composants qui indique une activité anticoagulante tel que les coumarines et les aldéhydes (Laetita, 2015).

2.4.4- Activité anti-Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative chronique caractérisée par des mécanismes physiopathologiques bien définis, touchant le lobe temporal interne et les structures néocorticales associatives. Elle entraîne la perte progressive et irréversible de fonctions mentales supérieures dont la mémoire ainsi que, l'apparition de certaines maladies infectieuses ; troubles thyroïdiens ; désordres ioniques ; diabète et des carences vitaminiques. Les plaques neuritiques et les enchevêtrements neurofibrillaires représentent les caractéristiques pathologiques de la MA et sont respectivement liés à l'accumulation du peptide bêta-amyloïde dans les tissus cérébraux et aux modifications cytosquelettiques résultant de l'hyper-phosphorylation de la protéine *Tau* associées aux microtubules dans les neurones. Dans le cerveau en bonne santé, l'acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme la plus importante régulant le taux d'acétylcholine cérébrale (ACh), tandis que la butyrylcholinestérase (BChE) joue un rôle mineur. Cependant, l'activité de BChE augmente progressivement chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Mayer, 2012 ; Benabdallah, 2021).

Malgré l'étiologie inconnue de la MA, l'élévation de la quantité d'acétylcholine par l'utilisation d'agents qui rétablissent le niveau d'acétylcholine en inhibant les deux formes principales des cholinestérases (AChE et BChE) a été accepté comme la stratégie de traitement la plus efficace contre la MA. Par conséquent, les inhibiteurs de cholinestérases (IChE) et notamment de l'AChE sont devenus les alternatives remarquables dans le traitement de la MA. Cependant, les médicaments possèdent certains effets secondaires. Néanmoins, de nombreuses recherches ont

conduit à la découverte d'un nombre important de composés naturels, en particulier de métabolites secondaires de plantes comme les HEs ayant des activités anticholinestérasiques (Bendjabeur, 2018).

2.4.5- Activité antidiabétique

Le diabète sucré est un problème de la santé majeur présent partout dans le monde. Les études épidémiologiques ont montré qu'il touche indistinctement toutes les populations et toutes les tranches d'âge. À l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en augmentation spectaculaire ces dernières années. Presque 150 millions de personnes à travers le monde sont atteintes de diabète et ce nombre pourrait doubler en 2025. Le diabète est un groupe de maladies métaboliques, d'étiologies diverses, caractérisé par une hyperglycémie chronique, accompagnée par une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de sécrétion et/ou d'action de l'insuline. Il existe nombreux médicaments synthétiques pour le traitement symptomatique de cette maladie, qui peuvent provoquer des effets secondaires modérés à sévères, par contre il n'y a pas de méthode ultime disponible pour prévenir ou traiter le diabète. Un des traitements de l'hyperglycémie consiste à retarder ou réduire la digestion et l'absorption des glucides en inhibant les enzymes de digestion telle que l' α -amylase (Gourgari *et al.*, 2017 ; Bedou, 2019).

L' α -amylase est une endo-enzyme qui hydrolyse au hasard les liaisons osidique (1,4) de l'amylase, l'amylopectine, glycogène et l'amidon. Pour pallier ces effets défavorables des investigations récentes ont suggéré l'utilisation des médicaments à base des plantes grâce à leur activité hypoglycémiant. Dans ce contexte des études sur des HEs ont été réalisées et finalement elles ont montré la présence d'une activité antidiabétique intéressante. Elles ont des vertus de régulation de la glycémie peuvent en effet s'avérer très efficaces (El Omari, 2022 ; Stevens *et al.*, 2022).

2.4.6- Activité antioxydante

L'oxygène est indispensable aux processus vitaux et notamment à la respiration cellulaire, cependant, son métabolisme peut générer des éléments réactifs appelés radicaux libres (ROS). Les ROS sont des atomes hautement réactives, produits par le gain ou la perte d'un électron dans leurs orbites externes, ce qui induire la présence d'un ou plusieurs électrons non appariés, se comportant donc comme des oxydants ou des réducteurs. Ces ROS causent le stress oxydatif qui est la conséquence d'un déséquilibre entre leur production et leur accumulation dans les cellules et les tissus et leur destruction par des systèmes biologiques de défenses antioxydantes.

Cette réaction peut causer des dommages fonctionnels au corps humain, comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurologiques, la maladie d'Alzheimer, troubles cognitifs légers, la maladie de Parkinson, la colite ulcéreuse, l'hépatopathie alcoolique (Pizzino *et al.*, 2017 ; Ligouri *et al.*, 2018).

Les antioxydants sont des substances naturelles ou synthétiques qui peuvent inhiber ou retarder l'oxydation des lipides et d'autres biomolécules, en bloquant l'initiation ou la propagation des réactions en chaîne oxydante. Cette fonction s'applique à un grand nombre des substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques : catalases, superoxyde dismutases et les glutathions peroxydases, ainsi que, des substances non enzymatiques : Vitamine C et E, provitamine A, les oligoéléments et glutathion (Wollinger, 2016 ; He *et al.*, 2017 ; Bensakhria, 2018).

Les antioxydants synthétiques sont nocifs et cancérigènes, pour cette raison, il est nécessaire d'explorer les phytothérapies pour développer les alternatives naturelles. En outre, il a été rapporté que, l'utilisation d'antioxydants naturels peut protéger les effets nocifs des radicaux libres induits chez le corps humain. Les HEs représentent une source de molécules bioactives et font l'objet de nombreuses études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation (Luis *et al.*, 2016 ; Hellali, 2016).

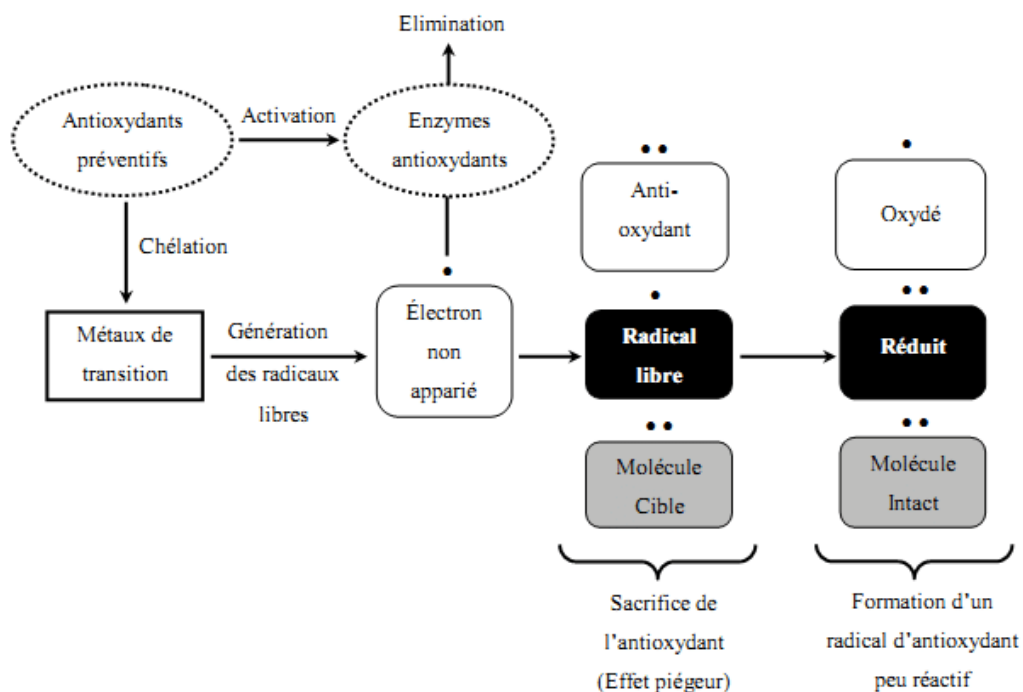


Figure 15 Mécanisme d'action des antioxydants (Kalam *et al.*, 2012)

*Matériel
et Méthodes*

3- Matériel et méthodes

Le présent travail porte sur l'étude de quelques activités biologiques d'HE de la plante *L. dentata*. L'étude s'est étalée sur une période allant du mars jusqu'à Juin 2022, et l'ensemble des manipulations ont été effectuées dans les différentes structures qui sont mentionnées ci-dessous ;

- L'extraction de l'HE de la plante au sein de l'entreprise commerciale BIOEXTRAPAMAL, Blida.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne et la détermination des paramètres physicochimiques d'HE au sein de département contrôle qualité (DCQ) au niveau de l'unité antibiotical de Sidal, Médéa, et dans le Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM), Université Frères Mentouri, Constantine 1.
- La réalisation du profil chromatographique de l'HE au sein de l'Annexe de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie Nationale à Constantine.
- L'évaluation de l'activité antalgique au niveau de Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques (CRSP), Constantine.
- L'évaluation de l'activité anticoagulante au niveau de laboratoire de la clinique Médico-chirurgicale Boukerrou, Constantine.
- L'évaluation de l'activité antidiabétique, anti-Alzheimer et antioxydante au sein de centre de recherche de biotechnologie (CRBT), Constantine.

3.1- Plante étudiée

Le choix de la plante a été basé sur plusieurs critères en l'occurrence ; l'utilisation du lavande dans plusieurs secteurs grâce à ses intérêts antiseptiques, odorantes et ses vertus thérapeutiques intéressantes ; son usage connu entre le peuple dans le traitement des infections féminines ; le manque de travaux sur l'espèce lui-même (*L. dentata*) par rapport aux d'autres lavandes surtout dans le domaine des HEs.

La récolte a été effectuée sur les parties aériennes de la plante *L. dentata* ; les feuilles, les fleurs et les tiges (figure 16).



Figure 16 Photo de récolte de *L. dentata* (Originale, 2022)

La provenance ainsi que les caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la station de récolte sont mentionnées dans le tableau 2 et la figure 17.

Tableau 2 Caractéristiques de la région de récolte de *L. dentata*

Zone	Douaouda
Localisation	Wilaya de Tipaza Algérie
Date et temps de récolte	13/03/2022 à 10H de matin
Longitude	2.789336
Latitude	36.680199
Etage bioclimatique	Sub-humide



Figure 17 Photo de la zone de récolte

3.2- Huile essentielle

3.2.1- Extraction d'huile essentielle

L'extraction de l'HE de la plante *L. dentata* a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation sous basse pression et haute température au moyen d'alambic en inox (figure 18) .

Pour ce faire, une quantité de 10 kg de la matière végétale fraîche a été placée dans une cuve remplie d'eau aux 2/3 de son volume. Puis l'ensemble a été chauffé jusqu'à l'ébullition pendant 2 heures. La vapeur d'eau enrichie d'HE traverse un serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes produites s'accumulent dans un collecteur ce qui entraîne en raison de la différence de densité, l'apparition d'une phase huileuse riche en HE de *L. dentata* et une phase aqueuse formée à partir de l'eau issue de l'hydrodistillation. L'HE ainsi obtenue est récupérée à l'aide d'une ampoule de décantation et conservée au réfrigérateur à 4°C dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement jusqu'à son utilisation. L'opération a été reproduite 3 fois afin de recueillir une quantité suffisante de l'HE.



Figure 18 Photo de dispositif d'hydrodistillation (Originale, 2022)

3.2.2- Rendement d'extraction

Le rendement est défini en rapportant le rapport entre la masse de l'huile (M_{HE}) et la masse de la matière végétale utilisée (M_V) et ce, selon les normes AFNOR (2000) (équation 1)

$$R_{HE} (\%) = (M_{HE} / M_V) \times 100 \dots (1)$$

3.2.3- Caractéristiques de L'HE

Dans le but d'évaluer la qualité d'HE de *L. dentata*, une analyse de ses propriétés organoleptiques et ses paramètres physico chimiques ont été réalisées.

3.2.3.1- Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques d'HE sont perçues par les sens afin d'évaluer l'aspect, la couleur et l'odeur.

3.2.3.2- Caractéristiques physico-chimiques

Les paramètres physiques tel que ; la densité, l'indice de réfraction et le pouvoir rotatoire ainsi que, les propriétés chimiques tel que ; l'indice d'acide, l'indice de saponification, l'indice de peroxyde, l'indice d'ester, le potentiel d'hydrogène et la teneur en eau sont exigées pour le control qualité des HEs. Ces tests sont effectués selon les méthodes décrites par l'AFNOR et la pharmacopée européenne 10^{ème} édition.

3.2.3.2.1- Densité relative

La densité relative constitue un point de repère important. Elle permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE. La densité relative présente le rapport entre la masse d'un volume de l'huile à 20°C et la masse d'un volume égale d'eau distillée à 20°C.

Pour ce faire, une fiole jaugée de 10 ml avant (m_0) et après (m_1) le remplissage avec de l'eau distillé a été pesée. La même opération a été réalisée avec l'HE (m_2). La densité relative est calculée en utilisant la formule suivante :

$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \dots (2)$$

Où :

m_0 : masse en gramme de la fiole vide.

m_1 : masse en gramme de la fiole remplie d'eau.

m_2 : masse en gramme de la fiole remplie de l'HE.

3.2.3.2.2- Indice de réfraction

L'indice de réfraction (I_R) est le rapport entre le sinus d'angle d'incidence du rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré. Elle permet de déterminer le pouvoir réfringent des huiles à 20°C. La mesure de l'indice de

réfraction de HE a été réalisé à l'aide d'un réfractomètre de marque « ausJENA » (figure 19). L'appareil a été étalonné en mesurant l' I_R de l'eau distillée qui doit être égale à une valeur de 1.333 à 20°C, ensuite, quelques gouttes de l'HE ont été déposées entre les deux faces du réfractomètre. Le champ de vision a été réglé à l'aide d'un micro visse pour obtenir une ligne nette entre les zones sombres et éclairées. La valeur indiquée par l'échelle de lecture a été notée.



Figure 19 Photo de réfractomètre

3.2.3.2.3- Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire $[\alpha]^{20}$ d'HE est un critère de la pureté qui permet d'indiquer si l'HE possède une activité optique dextrogyre (positive) ou lévogyre (négative).

Le pouvoir rotatoire a été déterminé en utilisant un polarimètre de marque ADP 440+ (figure 20). Pour cela, 10ml de l'HE a été versés délicatement dans la cellule de l'appareil en évitant la formation des bulles d'air. Après elle a été placée dans l'instrument de façon que la lumière la traverse.



Figure 20 Photo de polarimètre

Le calcul de pouvoir rotatoire est donné par la formule suivante :

$$[\alpha]^{20} = \frac{\alpha}{L \times D} \dots (3)$$

Où :

α : valeur affichée sur polarimètre en degré d'angle

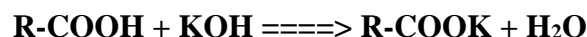
L : longueur de la cellule en dm

D : densité relative de l'HE

3.2.3.2.4- Indice d'acide

L'indice d'acide d'HE est défini comme étant le nombre qui exprime en mg la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1g d'HE.

L'hydroxyde de potassium neutralise un acide libre selon la réaction chimique suivante :



Pour réaliser ce test. 10 g de l'HE ont été dissoutes dans 50 ml d'un mélange à volume égal d'éthanol à 96 % et d'éther du pétrole et additionnées avec 0.5 ml d'une solution de phénolphthaléine utilisée comme indicateur coloré. Un titrage avec l'hydroxyde de sodium (NaOH à 0.1 M) a été effectuée à l'aide d'une burette graduée. La couleur jaune du liquide vire à la neutralisation vers la couleur rose qui persiste quelques secondes avant de reprendre la couleur initiale. Le volume de NaOH qui a servi de la neutralisation est noté directement.

L'indice d'acide est ainsi calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{I_A = \frac{5.611 \times V}{m} \dots (4)}$$

Où :

V : Volume de titrant en ml (NaOH)

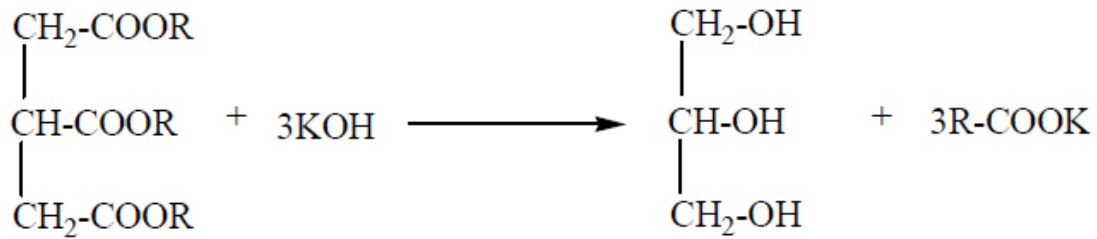
m : masse du substrat en gramme (HE)

3.2.3.2.5- Indice de saponification

L'indice de saponification (I_S), est défini comme étant le nombre qui exprime en milligrammes la quantité de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres et faire la saponification des esters présents dans 1g d'HE.

La réaction de saponification est lente et incomplète donc pour l'accélérer, et la rendre complète, des conditions s'avèrent nécessaires, en l'occurrence ; un milieu alcoolique et une température élevée en présence d'un excès de base. Son principe consiste à titrer l'excès de

KOH par l'HCL. Selon Chouitah, (2012), la saponification est effectuée selon la réaction suivante :



Pour réaliser ce test, 1g d'HE de *L. dentata* a été introduit dans une fiole de 250 ml en verre borosilicaté et munie d'un réfrigérant à reflux, puis 25 ml de KOH alcoolique (0.5 M) a été ajouté avec quelques billes en verre. Ensuite la cuve contenant l'HE, a chauffé et refroidi dans un bain d'eau bouillante. Après 30min, 1 ml de la solution phénolphaléine a été ajouté. Le titrage a été effectué par l'acide chlorhydrique (0.5M). La même opération a été répétée en utilisant l'eau distillée qui serve comme témoin (le blanc). La figure ci-dessous (figure 21) représente le montage de saponification.



Figure 21 Photo de montage de saponification

L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$\text{Is} = \frac{28.05 (V2-V1)}{m} \dots (5)$$

Où :

V1 : volume en ml de HCL consommé pour le titrage de HE

V2 : volume en ml de HCL consommé pour le titrage de blanc

m : masse en gramme de la prise d'essai

3.2.3.2.6- Indice d'ester

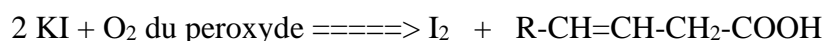
L'indice d'ester (I_E) de l'HE est défini comme le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présents dans 1 g de l'He. Il est calculé à partir de I_S et I_A dont :

$$I_E = I_S - I_A \dots (6)$$

3.2.3.2.7- Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (I_P) de l'HE est défini comme étant le nombre en milliéquivalent d'oxygène actif ou bien la quantité de peroxyde contenue dans un kilogramme de l'HE.

En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés entrant dans la composition des HE s'oxydent en donnant des peroxydes selon la réaction suivante :



Pour faire ce test, un mélange de 60 ml d'acide acétique glaciale et 40 ml de chloroforme a été préparé. Après, une quantité de 5g d'HE a été introduite dans une fiole de 250 ml, et additionnée avec 30 ml de la solution préparer précédemment. Des volumes de 0.5ml de la solution saturée d'iodure de potassium et de 30 ml d'eau ont été ajoutés en rajoutant, quelques gouttes d'amidon qui est l'indicateur de coloration. Le dosage se fait en utilisant la solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ à 0.01M), jusqu'à la disparition de couleur jaune de mélange où le volume consommé est noté. Le blanc (eau distillée), a été effectué dans les mêmes conditions.

L'indice de peroxyde est exprimé par la formule :

$$I_P = \frac{V_1 - V_2}{m} \times 10 \dots (7)$$

Où :

V_1 volume en ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consommé pour le titrage d'HE

V_2 : volume en ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consommé pour le titrage de blanc

m : masse en gramme de la prise d'essai

3.2.3.2.8- Teneur en eau

La détermination de la teneur en eau repose sur le dosage de l'eau par la réaction de Karl Fisher. Le principe de cette méthode est basé sur la réaction de génération de l'iode qui réagit quantitativement avec les molécules d'eau contenus dans l'HE en présence d'une solution méthanoïque d'iode de dioxyde de soufre et d'une base comme substance de tampon.

Pour réaliser cette méthode, un dosage se fait automatiquement par le titrimétrie automatique KF-SCHOTT, en introduisant 1.22 g d'HE dans le récipient de titration, puis le volume utilisé a été mesuré. Le calcul de la teneur en eau se fait par l'équation ci-dessous :

$$\text{KF}\% = \frac{V.F.100}{P} \dots (8)$$

Où :

V : valeur affichée sur l'écran de titrimétrie

P : Poids d'HE injecté

F : Facteur de dilution

3.2.3.2.9- Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH, est un indice chimique de la concentration des ions d'hydrogène, présents dans une solution. Selon une échelle de détermination, une solution est acide si, son pH est inférieur à 7, ou basique si son pH est supérieur à 7, ou bien neutre s'il est égal à 0. Le pH de l'HE de *L. dentata* a été mesuré à l'aide d'un pH mètre.

3.2.4- Analyse chromatographique

La composition chimique de l'HE de *L. dentata* a été déterminée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Ce couplage est la méthode appropriée pour la séparation des composants d'une HE, ainsi qu'il permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectre de masse correspondant à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la CPG.

L'analyse des constituants volatils est exécutée sur un Chromatographe couplé à un détecteur de masse de type Nexis GC-2030 (figure 22).

