

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 مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saïda



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

En Sciences biologiques

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Thème

## **Le profil phénolique et activité biologique des huiles essentielles et des extraits d'*Artemisia absinthium*, *Mentha pulegium* et *Marrubium vulgare* de la région de Saïda**

Présenté par :

DIF Ikram

BOUTALEB Maroua Rajaa

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président

Mr. AMMAM Abdelkader

Université de Saïda.

Examinateur

Mme. HASSANI Maya

Université de Saïda.

Rapporteur

Dr. GHOUTI Dalila

Univarsité de Saïda.

**Année universitaire 2022/2023**

# *Remerciements*

En tout premier lieu, je remercie le bon dieu, tout puissant de m'avoir donné la force et l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

J'ai l'honneur d'exprimer mes reconnaissances et profondes gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et plus particulièrement

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre Promotrice **Dr.GHOUTI.D** qui a bien voulu diriger ce travail et qui n'a cessé de nous orienter. Nous nous permettons de lui exprimer nos sincères remerciements pour sa disponibilité, ses précieux conseils qu'elle nous prodigué et pour son aide durant toute la période d'élaboration de ce travail. Profondément Merci.

Un grand remerciement aux honorables membres de jury :

**Mr AMMAM Abdelkader** ,d'avoir accepté le président du jury de notre Mémoire et, **Me HASSANI Maya** d'avoir accepté d'être l'examineur de notre travail.

un grand merci au responsable de laboratoire de l'Université de Saïda  
« Mr.HAMAD Ahmed » pour leur aide précieuse durant la réalisation de notre travail.

Finalement, il nous est agréable d'adresser nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

# *Dédicace*

*A mon très cher père Berrezoug Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*A ma mère Nacera , pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est grâce à vous MES CHÈRES PARENTS que Dieu vous garde.*

*A mes frères Slïmane et Kader*

*A ma petite sœur Kaouther*

*A ma copine : Maroua*

*A toutes ma famille*

**IKRAM**

# *Dédicace*

*A mon très cher père **Mustapha** Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*A ma mère **Fatima** pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est grâce à vous **MES CHÈRES PARENTS** que Dieu vous garde.*

*A mon marié : **Billal** pour son encouragement et sa disponibilité .*

*A mon frère **Khalil***

*A mes sœurs **Sarah** et **Manel***

*A ma copine : **Ikram***

*A ma belle mère*

*A toute ma famille*

***Maroua***

## *Liste des abréviations*

**HE** : huile essentielle

**Mm** : millimètre

**Mg** : milligramme

**MI** : millilitre

**µl** : microlitre

**AAR** : activité antiradicalaire

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**CMB** : concentration minimale bactericide

**DMSO** : diméthylsulfoxyde

**DPPH** :Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

**HCl** :Le chlorure d'hydrogène

**NaCl** : le chlorure de sodium

**%** : pourcentage

**°C** : degré Celsius

**CAT** : capacité antioxydant totale

**nm** : nanomètre

**EAA** : Equivalent acide ascorbique

**MS** : matière sèche

**IC50** :concentration inhibitrice médiane

**GN** : gélose nutritive

**BN** : bouillon nutritive

**PDA** : Potato dextrose agar

**MH** : Muller hinton

**DO** : densité optique

## *Liste des abréviations*

**MgEAG/gms** : milligramme equivalent acide gallique par gramme de matiere seche

**Ex AQ** : extrait aqueux

**Ex ETH** : extrait ethanolique

## Liste Des Tableaux

**Tableau 01** : les souches utilisées

**Tableau 02** : les tests phytochimiques de

**Tableau 03** : les valeurs de capacités antioxydante totale CAT des plantes étudiées

**Tableau 04** : diamètre d'inhibition des souche testées .

**Tableau 05** : degrés de sensibilité des souches

**Tableau 06** : résultatsd'antibiogramme

**Tableau 07** : les différents concentration minimale inhibitrice CMI des huiles et extraits

## Liste Des Figures

**Figure 01** : hydrodistillation simple

**Figure 02** : distillation a la vapeur

**Figure 03** : hydrodifusion

**Figure 04** :Manthe pulegium L

**Figure 05** : structure des coumarines

**Figure 06** : squelette de base des flavonoïdes

**Figure 07** : structure des principaux anthocyanes

**Figure 08** : structure d'alcaloïde

**Figure 09** : situation de la région de Saida

**Figure 10** : réaction de donneur dihydrogène de piégeage des radicaux libres DPPH

**Figure 11** : rendement des huiles essentielles et des extraits

**Figure 12** : la courbe détalonnage d'acide gallique

**Figure 13** : les valeurs d'IC50 de piégeage de radical libre DPPH

**Figure 14** : les valeurs d'IC50 de test d'inhibition de \* amylase des plantes

## Liste Des Photos

**Photos 01 :** *Artemisia absinthium* L

**Photos 02 :** *Mentha pulegium* L

**Photos 03 :** *Marrubium vulgare* L

**Photos 04 :** les plantes étudiées après le séchage

**Photos 05 :** montage d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles

**Photos 06 :** décoction de matériel végétale

**Photos 07 :** macération de l'extrait aqueux

**Photos 08 :** macération de l'extrait éthanolique

**Photos 09 :** le dosage de l'activité antioxydante totale

**Photos 10 :** réduction de piégeage de radical libre DPPH

**Photos 11 :** dosage de l'activité antidiabétique

**Photos 12 :** repiquage des souches

**Photos 13 :** encensement et préparation des disques

**Photos 14 :** Détermination de CMI par la méthode de micro-dilution.

**Photos 15 :** résultats des souches bactériennes testées pour l'huile essentielle *d'Artemisia absinthium*.

**Photos 16 :** résultats des souches bactériennes testées pour l'huile essentielle *Mentha pulegium* L

**Photos 17 :** résultats des souches bactériennes testées pour l'huile essentielle extrait éthanolique *Marrubium vulgare* L

**Photos 18 :** résultats des souches bactériennes testées pour l'huile essentielle *extrait aqueux* *Marrubium vulgare* L

**Photos 19 :** résultats de la CMB de l'huile de *Manyhe pulegium* L.

**Photo 20 :** résultats de la CMB de l'huile. *d'Artemisia absinthium* L.

## Liste Des Photos

**Photo 21** : résultats des souches fongiques testés pour l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare*L

**Photo 22** : résultats des souches fongiques testés pour l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare*L

**Photo 23** : résultats antibiogramme.

**Photo 24** : résultats de la CMB de l'huile d'*Artemisia absinthium* .

**Photo 25** : résultats de la CMB de huile *Manthe pulegum* L

**Photo 26** : résultats de la CMB d'extrait éthanolique *Marrubium vulgare* L

**Photo 27** : résultats de la CMB d'extrait aqueux *Marrubium vulgare* L

## Résumé

Dans cette étude, notre choix s'est porté sur trois plantes médicinales poussent spontanément dans la région de Saida à savoir : *Artemisia absinthium*L, *Mentha pulegium*.L et *Marrubium Vulgare* L , possèdent des métabolites reconnus à travers diverses activités biologiques telles que l'activité antioxydant, antidiabétique, antibactérienne et antifongique.

Les tests phytochimiques ont montrés la richesse de ces plantes en flavonoïdes, tannins ,stérol et triterpènes , comme on note la présence de l'amidon chez *Mentha pulegium*.L et *Marrubium Vulgare* L,et l'absence totale des composés réducteurs au niveau des trois plantes étudiées, l'activité antioxydane des huiles essentielles et des extraits est évalué le test de piégeage des radicaux libres DPPH .l'huile essentielle de *d'Artemisia absinthium* montré une activité antioxydante élevée avec un IC50=1.08 mg/ml suivi par celles d'huile essentielle de *Mentha pulegium* L avec un IC50=1.67mg/ml , et par suite une valeur acceptable de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L avec un IC50= 2.59mg/ml et IC50 =2.89mg/ml respectivement ,et ont des propriétés antioxydantes (CAT) intéressantes .la plus grande capacité antioxydante totale (0.3.mgEAG/g MS) ,ont été obtenus pour l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* L ,l'activité antidiabétique in vitro , montre que l'huile essentielle la plus active et celle *d'Artemisia absinthium* L avec un IC50= 0.52mg .EA .g-1 .HE .

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits des plantes étudiées évaluées par la technique de diffusion sur la gélose vis-à-vis 6 souches microbiennes, donne des résultats qui suggèrent que les souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* avec une CMI allant de 0.14 à 0.01 mg / mL et, *penicillium notatum*, *Aspergillus niger* pour huile essentielle *d'Artemisia absinthium* Alors qu' huile essentielle de *Mentha pulegium* L les souches *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* avec une CMI (0.072mg/ml à 0.01mg/ml) et *penicillium notatum*, *Aspergillus niger* et ,concernant les extraits de *Marrubium vulgare* L a une faible activité contre tous les souches testées avec un CMI entre (0.31mg/ml à 0.03mg/ml) ,Tandis que la meilleure activité de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L agir contre toutes les souches testés

Le résultat de test du CMB a permis de conclure que l'efficacité des huiles essentielles et des extraits des trois plantes contre les quatre souches bactériennes étudiées été bactériostatique.

**Mot-clés :** *Artemisia absinthium*L, *Mentha pulegium* L, *Marrubium vulgare* L, tests phytochimique , activité antioxydant , activité antidiabétique , activité antimicrobienne, huile essentielle.

في هذه الدراسة اخترنا ثلاثة نباتات تنمو في منطقة سعيدة وهي فليوا. شيبية. مروية

، تمتلك مستقلبات تم التعرف عليها من خلال أنشطة بيولوجية مختلفة مثل نشاط مضادات الأكسدة ومضادات السكر ومضاد للبكتيريا والجراثيم. مضاد للفطريات .

وقد أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية ثراء هذه النباتات في مركبات الفلافونويد والعفص والستيرول والتريتربين ، حيث نلاحظ وجود النشا في النعناع البري وماروبيوم فولجار إل ، والغياب التام للمركبات المختزلة على مستوى النباتات الثلاثة المدروسة ، يتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت والمستخلصات الأساسية من خلال اختبار أظهر الزيت الأساسي من مادة الأرتيميسيا الأفسنتيوم نشاطاً عالياً لمضادات الأكسدة مع DPPH. إزالة الجذور الحرة ، وبالتالي قيمة مقبولة  $IC_{50} = 1.67mg / ml$  مع L مع  $IC_{50} = 1.08$  تركيز ، وبالتالي قيمة مقبولة  $IC_{50} = 2.59mg / ml$  مع Marrubium vulgar L للمستخلص المائي والمستخلص الإيثانولي من تم الحصول على أكبر سعة إجمالية (CAT) على التوالي ، ولها خصائص مضادة للأكسدة مثيرة للاهتمام  $2.89mg / ml$  ، النشاط المضاد Marrubium vulgar L للمستخلص المائي من (DM لمضادات الأكسدة (0.3 ملليجرام / جرام ،  $IC_{50} = 0.52mg . EA .g^{-1} .HE$  مع Artemisia absinthium L للبكتيريا في المختبر ، يوضح أن الزيت العطري الأكثر نشاطاً هو زيت

النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية ومستخلصات النباتات المدروسة ، المقيم بتقنية الانتشار على أجار ، Staphylococcus aureus ، Escherichia coli مقابل 6 سلالات ميكروبية ، يعطي نتائج تشير إلى أن سلالات تتراوح من 0.14 إلى 0.01 مجم / مل و ، MIC مع Pseudomonas aeruginosa ، Lysteria monocytogenes ، وفيما يتعلق بمستخلصات لها نشاط ضعيف (0.01 إلى 0.072mg / ml) مع Escherichia coli ، وبينما كان MIC لنبتة الشيبية ضد جميع السلالات التي تم اختبارها باستخدام بين (0.31 مجم / مل إلى 0.03 مجم / مل) ، بينما كان MIC لنبتة الشيبية ضد جميع السلالات التي تم اختبارها باستخدام للعمل ضد جميع السلالات المختبرة L أفضل نشاط للزيت العطري من النعناع البري

إلى أن فعالية الزيوت الأساسية ومستخلصات النباتات الثلاثة ضد السلالات البكتيرية CMB خلصت نتيجة اختبار الأربعة المدروسة كان مقاومة للبكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** فليوا. شيبية. مروية. نشاط مضاد الأكسدة. نشاط مضاد السكر. نشاط مضاد الميكروبات زيت عطور .

## **Abstract**

In this study, we chose three medicinal plants that grow spontaneously in the Saida region: *Artemisia absinthium* L, *Mentha pulegium* L and *Marrubium Vulgare* L have metabolites recognised for their various biological activities, including antioxidant, antidiabetic, antibacterial and antifungal activity.

Phytochemical tests have shown these plants to be rich in flavonoids, tannins, sterols and triterpenes, and *Mentha pulegium*. The antioxidant activity of the essential oils and extracts was assessed using the DPPH free radical scavenging test. The essential oil of *Artemisia absinthium* L showed a high antioxidant activity with an  $IC_{50}=1.08$  mg/ml followed by that of *Mentha pulegium* L essential oil with an  $IC_{50}=1.67$ mg/ml, and consequently an acceptable value for the aqueous extract and ethanolic extract of *Marrubium vulgare* L with an  $IC_{50}=2.59$ mg/ml and  $IC_{50}=2.89$ mg/ml respectively, and have interesting antioxidant properties (CAT). The highest total antioxidant capacity (0.3 mgEAG/g MS), were obtained for the aqueous extract of *Marrubium vulgare* L, the antidiabetic activity in vitro, shows that the most active essential oil and that of *Artemisia absinthium* L with an  $IC_{50}=0.52$ mg .EA .g<sup>-1</sup> .HE.

The antimicrobial activity of the essential oils and plant extracts studied, assessed using the agar diffusion technique against 6 microbial strains, gave results suggesting that the strains *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* with MIC ranging from 0.14 to 0.01 mg / mL and, *penicillium notatum* ,*Aspergillus niger* for essential oil of *Artemisia absinthium* Whereas essential oil of *Mentha pulegium* L strains *Listeria monocytogenes* , *Pseudomonas aeruginosa* ,*Escherichia* *Aspergillus niger*, with a MIC (0.072mg/ml to 0.01mg/ml) ,concerning the extracts of *Marrubium vulgare* L has a weak activity against all the tested strains with a MIC between (0.31mg/ml to 0.03mg/ml) ,While the best activity of the essential oil of *Mentha pulegium* L act against all the tested strains.

The results of the CMB test led to the conclusion that the essential oils of the two plants were bacteriostatic against the four bacterial strains studied.

**Key words:** *Artemisia absinthium* L , *Mentha pulegium* L, *Marrubium vulgare* L , phytochemical tests , antioxidant activity , anti-diabetic activity , antimicrobial activity, essential oil.

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Partie bibliographique

Chapitre I :

*I.les huiles essentielles*

I.1.définition.....	1
I.2.localisation et rôle physiologique pour la plante .....	1
I.3.composition chimique des huiles essentielles .....	2
I.4.les propriétés physicochimique des huiles essentielles.....	3
I.5.les méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	4
I.6.les mécanismes d'action des huiles essentielles.....	6
I.7.la toxicité des huiles essentielles .....	7

Chapitre II :

*Les plantes étudiées*

II.1.Artemisia absinthium.....	9
II.1.1.généralité.....	9
II.1.2.systematique de la plante.....	10
II.1.3.description botanique de la plante.....	10

## Table des matière

II.1.4. caractéristique morphologique.....	10
II.1.5.distribution géographique et habitat.....	11
II.1.6.composition chimique d'Artemisia absinthium L.....	11
II.1.7.l'utilisation de la plante .....	12
II 2. Mentha pulegium L.....	13
II.2.1.généralité .....	13
II.2.2.systématique de la plante.....	13
II.2.3.description botanique de la plante.....	13
II.2.4.distribution géographique et habitat.....	14
II.2.5.caractéristique morphologique.....	14
II.2.6.composition chimique de Mentha pulegium L.....	14
II.2.7.l'utilisation de la plante.....	14
II.3.Marrubium vulgare L.....	15
II.3.1.généralité.....	15
II.3.2.systématique de la plante.....	15
II.3.3.description botanique de la plante .....	15
II.3.4.distribution géographique et habitat .....	16
II.3.5.caractéristique morphologique .....	16
II.3.6.composition chimique de Marrubium vulgare L .....	17
II.3.7.l'utilisation de la plante .....	17

### chapitre III :

#### *III.le profile phénolique*

III.1.les composés phénoliques.....	20
III.1.1.generalité .....	20
III.1.2.les principes classes des composés phénoliques .....	20

## Table des matière

III.1.2.1.les acides phénoliques.....	20
III.1.2.1.a. propriété physicochimique des acides phénoliques .....	20
III.1.2.2.les coumarines .....	21
III.1.2.2.a .propriété physicochimique des coumarines.....	21
III.1.2.3.les flavonoïdes .....	21
III.1.2.3.a. propriété physicochimique des flavonoïdes .....	22
III.1.2.3.b .solubilité et l'extraction .....	22
III.1.2.3.c. le dosage .....	22
III.1.2.3.d .interet biologique des flavonoides.....	22
III.1.3.les terpènes et stéroïdes.....	22
III.1.4.Anthocynes.....	23
III.1.5.Tanins .....	23
III.1.5.1.Tanins hydrolysables .....	23
III.1.5.2.Tanins condensés.....	24
III.1.6.Les alcaloïdes.....	24
III.2.pncipales potentialités biologique des composés phénolique.....	24
III.2.1.Activité antioxydante .....	24
III.2.2.Activité antimicrobienne .....	26
III.2.3.Activité antivirale .....	27
III.2.4.Activité antiseptique .....	28
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre IV : matériel et méthodes</b>	
IV.1.introduction.....	31
IV.2.objectif .....	31
IV.3.matérielvégétal.....	31

## Table des matière

IV.4.Les procédures d'extraction .....	32
IV.4.1.Extraction des huiles essentielles.....	33
IV.4.2.Préparation des extra.....	34
IV.5.Screening phytochimique.....	34
IV.5.1.Lesflavonoïdes.....	35
IV.5.2.Les tanins.....	35
IV.5.3.Les coumarines.....	35
IV.5.4.Les composés réducteurs .....	35
IV.5.5.Les saposides.....	35
IV.5.6.Amidon .....	35
IV.5.7.Anthocynes .....	35
IV.5.8.Alcaloïdes.....	35
IV.5.9.Stérols et triterpènes.....	36
IV.6.Evaluation de l'activité antioxydante : .....	36
IV.6.1.Activité de capacité antioxydante totale (CAT).....	36
IV.6.2.Activité de piégeage des radicaux libres DPPH.....	37
IV.7.Evaluation de l'activité antidiabétique .....	39
IV.8.Evaluation de l'activité antimicrobiennes.....	39
IV.8.1.Matériel biologique.....	40
IV.8.2.Repiquage des souches.....	40
IV.8.3.Choix des milieux de culture.....	41
IV.8.4.Préparation de l'inoculum.....	41
IV.8.5.Préparation des disques.....	41
IV.8.6.Ensemencement .....	42
IV.8.7.Lecture .....	42

## Table des matière

IV.9.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	43
<b>Chapitre V : résultats et discussion</b>	
<b>V. profile phénolique et activités biologiques in vitro de l'huile essentielle et des extraits des plantes étudiées</b>	
V.1.Les tests phytochimiques d' <i>Artemisia absinthium L</i> , <i>Mentha pulegium L</i> et <i>Marrubium vulgare L</i> .....	48
V.2. Rendements des huiles essentielles et des extraits.....	50
VI. Les activités biologiques des plantes étudiées.....	51
VI .1. Activité antioxydante.....	51
VI .1.1. Capacité antioxydante totale (CAT).....	52
VI.1.2. test de piégeage du DPPH .....	53
VI.2.activité antidiabétique .....	54
VI.3.activité antimicrobienne .....	56
VI.3.1.activité antibactérienne .....	58
VI.3.2.activité antifongique .....	60
VI.4.determination de la concentration minimale inhibitrice.....	65
VI.5.détermination de la CMB .....	67
Conclusion .....	70
Références bibliographiques.....	72
Annexes .	

# *Introduction générale*

## **Introduction :**

Pendant longtemps, les plantes médicinales ont été une source inépuisable de médicaments pour les tradipraticiens pour guérir certaines pathologies souvent mortelles sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. Actuellement, l'ethnopharmacologie s'emploie à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques.

Ces plantes médicinales sont reconnues pour leurs effets thérapeutiques et leurs caractéristiques biologiques, sous leur forme originale ou semi-synthétique, en raison de leur capacité à produire un grand nombre de métabolites secondaires (Fraga, 2007) parmi eux les terpénoïdes, les flavonoïdes et les composés phénoliques. (Chaouche et al., 2014).

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse, généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides, sont suspectés d'avoir des effets néfastes sur la santé du consommateur (Albayrak et al., 2010). De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants à la plupart des antibiotiques (Falconer et al., 2009).

C'est dans le cadre de valorisation du patrimoine naturel, que le présent travail s'inscrit sur un screening phytochimique des plantes choisies. Les activités biologique, en l'occurrence l'activité antimicrobienne, antioxydante, anti-diabétique des extraits et des huiles essentielles sont également étudiées. L'Algérie par sa situation géographique dispose d'une grande diversité floristique, à laquelle s'ajoute une tradition d'utilisation de la thérapie traditionnelle, en utilisant les plantes médicinales. Avec un nombre de 300 000 espèces végétales recensées, on estime que seules 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, dont 6% pour leurs activités biologiques (Verpoorte, 2002). De cette flore, notre choix s'est porté sur trois plantes *Artemisia absinthium* L., *Mentha pulegium* L. et *Marrubium vulgare* L. de la région de l'ouest d'Algérie (la wilaya de Saida).

Le plan de notre travail est structuré comme suite :

- Une introduction générale dans laquelle la problématique est posée.
- Les trois premiers chapitres abordent une étude bibliographique qui donne des approches sur : les huiles essentielles, les plantes étudiées, les activités biologiques et les composés phénoliques.
- Le quatrième chapitre est réservé à l'étude expérimentale où le matériel utilisé est cité et les méthodes opératoires sont décrites.
- Dans le cinquième chapitre, tous les résultats expérimentaux sont présentés et discutés.

Enfin, cette étude s'achève par une conclusion générale et des perspectives pour le futur.

