

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université L'arbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

N° d'ordre :

N° de série :

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

Option: Biochimie des produits naturels d'origine végétale

**Valorisation des substances bioactives à activités
pharmacologiques à partir de deux Lamiaceae:
*Satureja graeca L. et Thymus numidicus L.***

Présenté par Mr: BOUTELLAA Saber

Soutenu le : / / 2014

Devant le jury composé de :

Président: GHERRAF Noureddine Prof Université d'Oum El Bouaghi

Rapporteur: ZELLAGUI Amar Prof Université d'Oum El Bouaghi

Examineur: ARHAB Rabah M.C.A Université d'Oum El Bouaghi

DJABRI Belgacem M.C.A Université de Tébessa

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

" الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات ، وبفضله تنزل الخيرات وبتوفيقه تتحقق الغايات ، وصلوات الله وتسليماته على الرحمة المهداة ، والنعمة المسجاة ، البشير النذير ، والسراج المنير ، معلم البشرية ، وهادي الإنسانية ، سيدنا وإمامنا ، واسوتنا وحبیبنا مُحَمَّدٌ ، وعلى إله وصحبه اجمعين "

Je rends grâce à Allah le Tout Puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.

Je dédie ce modeste travail, à mes très chers parents surtout,

A ma grand-mère et grand-père que dieu les garde,

A mes sœurs,

A mon frère et sa femme,

A ma fiancée,

A toute ma famille,

A mes amis,

A mes collègues,

Et à tous ceux qui prendront la peine de lire ce document.

Remerciements

*Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de mémoire, Monsieur le Professeur **Zellagui Amar** pour m'avoir encouragé et conseillé tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Je tiens à remercier Monsieur le Professeur **Gherraf Noureddine** d'avoir accepté la présidence du jury de mon travail, qu'il trouve ici toutes mes expressions respectueuses.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur le Docteur **Arhab Rabah** Maître de Conférence à l'université Larbi Ben M'hidi (OEB) et Monsieur le Docteur **Djabri Belgacem** Maître de Conférences à l'université de Tebessa d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Je tiens aussi à remercier Monsieur le Professeur **Senoussi Mohamed Mourad** Directeur de laboratoire de Biomolécules et amélioration des plantes à l'université Larbi Ben M'hidi (OEB) et M^{elle} **Bengati Sihem** Ingénieur de Laboratoire.*

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont à toute personne qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de mon travail.

SOMMAIRE

Abréviations

Liste des tableaux

Liste des Figures

Introduction

Partie I

Etude bibliographique

Chapitre I : Description des plantes étudiées et principaux métabolites secondaires isolés

Lamiaceae	01
1. Présentation botanique et géographique	01
2. Chimie des Lamiaceae	01
3. Intérêt pharmacologique, nutritionnel et commercial	02
<i>Thymus numidicus</i> L.	02
1. Présentation du genre <i>Thymus</i>	02
2. Origine et Répartition géographique	02
3. Propriétés pharmacologiques des <i>Thymus</i>	03
4. L'espèce <i>Thymus numidicus</i> L.	03
4. 1. Place à la systématique	03
4. 2. Description botanique de l'espèce <i>T.numidicus</i> L.	04
5. Principaux métabolites secondaires isolés du genre <i>Thymus</i>	04
5.1. Composés phénoliques	04
5.1.1. Acides phénoliques isolés du genre <i>Thymus</i>	05
5.1.2. Flavonoïdes	08
5.1. 2.1. Flavonoïdes isolés du genre <i>Thymus</i>	09
5.2. Huiles essentielles	12
5.2.1. Généralités sur les huiles essentielles	12
5.2.2. Composition chimiques des huiles essentielles	13
5.2.3. Biosynthèse des composés terpéniques	15

5.2.4. Huiles essentielles du genre <i>Thymus</i>	17
<i>Satureja graeca</i> L.	20
1. Présentation du genre <i>Satureja</i>	20
2. Origine et Répartition géographique	20
3. Propriétés pharmacologiques du genre <i>Satureja</i>	20
4. L'espèce <i>Satureja graeca</i> L.	21
4. 1. Place à la systématique	21
4. 2. Description botanique de l'espèce <i>S. graeca</i> L.	21
5. Principaux métabolites secondaires isolés du genre <i>Satureja</i>	21
5.1. Acides phénoliques isolés du genre <i>Satureja</i>	21
5.2. Flavonoïdes isolés du genre <i>Satureja</i>	22
5.3. Huiles essentielles isolées du genre <i>Satureja</i>	24

Chapitre II: Activités biologiques

Rappel sur l'activité antioxydante	27
1. Stress oxydatif	27
2. Antioxydants	28
2.1. Antioxydants enzymatiques	28
2.2. Antioxydants non enzymatiques	28
3. Activités anti-oxydantes des Polyphénols	29
4. Activités anti-oxydantes des HES	30
Rappel sur l'activité antimicrobienne	31
1. Définition	31
2. Antibiothérapie et la résistance aux antibiotiques.....	32
2.1. Rappel sur l'antibiothérapie.....	32
2.2. Mécanismes de résistances microbiennes.....	32
3. Activité antimicrobienne des Polyphénols	33
4. Activité antimicrobienne des HES	34

Partie II

Etude Expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes

Etude phytochimique	40
1. Matériel végétal	40
1.1. Choix du matériel végétal.....	40
1.2. Récolte et Conservation du matériel végétal.....	40
1.3. Parties utilisés	40
2. Méthodes analytiques	41
2.1. Flavonoïdes	41
2.1.1. Procédé d'extraction des flavonoïdes	41
2.1.2. Dosage des polyphénols	44
2.1.3. Dosage des flavonoïdes	44
2.2. Huiles essentielles	45
2.2.1. Extraction	45
2.2.2. Analyse par GC/MS	46
Activité biologique	47
1. Activité anti-oxydante	47
1.1. Test anti radicalaire au DPPH	47
2. Activité antimicrobienne	48
2.1. Les souches étudiées	48
2.2. Préparation des extraits.....	48
2.3. Préparation des disques.....	48
2.4. Réalisation du test antimicrobien	49

Chapitre II: Résultats et discussion

Résultats de l'étude phytochimique	50
1. Flavonoïdes	50
1.1. Extraits préparés à partir des feuilles et fleurs de <i>S. graeca</i> L.	50
1.2. Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes.....	51
2. Huiles essentielles	53
2.1. Résultats d'extraction par hydrodistillation	53
2.2. Résultats de l'analyse par GC/MS	55
Résultats des tests biologiques	58
1. Evaluation de l'activité antioxydante	58
1.1. Activité anti-radicalaire des extraits de <i>S.graeca</i> L.	59
1.2. Activité anti-radicalaire des huiles essentielles de <i>S.graeca</i> L.	63
1.3. Activité anti-radicalaire des huiles essentielles de <i>T.numidicus</i> L.	66
2. Evaluation de l'activité antimicrobienne	72
2.1. Sensibilité aux huiles essentielles de <i>T.numidicus</i> L.	72
2.2. Sensibilité aux extraits polaires de <i>S.graeca</i> L.	81

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

ABREVIATIONS

Abréviations

% AA:	Pourcentage de l'activité anti-radicalaire
Abs_{Control}:	Absorbance du control négatif
Abs_{Echantillon}:	Absorbance de l'échantillon
ADN:	Acide Désoxyribonucléique
AFNOR:	Association française de normalisation
AlCl₃:	Trichlorure d'Aluminium
ATCC:	American type culture collection
ATP:	Adénosine Triphosphate
BHA:	butylhydroxyanisole
BHT:	butylhydroxytoluène
CMI:	Concentration minimale inhibitrice
DMSO:	Dimethyl sulfoxyde
DPPH:	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
E AcOEt:	Extrait d'acétate d'éthyle
E Ch:	Extrait du chloroforme
E <i>n</i>-But:	Extrait du <i>n</i> -butanol
E <i>n</i>-hex:	Extrait du <i>n</i> -hexane
ERO:	Espèces réactives oxygénées
FPP:	farnésyl diphosphate
GC/MS:	Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse
GPP:	géranyle diphosphate
GPX:	glutathion peroxydase
HES:	Huile essentielle
IPP :	Isopentenyl diphosphate
MRSA:	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
NCIMB:	National Collections of Industrial Food and Marine Bacteria
NCCLS:	National Committee for Clinical Laboratory Standards
NCTC:	National Collection of Type Cultures
NIST:	National Institute of Standards and Technology
RI:	Retention index (Indice de rétention)
RO:	Reactive Oxygen Species
SOD:	Superoxyde dismutase
Sp:	Espèce (Species)
Subsp:	sous- espèce (Sub species)
TDR:	Tropical Diseases Research
UFC :	Unités formant des colonies
VIH:	Virus de l'Immunodéficience Humaine
Vit C:	Vitamine C

Liste des tableaux

Tableau 01 : Distribution des acides phénoliques dans le genre <i>Thymus</i>	06
Tableau 02 : Distribution des flavonoïdes dans les espèces du genre <i>Thymus</i>	10
Tableau 03 : Les composés majoritaires et leurs pourcentages relatifs des huiles essentielles d'espèces différentes du genre <i>Thymus</i>	16
Tableau 04 : Distribution des acides phénoliques dans les espèces du genre <i>Satureja</i>	22
Tableau 05 : Distribution des flavonoïdes dans les espèces du genre <i>Satureja</i>	22
Tableau 06 : Les composés majoritaires et leurs pourcentages relatifs des huiles essentielles d'espèces différentes du genre <i>Satureja</i>	24
Tableau 07 : Activités antimicrobiennes et composés majoritaires des huiles essentielles d'espèces différentes des genres: <i>Thymus</i> et <i>Satureja</i>	36
Tableau 08 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits des feuilles et fleurs de <i>S. graeca</i> L.	52
Tableau 09 : Composition chimique de l'HES des feuilles de <i>T. numidicus</i> L. pendant la floraison	55
Tableau 10 : Classification des constituants de l'HES des feuilles de <i>T.numidicus</i> L. pendant la floraison.....	57
Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibition de l'HES des parties aériennes de <i>T.numidicus</i> L. phase « I ».....	72
Tableau 12 : Diamètres des zones d'inhibition de l'HES des parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. phase « II ».....	74
Tableau 13 : Diamètres des zones d'inhibition de l'HES des parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. phase « III ».....	76
Tableau 14 : Diamètres des zones d'inhibition de l'E AcOEt des feuilles de <i>S. graeca</i> L.	81
Tableau 15 : Diamètres des zones d'inhibition de l'E <i>n</i> -But des feuilles de <i>S. graeca</i> L.	83