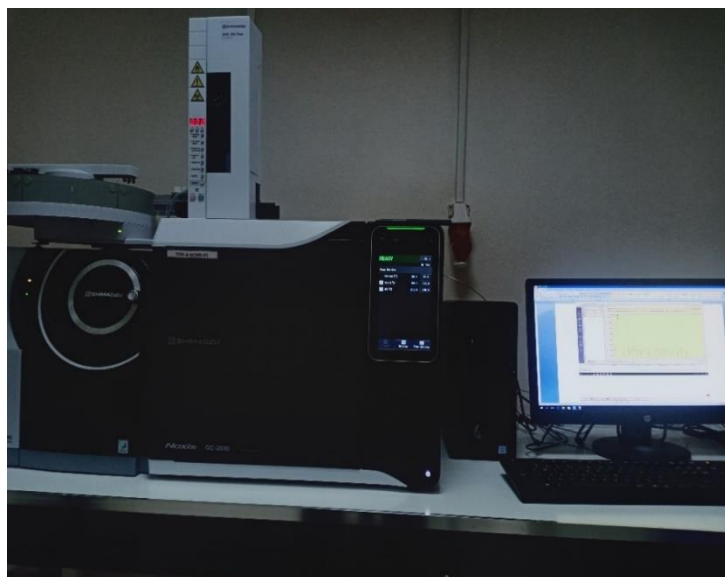


Figure 22 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Les conditions opératoires pour la réalisation du profil chromatographie de l'HE de *L. dentata* sont mentionnées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 Conditions opératoires des analyses par CPG/SM

Type de colonne	A VB-5 (5%phényl/95%diméthylpolysiloxane)
Colonne	Longueur 30 m ; diamètre intérieur 0,25 mm ; épaisseur de film 0,25 μm
Gaz vecteur	L'Hélium
Programmation de la température	La température est maintenue à 100 °C pendant 1 min et programmé à 300 °C pendant 10 min à une vitesse de 1.5 °C/min
Débit	1.31 ml/min
Température de l'injecteur	250 °C
Mode d'injection	Split
Volume injecté	0.5 μl d'HE brute
Scan time	5 S
Energie d'ionisation	70 eV
Température de la source d'ion	230 °C
Temps total programmé	29.18 min

L'identification des composants afin d'établir le profil chromatographie de l'HE de *L. dentata* est basée sur la comparaison de temps de rétention de chaque composant avec celle trouvée dans la littérature, et aussi avec les bases de données enregistrées dans la bibliothèque NIST.

3.3- Activités biologiques

3.3.1- Activité antimicrobienne

L'évaluation du pouvoir antimicrobien d'HE a été effectuée vis-à-vis huit microorganismes (06 bactéries et 02 levures), fournis par le **DCQ-SAIDAL** (Tableau 4). L'activité antimicrobienne, ainsi que, la concentration minimale inhibitrice (CMI), ont été effectuées par la méthode de diffusion sur disque en mesurant le diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné de celle-ci (Boughendjioua, 2017).

Tableau 4 Souches microbiennes testées

Souche	Famille	N° ATCC	Gram	Infections
<i>Escherichia Coli</i>	Enterobacteriaceae	4157	-	Diarrhées dysentériques Gastro-entérites
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonadaceae	9027	-	Crampes abdominales Troubles digestifs
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Micrococcaceae	6538	+	Infections urinaires L'ostéomyélite et L'arthrite
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Micrococcaceae	12228	+	Infection ostéoarticulaire Infections nosocomiales
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacillaceae	9372	+	Gastro-entérites
<i>Salmonella typhimurium</i>	Enterobacteriaceae	14028	-	Gastro-entérites ; Fièvre
<i>Candida albicans</i>	Cryptococcaceae	24433	/	Lésions cutanées ; Infections Œsophagiennes ; Infections génitales
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Saccharomycetaceae	2601	/	La fongémie ; Infection urinaire ; Péritonite

3.3.1.1- Évaluation qualitative

3.3.1.1.1- Préparation de suspensions microbiennes et ensemencement

À partir d'une culture jeune de microorganismes testés, des suspensions microbiennes ont été réalisées, en prélevant, à l'aide d'une anse de platine quelques colonies pures et les déposées aseptiquement dans des tubes stériles contenant 5 ml d'eau physiologique. Puis, ils ont été homogénéisés par agitation. Un étalement a été effectué sur la surface des boîtes de Pétri contenant préalablement la gélose Tryptic soja agar (TSA) pour les bactéries et la gélose Sabouraud (SAB) pour les levures (annexe 1), et ce, de sorte à avoir un tapis homogène. Les boîtes ont été séchées pendant 15 min, ensuite, incubées à l'étuve à 37°C pendant 18h pour les bactéries : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *S. epidermidis* et *B. subtilis*, et pendant 48h à 25°C pour les deux levures *C. albicans* et *S. cerevisiae*.

3.3.1.1.2- Dépôt des disques

L'évaluation qualitative de l'effet antimicrobienne de l'HE de *L. dentata* a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose. Pour cela, L'HE a été filtrée à travers des filtres de 0.2 µm. Ensuite, des disques vides de diamètre de 9 mm ont été imbibés par 40 µl de l'HE brute et ont été déposés dans des conditions stériles sur la surface de la gélose, préalablement ensemencée. Les boîtes ainsi, préparées sont maintenues à la température ambiante pendant 15 min pour permettre la diffusion de l'HE. Puis elles ont été incubées à 37°C pendant 18h pour les bactéries et 48h à 25°C pour les levures.

La lecture des résultats a été effectuée en utilisant, un appareil sensible de lecture des zones d'inhibitions (Scan1200) (figure 23). En effet, un résultat positif se manifeste par la présence d'un halo translucide autour de disque.



Figure 23 Lecteur des zones d'inhibition (SCAN1200)

L'expression des résultats a été réalisée selon une échelle de notation symbolique des HEs allant de – à +++ comme suit : (Jeovets, 2000 ; Boughendjioua, 2017) :

- $\emptyset < 10$ mm : HE sans action inhibitrice (-)
- $16 > \emptyset \geq 10$ mm : HE à une action inhibitrice intermédiaire (+)
- $25 > \emptyset \geq 16$ mm : HE à une action inhibitrice importante (++)
- $\emptyset \geq 25$ mm : HE à une action inhibitrice très efficace (+++)

3.3.1.2- Détermination de concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, qui peut inhiber visiblement la croissance d'un micro-organisme (Alloun, 2018). L'évaluation quantitative de l'HE de *L. dentata* a été réalisée sur les germes ayant montré une sensibilité lors de l'évaluation qualitative, en effectuant la méthode de diffusion sur gélose. Les suspensions microbiennes, ainsi que, l'ensemencement ont été réalisées, en suivant les mêmes étapes de préparations mentionnées dans l'évaluation qualitative (3.2.1.1).

Pour la détermination de CMI, une série de différentes dilutions ont été réalisée (500, 250, 125, 62.5 μ l /ml) dans le Diméthyle sulfoxyde (DMSO).

La lecture des résultats est estimée selon la méthode de Koba *et al.*, (2004), en considérant le pouvoir inhibiteur de l'HE :

- CMI < 50 μ l /ml : Pouvoir inhibiteur excellent
- 50 μ l /ml < CMI < 250 μ l /ml : Pouvoir inhibiteur intéressant
- 250 μ l /ml < CMI < 500 μ l /ml : Pouvoir inhibiteur faible
- CMI > 500 μ l /ml : Pouvoir inhibiteur nul

3.3.2- Activité antalgique

La douleur est l'un des problèmes de santé les plus importants en raison de sa prévalence et du handicap qu'elle peut induire. La douleur chronique peut être la conséquence de maladies inflammatoires ou de dommages aux tissus. Elle est souvent résistante à la thérapie existante, donc un grand besoin de recherche de nouveaux médicaments se fait ressentir (Bounihi, 2016). L'étude de l'activité antalgique de l'HE de *L. dentata* a été réalisée in vivo sur des souris d'un seul sexe (féminin) (race Swiss), dont le poids est varié entre 34 et 39g. Les souris sont logées dans des cages métalliques avec accès libre à la nourriture, à l'eau et dans une température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité.

Le test de l'activité antalgique consiste à vérifier l'action inhibitrice de l'HE de *L. dentata* sur la douleur provoquée chez la souris, en mesurant le temps de latence de réaction, qui se manifeste par un inconfort ou un mouvement brusque de la queue. Le dispositif utilisé pour produire les douleurs est le Tail-Flick. Il s'agit, en fait d'un appareil constitué d'une pince pour l'induction des douleurs, d'un chronomètre qui déclenche en même temps que la douleur induite, et d'une cellule pour arrêter le chronomètre. L'analgésimètre permet la mesure du seuil de douleur mécanique sur pattes de souris et tout un temps supérieur à 6 S révèle une action antalgique centrale de type morphine (Alaoui *et al.*, 1998).

Pour ce faire, deux lots (à raison de 6 souris/lot) ont été manipulés, dont les souris de premier lot ont été reçues 0.5 ml l'HE préparé dans l'huile d'olive (400mg/kg) par gavage oral, Alors que, les souris du lot témoin ont reçues 0.5 ml de la solution véhicule (huile d'olive). Après, la période de latence qui dure une heure de temps, des douleurs ont été induites aux souris par l'analgésimètre et dès que, l'apparition de premier signe de la douleur que ce soit cri ou mouvements inhabituels des souris, la stimulation des douleurs et le chronomètre ont été arrêtés et la valeur ainsi affichée sur l'écran est noté (figure 24). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD et l'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel BIO par le test de Student pour l'ensemble des expériences ($P < 0.05$).

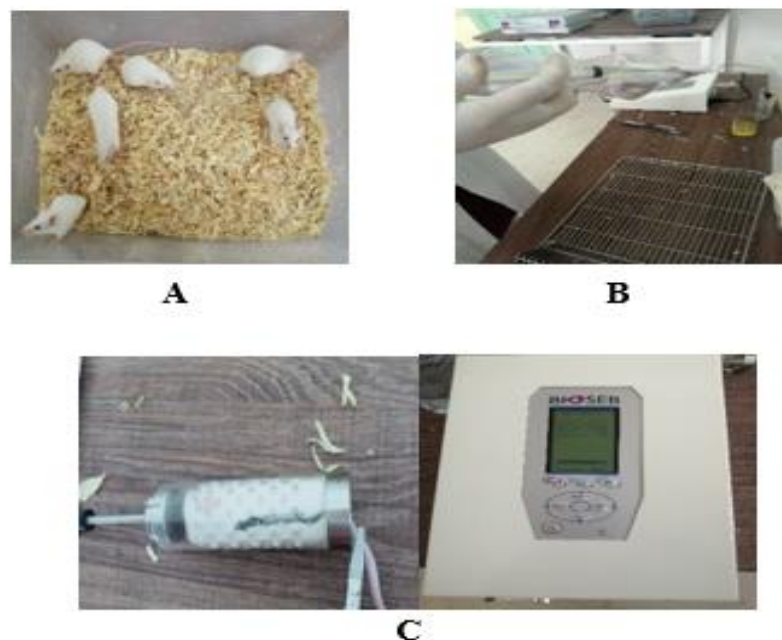


Figure 24 Etapes expérimentales de l'activité anticoagulante (A. préparation des lots, B. gavage de l'HE, C. induction des douleurs et la lecture par l'analgésimètre)

3.3.3- Activité anticoagulante

L'activité anticoagulante de l'HE de *L. dentata* a été évaluée in vitro vis-à-vis les deux voies de coagulation ; en l'occurrence ; la voie endogène et la voie exogène sur un pool des plasmas normaux déplaqueté et à l'aide de deux tests globaux et chronométrique ; le temps du céphaline kaolin (TCK) et le temps de Quick (TQ) (Taux de Prothrombine (TP)) (Boukeria *et al.* 2019).

3.3.3.1- Préparation du plasma pool déplaquetés

Le pool plasmatique est un mélange de plasma déplaquetés des volontaires sains, adultes et non traités, dont les TCK et TP sont normaux et comparables.

Par ponction veineuse le sang de quatre volontaires a été prélevé dans un tube en plastique sur en solution anticoagulante de citrate de sodium (3.2 %), et à raison de 1 volume pour 3 volumes du sang. La centrifugation du sang est ensuite faite pendant 10 min à 3000 rpm pour obtenir un plasma dépourvu en plaquettes (Bourahima *et al.* 2021).

3.3.3.2- Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène

Après la préparation du pool plasmatique déplaqueté, L'effet de l'HE sur la voie exogène a été évalué selon le protocole décrit par Boukeria *et al.* (2019), en utilisant le test de TP qui consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C d'un plasma déplaqueté en présence de facteur tissulaire thromboplastine (Bourahima *et al.*, 2021).

Pour ce faire, 100 µl du plasma déplaquetée, préincubée pendant 2 min à 37°C, a été mélangé avec différents volumes de l'HE (10,20,30 µl) dont, la concentration est égale à une valeur de 400mg/ml dissoute dans le DMSO. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 15 min. Ensuite, 200 µl de solution de TP préalablement incubé a été additionné et le temps de la coagulation est alors noté à l'aide d'un coagulomètre. Un standard (plasma normale) et un control négatif (DMSO) ont été réalisés pour comparer les résultats obtenus.

3.3.3.3- Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène

L'effet de l'HE a été évalué selon la voie endogène en utilisant le test de TCK qui permet d'exploration de l'activité des facteurs plasmatique de cette voie. Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation d'un plasma déplaqueté en présence d'un mélange de facteur tissulaire, phospholipide céphaline-kaolin et de calcium (CaCl₂) (Boukeria, 2019).

Pour ce faire, 100 μ l du plasma déplaquetée a été mélangé avec différents volume de l'HE (10, 20, 30 μ l) préparées dans le DMSO, (dont la concentration est de 400mg/ml). Après l'incubation du mélange à 37°C durant 15 min, 100 μ l de solution de TCK préalablement incubé a été additionné, puis le mélange a été réincubé pendant 3 min sous agitation à 37°C. Le temps de la coagulation est alors déclenché par l'ajout de 100 μ l de CaCl₂ préchauffé (0.025M), et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation d'un caillot est mesuré par la coagulomètre. Les étapes expérimentales des deux vois de coagulation sont illustrées dans la figure ci-dessous :

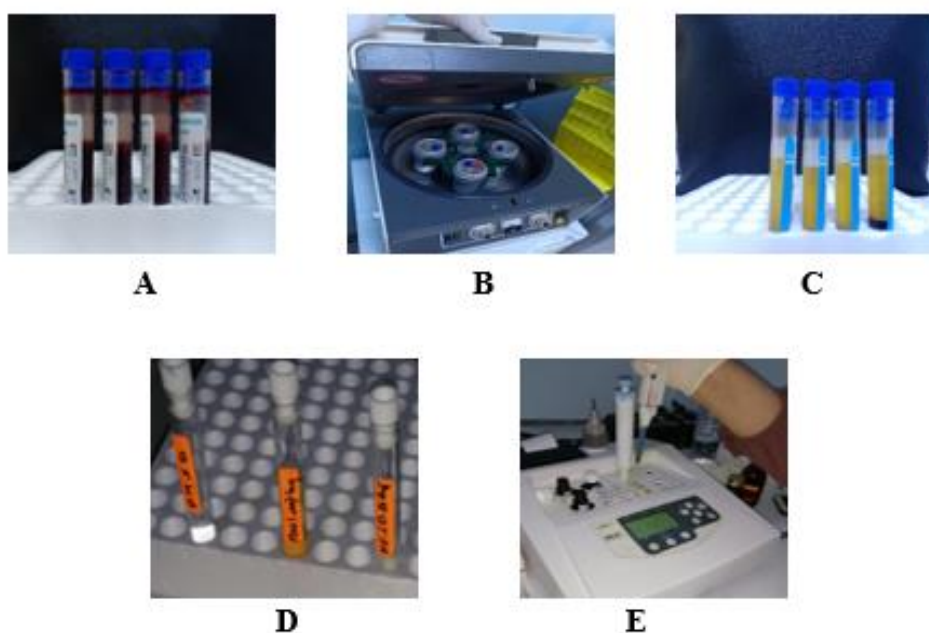


Figure 25 Etapes expérimentales de l'activité anticoagulante (A. sang prélevé, B. centrifugation, C. plasma déplaqueté, D. tests réalisées, E. lecture par le coagulomètre)

3.3.4- Activité anti-Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative démentielle qui affecte principalement la population âgée. La MA se caractérise par une grave perte progressive de mémoire et d'autres habiletés cognitives menant à la démence. L'acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme la plus importante régulant le taux d'acétylcholine cérébrale (ACh), tandis que la butyrylcholinestérase (BChE) joue un rôle mineur. Cependant, l'activité de BChE augmente progressivement chez les patients atteints de la MA. (Bendjabeur, 2018).

L'étude de l'activité inhibitrice d'BChE en utilisant un dosage colorimétrique quantitatif selon la méthode décrite par Ellam *et al.*, 1961 a été réalisée. L'enzyme hydrolyse le substrat

butyrylthiocholine aboutissant au produit thiocholine qui réagit avec le réactif d'Ellman : l'acide 5,5'-dithio-bis- [2-nitrobenzoate] (DTNB) pour produire la 2-nitrobenzoic-5-mercaptothiocholine et le 5-thio (2-nitrobenzoate) qui est détecté à 412 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque (PerkinElmer Multimode plate reader EnSpire). Le protocole de la préparation des réactifs et des enzymes est inséré en annexe 2.

Pour réaliser ce test, dans une plaque de 96 puits, 150 µl de sodium phosphate buffer (solution tampon pH 8) a été mélangé ; avec 10 µl de l'HE de la plante *L. dentata* à différentes concentrations (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 µg/ml) Après incubation durant 15 min à 25°C, 10 µl de DTNB (0,5 mM) et 10 µl de butyrylthiocholine chloride (0,2 mM) ont été rajoutés. Ensuite, l'absorbance a été lue à 412 nm (Figure 26). Le bromhydrate de galantamine a été utilisé comme témoin positif (référence).

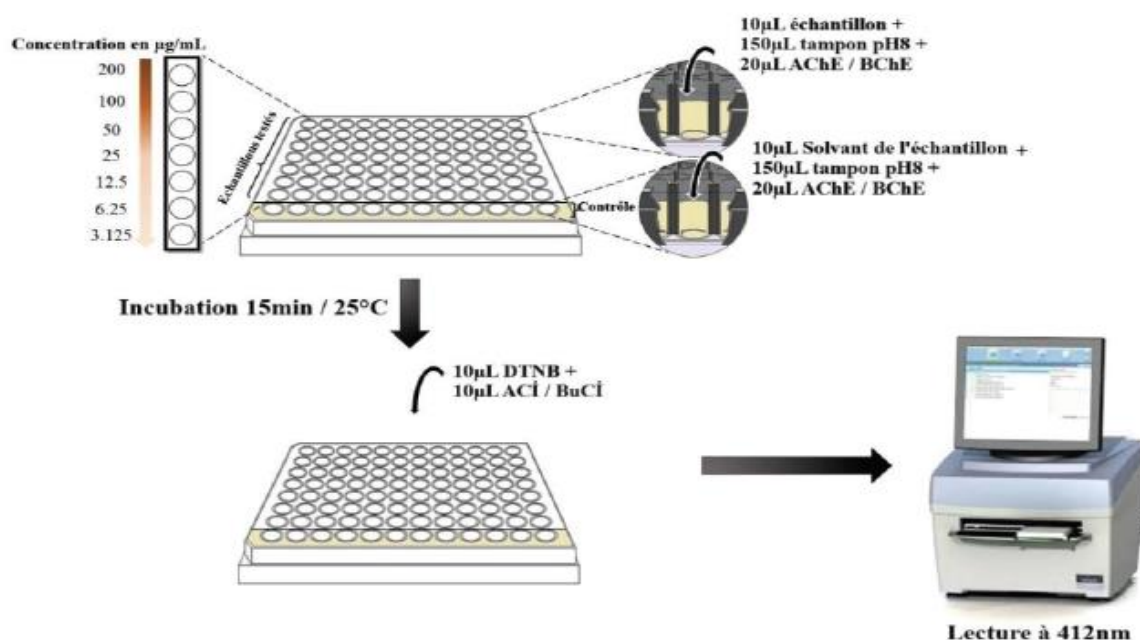


Figure 26 protocole suivi pour l'étude de l'activité anti-Alzheimer (Lammari, 2021)

Le pourcentage d'inhibition de la BChE a été calculé selon la formule :

$$I\% = \frac{A b - A \text{ éch}}{A b} \times 100 \dots (9)$$

Dont :

$A b$: absorbance du blanc

$A \text{ éch}$: absorbance de l'échantillon

L'activité anti-Alzheimer a été évaluée à titre d'IC₅₀ (µg/ml) indiquant la concentration correspondant à une inhibition de 50% d'enzyme. Elle est déterminée graphiquement à partir

de la droite de régression de pourcentage d'inhibition d'enzyme en fonction de la concentration de l'échantillon et comparée à celle de standard.

3.3.5- Activité antidiabétique

Un des traitements de l'hyperglycémie consiste à retarder ou réduire la digestion et l'absorption des glucides en inhibant les enzymes de digestion telle que l' α -amylase. Pour cela nous avons opté d'étudier l'activité antidiabétique via le test d'inhibition d' α -amylase (Khacheba *et al.* 2014). Le protocole de la préparation des réactifs et des enzymes est inséré en annexe 3.

L'effet de l'HE de *L. dentata* sur l'activité catalytique de l'alpha-amylase a été effectué selon le procédé de Zengin *et al.*, (2014).