## *Partie bibliographique*

# *Chapitre I : Les Huiles Essentielles*



## **I. Les Huiles Essentielles**

### **I.1. Définition :**

Les huiles essentielles sont des liquides huileux, naturels, volatils et odorants, secrètes par les différentes parties des plantes aromatiques, comme les fleurs, racines, tiges, feuilles, graines et fruits. **(Tongnuanchan et Benjakul, 2014)**

Les HE sont des mélanges de nombreux composés qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthyl-éthers, les oxydes, les esters, les cétones. **(Isman M.B., 2002).**

Les huiles essentielles représentent un outil thérapeutique très efficace dans l'aromathérapie, une branche de la médecine alternative. **(Bessah et Benyoussef, 2015)**

### **I.2.. Localisation et rôle physiologique pour la plante**

#### **I.2.1. Localisation :**

Les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme secondaire **(Dorosso Sonate J.2002)**. La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans les organes sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées : cellules sécrétrices. Les cellules sécrétrices sont rarement isolées, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtaceae, Rutaceae) dans des canaux sécréteurs (Apiaceae, Composeae) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante **(Kaloustian J, et al., 2012)**

#### **I.2.2. Rôle physiologique :**

Le rôle biologique des HE dans la plante n'est pas bien défini, il est vraisemblable qu'elle aient un rôle écologique **(Dorosso Sonate J.2002)**

Elles permettent entre autre à la plante de se défendre contre les agressions extérieures. Elles ont des propriétés attractives ou répulsives vis-à-vis des prédateurs (herbivores, insectes..) Par leurs odeurs, ils interviennent dans la pollinisation. Ainsi, par leur pouvoir antiseptique protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et parasites du sol **(Dorosso Sonate J.2012)** et **(Kaloustian J.2012)**

**I.3..Composition chimique des huiles essentielles**

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques dissous l'un dans l'autre formant des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part (**Dorosso Sonate J.2002**)

**I.3.1. Terpènes et terpénoïdes**

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base : isoprène ; Hémiterpène (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20). Ils représentent le groupe le plus important (**Brunton J. 1999**)

**I.3.1.1.Monoterpènes**

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90 % d'HE. Dans cette catégorie de composés, il existe de nombreuses molécules fonctionnalisées, à savoir, par exemple:

- ✓ Alcools: acyclique (géraniol, citronellol), monocycliques (menthol), bicyclique (bornéol).
- ✓ Aldéhydes : le plus souvent acycliques (géraniol, néral, citronellal).
- ✓ Cétones : acycliques (tagétone), monocyclique (menthone, isomenthone, carvone, pulégone), bicycliques (camphre, fenchone).
- ✓ Esters : acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle), bicycliques (acétate d'isobomyle)
- ✓ Ethers : 1,8-cinéole eucalyptol) mais aussi les éthers cycliques tétrahydrofuriques ou di- et tétrahydropyraniques qui pour certains jouent un rôle majeur dans l'arôme des fruits (oxyde de linalol ou de rose).
- ✓ Peroxydes : ascaridole.
- ✓ Phénols : thymol, carvacrol

**I.3.1.1.1.Sesquiterpènes**

C'est la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents

**I.3.2. Composés aromatiques**

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les HE. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HE. On peut citer en exemple l'eugénole qui est responsable de l'odeur de clou de girofle

**I.3.3. Composés d'origine diverse**

En générale, ils sont de faibles poids moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions par exemple : l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille.

**I.4. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :**

- A température ambiante, les huiles essentielles sont liquides, et quelques HE cristallisent à basse température.
- Elles se distinguent des huiles fixes et des principaux lipides en ce sens qu'elles se volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur.
- Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau.
- La plupart des HE sont colorées par exemple la couleur rougeâtre pour l'HE de cannelle.
- La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables si l'on veut éviter leur oxydation et leur dépolymérisation. Aussi convient-il d'utiliser des flacons de verre colorés ou opaques, bien bouchés, pour les préserver de l'air et de la lumière, principaux agents de leur dégradation.
- Elle ne contient ni protéines, ni lipides, ni glucides, ne renferme pas de minéraux ni de vitamines : elle n'a donc aucune valeur nutritionnelle.
- La plupart des plantes renferment des essences, cependant elles sont plus particulièrement abondantes dans les végétaux aromatiques des familles suivantes : **(Dhifi et al., 2016)**

**I.5. les Méthodes d'extraction des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles peuvent être extraites de plusieurs plantes avec différentes parties par différentes méthodes d'extraction.

**I.5.1.Les méthodes conventionnelles d'extraction**

**I.5.1.1.Entrainement à la vapeur d'eau**

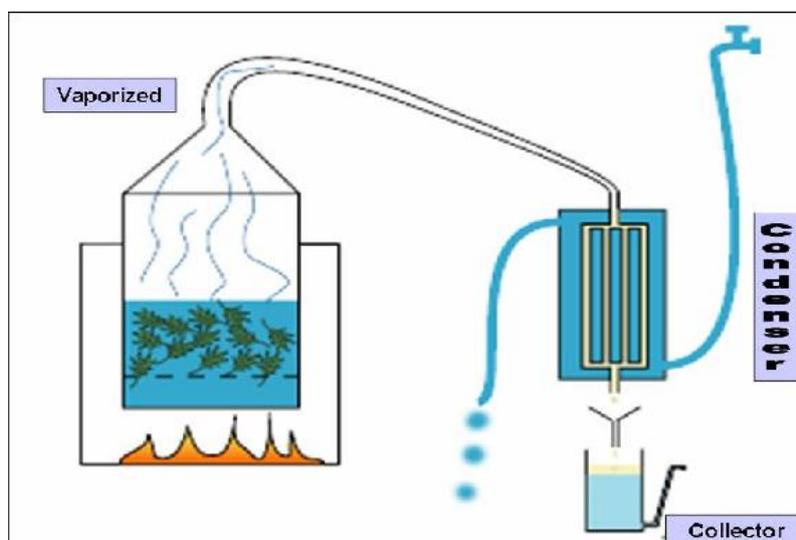
Il existe trois méthodes de distillation qui repose sur le principe d'entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau : l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

La différence entre ces trois modes réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (Dorosso Sonate J.2002)

**I.5.1.1.2.Hydrodistillation simple**

La méthode par hydrodistillation est traditionnellement la plus couramment utilisée (environ 80% des cas) car elle est la plus économique (Kaloustian J.2012)

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité ( Fekih N.2015)



**Figure 1:** l'hydrodistillation simple

### I.5.1.1.3. Distillation à vapeur saturée

L'entraînement à la vapeur d'eau pure est le procédé qui donne les meilleures garanties de Qualité (Chouiteh O.2012)

Dans ce procédé, le végétal n'est pas en contact avec l'eau : la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées (Fekih N. 2015)

La vapeur fait éclater les cellules à essence. Les molécules aromatiques sont captées par la vapeur qui se charge de molécules volatiles. A la sortie de la cuve, la vapeur s'est combinée aux HE. La condensation et le refroidissement s'effectuent dans un serpentin.

A la sortie du serpentin, un essencier recueille la vapeur refroidie et revenue à l'état d'eau et l'HE. La différence de densité entre les deux liquides facilite la séparation de cette dernière qui, à quelque exception près, est plus légère que l'eau (Chouiteh O. 2012)

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

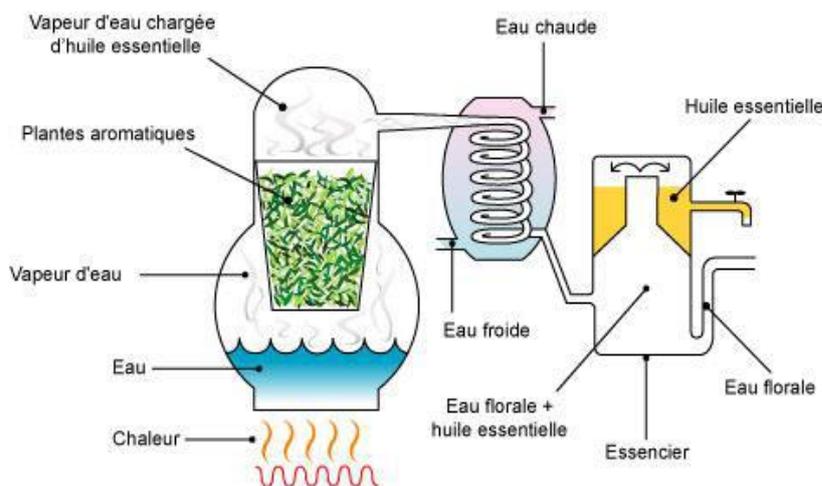


Figure 2: distillation à la vapeur

### I.5.1.1.4. Hydrodiffusion

L'hydro diffusion consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile 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. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (Elhaib A.2011)

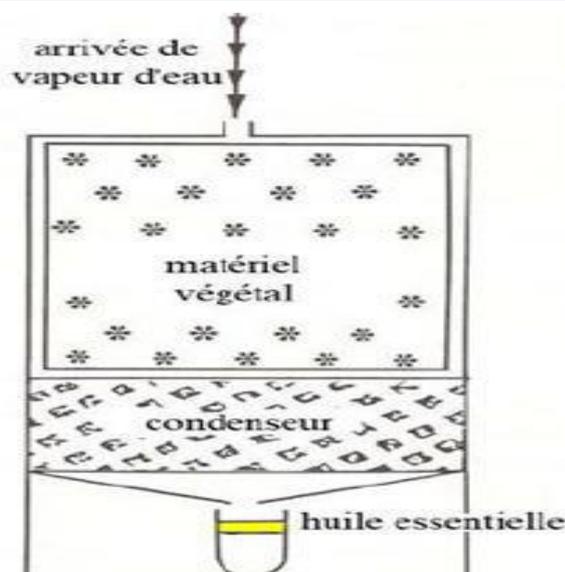


Figure3 : l'hydro diffusion

#### I.5.1.1.5.L'expression par solvants volatils :

L'extraction par solvants est utilisée pour les plantes fragiles qui sont macérées dans une préparation chimique provoquant la dissolution des substances aromatiques. Différents solvants, y compris l'acétone, l'hexane ou l'éthanol, peuvent être utilisés pour l'extraction. Après séparation du solvant par distillation, on obtient un produit cireux qui doit être dissout avec de l'alcool. Ce dernier est ensuite éliminé par évaporation. L'HE ainsi obtenue est dite « absolue ». Comme il est difficile d'éliminer complètement les traces de solvants, on utilise que très exceptionnellement ces HE en médecine. (Tongnuanchan et Benjakul, 2014)

#### I.5.1.1.6. L'extraction au CO2 supercritique

Cette méthode consiste à faire passer du CO<sub>2</sub> à l'état supercritique au travers d'une cartouche contenant du matériel végétal. L'état sous-critique de CO<sub>2</sub> est obtenu lorsque la température est comprise entre 31 ° C et 55 ° C et une pression entre 0,5 MPa et 7,4 MPa. Dans ces conditions, le CO<sub>2</sub> se comporte comme un solvant non polaire avec la haute diffusivité, ce qui lui donne une bonne capacité de diffusion, et une densité élevée allant de gaz à liquide donne la capacité de transport et d'extraction majeure. Les fluides porteurs d'extraits traversent la phase gazeuse. Les extraits sont ensuite séparés et recueillis dans un séparateur. Les extraits obtenus par cette technique présentent des arômes très similaires à ceux des matières premières végétales fraîches. (El Asbahani et al., 2014 ; Gourguillon et al., 2016)

### I.6. Les mécanismes d'action des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est

principalement en fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al., 2006**).

Les mécanismes impliqués dans le mode d'action antimicrobien des huiles essentielles ne sont pas encore totalement éclaircis. Leur action peut être inhibitrice ou létale. Elles peuvent affecter plusieurs cibles en même temps et leur mécanisme d'action est probablement n'est pas attribué à un mécanisme spécifique considérant la grande variété des groupes de constituants chimiques présentes dans une huile essentielle et les différents sites dans la cellule où elles peuvent agir (**Bakkali et al., 2008**).

### **I.7. Toxicité des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines d'entre elles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) ou photo-toxique (huiles de citrus contenant des furacoumarines), d'autres ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' $\alpha$ -thujone). La toxicité des huiles essentielles est assez mal connue. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi (**Guba, E. G., & Lincoln, Y. S. (2001)**).

L'utilisation des HES doit être avec prudence, elle risque les spasmes et la goutte. La prise simultanée des médicaments homéopathiques avec la menthe est contre-indiquée. (**Aouadhi, S. (2010)**).

## *Chapitre II : les plantes étudiées*



## II.1.Artemisia absinthium :

### II.1.1.Généralité :

La famille des Astéracées représente l'une des taxons les plus importants du règne végétale. Elles sont des plantes angiospermes dicotylédones appartenant aux sous classes des gamopétales ou astérides (Asteridae) et à l'ordre des Astérales. La famille des astéracées avec près de 1500 genres et pas loin de 26000 espèces. Elle est présente dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées et à l'exception des pôles. Les astéracées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. On y trouve surtout des plantes vivaces et à feuilles alternes. Dans la grande majorité des cas, les astéracées sont des plantes herbacées mais elles sont également représentées par des arbres, des arbustes ou des lianes, certaines sont également succulentes (**Barkely et al., 2006**)

Le nom " *Artemisia* " est dérivé de la déesse Artémis qui avait découvert les effets de la plante, alors que le mot "absinthe" signifie imbuvable à cause du goût très amer de la centrale (**Yildiz et al., 2011**).

Les plantes du genre *Artemisia* (Asteraceae) sont une riche source de sesquiterpène bioactif lactones et ont une longue histoire de lutte contre plusieurs pathologies chez les humains et, plus récemment, chez les animaux (**Jorge et al., 2011**)

L'*Artemisia Absinthium* fait partie de cette famille des Astéracées, cette plante est l'une des espèces qui sont largement utilisées en médecine. Connu sous le nom verniculaire de Chajret mariem ou Chiba (en arabe), et la grande absinthe ou l'armoise amère (**Rezaeinodehi et al., 2008**).

*Artemisia absinthium*, mieux connu comme le principal ingrédient dans la tristement célèbre Boisson Absinthe, a été utilisé en médecine depuis l'époque de Grèce antique, et aussi dans les systèmes d'Europe occidentale de la médecine traditionnelle (**Juteau et al.,(2003)**)

En commun avec plusieurs d'autres espèces de ce genre, l'*Artemisia herba alba* Asso, plante caractéristique du moyenne-orient et d'Afrique du Nord, est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies. (**Jorge et al., 2011**)

**II.1.2. systématique de la plante :****Règne :** Plantae**Sous-règne :** Tracheobionta**Division :** Magnoliophyta**Classe :** Magnoliopsida**Sous-classe :** Asteridae**Ordre :** Asterales**Famille :** Asteraceae**Genre :** Artemisia**Espèce :** Artemisia absinthium**(Larousse, 1926)****Nom binomial :** Artemisia absinthium**Nom vernaculaire algérien :** Chiba ou Chajrat marie**II.1.3. Description botanique de la plante :**

*L'Artemisia absinthium* appartenant généralement à la famille des astéracées connue sous le nom d'absinthe (**Mubashir et al., 2017**) est une plante aromatique, herbacée et vivace de 40 – 100 cm ou plus de long à tige ligneuse ( **Tariq et al., 2009**). Les feuilles sont très divisées, ovées, gris-verdâtre au-dessus, blanche dessous, soyeuse, pétiolées et profondément découpées en lanières obtuses. Les feuilles inférieures sont tripennatiséquées, les supérieures sont moins divisées (**Mansour , 2015**). Les racines sont pivotantes avec un diamètre de 5 cm et ramifications s'étend dans toutes les directions jusqu'à 72 cm (**Mubashir et al., 2017**). Les inflorescences sont de petits capitules floraux jaunes, globuleux, disposés en grappes composées, ramifiées. Le fruit est un akène de petite taille, lisse et sans aigrette (**Belaidi et Boubendira , 2018**). L'absinthe pousse facilement à une altitude de 600 à 1000 mètre sur des terrains propres, aérés et rocaillieux (**YvesChapuis, 2013**). La plante possède un rhizome dur. Elle possède une forte odeur (essence d'absinthe) et une saveur amère due à l'absinthine (**Mansour S, 2015**). Cette "herbe sainte" entrait dans un grand nombre de remède (**Lamarti, 1996**)

**II.1.4. Caractéristiques morphologiques (Larbi. 2016)**

*L'Artemisia absinthium* est présentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles, les fleurs et la fruit.

- ✓ **Racine:** La plante possède un rhizome dur.
- ✓ **Tige:** Les tiges sont souterraines, ligneuses ; dressés et rameuses. Les fragments de tige sont rigides, gris argentés, à l'extérieur ils sont anguleux et possèdent une moelle interne.

- ✓ **Feuilles:** *Artemisia absinthium* possède des grosses touffes de feuilles recouvertes d'un fin duvet gris pale (**figure01**) dont les feuilles sont composées, opposées à la base, puis alternes pour le reste de la plantes.



**Photo 01:***Artemisia absinthium L*

### **II.1.5. Distribution géographique et habitat**

*L'Artemisia absinthium* est une plante originaire des régions continentales à climat tempéré d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord (**Sharopov et al., 2012**). On la trouve aussi sur la côte Est des États-Unis (**Iserin, 2001**). Elle y pousse sur les terrains incultes et arides, sur les pentes rocheuses, au bord des chemins et des champs.

### **II.1.6. Composition chimique de l'*Artemisia absinthium L* :**

L'espèce *Artemisia absinthium* a fait l'objet de plusieurs investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites secondaires tels que l'huile essentielle. Elle est connue pour contenir des thuyones :  $\alpha$  et  $\beta$ -thuyones. Il existe aussi de nombreux chémotypes : chémotype à Z-époxy- $\alpha$ -ocimène (26-47%), à acétate de sabinyle ou à acétate de chrysanthémyle. On note aussi la présence de polyines (**Bruneton, 2009**), de flavonoïdes (**Canadanovic, 2005**), de coumarines, de lignanes, de polyphénols et de lactones Sesqui terpéniques en quantité notable (absinthine, artabsine, matricine et artemisinine (**Aberham et al., 2010**)).

Des études phytochimique réalisées sur l'extrait d'*Artemisia Absinthium* ont révélé la présence de  $\alpha$ -thujène,  $\alpha$ -pinène, camphène, p-cymène, le 1,8-cinéole, heptenone méthyle,  $\beta$ -phelandrene, caryophyllèneoxide,  $\alpha$ -terpinéol, thujyl alcool, le géraniol, thujyl l'acétate, le caryophyllène,  $\alpha$ -himachalène,  $\alpha$ -cadinène et elemol (**Lopes et al., 2008**).

D'autre part, certaines études rapportent qu'en plus de l'artémisinine, le genre *Artemisia* est une riche source d'autres lactones sesquiterpéniques et flavonoïdes. (**Jill et al., 2011**)

En outre, les travaux de **Yiannis et al., (2011)**, ont démontré que les extraits aqueux d' *A. absinthium* sont riches en caféoyl et dicaféoylquinique

### II.1.7. utilisation de la plante :

La plante est Utilisée comme vermifuge, dans les maladies de l'estomac (Augmente la sécrétion de sucs digestifs et la bile), pour provoquer le cycle mensuel chez la femme, dans le combat contre la paresse, le mal de mer et ses nausées. Les huiles essentielles ont également des vertus digestives ; cependant, la thuyone et le phellandréne sont des substances neurotoxiques de la plante qui peuvent à haute dose, provoquer des spasmes, ainsi qu'un dérèglement grave du Système Nerveux (**Bottet J, 2001**).

La plante est réputée depuis des temps indéterminés pour ses propriétés médicinales. Elle est citée comme stimulant dans un papyrus égyptien (vers 3550 avant J-C). Les grecs et les romains l'utilisaient pour combattre les troubles de la ménopause, mais également comme vermifuge et fébrifuge (**Padosch et al., 2006**). Les médecins de l'antiquité en faisaient une panacée. C'est un apéritif fort ancien dont la consommation. Toute la médecine populaire attribue à la plante des propriétés apéritives, vermifuges, stomachiques (**Tariku et al., 2011**);

D'autres parts, l'absinthe est utilisée depuis l'antiquité pour le traitement des troubles digestifs. Les parties actives de la plante sont toutes très amères. On les emploie en traitement interne soit pures, soit en mélanges, pour stimuler l'appétit, la sécrétion du suc digestif et de la bile, contre les coliques intestinales ainsi que contre les parasites intestinaux (**Iserin, 2001**).

Elle peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, certains œdèmes, l'hypertension portale ou l'hypokaliémie.

En plus l'absinthe possède plusieurs propriétés (**Iserin, 2001**):

- ✓ **Vermifuge**: Permet d'éradiquer les parasites intestinaux ou vers.
- ✓ **Stomachique** : Facilite la digestion des aliments au niveau de l'estomac.
- ✓ **Emménagogue**: Stimulent le flux sanguin dans la région pelvienne et l'utérus.
- ✓ **Cholagogue**: Facilite l'évacuation de la bile.
- ✓ **Fébrifuge** : Fait baisser la fièvre.
- ✓ **Antiseptique** : Tue ou prévient la croissance de bactéries et des virus sur les surfaces externes du corps.
- ✓ **Diurétique**: Entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire.

## II.2. *Mentha de pulegium. L.*

### II.2.1. Généralité sur La menthe :

Les Menthes, du nom latin *Mentha*, sont des herbacées vivaces, indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiaceae (**Jahandiez et Marie, 1934**). Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de menthe doivent leur odeur et activité à leurs huiles essentielles ou essences de menthe (**Benayad, 2008**). Autant les menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires et des origines hybrides qui les relient. Parmi toutes les Lamiaceae, les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales (**Benayad, 2008**). La menthe pouliot, *Mentha pulegium*, est l'espèce la plus exploitée pour ses vertus médicinales et aromatiques (**Sutour S, 2010**)

### II.2.2. systématique de la plante :

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous- embranchement:** Angiospermes

**Classe:** Dicotylédones

**Sous-classe :** Gamopétales

**Ordre :** Lamiales ou Verbenales

**Famille :** Lamiaceae ou Labiées

**Genre :** *Mentha*

**Espèce :** *Mentha pulegium* L.

(**Guignard ,(2004)**)

**Nom botanique :** *Mentha Pulegium* L.

**En arabe :** فليو

### II.2.3. Description botanique :

Le nom de *pulegium* vient de latin (*pulex*), que signifie puce car la plante a la propriété d'éloigner les puces (**bekhichi.2008**).

*Mentha pulegium* L est une plante odorante qui appartient la famille des lamiacées .c'est une plant de 10-30 cm ,inflorescence formée de nombreux verticillées denses ,feulés et distants (**Quezel et santa 1963**). Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense .la menthe est considérée bénéfique pour la santé (**padrini et lucheroni,1996**).

*Mentha pulegium* L a aussi la particularité d'être insectifuge puisqu'elle a été déjà utilisée pour faire éloigner les insectes ,donc a un effet répulsif (**Lahrech,2010**)



**Figure 04 :** *Mentha pulegium* L.

#### **II.2.4. Distribution géographique de mentha :**

La menthe pouliot est une plante qui pousse à l'état spontané dans plusieurs régions du Maroc. Elle pousse dans les zones humides des plaines et des montagnes jusqu'à 2 200 m d'altitude. Son exploitation industrielle est particulièrement réalisée dans le Rif et pré-Rif central et occidental, à l'ouest de Taounate et au Nord de Souk Larbaâ, Ouzzane, Chaouen, Larache, Assilah et Tanger (**Farah et al., 2001**).