Liste des figures

Figure 01 : Structure de base des flavonoïdes.....	08
Figure 02 : L'étape clé de la formation des flavonoïdes.....	09
Figure 03 : Structure de la molécule d'isoprène.....	13
Figure 04 : Squelette de base des phénylpropanoïdes.....	14
Figure 05 : Précurseurs biosynthétiques des principaux constituants métaboliques des huiles essentielles.....	15
Figure 06 : Structures chimiques de quelques composés majoritaires des huiles essentielles.	16
Figure 07 : Protocole d'extraction des flavonoïdes.....	43
Figure 08 : Montage d'extraction des Huiles essentielles.....	46
Figure 09 : Rendement de divers extraits organiques des feuilles et fleurs de <i>S. graeca</i> L. ...	51
Figure 10 : Rendement en HES de différentes parties de <i>S. graeca</i> L.	53
Figure 11 : Rendement en HES des feuilles et parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. en fonction de période de la récolte.....	54
Figure 12 : Structures chimiques des composés majoritaires de l'HES des feuilles de <i>T.numidicus</i> L. pendant la floraison	57
Figure 13 : Piégeage du radical libre DPPH par l'extrait <i>n</i> -hexane des feuilles de <i>S.graeca</i> L. et la vit C.....	59
Figure 14 : Piégeage du radical libre DPPH l'extrait Chloroforme des feuilles de <i>S.graeca</i> L. et la vit C.....	60
Figure 15 : Piégeage du radical libre DPPH par l'extrait AcOEt des feuilles de <i>S. graeca</i> L. et la vit C.....	60
Figure 16 : Piégeage du radical libre DPPH par l'extrait <i>n</i> -Butanol des feuilles de <i>S. graeca</i> L. et la vit C.	61
Figure 17 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les extraits polaires et apolaires des feuilles de <i>S.graeca</i> L. et la vit C.....	62
Figure 18 : Piégeage du radical libre DPPH par l' HES des feuilles de <i>S.graeca</i> L. et la VitC.....	63
Figure 19 : Piégeage du radical libre DPPH par l' HES des tiges de <i>S.graeca</i> L. et la VitC.....	64

Figure 20 : Piégeage du radical libre DPPH par l' HES des fleurs de <i>S. graeca</i> L. et la vit C.....	64
Figure 21 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les HES de différentes parties de la plante <i>S. graeca</i> L. et la vit C.....	65
Figure 22 : Piégeage du radical libre DPPH par l'HES des feuilles de <i>T.numidicus</i> L. pendant la floraison et la vit C.....	67
Figure 23 : Piégeage du radical libre DPPH par l'HES des parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. de la phase « I » et la vit C.....	67
Figure 24 : Piégeage du radical libre DPPH par l'HES des parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. de la phase « II » et la vit C.....	68
Figure 25 : Piégeage du radical libre DPPH par l'HES des parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. de la phase « III » et la vit C.....	68
Figure 26 : Piégeage du radical libre DPPH par les HES des parties aériennes de la plante <i>T.numidicus</i> L. pendant cycle biologique et la vit C.....	69
Figure 27 : Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'HES des parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. phase I.....	73
Figure 28 : Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'HES des parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. phase II.....	75
Figure 29 : Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'HES des parties aériennes de <i>T. numidicus</i> L. phase III	77
Figure 30 : Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'Extrait d'AcOEt.....	82
Figure 31 : Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'Extrait <i>n</i> -But.....	84

INTRODUCTION

Introduction

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions. On estime que deux tiers de médicaments actuels ont une origine naturelle, obtenus par héli-synthèse à partir d'un pharmacophore ou par modification d'un produit naturel, composés issus des biotechnologies, vaccins, composés d'origine végétale, microbiologique ou animale. Seul un tiers des médicaments commercialisés possède donc une origine purement synthétique (**Morel, 2011**).

Récemment, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, et la toxicité des antioxydants synthétiques, a conduit à la recherche des substances naturelles dotées d'activité antimicrobienne et antioxydante. En effet, la recherche de molécules bioactives d'origine naturelle constitue un des axes prioritaires identifiés par le TDR (Tropical Diseases Research, 2008).

La flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques (**Quezel et Santa 1963**), reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique.

Dans le cadre de la valorisation de la famille des lamiacées, en recherchant des molécules d'origine végétale à intérêts thérapeutiques, deux espèces ont été choisies : *Thymus numidicus* L. et *Satureja graeca* L. L'endémisme, la richesse en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes et terpénoïdes) et l'utilisation éventuelle en médecine traditionnelle demeurent nos critères principaux de sélection de ces plantes.

Ce travail vise à évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles et extraits flavonoïques des deux plantes: *Thymus numidicus* L. et *Satureja graeca* L.,. Ainsi, ce manuscrit s'est divisé en deux parties:

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur les deux plantes: aspects botaniques et principaux métabolites secondaires isolés à partir des deux genres et activités biologiques antérieurs.

Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour: l'extraction, le dosage colorimétrique des polyphénols et des flavonoïdes, l'analyse qualitative des huiles essentielles par GC/MS,

l'activité anti-oxydante et finalement l'activité antimicrobienne. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude.

Partie I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

***DESCRIPTION DES PLANTES ETUDIEES ET
PRINCIPAUX METABOLITES SECONDAIRES ISOLEES***

Lamiaceae

1. Présentation botanique et géographique

La famille des Lamiacées (Lamiaceae) est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend près de 7200 espèces regroupées dans environ 250 genres répandus dans le monde entier et surtout dans la région méditerranéenne (**Bräuchler et al., 2010**). Elles sont réparties en sept sous-familles (Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae, Prostantheroideae, Scutellarioideae, Symphorematoideae et Viticoideae) (**Bräuchler et al., 2010**).

Selon **Quezel et Santa (1963)**, les Lamiacées constituent une famille très importante dans la flore Algérienne représentée par 28 genres et 146 espèces.

Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et rarement des arbres ou des lianes, producteurs d'huiles essentielles, largement répandus autour du monde et dans tout type de milieux (**Kaufmann et al., 1994**). De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes mellifères, fréquentées par les abeilles (**Guignard, 2001**).

Les plantes de cette famille sont rarement ligneuses, souvent velues, à tige généralement quadrangulaire. Les feuilles sont opposées et décussées (disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre), dépourvues de stipules, à limbe généralement denté. Les fleurs, généralement sont hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire. La forme de lèvre de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille. Les sépales (calice) et les pétales (corolle) sont soudés en tubes comportant habituellement quatre ou cinq lobes, ou lèvres, de forme irrégulière (symétrie bilatérale). Les deux, quatre ou cinq étamines sont attachées à l'intérieur du tube corollaire. L'ovaire est supère, libre et possède deux carpelles (**Touafek, 2010**).

Les Lamiacées possèdent souvent des poils glanduleux et des glandes sous épidermiques à huiles essentielles les rendant très odorantes (**Guignard, 2001**).

2. Chimie des Lamiaceae

Un très grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources riches en terpénoïdes, irridoides glycosylés, flavonoïdes et composés phénoliques (**Naghibi et al., 2005; Yalçin et al., 2006 ; Amiri, 2011**).

3. Intérêt pharmacologique, nutritionnel et commercial

Cette famille est une importante source d'huiles essentielles, d'infusion et antibiotiques pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques.

On y rencontre beaucoup d'espèces cultivées comme plantes condimentaires, elles appartiennent aux genres *Mentha* (la menthe), *Lavandula* (la lavande), *Marrubium*, *Ocimum* (le basilic), *Origanum* (l'origan), *Satureja* (la sarriette) et *Thymus* (le thym). Les tubercules de quelques espèces de *Stachys* sont comestibles. *Tecona* (le teck) fournit un bois d'œuvre important. De nombreux genres contiennent des espèces ornementales: on peut citer parmi eux: *Ajuga* (le bugle), *Callicarpa*, *Monarda*, *Salvia* et *Vitex* (Judd *et al.*, 2002).

Thymus numidicus L.

1. Présentation du genre *Thymus*

Le thym, communément appelé "zaitera" en Algérie ou *Thymus* en latin appartient à la famille des Lamiaceae, la sous-famille des Nepetoideae, la tribu des Mentheae et à la sous tribu des Menthinae (Bräuchler *et al.*, 2010). Ce genre comprend environ 350 espèces autour du monde (Hussain *et al.*, 2013).

Les Thyms sont des plantes basses sous-ligneuses, peuvent atteindre 40 cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ses structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose (Soto-Mendivil *et al.*, 2006).

2. Origine et Répartition géographique

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des Lamiaceae (Naghbi *et al.*, 2005). C'est une plante très répandue dans le nord ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Lybie), elle pousse également sur les montagnes d'Éthiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya (Dob *et al.*, 2006).

Selon une étude menée par **Nickavar *et al.*, (2005)**, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. C'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre.

En Algérie le Thym en ces différentes espèces est localisé sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'au zones arides (**Saidj, 2006**).

3. Propriétés pharmacologiques des *Thymus*

Le thym est la plante médicinale la plus utilisée en médecine traditionnelle algérienne comme expectorant, anti-tussif, antiseptique, stomachique, antispasmodique, carminatif, anthelminthique et diurétique (**Soto-Mendivil *et al.*, 2006**).

Les études ont surtout montré l'activité anti-oxydante (**Zouari *et al.*, 2011; Roby *et al.*, 2013; Ghorab *et al.*, 2013**) des espèces de *Thymus* étudiées. Les activités antimicrobiennes (**Oussalah *et al.*, 2007; Hazzit *et al.*, 2009; El Ouali *et al.*, 2013; Ghorab *et al.*, 2013**), spasmolytique (**Blázquez *et al.*, 1989**) et mutagénique (**Kazuyasu *et al.*, 1995**) (vis-à-vis de la bactérie *Salmonella typhimurium*) ont été établies. Des travaux aussi ont montré l'activité anti-inflammatoire, due aux acides ursolique et oléonolique, des espèces marocaines *T. willdenowii* (**Ismaili *et al.*, 2001**), et *T. broussonettii* (**Ismaili *et al.*, 2001**).

4. L'espèce *Thymus numidicus* L.

4. 1. Place à la systématique: Selon (**Morales, 2002**)

Règne: Plantae

Embranchement: Spermaphytæ

S/embranchement: Angiospermae

Classe: Dicotylédonae

Sous classe: Dialypétales

Ordre: Labiales

Famille: Lamiaceae

Sous-famille: Nepetoideae

Genre: *Thymus*

Espèce: *Thymus numidicus* L.

4. 2. Description botanique de l'espèce *T. numidicus* L.

Tiges érigées, plante buissonnante, feuilles en général lancéolées, 2-5 fois plus longues que larges. Feuilles florales nettement plus larges. Fleurs roses sessiles ou presque. L'espèce *T. numidicus* est endémique au nord Algérien (Quezel et Santa, 1962).

5. Principaux métabolites secondaires isolés du genre *Thymus*

Les molécules rencontrées dans le genre *Thymus* peuvent se classer en deux grands groupes: Les composés phénoliques et les huiles essentielles.

5.1. Composés phénoliques

- Généralités

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante (Lugasi *et al.*, 2003). Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales: la voie shikimate et acétate (Lugasi *et al.*, 2003).

L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...). Ils peuvent avoir plusieurs différents substituant (Bruneton, 1993).