Pour réaliser ce test, dans une microplaque, un mélange réactionnel contenant 50 μ l d'alpha amylase (1UI) et 25 μ l à différentes concentrations (400, 200, 100, 50, 25,12.5 μ g/ml) de l'HE a été pré-incubé à 37°C pendant 20 min. Ensuite 50 μ l d'amidon (0.1%) a été ajouté en tant que substrat, puis le mélange a été incubé à 37°C durant 10 min. La réaction a été arrêtée en ajoutant 25 μ l de l'HCL (1M), suivi de l'addition de 125 μ l de réactif iodé (5 mM de I₂ et 5 mM de KI). L'absorbance a été lue à 630 nm à l'aide de lecteur de microplaques. L'expérience a été réalisée 3 fois avec les témoins appropriés ; le médicament Acarbose a été utilisé comme un témoin

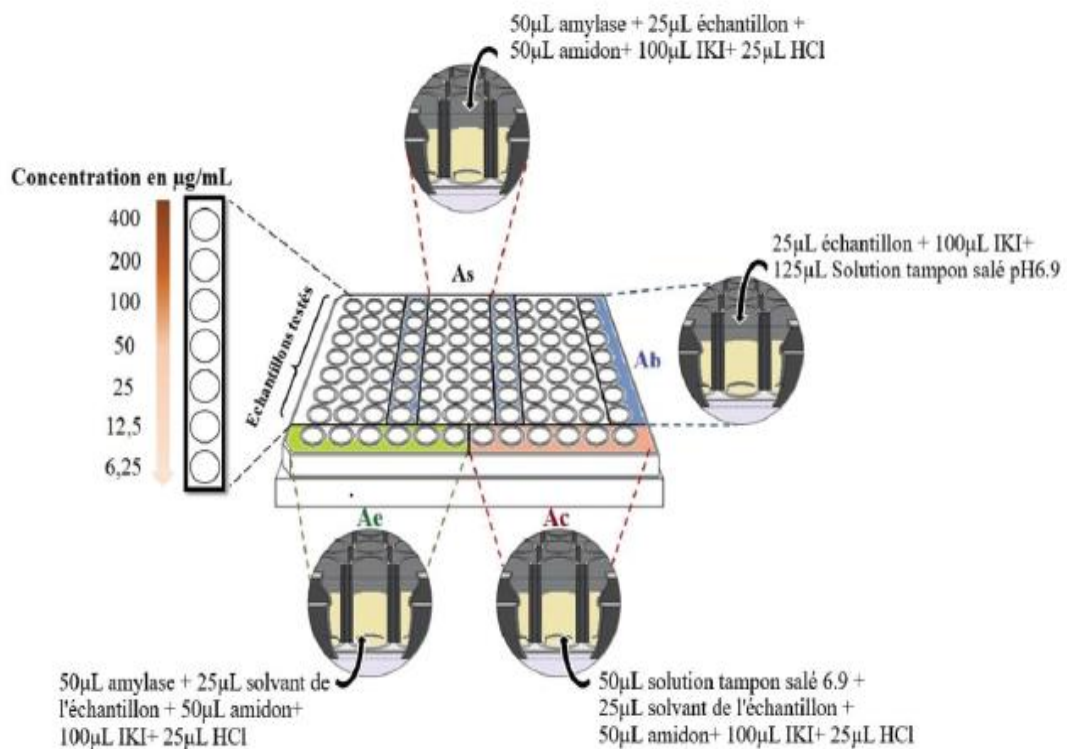


Figure 27 Protocol suivi pour l'étude de l'activité inhibitrice de l' α amylase (Lammari, 2021)

positif et le contrôle négatif (le mélange sans l'HE) a été dosé parallèlement. Le schéma ci-dessous illustre la technique utilisée :

Le pourcentage d'inhibition de l'activité alpha amylase est calculée en appliquant l'équation ci-dessous :

$$I\% = \left(1 - \frac{(Ac - Ae)(As - Ab)}{(Ac - Ae)}\right) \times 100 \dots (10)$$

Dont :

Ac : Absorbance [Amidon +IKI+HCL+ Volume de solvant de HE + Volume tampon Enzyme]

Ae : Absorbance [Enzyme + Amidon +IKI + HCL + Volume de solvant d'extrait]

As : Absorbance [Enzyme +Extrait + Amidon +IKI +HCL]

Ab : Absorbance [Extrait + IKI + 125 µl de tampon]

L'activité antidiabétique a été évaluée à titre d'IC₅₀ (µg/ml), et comparée à celle de standard.

3.3.6- Activité antioxydante

Selon la littérature, il n'existe pas de méthode universelle par laquelle le profil antioxydant des échantillons est déterminé quantitativement d'une manière bien précise vue la complexité du processus d'oxydation et la nature diversifié des antioxydants. En effet, plusieurs méthodes analytiques sont développées pour l'évaluation de l'activité antiradicalaire (Gülçin, 2012).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'HE de *L. dentata* a été réalisée in vitro en se basant sur des réactions colorimétriques et ce, à l'aide d'une lecture de microplaque, Pour ce faire, trois méthodes ont été utilisées à savoir ; le piégeage du radical 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), le piégeage du radical 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate (ABTS) et la mesure du pouvoir réducteur. Dans chaque procédure, la capacité antioxydante a été comparée a celle d'un antioxydant standard, Butyle Hydroxy Toluène (BHT) et l'acide ascorbique. Le protocole de préparation des différents réactifs et solutions est illustré dans l'annexe 4.

- DPPH (2,2-Diphényl-1- picrylhydrazyl)

Le piégeage des radicaux libres est le principal mécanisme suivant lequel les antioxydants agissent dans les aliments. La capacité de donation des électrons par les HES, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'un solvant polaire comme le méthanol contenant le radical libre DPPH à température ambiante (figure 28), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans l'échantillon. Le DPPH présente une forte absorbance à 517 nm mais il diminue due à cette pouvoir. L'IC₅₀ est la concentration en antioxydant nécessaire pour piéger 50% des radicaux libres. Elle est souvent mesurée graphiquement à partir de la droite de régression du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration.

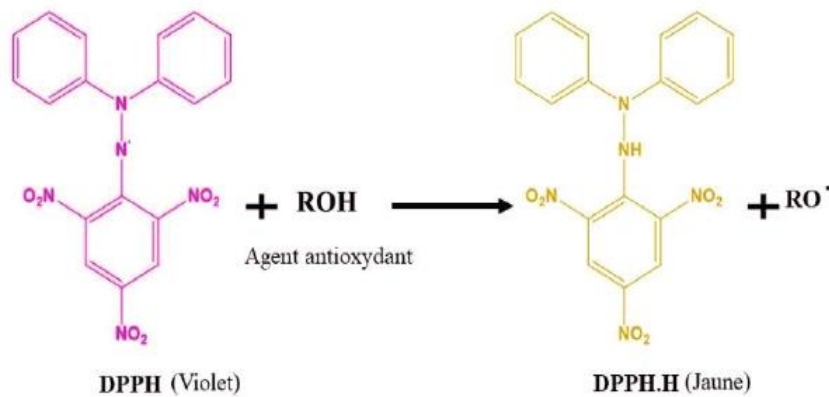


Figure 28 Mécanisme de piégeage de DPPH

Le pouvoir antioxydant de l'HE a été estimé selon le protocole décrit par **Blois. (1958)**. Pour ce faire, dans une microplaque, 40 μ l des différentes concentrations (800, 400, 200, 100, 50, 25, 12.5 μ g/ml) de l'HE de lavande denté ont été mélangées avec 160 μ l de solution méthanoïque de DPPH (6%). Puis le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. Ensuite, les absorbances ont été mesurées à 517 nm (Figure 29).

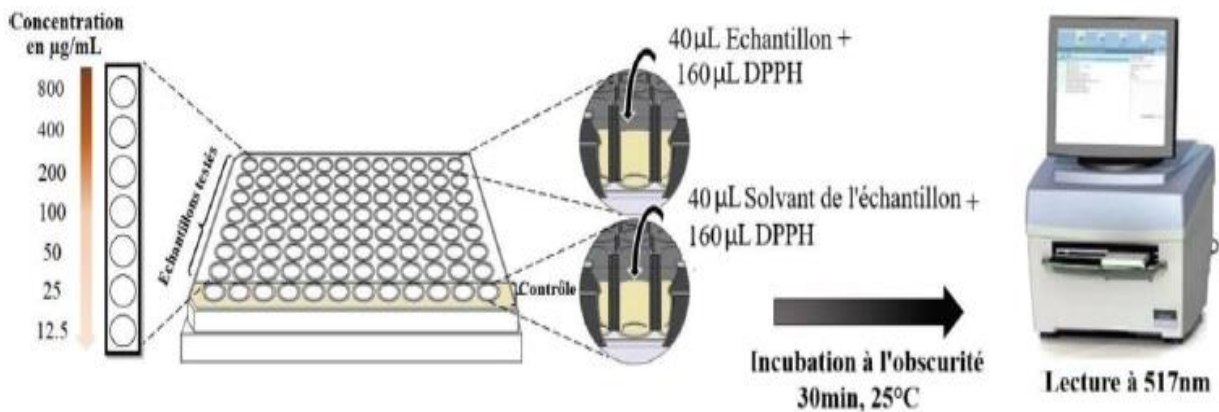


Figure 29 Protocol suivi pour mesurer de l'activité antioxydante DPPH (Lammari, 2021)

Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) qui a été utilisé ensuite pour déterminer IC₅₀ selon la formule suivante :

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \times 100 \dots (11)$$

Où :

Abs contrôle : absorbance du contrôle ;

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon ;

I% : pourcentage d'inhibition.

La IC₅₀ a été mesuré et comparé à celle du BHT.

➤ **ABTS⁺(2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)**

Le piégeage du radical-cation ABTS⁺ est une méthode qui se base sur la capacité des HEs à piéger le radical cationique ABTS⁺ (Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique). En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS forme le radical ABTS⁺, de couleur bleu à vert, l'ajout d'un antioxydant va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange (Figure 30).

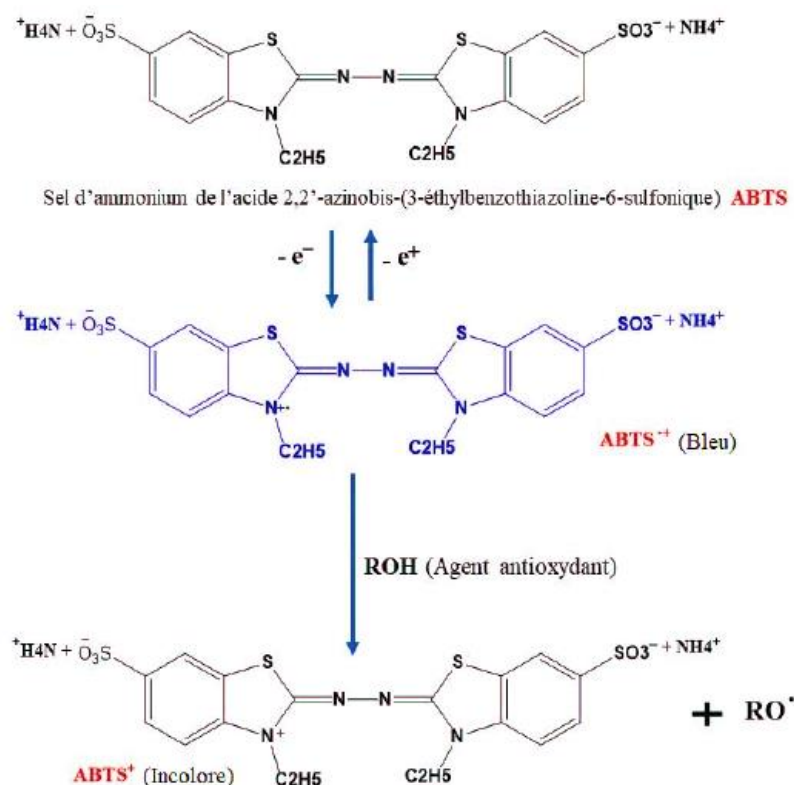


Figure 30 Mécanisme de piégeage de l'ABTS⁺ (Lammari, 2021)

Pour réaliser cette méthode, Une solution mère a été préparée en mélangeant 7mM d'une solution d'ABTS⁺ avec 2.45 mM d'une solution de K₂S₂O₈. Après, il a été laissé dans l'obscurité à température ambiante pendant 16 h avant l'utilisation. Cette solution a été, par la suite, diluée avec l'eau distillée afin d'avoir une absorbance de 0.7 à 734 nm. Dans chaque puit de la microplaque, 160 µl de la solution d'ABTS⁺, et 40 µl de l'HE avec

différentes concentrations (800, 400, 200, 100, 50, 25, 12.5 µg/ml) ont été rajoutées. Le méthanol a été utilisé comme contrôle négatif. Les absorbances ont été mesurées à 734

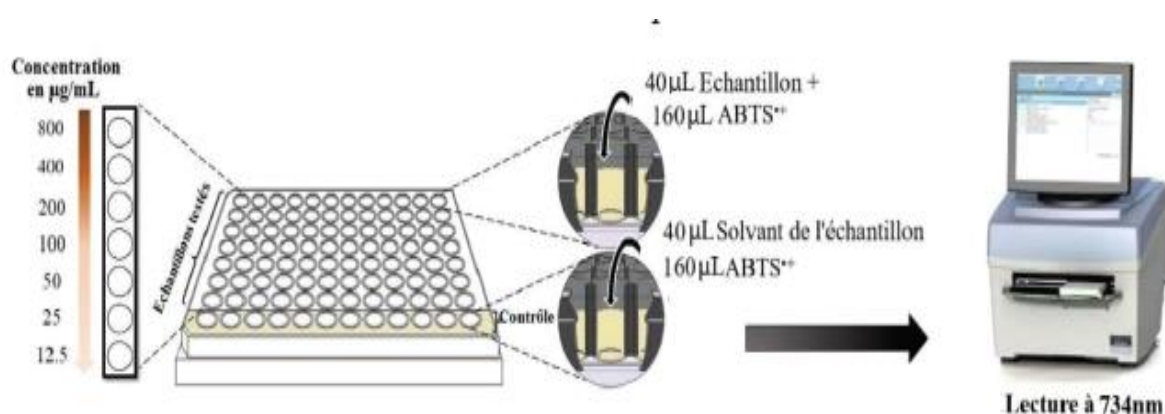


Figure 31 Protocole suivi pour l'étude de l'activité antiradicalaire ABTS+ (Lammari, 2021)

nm et ce, après 10 min d'incubation à l'abri de la lumière (Re *et al.* 1999). Le schéma ci-dessous (figure 31), illustre le protocole utilisé.

Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) qui a été utilisé ensuite pour déterminer IC₅₀ selon la formule suivante :

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \times 100 \dots 12$$

Dont :

Abs contrôle : absorbance du contrôle ;

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon ;

I% : pourcentage d'inhibition

L'IC₅₀ ainsi déterminée a été comparée par la suite au celle du BHT

Pouvoir réducteur

La méthode de pouvoir réducteur est basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique (Fe³⁺), présent dans le complexe ferricyanure de potassium (K₃Fe (CN)₆) en fer ferreux (Fe²⁺), et l'addition du Fe³⁺ au produit réduit conduit à la formation du bleu de Prusse (Fe [Fe (CN)₆]), qui a une forte absorbance à 700nm. La réaction de réduction de fer est révélée par le virage de la coloration du jaune au bleu-vert.

Pour ce fait, 10 µl de l'HE à différentes concentrations (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 µg/ml), a été introduit dans une microplaque. Puis, un volume de 40 µl du tampon phosphate à pH 6.6 et 50 µl de ferricyanure de potassium ont été rajoutés. Après le mélange a été incubé pendant 20 min à 50°C. Ensuite, 50 µl d'acide trichloracétique (10%), a été ajouté

pour arrêter la réaction. La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm, après l'addition de 40 μ l d'eau distillée et 10 μ l de chlorure du fer à 0.1%. La figure 32 illustre le protocole utilisé.

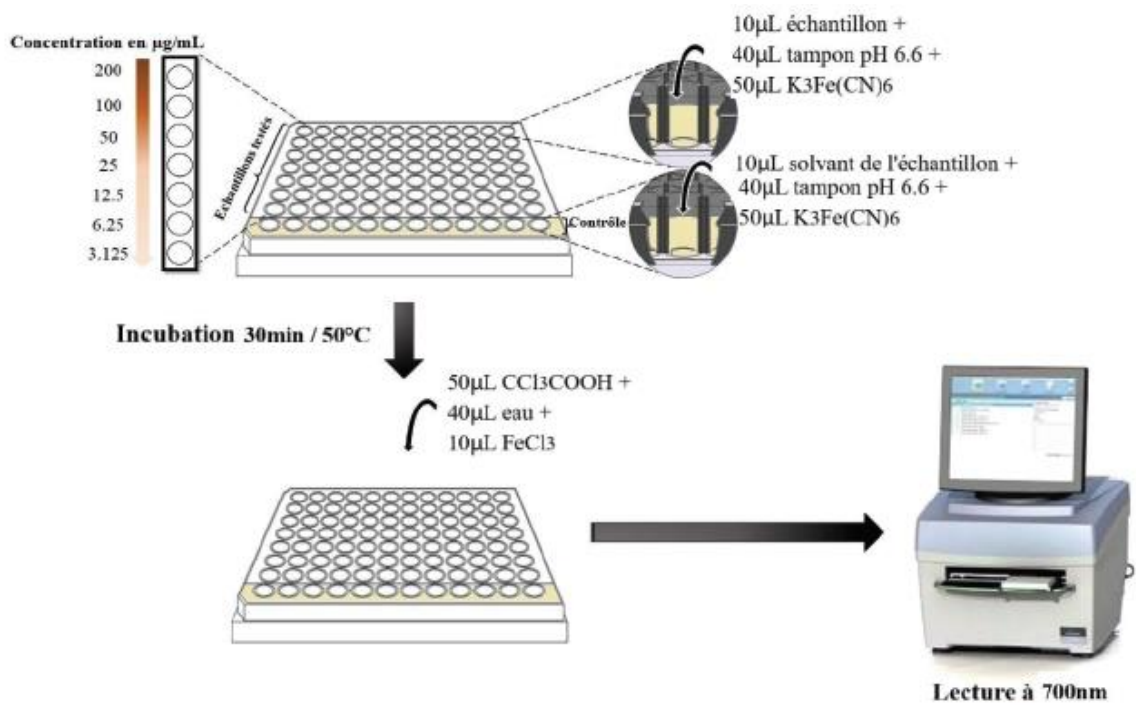


Figure 32 protocole suivi pour l'étude de l'activité antioxydante "pouvoir réducteur"

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de mesure du pouvoir réducteur a été effectuée à titre de A0.5 et comparé à celle d'acide ascorbique.

*Résultats
et discussion*

4- Résultats et Discussion

Le présent travail porte sur l'extraction de l'HE de la plante médicinale *L. dentata*, l'étude de ses caractéristiques (organoleptiques, physico-chimiques et chromatographiques). Ainsi qu'une évaluation de ses activités biologiques ; antimicrobienne, antalgique, anticoagulante, antidiabétique, anti-Alzheimer et antioxydante. L'objectif de cette étude est l'évaluation des activités biologiques de l'HE de la plante *L. dentata* dans le cadre de mettre en évidence des effets thérapeutiques des biomolécules d'origine naturelle, en vue de leurs applications en biothérapie.

4.1- Rendement de l'extraction

Le résultat obtenu concernant le rendement de l'extraction par hydrodistillation de l'HE de la plante *L. dentata* a montré que, 40g de l'HE sont obtenus à partir des 10kg de la partie aérienne. En effet, le rendement de l'extraction en utilisant la formule 1 (partie matériel et méthodes) est égal à une valeur $R = 0.4\%$.

Le rendement de l'HE de *L. dentata* (0.4%) est approximativement similaire à celui rapporté par Silva Flores *et al.* (2019), qui ont trouvé 0.53% au *L. dentata* de Mexico. Cependant, Bouazama *et al.*, (2017) et de plus Mothana *et al.* (2012), ont révélé un rendement égal à 0.58% au *L. dentata* provenant de Maroc et de Yémen respectivement. Tandis qu'il est inférieur à ceux trouvés par Rebey *et al.*, (2017) et El Hassouni *et al.*, (2017), qui ont enregistré un rendement de 0.68% et 1.4% respectivement. En revanche, le résultat obtenu est supérieur à ceux trouvés par Bousmaha *et al.*, (2006), qui a trouvé 0.25% au *L. dentata* algérienne provenant de Tlemcen.

Le rendement obtenu dans la présente étude, a présenté un résultat significatif, malgré les conditions et la période de récolte suivie (début de mars), qui n'était pas idéal pour le pic de production des métabolites secondaires. La variation de la valeur du rendement entre nos résultats et les résultats obtenus à partir de différentes références peut être attribués aux conditions climatiques et géographiques de station de récolte (aride, humide...*etc.*), à la nature de la plante (sèche ou fraîche), à la technique d'extraction (méthode, durée, conditions, quantité du matériel végétal et d'eau introduite...*etc.*) et à la période de la cueillette.

4.2- Caractéristiques de l'huile

La détermination des caractéristiques organoleptiques ainsi que, les propriétés physicochimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Dans la présente étude, ces caractéristiques ont été réalisées suivant les méthodes décrites par l'AFNOR et la pharmacopée européenne 11^{ème} édition.