#### **II.2.5. Caractéristiques morphologiques :**

Plante vivace aromatique (**Iserin, 2001**) à feuilles, opposées, petites, sont ovales presque entières (légèrement dentelées) et munies d'un court pétiole. Les fleurs sont rose lilas, parfois blanches, échelonnées le long de la tige (**Sutour, 2010**), Les tiges à section carrée, sont plus ou moins dressées, verdâtres ou grisâtres, très ramifiées (**Bouhaddouda, 2016**). Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense. Le nom de pulegium vient de latin pulex, la puce car la plante a la propriété d'éloigner les puces (**Bekhechi, 2008**).

#### **II.2.6. Composition chimique de mentha pulegium L :**

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* est caractérisée par sa richesse en R-(+)-pulégone qui représente un pourcentage très élevé (80% environ) (**Chen et al., 2003**).

#### **II.2.7. utilisation de la plante :**

La menthe pouliot, connue sous le nom vernaculaire arabe de « Fliyou », est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures (**Diaz-Maroto et al., 2007**).

Les parties aériennes fleuries de cette plante sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodiques dans le traitement du rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales (**Delille, 2007**).

Depuis l'antiquité, Les Menthes conservent une grande diversité d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique. Elles fortifient tout le système nerveux, stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible, la menthe rend d'éminents services contre la nervosité et les différentes manifestations nerveuses (**Benayad, 2008**).

### **II.3. *Marrubium Vulgare*.L :**

#### **II.3.1. Généralité :**

Le nom *Marrubium* dérive du mot hébreu *marrob* (jus amer), en anglais *horehound*, (**BONNIER, 1909**). Le genre *Marrubium* comprend environ 40 espèces répandues dans une grande partie du globe : principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine (**RIGANO et al, 2006**).

D'après **QUEZEL et SANTA (1963)**, il existe 7 espèces différentes du genre *Marrubium* en Algérie : *Marrubium spinum*, *M. peregrinum*, *M. alysson*, *M. alyssoides*, *M. willkommii*, *M. deserti* et *M. vulgare*.

Le marrube blanc (*M. vulgare*) est une espèce de la famille des Lamiacées qui est connue depuis la haute antiquité (**KAABECHE, 1990**).

#### **II.3.2. systématique de la plante :**

**Règne :** Végétale

**Embranchement :** Angiosperme

**Classe :** Eudicotylédones

**Sous-classe :** Gamopétale

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiacées

**Genre :** *Marrubium*

**Espèce :** *Marrubium vulgare* L.

(**Bonnet, 2010**).

**Nom vernaculaire algérien :** Meriwet ; **Français :** Marrube blanc .

#### **II.3.3. Description botanique :**

Le *marrube blanc* ou Marrube Commun (*Marrubium vulgare*) est une plante herbacée vivace pouvant atteindre 80 cm de hauteur, à tige quadrangulaire cotonneuse.

Les feuilles pétiolées, ovales ou arrondies, à limbe crénelé sur les bords, sont blanchâtres et duveteux sur la face inférieure. Les fleurs petites, blanches, avec un calice à dents crochues, sont groupées en verticilles globuleux à l'aisselle des feuilles, elles apparaissent du mois de Mai jusqu'au mois de Septembre et parfois encore en hiver. Le fruit est un tétra-akène. Toute la plante dégage une odeur forte, sa saveur est âcre (qui irrite les organes du goût et de l'odorat) et amère (**J. Bruneton.(2009)**et(**S. Aouadhi,(2010)**)

En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides*, *Marrubium supinum* Pomel et *Marrubium deserti de Noé* (**P. Quezel, et al 1963**)



**Photo 02 : marrubium vulgare L**

#### **II.3.4. Distribution géographique de Marrubium vulgare L :**

Le genre *Marrubium* comporte quelque 40 espèces, répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique (**Latine D. et al., 2006**) Le Marrube blanc est commun dans toute l'Algérie (très présente au nord et quasiment absente au sud) et presque dans toute l'Europe en dehors de l'extrême Nord, (**Ruiba, (1999)..**)

Le Marrube blanc est généralement dispersé sur des sols calcaires dans des lieux incultes, décombres, terrains vagues, garrigues, prairies chaudes et sèches (**V. Schlempher. 1996**)

#### **II.3.5. Caractéristiques morphologiques :**

##### **➤ Racine**

La racine est simple, ligneuse, garnie de plusieurs fibres (**M. Ali. Youssef, 2006**).

##### **➤ Tige**

Les tiges du marrube blanc peuvent atteindre jusqu'à 50 cm de longueur et 7 mm de largeur ; les jeunes tiges sont recouvertes d'abondants poils duveteux blanchâtres ; les plus âgées sont gris-vert et les poils qui les recouvrent sont moins nombreux (M.Rombi, et al 2007)

### ➤ Feuilles

Les feuilles du marrube blanc sont opposées et pétiolées, elles sont entières et un peu cordées à la base ; leur forme générale est ovale ou arrondie. (Ali.Youssef.(2006) Ainsi elles sont feutrées, cotonneuses, et de couleur blanchâtre . Les feuilles du marrube pétiolées ont un limbe mesurant 1,5-4 cm de longueur et 1-3,5 cm de largeur ; elles présentent des bords dentés à crénelés et sont recouvertes de poils blancs, fins et d'aspect vert-gris foncé De plus, les feuilles sont gaufrées (M.Rombi, et al.,(2007)

### II.3.6.Composition chimique *Marrubium vulgare* L.

Le *Marrubium vulgare* contient des flavonoïdes et des di terpènes, il contient également les alcaloïdes, les mucilages, les pectines, la bétonicine, la stachydrine, beaucoup de fer, et peu d'huiles essentielles. Un certain nombre de sels minéraux ont été également identifiées (Boudjerda et al., 2010). En outre il y a des tanins spécifiques des Lamiacées et dérivés de l'acide hydrox cinnamique (jusqu'à 7%) (acide chlorogénique, caféique, caféylquinique), et la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés mono terpéniques (moins de 1% soit l' $\alpha$ -pinène, le camphène, le lomonène) (Wichtl & Anton, 2003)

### II.3.7.Utilisation de la plante :

Selon la commission allemande, elle est utilisée dans le traitement des dyspepsies et la perte d'appétit. Selon la commission européenne elle est efficace dans les cas de bronchites, les catarrhes des voies respiratoires, les dyspepsies et la perte d'appétit. cette plante est traditionnellement utilisée dans le traitement symptomatique de la toux et au cours des affections bronchiques aiguës et bénignes. Elle est considérée comme expectorante et fluidicatrice des sécrétions bronchiques en cas de toux productive. Elle donne des résultats satisfaisants dans le cas des bronchites et les inflammations de la gorge, elle pourrait être antispasmodique et tonique amer.

Selon les populations anciennes, le Marrube aurait une action hypoglycémiant ( Novaes et al., 2001). Cependant, les résultats d'un essai conduit récemment au Mexique sur 43 sujets diabétiques qui résistaient au traitement classique révèlent que le Marrube n'a pas eu d'effet significatif sur la glycémie (Herrera et al., 2004). La prudence s'impose tout de même pour l'heure. Il n'y a pas eu

sur le Marrube d'essais cliniques en double aveugle. Ses Usages sont des usages traditionnels bien établis et des études pharmacologiques sur l'animal.

En Algérie, *M. vulgare* est utilisé en médecine populaire pour traiter plusieurs maladies digestives, diarrhée, ainsi que le diabète, les rhumatismes, la bronchite aiguë ou chronique, la toux, l'asthme et d'autres infections respiratoires **Belhattab R, et al., 2006** La décoction de marrube soulage les gastralgies. Les feuilles de cette plante sont utilisées sous forme de cataplasme sur le front en cas de migraines et fièvre, ainsi contre les otites sur les tempes. Elle est conseillée aussi en cas de diabète, diarrhée, vers intestinaux et pour embellir les cheveux. Une fumigation à un intérêt thérapeutique en cas de fièvre typhoïde. On l'utilise sur les abcès et les furoncles crevés afin de les panser et les cicatriser (**N. Tahri, et al (2012)**).

## *Chapitre III : le profile phénolique*



**III.1. Les composés phénoliques****III.1.1. Généralités :**

Le métabolisme chez les plantes peut être subdivisé en métabolites primaires (glucides, acides aminés, lipides et acides nucléiques) et en métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont à la base de la machinerie moléculaire de toutes cellules et les métabolites secondaires sont des molécules synthétiques ne peuvent se rencontrer dans des tissus spécifiques, ou à des stades du développement particuliers. Les composés phénoliques ou polyphénols forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes que sont par exemple, les tanins et la lignine ( **Hopkins, W. (2003)**, L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton, J. (2009)**).

**III.1.2. Principales classes des composés phénoliques :**

La complexité des différents composés phénoliques présentés chez les végétaux (complexité du squelette de base, degré de modifications de squelette et les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules tel que les glucides, lipides, protéines et autres métabolites secondaires) implique de regrouper ces composés en de nombreuses classes. Selon la forme de la structure chimique, les composés phénoliques peuvent être classés en deux groupes (La forme phénolique simple et la forme phénolique condensée) (**Macheix, J.J, et al., (2005)**)

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base.

**III.1.2.1. Les acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques possèdent une forme chimique simple allant du simple phénol en C<sub>6</sub>. Parmi les acides phénoliques les plus connus: les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamiques (**Macheix et al., 2005**).

**III .1.2.1.a . Propriétés physico-chimiques**

- ✓ Les phénols sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires ;
- ✓ Ils sont solubles dans les solutions de sodium et de carbonate sodium ;
- ✓ Les acides –phénols sont solubilisés par les hydrogénocarbonates ;
- ✓ Ils sont extractibles par les solvants organiques en milieu légèrement acide( **Bruneton, J. (1999)**).

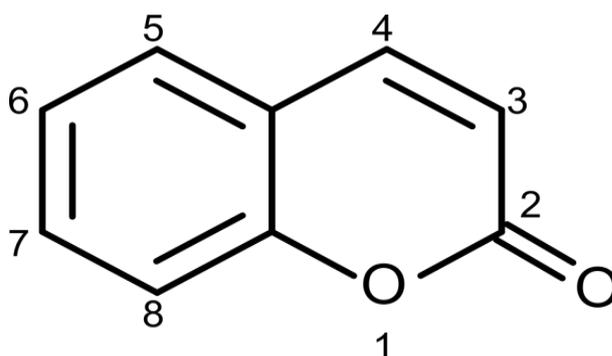
**III.1.2.2.les coumarines**

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabacée), d'où fut isolée en 1820, la coumarine (**Bruneton, 1999**). Ces sont des dérivés des acides hydroxycinnamiques et qui sont le point de départ d'une famille de composés qui se forment par une substitution en 6,7 et 8 sur un cycle aromatique (**Marouf, A., Reynaud, J. (2007)**).

Les coumarines constituent un groupe de lactone largement répandues, issues de la formation d'un cycle fermé à partir de l'acide hydroxycinnamique, Les principaux coumarines (Umbelliférone, esculetine et scopolétine) (**Hopkins, 2003**).

**III.1.2.2.a. Propriétés des coumarines**

- ✓ Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans des solvants organiques ;
- ✓ Les coumarines ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituant (**Bruneton, 1999**).



**Figure:** Structure des coumarine.

**III.1.2.3. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des pigments incolores ou colorés. Ce sont des composés polyphénoliques, largement répandus dans le règne végétal, avec plus de 4000 structures décrites (**Marouf et Reynaud, 2007**), C'est la coloration chatoyante des pétales de fleurs, des fruits des bractées ou éventuellement des feuilles qui attire surtout l'homme et une foule d'animaux vers les plantes (**Hopkins, 2003**). Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (**Bruneton, P. (1993)**).

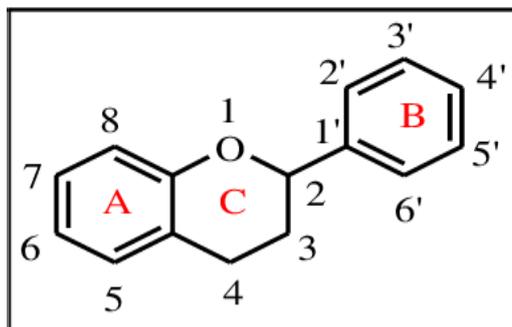


Figure6: Squelette de base des flavonoïdes

### III.1.2.3.1. Propriétés Physico-chimiques des flavonoïdes

#### III.1.2.3.1.a. Solubilité et l'extraction

- ✓ Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires ;
- ✓ Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools additionnés d'eau. Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau (**Bruneton, 1999**).

#### III.1.2.3.1.b. Dosage

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques. L'HPLC offre maintenant la possibilité d'une estimation rapide et précise de tous les flavonoïdes (**Bruneton, 1999**)

### III.1.2.3.2. Intérêt biologique des flavonoïdes

Les flavonoïdes jouent un rôle primordial dans la croissance des plantes comme le kaempferol et la quercitrine. De plus, ils sont également importants dans la pigmentation des organes végétaux, dont les flavonoïdes les plus colorés sont les anthocyanidines et les anthocyanes. Pratiquement tous les flavonoïdes, spécialement les flavones et les flavanols, absorbent fortement les rayons ultraviolets UVB. Ils attirent les insectes pollinisateurs. En outre, les flavonoïdes présentent des activités antioxydantes, antimicrobiennes, antiallergiques, anti-ulcérogènes, antihépatotoxiques et antifongiques (**Ghedira, K. (2005)**).

### III.1.3. Les terpènes et stéroïdes

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et des stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux (**Bruneton, 1999**).

Les terpènes sont généralement des substances lipophiles issues d'une seule entité à cinq atomes de carbone. Leur grande différence tient au nombre d'unités de base qui composent la chaîne et aux

diverses méthodes d'assemblage. Formation de structures cycliques, addition de fonctions dont l'oxygène et interaction avec des sucres ou D'autres molécules peuvent compliquer leur structure (Hopkins, 2003)

### III.1.4. Anthocyanes :

Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles présents dans la plupart des espèces (Kong et al., 2003). Ces pigments sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium plus communément appelé cation flavylum. Ils sont accumulés dans les vacuoles cellulaires (Kerio et al., 2012), et ils sont responsables des couleurs rouges, violettes et bleues dans les fruits, les légumes, les fleurs et les graines, mais aussi jouent un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes (Shipp et al., 2010). Les anthocyanes sont stabilisés dans les plantes par des interactions avec des acides aminés, des tanins, des 4-oxo-flavonoïdes (Vierling, 2008).

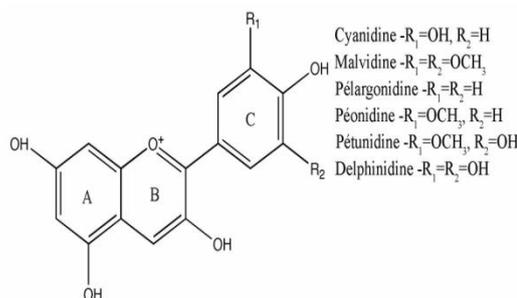


Figure 7 : Structure des principaux anthocyanes

### III.1.5. Tanins :

les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, de structure variées, de saveur astringente et de haut poids moléculaire (J.-J. Macheix, et al (2005))

Ils sont divisés en deux catégories en fonction de leur structure chimique :

#### III.1.5.1. Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des sucres (principalement du glucose) et un nombre variable de molécules d'acide phénolique est considéré comme non flavonoïdes (ellagitanins, gallotanins) (DELLUC, L., (2004). Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (CONRAD, J, et al (1998)).

### III.1.5.2. Les tanins condensés :

Ils sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+) catéchine ou de ses nombreux isomères (J.-J. Macheix, et al (2005))

Les liaisons entre les flavonoïdes ne sont hydrolysables mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (Hopkins, W.G. (2003)).

### III.1.6. alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées relativement stables d'origine végétale. (MAURO, N. M., (2006)), et ont un caractère basique et présente une distribution structurellement restreinte. Complexes hétérocycliques moléculaires. Ils existent à l'état de sels ou sont organiques synthétisés à partir d'acides aminés. (REYNIER, A., (2007)). Les alcaloïdes existent rarement dans les plantes à l'état libre, la plupart du temps ils sont associés à des acides organiques ou des tanins (ROUX, D., CATIER, O., (2007)).

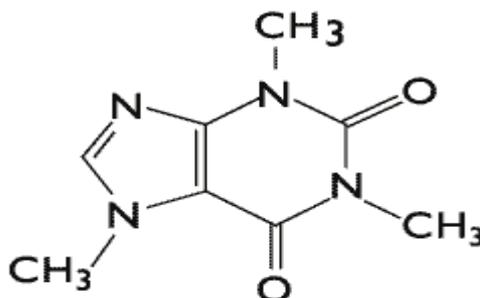


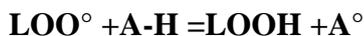
Figure 8: Structure d'alcaloïde

## III.2. Principales potentialités biologiques des composés phénoliques/

### III.2.1. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des composés chimiques présents dans l'organisme adaptés à la modulation de l'oxydation des biomolécules (Syed B. (2015)). Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions tels que : l'interruption de la chaîne de propagation des réactions radicalaires par chélation des métaux de transition, désactivation des espèces oxygénées réactives, inhibition de l'activité des enzymes de peroxydation et abaissement de la pression partielle de l'oxygène (Fidelis, T. (2001)). En outre, la classification des antioxydants est divisée selon leurs origines en deux types d'antioxydants ; endogènes comme les enzymatiques notamment : la catalase, la glutathion peroxydase et le superoxyde dismutase. Par contre les antioxydants exogènes (nutritionnels) sont présentés par les vitamines (vitamine A, E, et C), les oligo-éléments (le sélénium, le cuivre, le zinc) et les polyphénols (Desmier. (2016)). Particulièrement, la nature de la chaîne substituée de cycle benzénique des polyphénols confère à la fonction phénol un caractère plus acide que les groupements alcool : elle donne donc facilement un proton H<sup>+</sup> pour former l'ion

phénoxy. Cette propriété chimique donne aux composés phénoliques leur caractère antioxydant. En perdant un hydrogène au profit des lipides  $\text{LOO}^\circ$ , ils les stabilisent sous forme d'hydroperoxydes  $\text{LOOH}$  et inhibent les réactions de propagation de la chaîne d'oxydation. (Fidelis, 2001).



Ce sont des molécules qui aident le corps à lutter contre les radicaux libres en les neutralisant, afin qu'ils deviennent inoffensifs (Lévy-Dutel et Scotto, 2011), ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action : les antioxydants primaires qui sont appelés également les antioxydants vrais ou antioxydants radicalaires (Reynal et Multon, 2009).

Ces enzymes antioxydantes présentent des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de super oxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006).

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

De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Dacosta Y., 2003). Et les antioxydants secondaires. Les antioxydants qui sont appelés aussi préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des molécules exogènes ; des substances décomposant les hydro-peroxydes en alcools, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou des disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV (Rolland, Y. (2004). Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta Y., 2003)

### III.2.1.1. Le piégeage de radical DPPH

La DPPH est un radical libre stable qui possède une couleur violet profond et une forte absorption autour de 517 nm. Les composés antioxydants présents dans le milieu convertissent le radical DPPH en un produit moléculaire DPPH. Plus stable en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. Le changement de couleur du radical DPPH du violet au jaune pâle de la forme réduite de DPPH permet la détermination spectrophotométrique de l'activité antioxydante. Les résultats sont soit exprimés en  $\text{IC}_{50}$  (la concentration de l'antioxydant provoquant un piégeage de 50 % de DPPH) (Akar, 2017).

**III.2.1.2. Le stress oxydatif**

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd et al., 2003**).

**III.2.1.3. Les radicaux libres**

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, donc très réactif et, par conséquent, leur durée de vie est généralement très courte, de l'ordre de 4-10 secondes, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron (**André, 1998**).

**III.2.1.4. Conséquences de Stress oxydatif**

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » (**Rahman, 2003**).

Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN (**Valko et al., 2006**). Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies (**Aruoma, 1998**).

Parmi lesquelles les maladies d'Alzheimer de Parkinson, de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites, les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque (**Georgetti et al., 2003**) les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau et le cancer (**Ali et al., 2003**).

**III.2.2. Activité antimicrobienne**

L'essor de chimie a permis l'apparition de nouvelles substances antimicrobiennes. Ces dernières sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les microorganismes ou empêcher leurs croissances, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques. Ces substances synthétiques ont été employées couramment. (**Rozman et Jersek, 2009**).

Néanmoins, le mécanisme d'action des HES sur les cellules bactériennes et fongiques reste difficile à cerner, compte tenu de la composition complexe des huiles volatiles (Burt, 2004). La variabilité des constituants des huiles suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les micro-organismes, étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action (**Guinoiseau, 2010**).

En effet, les huiles essentielles sont connues pour posséder une activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants antibactériens et

antifongiques. Ces substances synthétiques ont été employées couramment. (Rozman et Jersek, 2009).

### **III.2.2.1. Activité antibactérienne**

Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les Phénols, les terpènes ou terpénoïdes ont aussi des effets contre les bactéries et différents autres germes causant des problèmes dans le domaine médicale et agroalimentaire. Cependant le mécanisme de l'action de ces terpènes n'est pas entièrement compris et qu'il peut être s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles (Cowan, 1999).

### **III.2.2.2. Activité antifongique**

De plus en plus, les essences sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire comme aromes également comme conservateurs alimentaires. Les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures (Ouibrahim, 2014)

Comme pour l'activité antibactérienne, le pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des HES, Plusieurs travaux ont révélé que le pouvoir inhibiteur était essentiellement dû à la réactivité de la fonction aldéhyde avec le groupement thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire (Kurita et al., 1979).

D'autres auteurs ont démontré que la formation d'un complexe entre le donneur d'électrons et l'aldéhyde induit un changement de l'état ionique de la membrane traduisant par un déséquilibre d'échange avec le milieu extérieur. Ce déséquilibre entraîne la mort cellulaire (Baser et Buchbauer, 2010).