Il existe de nombreuses classes de polyphénols: phloroglucinols, quinones, stilbénoides, coumarines, acides-phénoliques, flavonoïdes, anthocyanes et tanins. Ces structures peuvent également être acylées ou glycosylées, ce qui donne une grande variété de structures et de polarité (Bruneton, 1993).

Les composés phénoliques sont une famille thérapeutiquement et économiquement intéressante. Ils sont exploités en phytothérapie et dans des spécialités pour des propriétés vasculoprotectrices, anti-inflammatoires et antioxydantes (flavonoïdes, anthocyanes, tanins), antispasmodiques (phloroglucinols), antimicrobiennes (acides-phénoliques) et suscitent beaucoup d'intérêt par leur potentiel antioxydant (Touafek, 2010).

Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc.). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (**Milane, 2004**).

Ils ont beaucoup des fonctions différentes dans les différentes espèces:

- Défense contre les pathogènes.
- Attraction des pollinisateurs.
- Protections des rayonnements UV.
- Molécules de dissuasion alimentaire.
- Rôle structural (ex. lignine, constituante du bois).
- Ils constituent les 40% du charbon organique dans la biosphère (**Touafek, 2010**).

La plupart des composés cités dans le genre *Thymus* appartiennent à cette classe.

Ils se distinguent en deux grands groupes: Les acides phénoliques et les flavonoïdes.

5.1.1. Acides phénoliques isolés du genre *Thymus*

Les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque (composés en C6-C1) tels que l'acide gallique élément constitutif des tanins hydrolysables ou de l'acide cinnamique (composés en C6-C3) comme l'acide caféique qui sont souvent estérifiés.

Quinze acides phénoliques sont répertoriés au niveau du genre *Thymus*. Les dérivés de l'acide cinnamique ont été les plus abondants chez plusieurs espèces de ce genre. Seulement quatre acides hydroxybenzoïques sont répertoriés: trois sont cités dans une seule espèce de ce genre: *Thymus capitatus* (L.) Hoff. Et Link et un autre dans les espèces *Thymus vulgaris* L. et *Thymus comosus* Heuff. (**Tableau 01**):

Tableau 01: Distribution des acides phénoliques dans le genre *Thymus*.

Acide phénolique isolés	Espèce (origine)	Référence
○ Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque: acides hydroxybenzoïques		
Acide vanillique	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
Acide gallique	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
Acide syringique	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
Acide gentisique	<i>T. vulgaris</i> L (Romanie) <i>T. comosus</i> Heuff. (Romanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
○ Acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique: acides hydroxycinnamiques		
Acide <i>p</i> -coumarique	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
	<i>T. glabrescens</i> Willd. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. pulegioides</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. vulgaris</i> L. (Romanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
	<i>T. comosus</i> Heuff. (Romanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
	<i>T. pulegioides</i> L. (Romanie)	Mariana <i>et al.</i> , 2007
Acide caféique	<i>T. vulgaris</i> L. (Egypte)	Roby <i>et al.</i> , 2013
	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
	<i>T. glabrescens</i> Willd. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. pulegioides</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. vulgaris</i> L. (Romanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
	<i>T. comosus</i> Heuff. (Romanie) <i>T. pulegioides</i> L. (Romanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008 Mariana <i>et al.</i> , 2007

Acide phénolique isolés	Espèce (origine)	Référence
Acide férulique	<i>T. vulgaris</i> L. (Egypte)	Roby <i>et al.</i> , 2013
	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
	<i>T. glabrescens</i> Willd. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. pulegioides</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. comosus</i> Heuff. (Roumanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
	<i>T. pulegioides</i> L. (Roumanie)	Mariana <i>et al.</i> , 2007
Acide trans-2-Hydroxycinnamique	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
Acide chlorogénique	<i>T. vulgaris</i> L. (Egypte)	Roby <i>et al.</i> , 2013
	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
	<i>T. glabrescens</i> Willd. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. pulegioides</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. vulgaris</i> L. (Roumanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
	<i>T. comosus</i> Heuff. (Roumanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
Acide rosmarinique	<i>T. vulgaris</i> L. (Egypte)	Roby <i>et al.</i> , 2013
	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link (Tunisie)	Jabri <i>et al.</i> , 2012
	<i>T. glabrescens</i> Willd. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. praecox</i> Opiz. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. pulegioides</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L. (Angarie)	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. vulgaris</i> L. (Roumanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
	<i>T. comosus</i> Heuff. (Roumanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
Acide Caftarique	<i>T. vulgaris</i> L. (Roumanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
	<i>T. comosus</i> Heuff. (Roumanie)	Angela <i>et al.</i> , 2008
	<i>T. pulegioides</i> L. (Roumanie)	Mariana <i>et al.</i> , 2007

Acide phénolique isolés	Espèce (origine)	Référence
○ Autres acides phénoliques		
Acide Carnosique	<i>T. vulgaris</i> L. (Egypte)	Roby <i>et al.</i> , 2013
Methyl rosmarenate	<i>T. vulgaris</i> L. (Egypte)	Roby <i>et al.</i> , 2013
Acide quinique	<i>T. vulgaris</i> L. (Egypte)	Roby <i>et al.</i> , 2013

5.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes (*flavus*, jaune en latin) représentent une large gamme de composés naturels, appartenant à la famille des polyphénols, considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles (Pietta, 2000; Ghedira, 2006).

Ils présentent une structure commune en C6-C3-C6. Deux cycles aromatiques (A et B) sont liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C) (Macheix *et al.*, 2006) (Figure 01). Les flavonoïdes sont subdivisés en sous-classes selon la structure de l'hétérocycle C. On distingue alors les 4-oxoflavonoïdes (flavones, isoflavones, flavonols et flavanones), les flavanols et les proanthocyanidines, les anthocyanes ainsi que des composés plus minoritaires, les chalcones et dihydrochalcones (Crozier *et al.*, 2009).

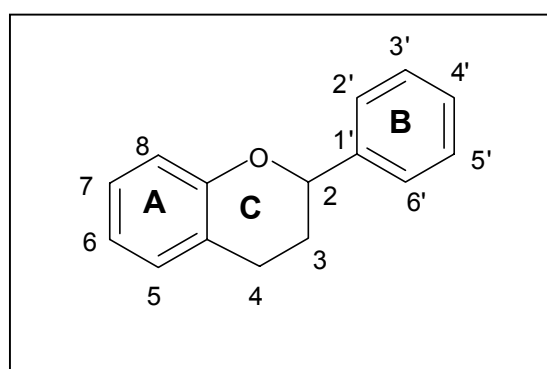


Figure01: Structure de base des flavonoïdes.

Il existe dans chaque sous-classe de nombreux composés selon les substitutions des cycles aromatiques. La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (Crozier *et al.*, 2009). La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone.

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement phényl-2 chromane. L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone synthase, d'une unité phényle propanoïde (4-coumaroyl-CoA) avec trois unités malonyl-CoA, la structure de base en C-15 sous forme d'une chalcone soit 4,2',4',6'-tetrahydroxychalcone (**Bruneton, 1999**), (**Figure 02**).

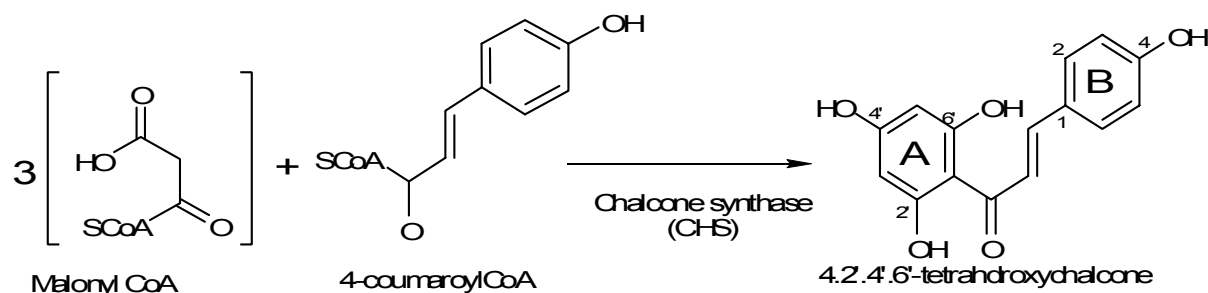


Figure 02: L'étape clé de la formation des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse de divers flavonoïdes. Elle est en équilibre avec les flavonoïdes. Cet équilibre étant contrôlé par une enzyme « la chalcone isomérase », cette dernière induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une flavane. Il est le précurseur de toutes les classes de flavonoïdes (**Remesy et al., 1996**).

5.1.2.1. Flavonoïdes isolés du genre *Thymus*

Les principaux métabolites secondaires du genre *Thymus* sont les flavonoïdes. La lutéoline et la 6-hydroxylutéoline sont des chémomarqueurs de la sous-famille des Nepetoideae et en particulier des espèces *Thymus*, la thymusine (5,6 dihydroxy-7,8,4'-triméthoxyflavone) est aussi caractéristique de cette sous-famille (**Kabouche, 2005**).

La distribution des flavonoïdes dans les espèces du genre *Thymus* est représentée dans le (**tableau 02**):

Tableau 02: Distribution des flavonoïdes dans les espèces du genre *Thymus*.

Flavonoïdes isolés	Espèce (origine)	Référence
A. Flavones aglycones		
Lutéoline	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link	Jabri <i>et al.</i> , 2012
	<i>T. numidicus</i> Poiret	Benkiniouar <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. vulgaris</i> L.	Bazylko <i>et al.</i> , 2007
	<i>T. vulgaris</i> L.	Miura <i>et al.</i> , 2002
	<i>T. broussonetti</i> Boiss	Ismaili <i>et al.</i> , 2002
	<i>T. herba barona</i>	Corticchiato <i>et al.</i> , 1995
7-Méthoxylutéoline	<i>T. vulgaris</i> L.	Miura <i>et al.</i> , 2002
	<i>T. vulgaris</i> L.	Miura <i>et al.</i> , 1989
	<i>T. membranaceus</i> subsp. <i>Membranaceus</i>	Ferreres <i>et al.</i> , 1985
Apigénine	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link	Jabri <i>et al.</i> , 2012
	<i>T. glabrescens</i> Willd.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. praecox</i> Opiz	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. numidicus</i> Poiret	Benkiniouar <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. hirtus</i>	Merghem <i>et al.</i> , 1995
Diosmétine	<i>T. hirtus</i>	Merghem <i>et al.</i> , 1995
Chrysoériol	<i>T. membranaceus</i> subsp. <i>Membranaceus</i>	Ferreres <i>et al.</i> , 1985
7-Méthoxyapigénine	<i>T. vulgaris</i> L.	Miura <i>et al.</i> , 1989
7,4'-Diméthoxyapigénine	<i>T. vulgaris</i> L.	Miura <i>et al.</i> , 1989
B. Flavones glycosidiques		
Lutéolin-7-O-D-glucoside	<i>T. broussonetti</i> Boiss	Ismaili <i>et al.</i> , 2002
	<i>T. willdenowii</i> Boiss	Ismaili <i>et al.</i> , 2001
Lutéolin-7-O-D-glucuronide	<i>T. broussonetti</i> Boiss	Ismaili <i>et al.</i> , 2002
Lutéolin-3'-O-D-glucuronide	<i>T. willdenowii</i> Boiss	Ismaili <i>et al.</i> , 2001