4.2.1- Caractéristiques organoleptiques

Les résultats de contrôle des différentes caractéristiques organoleptiques de l'HE de *L. dentata* extraite par l'hydrodistillation, ainsi que les normes de l'HE de la dentée élaborée par l'AFNOR (2000), sont présentés dans le tableau 5 :

Tableau 5 Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *L. dentata*

	Aspect	Couleur	Odeur
L'HE de <i>L. dentata</i>	Liquide limpide mobile huileux	Jaune	Agréable camphrée
Normes AFNOR (2000)	Liquide Limpide Mobile	Jaune ombré	Odeur caractéristique du Lavande Camphrée

Les résultats obtenus concernant les caractéristiques organoleptiques sont similaires à ceux décrit par AFNOR, (2000), de ce fait, l'HE de la plante *L. dentata* est conforme. Ce qui confirme qu'elle est fraîche et de bonne qualité.

4.2.2- Caractéristiques physicochimiques

L'HE de *L. dentata* a été analysée par le contrôle de ces paramètres physicochimiques (Densité, pouvoir rotatoire, indice de réfraction, indice de saponification, indice de peroxyde, indice d'ester, teneur en eau et le pH). Ils ont été déterminés selon les méthodes de référence (AFNOR et Pharmacopée européenne). Le tableau ci-dessous regroupe les résultats de la mesure de ces indices physicochimiques.

Tableau 6 Indices physicochimique de l'HE de *L. dentata*

Paramètres	Résultats
Densité	0.897
Indice de réfraction	1.466
Pouvoir rotatoire	- 3
Indice de saponification	5.57
Indice de peroxyde	10.798
Indice d'acide	0.72
Indice d'ester	4.85
Teneur en eau	0.4%
pH	5.15

La densité des HEs est généralement inférieure à celle de l'eau et selon l'AFNOR, la densité de l'HE de *L. dentata* doit être comprise entre 0.891 et 0.899, cela signifie que, la valeur obtenue (0.897) est dans les normes requises.

Le résultat de l'indice de réfraction (1.466) se trouve dans la fourchette (1.463 à 1.468) de référence établie par la norme AFNOR. D'après Chouitah, (2012), l'élévation de cet indice indique que, l'HE de *L. dentata* est riche en monoterpènes et en dérivés oxygénés. La présence des monoterpènes dans l'HE joue un rôle important dans la création de nouveaux composés biologiquement actifs, y compris les médicaments.

La mesure du pouvoir rotatoire donne un bon renseignement sur la déviation du plan de la polarisation des composants de l'échantillon testé. Le résultat obtenu concernant le pouvoir rotatoire de l'HE de *L. dentata* a montré une valeur négative égale à -3, donc l'HE est de caractère lévogyre. Ce résultat répond aux normes exigées par l'AFNOR, ce qui confirme que l'HE est de bonne qualité.

L'indice d'acide représente l'un des paramètres les plus ciblés d'après l'AFONR. En effet, il donne une idée sur le taux d'acides libres présents et sa susceptibilité à subir des altérations, notamment l'oxydation et l'hydrolyse des esters ainsi qu'il donne une idée sur la qualité et le degré de conservation de l'HE (Kaloustian *et al.*, 2012).

Le résultat obtenu de l'indice d'acide a montré une valeur égale à 0.72 donc l'HE est dépourvu ou contient un peu d'acide gras libres à courtes chaînes carboniques. Cet indice est souvent d'une valeur égale ou inférieure à 2 selon la pharmacopée européenne 11^{ème} édition. Cela signifie que le résultat obtenu est conforme.

L'indice de saponification rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras ; Inversement au poids moléculaire (plus il est élevé I_s est faible). L'indice de saponification de L'HE est de 5.57, ce qui implique que l'HE de *L. dentata* contient une faible quantité des acides gras à faibles poids moléculaires.

En pratique, l'indice d'ester signifie la différence de l' I_s et I_A . La valeur calculée de l' I_E de l'HE (4.85) est comparable à celle de la norme d'AFNOR, ce qui indique qu'elle est conforme.

L'indice de peroxyde donne des renseignements sur la présence des substances antioxydants qui s'opposent à la formation des peroxydes. Lorsque cet indice est faible, cela signifie que, l'HE des plantes est fraîche. La valeur de l'indice de peroxyde trouvée dans cette étude est de l'ordre 10.798. Selon Haddad et Haddji, (2016), I_P ne doit pas dépasser 20 mEq O_2/L , donc l'HE de *L. dentata* est conforme.

La teneur en eau dans l'HE est de l'ordre de 0.4%. Cette faible valeur a montré que l'HE de *L. dentata* extraite par hydrodistillation est de bonne qualité.

La valeur de pH trouvée (5.15), signifie que l'HE est de caractère acide. Ce résultat a montré l'existence des composants organiques dans l'HE de *L. dentata*.

D'après la littérature, les variations de paramètres physicochimiques sont dues à plusieurs paramètres en l'occurrence ; la chémotype de la plante utilisée, l'influence des conditions édaphiques et climatiques, ainsi que, les conditions de la culture des plantes.

4.3- Analyse chromatographique

En vue de révéler la composition chimique de l'HE de *L. dentata*, une analyse chromatographique a été effectuée en utilisant la technique CPG/SM. Les composants obtenus, ainsi que le chromatogramme sont reportés dans le tableau et la figure ci-dessous :

Tableau 7 Composition chimique de l'HE de *L. dentata*

	Composés	Pourcentages (%)	Temps de rétentions(S)
01	β-pinène	33.43	2.583
02	1,8-cinéole	41.48	3.083
03	Camphène	0.25	3.500
04	Verbénol	1.31	4.083
05	Terpinén-4-ol	1.81	4.417
06	Myrténol	1.84	4.667
07	Benzaldéhyde, 4-(1-methylethyl)	2.06	5.083
08	β-citral	0.98	5.500
09	D limonène	2.26	6.333
10	6-Methyl-2-(2-oxiranyl)-5-hepten-2-ol	2.90	7.250
11	Linalooloxide	2.90	7.667
12	β-Linaloolmonoterpenols	1.43	7.917
13	L-pinocarveolmonoterpenoids	1.42	8.167
14	Camphore	1.42	8.417
15	Borneol	1.53	9.000
16	Furfuryl alcohol	0.96	9.667

17	Fenchone	1.75	10.083
18	P-Cymen-8-ol	0.26	10.667

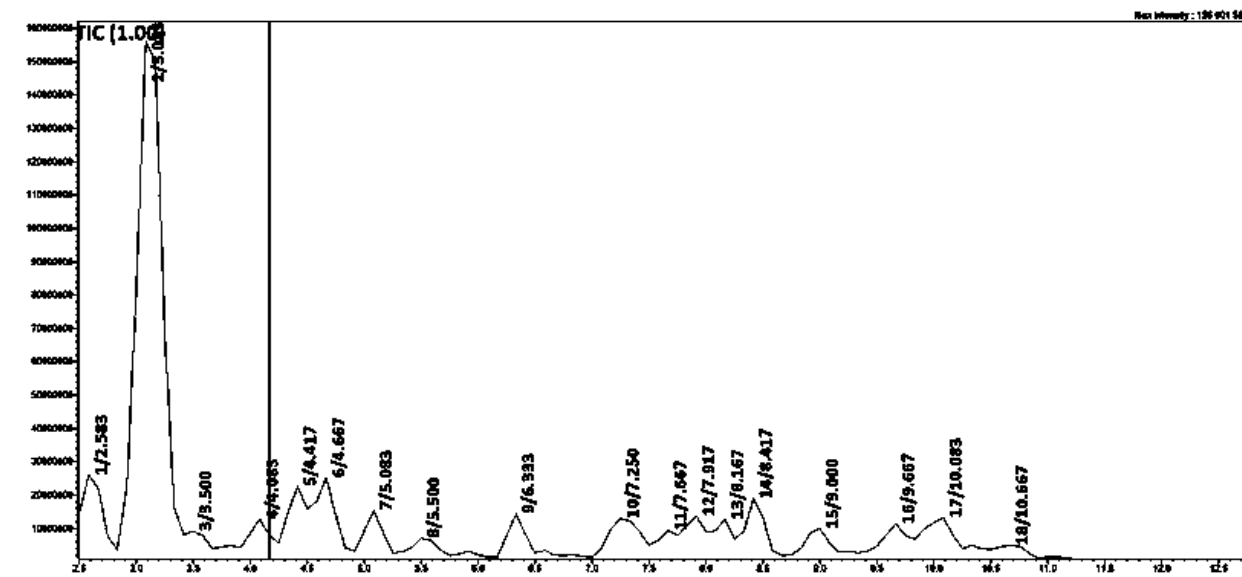


Figure 33 Chromatogramme des composants de l'HE de *L. dentata*

L'analyse de l'huile volatile de *L. dentata* a permis d'identifier 18 molécules. En effet, deux composés majoritaires ont été identifiés et déterminés en l'occurrence ; 1,8-cinéole (41.48 %) et β -pinène (33.43%). La figure ci-dessous montre les pourcentages des composés obtenus par CPG/SM.

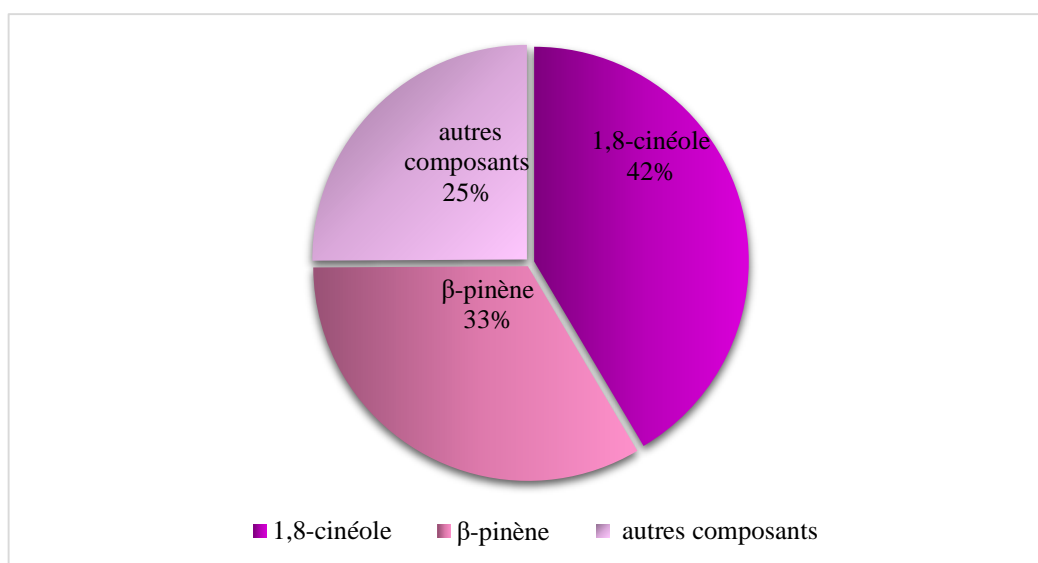


Figure 34 Pourcentage des composants majoritaires par rapport aux autres constituants de l'HE de *L. dentata*

D'autres travaux menés sur la détermination de quelques composés majoritaires des HEs de *L. dentata* provenant de diverses régions (tableau 8).

Tableau 8 Composants majoritaires de L'HE selon la provenance

Composés majoritaires	Régions	Référence de l'étude
Camphre (26.52%)	Tunisie	Bettaieb, 2017
1,8-cineole (22.90%)		
Limonène (14.91%)		
β- pinène (14.02%)		
β-Pinène (27.08%)	Maroc	El hassouni et al, 2017
Pinocarveol (14.77%)		
β-pinène (17.3%)	Algérie (Oran)	Benbrahim, 2021
Mytenal (10.2%)		
Trans-pinocarveol (8.7%)		
1,8- cinéole (37.14%)	Tunisie	Souihi et al, 2017
1,8- cinéole (63.25%)	Parana (south Brazil)	Barbara, 2018
Linalool (47,30%)	Tunisie	Msaada et al, 2012
Linalyl acétate (28.65%)		
α- Terpinolene (51.13%)	Algérie (Tébessa)	Dris, 2017
camphor (13.43%)		

Les profils chromatographiques réalisés sur l'HE de *L. dentata* de différentes régions ont montré que, le 1,8-cinéole et β- pinène sont parmi les composés caractéristiques de cette plante. Mais aussi, il existe une large différence au sein de la même espèce (Dris, 2017 ; Barbara, 2018 ; Benbrahim, 2021). De nombreux facteurs peuvent être influencés sur le chémotype de l'HE en l'occurrence ; la température ; le taux d'humidité ; la durée d'ensoleillement ; la composition du sol ainsi que le polymorphisme chimique dans la même espèce (Benabdelkader, 2012).

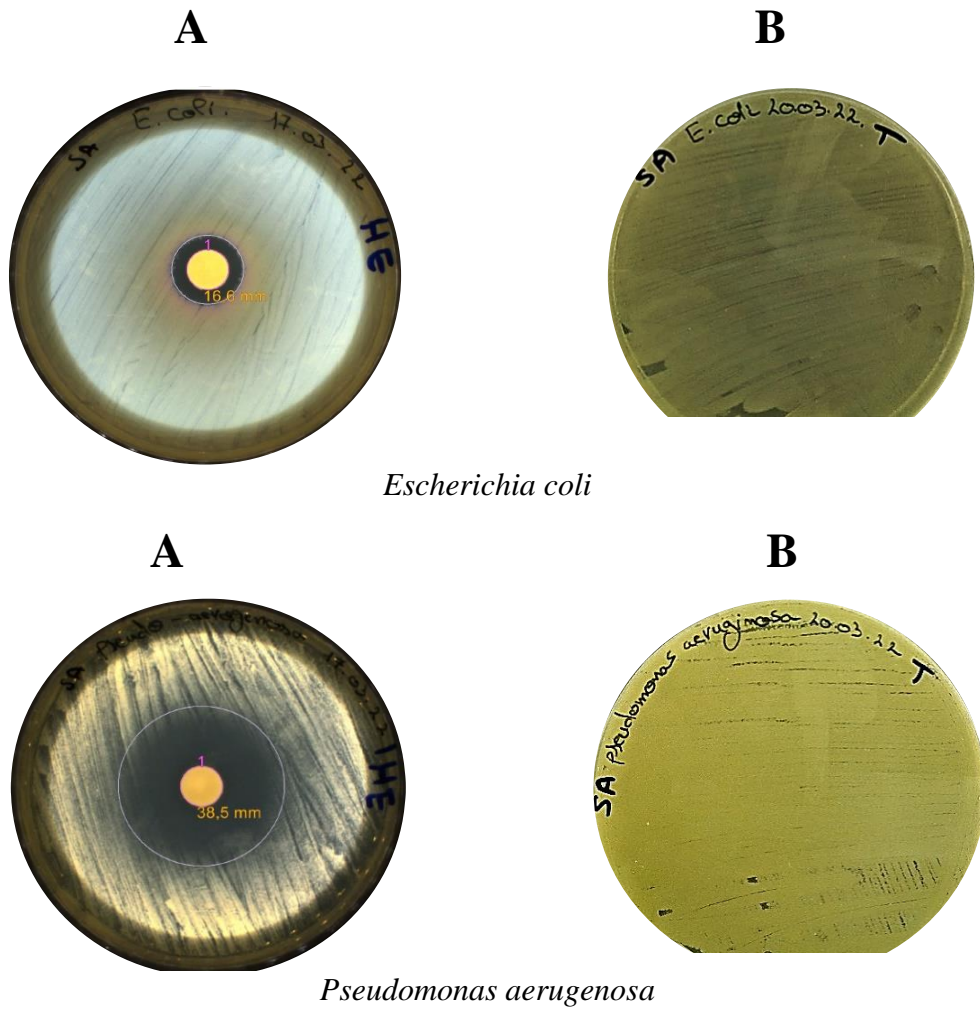
4.4- Activités biologiques

Dans le but de tester l'effet thérapeutique de l'HE issue de la plante *L. dentata*, plusieurs activités ont été mises en évidence : l'activité antimicrobienne, l'activité antalgique, l'activité anticoagulante, l'activité antidiabétique, ainsi que l'activité antioxydante.

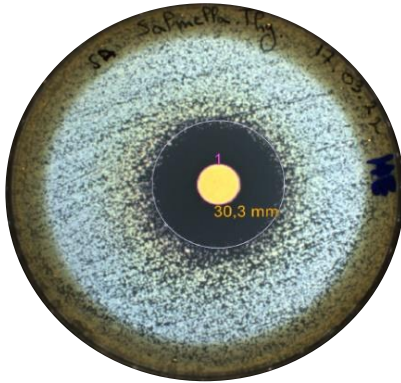
4.4.1- Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE extraite par hydrodistillation à partir des parties aériennes (Feuilles, tiges, fleurs) de la plante *L. dentata* a été réalisée par la méthode de l'aromatogramme vis-à-vis six bactéries et deux levures. Le pouvoir antimicrobien a été évalué en mesurant le diamètre des zones d'inhibitions (DZI) autour des disques contenant l'HE.

Les résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE brut de la plante, sont illustrés dans la figure 35



A

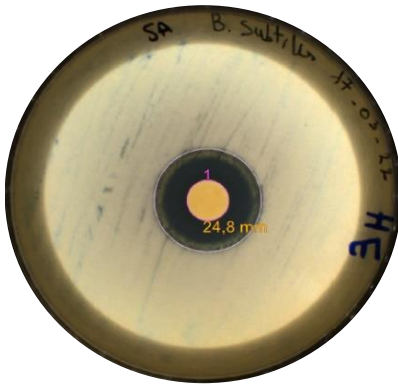


B



Salmonella typhimurium

A

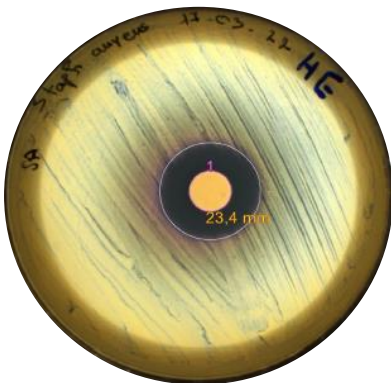


B



Bacillus subtilis

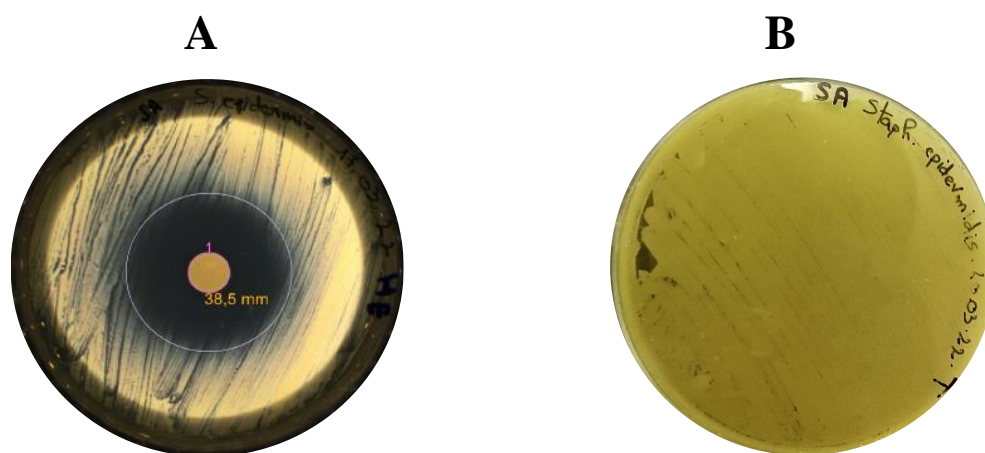
A



B



Staphylococcus aureus



Staphylococcus epidermidis

Figure 35 L'activité antibactérienne de L'HE brute

L'analyse des résultats a montré que, l'HE brute de *L. dentata* possède un effet hautement considérable vis-à-vis les bactéries testées. Cependant, les DZI sont différents selon la bactérie testée (Tableau 9). L'HE a un pouvoir inhibiteur contre les bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. typhimyrum*), et Gram positif (*S. epidermidis*, *S. aureus*, et *B. subtilis*).

Une activité maximale similaire (38.5 mm), a été observée chez *P. aeruginosa* et *S. epidermidis* suivie de *S. typhimyrum* (30.3mm), une activité considérable contre *S. aureus* et *B. subtilis* avec DZI égale à 23.4 mm et 24.8 mm respectivement, cependant, une modeste activité a été observée chez *E. coli* (16.6 mm). En se référant à l'échelle de notation symbolique de Boughendjioua *et al.* (2017), l'action inhibitrice de l'HE de *L. dentata* a été classée en quatre catégories (tableau 9).