### **III.2.3 Activité antivirale :**

La plupart des virus sont sensibles aux HE à phénol. Etant lipophiles, les HE peuvent pénétrer dans l'enveloppe des virus et sont donc plus actives sur les virus enveloppés comme le HSV 1 et 2 (herpès) (Velé H.(2015))

Plus d'une dizaine d'HE possèdent des propriétés antivirales, on peut citer l'HE de Ravintsara, l'huile essentielle de Bois de Ho, ou l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan (Mayer F.(2012))

**III.2.4. Activité antiparasitaire :**

Les molécules aromatiques possédant des phénols et alcools terpéniques ont une action puissante contre les parasites (**Mayer F.(2012)**)

Les cétones ont également une activité antiparasitaire mais leur utilisation est plus limitée en raison de leurs neurotoxicité (**Velé H.(2015)**)

Certains oxydes, comme l'ascaridole, sont également très spécifiques de la lutte antiparasitaire, et constituent de bons anthelminthiques (**Franchome P ,2001**)

## *Partie expérimentale*

## *Chapitre IV : Matériels et méthodes*

**IV. Matériels et méthodes :****IV.1. Objectif de travail :**

Avant d'entamer la partie matérielle et méthodes, il nous semble nécessaire de définir les objectifs de notre travail afin de justifier le choix des différentes techniques de manipulation

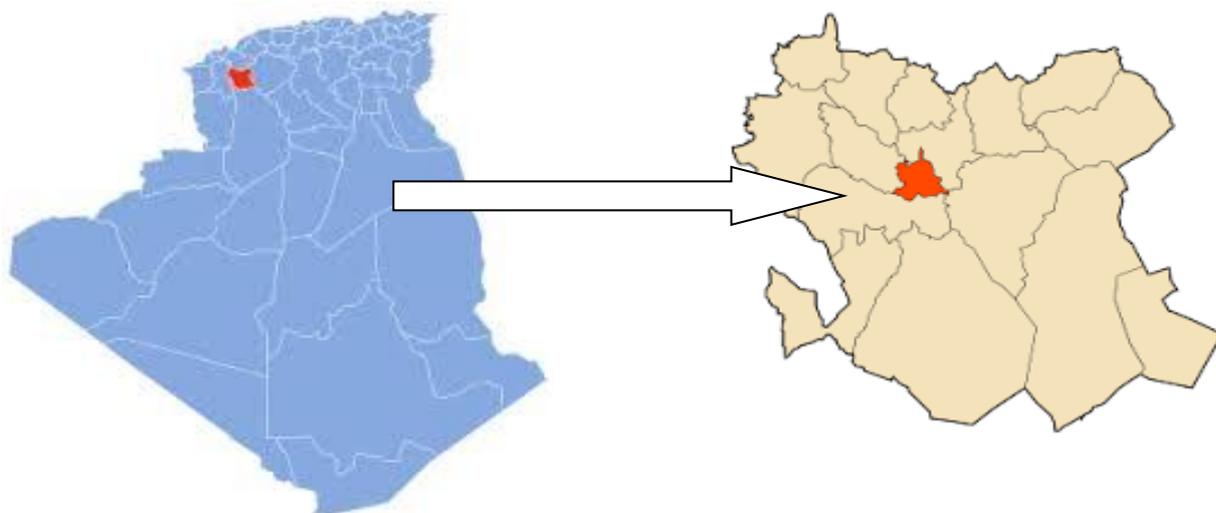
Notre étude a comme objectif de viser les principaux axes suivants :

- ✓ Faire un screening phytochimique afin de déterminer les différentes familles des composés chimiques qui existent dans notre plante .
- ✓ Extraire l'huile essentielle et quelques extraits afin de les mettre en évidence par des tests biologiques.
- ✓ Evaluer le pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage des radicaux libres (DPPH) et l'antioxydant totale et Evaluer l'activité antidiabétique (test d'inhibition d'amylase )
- ✓ Evaluer l'activité antibactérienne par le biais de 4 souches bactériennes et l'activité antifongique 2 souches champignons et 1 levure.

**IV.2. Matériel végétal :**

Pour les trois échantillons, les parties aériennes d'*Artemisia absinthium L*, *Mentha pulegioides L*, et *Maribium Vulgare L* ont été récoltées de l'Ouest de l'Algérie à Saida SIDI MAAMAR exactement (34.8382° N, 0.1481° E) , pendant la période de floraison (mai 2022). Les plantes ont été identifiées par Mr Terras (laboratoire de recherche des ressources hydriques et environnements).

Le matériel végétal a été étalé sur le sol et laissé sécher à température ambiante pendant (14-21 jours) à l'abri de la lumière directe du soleil. Une fois séché, une partie servira à l'extraction des huiles essentielles et l'autre broyée en une poudre fine, pour être soumise à des tests phytochimiques et également différentes extractions.



**Figure 9** : situation de la région de Saïda .



**Photos 03** : les plantes étudiées (a) ;*Marrubium vulgare L* , (b) ; *Mentha pulegium L* et (c) ;*Artemisia abinthium* .

### IV.3. Les procédures d'extraction :

#### IV.3.1. Extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont extraites par hydrodistillation selon la méthode décrite par (Farhat, 2010) des quantités de (70g) de chaque matière végétale séchée sont mises dans 600 ml d'eau distillée puis chauffées pendant 3 heures. Les vapeurs refroidies sont ensuite récupérées. Les huiles obtenues sont séchées à l'aide de sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) et conservées dans des flacons de verre hermétique à  $+4^\circ\text{C}$  pour être ensuite analysées.



**Photo 04:**Montage d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles.

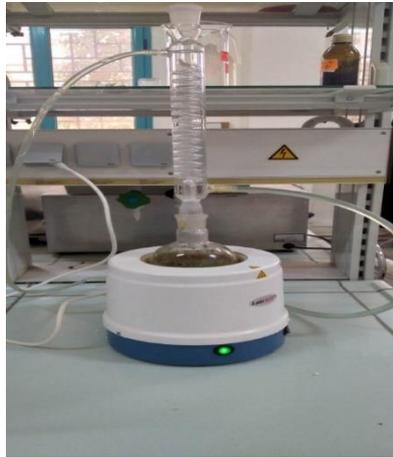


**Photo 05 :** les huiles essentielles *d'Artemisia absinthium L* et *Mentha pulegium L*  
(respctivement)

Le rendement en huile essentiel obtenue est détermine comme suit :

$$\text{Huile}\%(\text{v/p}) = \frac{\text{poids d'huile extraite en(g)}}{\text{poids de l'échantillon traité en(g)}} \times 100$$

**V.3.2. préparation des extraits :**



**Photo 06 :** décoction de matière végétale.

**IV.3.2.1. Infusion en milieu aqueux :**

- ✓ Verser 100 ml d'eau distillée bouillante sur 5g du matériel végétal.
- ✓ Agiter et laisser le mélange refroidir.
- ✓ Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

**IV.3.2.2. Décoction en milieu aqueux :**

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et à l'aide d'une plaque chauffante sous agitateur.

- ✓ Mélanger 5g du matériel végétal avec 100ml d'eau distillée.
- ✓ Chauffer à une température d'ébullition stable, pendant 1 heure.
- ✓ Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

**IV.3.2.3. Décoction alcoolique :**

- ✓ Mélanger 5g de matériel végétal avec 100ml d'éthanol.
- ✓ Chauffer à une température d'ébullition stable, pendant 1 heure.
- ✓ Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

**IV.3.2.4. Macération en milieu aqueux :**

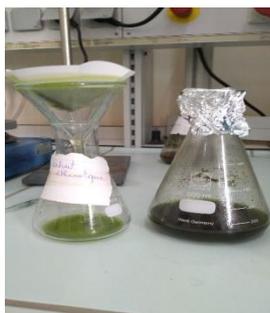
- ✓ Dans un Erlenmeyer, mettre 5g du matériel végétal avec 100ml d'eau distillée, sous agitation, à une température ambiante, pendant 24h.
- ✓ Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.



**Photos 07** : macération de l'extrait aqueux .

#### IV.3.2.5. Macération alcoolique :

- ✓ Dans un Erlenmeyer, mettre 5g du matériel végétal avec 100ml d'éthanol, sous agitation, à une température ambiante, pendant 24h.
- ✓ Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.



**Photos 08** : macération de l'extrait éthanolique .

#### IV.4. screening phytochimique:

Dans le cadre de la recherche de nouvelles biomolécules d'origine végétale, leur composition chimique est mieux déterminée par criblage phytochimique, nous avons caractérisé différents groupes chimiques (tanins, flavonoïdes, Anthocyanes, coumarines, composés réducteurs, stérols et stéroïdes d'amidon, alcaloïdes et saponines) pour comprendre la composition chimique du matériel végétal. Ils sont basés sur des essais de solubilité, sur des réactions de coloration et de précipitation ainsi que sur des examens en lumière ultra violette.

##### IV.4.1. les flavonoïdes :

On prend 5ml de l'extrait éthanolique et on ajoute , 1ml d'HCl concentré et 1g de tournure de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur

rouge ou rose : (+) présence des flavonoïdes ,(-) absence des flavonoïdes .(karumi et al,2004 )

**IV.4.2.les tanins :**

Un volume de 1 ml de l'extrait éthanolique , est additionné a 2à3 gouttes de la solution de FeCl<sub>3</sub> a 1% . Après quelques minutes d'incubation, la coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu-noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques .( karumi et al , 2004)

**IV.4.3.les coumarines :**

Une quantité de 1g de poudre végétale est solubilisée dans quelques gouttes d'eau chaude. la solution obtenue est recouverte avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence des coumarines. (Benmehdi ,2000)

**IV.4.4.Les composés réducteurs :**

On ajoute 20 gouttes de liqueur de Fehling a 1 ml de l'extrait éthanolique avec l'eau distillée puis chauffer. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un rouge brique (Trease et Evans, 1987).

**IV.4.5.les saponosides :**

2 ml de l'infusion aqueux avec 2 ml d'eau distillée sont bien mélangés pendant 2 min . La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides .(karumi et al ,2004 )

**IV.4.6. amidon :**

Traiter 5 ml d'extrait aqueux avec 10 ml de NaOH et le réactif d'amidon.L'apparition d'une coloration bleue violacée indique la présence d'amidon. ( Benmehdi ,2000)

**IV.4.7.test d'Anthocyanes :**

2 ml d'infusion aqueux sont ajoutés à 2 ml d'acide chlorhydrique HCl 2N, l'apparition d'une coloration rose rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyane.

( Benzeggouta , 2015 )

**IV.4.8.les alcaloïdes :**

Nous avons procédé a une macération de 24 heures de 2 grammes de poudre végétale mélangés a 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilué au demi et a de l'eau distillée . nous avons filtrés le mélange et rincé a l'eau de manière à obtenir 50 ml de filtrat . ensuite nous avons pris deux tubes a essaie dans lesquels nous avons introduit 1 ml du macéra . nous avons ajouté dans le

tube 1 , 5 gouttes de réactif de Mayer et dans le tube 2 , 5 gouttes de réactif de Wagner .La présence d'une turbidité ou d'un précipité , après 15 min indique la présence d'alcaloïdes .( **paris et al ., 1969** )

#### **IV.4.9.stérols et triterpènes :**

Deux essais ont été effectués :

➤ **Essai 1** :test pour les stérols et stéroïdes :

Un volume de 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer .après évaporation a sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml de chloroforme anhydre .ensuite, un mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydreacétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on agite et on laisse la solution se reposer .

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert ( maximum d'intensité en 30 min à 21°C .

➤ **Essai 2** : test pour les hétérosides stéroïdiques et tritèrpéniques :

Il consiste à évaporer a sec l'extrait éthanolique correspondant a 10 ml . ensuite, on dissout le résidu obtenu dans un mélange d'anhydreacétique/chloroforme (5/5 : V/V ) ; puis on filtre et on traite le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré ( réaction de Liebermann-Burchardt ) . si cette réaction donne des coloration verte-bleue et verte-violette , elle indique alors la présence respective des hétérosides stéroïdiques et tritèrpéniques.(**Trease et Evans ,1987** )

#### **IV.5.Evaluation de l'activité anti oxydante :**

pour évaluer l'activité antioxydante in vitro d'extraits naturels, différentes méthodes ont été développées. Nous avons utilisés deux tests chimiques, ils'agit de capacité Antioxydant total (CAT), le piégeage de radicaux libres 1,1-diphényl-2- Picrylhydrazine (DPPH`).

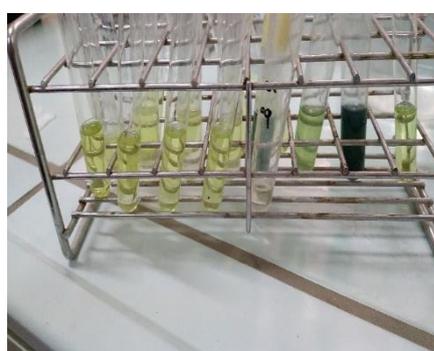
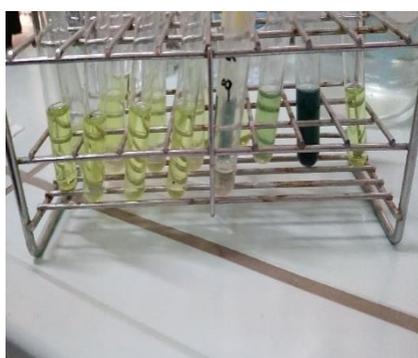
##### **IV.5.1.Activité de capacité Antioxydant total (CAT) :**

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène(**Prieto, P, et al., (1999** Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo(6) présent sous la forme d'ions molybdate MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> au molybdène Mo(5) MoO<sub>2</sub> + en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo(5) à pH acide.

**Mise en œuvre pratique :**

On prépare des dilution à différentes concentrations a partir d'une concentration de solution à (0.005g dans 10 ml éthanol pour l'extrait éthanolique ,l'huiles. 10ml d'eau distillée pour l'extrait aqueux) .

Une prise de 0.1 ml d'extrait ou huile convenablement dilué est combinée dans un tube avec 1ml de solution composée d'acide sulfurique (0.6 N), de phosphate de sodium ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ , 28 mM) et de molybdate d'ammonium ( $(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 4 mM).

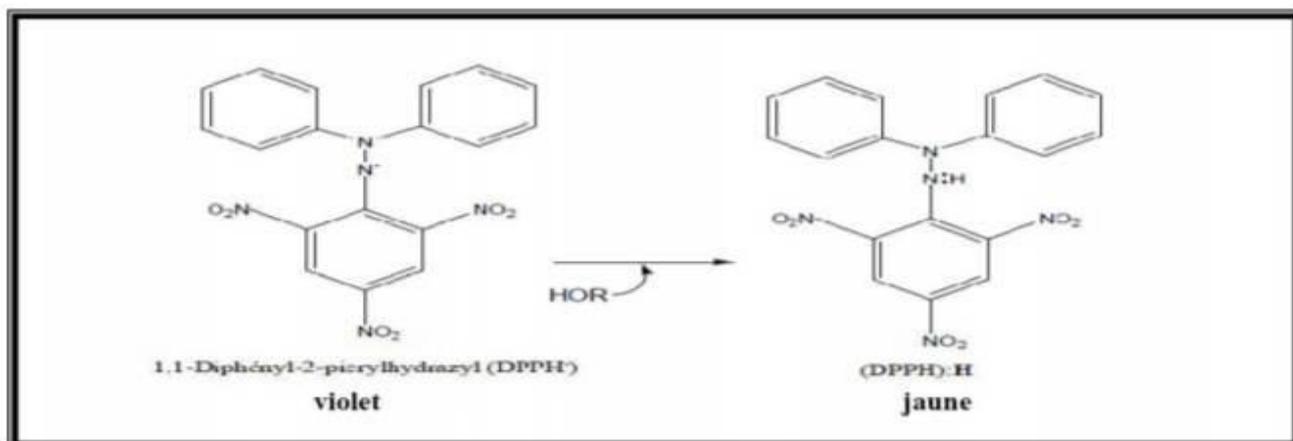


**Photos 09** :les dosages de l'activités antioxydant totale .

Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après un repos de 6 minutes à température ambiante, L'absorbance a été mesurée à 695 nm. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide galique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS) (zeragui ;2021)

**IV.5.2.Activité de piégeage des radicaux libres DPPH :**

le DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme de radical libre et de la simplicité de l'analyse. L'absorbance est mesurée à 515 nm. (Bozin, B ,et al.(2008)).

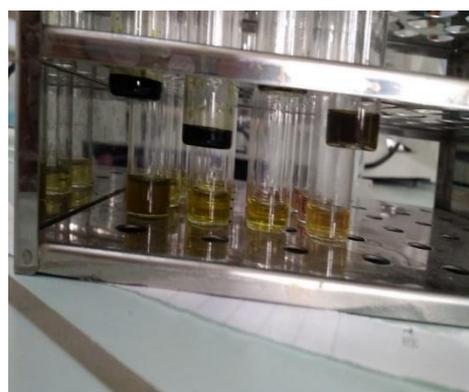


**Figure 10:** Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH<sup>°</sup> (Ancerewic et al., 1998).

➤ **Mise en œuvre pratique :**

Le protocole suivi est décrit par (Que F, Mao L, Pan X. (2006)). on prépare des dilutions à différentes concentrations à partir d'une concentration de solution à (0.005g dans 10 ml éthanol pour l'extrait éthanolique, l'huile. 10ml d'eau distillée pour l'extrait aqueux).

Dans des tubes on dépose 50 µl des huiles et extraits à différentes concentrations puis on ajoute 1950 µl de la solution méthanolique de DPPH 6,34.10<sup>-5</sup> M (0.0025g dans 100ml méthanol), Tous les dosages ont été réalisés 3 fois.



**Photos 10 :** réduction radical DPPH ( de couleur violette) au ( couleur jaune)

Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité, et l'absorbance a été mesurée à 515 nm contre un témoin négatif (l'eau ou le méthanol).

L'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage de réduction du DPPH° à l'aide de la formule suivante :

$$I\% = ((A_0 - A_T) / A_0) * 100$$

**A<sub>0</sub>** : Absorbance du contrôle.

**A<sub>T</sub>** : Absorbance du test effectué.

IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice 50%), également connue sous le nom d'EC<sub>50</sub> (concentration efficace 50), est la concentration de l'échantillon d'essai requise pour réduire les radicaux libres DPPH de 50%. Ce IC<sub>50</sub> est calculé graphiquement en représentant le pourcentage d'inhibition des concentrations des extraits testés. Acide ascorbique, acide gallique, acide tannique et BHA ont été utilisés comme contrôles positifs (Zeragui ; 2021).

#### **Calcul de l'activité anti radicalaire :**

Nous pouvons déduire l'activité anti-radicalaire de nos extraits en calculant l'inverse des valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées (Maisuthisakul et al., 2007).

$$AAR = 1/IC_{50}$$

#### **IV.6. Activité antidiabétique :**

##### **Préparation de la solution de l'alpha-amylase :**

L'enzyme utilisé est l'α-amylase sous forme lyophilisée. L'α-amylase a été solubilisée dans la solution tampon phosphate (0.02M, pH=6.9 ; NaCl 0.006M) dont la concentration est de 0.5 mg/ml.

##### **-Préparation de la solution du substrat :**

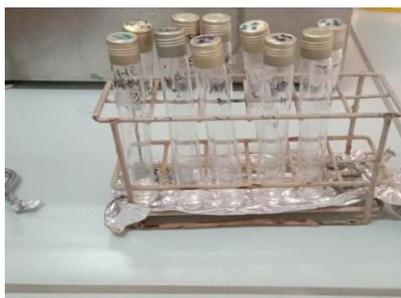
Le substrat utilisé est l'amidon soluble de pomme de terre. La concentration de l'amidon préparé dans la solution tampon phosphate (0.02 M, pH=6.9 ; NaCl 0.006 M) est de 1%.

**➤ Mise en œuvre pratique**

Test de l'inhibition de l'activité l'alpha-amylase, Le protocole suivi et décrite par (D'apostolidis et al.2007). On prépare des dilution à différentes concentrations a partir d'une concentration de solution à (0.005g dans 10 ml éthanol pour l'extrait éthanolique ,l'huiles. 10ml d'eau distillée pour l'extrait aqueux) .puis on dépose dans des tubes 500 µl la solution tampon phosphate (0.02M, ph=6.9 ; Na cl ,0.006M)et 100 µl la solution l'alpha-amylas.

Après l'incubation à 25 c° pendant 10 min .500 µl de la solution d'amidon à 1 % a été Ajouté à chaque tube, et le mélange réactionnel a été ensuit incubé à 25 c° pendant 10 min.

La rection a été stoppée avec 1 ml de l'Hcl les tubes à tester ont été incubés au bain marie à 95 c° pendant 5min puis refroidis à température ambiante. Le mélange a été dilué avec 10 ml de l'eau distillée, l'absorbance a été mesurée à 540 nm



**Photos 11** : dosage de l'activité antidiabétique.

L'acrbose à été utilisé comme contrôle positif pour tous les tests de cette étude avec différentes concentration (3.125-50 mg /ml).

L'inhibition de l'αamylase est exprimée par un pourcentage d'inhibition et calculé par l'équation suivant :

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

**IV.7.Evaluation activité antimicrobienne :**

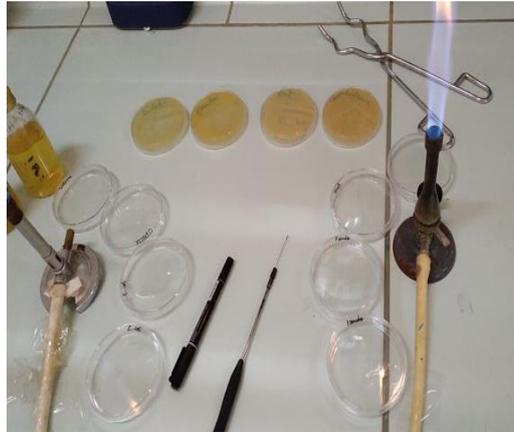
C'est une méthode de mesure in-vitro du pouvoir antibactérien et antifongique des composées. Cette technique compte deux méthodes, la méthode de diffusion et la méthode des puits, C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien (P.QUEZEL et S ,2018).

Pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne, quatre souches bactériennes et trois souches fongiques.

**IV.7.1.Matériel biologique :****Tableau 1** : les souches utilisées.

Souches pathogènes		Références
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19115
Gram négatif	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	ATCC27853
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
Les champignons	<i>Aspergillus niger</i>	
	<i>Penicillium notatum</i>	
Levure	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

**IV.7.2.Repiquage des souches :**



**Photos 12 :** le repiquage de souches bactériennes.

**a.Bactérie :**

Les 4 souches bactériennes conservées sont ensemencées dans des boîtes de Pétri contenant de gélose nutritive(GN) et incubées à 37°C pendant 24h, afin de stimuler leur croissance.

**b. Champignons:**

Les champignons sont ensemencés dans des boites pétri contenant de PDA pendant 4 à 5 jours afin de stimuler leur croissance.

Les levures sont ensemencées par la méthode des stries sur milieu **Sabouraud** en boîtes de Pétri. Ces dernières sont incubées à 25°C pendant 48h.

**c. conservation des souches :**

Les souches sont conservées à 6°C dans des Boites de pétrie stériles contenant milieu de culture gélose nutritive ( GN ) .

**IV.7.3.choix des milieux de culture :**

Suivant les méthodes utilisées dans l'essai et selon les souches, nous avons utilisée comme milieu de culture

**Mueller Hinton ( MH )** c'est le milieude culture utilisé pour étudierl'activité antibactérienne parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactérienne (**Gachkaret al..2006**) .ce milieu peu et est préparé selon la méthodesuivante : on pesé une quantité de poudre déshydraté du MH équivalente 38g et on ajoute 1000 ml d'eau distillé. le mélange de poudre l'eau distillé est chauffé sur une plaque

chauffante avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux

Le milieu MH est ensuite reparti dans des flacons stériles avant d'être autoclavé pendant 15 min à 121° C avec une pression de 1 bar .