Flavonoïdes isolés	Espèce (origine)	Référence
Apigénin -7-O-glucosyl(1→2) glucoside	<i>T. glabrescens</i> Willd.	
	<i>T. praecox</i> Opiz	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L.	
A. Flavanones		
Naringénine	<i>T. pulegioides</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. glabrescens</i> Willd.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. praecox</i> Opiz	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. herba barona</i>	Cortichiato <i>et al.</i> , 1995
Dihydroquercétine	<i>T. pulegioides</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. glabrescens</i> Willd.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. praecox</i> Opiz	Boros <i>et al.</i> , 2010
Eriodictyol	<i>T. pulegioides</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. glabrescens</i> Willd.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. praecox</i> Opiz	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. herba barona</i>	Cortichiato <i>et al.</i> , 1995
B. Flavonols		
Quercétine	<i>T. capitatus</i> (L.) Hoff. Et Link	Jabri <i>et al.</i> , 2012
	<i>T. pulegioides</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. glabrescens</i> Willd.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. praecox</i> Opiz	Boros <i>et al.</i> , 2010
Rutine	<i>T. pulegioides</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. serpyllum</i> L.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. glabrescens</i> Willd.	Boros <i>et al.</i> , 2010
	<i>T. praecox</i> Opiz	Boros <i>et al.</i> , 2010

5.2. Huiles essentielles

5.2.1. Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composées volatiles odorantes, majoritairement issues de la famille des terpénoïdes, et qui s'accumulent dans des glandes et tissus spécialisés des végétaux: cellules épidermiques des pétales chez les Rosaceae ou les Oleaceae, glandes épidermiques des Lamiaceae, poches sécrétrices des Rutaceae ou canaux sécréteurs des Apiaceae (anciennement Umbellifereae). Ils peuvent être stockés dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, rhizomes, fruits et graines (**Emeline, 2011**).

Elles sont constituées d'un mélange souvent complexe de molécules organiques variées, comprenant en particulier des terpènes (hydrocarbures) et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones) (**Touafek , 2010**).

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Elles sont solubles dans les solvants organiques usuels, entraînaibles à la vapeur d'eau, très peu solubles dans l'eau. Elles sont composées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) (**Bruneton , 1999; Bakkali et al., 2008**).

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (**Bakkali et al., 2008; Tajkarimi et al., 2010**).

Le rendement et la composition chimique des HES varient selon l'environnement (température, salinité, pluviosité...), la période de récolte (saison, stade de développement), l'état de plante (fraîche ou séchée) et la technique d'extraction (hydrodistillation, entraînement à la vapeur d'eau, extraction par solvant...). Ces variations sont aussi observées entre les HES extraites des différentes parties de la même plante (feuilles, fleurs, tiges, graines et racines) (**Dorman et al., 2000; Dudareva et al., 2004**).

5.2.2. Composition chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces. A titre d'exemple, le carvacrol et le thymol sont les composants majeurs de l'huile d'*Origanum compactum*, le linalol pour l'huile de *Coriandrum sativum*, le menthol et le menthone pour l'huile de *Mentha piperita*. Généralement ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques de l'huile essentielle (Bakkali *et al.*, 2008).

La plupart des composants des HES sont inclus dans deux groupes: les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées (Calsamiglia *et al.*, 2007).

❖ **Les terpénoïdes:** Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires chez les végétaux. Bien que de structures très diverses, les terpènes ont un caractère commun: ils sont tous formés par la réunion d'unités isopréniques (unités pentacarbonées ramifiées) (Figure 03). De ce fait, une classification rationnelle, basée sur le nombre d'unités isopréniques qu'ils renferment, est possible. Ainsi on distingue les hémiterpènes (C₅), les monoterpènes (C₁₀), les sesquiterpènes (C₁₅), les diterpènes (C₂₀), les sesterpènes (C₂₅), les triterpènes (C₃₀), les caroténoïdes (C₄₀) et les polyisoprènes (C_n).

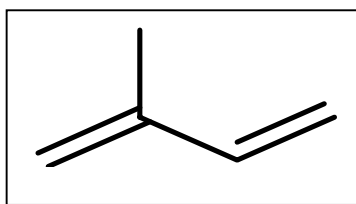


Figure 03: Structure de la molécule d'isoprène.

En général, seuls les terpènes de poids moléculaire faible, de 10 à 20 atomes de carbones, sont présents dans les huiles essentielles (Calsamiglia *et al.*, 2007). Ils peuvent être:

- **Carbures:** acycliques (myrcène, ocimène etc.), monocycliques (terpinènes, *p*-cymène, phelandrenes, etc.), bicycliques (α - et β -pinène, 3-carène, camphène, sabinene, etc.) ou fonctionnalisés:
- **Alcools:** acycliques (géraniol, linalol, citronello, lavandulol, nerol, etc.), monocycliques (menthol, α -terpinéol, etc.), bicycliques (bornéol, fencho, chrysanthenol, thuyan-3-ol, etc.).
- **Aldéhydes:** le plus souvent acycliques (géraniol, néral, citronellal, etc.).
- **Cétones:** acycliques (tegétone), monocycliques (menthone, carvone, pulegone, piperitone, etc.), bicycliques (camphre, fenchone, thuyone, ombellulone, pinocamphone, pinocarvone etc.).
- **Esters:** acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle, d' α -terpinyle, etc.), bicycliques (acétate d'isobornyle, etc.).
- **Ethers:** 1,8-cinéole, menthofurane, etc.
- **peroxydes:** ascaridole, etc.
- **Phénols:** thymol, carvacrol, etc. (**Bakkali *et al.*, 2008**).

❖ **Les phénylpropanoïdes:** Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine. Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (**Figure 04**) (**Sangwan *et al.*, 2001**).

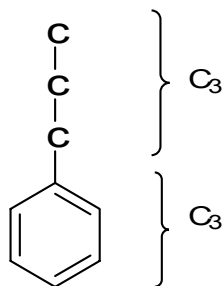


Figure 04: Squelette de base des phénylpropanoïdes.

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'estragole et bien d'autres. Ils sont d'avantages fréquents dans les huiles essentielles

d'Apiaceae (Persil, Anis, Fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celle du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc (Bakkali *et al.*, 2008).

5.2.3. Biosynthèse des composés terpéniques

La biosynthèse des isoprénoïdes des huiles essentielles peut être simplifiée en trois étapes: biosynthèse de l'isopentényl diphosphate (IPP), la condensation d'unités IPP et la formation de prényl-diphosphate et conversion des prényl-diphosphates. La condensation de l'isopentényl diphosphate (entité nucléophile) à diméthylallyle diphosphate (entité électrophile) conduit à une géranyle diphosphate (GPP, C10), précurseur de monoterpènes. Un autre type de condensation en tête-à-queue de l'IPP sur le GPP conduit au farnésyl diphosphate (FPP, C15), le précurseur de sesquiterpènes (Figure 05).

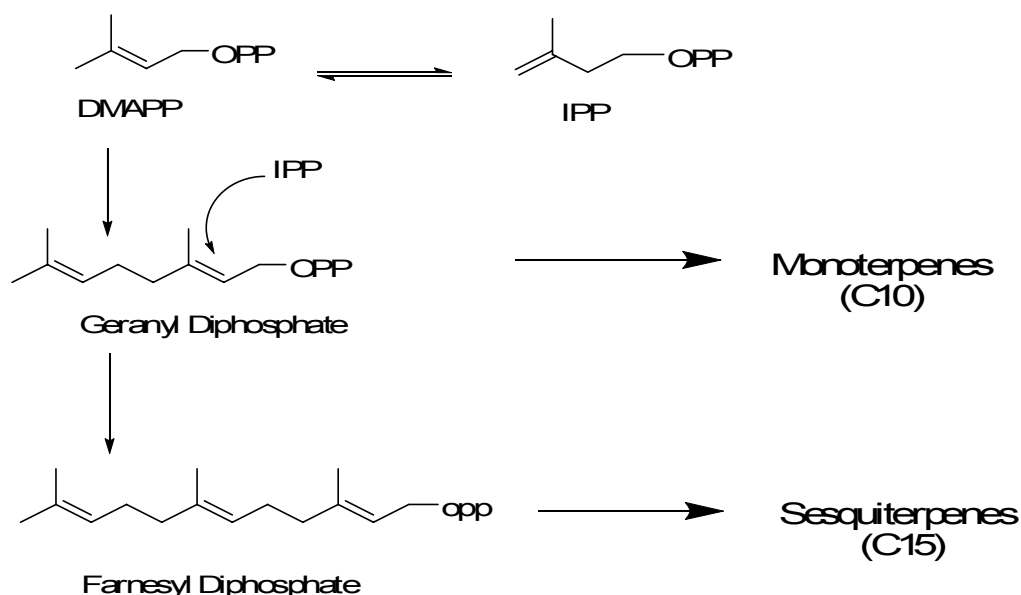
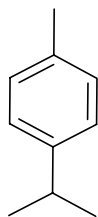
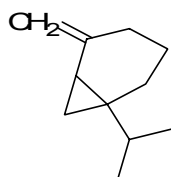


Figure 05: Précurseurs biosynthétiques des principaux constituants métaboliques des huiles essentielles.

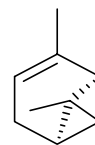
Les structures chimiques de quelques composés majoritaires des huiles essentielles (monoterpéniques et sesquiterpéniques) sont représentées dans la figure 06 :

Monoterpènes

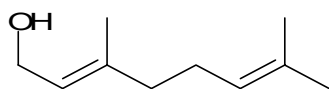
Cymene



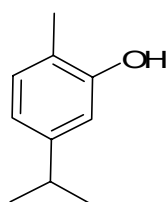
Sabinene



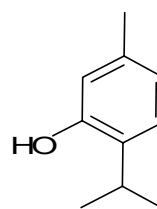
Alpha-pinene



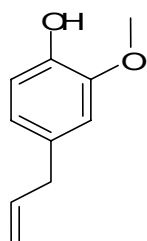
Geraniol



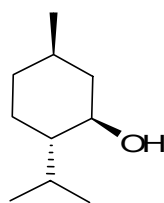
Carvacrol



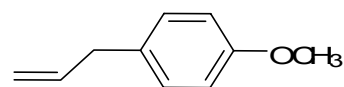
Thymol



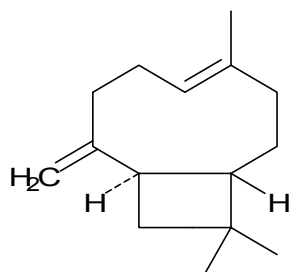
Eugenol



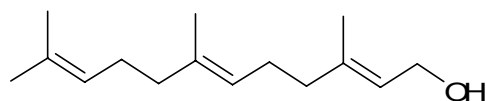
Menthol



Estragole

Sesquiterpènes

Caryophyllene



Farnesol

Figure 06: Structures chimiques de quelques composés majoritaires des huiles essentielles.