Tableau 9 L'action inhibitrice de l'HE de *L. dentata* contre les souches bactériennes

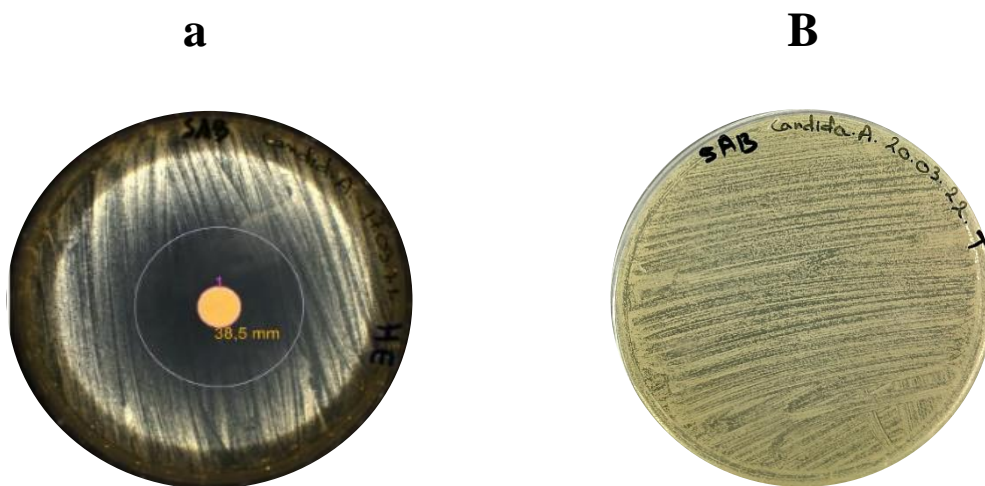
	HE brute	Action de l'HE
<i>E. coli</i>	16.6 mm	+
<i>P. aeruginosa</i>	38.5 mm	+++
<i>S. typhimyrum</i>	30.3 mm	+++
<i>S. epidermidis</i>	38.5 mm	+++
<i>B. subtilis</i>	24.8 mm	++
<i>S. aureus</i>	23.4 mm	++

Les résultats obtenus concordent à ceux de Imelouane *et al.* (2009), qui ont trouvé un DZI de l'ordre de 22 mm vis-à-vis *S. aureus* (ATCC25923) et 15 mm pour *E. coli* (ATCC125922). De plus Bachiri *et al.* (2017) ont travaillé sur une lavande denté marocaine, et ont trouvé un DZI égale à 30 mm pour *S. aureus* et 12 mm pour *E. coli*. En revanche, l'étude d'Aly *et al.* (2013), a montré que l'huile volatil de *L. dentata* saoudienne ne possède aucun effet inhibiteur sur *E. coli* et *S. aureus*. Cependant, Puvaça *et al.* (2021), ont enregistré une action élevée de *L. augustifolia* contre *E. coli*. Le travail élaboré par El Hassouni *et al.* (2019) a montré 35 mm envers *Salmonella enteritidis*.

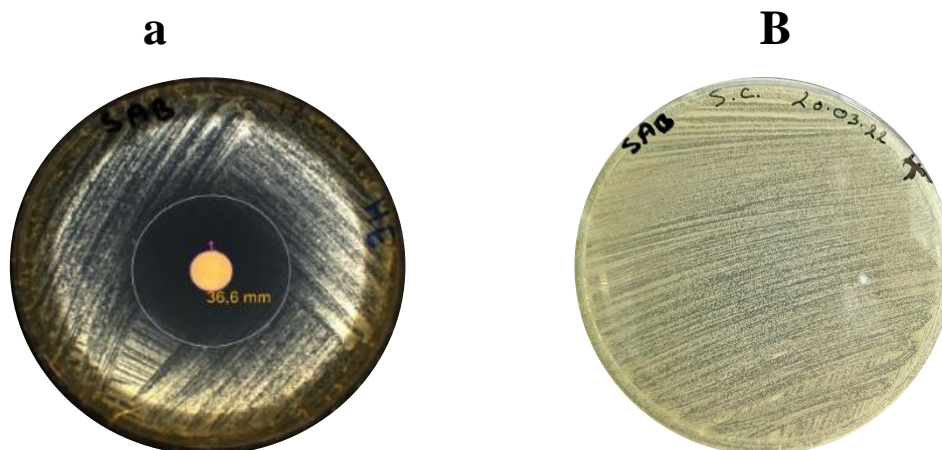
Alors que, Shubha, (2013) et Boughendjioua *al.* (2017), ont montré des résultats semblables à ceux trouvés dans le présent travail en utilisant la plante *Lavandula* contre les bactéries *B. subtilis* et *S. epidermidis*. Ce résultat rendre l'HE de *L. dentata*, un agent antibactérien naturel très efficace et peut être une source importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections dermiques.

Dans cette étude, l'HE de *L. dentata* est capable d'inhiber la croissance de la bactérie *P. aeruginosa* (38.5mm), contrairement aux résultats menés par Imelouane *et al.* (2013), et N'Dédinahoua *et al.* (2014) qui n'ont trouvé aucun effet inhibiteur vis-à-vis cette bactérie. En outre, les travaux fournis par Bouzouama *et al.* (2017) et Aly *et al.* (2013), ont trouvé des DZI égale à 13.5mm et 21 mm envers *P. aeruginosa* (ATCC27853).

Dans le présent travail, les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique, vis-à-vis les deux souches levuriennes (*C. albicans*, *S. cerevisiae*) sont illustrés dans la figure ci-dessous :



Candida albicans



Saccharomyces cerevisiae

Figure 36 Activité antifongique de l'HE brute

L'analyse des résultats a montré une sensibilité remarquable chez les souches levuriennes testées, en effet, le pouvoir inhibiteur de l'HE de *L. dentata* est très efficace contre *S. cerevisiae* et *C. albicans*, avec DZI égale à 36.6 mm et 38.5 mm respectivement.

Les résultats obtenus dans le présent travail concordent avec ceux trouvés dans l'étude de Müller-Sepúlveda *et al.* (2020), qui ont révélé un effet inhibiteur de l'HE de *L. dentata* sur *C. albicans*. Cependant, d'après la littérature, l'efficacité des extraits aromatiques à travers les publications reste difficile à établir, et ce réside dans le fait que les paramètres expérimentaux (méthodes employées, conditions physiologiques des germes, doses utilisées...*etc.*) se différencient d'une étude à l'autre.

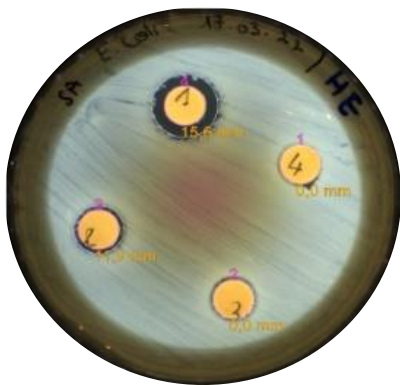
Sur la base des résultats obtenus, l'HE de la plante *L. Dentata* a montré un résultat très positif vis-à-vis les souches bactériennes et fongiques testées, ce qui confirme l'efficacité de l'HE comme agent antimicrobien naturel et peut être exploitée comme un antiseptique. D'un autre volet, plusieurs hypothèses menées sur le mode d'action des HEs, cependant le mécanisme précis montrant l'effet inhibiteur reste un sujet délicat et difficile à traiter en raison de la diversité et la variabilité des constituants chimiques d'une plante à l'autre et même au sein d'une même espèce. Par ailleurs, Bouzouama *et al.* (2017), ont expliqué dans leurs travaux que la présence de camphore et 1.8-cinéole dans l'HE de *L. dentata* provoque l'inhibition de la croissance microbienne.

De plus, les HEs agissent sur les microorganismes en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation, la synthèse de leurs toxines et elles agissent sur la biomasse et la production de pseudo-mycélium chez les levures (Boughendjioua, 2017).

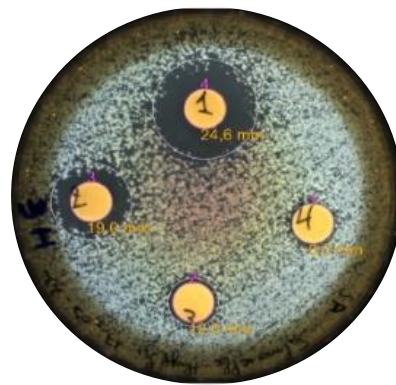
Il est intéressant de noter que, l'utilisation de la totalité de l'HE sans séparer les composants montrant un résultat idéal vis-à-vis les microorganismes pathogènes, cela est peut-être expliqué par l'effet synergique entre les différents composés.

Détermination de CMI

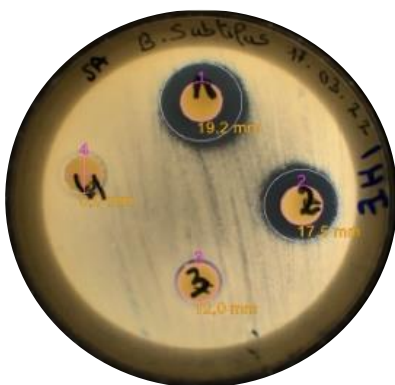
Dans le but de confirmer les résultats trouvés précédemment dans l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne et afin de mesurer la dose exacte au-delà de laquelle toute croissance microbienne est inhibée, La détermination de la CMI a été effectuée par la méthode de diffusion sur disque dans un milieu gélosé. Les résultats obtenus concernant la CMI de l'HE de *L. dentata*, sont mentionnés dans le tableau 10 et illustrés dans la figure ci-dessous :



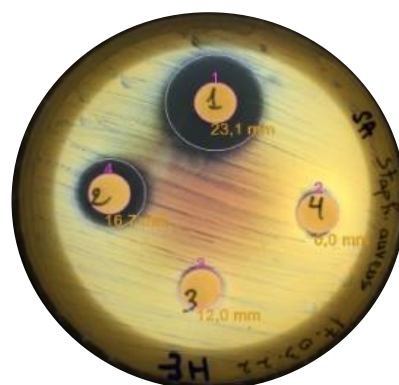
Escherichia coli



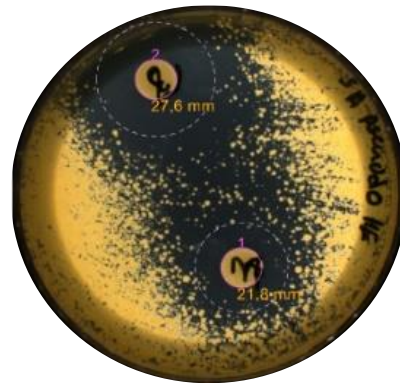
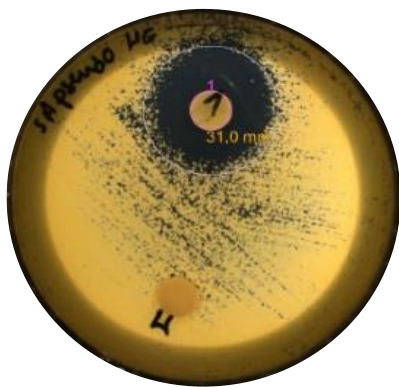
Salmonella typhimurium



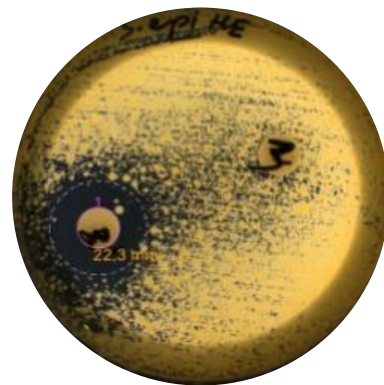
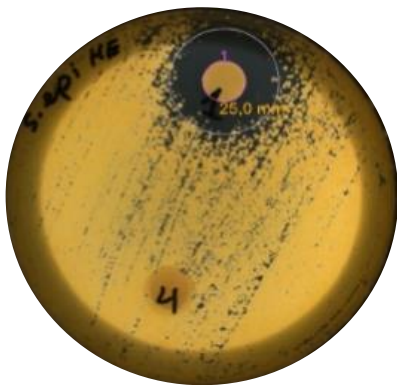
Bacillus subtilis



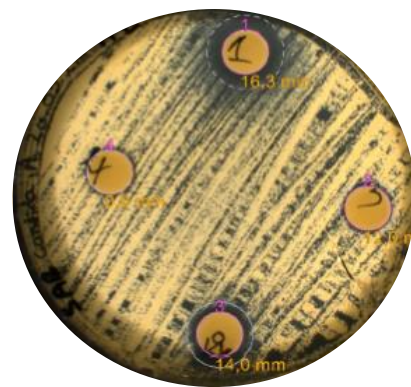
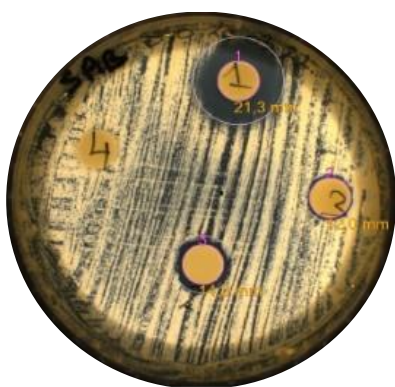
Staphylococcus aureus



Pseudomonas aeruginosa



Staphylococcus epidermidis



Saccharomyces cerevisiae

Candida albicans

Figure 37 détermination de la CMI

Tableau 10 valeurs de la concentration minimal inhibitrice

µl/ml	<i>EC</i>	<i>BS</i>	<i>PA</i>	<i>SA</i>	<i>SE</i>	<i>ST</i>	<i>CA</i>	<i>SC</i>
500	-**	-	-	-	-	-	-	-
250	CMI	-	-	-	CMI	-	-	-
125	+*	CMI	CMI	CMI	+	CMI	CMI	CMI
62.5	+	+	+	+	+	+	+	+

EC : *E. coli*, **BS** : *B. subtilis*, **PA** : *P. aeruginosa*, **SA** : *S. aureus*, **SE** : *S. epidermidis*, **ST** : *S. typhimyrum*, **CA** : *C. albicans*, **SC** : *S. cerevisiae*, (*) présence d'une croissance, (**): absence de croissance

D'après les résultats, il a été montré que l'HE possède des degrés variables d'inhibition de croissance contre les souches bactériennes et levuriennes. En effet, il est estimé que la CMI des souches *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. Aureus*, *S. typhimyrum*, *C. albicans*, et *S. cerevisiae* est de 125 µl/ml, donc, en se référant au Konan *et al.* (2014), le pouvoir inhibiteur de l'HE de *L. dentata* est intéressant vis-à-vis ces souches. Alors que, la CMI des souches bactériennes *E. coli* et *S. epidermidis* est de valeur plus élevée (250 µl/ml), ce qui montre d'après Konan *et al.* (2014), que l'effet de l'huile est faible contre ces deux bactéries.

4.4.2- Activité antalgique

Les résultats de l'évaluation de l'activité antalgique de l'HE de *L. dentata* par le test Tail flick, basé sur la douleur provoquée par l'analgésimètre, sont illustrés dans la figure ci-dessous :

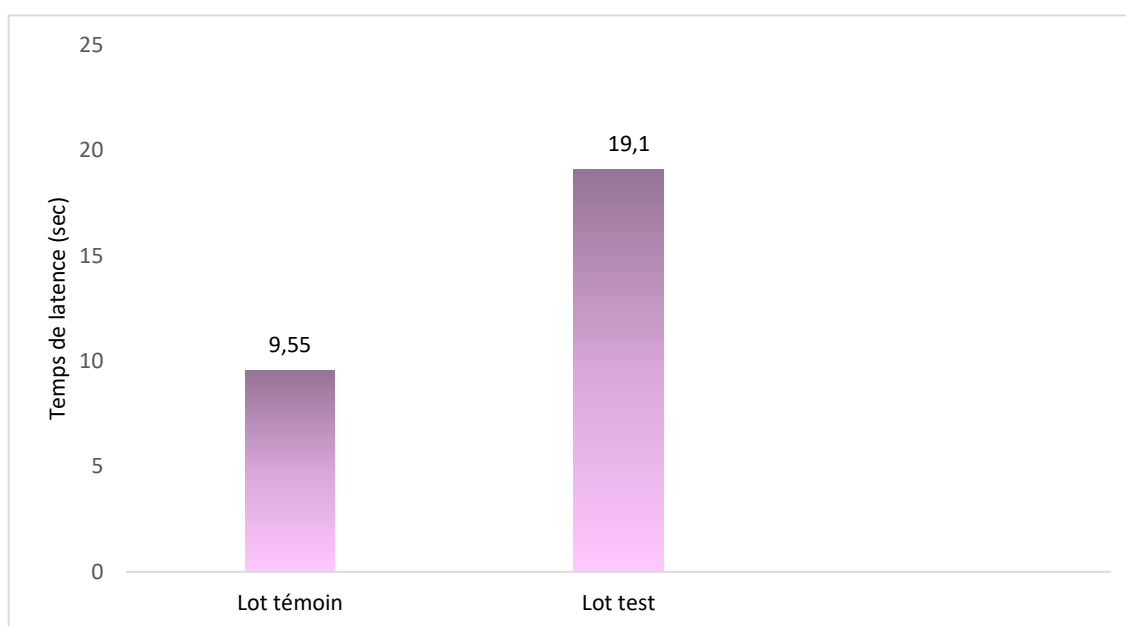


Figure 38 moyennes du temps de latence des souris

Les résultats obtenus après l'administration de 400mg/kg de l'HE de *L. dentata* chez les souris de race swiss, ont montré une diminution de la perception des sensations douloureuses, en augmentant de façon très significative le temps de réaction des souris du lot test par rapport au lot témoin négative ayant reçu l'huile d'olive uniquement. Cela signifie que, L'HE de *L. dentata* possède un effet antalgique intéressant sur les douleurs chez l'animal.

Les travaux de Hajehashemi *et al.* (2003), sur l'activité antalgique de l'HE de *L. augustifolia* ont montré une activité analgésique avec un pourcentage d'inhibition égale à 90%. De plus, l'étude de Ghods *et al.* (2015), a montré une diminution de l'intensité de la douleur après l'application topique de l'HE de lavande lors de l'insertion des aiguilles de dialyse chez des patients hémodialysés.

En outre, Maya-Enero *et al.* (2022), ont démontré l'efficacité de l'inhalation de l'HE de lavande pour réduire la douleur pendant frénotomie chez les nouveau-nés sains et nés à terme.

Le test Tail Flick, est un modèle sensible aux antalgiques centraux en particulier ceux qui ont un site d'action spinal. De ce fait, l'effet analgésique de l'HE de *L. dentata* observé chez les souris dans cette étude confirme l'effet antalgique central de cette huile, et ce, en inhibant les récepteurs opioïdes de la douleur central. Par ailleurs, les antalgiques peuvent exercer leur activité anti nociceptive au niveau de trois sites distincts ; au niveau périphérique par diminution de la sensibilité des nociceptives (antalgiques) ; au niveau médullaire par suppression du relais des influx nociceptifs (opioïdes) et enfin, au niveau supra-spinal par inhibition de la perception de la douleur (opioïdes, narcotiques) ou bien en modulant l'assimilation de la douleur (antidépresseurs comme Co-antalgiques) (Bounihi, 2016).

Activité anticoagulante

Dans le but de rechercher des substances bioactives naturelles capables de coaguler le sang, pour empêcher l'hémorragie et éviter la souffrance de thrombose, une évaluation de l'activité anticoagulante de L'HE de *L. dentata* a été réalisée in vitro vis-à-vis la voie exogène et la voie endogène de la coagulation.

Les résultats obtenus de l'activité anticoagulante de l'HE via la voie exogène en utilisant le test de TP sont illustrés dans la figure suivante :

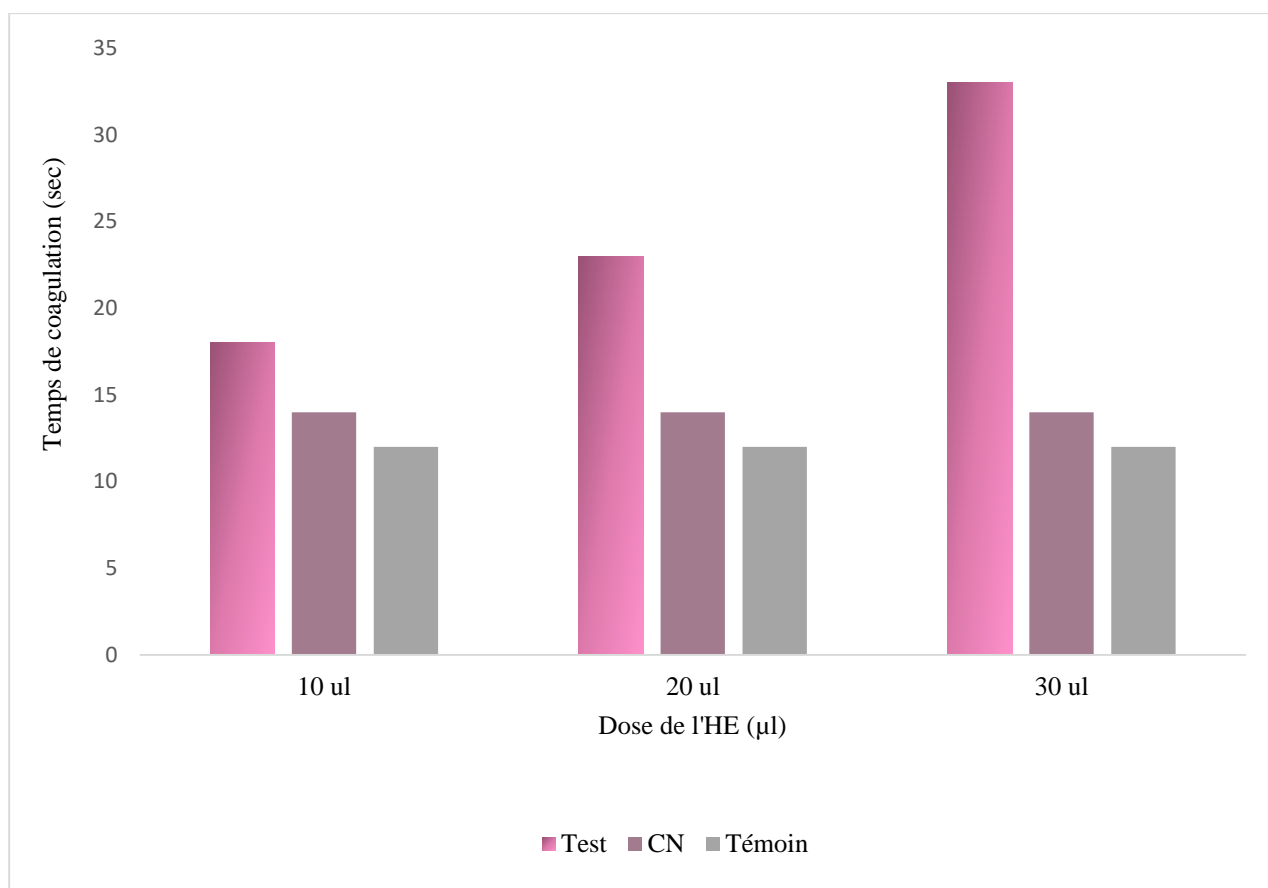


Figure 39 Temps de coagulation par voie exogène

Les résultats obtenus ont montré que l'HE de *L. dentata* a donné un TP supérieur au celle du témoin et du contrôle négatif. Le TP normal est compris entre 12 et 14 secondes selon les réactifs utilisés, et tout un allongement par rapport au témoin montre une activité anticoagulante de l'HE testé vis-à-vis la voie exogène de la coagulation.