#### **IV.7.4. Préparation de l'inoculum :**

Chaque souche est ensemencée au préalable sur un gélose nutritive, pour obtenir une culture de 18 à 24 h. Ensuite, 4 à 5 colonies bactériennes bien isolées à l'aide d'une anse de platine stérile sont mis en suspension dans un bouillon nutritif (ou en eau physiologique à 0,9 % NaCl). Puis cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,1 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 10<sup>8</sup> UFC/ ml (CA-SFM, 2010).

#### **IV.7.5. Préparation des disques :**

Les disques sont préparés à partir du papier filtre de 6 mm de diamètres, stériles ( la stérilisation à 120°C pendant 20 min par autoclavage ).

#### **IV.7.6. Ensemencement :**



**Photos 13 :** ensemencements et préparation des disques.

Cette opération doit se faire dans les 24 heures qui suivent la préparation de l'inoculum. Le protocole suivi est celui décrit par **Mazari et al (2010)**

On prend des boîtes de pétri stériles préalablement coulées, ensemencer la gélose Mueller Hinton avec la suspension sur la surface par la méthode d'écouvillonnage, laisser sécher.

Imprégner les disques dans 10 µl de chaque dilution à différentes concentrations pour l'huiles essentielles (1/2, 1/4, 1/6, 1/8) et extraits (0.5, 0.25, 0.15, 0.075 et 0.037 mg/ml) pour les bactéries et pour les champignons (0.25, 0.15, 0.075 mg/ml). Des essais témoins sont effectués avec le DMSO, Un disque préparé dans le même État avec seulement le volume correspondant de DMSO a été utilisé comme contrôle négatif.

L'activité a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone inhibitrice en mm après incubation à 37° C pendant 18 à 24h pour les bactéries, à 30° C pendant 48h pour levures (et 5 jours pour les champignons) (Beddou et al., 2014) ont été utilisés quelque antibiotiques comme des témoins positifs contre toutes les souches bactériennes.

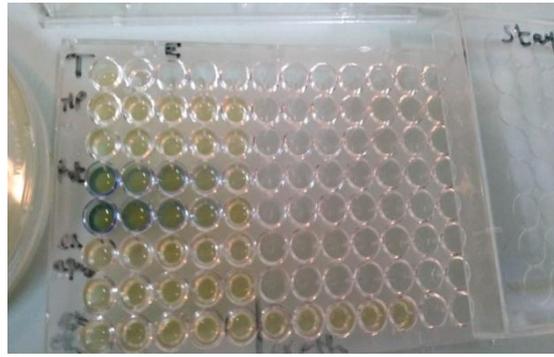
#### **IV.7.7. Lecture :**

à la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour des puits, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse une règle en mm (y compris le diamètre du puits de 6mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souche vis-à-vis de l'huile essentielles (Ponce et al., 2003).

#### **IV.8. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB) :**

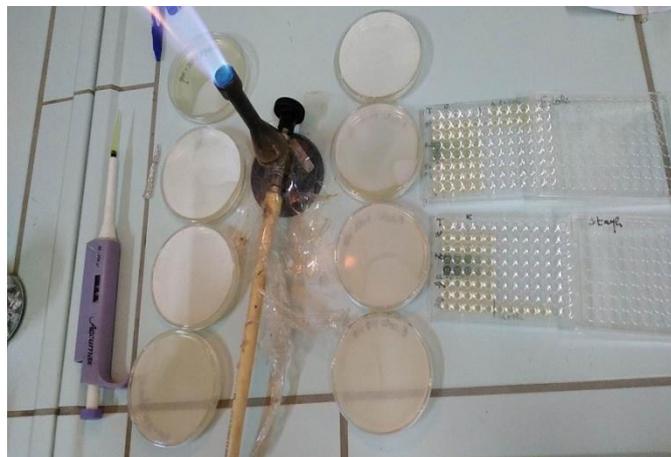
Pour chaque extrait et fraction organique, on prépare par la méthode de double dilution, une gamme de concentration stérile avec DMSO (5%)

On prépare également pour chaque souche bactérienne, un inoculum dont la turbidité est ajustée à 0.5 Mc Farland (soit 10<sup>6</sup> UFC/ml) et ramené à 10<sup>6</sup> UFC dans bouillon nutritif. Ensuite on utilise une microplaque à 96 puits on ajoute dans les puits 50 µl de chaque concentration et 150 µl d'inoculum bactérien. La gamme de concentration de chaque extrait suit comme suit : 1 ; 0.5 ; 0.25 ; 0.12 mg/ml, et pour l'huile : 1/2 ; 1/4 ; 1/8 ; 1/16 on prépare également dans un puit témoin de croissance contenant 50 µl DMSO et 150 µl d'inoculum, sont incubés à 37° C pendant 24 heures. Après l'incubation, on examine la croissance bactérienne, dans chaque puits, qui se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe.



**Photo 14 :** Détermination de CMI par la méthode de micro-dilution.

Pour déterminé la CMB, On effectué des repiquages en strie, sur une gélose des puits sans croissance visible. Ces repiquages sont ensuite incubé à 37°C et 24 heures après. On surveille la croissance bactérienne.



**Photo15 :** détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

## *Chapitre V : Résultats et discussion*

## V. screening phytochimique et activité biologique in vitro des huiles essentielles et des extraits de *Mentha pulegium* et *Artemisia absinthium* et *Marrubium vulgare*:

### V.1. screening phytochimiques des plantes étudiées :

Un test phytochimique permet l'identification des différentes familles des métabolites secondaires existants dans les parties aériennes de nos trois plantes *Mentha pulegium* et *Artemisia absinthium* et *Marrubium vulgare*. Ils sont réalisés sur différents extraits préparés par des solvants de polarités différentes. La détection de ces composés chimiques est basée sur les réactions de couleur, de précipitation et de turbidité, les résultats relatifs au screening phytochimique sont regroupés dans le **tableau (02)**

**Tableau 2** : résultats des tests phytochimiques des extraits des plantes étudiées.

Les tests	Les plantes		
	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Artemisia absinthium</i>	<i>Marrubium vulgare</i>
Tannins	+	+	+
Flavonoïdes	++	++	++
Anthocyanes	+	+	-
Alcaloïdes			
Mayer	+	+	-
Wagner	+	+	-
Saponosides	-	-	+
Stérols et triterpènes	++	++	++
Amidon	+	-	+
Coumarine	-	+	-
Composants réducteurs	-	-	-

(+) = présence en faible quantité ;(++)=présence en quantité moyenne ;(-)= absence.

D'après les résultats obtenus du test phytochimique des différentes préparations des plantes étudiées, *Mentha pelgium L*, *Arthemisia absinthium L* et *Marrubium vulgare L* caractérisées par la présence de plusieurs métabolites secondaires au niveau de tissus végétaux de nos plantes, à savoir les flavonoïdes, les tanins, les stéroïdes, et triterpéniques avec des intensités variables dans les trois plantes.

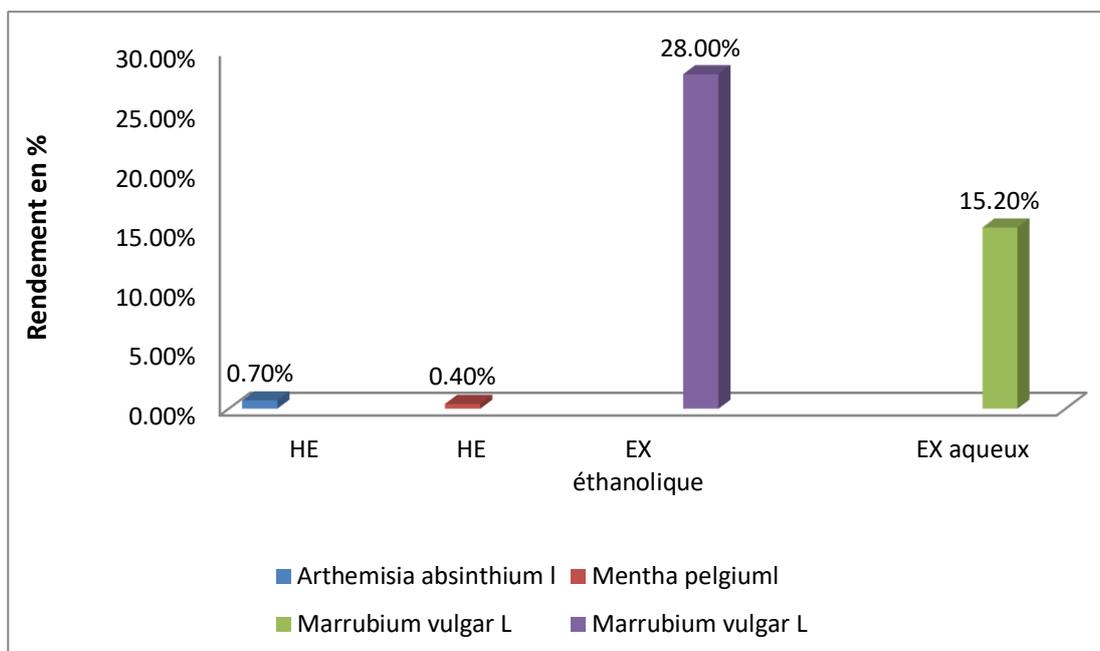
Pour le *Mentha pelgium L* il y a une absence des saponosides, des coumarines et des composants réducteurs. et la présence des autres groupes testés (les flavonoïdes, les tanins, et les Anthocyanes). Ces données sont comparables à celles obtenues par (Naidu, J.R, et al., 2012)

Le screening phytochimique de l'*Arthemisia absinthium L* a révélé sa richesse en flavonoïdes, Coumarine, stéroïdes, triterpènes et Anthocyanes et l'absence des autres groupes testés (Amidon, Composants réducteurs, et Saponosides). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Sabeg et Ghouar, 2018).

Le test phytochimique de *Marrubium vulgare L* sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature par les travaux de (Djahra., 2014) qui confirme la présence des cinq composés du métabolisme secondaires : Amidon, tanins, flavonoïdes, Saponosides, stéroïdes et triterpènes, et a montré également l'absence de quatre principes actifs dont l'importance en phytothérapie est non négligeable tels que, les alcaloïdes, les coumarines, les composants réducteurs et les Anthocyanes et ils sont cohérents également aux résultats trouvés par (Bouzourene et al., 2016).

## **V.2. Rendements des huiles essentielles et des extraits :**

L'extraction des principes actifs, à partir de la matière végétale, suscite actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leurs pouvoirs biologiques. Les rendements massiques de nos extraits sont représentés dans la figure (11)



**Figure 11:** Rendements des huiles essentielles et extraies des trois plantes étudiées.

L'hydrodistillation des parties aériennes d'*Artemisia absinthium* L et *Mentha pulegium* L a donné respectivement une huile fluide bleu caractérisée par une forte odeur spécifique, avec un rendement de 0.7 % pour la première et une huile visqueuse jaunâtre caractérisée par une forte odeur menthe avec un rendement faible de 0.4 % pour le deuxième. (Figure 11). Des rendements de 0.5% et 0.9% sont obtenus à partir d' *Artemisia absinthium* L. de l'ouest d'Algérie respectivement ((CHALGOU & ZERARI, 2021 ; ABID & AOUNALLAH, 2020). le rendement d'*Artemisia absinthium* L. trouvé dans notre étude est plus élevé que ceux rapportés dans les études des différentes régions en Algérie ; il est de : 0,163% dans la région de Djelfa (Chaoui & Chagroune, 2019) ; 0,5% à Cherchell wilaya de Tipaza (BOUCHENAK et al., 2018)

Le rendement en huile essentielle de *Mentha pulegium* L est de 0.4% , ce résultat est nettement inférieur à celui reporté par Bouhaddouda (2016), qu'il est obtenu des résultats de 2,69% .L'espèce *Mentha pulegium* L de notre région a aussi montré un rendement plus faible à celui des études ultérieures menées dans différentes régions dans le monde. Ainsi, la menthepouliot collectée en Iran avec un rendement de 0.65% (Kamkar et al., 2010), en Portugal avec 0.7% (Mata et al., 2007) et en Turquie, où le rendement obtenu varie de 0.3 à 1.2% (Başer et al., 2012). Néanmoins, le rendement obtenu est inférieur à celui de l'espèce collectée au Maroc avec 2.7% (Ait-Ouazzou et al., 2012). En revanche, le rendement en huile essentielle obtenu avec *Mentha pulegium* L est inférieur à celui obtenu par Lahrech en 2010 dans la région d'Oran qui est de 0.33%. Ce qui confirme que la région d'origine influence fortement la sécrétion de l'huile d'une plante aromatique.

Donc les variations des rendements entre les armoise peuvent être expliquée par la nature de l'espèce et attribuées selon les compositions chimique de l'huile essentielle qui sont variable qualitativement et quantitativement non seulement à l'origine géographique de la plante, mais également aux nombreux facteurs comme : le stade de croissance de la plante (**Bourkhiss et al.,2009**)

Le rendement d'extraite est calculé par rapport au poids de la matière sèche du *Marrubium vulgare* L ,15.20% pour l'extrait aqueux , et 28% pour l'extrait éthanolique . Le rendement obtenu avec l'éthanol comme solvant d'extraction est supérieur à celui obtenu par extraction à l'eau distillée. On peut dire que l'espèce de *Marrube* contient plus de métabolites solubles dans l'éthanol que dans l'eau distillée. Une étude faite sur les feuilles de *Marrubium vulgare* récoltées du mont de Tessala (Oran), adonné un rendement de 32.5% (**Bouterfas et al., 2014**), ce résultat est largement supérieur au rendement qu'on a obtenue. (**Bouterfas et al.,2014** )

En dehors de l'Algérie, une étude est faite sur le *Marrubium* blanc en Tunisie, récoltée de six régions différentes, a montré un rendement moyen de 8.9% d'extrait éthanolique (**Boulilaet al., 2015**), un résultat qui reste largement plus faible comparé au nôtre .

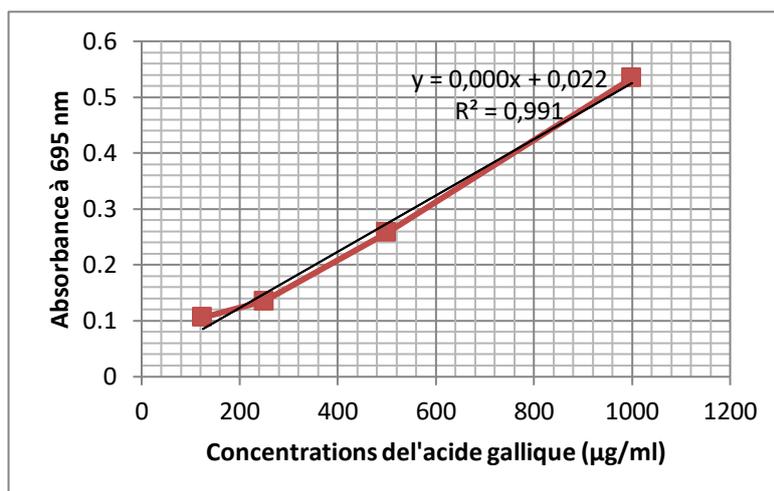
## **VI. Les activités biologiques :**

### **VI.1. Activité antioxydante :**

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des extraits des plantes a été réalisée par deux techniques : capacité antioxydante totale, le piégeage du radical libre DPPH .

#### **VI.1.1. Capacité antioxydante totale ( CAT ) :**

Les huiles essentielles d'*Artemisia absintium* L et *Mentha pulegium* L et les extraits de *Marrubium vulgare* ont été testés pour leur capacité antioxydante totale (CAT). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/gMS) et sont présentés dans le **tableau 03**, les données ont été obtenues à partir d'une courbe d'étalonnage établie à l'aide de l'acide gallique comme référence (**figure(12)**)



**Figure 12 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la détermination de la capacité antioxydante totale .

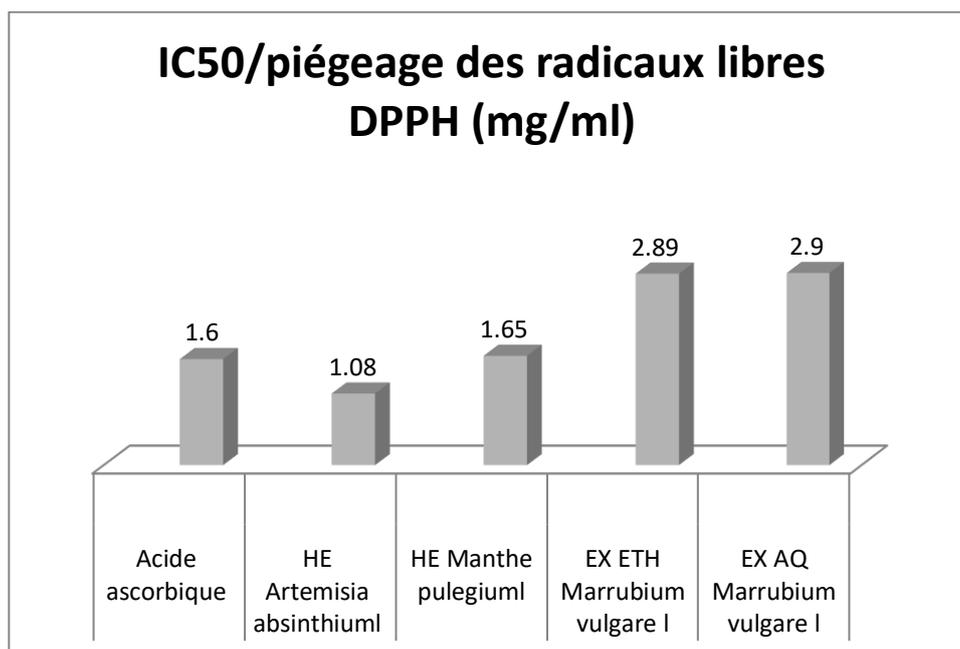
**Tableau3 :** les valeurs de la capacité antioxydant totale CAT .

Type d'extrait	Les valeurs en mg EAG/Gms
HE <i>Artemisia absinthium</i>	0.13
HE <i>Mentha pulegium</i>	0.15
Extrait éthanolique mv	0.2
Extrait aqueux mv	0.3

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique réalisée pour détermination de la capacité antioxydante total est figurée dans (**figure 12**).les résultats de cette activité indiquent que Extrait aqueux de *Marrbum vulgarL* présente une forte capacité antioxydante (0.3 mgEAG/g MS) par rapport aux autres huiles essentielles et extraits.

### VI.1.2. Test de piégeage du DPPH :

L'activité antioxydant des huiles essentielles d'*Artemisia absintium L* et *Mentha pulegium L* et des extraits de *Marrbum vulgar L* a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, les résultats sont donnés en valeur IC50 représente essentiellement la concentration requise pour qu'un antioxydant atteigne 50% du piégeage des radicaux DPPH (**figure13**)



**Figure13:** Valeur des IC50 du test de piégeage des radicaux libres DPPH des extraits des plantes étudiées.

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH et de l'activité anti-radicalaire. ils démontrent que l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* L a exercé une excellente activité inhibitrice du radical DPPH avec un IC50 = 1.08 mg/ml, suivi par celles d'huile essentielle de *Mentha pulegium* L avec un IC50=1.67mg/ml et par suite une valeur modéré de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L avec un (IC50= 2.59mg/ml) et (IC50 =2.89mg/ml). Ce qui est également considéré comme une valeur modéré.

Il est important de noter que l'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydant d'un composé. Cette valeur exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration du radical libre de 50 %. Ainsi, plus la valeur de l'IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est élevée. Dans ce cas, L'huile essentielle de d'*Artemisia absinthium*L à montré une activité antioxydant élevée avec un (IC50 =1.08 mg/ml) par rapport le standard acide ascorbique qui possède(IC50=3.03 mg/ml )qui montre que l'essence de cette plante est dotée d'une importante efficacité réductrice du radical DPPH .ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans l'études menées par (Shiboob (2018)), Néanmoins nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par (Nasr et al.2020)

D'après les résultats obtenus , L'huile essentielle de *Mentha pulegium* L montré une activité antioxydante élevée par rapport au standard acide ascorbique, de nombreuses études sont révéler que

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* L était capable d'agir comme piègeur de radicaux libres en réduisant le DPPH de la couleur jaune en donnant un atome d'hydrogène (Abdeli et al., 2016) pour le *Mentha pouliot* L Iranienne est beaucoup plus faibles que celles trouvées par (Salem et al., 2018)

Ces résultats montrent que *Marrubium vulgare* L présente des valeurs IC50 moyennes pour les extraits d'éthanolique et aqueux (2.89 et 2.59 mg/ml, respectivement) par rapport l'acide ascorbique IC50=3.03 mg/ml indiquant une grande capacité de l'extrait correspondant à donner de l'hydrogène et piéger le radical DPPH libre, ce qui pourrait être du à sa composition phénolique (Nawel et al., 2017), les résultats de notre travail sont plus élevés que ceux rapportés par Boudjelal, (2012) qui évaluent l'aptitude à piéger les radicaux libres DPPH de l'extrait aqueux de à IC50=0.49 mg/ml et de l'extrait éthanolique IC50= 0.18 mg/ml de *Marrubium Vulgare* L.

Selon (Afssap, 2008) le pouvoir antioxydant des huiles et des extrais est sur tout lié aux phénols et polyphénols présents dans sa composition.