5.2.4. Huiles essentielles du genre *Thymus*

Les huiles essentielles du genre *Thymus* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études. Nous nous limiterons dans notre étude à quelques un parmi les plus récents. Les composés majoritaires de ces Huiles, leurs pourcentages et l'origine des espèces cités sont représentés dans le **tableau 03**:

Tableau 03: Les composés majoritaires et leurs pourcentages relatifs en huiles essentielles d'espèces différentes du genre *Thymus*.

Espèce (partie de la plante)	Origine	Composition (%)	Référence
<i>T. ciliatus</i> (PA)	Algérie	Thymol (54,98) γ -Terpinene (11,33) <i>P</i> -Cymene (6,66) Carvacrol (4,96)	Ghorab <i>et al.</i> , 2013
<i>T. satureioidis</i> (PA)	Maroc	<i>P</i> -Cymène (27,59) Thymol (14,09)	El Ouali <i>et al.</i> , 2013
<i>T. vulgaris</i> (PA)	Maroc	Thymol (41,39) γ -Terpinène (22,25)	El Ouali <i>et al.</i> , 2013
<i>T. linearis</i> L. (PA)	Pakistan	Thymol (36,5) Carvacrol (9,50) Thymyl acetate (7,30) B-Caryophyllene (5,76)	Hussain <i>et al.</i> , 2013
<i>T. serpyllum</i> L. (PA)	Pakistan	Carvacrol (44,4) Ocymene (14,0) α -Terpineol (6,47) α -Pinene (6,06) β -caryophyllene (5,25)	Hussain <i>et al.</i> , 2013
<i>T. moroderi</i> (PA)	Espagne	Camphor (26,74) 1,8-cineol (24,99) Myrcene (5,63)	Ruiz <i>et al.</i> , 2012
<i>T. piperella</i> (PA)	Espagne	Carvacrol (31,92) <i>P</i> -Cymene (16,18) γ -Terpinene (10,11)	Ruiz <i>et al.</i> , 2012

Espèce (partie de la plante)	Origine	Composition (%)	Référence
<i>T. Vulgaris</i> L. (FE)	Pakistan	Thymol (52,4) <i>P</i> -cymene (17,9)	Hussain <i>et al.</i> 2011
<i>T. algeriensis</i> Boiss. et Reut. (PA)	Tunisie	Camphor (7,82) 4-Terpineol (7,36) γ -Pinene (6,75) 1,8-cineole (5,54) <i>Cis</i> -sabinene hydrate (5,29)	Zouari <i>et al.</i> , 2011
<i>T. pallescens</i> (PA)	Algérie	Carvacrol (50,9) <i>P</i> -Cymene (17,3) <i>c</i> -Terpinene (12,3)	Hazzit <i>et al.</i> , 2009
<i>T. algeriensis</i> (PA)	Algérie	Thymol (29,5) <i>P</i> -Cymene (13,0) <i>c</i> -Terpinene (6,9)	Hazzit <i>et al.</i> , 2009
<i>T. vulgaris thymoliferum</i> (PA)	France	Thymol (38) <i>P</i> -cymene (19) γ -Terpinene (17)	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. vulgaris carvacroliferum</i> (PA)	France	Cavacrol (33) <i>P</i> -Cymene (24) Thymol (12)	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. vulgaris linaloliferum</i> (PA)	France	Linalool (60) Linalyl acetate (10)	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. serpyllum</i> (PA)	Albania	Cavacrol (23) <i>P</i> -Cymene (20) γ -Terpinène (18)	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. mastichina</i> (PA)	Espagne	1,8-Cineole (47) Linalool (24) Limonene (7)	Oussalah <i>et al.</i> , 2007

Espèce (partie de la plante)	Origine	Composition (%)	Référence
<i>T. satureoides</i> (PA)	Espagne	Borneol (26) Camphene (9) Carvacrol (7)	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. numidicus</i> (poiret) (PA)	Algérie (Constantine)	Thymol (68,2) Carvacrol (16,9) Linalool (11,5)	Kabouche <i>et al.</i> , 2005
<i>T. numidicus</i> (poiret) (PA)	Algérie (Tizi Ouzou)	Thymol (51,0) Carvacrol (9,4) Linalool (3,3) Thymol-methyl-ether (3,2) <i>Iso</i> -caryophyllene (2,7)	Saidj <i>et al.</i> , 2008
<i>T. numidicus</i> (PA)	Algérie (Berrahal)	Thymol (66,31) Linalool (8,61) <i>P</i> -cymene (6,20) γ -terpinene (6,12) Carvacrol (4,31)	Giordani <i>et al.</i> , 2008
<i>T. numidicus</i> (PA)	Algérie (Souk aharas)	Thymol (57,20) Linalool (9,26) γ -terpinene (9,19) <i>P</i> -cymene (7,55)	Giordani <i>et al.</i> , 2008

- PA : parties aériennes
- FE : feuilles

Satureja graeca L.

1. Présentation du genre *Satureja*

Le genre *Satureja* appartient à la famille des Lamiaceae, sous-famille des Nepetoideae et de la tribu des Mentheae. Les espèces du genre *Satureja* sont des plantes herbacées, annuelles ou vivaces et aromatiques, à feuilles verdâtres verts ou gris foncé, et se développent dans des milieux arides, ensoleillé, pierreux et rocheux (Amiri *et al.*, 2011; Giweli, 2012).

C'est une plante médicinale et condimentaire qui peut être également cultivée comme plante ornementale. En effet, le terme « *Satureja* » vient du mot latin « *satura* » désignant pot à fleur (ornemental). Elle jouit d'une grande popularité en Algérie et au Maroc comme remède contre la toux, l'indigestion et les infections respiratoires bénignes (Bougandoura *et al.*, 2012).

2. Origine et Répartition géographique

Ce genre comprend environ 200 espèces d'herbes aromatiques et d'arbustes, largement distribués dans une zone qui s'étend de la région de la Méditerranée vers l'Europe, l'Asie occidentale, l'Afrique du Nord, les îles Canaries et l'Amérique du Sud (Amiri *et al.*, 2011).

3. Propriétés pharmacologiques du genre *Satureja*

Les parties aériennes de certaines plantes du genre *Satureja* ont été largement utilisées dans la médecine traditionnelle comme analgésiques musculaires, toniques et carminatives dans le traitement de l'estomac et des troubles intestinaux tels que des crampes, nausées, indigestion, diarrhée et contre les maladies infectieuses (Giweli, 2012). En outre, il existe des preuves remarquables dans la littérature médicale antique iranien et turc que *S. hortensis* a un effet thérapeutique sur les maladies respiratoires et a été utilisé par voie orale pour traiter l'asthme et la toux (Amiri *et al.*, 2011).

Récemment, les autres propriétés de *Satureja* comme activités antibactériennes, antifongiques, anti-oxydantes, antidiabétiques, anti-VIH, anti-hyperlipidémie, stimulation de la reproduction, expectorant et vasodilatatrices ont été mises en évidence (Amiri *et al.*, 2011).

4. L'espèce *Satureja graeca* L.

4. 1. Place à la systématique: Selon (Morales, 2002),

Règne: Plantae

Embranchement: Spermaphytæ

S/embranchement: Angiospermae

Classe: Dicotylédonae

Sous classe: Dialypétales

Ordre: Labiales

Famille: Lamiaceae

Sous-famille: Nepetoideae

Genre: *Satureja*

Espèce: *Satureja graeca* L.

4. 2. Description botanique de l'espèce *S. graeca* L.

Calice de 5 à 6 mm, à dents longues (1-2 mm) fortement ciliées sur les marges. Verticillastres distants au plus entre eux de 10-15 mm. Calice rougeâtre ou violacé. L'espèce *S. graeca* L. est endémique en Algérie (Quezel et Santa 1962).

5. Principaux métabolites secondaires isolés du genre *Satureja*

Les molécules rencontrées dans le genre *Satureja* peuvent se classer en quatre grands groupes: les tanins, les stéroïdes, les composés phénoliques et les huiles essentielles (Amiri *et al.*, 2011). Plusieurs travaux sont réalisés sur l'isolement des composés phénoliques du genre *Satureja*:

5.1. Acides phénoliques isolés du genre *Satureja*

La distribution des acides phénoliques dans les espèces du genre *Satureja* est représentée dans le (tableau 04):

Tableau 04: Distribution des acides phénoliques dans les espèces du genre *Satureja*.

Acide phénolique isolés	Espèce (origine)	Référence
○ Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque: acides hydroxybenzoïques		
Acide vanillique	<i>S. montana</i> L.(Serbie)	C'etkovic <i>et al.</i> , 2007
Acide syringique	<i>S. montana</i> L.(Serbie)	C'etkovic <i>et al.</i> , 2007
Protocatechuique	<i>S. montana</i> L.(Serbie)	C'etkovic <i>et al.</i> , 2007
○ Acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique: acides hydroxycinnamiques		
Acide <i>p</i> -coumarique	<i>S. montana</i> L.(Serbie)	C'etkovic <i>et al.</i> , 2007
Acide caféique	<i>S. parvifolia</i> (Argentine)	Cabana <i>et al.</i> , 2013
	<i>S. montana</i> L.(Serbie)	C'etkovic <i>et al.</i> , 2007
Acide férulique	<i>S. montana</i> L.(Serbie)	C'etkovic <i>et al.</i> , 2007
acide rosmarinique	<i>S. parvifolia</i> (Argentine)	Cabana <i>et al.</i> , 2013
	<i>S. montana</i>	Mario, 2006

5.2. Flavonoïdes isolés du genre *Satureja*

Plusieurs travaux aussi sont réalisés sur l'isolement des flavonoïdes du genre *Satureja*. La distribution des flavonoïdes dans les espèces du genre *Satureja* est représentée dans le (tableau 05).

Tableau 05: Distribution des flavonoïdes dans les espèces du genre *Satureja*.