La dose 10 µl de l'HE a allongé le temps de quick avec une valeur d'ordre de 6 S avec un TP de 18 S. Cependant le volume 20 µl de l'HE a présenté une activité anticoagulante allongée (11 S) et un TP estimé à 23 S. En outre, la dose 30 µl de l'HE a un effet anticoagulant sur la voie extrinsèque avec un TP de 33 S, par un allongement de 21 S.

Les résultats obtenus concernant l'exploration de la voie endogène de la coagulation en utilisant le test de TCK sont présentés dans la figure 40.

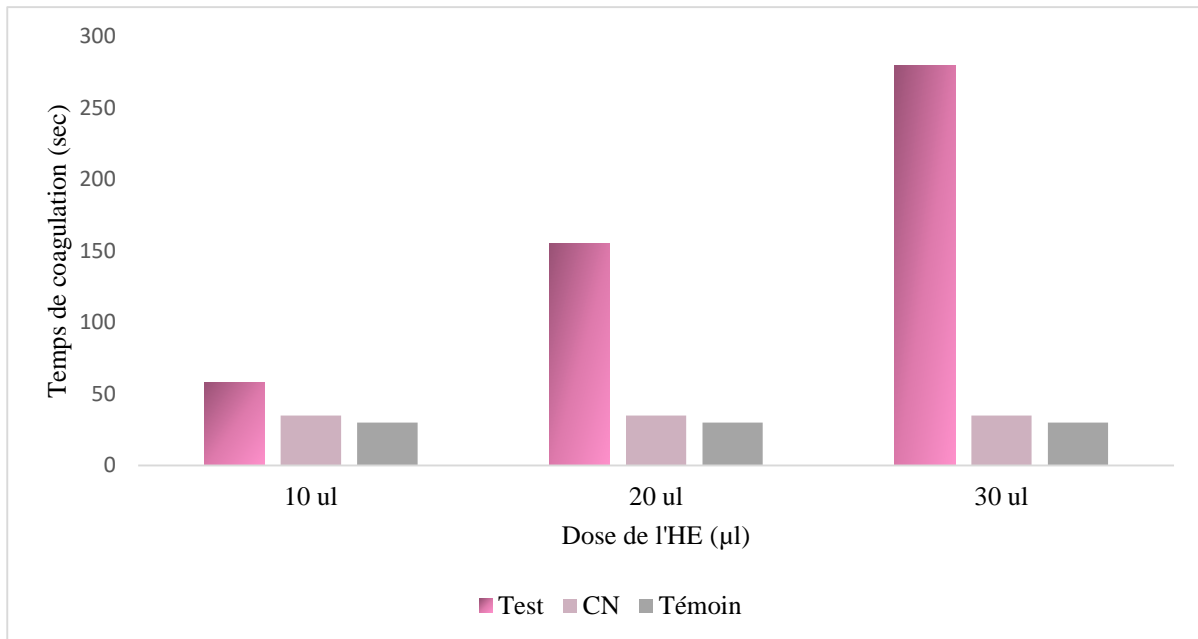


Figure 40 temps de coagulation par voie endogène

Le TCK normal doit être compris entre 30 et 40 S selon les réactifs utilisés, et tout un allongement par rapport au témoin montre une activité anticoagulante.

Dans cette étude, l'HE de *L. dentata* a donné un TCK important par rapport au témoin et au contrôle négatif. Le volume 10 µl de l'HE a présenté une activité anticoagulante avec un TCK de 58.3 S, et un allongement de 28.3 S. Par ailleurs, le volume 20 µl est capable d'exercer un effet contre la formation du caillot, avec un TCK de 155 S, et un allongement de 125 S. Cependant, le volume 30 µl est capable d'allonger le temps de la coagulation (250 S) avec une valeur de TCK de l'ordre de 280 S.

D'après les résultats obtenus, l'HE de *L. dentata* exerce un effet anticoagulant très intéressant et remarquable vis-à-vis la voie endogène en utilisant le TCK.

Par ailleurs, une étude récente réalisée par Alatawi *et al.* (2021), a démontré l'effet de 1,8-cinéole, un composant majoritaire de l'HE de Lavande denté sur l'activation plaquettaire induite. En fait, il peut agir comme un agent thérapeutique potentiel pour contrôler l'agrégation plaquettaire injustifiée dans divers contextes physiopathologiques (Laly, 2018)

En effet, les propriétés anticoagulantes de l'HE de lavande pourraient être due à l'action vasoconstrictrice du pinène, en diminuant le diamètre des vaisseaux sanguins, et donc diminuant l'afflux sanguin et facilitant l'hémostase par diminution des contraintes vasculaires.

4.4.4- Activité anti-Alzheimer

L'inhibition de l'enzyme cholinestérase est devenue une approche clinique largement utilisée pour traiter les symptômes de la maladie d'Alzheimer. De ce fait, dans le but d'explorer l'effet thérapeutique de l'HE de *L. dentata* sur les maladies neurodégénérative, l'évaluation de l'activité Anti-Alzheimer a été réalisée in vitro en utilisant le test d'inhibition de l'enzyme BChE. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 41 et exprimés en pourcentages d'inhibition dans le tableau 11.

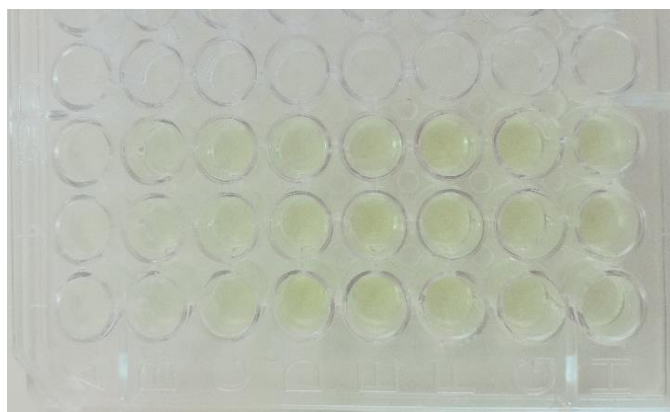


Figure 41 Résultats de l'activité anti-Alzheimer sur microplaque

Tableau 11 Résultats du test d'inhibition de l'enzyme BChE

($\mu\text{g/ml}$)	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200
HE	NA	NA	NA	NA	NA	47.52 \pm 1.62	92.31 \pm 2.76
Galantamine	3,26 \pm 0,62	6,93 \pm 0,62	24,03 \pm 2,94	45,13 \pm 2,60	63,87 \pm 2,85	73,57 \pm 0,77	78,95 \pm 0,58

NA : non actif, \pm : écart-type (n=3)

Le pourcentage d'inhibition de l'HE de *L. dentata* présente un résultat indéterminée, lorsque les concentrations (3.125, 6.25, 12.5 ,25 ,50 $\mu\text{g/ml}$) sont effectuées, En revanche, cette huile a montré un résultat hautement significatif lorsque les concentrations (100 et 200 $\mu\text{g/ml}$) ont été testées. Il est à noter que le pourcentage d'inhibition de l'HE est supérieur à celui du standard lorsque la concentration 200 $\mu\text{g/ml}$ a été utilisée. Ce résultat est prometteur et ouvre la voie sur l'exploitation de l'HE comme un anti-Alzheimer.

A partir de la courbe illustrée dans la figure 42, l'IC50 a été calculée pour mieux caractériser le pouvoir anti-Alzheimer.

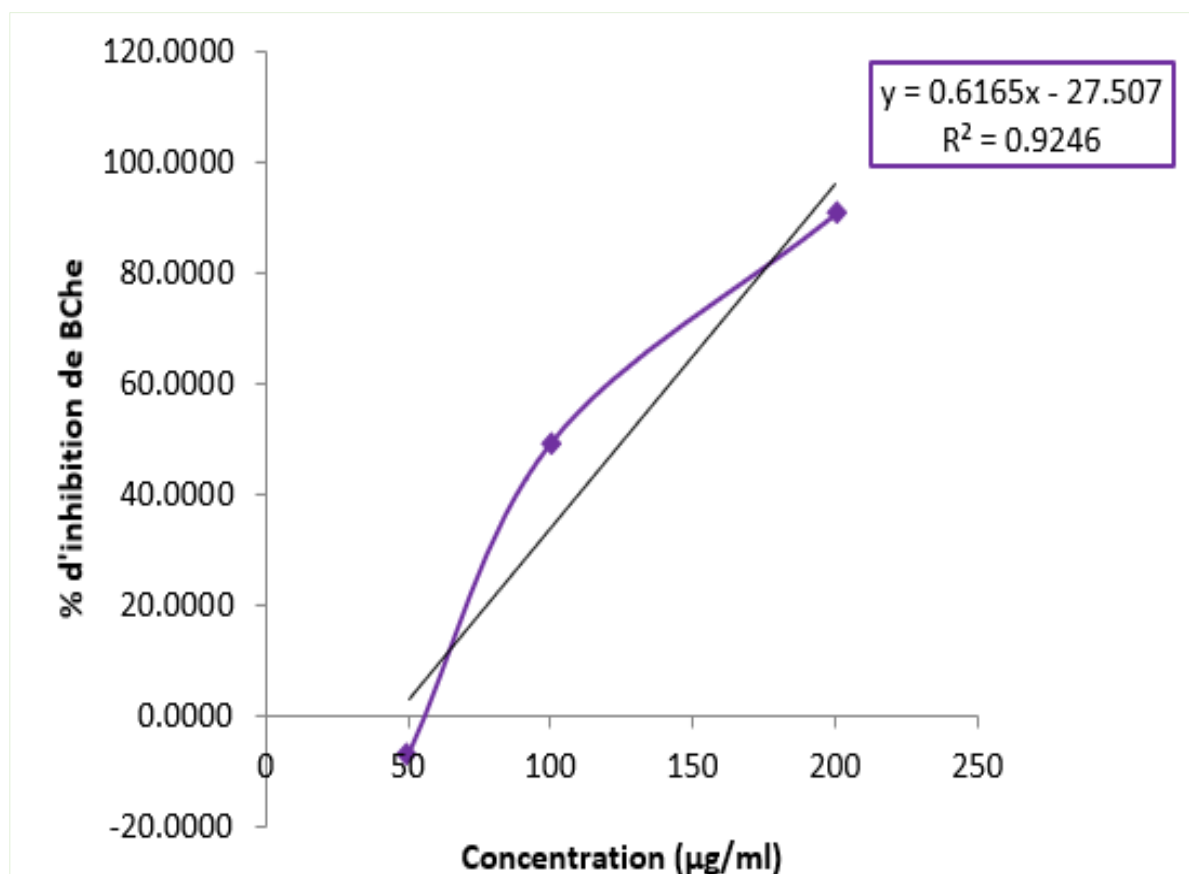


Figure 42 pourcentages d'inhibition de BChE

D'après les résultats obtenus dans le présent travail, il a été déduit que, l'HE de la plante *L. dentata* possède un effet inhibiteur intéressant vis-à-vis l'activité enzymatique de BChE avec une valeur de 125.34 ± 0.68 µg/ml supérieur à celle obtenue par la Galantamine (34.75 ± 1.99 µg/ml), utilisée comme standard. Ce résultat positif, est en accord avec ceux de Qneibi *et al.* (2019) et Nadel *et al.* (2020), qui ont confirmé l'efficacité de l'utilisation de l'HE de lavande dentée dans l'amélioration de la mémoire et de la fonction cognitive chez des patients atteints de la MA.

Le travail établi par Scuteri *et al.* (2017), sur des patients souffrant d'Alzheimer a été montré que, l'HE de *L. officinalis* possède des propriétés anticholinestérasiques qui accroît les capacités de mémorisation. De plus, un effet protecteur de la neurotoxicité générée par cette maladie a été observé par Caputo *et al.* (2021), chez la même plante.

Des recherches scientifiques ont expliqué l'activité inhibiteur de la MA chez l'HE de Lavande par son effet efficace d'inverser les déficits de la mémoire spatiale induits par les dysfonctionnements du système cholinergique. Des preuves sont également trouvées en relation avec les activités anti-apoptotique de son extrait volatil, avec la capacité d'augmenter la plasticité synaptique

4.4.5- Activité antidiabétique

Dans cette étude, l'exploration de l'activité antidiabétique de l'HE de la plante *L. dentata*, a été effectuée in vitro en utilisant le test d'inhibition de l'activité enzymatique de l' α -amylase. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 43 et exprimés en pourcentages d'inhibition dans le tableau 12.

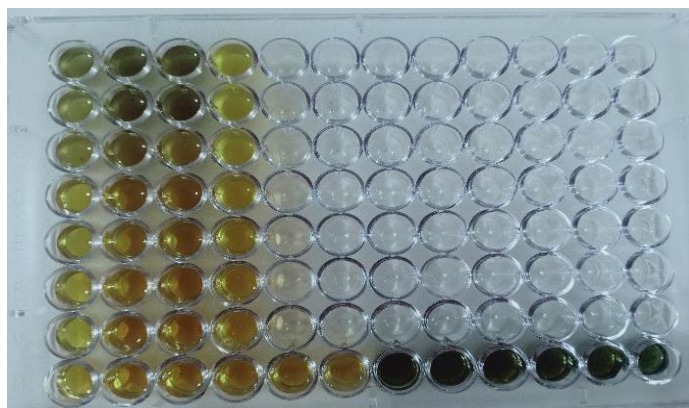


Figure 43 Résultats de l'activité antidiabétique sur microplaque

Tableau 12 Résultats du test d'inhibition de l'enzyme α -amylase

$\mu\text{g/ml}$	6.25	12.5	25	50	100	200	400
HE	63.45 \pm 4.01	73.00 \pm 6.78	89.81 \pm 3.14	96.07 \pm 3.27	109.97 \pm 5.33	120.75 \pm 0.65	121.79 \pm 4.34
acarbose	7.76 \pm 0.17	8.08 \pm 0.30	9.46 \pm 0.11	10.70 \pm 0.96	31.81 \pm 2.89	37.21 \pm 3.54	53.05 \pm 1.59

Les résultats obtenus concernant l'activité antidiabétique montre que l'HE inhibe l'activité enzymatique de l' α -amylase de manière dépendante de la concentration (figure 44). A la plus faible concentration (6.25 $\mu\text{g/ml}$), l'HE a présenté un pourcentage d'inhibition de 63.45 % tandis qu'à la plus grande concentration (400 $\mu\text{g/ml}$), ce pourcentage a atteint 121.79 %. Ceci montre que l'HE de l'espèce *L. dentata* possède un grand potentiel antidiabétique. Ainsi que, ces valeurs d'inhibitions sont supérieures à celles obtenues par l'acarbose. Ce résultat donne l'intérêt à l'HE de *L. dentata* pour qu'elle puisse utiliser dans le traitement du diabète.

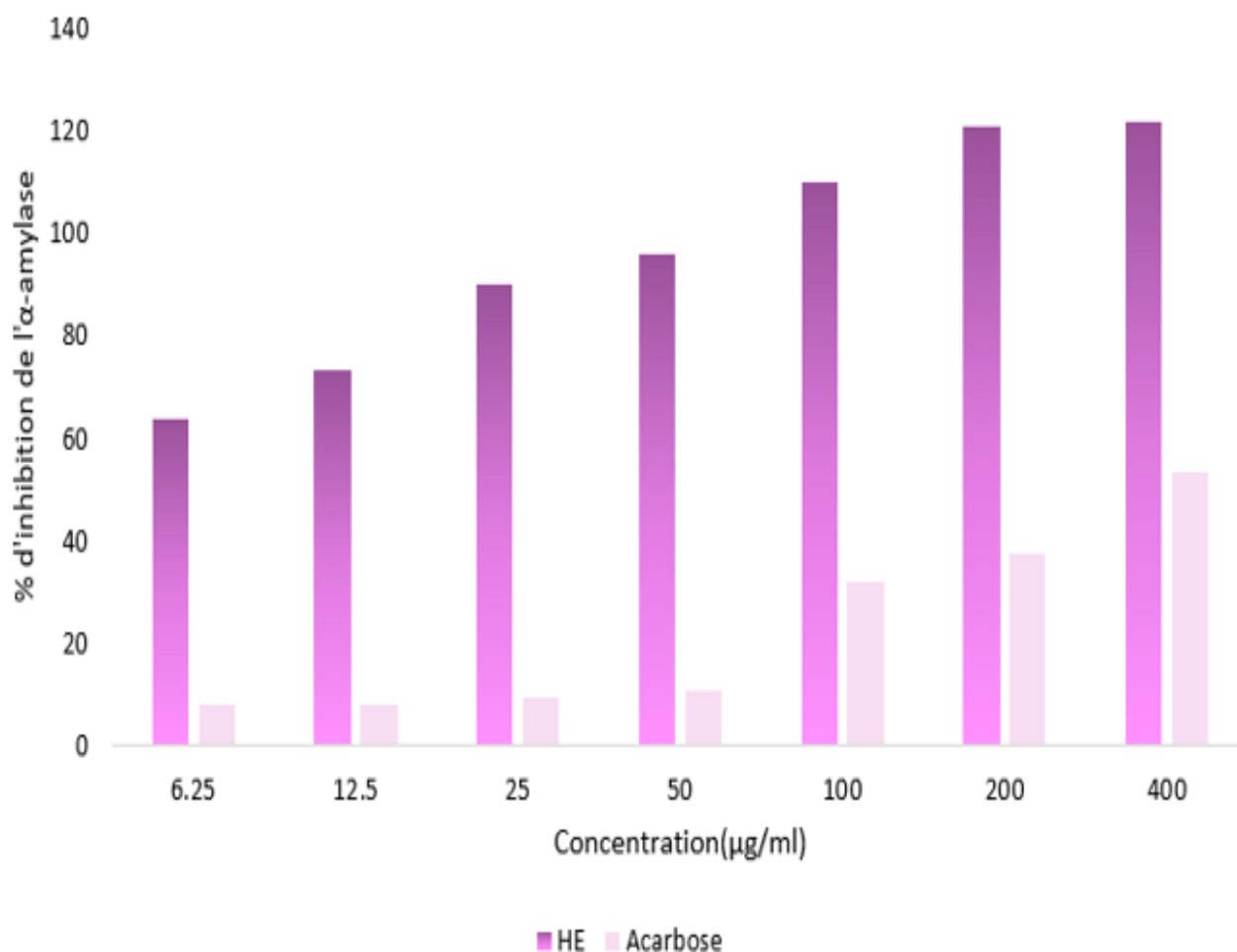


Figure 44 Inhibition d' α amylase par l'HE

La concentration IC_{50} a été calculé pour mieux caractériser le pouvoir antidiabétique, l' IC_{50} a été égale à 135.08 ± 0.25 $\mu\text{g/ml}$. En comparant la valeur enregistrée de l'huile avec celle d'acarbose, il a été apparu que l'HE de *L. dentata* est plus efficace.

Le résultat obtenu dans cette étude concorde avec celui trouvé par Capetti *et al.* (2020), qui ont confirmé l'activité inhibitrice de la lavande vis-à-vis l' α -amylase.

L'étude menée par Sebai *et al.* (2013), sur *L. stoechas* L., a montré l'effet protecteur de cette plante contre les diabètes.

Les experts sont convaincus que l'apport total en glucide est un facteur fiable pour prédire la glycémie postprandiale, de ce fait, l'inhibition de l'activité enzymatique des enzymes impliquées dans la digestion des glucides peut prédire l'hyperglycémie comme l' α -amylase. Donc, l'HE de *L. dentata* possède une activité antidiabétique intéressante, en raison de son effet puissant dans l'inhibition de l'enzyme α -amylase.

4.4.6- Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'HE de *L. dentata* a été réalisée par trois méthodes à savoir ; le piégeage du radical libre, en suivant la disparition du couleur violette au jaune pour le test de DPPH , incolore au bleu pour l'ABTS⁺ et l'évaluation du pouvoir réducteur du fer en suivant le changement de couleur de jaune au bleu. Les résultats obtenus sont illustré dans la figure 45 et mentionnés dans le tableau 13. Ils ont été comparés avec des antioxydants standards.