## VI.2. Activité antidiabétique (Test de l'inhibition de l'alphaamylase) :

L'inhibition de l'alpha amylase par l'huiles essentielles des différentes plantes étudiées est exprimée en mg équivalent Acarbose par gramme d'huile essentielle ou d'extrait (mg EA.g-1 HE), à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisant l'acrabose comme référence ( $y=6.1338x+44.258$ ,  $R^2=0.4985$ )

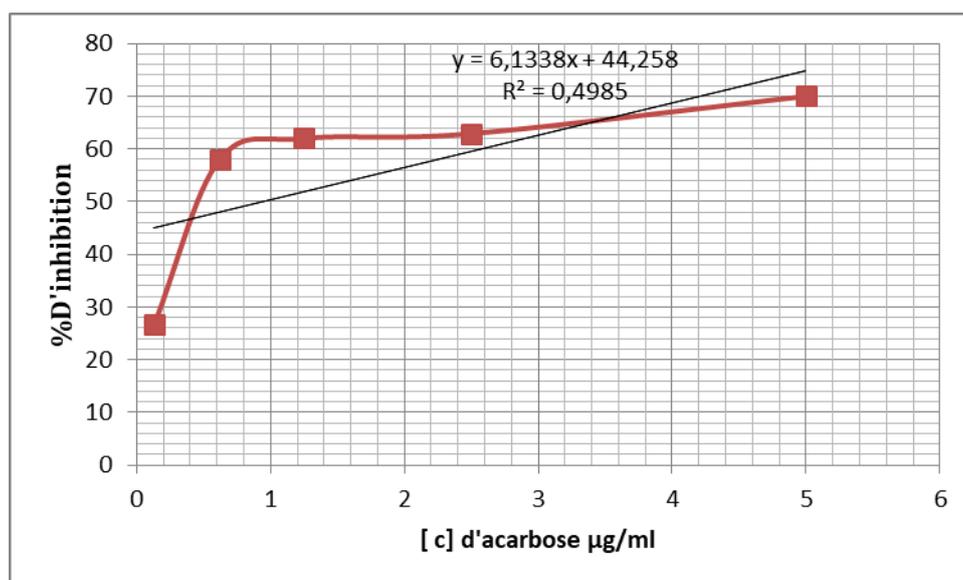
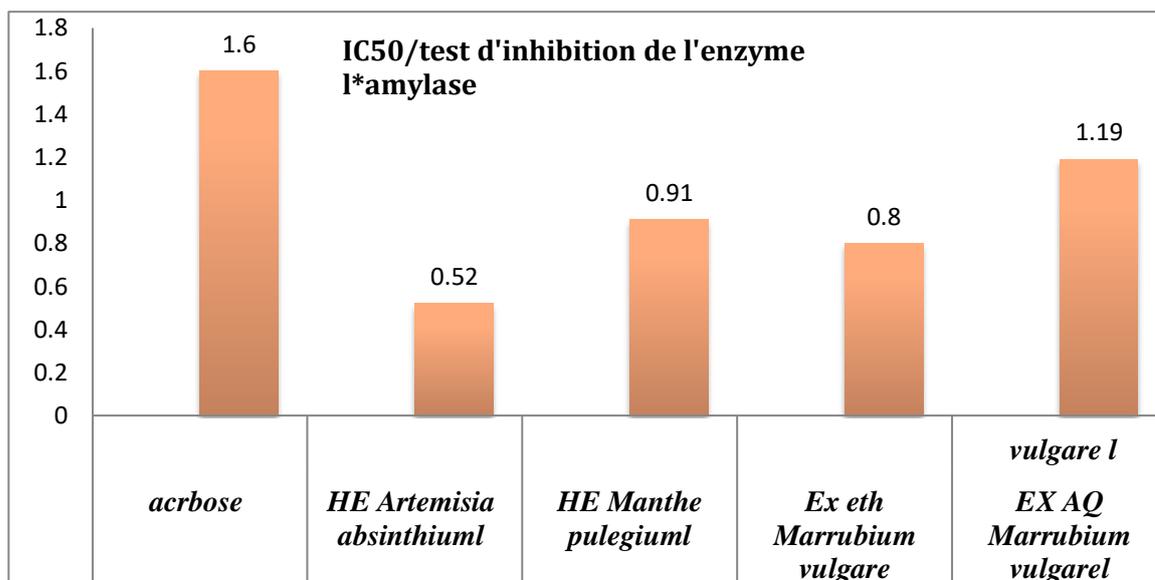


Figure 13 : la courbe d'étalonnage d'acarbose



**Figure 14** : les valeurs IC50 de test d'inhibition de l'enzyme de l'alpha amylase des huiles et des extraits.

Les enzymes jouent un rôle crucial dans le déroulement des phénomènes biologiques endogènes, elles catalysent les bio réactions de synthèse, de dégradation et de transformation à l'échelle moléculaire et cellulaire. Elles sont associées aux plusieurs perturbations métaboliques en provoquant ainsi des dizaines de maladies qui sont parfois lourdes. Plusieurs stratégies thérapeutiques ont été pratiquées par les cliniciens pour la bonne gestion de ce genre de maladies y compris la modulation de l'activité enzymatique à titre préventif et /ou curatif. Dans cette partie du travail, nous avons évalué l'activité inhibitrice de nos huiles et extraits sur l'enzyme de l'alpha amylase qui sont liées aux diabètes de type 2.

Le diabète, notamment de type 2, est actuellement largement disséminé à l'échelle mondiale, particulièrement chez les personnes âgées et obèses. Il est considéré comme un désordre métabolique associé à des complications graves. Pour une bonne gestion de cette maladie, les cliniciens cherchent à contrôler la glycémie postprandiale des personnes diabétiques via l'inhibition de l'une des enzymes de gestion des glucides comme l'alpha amylase.

La figure (14) montre que l'huile essentielle la plus active est celle d'*Artemisia absinthium* L (0.52 mg .EA /g .HE ) suivie de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* ( 0.8 mg.EA.g-1.HE) et de l'HE de *Mentha pulegium* L (0.91 mg .EA . g-1 .HE ), en dernier lieu on a retrouvé celle de l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* L .

### VI.3.activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne des HE obtenues à partir de *Artemisia absinthium L.*, et *Mentha pulegium L.*, et les extraits à partir de *Marrubium vulgare L.* sont quantifiées et qualifiées par les méthodes de diffusion sur disque contenant extrait à tester vis-à-vis de (7) germes pathogènes deux de gram+ (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) et deux de gram- (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*), et les souches fongique (*Candida albicans*) (*Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*). L'objectif est d'évaluer leurs propriétés antimicrobienne par la présence ou l'absence de zones d'inhibition et de diamètre de zone les résultats sont résumés dans le **tableau 04**

Tableau 4 :diamètre d'inhibition des souches testés vis-à-vis les différents extraits en mm.

Activité antimicrobienne																			
HE <i>d'Artemisia absinthiumL</i> mg/ml					HE de <i>Mentha pulegiumL</i> Mg/ml					Les extraits de <i>Marrubium Vulgar L</i>					dms				
										Extrait aqueux Mg/ml				Extrait éthanolique mg/ml					
P	1	0.5	0.25	0.125	p	1	0.5	0.25	0.125	1	0.5	0.25	0.125	1	0.5	0.25	0.125	5	
<b>ram -</b>																			
seudo	27	21	25	23	22	45	28	30	23	20	15	10	10	10	6	/	/	/	6
coli	20	17	20	10	0.9	45	40	24	20	10	10	7.5	/	/	10	15	/	/	6
<b>ram +</b>																			
aph	18	10	15	10	28	40	37	30	27	15	25	15	10	5	13	10	6	/	6
ysteria	22	17	20	21	17	35	36	26	15	12	10	7.5	5	5	12	15	17	10	6
<b>ctivité antifongique</b>																			
andida	10	15	5	15	10	40	30	15	20	15	10	9	7	6	14	11	8	6	6
sp	30	28	15	18	10	50	39	20	19	10	15	12	10	25	6	10	15	12	6
en	40	35	10	12	37	40	35	25	20	40	25	20	20	15	15	18	10	7	6

Les diamètres des zones d'inhibition moins de 7 mm ont été enregistrées comme inactifs entre 7et 10mm ont été enregistrés comme faiblement active, de 10mmet moins de 15 mm, ont été enregistrés comme modérément actif et beaucoup active quand un diamètre d'inhibition de la croissance ont été de plus de 16 mm.

Tableau 5: degrés de sensibilité des souches

	HE d' <i>Artemisia absinthium L</i>					HE de <i>Mentha pulegium L</i>					Les extraits de <i>Marrubium vulgare L</i>							
	P	1	0.5	0.25	0.125	p	1	0.5	0.25	0.125	Extrait aqueux				Extrait éthanolique			
Bactéries	P	1	0.5	0.25	0.125	p	1	0.5	0.25	0.125	1	0.5	0.25	0.125	1	0.5	0.25	0.125
Gram -																		
Pseudo	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	M.A	F.A	F.A	F.A	FA	FA	/	//
E coli	T.A	T.A	T.A	F.A	F.A	T.A	T.A	T.A	T.A	M.A	F.A	F.A	/	/	F.A	M.A	/	/
Gram +																		
Staph	T.A	F.A	M.A	FA	TA	T.A	T.A	T.A	T.A	M.A	T.A	M.A	F.A	I	M.A	F.A	I	/
Listeria	T.A	T.A	T.A	TA	TA	T.A	T.A	T.A	M.A	M.A	F.A	F.A	I	I	M.A	M.A	T.A	F.A
Champignons						-												
Candida	F.A	M.A	I	M.A	F.A	T.A	T.A	M.A	T.A	M.A	F.A	F.A	F.A	I	M.A	M.A	F.A	I
Asp	T.A	T.A	M.A	T.A	F.A	T.A	T.A	T.A	T.A	F.A	M.A	M.A	F.A	T.A	I	FA	M.A	M.A
Pen	T.A	T.A	F.A	M.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	T.A	M.A	M.A	T.A	F.A	I

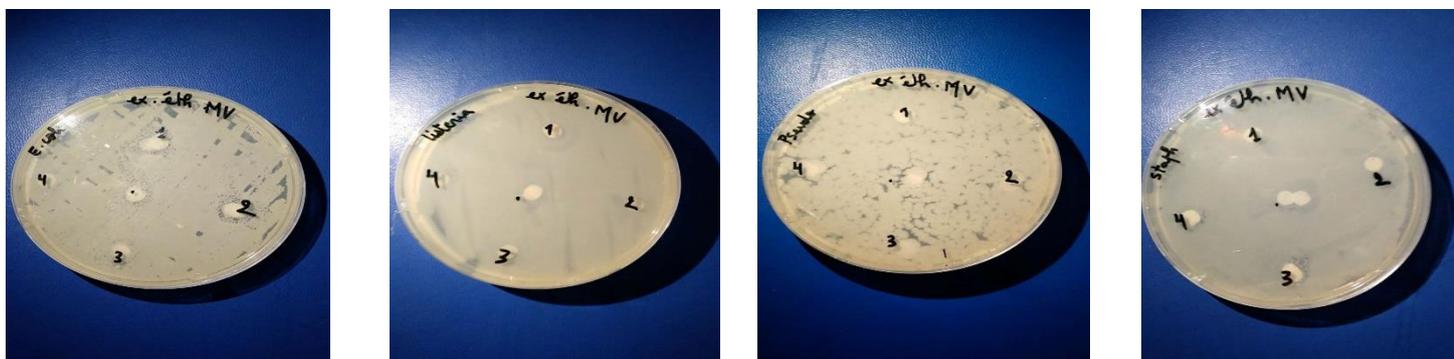
I : inactive ; F.A : faiblement actif ; M.A : modérément actif ; T.A : très active .



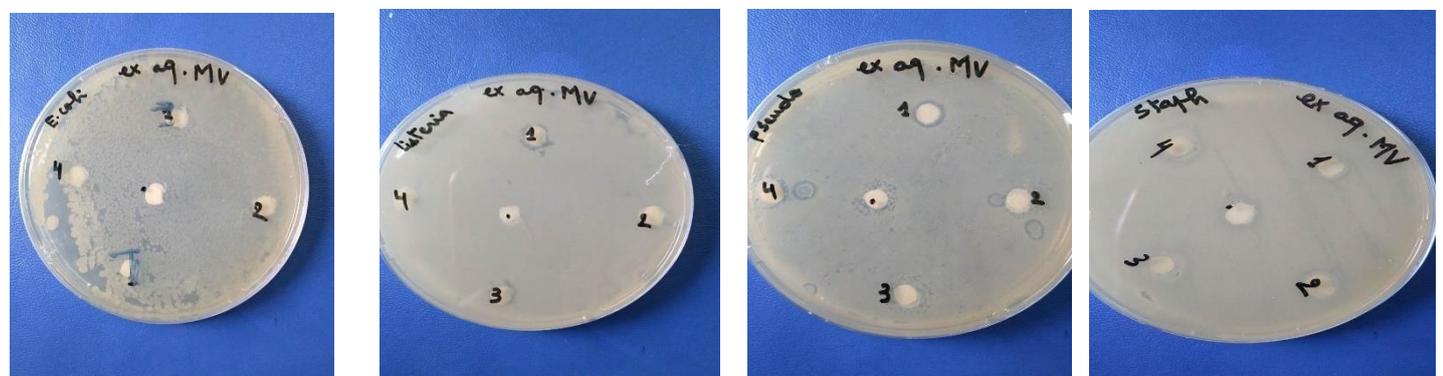
Photos 15: résultats des souches bactériennes testé pour l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* .



Photos 16: résultats des souches testés pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium* .



Photos 17 : résultats des souches testés pour l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* .



Photos 18: résultats des souches testés pour l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* .



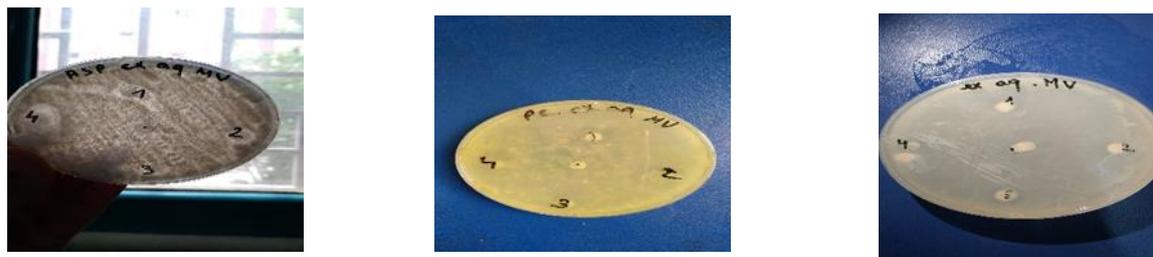
**Photo 19** : résultats des souches fongiques testés pour l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium*.



**Photo 20** : résultats des souches fongiques testés pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium*.



**Photo 21** : résultats des souches fongiques testés pour l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare*.



**Photo 22** : résultats des souches testés pour l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare*.

Ces résultats indiquent que l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* présente une activité antibactérienne et antifongique significative à modéré sur toutes les souches testées avec un diamètre d'inhibition compris entre 9 et 40 mm. Les souches les plus sensibles sont *pseudomonas aeruginosa*, *E coli*, *Listeria monocytogenes*, *staphylococcus aureus*, *aspergillus niger* et *penicillium notatum*, l'activité la plus faible est noté contre la souche fongique *Candida albicans* avec un diamètre des zones d'inhibition compris entre 5 à 15 mm. C'est résultats sont en accord a(Zouari et al .2010). Dans leur étude, ont signalé que les HE des feuilles d'A .absinthium

inhibé toutes les souches avec des diamètres variés. Son activité antibactérienne est importante puisque les diamètres d'inhibition sont supérieurs à 15mm. Notons que l'inhibition est maximale pour la souche *Listeria monocytogenes* avec une valeur moyenne de 34mm, pour *Staphylococcus aureus*, elle est de 30mm. Le reste des souches sont presque de sensibilités identiques.

des études au centre agricole Scotlandais mettant l'accent sur la nature antimicrobienne des huiles volatiles ont révélé que l'huile d'*Absinthe* africaine, constituée d'un mélange de mono-terpènes, est active contre plusieurs souches bactériennes entre autre: *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Brevibacterium linens* et *Yersinia enterocolitica* (**Khebri, S. (2011)**)

Huile d'*A. absinthium* présentent une similarité quant à leurs activités antibactériennes. Ceci est prévisible vue la similarité de leurs profils chimiques; dominé essentiellement par le camphre (44,93%) (**Khebri .2011**).

L'activité antifongique de l'huile d'absinthe peut être expliquée par sa richesse en composés oxygénés monoterpéniques (64,29%) comme le thuyone, le 4-terpinéol et le  $\alpha$ terpinéol contenus dans cette huile, et les composés phénoliques et flavonoïdes contenus dans les extraits méthanoliques, qui agissent comme des antiseptiques, anti-inflammatoires et antimicrobiens (**Bouchenak et al ., 2018**).

Les travaux de (**juteau F,et al.,2003**), montrent que les huiles essentielles extraites à partir de feuille d'*A. absinthium* L ont une bonne activité antifongique contre *Candida albicans*. Les résultats obtenus ont montré que cette plante qui est riche en 1,8-Cineole possède un pouvoir antifongique modéré sur les champignons testés. donc ces résultats sont en accord avec notre étude.

Concernant L'huile essentielle de *Mentha pulegium* L, présente une activité antibactérienne et antifongique très élevée contre toutes les souches testées avec un diamètre d'inhibition compris entre 12 et 50 mm. Mais en ce qui concerne les résultats obtenus par **Benabdallah (2008)** décrit des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de la menthe pouliot algérienne entre 10 et 22 mm, dont le diamètre le plus important concernait *E. coli*. Cependant, l'activité antibactérienne des huiles essentielles riche en pulégone a été rapportée, donc elle est complètement faible par rapport nos résultats.

nous avons conclu que les résultats que nous avons obtenus et identique aux résultats précédents obtenus par (**Cherrat. et al., (2014)**) menée que l'huile essentielle de la menthe pouliot du Maroc inhibe la croissance de toutes les souches bactériennes testées, avec des zones d'inhibition allant de 12.5 à 47.5 mm.

Les effets antibactériens de *Mentha pulegium* L sur les bactéries Gram-positives sont plus importants que sur les bactéries Gram-négatives, l'effet le plus important étant observé sur *Staphylococcus aureus*.(Usman.J .,2022)

Selon **Bouyahia et al., (2017)**, la variabilité des résultats obtenus pourrait être due à la composition chimique des huiles essentielles étudiées, aux souches bactériennes testées et aux méthodes utilisées.

Selon les résultats obtenus, il est possible de conclure que l'huile essentielle de *Mentha .pulegium* L a un grand spectre d'activité antibactérienne.

Le présent travail confirme l'activité antifongique de l'huile essentielle de *M. pulegium* ; en effet (**Lahlou N ,et al .,2005**) ont montré que 10 µl d'huile essentielle de cette plante inhibent la croissance d'un *Penicillium notatum*. De même, (**Hajlaoui et al. (2009)**) ont rapporté qu'une l'huile de *M. pulegium* de Tunisie contenant de la pulégone (61,11%), l'isomenthone (17,02%), la menthone (5,92%) et la pépéritone (2,63%) forme des zones d'inhibition autour de disques imprégnés de 10 µl d'huile dans les cultures d'*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*

Les travaux de (**Chebli et al.2003**)ont montré que la pulégone et le 1,8-cinéole purs provoquent une inhibition de la croissance mycélienne, mais à des concentrations plus élevées que les huiles essentielles dans leur totalité ; ainsi l'activité de l'huile essentielle est le résultat de ses composés majoritaires et aussi de l'effet synergique des composés minoritaires (**HAJLAOUI H,et al., (2009)**),

L'huile essentielle de *M. pulegium* L. a été étudiée par **Mahboubi et Haghi (2008)**,et son activité sur *Aspergillus niger* a montré un faible pouvoir antifongique .

Les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique des sommités fleuries et des feuilles du *Marrubium vulgare* L obtenus sont très faibles. sauf l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* L a donné une activité contre la souche fongique *penicillium notatum* , de même ( **Cushnie TPT, Lamb AJ (2011)** dans leur étude , ont signalé que les extraits hydroalcoolique de *Marrubium vulgare* L n'a eu d'effet contre les bactéries examinées (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ,et *Escherichia coli*). Les résultats ont indiqué que plusieurs paramètres peuvent influencer la détermination de l'activité antimicrobienne comme : le type des micro-organismes ciblés, la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, la concentration, le type de l'extrait et particulièrement la nature et la structure moléculaire des molécules bioactives des métabolites secondaires.

Selon **Sharif S, et al** ,(2009)La paroi de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Escherichia coli* (bactéries Gram négatives) est très riche en lipopolysaccharides (LPS) [lipide A, noyau oligosaccharidique et antigène O], qui empêchent les molécules comme les terpènes hydrophobes d'adhérer à lui. D'ailleurs, ces micro-organismes sont mobiles, il est probablement possible à ces bactéries d'être déplacées profondément dans l'agar nutritif de gélose, et par conséquent d'échapper ainsi à l'action des métabolites contenus dans les extraits du *Marrubium vulgare L.* La plus grande résistance du Gram (+) de *Staphylococcus aureus* vers les extraits peut être expliquée par la structure de paroi hétérogène de la bactérie : la présence de l'exopolysaccharide contenant une couche externe (glycocalyx), la présence de certains composants comme l'acide techoïque et quelques liens entre les divers composants donnent au polymère fortement réticulé de parois une structure tertiaire inconnue(**Sharif S, et al 2009**)

Des études complémentaires récentes s'intéressent sur l'activité antibactérienne de l'extrait *Marrubium vulgare L.* (**Aouadhi. C. et al.,en 2014**)ils ont trouvés que l'extrait *Marrubium vulgare L.* a une activité significative contre les bactéries Gram+positives et Gram-négatives. Tous ces résultats valorisent *M. vulgare L* comme plante médicinale qui peut être une source de composés actifs biologiques. Ainsi, cette espèce pourrait être une bonne source pour une enquête plus approfondie dans le développement de nouveaux antimicrobiens et même antioxydants. Il peut être utilisé comme additif naturel dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques au lieu de composés synthétiques plus toxiques.

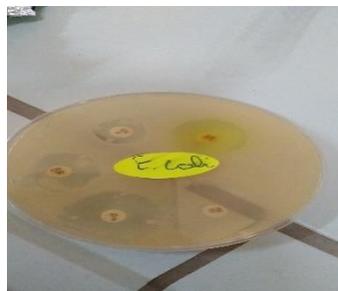
Les résultats de l'activité antifongique des feuilles du *Marrubium vulgare L* obtenus sont négatifs. Aucun extrait n'a eu d'effet contre les champignons examinés sauf la levure *Candida albicans* (**Bouterfas et al., (2016)**) ont étudié l'effet des différents extraits des *Marrubium vulgare L* vis-à-vis de *Candida albicans* et de *Aspergillus niger*, contrairement à nos résultats, tous les extraits ont montré un effet positif et des zones d'inhibition qui varie en fonction de la concentration des extraits , **Kanyonga et al. (2011)** ont montré que l'extrait de *Marrubium vulgare L* avait un effet plus faible, donc nos résultats en accord avec (**Bouterfas et al., (2016)**) .

Tableau 6 : résultats du test d'antibiogramme

	AK30	E15	NIT 300	OX5	GN30	AMP10
E.coli	30	26	23	17	23	20
Pseudo	R	R	26	R	R	R
Listeria	26	15	20	R	R	R
Staph	30	15	18	R	R	R



Staphylococcus aureus



Escherichia coli



Listeria monocytogenes



Pseudomonas aeruginosa

Photos 23 : résultats de l'antibiogramme

Six antibiotiques (AK30µg , E15µg , NIT300 µg .OX5 µg , CN 30 µg , AMP 10µg ) ont été testé par la méthode standard des disques. Les mesures des zones d'inhibition figurant dans le **tableau(06)** ont permis de classier les souches selon les antibiotiques. La plupart des souches testées ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards testés.

Les résultats des tests des antibiogrammes sont obtenus comme suit :

Pour l'antibiotique (ATB) AK 30 µg les souches bactériennes, l'*E. coli* ; *listeria monocytogenes* et *staphylococcus aureus* sont assez sensibles avec des zones d'inhibition de 30mm ±26 mm ;

30mm respectivement, et pour ATB E15 $\mu$ g les souches bactériennes, l'*E. coli* ; *listeria monocytogenes* et *staphylococcus aureus* sont assez sensibles avec des zones d'inhibition de 26mm ; 15mm ; 15mm, Pour ATB NIT300 $\mu$ g tout les souches bactéries sont très sensibles avec des zones d'inhibition de 23mm pour *E coli* , *pseudomonas aeruginosa* 26mm ; *listeria monocytogene* 20mm , et pour *staphylococcus aureus* 18mm .

toutes les souches bactériennes testés sont résistantes aux ATB ( OX5 , GN 30 , AMP 10 ) sauf *E coli* est sensible avec des zones d'inhibition de 17mm , 23mm , 20 mm respectivement.