Flavonoïdes isolés	Espèce (origine)	Référence
A. Flavones		
Lutéoline	<i>S. parvifolia</i> Phil. (Argentine)	Cabana <i>et al.</i> , 2013
	<i>S. atropatana</i> Bonge (Iran)	Gohari <i>et al.</i> , 2006
	<i>S. sahendica</i> Bornm. (Iran)	Saeidnia <i>et al.</i> , 2011
Luteolin 7-methyl ether	<i>S. thymbra</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005
6-Hydroxyluteolin 7,3'-dimethyl ether	<i>S. thymbra</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005
	<i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	

Flavonoïdes isolés	Espèce (origine)	Référence
6-Hydroxyluteolin 7, 3',4'-trimethyl ether	<i>S. thymbra</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005
Apigénine	<i>S. sahendica</i> Bornm. (Iran) <i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Hadjmohammadi <i>et al.</i> , 2012 Skoula <i>et al.</i> , 2005
Hespéretine	<i>S. parvifolia</i> Phil. (Argentine)	Cabana <i>et al.</i> , 2013
Genkwanine	<i>S. thymbra</i> L. (Grèce) <i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005
Thymonine	<i>S. atropatana</i> Bonge (Iran) <i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Gohari <i>et al.</i> , 2006 Skoula <i>et al.</i> , 2005
Thymusine	<i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005
Cirsimaritine	<i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005
Xanthomicrol	<i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005
Cirsilineol	<i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005
5-desméthoxynobiletine	<i>S. atropatana</i> Bonge (Iran)	Gohari <i>et al.</i> , 2006
A. Flavanones		
Naringénine	<i>S. parvifolia</i> Phil. (Argentine) <i>S. thymbra</i> L. (Grèce) <i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Cabana <i>et al.</i> , 2013 Skoula <i>et al.</i> , 2005 Skoula <i>et al.</i> , 2005
Eriodictyol	<i>S. parvifolia</i> Phil. (Argentine) <i>S. thymbra</i> L. (Grèce) <i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Cabana <i>et al.</i> , 2013 Skoula <i>et al.</i> , 2005 Skoula <i>et al.</i> , 2005
Aromadendrine	<i>S. thymbra</i> L. (Grèce) <i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005 Skoula <i>et al.</i> , 2005
Taxifoline	<i>S. thymbra</i> L. (Grèce) <i>S. spinosa</i> L. (Grèce)	Skoula <i>et al.</i> , 2005 Skoula <i>et al.</i> , 2005
5,7,3,5-tetrahydroxy flavanone	<i>S. spicigera</i> Boiss. (Iran)	Gohari <i>et al.</i> , 2012

Flavonoïdes isolés	Espèce (origine)	Référence
5,4-dihydroxy-3-methoxyflavanone-7-(6-O- α -L rhamnopyranosyl)- β -D-glucopyranoside	<i>S. spicigera</i> Boiss. (Iran)	Gohari <i>et al.</i> , 2012
A. Flavanols		
Epigallocatechine-3-O-gallate	<i>S. parvifolia</i> Phil. (Argentine)	Cabana <i>et al.</i> , 2013
Quercetin-3-O-rutinoside	<i>S. parvifolia</i> Phil. (Argentine)	Cabana <i>et al.</i> , 2013
Quercetin-3-O-glucoside	<i>S. parvifolia</i> Phil. (Argentine)	Cabana <i>et al.</i> , 2013
Catéchine	<i>S. montana</i> L. (Serbie)	C'etkovic <i>et al.</i> , 2007
Epicatechine	<i>S. montana</i> L. (Serbie)	C'etkovic <i>et al.</i> , 2007

5.3. Huiles essentielles isolées du genre *Satureja*

Les huiles essentielles du genre *Satureja* ont fait aussi l'objet d'un grand nombre d'études. Nous nous limiterons dans notre étude à quelques un parmi les plus récents. Les composés majoritaires de ces Huiles, leurs pourcentages et l'origine des espèces cités sont représentés dans le **tableau 06**:

Tableau 06: Les composés majoritaires et leurs pourcentages relatifs des huiles essentielles d'espèces différentes du genre *Satureja*

Espèce (partie de la plante)	Origine	Composition (%)	Référence
<i>S. calamintha</i> ssp. <i>Sylvatica</i> (PA)	Algérie	Isopulegone (66,5)	Bensouici <i>et al.</i> , 2013
		Pulegone (11,6)	
<i>S. thymbra</i> (PA)	Lybie	γ -Terpinene (39,23)	Giweli <i>et al.</i> , 2012
		Thymol (25,16)	
		<i>P</i> -Cymene (7,17)	
		Carvacrol (4,18)	
<i>S. thymbra</i> L. (PA)	Turquie	Carvacrol (34,6)	Oztürk <i>et al.</i> , 2012
		γ -Terpinene (22,9)	
		<i>P</i> -Cymene (13,0), Thymol (12,8)	

Espèce (partie de la plante)	Origine	Composition (%)	Référence
<i>S. montana</i> (PA)	Algérie	Carvacrol (29,19) Thymol (15,41) <i>P</i> -Cymene (11,77)	Djenane <i>et al.</i> , 2011
<i>Satureja montana</i> L. (PA)	Albania	Thymol (28,99) <i>P</i> -Cymene (12,00) Linalool (11,00) Carvacrol (10,71)	de Oliveira <i>et al.</i> , 2011
<i>S. macrosiphonia</i> Bornm. (PA)	Iran	α -Terpineol (26,7) Borneol (16,6)	Amiri, 2011
<i>S. cuneifolia</i> Ten. (PA)	Turquie	Carvacrol (44,99) <i>P</i> -Cymene (21,61)	Oke <i>et al.</i> , 2009
<i>S. horvatii</i> Šilić (PA)	Monténégro	Thymol (63,37) γ -Terpinene (7,49) Carvacrol methyl ether (4,92) Carvacrol (4,67)	Lakusic <i>et al.</i> , 2008
<i>S. Montana</i> L. (PA)	Bosnie-Herzégovine	Thymol (31,7) Geraniol (22,3)	C'avar <i>et al.</i> , 2008
<i>S. subspicata</i> Bartl. ex Vis. (PA)	Bosnie-Herzégovine	Spathulenol (37,6) Thymol (28,6)	C'avar <i>et al.</i> , 2008
<i>S. brownei</i> (PA)	Venezuela	Pulegon (64,3) Menthone (20,2)	Sefidkon <i>et al.</i> , 2007
<i>S. boissieri</i> (PA)	Turquie	Carvacrol (40,8) γ -Terpinene (26,4)	Sefidkon <i>et al.</i> , 2007
<i>S. spicigera</i> (PA)	Iran	Thymol (35,1) <i>P</i> -Cymene (22,1) γ -Terpinene (13,7)	Sefidkon <i>et al.</i> , 2007

Espèce (partie de la plante)	Origine	Composition (%)	Référence
<i>S. khuzestanica</i> (PA)	Iran	<i>P</i> -Cymene (39,6) Carvacrol (29,6)	Sefidkon <i>et al.</i> , 2007
<i>S. rechingeri</i> Jamzad (PA)	Iran	Carvacrol (56,1) <i>P</i> -cymene(14,0) α -thujone (4,7)	Sefidkon <i>et al.</i> , 2007
<i>S. spicigera</i> Boiss. (PA)	Turquie	Carvacrol (42,5) γ -Terpinene (21,5) <i>P</i> -Cymene (20,9)	Eminagaoglu <i>et al.</i> , 2007
<i>S. cuneifolia</i> ten (PA)	Turquie	Carvacrol (67,1) γ -terpinene (15,2) <i>P</i> -cymene (6,7)	Eminagaoglu <i>et al.</i> , 2007
<i>S. hortensis</i> (PA)	Turquie	Thymol (40,5) γ -Terpinene (18,5) Carvacrol (13,9) <i>P</i> -Cymene (8,9)	Adiguzel <i>et al.</i> , 2007
<i>S. hortensis</i> (PA)	France	Carvacrol (41) γ - Terpinene (33) <i>P</i> -Cymene (6)	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>S. montana</i> (PA)	Slovénie	Thymol (43) <i>P</i> -Cymene (12) γ -Terpinene (9)	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>Satureja subspicata</i> Vis. (PA)	Croatie	Carvacrol (16,76) α -Pinene (13,58) <i>P</i> -Cymene (10,76) γ -Terpinene (9,54) Thymol methyl ether (8,83)	Skocibusic <i>et al.</i> , 2006

- PA: parties aériennes.

Chapitre II

ACTIVITES BIOLOGIQUES

Rappel sur l'activité anti-oxydante

1. Stress oxydatif

La vie en aérobie se traduit au niveau cellulaire par l'existence d'une chaîne respiratoire mitochondriale (**Curtay et Robin, 2000**); au niveau de laquelle l'oxygène est normalement transformé en eau. Cette réaction de réduction implique quatre électrons, et est rendue grâce à un système complexe de protéines et d'enzymes (cytochromes). Elle permet d'apporter à la cellule toute l'énergie nécessaire sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) pour assurer ses fonctions vitales. Ce processus mitochondrial n'est toutefois pas parfait, car 2 à 5% de l'oxygène est transformé en espèces réactives oxygénées (ERO) ou reactive oxygen species (ROS) (**Gueye, 2007**); qui sont des formes variées de l'oxygène active, elles incluent les radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) d'où le symbole « \cdot » indique la présence d'un électron célibataire, le signe « $^-$ » une charge électronique négative (**Vansant, 2004**) et le radical hydroxyle ($\cdot OH$), et les espèces non radicalaires qui sont des oxydants et/ou facilement transformées en radicaux comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Halliwell et Whiteman, 2004**).

Les radicaux libres oxygénés sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe (**Gueye, 2007**). Cela leur confère une grande réactivité chimique (**Dacosta, 2003**).

Leur hyperréactivité les engage dans des réactions de dénaturation des constituants cellulaires de type peroxydation avec les glucides, les lipides, les protéines et l'ADN, formants des produits très instables. Ceux-ci donnent lieu à des réactions en chaîne générant de nouveaux radicaux libres (**Curtay et Robin, 2000**).

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces oxygénées réactives (EOR) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd et al., 2003**).

Il sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, maladies cardiovasculaires...etc (**Favier, 2003**).

2. Antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute molécule, à concentration relativement faible, capable d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et peut retarder, inhiber ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (**Boyd *et al.*, 2003**), ce sont des composés qui réagissent avec les EOR et les rendent ainsi inactifs (**Vansant, 2004**).

2. 1. Antioxydants enzymatiques

Cette ligne de défense est constituée principalement de trois enzymes. Il s'agit du superoxyde dismutase (SOD), de la catalase et de glutathion peroxydase (GPX). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (**Lehucher-Michel *et al.*, 2001**).

2. 2. Antioxydants non enzymatiques

Ce groupe des antioxydants renferme les protéines de séquestration des métaux, qui agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro oxydants, comme Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^{+} (ex: la transferrine, la ferritine, l'albumine, caeruloplasmine...etc.).

D'autre part, il y a des molécules à faible poids moléculaire qui agissent soit comme cofacteurs des enzymes citées soit comme antioxydant propre (**Antwerpen, 2006**).

Les antioxydants à action directe sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, l'empêcher ainsi d'attaquer les structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux ROS et les éliminer (**Kohen et Nyska, 2002**). Ces molécules proviennent soit de sources endogènes (glutathion, mélatonine, acide urique, la mélanine, l'acide lipoïque...), soit de sources exogènes apportés par l'alimentation qui sont des produits naturels (ex : les caroténoïdes (β -carotène), la vitamine E (tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique) (**Curtay et Robin, 2000**), les composés phénoliques (**Yoo *et al.*, 2008**) et surtout les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines (**Siddhuraju, 2007**) et les Huiles essentielles (**Bruneton, 1999**).