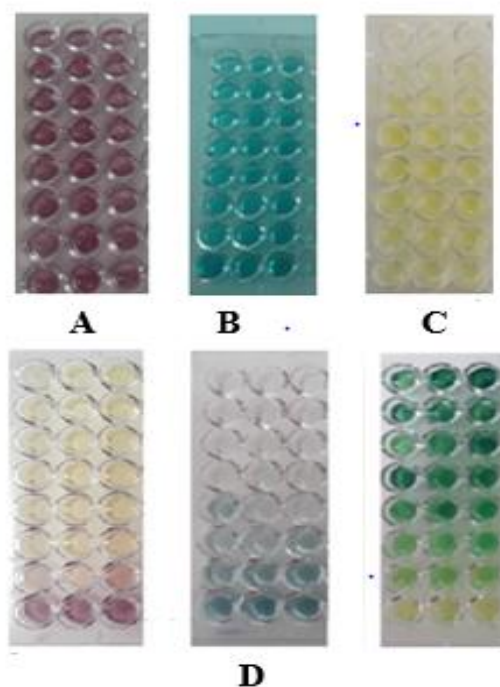


Figure 45 résultats de l'activité antioxydante sur microplaque (A. test BPPH, B. ABTS⁺, pouvoir réducteur, D. standards

Tableau 13 Résultats de l'étude de l'activité antioxydante sur microplaque

($\mu\text{g/ml}$)	12.5	25	50	100	200	400	800
DPPH (%Inhibition)							
HE	NA	2.15 \pm 2.06	4.55 \pm 5.14	9.21 \pm 2.33	13.22 \pm 3.08	24.90 \pm 2.39	25.79 \pm 1.33
BHT	49,09 \pm 0,76	72,63 \pm 2,06	88.73 \pm 0,89	94.00 \pm 0,31	94.97 \pm 0,08	95.38 \pm 0,41	95.02 \pm 0,23
ABTS⁺ (%Inhibition)							
HE	6.90 \pm 5.55	10.36 \pm 2.13	10.73 \pm 0.96	14.09 \pm 5.82	14.20 \pm 2.27	15.09 \pm 0.74	18.34 \pm 1.34
BHT	69.21 \pm 0,40	78.23 \pm 1,34	88.12 \pm 1,28	88,76 \pm 3,07	90.85 \pm 1,74	90.95 \pm 0,51	96.68 \pm 0.39
($\mu\text{g/ml}$)	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200
Pouvoir réducteur (Absorbance)							
HE	0.07 \pm 0.01	0.09 \pm 0.03	0.10 \pm 0.01	0.14 \pm 0.05	0.22 \pm 0.05	0.26 \pm 0.03	0.36 \pm 0.03
Acide Ascorbique	0,35 \pm 0,05	0,46 \pm 0,03	0,84 \pm 0,12	0,93 \pm 0,30	1,18 \pm 0,34	1,37 \pm 0,20	1,44 \pm 0,21

En comparant les résultats obtenus dans cette étude avec ceux du BHT, l'HE de *L. dentata* possède une faible activité antioxydante. Aucun virage de couleur n'a été détecté sur les puits des microplaques, cependant, une corrélation entre les concentrations utilisées et les pourcentages d'inhibition a été observée. Les tests de piégeage des radicaux libres (DPPH, l'ABTS⁺) et les pouvoir réducteur de fer, ont enregistré des valeurs de IC₅₀ et A0.5 (absorbance à A 0.5) élevés (>800µg/ml) (Tableau 14).

Tableau 14 concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres et absorbance A0.5 du fer

	HE	Standard
DPPH	>800	12.99±0.41
ABTS⁺	>800	1.29±0.3
pouvoir réducteur	>800	6.77±1.15

Ces résultats concordent avec ceux trouvés par El hassouni *et al.* (2017) et Mothana *et al.* (2012), qui ont évalué l'activité antioxydante de l'HE de *L. dentata* marocaine et Yemen respectivement, par le test de DPPH et l'ABTS⁺.

La faible activité antioxydante de l'HE peut être due principalement à sa teneur faible en antioxydant naturels tel que les composés phénoliques qui ont un fort pouvoir anti-radicalaire.

*Conclusion et
perspectives*

5- Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des substances bioactives grâce aux principes actifs qu'elles contiennent. En effets, des recherches scientifiques sont misent en point pour la découverte des agents naturels d'origine végétale, dotés d'activités biologiques et moins d'effets néfastes. Dans ce contexte, la présente étude porte sur l'extraction de l'HE de *L. dentata*, provenant de la région de Douaouda de la wilaya de Tipaza, en vue de son exploitation dans la prévention et le traitement de nombreuses maladies. Pour arriver à cet objectif, plusieurs axes ont été suivis.

Le rendement de production de l'HE de la plante *L. dentata* à partir de ses parties aériennes a été estimé à 0.4%. Il a été conclu de cette partie que la plante *L. dentata* est riche en HE.

La caractérisation organoleptiques et physicochimique a montré que l'HE extraite par hydrodistillation selon les normes de la Pharmacopée Européenne et l'AFNOR, est conforme et de bonne qualité. L'analyse chromatographique de cette huile par CPG/SM a permis d'identifier 18 composés dominés par 1,8-cinéole (41.84%) et la β -pinène (33.43%). L'évaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis les souches suivantes ; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimyrrium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*, en utilisant la méthode de diffusion sur gélose a démontré que les DZI varient entre 16.6 mm et 38.5 mm.

Il a été conclu de cette partie que l'HE, possède un pouvoir inhibiteur important vis-à-vis toutes les souches microbiennes testées.

L'exploration de l'activité antalgique *in vivo* sur des souris de race swiss par la méthode de Tail Flick en provoquant les douleurs par un analgésimètre, a montré également un effet analgésique intéressant contre les douleurs chez l'animal.

Parallèlement, l'exploitation de l'effet anticoagulant a présenté un allongement (varie de 6S à 21S pour le TP et 28.3S à 250S pour le TCK), il a été conclu de cette partie que, l'HE de *L. dentata* possède un pouvoir excellent de coagulation vis-à-vis les deux voies.

Il est intéressant de signaler que, ce travail est le premier à l'avoir mis en évidence l'activité antalgique et anticoagulante de l'HE de la plante *L. dentata*.

L'évaluation de l'activité enzymatique a révélé que l'HE de *L. dentata* est douée d'un pouvoir inhibiteur intéressant contre les enzymes α -amylase ($IC_{50}=135.08\pm 0.25\mu\text{g/ml}$) et butyrylcholinestérase ($IC_{50}= 125.34\pm 0.68\mu\text{g/ml}$).

Il a été conclu de cette partie que cette huile possède une activité anti-diabétique et anti-Alzheimer importante.

En revanche, l'évaluation de l'activité antioxydante par le piégeage des radicaux libres (DPPH, ABTS+) et le pouvoir réducteur du fer, a présenté une activité antioxydante faible de l'HE de *L. dentata*. (IC50>800µg/ml).

Au terme de ce travail, il a été conclu que l'HE de *L. dentata* joue un rôle très important dans le domaine de la biotechnologie et la biothérapie.

L'ensemble des résultats obtenus au fil de cette étude ne présente qu'une étape préliminaire dans la recherche. De ce fait, il est souhaitable d'enrichir et d'accomplir ce travail, par des études approfondies concernant plusieurs points, à savoir ;

- ✓ L'étude approfondie et complémentaires *in vivo* des activités étudiées (antidiabétique, anticoagulante, anti Alzheimer), ainsi que, l'étude des autres activités biologiques tel que l'activité anti-inflammatoire et anti-hémolytique.
- ✓ L'étude de la cytotoxicité de l'huile sur des lignes cellulaires afin de déterminer les concentrations requises non néfastes pour l'humain.
- ✓ La séparation et l'isolement des différents constituants de l'huile afin d'identifier les molécules responsables des propriétés biologiques.
- ✓ La recherche d'autres applications biotechnologiques de l'HE de *L. dentata*.

*Références
bibliographiques*

1. Abdelli, W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. [Thèse de doctorat]. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 178 p.
2. ADJADJ, M. (2016). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale *Paronychia argentea* L. [Thèse de doctorat]. Université Ferhat Abbas Sétif 1, 170p.
3. AFNOR, (2000). Association française de normalisation. Normes françaises : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.
4. Alaoui, K., Lagorge, JF., Cherrah, Y., Hassar, M., Amarouch, H. and Roquebert, J. (1998). Activité analgésique et anti-inflammatoire des saponines d'Argania spinosa. *Annale pharmaceutiques françaises* 56: 220-228.
5. Alatawi, K.A., Ravishankar, D.; Patra, P.H., Bye, A.P., Stainer, A.R., Patel, K., Widera, D. et Vaiyapuri, S. (2021). 1,8-Cineole Affects Agonists-Induced Platelet Activation, Thrombus Formation and Hemostasis. *Cells*, 10, 2616.
6. Ali-Dellile, L. (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. 3ème. Ed : BERTI.
7. Allam, N. (2017). Etude « omique » du phénomène inflammatoire associé à l'obésité. [Thèse de doctorat]. Université Laval, Québec, Canada, 192p.
8. Alloun, K. (2018). Composition Chimique et activités biologiques de métabolites secondaires de *Crithmum maritimum* L., de *Melissa officinalis* L. et de *Thymus pallescens* de Noé et effet de l'irradiation gamma sur les huiles essentielles du thym Ecole Nationale Supérieure Agronomique ; El-Harrach –Alger.
9. Aly, MM, Al-Ghamdi, M, Bafeel SO and Khedr AM. (2013). Antimicrobial Activities and Phytochemical Analysis of the Essential Oil of *Lavandula dentata* and *Plectranthus tenuiflorus*, Collected From Al Baha Region, Saudi Arabia. *Life Sci J* ; 10 (4) :3302-3309 (ISSN:1097-8135).
10. Amri, H. (2018). Extraction de l'huile essentielle de *Globularia alypum* L. Identification de ses constituants chimiques et étude de son activité antioxydante. [Thèse de doctorat]. Université Ahmed Benballah, Oran.
11. Athamena, S. (2020). Etude de l'activité biologique de *Juniperus thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides*. [Thèse de doctorat]. Université Mustapha Ben Boulaid-Batna 2.
12. Baba Aissa, F. (2011). Encyclopédie des plantes utiles, flore méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed: El Maarifa.

13. Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibjibijen, J. et Nassiri, L. (2016). Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : « *Lavandula stoechas L.* et *Lavandula dentata L.* ». European Scientific Journal 12 : 313-333.
14. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils- A review. Food Chem Toxicol. 2008 ; 46: 446-475.
15. Balasundram, N., Sundram, K. et Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chem 99 : 199-203.
16. Bédou, M.K.D. (2019). Evaluation De L'activité Inhibitrice Des Fruits De *Bauhinia Thonningii* (Fabaceae) Sur Deux Glycosidases Et Essai De Traitement Du Diabète Chez Le Rat Wistar. [Thèse doctorat]. Université Félix Houphouët- Boigny, Côte d'Ivoire.
17. Bellamine, K. (2017). La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques. [Thèse de doctorat]. Université Mohammed V Rabat, Maroc, 2017.
18. Bendjabeur, S. (2018). Etude phytochimique et activités biologiques des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Teucrium polium* subsp *capitatum*, *Thymus algeriensis* et *Ammoides verticillata*. [Thèse de doctorat]. Ecole Nationale Supérieure Agronomique EL-Harrach, Alger.
19. Bensakhria, A. (2018). Toxicologie Générale. Universidad Católica San Antonio de Murcia. Spain. Chapter 9: 82-83.
20. Bertella, A. (2019). Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris* et *Romarinus tournefortii*. [thèse de doctorat]. Université Ahmed ben Bella Oran 1.169p.
21. Bessah, R., Ben Youssef, E. H. (2015). La filière des huiles essentielles état de l'art, impact et enjeux socioéconomiques. Revue des énergies renouvelables. 18.(3), 513-528
22. Blois, M.S. (1958). Antioxydant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181) : 1119-1200.
23. Bonnafous, C. (2013). Traité scientifique AROMATHERAPIE : AROMATOLOGIE ET AROMACHOLOGIE. ed. Dangles p.89-94.
24. Bouazama, S., Harhar, H., Costa, J., Desjobert, J. M., Talbaoui, A. et Tabyaoui, M. (2017). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Lavandula pedunculata* and *Lavandula dentata*. JMES, 8 (6), pp. 2154-2160.

25. Boughendjioua, H. (2017). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* cultivées dans la région de Skikda, Algérie. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 86, p.88 – 95.
26. Bouhaddouda, N. (2016). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* [Thèse de doctorat]. Université Badji Mokhtar, Annaba.205p.
27. Boukeria, S., Benbott A., Kadi, K., Debbache, K., Gueniche, A. (2019). Etude phytochimique et évaluation de l'activité anticoagulante des composés phénoliques du curcuma longal. *revue des bioressources* 9(2) : 45-55.
28. Boukhatem, M. N., Ferhat, A. et Kameli A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. *Revue agrobiologia*. 9(2) : 1653-1659
29. Bounihi, A. (2016). Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées).[Thèse de doctorat]. Université Mohammed V, Rabat.
30. Bourahima, B., Donatien, B. C., Noël, D. D., Herman, W. B., Leslie, T. D., Romual D. S., Karamoko, O. (2021). Comparative study of the anticoagulant powers of the aqueous macerate, ethanolic macerate and aqueous decoction of the leaves of *Uvaria chamae* Beauv. (Annonaceae). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 11(2-s) : 82-88.
31. Boutefnouchet, S., Erwan, Poupon, E., Girard C., Thierry, H., Seguin, E. (2020). *Pharmacognosie : Obtention et propriétés des substances actives médicamenteuses d'origine naturelle*, Paris, Edition Elsevier Masson.
32. Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicinales*. 4eme Ed. Tec &Doc, Paris, 1288 p. Capetti, F., Cagliero, C., Marengo, A., Bicchi, C., Patrizia, R P.and Sgorbini P. (2020). Bio-Guided Fractionation Driven by In Vitro α -Amylase Inhibition Assays of Essential Oils Bearing Specialized Metabolites with Potential Hypoglycemic Activity.
33. Caputo, L., Piccialli, I. and Ciccone, R. (2021). Lavender and coriander essential oils and their main component linalool exert a protective effect against amyloid- β neurotoxicity. *Phytother Res*. 35(1) :486-493.
34. Chaib, F. (2018). Etude de quelques plantes sahariennes de Tamanrasset « El-Hoggar » : extraction, identification et activités biologiques des huiles essentielles. [Thèse de doctorat]. Université d'Oran 1.

35. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of
36. Chenni, M. (2016). Etude comparative de la composition chimique de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "Ocimum basilicum L." extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. [Thèse de doctorat]. Université d'Oran 1 Ahmed BenBella, Algérie.
37. Chouitah
38. Daouda, T. (2015). Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques et médicinales de côte d'ivoire. [Thèse de doctorat]. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, France.
39. Daroui-Mokaddem, H. (2012). etude phytochimique et biologique des espèces *eucalyptus globulus* (myrtaceae), *smyrnium olusatrum* (apiaceae), *asteriscus maritimus* et *chrysanthemum trifurcatum* (asterarceae). [Thèse de doctorat]. Université Badji Mokhtar-Annaba.
40. Debuigne, G. et Couplan, F. (2013). Le petit Larousse des plantes qui guérissent : 500 plantes et leurs remèdes.
41. Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. [Thèse de doctorat]. Université d'Aix-Marseille, France, 172p.
42. El Abed, D. et Kambouche, N. (2003). « Les huiles essentielles », Editions Dar El Gharab.
43. El Hassouni, A., El Bachiri, A., Belbachir, C. et Tahini, A. (2017). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential oil of *lavandula dentata* growing wild in morocco. *American journal of innovative research and applied sciences*.issn 2429-5396.
44. EL OMARI, N. (2022). Étude phytochimique et toxicologique et évaluation de l'activité antioxydante, antidiabétique et antibactérienne des racines d'*Aristolochia longa* L. [thèse de doctorat]. Université Mohammed V- Rabat,Maroc.
45. Essential oils from Bulgaria, *Scientia Pharmazeutica*, Vol. 66, 323-328. *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Product*.79 :274-283.
46. Figueredo. (2007). Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lami- aceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. [Thèse de doctorat]. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, Français.

47. Gelais, A.S. (11 aout 2014). Les analyses par GC – Partie II. Le détecteur à ionisation de flamme (FID). Laboratoire phytochemia. [Consulté le 22 avril 2022]. disponible sur : <https://phytochemia.com/fr/2014/08/11/les-analyses-par-gc-partie-ii-le-detecteur-a-ionisation-de-flamme-fid/>
48. Ghods, A. A., Abforosh, N. H., Ghorbani, R., et Asgari, M. R. (2015). *The effect of topical application of lavender essential oil on the intensity of pain caused by the insertion of dialysis needles in hemodialysis patients: A randomized clinical trial. Complementary Therapies in Medicine, 23(3),32 330.*
49. Giuliani, C., Bottoni, M., Ascrizzi, R., Milani, F., Papini, A., Flamini, G. et Fico, G. (2020). *Lavandula dentata l.* from Italy: analysis of trichomes and volatiles. Biodiversity. Chemistry & Biodiversity. 15 p.
50. Gourgari, E., Wilhelm, E. E., Hassanzadeh, H., Aroda, V. R., & Shoulson, I. (2017). A comprehensive review of the FDA-approved labels of diabetes drugs: Indications, safety, and emerging cardiovascular safety data. *Journal of Diabetes and its Complications, 31(12), 1719–1727.*
51. Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Arch Toxicol ; 86: 345–391*
52. Hajhashemi V., Ghannadi A., and Sharif B. (2003). Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill.,”*Journal of Ethnopharmacology*,vol. 89, pp. 67–71.
53. Hanif, M.A., Nisar, S., Khan, G.S., Mushtaq, Z., Zubair, M. (2019). Essential Oils. In: Malik, S. (eds) *Essential Oil Research*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_1
54. He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X. (2017). Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry. 44: 532-553.*
55. He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X. 2017. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry. 44: 532-553.*
56. Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., and Bobilya, D.J.,(2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*.Vol.13, p.p. 572-584.

57. Hellali N., Mahammed M.H., Ramdane F., Talli A. (2016). Antimicrobial and antioxidant activities of *Cytopogon schoenanthus* (L.) spreng essential oil, growing in Illizi – Algeria. *Journal of medicinal plant research*.10 :188-194.
58. Hesses, T. et Simoud, S. (2018). Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* sp. [Thèse de doctorat]. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 106 p.
59. Hui, L., Jingrui L., Hongtong B., Lei, S., Huafang, W. (2019). The complete chloroplast genome sequence of *Lavandula dentata* (Lamiaceae) and its phylogenetic analysis, *Mitochondrial DNA Part B* 4(2) : 2135-2136.
60. Hyldgaard, M., Mygind, T., and Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation : Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 12.
61. Ifrah N, Maynadié M(2018). *Hématologie*. 3e édition. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson. (Les référentiels des Collèges).
62. Imelouane, B, Elbachiri A, Ankit, M, Benzeid, H. et Khedid, K. (2009). Physico-chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *Int J Agric and Biol.*; 11(2): 113-118.
63. imelouaneaha, L., Atik, F., Tomi, F. et Casanova J. (2005). Advances in the Chemical Composition of *Lavandula dentata* L. Essential Oil from Algeria. *Journal of Essential Oil Research* 17(3) : 292-295.
64. Iserine, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage De Meux, A., Moulard, F., Zha, E., De La Roque R., De La Roque O., Vican P., Deelesalle -Feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth, J. et Botrel, A. (2001). *Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins*. 2ème édition de VUEF, Hong Kong : 335.
65. Ismaili R., Houbairi S., Lanouari S., Moustaid K., Lamiri A. (2017). Etude De L'Activité Antioxydante Des Huiles Essentielles De Plantes Aromatiques Et Médicinales Marocaines *European Scientific Journal* April 2017 edition Vol.13, No.12 ISSN: 1857 – 7881
66. Jeovetz L., Buchbauer, G., Stoyanova, A. and Metodiev, S. (2000). Seasonal depending variations of the composition and biological activities of Douglas fir (*Pseudo tsugamenzlesil*).
67. Kalam S., Singh R., Mani A., Patel J., Naem K.F. et Pandey A. (2012). Antioxidants: Elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal* 1:18-34.

68. Kaloustian, J., Hadji-Minaglou, F. (2012). La connaissance des huiles essentielles qualilogie et aromathérapie. Paris: Edition Springer
69. Kavitha, V.U., and limKandasubramanian, B.(2020). Tannins for wastewater treatment. SN Appl. Sci. 2, 1081 (2020). <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2879-9>
70. Khacheba, I., Djeridane, A., and Yousfi, M. (2014). Twenty Traditional Algerian Plants Used in Diabetes Therapy as Strong Inhibitors of α -Amylase Activity. International Journal of Carbohydrate Chemistry. p: 12.
71. Khouja, M.L. (2010). Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Jetswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. J. Sci. Food Agric, 90: 1745–1749.
72. Koba, K., Sanda, K., Raynaud C., Nenonene ,Y.A., Millet, J. et Chaumont J.P. (2004). Activités antimicrobiennes d’huiles essentielles de trois *Cymbopogon sp.* Africains vis-à-vis de germes pathogènes d’animaux de compagnie. *Annales de Médecine Vétérinaire.*, 148: 202-206.
73. Kunkele, U., et Lobmeyer, T.R. (2007). Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois. Edition parragon Books L tol : 33 _ 318.
74. Lacut, K, Deluc, A, Le Moigne, E, Mottier, D. (2008). Existe-t-il un lien entre la maladie artérielle athéromateuse et la maladie veineuse thromboembolique ? *mt* ; 14(1) : 32-36.
75. Laetitia, M.(2015). Utilisation des huiles essentielles chez l’enfant. [Thèse de Doctorat]. Université d’Auvergne
76. Laly, A.M. (2018). Bon Usage En Officine Des Huiles Essentielles A Propriétés Anticoagulantes. [Thèse doctorat]. Université Aix Marseille, France.
77. Laurent J., (2017).Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. (Thèse de doctorat). Université de Toulouse III, France, 225p.
78. Lazarin, A. et Couplan, F. (2010). Lavande : arômes et bienfaits, Paris, Éditions Sang de la terre (coll. « Les vertus des plantes »).
79. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduc,e D and Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging.* 13: 757–772.
80. Lim, T.K. (2014). *Lavandula dentata*. In *Edible Medicinal and Non-Medicinal plants* 8 :186-191.
81. Lis-Balchin, M. (Ed).(2002).*Lavander : the genus Lavandula*. CRC press.