#### VI.4.Détermination de la(CMI )et (CMB) :

L'évaluation des concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles d'*Artemisia absinthium* L et *Mentha pulegium* L et des extraits de *Marrubium vulgare* L nous a permis de mettre en évidence les concentrations minimales de nos huiles et extraits qui à partir des quelles les bactéries que nous avons testé sont inhiber, ces résultats sont présenter dans le tableau suivant :

**Tableau 7** : les différentes concentration minimale inhibitrice des différents huiles et extraits en mg/ml .

Les huiles et les extraits	Concentration minimale inhibitrice en mg/ml			
	HE artemisia absinthium	HE Mentha pulegium	Ex aqueux Marrubium vulgare	Ex éthanolique Marrubium vulgare
E. coli	0.01	0.036	0.15	0.07
Pseudomonas	0.14	0.01	0.31	0.07
Staphylococcus	0.01	0.072	0.15	0.15
Listeria	0.036	0.01	0.03	0.31

D'après les résultats décrits sur le **Tableau 07**, nous remarquons que les valeurs de CMI et Obtenues varient en fonction des huiles essentielles et des extraits utilisées et des souches bactérienne testées. L'huile essentielle d'*Artemisia absinthium*L montre une forte inhibition avec des valeurs de CMI plutôt faibles (0.01mg/ml pour *E. coli* et *Staphylococcus aureus*), sauf vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* (CMI de 0.14mg/ml)Par conséquent, nous

pouvons dire que *Pseudomonas aeruginosa* est la souche bactérienne la plus résistante à cette essence. Par ailleurs, l'huile essentielle de *Mentha pulegium L* présente une activité antibactérienne modère vis-à-vis de *E. coli* et *Staphylococcus aureus* à travers des valeurs moyenne de la CMI (0.036mg/ml,0.072 mg/ml) respectivement . Notons également que *Pseudomonas aeruginosa* et *Lysteria monocytogenes* se sont avérées être les souches les plus sensibles sous l'action de l'huile essentielle de *Mentha pulegium L* avec des valeurs très faible de la CMI (0.01mg/ml),concernat les extraits aqueux et éthanolique de *Marrubium vulgare L* .elles modérée à faible aux souches testées ,sa meilleure activité et contre *Lysteria monocytogenes* (0.03mg/ml) pour l'extrait aqueux et pour extrait éthanolique montre une activité contre *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* de CMI (0.07 MG/ML

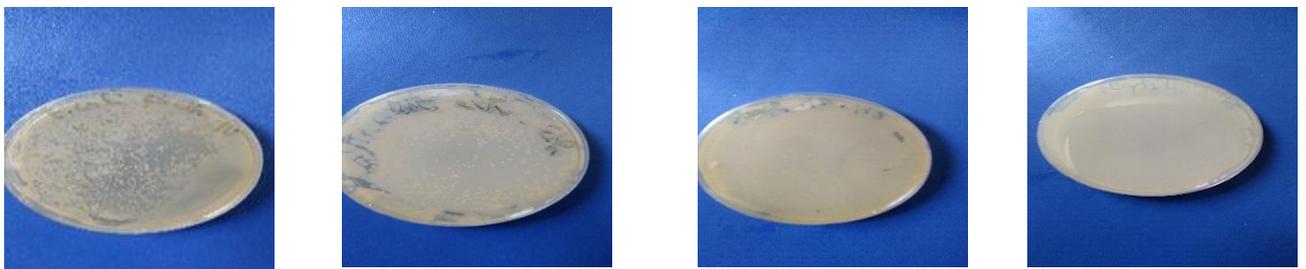


**Photos 24** : résultats de la CMB de l'huile d'*Artemisia absinthium* .



**Photos 25** : résultats de la CMB de l'huile de *Mentha pulegium* .

\*



**Photos 26** : résultats de la CMB de l'huile de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* .



**Photos 27 :** résultats de la CMB de l'huile de l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* .

A partir des résultats de la détermination de la CMB, nous notons que les extraits inhibent seulement la croissance des bactéries sans les tuer. Donc les huiles essentielles et les extraits ont un rôle bactériostatique.

## *Conclusion Générale et perspective*



## Conclusion :

Depuis des temps immémoriaux, l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques a été largement répandue. Grâce à l'intuition et à l'expérimentation, l'homme a su sélectionner des plantes à des fins alimentaires pour se nourrir, ainsi que des plantes médicinales pour se soigner. Même à l'heure actuelle, les plantes conservent leur importance en tant que source essentielle de médicaments, grâce aux propriétés thérapeutiques qu'elles offrent. En effet, elles renferment une vaste gamme de molécules bioactives synthétisées par la plante, dotées de propriétés biologiques telles que des effets antioxydants, antidiabétiques et antimicrobiens. Ces molécules peuvent jouer un rôle crucial dans la résolution de problèmes liés au stress oxydatif, notamment dans plusieurs pathologies telles que le cancer, le diabète et les maladies cardiovasculaires.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité antioxydant, antidiabétique, et antimicrobiens (antibactériennes, antifongique), screening phytochimiques, des huiles essentielles et des extraits de quelques plantes aromatiques originaires de l'ouest Algérien. Il s'agit de trois plantes *Artemisia absinthium* L., *Mentha pulegium* L. et *Marrubium Vulgare* L. qui poussent spontanément dans la région de Saïda.

La première partie de notre travail est consacrée à l'extraction des principes actifs de ces espèces. Pour mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires dans ces différents extraits, une analyse phytochimique est faite en se basant sur les propriétés physicochimiques de ces métabolites. La quantification de quelques classes des composés phénoliques (alcaloïdes, flavonoïdes, coumarines et tanins...). Nos résultats montrent que nos plantes sont riches en flavonoïdes.

La deuxième partie de notre travail est consacrée à l'étude de la ... et de celles des activités antioxydantes, antidiabétiques, et antimicrobiennes des huiles essentielles et des extraits de nos plantes. L'hydrodistillation des parties aériennes d'*Artemisia absinthium* L. et *Mentha pulegium* L. a donné respectivement une huile fluide bleue caractérisée par une forte odeur spécifique, avec un rendement de 0.7 % pour la première et une huile visqueuse jaunâtre caractérisée par une forte odeur avec un rendement faible de 0.4 % pour la deuxième, pour *Marrubium vulgare* L., 15.20% pour l'extrait aqueux, et 28% pour l'extrait éthanolique. L'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits est évaluée le test de piégeage des radicaux libres DPPH. L'huile essentielle de *Artemisia absinthium* L. a montré une activité antioxydante élevée avec un  $IC_{50}=1.08$  mg/ml suivi par celle de l'huile essentielle de *Mentha*

*pulegium* L avec un  $IC_{50}=1.67\text{mg/ml}$  , et par suite une valeur acceptable de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L avec un  $IC_{50}= 2.59\text{mg/ml}$  et  $IC_{50}=2.89\text{mg/ml}$  respectivement , par rapport le standards l'acide ascorbique avec un  $IC_{50}=3.03\text{mg/ml}$  ,et ont des propriétés antioxydantes (CAT) intéressantes .la plus grandecapacité antioxydante totale ( $0.3.\text{mgEAG/g MS}$ ) ,ont été obtenus pour l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* l.l'activite antidiabétiques ( le test d'inhibition de l'enzyme l'alpha-amylase)la meilleur activité est obtenue avec un valeur de  $IC_{50}$  de  $0.52\text{ mg.EAg-1HE}$  par rapport aux standard Acbose .l'activité antimicrobienne in vitro des huiles essentielles et des extraits est évaluée contre quatre bactéries pathogènes d'origine alimentaire et trois souches fongique en utilisant la méthode de diffusion sur disque puis ,les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) sont déterminées par micro dilution ,et pour la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) les huiles essentielles et les extraits ont un rôle bactériostatique .

Il serait donc particulièrement intéressant de mener des études approfondies sur ces plantes afin d'identifier leurs métabolites secondaires et de mettre en évidence leurs propriétés antimicrobiennes antioxydantes, antidiabétiques . Il est de plus en plus évident que ces plantes possèdent des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes remarquables. Par conséquent, en approfondissant nos connaissances dans ce domaine, nous pourrions découvrir de nouvelles molécules bénéfiques pour la santé, ainsi que de potentielles alternatives aux traitements conventionnels. Ces recherches pourraient également contribuer à une meilleure compréhension des mécanismes d'action des plantes et à l'optimisation de leur utilisation dans le développement de nouveaux médicaments ou compléments alimentaires.

Pour plus d'efficacité , de nombreuses perspectives peuvent être envisagées parmi lesquelles ont peut citer :

- Elargir le panel des activités biologiques in vivo
- Effectuer d'autre teste anti-inflammatoires et anticancéreux
- Obtenir des informations sur l'efficacité pratique des huiles essentielles pour empêcher la multiplication des microbes dans les aliments
- Etablir le mécanisme d'action pour déterminer la toxicité des huiles essentielles et les problèmes associés au mauvais gout

## *Références bibliographiques*

## Référence bibliographique

### A

- Aouadhi, S. (2010). Atlas de risques de la phytothérapie traditionnelle à l'étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mém. Mas. en toxicologie. Faculté de médecine de Tunisie
- Ali M.Youssef, Plants médicinales de Kabylie. Ed : Ibis press (Paris), P : 349,2006.]
- Anane, S., Kaouech, E., Zouari, B., Belhadj, S., Kallel, K., & Chaker, E. (2010). Les candidoses vulvovaginales: facteurs de risque et particularités cliniques et mycologiques. Journal de mycologie médicale, 20(1), 36-41
- Ahmed, Z. U., Al-Abdeli, Y. M., & Guzzomi, F. G. (2016). Heat transfer characteristics of swirling and non-swirling impinging turbulent jets. International Journal of Heat and Mass Transfer, 102, 991-1003.
- Aljedani, D. M., Shiboob, M. H., & Almeahmadi, R. M. (2018). Effects of some insecticides on the midgut of the foragers honeybee worker *Apis mellifera jemenatica*. Journal of King Abdulaziz Universit
- Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., ...& Conchello, P. (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Research International, 45(1), 313-319.
- Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., ...& Conchello, P. (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Research International, 45(1), 313-319.
- Aouadhi, S. (2010). Atlas de risques de la phytothérapie traditionnelle à l'étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mém. Mas. en toxicologie. Faculté de médecine de Tunisie.)
- A., Javaid, M.M., Chaudhry, M.N., Awan, I.(2013). Implications of weeds of genus *Euphorbia* for crop production: a review. Plantadaninha. viçosa-mg.31: 723- 731
- AOUADHI, Chadia. GHAZHAZI, Hanene. HASNAOUI, Brahim. MAAROUFI, Abderrazak. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of *marrubiumvulgare* methanolic extract. Tunisien journal of medicinal plants and naturel products, 2014, 11(1) 1-8
- APG III an update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants , botanical journal of the linnean society ,161 (2009) ,105-121

## **Référence bibliographique**

- Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, Hamzaoglu E. 2010. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* species from the Mediterranean region of Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 20, 3143-3152.
- Asbahani, A. E., Addi, E. H., Miladi, K., Bitar, A., Casabianca, H., Mousadik, A. E., ... & Elaissari, A. (2014). Preparation of medical cotton textile activated by *Thymus leptobotrys* essential oil colloidal particles: Evaluation of antifungal properties. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 3(3), 253-261.
- Abir, G., & Oumelkhir, A. (2020). Screening phytochimique d'une plante médicinale *Artemisia absinthium* et l'étude théorique de leur activité biologique sur modèle biologique *Drosophila melanogaster* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tebessi Tebessa).

## **B**

- Brunton J. Pharmacognosie photochimie plantes médicinales 3ème édition. Paris
- Bottet J, 2001. Encyclopedia of Medicinal Plants. 2nd Ed. 21 Rue du Montparnasse 7528 Paris. ISBN: 2-03-560252-1.
- . Bouterfas, K., Z. Mehdadi, A. Latreche, Z. Hazem, N. Bouredja. Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire*, 8(31)
- Belhattab R., Larous L., Figueiredo, A. C., Santos P.A.G., Costa M.M., Barroso J. G. & Pedro L.G., 2006: Essential Oil Composition and Glandular Trichomes of *Marrubium vulgare* L. Growing Wild in Algeria. *Journal of Essential Oil Research* 18(4), 369–373
- Bouterfas, K., Z. Mehdadi, M. M. Elaoufi, A. Latreche, and W. Benchiha. "Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variations of leaves extracts of white Horehound (*Marrubium vulgare* Linné) from three geographical origins." In *Annales pharmaceutiques françaises*, vol. 74, no. 6, pp. 453-462. Elsevier Masson, 2016.
- Benabdallah, H. S., & Aguilar, D. A. (2008). Acoustic emission and its relationship with friction and wear for sliding contact. *Tribology Transactions*, 51(6), 738-747.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M., & Ruberto, G. (2012). Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. *Fitoterapia*, 83(2), 286-292.

## **Référence bibliographique**

- Boulila, S., & Hinnov, L. A. (2015). Comment on “Chronology of the Early Toarcian environmental crisis in the Lorraine Sub-Basin (NE Paris Basin)” by W. Ruebsam, P. Münzberger, and L. Schwark [Earth and Planetary Science Letters 404 (2014) 273–282]. Earth and Planetary Science Letters, 416, 143-146.y, 27(1), 59-66.
- Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Benmansour, D., Khaled, M. B., Bouterfas, M., & Latreche, A. (2014). Optimization of extraction conditions of some phenolic compounds from white horehound (*Marrubium vulgare* L.) leaves. International Journal of Organic Chemistry, 4(05), 292-308.
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Chaouch, A., & Satrani, B. (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. Agrosolutions, 20(1), 44-48.
- Bouhaddouda, N., Aouadi, S., & Labiod, R. (2016). Evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (DESF.) Ietswaart from Algeria. Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res, 8, 104-112.
- Bouzida, D., Lagraa, A., & Absi, N. (2022). Effet de l’huile essentielle d’une plante larvicide *Artemisia absinthium* sur un espèce de moustique *Culiseta longiareolata*: Aspect morphométrique et biochimique (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa).
- Bouzourene, H., Ouyang, W., Iovanna, J., Renauld, J. C., & Velin, D. (2017). IL-22-induced antimicrobial peptides are key determinants of mucosal vaccine-induced protection against *H. pylori* in mice. Mucosal immunology, 10(1), 271-281
- Brunton J. 1999Pharmacognosie photochimie plantes médicinales 3ème édition. Paris(évidence box. Les huiles essentielles dans les cosmétiques [en ligne]. [Consulté le 27 janvier 2018]. Disponible sur <http://box-evidence.com>. )
- . Bruneton, J Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition, Lavoisier, Paris, (2009), 1269p.].( S. Aouadhi, Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes, Mémoire de Master en Toxicologie, Faculté de médecine de Tunis, (2010).
- Belhattab R., Larous L., Figueiredo, A. C., Santos P.A.G., Costa M.M., Barroso J. G. & Pedro L.G., 2006: Essential Oil Composition and Glandular Trichomes of *Marrubium vulgare* L. Growing Wild in Algeria. Journal of Essential Oil Research 18(4), 369–373
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes Médicinales.)

## **Référence bibliographique**

-Bruneton, P. (1993). Geological environment of the Cigar Lake uranium deposit. Canadian Journal of Earth Sciences, 30(4), 653-673.).

-Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igetic, R.(2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), Food Chemistry, Vol. 111; pp 925–929

-BOUCHENAK Fatima<sup>1</sup>, DEGAICHIA Hocème<sup>1</sup>, LAMGHARBI Abdelbaki<sup>1</sup> et -BENREBIHA Fatima<sup>1</sup> 1.Université Blida 1- Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie- Laboratoire de Biotechnologie des Produits Végétales, B.P. 270, route de Soumaa Blida, Algérie. Reçu le 29/03/2018, Révisé le 05/06/2018, Accepté le 07/06/2017

-Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igetic, R.(2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), Food Chemistry, Vol. 111; pp 925–929.

Maisuthisakul

-Benayad, N. (2008) : les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines :moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V- Agdal. Laboratoire des Substances Naturelles et Faculté des Sciences se Rabat. P 61

-Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. Food and chemical toxicology, 46(2), 446-475.

-Belaidi, R., Harouak, H., Bouiamrine, E. H., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2018). Occurrence de plantes toxiques en phytothérapie traditionnelle dans la région du Moyen Atlas central Maroc. Journal of Animal & Plant Sciences, 35(2), 5651-5673.

-BENMEHDI, H. (2000). Valorisation de certaines plantes médicinales a activité hypoglycemiante comme la coloquinte (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid).

-Benzeggouta, N., & Ghanemi, A. (2015). Ethnopharmacology-Based Chemical Extraction Approaches: Toward Further Optimizing Green Chemistry. MOJ Public Health, 3(3), 00061

-Bovei, B. ANNEXE: Plantes potentiellement dangereuses pour les ruminants en Algérie (nomenclature, répartition, habitat et abondance selon QUÉZEL et SANTA, 1962-1963).

## C

## **Référence bibliographique**

- Chouiteh O. composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra* [thèse] Oran : Université d'Oran 2012
- Castanedo-Ovando A., De Lourdes Pacheco-Hernandez M. , Paez-Hernandez.F., 2009 .,Chemical studies of anthocyanins: Areview. Food chemistry, 113: 859-871.
- CONRAD, J., VOGLER, B., KLAIBER, I., ROOS, G., WALTER, U.,ET KRAUS, W.,(1998). Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. Phytochemistry 48: 647 – 650p.)
- Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. International journal of antimicrobial agents, 38(2), 99-107.
- Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., García-Gonzalo, D., Pagán, R., & Laglaoui, A. (2014). Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 94(6), 1197-1204.
- ging grading and machine learning approaches. Journal of healthcare engineering, 2022.
- Cram, A., Breitskreutz, J. R., Desset-Brèthes, S., Nunn, T., & Tuleu, C. (2009). Challenges of developing palatable oral paediatric formulations. International journal of pharmaceuticals, 365(1-2), 1-3
- Castanedo-Ovando A., De Lourdes Pacheco-Hernandez M. , Paez-Hernandez.F., 2009 .,Chemical studies of anthocyanins: Areview. Food chemistry, 113: 859-871.
- Chen, F., D'Auria, J. C., Tholl, D., Ross, J. R., Gershenzon, J., Noel, J. P., & Pichersky, E. (2003). An *Arabidopsis thaliana* gene for methylsalicylate biosynthesis, identified by a biochemical genomics approach, has a role in defense. The Plant Journal, 36(5), 577-588.
- CHEBLI B., ACHOURI M., IDRISSE HASSANI L.M., and HMAMOUCHE M., (2003), Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr, J. Ethnopharmacol., 89, 165-169
- Cushnie TPT, Lamb AJ (2011) Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. Int J Antimicrob Agents 38: 99-107 )
- Chaouche TM,Haddouchi F ,Ksouri R ,Atik-Bekkera F 2014.Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from south Algeria .Journal of the Chinese Medical Association .77(6),302-307.

## **Référence bibliographique**

-Canadanovic-Brunet, J. M., Djilas, S. M., Cetkovic, G. S., & Tumbas, V. T. (2005). Free-radical scavenging activity of wormwood (*Artemisia absinthium* L) extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(2), 265-272.

## **D**

- Dorosso Sonate J. Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanaise du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou

.2002.)

-DELLUC, L., (2004). Identification et caractérisation fonctionnelle de deux gènes régulateurs du métabolisme des composés phénoliques de la baie de raisin. Thèse de doctorat de l'université Bordeaux, 310p.

-Djouad, F., Bony, C., Häupl, T., Uzé, G., Lahlou, N., Louis-Pence, P., ... & Noël, D. (2005). Transcriptional profiles discriminate bone marrow-derived and synovium-derived mesenchymal stem cells. *Arthritis research & therapy*, 7(6), 1-12.

-DJAHRA, A. B., BENKADDOUR, M., ZEGHIB, K., BENKHERARA, S., SHAIEB, I., GHANIA, A., & BDIDA, S. (2019). Biofungicide activity of *Datura stramonium* leaf extract against phytopathogenic

-Desmier. (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Limoges. 87p

-Dacosta Y., 2003 : Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. (Rolland, Y. (2004).

-Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25.

## **E**

-Elhaib A. Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique [thèse] Toulouse : Université de Toulouse. 2011. )

## **Référence bibliographique**

-El Asbahani et al., 2014 ; Essential Oils as Reagents in Green Chemistry, 2014 ; Gourguillon et al., 2016

## **F**

-Fornari et al., 2012 ; Bessah et Benyoussef, 2015)

-Fekih N. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre Pinus poussant en Algérie [thèse]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid. 2015.)

-F. Baba aissa, Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie, Edison Librairie moderne, Ruiba, (1999), p.46-47-194-195-231.

-Fidelis, T. (2001). Valorisation des polyphénols végétaux Dans l'alimentation

file:///C:/Documents%20Settings/Administrateur/Mes%20documents/Downloads/53971e7709d0a%20(1).pdf.

-Favier, 2006: Stress oxydant et pathologies humaines. Ann. Pharm. Fr.; 64: 390-396.).

-Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie)

-Franchome P, Jollois R, Penoel D. L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation des extraits aromatiques. Paris : Edition Roger Jollois. 2001

-Falconer SB, Brown ED. 2009. New screens and targets in antibacterial drug discovery. Current opinion in Microbiology, 12(5), 497-504

-Fernandes, P., González-Méjome, J. M., Madrid-Costa, D., Ferrer-Blasco, T., Jorge, J., & Montés-Micó, R. (2011). Implantable collamer posterior chamber intraocular lenses: a review of potential complications. Journal of refractive surgery, 27(10), 765-776.

-Farah, A., Satrani, B., Fechtal, M., Chaouch, A., & Talbi, M. (2001). Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'Eucalyptus camaldulensis et de son hybride naturel (clone 583). Acta botanica gallica, 148(3), 183-190.

## **G**

## **Référence bibliographique**

- girofle(évidence box. Les huiles essentielles dans les cosmétiques [en ligne]. [Consulté le 27 janvier 2018]. Disponible sur <http://box-evidence.com>. )
- Guba, E. G., & Lincoln, Y. S. (2001). Guidelines and checklist for constructivist (aka fourth generation) evaluation
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 4: 162-169.
- Ghazghazi, H., Aouadhi, C., Riahi, L., Maaroufi, A., & Hasnaoui, B. (2014). Fatty acids composition of Tunisian *Ziziphus lotus* L.(Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural product research*, 28(14), 1106-1110.
- Ghouar, M., Sabeg, K., & Boudjouref, M. (2018). Etude des activités biologiques de la plante. *ungi*.
- Guingnard J.L ,Dupont F.2004.Boutanique :systématique moléculaire.13 eme e.masson paris,237p
- Gourguillon, L., Destandau, É., Lobstein, A., & Lesellier, E. (2016). Comparaison de différentes méthodes d'extraction d'acides dicaféoylquiniques à partir d'une plante halophile. *Comptes Rendus Chimie*, 19(9), 1133-1141.
- Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2006). Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12), 1249-1255.