3. Activité anti-oxydante des polyphénols

Aujourd'hui, la recherche se concentre sur l'extraction d'antioxydants naturels qui seraient moins toxiques et plus efficaces que les antioxydants synthétiques généralement utilisés pour combattre le "stress oxydant", qui possède à priori un effet fortement pathologique. Des antioxydants synthétiques, comme le butylhydroxytoluène (BHT) et le butylhydroxyanisole (BHA), sont bien connus pour la capacité qu'ils ont à arrêter les réactions en chaîne de peroxydation d'un lipide (**Avlessi et al , 2004**).

Malheureusement, il a été montré qu'ils sont capables d'augmenter le risque des maladies cancérogènes, de causer des dégâts pulmonaires chez les souris, une nécrose du foie, des hémorragies ainsi que la mort des rats (**Branen, 1975**). À cet égard, les flavonoïdes et d'autres polyphénols ont capté l'attention en raison de leur non toxicité et de leur potentialité pour la mise en œuvre dans les régimes alimentaires chez l'homme (**Dziedzic et al., 1983**).

Les polyphénols, naturellement présents dans les aliments ou formés au cours des procédés de transformation, sont considérés comme éliminateurs de radicaux libres (**Shahidi et al., 2003**).

Les propriétés antioxydantes des polyphénols varient en fonction de leur structure chimique. Les positions et degrés d'hydroxylation jouent une part importante dans l'activité antioxydante des polyphénols. Les polyphénols porteurs d'un groupement catéchol (un noyau aromatique porteur de deux fonctions hydroxyles adjacentes) ont un potentiel antioxydant élevé. Ainsi, tous les flavonoïdes portant une hydroxylation en 3' et 4' possèdent une activité antioxydante significative. De plus, une hydroxylation supplémentaire en 5' comme sur la myricétine augmentera cette activité comparativement à des composés comme la quercétine qui en sont dépourvus (**Shahidi et al., 2003**).

L'hydroxylation du noyau B joue donc un rôle important dans l'activité antioxydante des flavonoïdes tandis que l'hydroxylation en 5 et 7 sur le cycle « A » a peu d'influence. La glycosylation en 3 des flavonoïdes par des mono- ou disaccharides réduit leur activité antioxydante comparativement à leurs aglycones (ainsi le rutoside est moins actif que la quercétine). Il a été montré que les chalcones, et en particulier les 3,4- dihydroxychalcones étaient particulièrement efficaces, notamment en comparaison avec leurs flavanones respectives. Par ailleurs, pour les isoflavones, l'hydroxylation en 4' et en 5 est indispensable à une activité antioxydante significative comme dans le cas de la génistéine. De la même

manière, l'activité antioxydante des acides phénoliques dépend de leur degré d'hydroxylation. De plus, il a été montré que les acides hydroxycinnamiques étaient plus antioxydants que les acides benzoïques correspondants (**Shahidi et al., 2003**).

Des études menées *in vitro* à l'aide de différents tests ont permis de montrer les propriétés antioxydantes des polyphénols présents chez les genres *Thymus* et *Satureja*. Des recherches faites sur les extraits méthanolique et aqueux du *Thymus vulgaris* L. dont leurs teneurs en composés phénoliques est très importante, ont montrés qu'ils présentent une forte activité antioxydante en utilisant le radical DPPH (**Dorman et al., 2003; Roby et al., 2013**).

Dans la même optique, **Boulanouar et al., 2013** ont confirmés l'activité antioxydante de l'extrait hydro-alcoolique de *Thymus algeriensis*.

L'extrait méthanolique de *Satureja macrosiphonia* a montré une activité antioxydante dans deux systèmes ; effet scavenger du radical DPPH et test au β -carotène-acide linoléique (**Amiri, 2011**). De même façon, il a été prouvé que les extraits méthanoliques de *Satureja spicigera* et *Satureja cuneifolia* présentent une activité antioxydante importante (**Eminagaoglu et al., 2007**).

4. Activités antioxydantes des HES

La capacité antioxydante des huiles essentielles est étroitement liée à tout le contenu phénol (**Stefanovits-Banyai et al., 2003**). Le carvacrol est l'un des composants principaux des huiles essentielles de certains Lamiaceae, comme l'Origan, sarriette et Thym dont la teneur peut atteindre jusqu'à 86% (**Sefidkon et al., 2007**). L'activité antioxydante de ces plantes est due au carvacrol, thymol et autre phénol (**Schwammle et al., 2001**). Ceci est confirmé par un certain nombre de travaux; **Jukic et Milos, (2005)** ont montrés dans une étude portant sur l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. que les chemotypes phénoliques (thymol et carvacrol) et non phénoliques (linalool) sont capables de réduire le radical DPPH avec un effet plus élevé enregistré pour les chemotypes phénoliques. Ces observations l'on expliqués par la concentration élevée de thymol et carvacrol dans ces derniers.

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques: le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes : γ -terpène et α -terpinène (**Edris 2007**).

L'activité antioxydante des huiles essentielles de la famille des lamiaceae a été largement étudiée, ainsi des études faites par **Bouhdid *et al.* (2006)** sur l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par la technique de décoloration de la β carotène et le test du DPPH, le pouvoir antioxydant manifesté a été interprété par une action combinée des différents antioxydants endogènes contenus dans l'huile.

Des résultats similaires ont été obtenus par **C'avar *et al.*, (2008)**, confirment l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Satureja montana* L., dont leur composés majoritaires sont Thymol et geraniol.

L'huile essentielle de *Satureja macrosiphonia* Bornm. a été testée pour son activité antioxydante par deux méthodes différentes: le test β -carotène-acide linoléique et le test du DPPH. Les résultats obtenus montrent que l'huile de *Satureja macrosiphonia* Bornm. pendant la floraison, dont leur composés majoritaires sont α -terpineol et borneol, témoigne d'une grande activité antioxydante par le test β -carotène-acide linoléique (**Amiri, 2011**).

Rappel sur l'activité antimicrobienne

1. Définition

Le terme antimicrobien désigne les différents agents et substances qui tuent, ou arrêtent la croissance des microorganismes, telles les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes ou les champignons (activité antimycosique ou antifongique), les virus (activité antivirale) et les parasites (activité antiparasitaire).

Ils sont partagés en deux groupes: Agents physiques (température, rayonnements et filtration) et agents chimiques (oxydants, alcools, aldéhydes, détergents anioniques et cationiques et agents chimiothérapeutiques) (**Prescott *et al.*, 2003**).

Parmi ces agents antimicrobiens, on s'intéresse au dernier type des agents chimiques, qui fait partie de l'antibiothérapie.

2. Antibiothérapie et la résistance aux antimicrobiens

2.1. Rappel sur l'antibiothérapie

On appelle antibiotique, toute substance chimique inhibant de manière sélective certaines voies métaboliques des microbes (bactéries, champignons, protozoaires) à très faibles doses, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieures. Cette propriété les distingue des antiseptiques. Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des microorganismes (moisissures: *Penicillium* et *Aspergillus* ou bactéries: des genres *Streptomyces* et *Bacillus*), mais en inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et entièrement synthétiques (Nauciel, 2000).

L'activité des antibiotiques *in vitro* peut être mesurée en déterminant leur capacité d'inhiber, d'arrêter la croissance microbienne (microbiostatique) ou de les tuer (microbicide). Ces deux termes s'appliquent aussi aux bactéries (bactériostatique, bactéricide), c'est la concentration minimale inhibitrice « CMI ». Chacun des antibiotiques a son spectre d'action propre: certains à spectre restreint ne sont efficaces que contre un groupe limité de microorganismes, certains n'attaquent que les bactéries gram négative, d'autres n'attaquent que les gram positive, d'autre enfin sont à large spectre, c'est-à-dire qu'ils sont efficaces contre un très grand nombre de microorganismes différents. L'action des antibiotiques est influencée par de nombreux facteurs: concentration microbienne, milieu, interaction avec un autre antibiotique,...etc. En outre, l'activité *in vivo* est influencée par des données pharmacologiques et des conditions locales particulières (Nauciel, 2000).

2.2. Mécanismes de résistances microbiennes

La résistance aux antimicrobiens peut être naturelle ou acquise; la résistance naturelle est présente chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle est liée à son patrimoine génétique (Nauciel, 2000).

Il y a plusieurs raisons pour lesquelles un microorganisme peut avoir une résistance naturelle à un antibiotique:

- Il peut ne pas posséder la structure ciblée par l'antibiotique. Par exemple, certaines bactéries ne possèdent pas de paroi bactérienne typique et sont donc résistantes aux pénicillines.

- Le microorganisme peut être imperméable à l'antibiotique. Ainsi, la plupart des bactéries à Gram négatif sont imperméables à la pénicilline G.
- Il peut modifier la structure chimique de l'antibiotique en une forme inactive. Beaucoup de staphylocoques contiennent des β -lactamases qui peuvent couper le cycle β -lactame de la plupart des pénicillines.
- Il peut modifier la cible de l'antibiotique.
- Le microorganisme peut développer une voie biochimique résistante (**Madigan et Martinko, 2007**)

La résistance acquise résulte d'une mutation; modification du patrimoine génétique. Le plus souvent, il s'agit de l'acquisition d'un ADN étranger pouvant provenir de la même espèce ou d'espèces bactériennes différentes (**Madigan et Martinko, 2007**).

3. Activité antimicrobienne des polyphénols

Les propriétés antimicrobiennes de certaines classes de polyphénols ont été proposées, soit pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires dues à la pression croissante des consommateurs sur l'industrie de la nourriture pour éviter des conservateurs synthétiques, ou de développer des thérapies innovantes pour le traitement de diverses infections microbiennes qui envisagent l'augmentation de la résistance microbienne contre l'antibiothérapie conventionnel (**Daglia, 2012**).

En outre, l'activité antimicrobienne des polyphénols qui se produisent dans les plantes médicinales a été étudiée contre un large éventail de micro-organismes. Parmi les polyphénols, flavan-3-ols, flavonols, et les tanins ont reçu plus d'attention en raison de leur large spectre et une activité antimicrobienne plus élevée en comparaison avec d'autres polyphénols, et au fait que la plupart d'entre eux sont capables de supprimer plusieurs facteurs de virulence microbienne. (**Daglia, 2012**).

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer: L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes; la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer et l'inhibition du métabolisme microbien (**Mila et Scalbert, 1994**).

Plusieurs études ont eu pour objet la détermination du pouvoir antimicrobien de certains extraits de différentes espèces de *Thymus* et *Satureja*, on cite celles de **Mojab et al., (2008)**,

qui ont révélé une importante activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Thymus daenensis* contre les bactéries à Gram positive: *S. aureus*, MRSA, *S. pyogenes*, *E. faecalis* et VRE.