82. Lopez, J. J., El Haouari, Jardin I., Alonso N., Regodon S., Diez-Bello S.,R., Redondo P. C. and Rosado, J. A. (2019), Flavonoids and platelet-derived thrombotic disorders, *Curr Med Chem*, 26, 7035-7047.
83. Lucchesi, M.E. (2006). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à L'extraction des Huiles Essentielles. [Thèse de Doctorat]. Université de la Réunion, France.147p.
84. Luís, A.A., Duarte, A., Gominho,b. J., Domingues,A. F and Paula-Duarte, A. (2016).Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of Eucalyptus globulus and Eucalyptus radiata essential oils. *Industrial Crops and Product*.79 :274-283.
85. Luís-A A., Duarte A., Gominho-b J., Domingues-A F and Paula-Duarte A. (2016).
86. Masyita, A., Sari R.M., Astuti A.D., Budiman Y., Rumata, N.R., Bin Emran, T., Nainu and F., Gandara J.S. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry*, 13, 100217
87. Maya-Enero, S., Fàbregas-Mitjans, M., Llufríu-Marquès, R.M. (2022). Analgesic effect of inhaled lavender essential oil for frenotomy in healthy neonates: a randomized clinical trial. *World J Pediatr* 18, 398–403.<https://doi.org/10.1007/s12519-022-005317>
88. Mayer, F. (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. [Thèse de doctorat]. Université de Lorraine.
89. Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Ben Lamine, S., Boukhchina, S., and
90. Meftah, A., (2016). Anémies hémolytiques auto immunes, anémies hémolytiques auto immunes. [Thèse de doctorat]. Université Mohammed V-Rabat.
91. Mnayer, D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Autre. Université d'Avignon.
92. Moghaddam, M., and Mehdizadeh, L. (2017). "Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents," in *Soft Chemistry and Food Fermentation, the Handbook of Food Bioengineering*, eds A. M. Grumezescu and A. M. Holban (Academic Press; Elsevier Amsterdam Inc.), 379–419.
93. Mothana, R.A., Alsaid, M.S., Hasoon, S.S., Al -Mosaiyb, N.M., Al -Rehaily, A.J., and Al-Yahya, M.A. (2012). Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga*

- bracteosa* Wall. Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. *J. Med. Plants Res*, 6: 3066-3071.
94. Moutaouakkil, Y., Adouani, B., Elcadi ; M., Bouklouze, A., Cherrah Y, Bousliman, Y., Eljaoud R. (2018). Les méthodes analytiques en toxicologie. *mt* ; 24 (5) : 336-41
doi:10.1684/met.2018.0723
95. Mukherjee, P. K., Kumarb, V., Mal, M., Houghton, P. J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14(4) :289-300.
96. Müller-Sepúlveda, A., Chevecich, C. C., Jara, J. A., Belmar, C., Sandoval, P., Meyer, R. S., ... Molina-Berríos, A. (2020). *Chemical Characterization of Lavandula dentata Essential Oil Cultivated in Chile and Its Antibiofilm Effect against Candida albicans. Planta Medica.*
97. Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. EMC - Stomatologie, 1(1), 21–29.
doi:10.1016/j.emcsto.2005.01.005.
98. N'dédianhoua, K., Soro1 K., Majdouli1., Khabbal Y Et Zaïr T. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula* species *L. dentata* L. ,*L. pedunculata* Mill and *Lavandula abrialis* essential oils from Morocco against foodborne and nosocomial pathogens *International Journal of Innovation and Applied Studies*.
99. Nedel, S., Branco, J., Boeck, C., & Ourique, Aline. (2020). Lavender as treatment of Alzheimer's disease: literature review. *International Journal for Innovation Education and Research*. 8. 481-491. 10.31686/ijier.vol8.iss12.2863
100. Nevers, P. (2017), *Sémiologie des altérations de l'état de santé*. 1^{er} édition ; édition De Boeck supérieur, ISBN 978-2-8073-0300-3.
101. Nur Aidha, N., Yunilawati, R. and Rumondang, I. (2020). Method Development for Analysis of Essential Oils Authenticity using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). In *Proceedings of the 2nd International Conference of Essential Oils (ICEO 2019)*, 41-46
102. Ouis, N. (2015). *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil*. [Thèse de doctorat]. Université Ahmed ben Bella Oran 1, Algérie. 239p.
103. Pellegrini, Re, R., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Events C. (1999). Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231-1237.
104. *Pharmacopée Européenne* 10^{ème} édition.

105. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D and Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-14.
106. Puvača, N., Milenković, J., Galonja, Coghill, T., Bursić, V., Petrović, A., Tanasković, S., Pelić, M., Ljubojević Pelić, D., & Miljković, T. (2021). Antimicrobial Activity of Selected Essential Oils against Selected Pathogenic Bacteria: In Vitro Study. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(5), 546.
107. Qneibi, M., Jaradat, N. A. et Zaid, A. N. (2018). Evaluation of taste, total phenols and antioxidant for fresh, roasted, shade dried and boiled leaves of edible arum palaestinum bioss. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 22(1) : 52–58.
108. Qneibi, M., Jaradat, N., Hawash, M., Zaid, A. N., Natsheh, A.-R., Yousef, R., & AbuHasan, Q. (2019). The Neuroprotective Role of *Origanum syriacum* L. and *Lavandula dentata* L. Essential Oils through Their Effects on AMPA Receptors. *BioMed Research International*, 1–11.
109. Rebey, B.I., Bourgou, S., Saidani Tounsi, M., Fauconnier, M.L. et Ksouri, R. (2017). Etude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des différents extraits de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*). *Journal of New Sciences Agriculture and Biotechnology* 39(2) : 2096-2105.
110. Rombi, M., Robert, D. (2015). Le dictionnaire des plantes médicinales. Ed : alpine.
111. Rudramurthy, G.R., Swamy M.K., Sinniah U.R., Ghasemzadeh A. (2016). Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*.21:7-8.
112. Schved, Jf.,(2015 Maladies hémorragiques constitutionnelles. *Revue du Praticien* ;). 5 : 613 – 617.
113. Scuteri, D., Morrone, LA. and Rombolà, L. (2017). Aromatherapy and Aromatic Plants for the Treatment of Behavioural and Psychological Symptoms of Dementia in Patients with Alzheimer's Disease : Clinical Evidence and Possible Mechanisms. *Evid Based Complement Alternat Med*.
114. Sebai1, H., Selmi, S., Rtibi, K., Souli, A., Gharbi1 N., M.(2013). Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Lipids in Health and Disease*, 12:189
115. Shobana, S., et Vidhya, R. (2016). Evaluation of *in vitro* hemolytic activity of different parts of *abutilon indicum* (Linn.).*World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5):1182–1196.

116. Shubha J. (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Lavandula stoechas* L. essential oil. 22. 188–193.
117. Silva-Flores, P. G., Pérez-López, L. A., Rivas-Galindo, V. M., Paniagua-Vega, D., Galindo-Rodríguez, S. A., et Álvarez-Román, R. (2019). Simultaneous GC-FID Quantification of Main Components of *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula dentata* Essential Oils in Polymeric Nanocapsules for Antioxidant Application. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2837406.
118. Stephane, F. F. Y., & Jules, B. K. J. (2020). Terpenoids as Important Bioactive Constituents of Essential Oils. In M. S. D. Oliveira, W. A. D. Costa, & S. G. Silva (Eds.), *Essential Oils - Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*. IntechOpen.
119. Stevanovic, Z. D., Sieniawska, E., Glowniak, K., Obradovic, N., & Pajic-Lijakovic, I. (2020). Natural Macromolecules as Carriers for Essential Oils: From Extraction to Biomedical Application. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8.
120. Stevens, N. et Allred, K. (2022). Antidiabetic Potential of Volatile Cinnamon Oil: A Review and Exploration of Mechanisms Using In Silico Molecular Docking Simulations. *Molecules*, 27, 853.
121. Triaux Z., (2019). Développement de méthodes d'extraction et d'analyse des molécules terpéniques à activité inflammatoire. [Thèse de doctorat]. Université Strasbourg. 280p.
122. Wichtl, M. et Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.
123. Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., And Kunz, W. (2016). Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chim*, 19: 754–765.
124. Zengin, G. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. Endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products* 53,244-251.
125. Zuzart, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Benzarti, A., Marongiu, B. et Salgueiro, L. (2013). Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula Stoechas* and *Thymus herba-barona*.

Abstract

Recent research is aimed at developing new biomolecules of plant origin for therapeutic purposes. In particular, essential oils have attracted considerable attention because of their role.

The objective of this study is the evaluation of the biological activities of the oil of the Algerian medicinal plant *Lavandula dentata* L. harvested from the region of Daouaouda city of Tipaza. The extraction of the essential oil of *L. dentata* by hydrodistillation provided a yield of about 0.4%. The analysis of organoleptic parameters (appearance, color and odor) and physicochemical namely; density, rotatory power, refractive index, saponification, peroxide, acid, ester, water content and pH following the methods established by the European Pharmacopoeia and AFNOR, have highlighted the compliance of EO to the required standards. The analysis by CPG/SM revealed 18 constituents, of which, the majority compounds are 1,8-cineole (41.48%) and β -pinene (33.43%). The analysis of organoleptic parameters (appearance, color and odor) and physicochemical namely; density, rotatory power, refractive index, saponification, peroxide, acid, ester, water content and pH following the methods established by the European Pharmacopoeia and AFNOR, have highlighted the compliance of EO to the required standards. The analysis by CPG/SM revealed 18 constituents, of which, the majority compounds are 1,8-cineole (41.48%) and β -pinene (33.43%).

The qualitative and quantitative evaluation (MIC) of the antimicrobial activity of EO, using the disc diffusion method against six bacterial strains (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, and *Staphylococcus epidermidis*) and two fungal strains (*Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*) was determined. The results obtained revealed that, EO has a great inhibitory action on the growth of all tested germs (DZI varies between 16.6 and 38.5 mm) and MIC comprised between 125 and 250 $\mu\text{l/ml}$. Moreover, the exploration of the analgesic activity in vivo showed a very significant analgesic effect with an estimated dose of 400 mg/kg. Moreover, the EO of *L. dentata* has an inhibitory effect towards the enzyme α -amylase ($\text{IC}_{50}=135.08\pm 0.25\mu\text{g/ml}$) and butyrylcholinesterase ($\text{IC}_{50}=125\pm 0.68\mu\text{g/ml}$), this shows that this oil has an important anti-Alzheimer and antidiabetic activity. At the same time, the exploitation of the anticoagulant activity by using chronometric tests (TP and TCK) revealed that, the EO exerts a very interesting anticoagulant power in a dose-dependent way towards the endogenous and exogenous pathway of the coagulation (TP: elongation varies from 6 S to 21 S, and TCK: elongation varies from 28.3 S to 250 S) However, a low antioxidant activity ($\text{IC}_{50}>800\mu\text{g/ml}$) has been demonstrated by three methods (DPPH, ABTS+ and reducing power).

Key words: Essential oil, *Lavandula dentata* L., GC/MS, Antimicrobial activity, Analgesic activity, Anticoagulant activity, Anti-Alzheimer activity, Antidiabetic activity, Antioxidant activity.

الملخص

تهدف الأبحاث الحديثة إلى تطوير جزيئات حيوية جديدة من أصل نباتي لأغراض علاجية. لا سيما الزيوت العطرية التي جذبت اهتمامًا كبيرًا بسبب دورها.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة البيولوجية للزيت العطري لنبتة طبية جزائرية *Lavandula dentata* L. المقطوفة من منطقة دواودة بولاية تيبازة. وقد وفر استخلاص الزيت العطري من *L. dentata* بالتقطير المائي عائدًا يقارب 0.4%؛ تحليل الخصائص الحسية (المظهر، اللون، الرائحة) والمؤشرات الفيزيوكيميائية وهي الكثافة، القوة الدوارة، مؤشر الانكسار، التصبن، البيروكسيد، الحمض، الإستر، المحتوى المائي وكذلك الرقم الهيدروجيني باتباع الطرق التي أسنها دستور الأدوية الأوروبي وAFNOR، جعلت من الممكن تسليط الضوء على امتثال الزيت الأساسي بالمعايير المطلوبة. كشف تحليل GC / MS عن 18 مكونًا حيث المركبات الرئيسية منها هي سينول بنسبة 41.48% وبيتا-بينين بنسبة 33.43%. التقييم النوعي والكمي للنشاط المضاد للميكروبات للزيت الأساسي، باستخدام طريقة انتشار القرص على 6 سلالات بكتيرية إيجابية وسلبية الجرام و2 سلالات فطرية. أظهرت النتائج أن الزيت الأساسي له تأثير مثبط كبير على نمو جميع الجراثيم المختبرة (DZI يتراوح بين 16.6 و38.5 ملم، CMI بين 125 و250 ميكرو لتر / مل). بالإضافة إلى ذلك، أظهر استكشاف نشاط المسكن في الجسم الحي تأثيرًا مسكنًا مهمًا جدًا بجرعة 400 مجم / كجم. بالإضافة إلى ذلك، فإن EO الخاص بـ *L. dentata* له تأثير مثبط ضد إنزيم α -amylase (IC50 = 53.2 ميكروغرام / مل) وbutyrylcholinesterase (IC50 = 125 ميكروغرام / مل)، وهذا يدل على أن هذا الزيت له تأثير كبير مضاد للزهايمر ومضاد. - نشاط السكر. في الوقت نفسه، كشف استغلال النشاط المضاد للتخثر باستخدام اختبارات الكرونومتر (PT وTCK) أن EO يمارس قوة مثيرة جدًا للتخثر بطريقة تعتمد على الجرعة مقابل مسار التخثر الداخلي والخارجي (TP: استتالة) يختلف من S 6 إلى S 21، TCK: الاستتالة تختلف من S 28.3 إلى S 250). ومع ذلك، تم إثبات نشاط مضاد للأكسدة ضعيف (IC50 > 800 ميكروغرام / مل) من خلال ثلاث طرق (DPPH و ABTS + وتقليل الطاقة).

الكلمات المفتاحية: زيت عطري، *Lavandula dentata* L، GC / MS، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مسكن، نشاط مضاد للتخثر، نشاط مضاد للزهايمر، نشاط مضاد لمرض السكر، نشاط مضاد للأكسدة.

Annexes

Annexe 1 :

Activité antimicrobienne

Préparation des milieux de culture (pour 1 L d'eau distillée) :

1. Gélose tryptone soja (TSA)

- Peptone trypsique de caséine (15g) ;
- Peptone papainique de soja (5g) ;
- Chlorure de sodium (5g) ;
- Agar (15g).

2. Sabouraud

- Glucose (20g) ;
- Peptone (10g) ;
- Agar (15g).

Annexe 2

Activité anti-Alzheimer

2.1- solution tampon :

1- 1.56 g de NaH_2PO_4 + 100 ml H_2O → V1

2- 8.890 g de Na_2HPO_4 + 500 ml H_2O → V2

3- V1 + V2 → solution tampon comme le montre le tableau ci-dessous ; ajuster le pH avec du NaOH

pH	5.8	6.2	6.4	6.6	6.8	7	7.2	7.4	7.6	7.8	8
NaH_2PO_4	92	81.5	73.5	62.5	51	39	28	19	13	8.5	5.3
Na_2HPO_4	8	18.5	26.5	37.5	49	61	72	81	87	91.5	94.5

2.1- solution de butyrylcholinestérase

- Dissoudre 0.2 mg de butyrylcholinestérase dans 1 ml du tampon (pH=8) → solution mère ;
- Aliquoter chaque 20 μl de la solution mère d'enzyme dans un eppendorf ;
- Conserver les eppendorfs dans le congélateur à -20°C ;
- Pour le test, diluer un eppendorf dans 2 ml de tampon (pH=8) ;
- Contrôler l'absorbance à 412 nm (elle doit être comprise entre 0.4 et 0.5).

2.2- solution d'acide 5,5'-dithiobis (acide 2-nitro-benzoïque) (DTNB)

- 16 mg DTNB + 1 ml tampon (pH=7) → Solution A ;
- 7.5 mg de bicarbonate de sodium + 1 ml tampon (pH=7) → Solution B ;
- Solution A + Solution B + 2 ml tampon (pH=7) + 4 ml tampon (pH=8) → volume total 8 ml.

2.3- solution d'iodure de butyrylthiocholine

- Dissoudre 4 mg d'iodure de butyrylthiocholine dans 4 ml d'eau, puis ajouter 4ml du tampon (pH=8).

Annexe 3

Activité antidiabétique

3.1- solution d' α amylase

Dissoudre 1 mg de l' α -amylase dans 10 ml du tampon (pH=6.9) → solution mère ;

Aliquoter chaque 1 ml de solution mère d'enzyme dans un eppendorf ;

Conserver les eppendorfs dans le congélateur à -20°C ;

Pour le test, diluer un eppendorf dans 9 ml du tampon.

3.2- solution d'amidon 0.1%

Dissoudre 0.1 mg d'amidon dans 100 ml d'eau distillée dans microonde à plusieurs cycles de 15 sec jusqu'à dissolution totale.

3.2- solution d'IKI

Dissoudre 3 g d'iodure de potassium (KI) dans 100 ml d'eau ; puis ajouter 127 mg d'iode et agiter le mélange jusqu'à la dissolution complète

Annexe 4

Activité antioxydante

4.1- solution de DPPH (6%)

- Dissoudre 6 mg de DPPH dans 100 ml du méthanol ;
- Vérifier l'absorbance à 517 nm (elle doit être comprise entre 0.4 et 0.5) ;
- Conserver la solution à -20°C et à l'abri de la lumière.

4.2- solution d'ABTS⁺

- Mélanger 7 mM d'ABTS⁺ dans l'eau avec 2.45 mM de persulfate de potassium.
- Conserver la solution à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 12 H avant l'utilisation pour que la solution se stabilise ;
- Vérifier l'absorbance à 734 nm (elle doit être comprise entre 0.6 et 0.7) avant l'utilisation.

4.3- potassium ferricyanide (1%)

- dissoudre 1 g $K_3Fe(CN)_6$ dans 100 ml H_2O .

4.4- acide tri-chloro acétique (TCA) (10%)

- Mettre 1 g de TCA dans 10 ml d' H_2O .

4.5- chlorure de fer ($FeCl_3$) (0.1%)

- Mélanger 0.1 g de $FeCl_3$ avec 100 ml H_2O .

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BERRABAH Hadil
RECHACHI Aicha

Évaluation des activités biologiques de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L. en vue de son application en biothérapie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Biothérapie

Des recherches récentes visent à développer de nouvelles biomolécules d'origine végétale à des fins thérapeutiques. Notamment, les huiles essentielles qui ont attiré une attention considérable en raison de leur rôle.

L'objectif de cette étude est l'évaluation des activités biologiques de l'huile de la plante médicinale algérienne *Lavandula dentata* L. récoltée de la région de Douaouda wilaya de Tipaza. L'extraction de l'huile essentielle de *L. dentata* par hydrodistillation a fourni un rendement de l'ordre de 0.4%. L'analyse des paramètres organoleptiques (aspect, couleur et odeur) et physico-chimiques à savoir ; la densité, le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, de saponification, de peroxyde, d'acide, d'ester, la teneur en eau ainsi que le pH en suivant les méthodes établies par la Pharmacopée Européenne et l'AFNOR, ont permis de mettre en évidence la conformité de l'HE aux normes exigées. L'analyse par CPG/SM a révélé 18 constituants, dont, les composés majoritaires sont 1,8-cinéole (41.48%) et β -pinène (33.43%). L'évaluation qualitative et quantitative (CMI) de l'activité antimicrobienne de l'HE, utilisant la méthode de diffusion par disques vis-à-vis- six souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, et *Staphylococcus epidermidis*) et deux souches fongiques (*Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*) a été déterminée. Les résultats obtenus ont révélé que, l'HE possède une grande action inhibitrice sur la croissance de tous les germes testés (DZI varie entre 16.6 et 38.5 mm) et CMI comprise entre 125 et 250 μ l/ml. De plus, l'exploration de l'activité antalgique *in vivo* a montré un effet analgésique très significatif avec une dose estimée à 400 mg/kg. Par ailleurs, l'HE de *L. dentata* possède un effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme α -amylase ($IC_{50}= 135.08\pm 0.25\mu$ g/ml) et butyrylcholinestérase ($IC_{50}=125.34\pm 0.68\mu$ g/ml), cela montre que cette huile a une activité anti-Alzheimer et antidiabétique importante. Parallèlement, l'exploitation de l'activité anticoagulante en utilisant des tests chronométriques (TP et TCK) a révélé que, l'HE exerce un pouvoir anticoagulant très intéressant de manière dose-dépendante vis-à-vis la voie endogène et exogène de la coagulation (TP : allongement varie de 6S à 21 S, et TCK : allongement varie de 28.3 S à 250 S). Cependant, une faible activité antioxydante ($IC_{50}>800 \mu$ g/ml) a été démontrée par trois méthodes (DPPH, ABTS+ et le pouvoir réducteur).

Mots-clés : Huile essentielle, *Lavandula dentata* L., CPG/SM, Activité antimicrobienne, Activité antalgique, Activité anticoagulante, activité anti-Alzheimer, Activité antidiabétique, Activité antioxydante.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'activité Microbienne (LaMyBAM), Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Encadreur : Dr. KARA ALI Mounira (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Dr. BELLIL Inès (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Dr. BOULAHBAL Bilel (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).