## H

- Hyldgaard et al., 2012 ; Ma bible de la phytothérapie, 2014 ; Tongnuanchan et Benjakul,2014)
- Hopkins, W. (2003). *Physiologie végétale*, 3<sup>ème</sup> édition, boeck ,Université rue des Minimes 39-B-1000 Bruxelles, p : 138-139-267.)
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., & Bakhrouf, A. (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*
- H., Chebli, K., Zekri, L., Courselaud, B., Blanchard, J. M., Bertrand, E., & Tazi, J. (2003). The RasGAP-associated endoribonuclease G3BP assembles stress granules. *The Journal of cell biology*, 160(6), 823-831. *otechnology*, 25, 2227-2238.

## Référence bibliographique

### I

-Isman M.B., 2002. Problems et perspectives des commercialisations des insecticides d'origine végétale. Pp 300-311.).

-İşcan, G., Kırımer, N., Demirci, F., Demirci, B., Noma, Y., & Başer, K. H. C. (2012).

Biotransformation of (-)-(R)- $\alpha$ -phellandrene: Antimicrobial activity of its major metabolite.

Chemistry & Biodiversity, 9(8), 1525-1532.ata, R., Schooler, L. J., & Rieskamp, J. (2007). The

aging decision maker: cognitive aging and the adaptive selection of decision strategies. Psychology and aging, 22(4), 796.

### J

-J. Bruneton, Pharmacologie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition, Lavoisier, Paris, (2009), 1269p.].( S. Aouadhi, Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes, Mémoire de Master en Toxicologie, Faculté de médecine de Tunis, (2010)

-Juteau, F., Jerkovic, I., Masotti, V., Milos, M., Mastelic, J., Bessière, J. M., & Viano, J. (2003).

Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Artemisia absinthium from Croatia and France. Planta medica, 69(02), 158-161.

-Jill James, S., Hobbs, C. A., MacLeod, S. L., & Cleves, M. A. (2011). Congenital heart defects and maternal genetic, metabolic, and lifestyle factors. Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology, 91(4), 195-203.

-JAMALI, Dima, YIANNI, Mary, et ABDALLAH, Hanin. Strategic partnerships, social capital and innovation: Accounting for social alliance innovation. Business Ethics: A European Review, 2011, vol. 20, no 4, p. 375-391

### K

-Kaloustian J, Hadji-Minaglo F. La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. Paris. Edition Springer. 2012 )

## **Référence bibliographique**

- Kanyonga, P. M., Faouzi, M. A., Meddah, B., Mpona, M., Essassi, E. M., & Cherrah, Y. (2011). Assessment of methanolic extract of *Marrubium vulgare* for anti-inflammatory, analgesic and anti-microbiologic activities. *J Chem Pharm Res*, 3(1), 199-204
- Kapoor, A., Slikas, E., Simmonds, P., Chieochansin, T., Naeem, A., Shaukat, S., ... & Delwart, E. (2009). A newly identified bocavirus species in human stool. *The Journal of infectious diseases*, 199(2), 196-200.
- Khebri, S. (2011). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *Artemisia* (Doctoral dissertation, Batna, Université El Hadj Lakhder. Faculté des Sciences).
- Kamkar, A., Javan, A. J., Asadi, F., & Kamalinejad, M. (2010). The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7), 1796-1800
- K. Bouterfas., Z. Mehdadi., A. Latreche., Z. Hazem., N. Bouredja. Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire*, 8(31).
- KERIO, L. C., WACHIRA, F. N., WANYOKO, J. K., et al. Total polyphenols, catechin profiles and antioxidant activity of tea products from purple leaf coloured tea cultivars. *Food chemistry*, 2013, vol. 136, no 3-4, p. 1405-1413.
- Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.

## **L**

- Labiées, Ombellifères, Myrtacées, Rutacées, Lauracées, Térébinthacées, Conifères. (Les huiles essentielles, 2009 ; Marinier et Lobstein, 2013 ; Dhifi et al., 2016)
- Lardry et Haberkorn, 2007 ; Tongnuanchan et Benjakul, 2014)
- Latine D. Rigano, A. Apostolides, M. Bruno, C. Formisano, A. Grassia, S. Piacente, F. Piozzi, F. Senatore, Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum* from -----Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology*. 34: 256-260. (2006)
- Lahrech, N., Lahrech, A., & Boulaksil, Y. (2014). Transparency and performance in Islamic banking: Implications on profit distribution. *International Journal of Islamic and Middle Eastern Finance and Management*.

## **Référence bibliographique**

- Lopes-Lutz D., Alviano D.S., Alviano C.S. and Kolodziejczyk P.P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*.; 69 (8) :1732-1738.
- Canada et par. [Derwiche E., Benziane Z and Boukir A. (2009). Chemical compositions and insecticidal activity of essential oils of three plants *Artemisia* species : *Artemisia Herba-Alba*, *Artemisia Absinthium* and *Artemisia Pontica* (Morocco) *EJEAF* Che, 8 (11):1202 – 121]
- Lahrech Khadîdja, 2010. Extraction et Analyse des huiles essentielles de *Mentha Pulegium*. L et de *Saccocalyx satureioides*, tests d'activités antimicrobiennes et antifongiques, Mémoire de Magister spécialité chimie Moléculaire ( Analyse, Modalisation, synthèse ) Université d'Oran ES –sénia
- Lahlou N., K. Mounchid, T. Aboussaouira, N. Habti, L. Belghazi, K. Fellat-Zarrouk, A. Tantaoui-Elaraki, A. Rachidai & M.M. Ismaili-Alaoui, 2005.- Étude de la cytotoxicité de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* : essais biologiques variés. Les cahiers de la recherche, série A (6), 7-16

## **M**

- Macheix, J.J., Fleuriet, C., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Italie. Press polytechnique et universitaires romandes
- Marouf, A., Reynaud, J. (2007). La botanique de A à Z. DUNOD, Paris, p :9-114-15
- Mahboubi, M., & Haghi, G. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of ethnopharmacology*, 119(2), 325-327.
- Moon, S. Y., de Souto Barreto, P., Chupin, M., Mangin, J. F., Bouyahia, A., Fillon, L., ... & Vellas, B. (2017). Associations between white matter hyperintensities and cognitive decline over three years in non-dementia older adults with memory complaints. *Journal of the Neurological Sciences*, 379, 266-270.
- Mazari, K., Bendimerad, N., Bekhechi, C., & Fernandez, X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *J Med Plants Res*, 4(10), 959-964.
- M. Ali. Youssef, *Plants médicinales de Kabylie*. Ed : Ibis press (Paris), P : 349, 2006.]

## **Référence bibliographique**

-M.Rombi., R.Dominique , 120 plantes médicinales : composition, mode d'action et intérêt thérapeutique. Ed : Alpen, P : 527, 2007).. Ellesont carrées, dressées, robustes et feuillues , et sont dites « tétragones » ouquadrangulaires, cotonneuses, blanches et tomenteuses .( -----

M.Ali.Youssef, Plantes médicinales de Kabylie. Ed : Ibis press (Paris), P : 349,2006.].

-Macheix, J.J., Fleuriet, C., Jay-Allemand, C.(2005). Les composés phénoliques des végétaux:Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Italie. Press polytechnique et universitaires romandes

-MAURO, N. M., (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxinea et ---

MAURO, N. M., (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxinea et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, 13, 16-28p)

-Mayer F. utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Etude de cas en maison de retraite. [Thèse] Université de Lorraine, 2012

-Mansour, S., & Commeiras, N. (2015). Le conflit travail-famille médiatise-t-il les effets des conditions de travail sur le stress professionnel? Une étude auprès du personnel en contact dans le secteur hôtelier. Revue de gestion des ressources humaines, (1), 3-25.

## **N**

-Nawel, H., & Benazzouz, N. (2017). La conception de la méthode d'enquête en sciences humaines. Sciences de l'Homme et de la Société, 23.

-Nasr, Samih H., and Jeffrey B. Kopp. "COVID-19-associated collapsing glomerulopathy: an emerging entity." *Kidney international reports* 5, no. 6 (2020): 759-761.

-Naidu, J. R., Ismail, R. B., Yeng, C., Sasidharan, S., & Kumar, P. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of the crude methanolic extracts of *Mentha spicata*. *Journal of phytology*, 4(1).

-N. Tahri, A. El Basti, L. Zidan, A. Rochdi, A. Douira, Etude Ethnobotanique DesPlantes Médicinales Dans La Province De Settat (Maroc), *Journal of Forestry Faculty*,12(2), (2012), 192-208.)

## Référence bibliographique

### O

-Ouibrahim Amira., 2014 : Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien

### P

-P. Quezel, S. Santa, La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Edition CNRS, Paris, (1963), 360-361 p

-Pires, R., Goltzsche, D., Mokhtar, S. B., Bouchenak, S., Boutet, A., Felber, P., ... & Schiavoni, V. (2018, July). CYCLOSA: Decentralizing private web search through SGX-based browser extensions. In 2018 IEEE 38th International Conference on Distributed Computing Systems (ICDCS) (pp. 467-477). IEEE.

-Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684

-Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 337-341

-Prieto p,Pineda M ,Aguilar M.1999.Sepectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formition of a phosphomolybdenum complex :Specific application to the determination of vitamin E .Andimical biochemsitry .296(2),337-341

-Park, K. S., Benayad, A., Kang, D. J., & Doo, S. G. (2008). Nitridation-driven conductive  $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$  for lithium ion batteries. *Journal of the American Chemical Society*, 130(45), 14930-14931.

-Paris, P., & Tréherne, J. (1969). Un sélecteur magnétique pour l'enregistrement de spectres d'électrons à l'aide d'un détecteur au silicium. *Revue de Physique Appliquée*, 4(2), 291-292.

### Q

## **Référence bibliographique**

-Que F, Mao L, Pan X. (2006). Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res. Inter.* 39: 581-7

## **R**

-Ravid, Y., & Fiat, A., Rabani, Y., & (1994). Competitive k-server algorithms. *Journal of Computer and System Sciences*, 48(3), 410-428.;

-ROUX, D., CATIER, O., (2007). *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie*. 3ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China, 141 p.

-Reis-Vasco, E. M. C., Coelho, J. A. P., Palavra, A. M. F., Marrone, C., & Reverchon, E. (2000). Mathematical modelling and simulation of pennyroyal essential oil supercritical extraction. *Chemical Engineering Science*, 55(15), 2917-2922.

-Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11(6), 419-424.) Yves Dacosta, Paris, p.317

-REZAEINODEHI, A. et KHANGHOLI, S. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. *Pak J Biol Sci*, 2008, vol. 11, no 6, p. 946-949.

## **S**

-Salem, J. E., Manouchehri, A., Moey, M., Lebrun-Vignes, B., Bastarache, L., Pariente, A., ...& Moslehi, J. J. (2018). Cardiovascular toxicities associated with immune checkpoint inhibitors: an observational, retrospective, pharmacovigilance study. *The Lancet Oncology*, 19(12), 1579-1589

-Seladji, M., Bekhechi, C., Beddou, F., Hanane, D. I. B., & Bendimerad, N. (2014). Antioxidant activity and phytochemical screening of *Nepeta nepetella* aqueous and methanolic extracts from Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(2), 012-016.

-Syed B. (2015). Le pouvoir antioxydant des additifs phytogéniques. *Biomini*.  
[https://www.biomin.net/uploads/tx\\_news/ART\\_No42\\_PHY\\_FR\\_0115.pdf](https://www.biomin.net/uploads/tx_news/ART_No42_PHY_FR_0115.pdf).140- Tanveer, A., Khaliq,

-Sharif S, Singh M, Kim SJ, Schaefer J (2009) *Staphylococcus aureus* peptidoglycan tertiary structure from carbon-13 spin diffusion. *J Am Chem Soc* 131: 7023–30

-Sutour, S. (2010). Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, Université de Corse, France.

## **Référence bibliographique**

-Saliba, Z., Butera, G., Bonnet, D., Bonhoeffer, P., Villain, E., Kachaner, J., ...& Iserin, L. (2001). Quality of life and perceived health status in surviving adults with univentricular heart. *Heart*, 86(1), 69-73.

-SFM, CA. (2010). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

## **T**

-Teoh, Y. X., Lai, K. W., Usman, J., Goh, S. L., Mohafez, H., Hasikin, K., ... & Dhanalakshmi, S. (2022). Discovering knee osteoarthritis imaging features for diagnosis and prognosis: review of manual ima

-Tissut M.,1967 ., Etude spectrophotométrique chromatographique des flavonols du Hêtre(Figussyhaica L.). *Phytochemistry*, 6: 1291-1296.

-Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.

-Tariq, M., Forte, P. A., Gomes, M. C., Lopes, J. C., & Rebelo, L. P. N. (2009). Densities and refractive indices of imidazolium-and phosphonium-based ionic liquids: Effect of temperature, alkyl chain length, and anion. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 41(6), 790-798.

## **U**

-Usman Jmohi<sup>1</sup>, Abdulgafar Zaura<sup>1</sup>, Muhammad Sanna<sup>1</sup>, Umar Yusuf \*<sup>1</sup>, Muhammad Ahmad<sup>1</sup> <sup>1</sup>. Department of Pharmacology and Therapeutics, College of Health Sciences, --Usmanu Danfodiyo University, Sokoto, NigeriaFeb 10-14, 2022 in Singapore, Singapore

## **V**

-V. Schlempher, Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues, *Phytomedicine*, 3(2), (1996), 211-216

-Velé H. Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments [thèse]. Université Angers, 2015

## **Y**

-Yildiz, S., Yildiz, U. C., & Tomak, E. D. (2011). The effects of natural weathering on the properties of heat-treated alder wood. *BioResources*, 6(3).

## ***ANNEXES***

## **annexe**

### **Annexe 1 : Réactifs et réaction de caractérisation :**

Les réactifs utilisés lors des tests phytochimiques sont les suivants :

**Réactif d'amidon :** Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée

contenant 2,5g d'iodure de potassium. Chauffer dans un bain marie 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée jusqu'à ébullition .

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

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

### **Annexe 2 : Composition des milieux de culture :**

- **Gélose Potato dextrose agar (PDA):**

Infusion de pomme de terre (300 g de pomme de terre +500 ml eau distillée),

15 g Agar,

20 g Glucose,

Eau distillée QSP 1000 ml.

- **Eau physiologique :**

9 g Na Cl

Eau distillée qsp 1000 ml

Ph=7.4

- **Gélose Mueller Hinton :**

4.0g Infusion de viande de bœuf.

17.5g Hydrolysate acide de caséine.

01.5g Amidon.

15g Agar .

Eau distillée qsp 1000 ml.

## **annexe**

pH = 6,8 à 37°C

- **Gélose nutritive :**

2g Extrait de levure.

10 gExtrait de viande.

5g Peptone.

20 gGlucose.

5g Nacl.

20 gAgar agar

Eau distillée qsp 1000 ml .

- **Bouillon nutritif :**

2g Extrait de levure.

10g Extrait de viande.

5 g Peptone.

20 g Glucose.

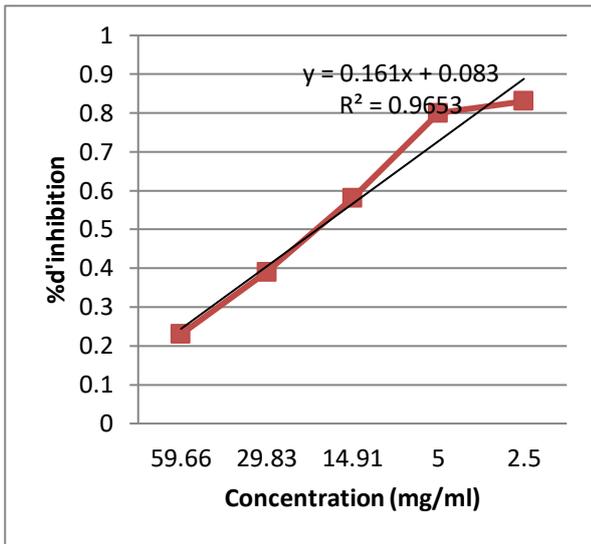
5 g Nacl

Eau distillée qsp 1000ml.

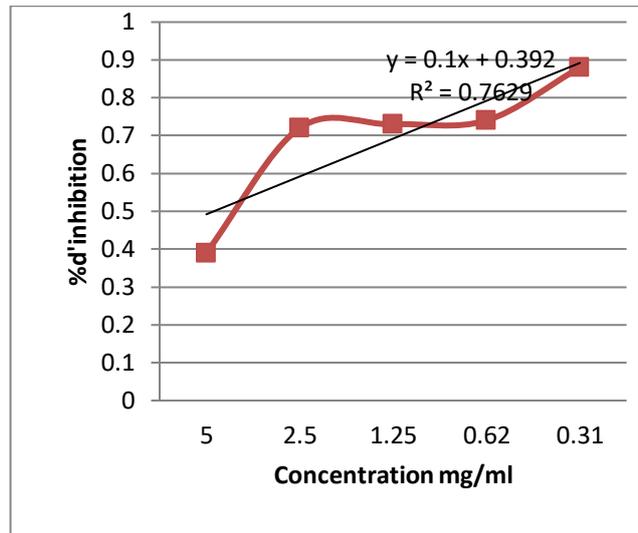
**Annexe 04 :** Résultats de la concentration inhibitrice.

Les plantes	IC50 (mg/ml)
HE Artemisia absnthium l	1.08
HE Mentha plagium l	1.67
Ex eth Marrubium vulgare l	2.8
Ex aq Marrubium vulgare l	2.59

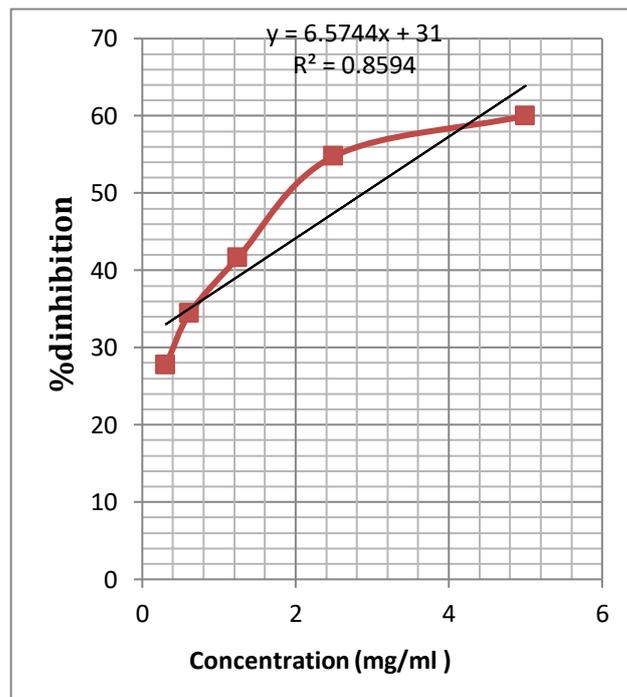
**annexe**



**Figure1** :pourcentages d'inhibition DPPH pour HE Mentha plagioluml

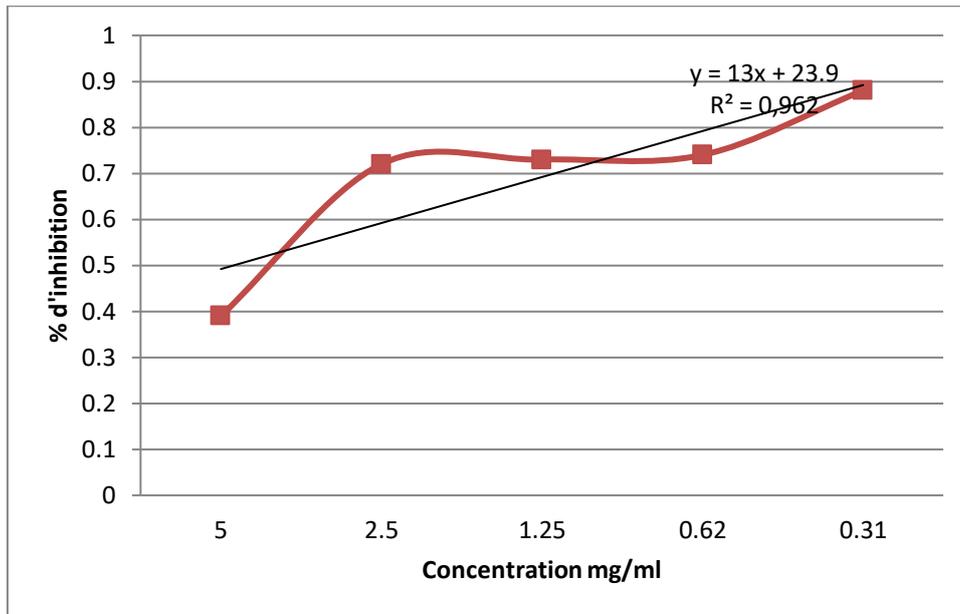


**Figure2** : :pourcentages d'inhibition DPPH pour HE Artemisia absnthiuml

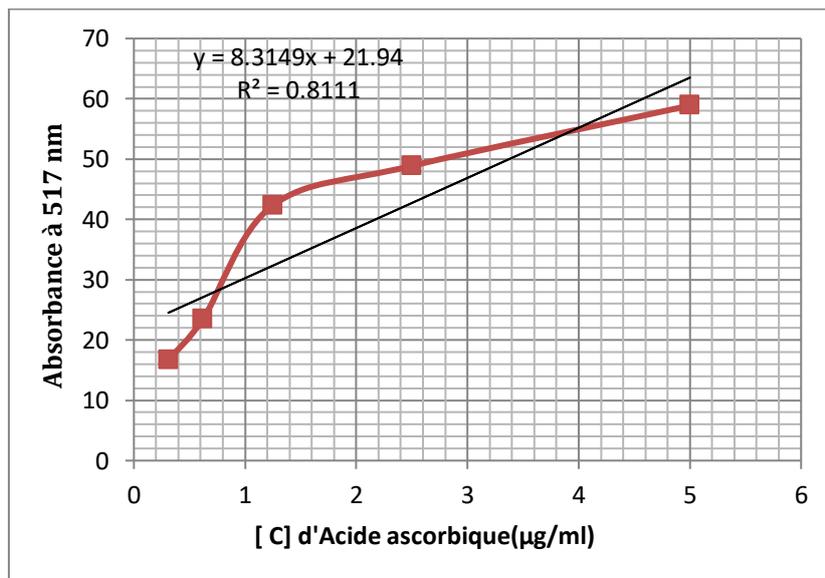


**Figure 3**:pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'huile essentielle Ex eth Marrubium vulgare l

**annexe**



**Figure 4:** pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'huile essentielleEx AQ Marrubium vulgare l



**Figure 5:** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le DPPH