Loziene et al., (2007), Treki et al., (2009) ont même confirmés l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques et aqueux des espèces: *Thymus pulegioides* L. et *Thymus hirtus* contre un large éventail des microorganismes pathogènes.

Dans la même optique, **Amanlou et al., (2004), Cetkovic et al., (2007), Adiguzel et al., (2007)** ont prouvés aussi l'activité antibactérienne et antifongique des extraits polaires et apolaires des espèces: *Satureja khuzistanica*, *Satureja montana* L. subsp. *Kitaibelii* et *Satureja hortensis*.

4. Activité antimicrobienne des HES

Il est connu depuis l'antiquité que les HES présentent une activité antiseptique non négligeable. Elles sont utilisées contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, comme les bactéries endocanalaies ou la microflore vaginale, et d'origine fongique, comme les dermatophytes, les moisissures allergisantes ou les champignons opportunistes. Elles présentent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Billerbek, 2007**).

Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques, elles inhibent aussi la croissance des moisissures et de levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Dorman et al., 2000**).

Ainsi, *in vitro*, une activité antimicrobienne plus élevée des terpènes oxygénés en comparaison des terpènes hydrocarbures a été observée. La structure moléculaire semble présenter un rôle aussi important que la présence d'oxygène dans la molécule de terpène: la caractéristique lipophile du squelette hydrocarboné ainsi que la propriété hydrophile des groupes fonctionnels sont déterminés vis-à-vis de l'activité antimicrobienne des terpénoides (**Dorman et al., 2000**).

Giordani et al., (2004) ont montrés que la nature antimicrobienne des HES est apparemment en rapport avec leur fort contenu phénolique en particulier en thymol et carvacrol.

Etant donné la complexité de leur composition chimique, toute laisse à penser que le mode d'action des HES est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HES ait son propre mécanisme d'action. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases:

- attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Burt, 2004**).

De nombreuses études ont confirmés que les espèces appartiennent à la famille des Lamiaceae et en particulier les genres *Thymus* et *Satureja* sont une bonne source d'huiles essentielles dont leurs activité antimicrobienne est importante. Voici ci-dessous (**tableau 07**) quelques exemples d'espèces, parmi les plus récents, représentés par leurs composés majoritaires et leurs activités antimicrobiennes vis-à-vis certains microorganismes pathogènes :

Tableau 07: Activités antimicrobiennes et composés majoritaires des huiles essentielles d'espèces différentes des genres: *Thymus* et *Satureja*

Espèce (origine)	Composés majoritaires(%)	Microorganismes testés	Référence
<i>T. ciliatus</i> (Algérie)	Thymol (54.98) γ -Terpinene (11.33) <i>P</i> -Cymene (6.66) Carvacrol (4.96)	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Escherichia coli</i> ATCC <i>P.aeruginosa</i> ATCC <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	Ghorab et al., 2013
<i>T. satureioidis</i> (Maroc)	<i>P</i> -Cymène (27,59) Thymol (14,09)	<i>Salmonella</i> sp, <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	El Ouali et al., 2013
<i>T. vulgaris</i> (Maroc)	Thymol (41,39) γ -Terpinène (22,25)	<i>Salmonella</i> sp <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	El Ouali et al., 2013
<i>T. linearis</i> L. (Pakistan)	Thymol (36.5) Carvacrol (9.50) Thymyl acetate (7.30) β -caryophyllene(5.76)	ampicillin-resistant <i>Escherichia coli</i>	Hussain et al. 2013
<i>T. serpyllum</i> L. (Pakistan)	Carvacrol (44.4) <i>O</i> -Cymene (14.0) α -Terpineol (6.47) α -Pinene (6.06) β -Caryophyllene (5.25)	ampicillin-resistant <i>Escherichia coli</i>	Hussain et al. 2013
<i>T. moroderi</i> (Espagne)	Camphor (26.74) 1,8-Cineol (24.99) Myrcene (5.63)	<i>Serratia marcenscens</i> <i>Listeria innocua</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Alcaligenes faecalis</i>	Ruiz et al., 2012
<i>T. piperella</i> (Espagne)	Carvacrol (31.92) <i>P</i> -cymene (16.18) γ -Terpinene (10.11)	<i>S. marcenscens</i> <i>A. hydrophila</i> , <i>A. faecalis</i> , <i>L. innocua</i> <i>Achromobacter denitrificans</i>	Ruiz et al., 2012
<i>T. vulgaris</i> L. (Pakistan)	Thymol (52.4) <i>P</i> -Cymene (17.9)	<i>E. coli</i> NCTC 10418 <i>S. aureus</i> NCTC 1803 <i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400	Hussain et al. 2011

Espèce (origine)	Composés majoritaires(%)	Microorganismes testés	Référence
<i>T. algeriensis</i> Boiss. et Reut. (Tunisie)	Camphor (7.82) 4 Terpeneol (7.36) γ -Pinene (6.75) 1,8-Cineole (5.54) <i>cis</i> -sabinene hydrate (5.29)	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>B. cereus</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Aspergillus niger</i>	Zouari <i>et al.</i> , 2011
<i>T. pallescens</i> (Algérie)	Carvacrol(50.9) <i>P</i> -Cymene(17.3) <i>C</i> -Terpinene(12.3)	<i>B. cereus</i> C1060 <i>Helicobacter pylori</i> J99 <i>Candida albicans</i>	Hazzit <i>et al.</i> , 2009
<i>T. algeriensis</i> Boiss. et Reut. (Algérie)	Thymol(29.5) <i>P</i> -Cymene(13.0) <i>C</i> -Terpinene(6.9)	<i>H. pylori</i> 26695 <i>B. cereus</i> C1060	Hazzit <i>et al.</i> , 2009
<i>T. vulgaris thymoliferum</i> (France)	Thymol (38) <i>P</i> -Cymene (19) γ -Terpinene (17)	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. aureus</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>L. monocytogenes</i>	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. vulgaris carvacroliferum</i> (France)	Carvacrol (33) <i>p</i> -cymene (24) thymol (12)	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. aureus</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>L. monocytogenes</i>	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. vulgaris linaloliferum</i> (France)	Linalool (60) linalyl acetate (10)	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>S. Typhimurium</i> <i>S. aureus</i> <i>L. monocytogenes</i>	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. serpyllum</i> L. (Albania)	Carvacrol (23) <i>p</i> -cymene (20) γ -terpinene (18)	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. aureus</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>L. monocytogenes</i>	Oussalah <i>et al.</i> , 2007
<i>T. mastichina</i> L. (Espagne)	1,8-cineole (47) linalool (24) limonene (7)	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>S. Typhimurium</i> <i>S. aureus</i> <i>L. monocytogenes</i>	Oussalah <i>et al.</i> , 2007

Espèce (origine)	Composés majoritaires(%)	Microorganismes testés	Référence
<i>S. calamintha</i> ssp. <i>Sylvatica</i> (Algérie)	isopulegone (66.5) pulegone (11.6)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>S. aureus</i> ATCC 43300	Bensouici et al., 2013
<i>S. thymbra</i> (Lybie)	γ -terpinene (39.23) thymol (25.16) p-cymene (7.17) carvacrol (4.18)	<i>P. aeruginosa</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>Micrococcus flavus</i> <i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i>	Giweli et al., 2012
<i>S. montana</i> L. (Algérie)	carvacrol (29.19) Thymol (15.41) p-Cymene (11.77)	<i>L. monocytogenes</i> serovar 4b CECT 935	Djenane et al., 2011
<i>S. montana</i> L. (Brésil)	Thymol (28.99) P-cymene (12.00) Linalool (11.00) Carvacrol (10.71)	<i>Clostridium perfringens</i>	de Oliveira et al., 2011
<i>S. cuneifolia</i> Ten. (Turkie)	Carvacrol (44.99) P-cymene (21.61)	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>S. aureus</i> ATCC 25923 <i>B. cereus</i> RSKK 867	Oke et al., 2009
<i>S. horvatii</i> Šilić (Montenegro)	Thymol (63.37) γ -terpinene (7.49) Carvacrol methyl ether (4.92) Carvacrol (4.67)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 <i>S. aureus</i> ATCC 25923 <i>K. pneumoniae</i> NCIMB 9111 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>C. albicans</i> ATCC 10259	Lakusic et al., 2008
<i>S. Montana</i> L. (Bosnie-Herzégovine)	Thymol (31.7) Geraniol (22.3)	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i>	C'avar et al., 2008
<i>S. subspicata</i> Bartl. ex Vis. (Bosnie-Herzégovine)	Spathulenol (37.6) Thymol (28.6)	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>B. subtilis</i>	C'avar et al., 2008

Espèce (origine)	Composés majoritaires(%)	Microorganismes testés	Référence
<i>S. hortensis</i> L. (France)	Carvacrol (41) γ -terpinene (33) <i>p</i> -cymene (6)	<i>Pseudomonas putida</i> <i>E. coli</i> O157:H7 <i>S. Typhimurium</i> <i>S. aureus</i> <i>L. monocytogenes</i>	Oussalah <i>et al.</i> , 2007 Oussalah <i>et al.</i> , 2006
<i>S. Montana</i> L. (Slovenia)	Thymol (43) <i>P</i> -cymene (12) γ -terpinene (9)	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>S. Typhimurium</i> <i>S. aureus</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>P. putida</i>	Oussalah <i>et al.</i> , 2007 Oussalah <i>et al.</i> , 2006
<i>S. subspicata</i> Vis. (Croatie)	Carvacrol (16.76) α -pinene (13.58) <i>P</i> -cymene (10.76) <i>C</i> -terpinene (9.54) Thymol methyl ether (8.83)	<i>B. cereus</i> <i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>C. albicans</i>	Skocibusic <i>et al.</i> , 2006

Partie II

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I

MATERIELS ET METHODES

Etude phytochimique

1. Matériel végétal

1.1. Choix du matériel végétal

Le choix du matériel végétal (*Satureja graeca* L. et *Thymus numidicus* L.) a obéi à des considérations bibliographiques tout à bord, qui ont montré une chimio-diversité remarquable de ces espèces à travers des travaux effectués sur des échantillons du même genre provenant de Tunisie, Maroc, Iran, Turquie et d'autres pays. Nous avons voulu, pour notre part, apporter une contribution à cette chimio-diversité par l'étude de la variété Algérienne. Le deuxième critère de choix se rattache aux vertus médicinales de ces plantes.

1.2. Récolte et Conservation du matériel végétal

Les deux plantes ont été récoltées de deux zones différentes :

- *Satureja graeca* L.: récoltée en mois de mars 2012 de la région de Hama Bouziane Wilaya de Constantine.
- *Thymus numidicus* L.: récoltée en trois différentes stades de développement; en mois de février 2013 (phase « I »: végétative), en mois de mai 2013 (phase « II »: début de floraison) et à la fin du mois de juin (phase « III »: pleine floraison) de la région de Grarem Gouga Wilaya de Mila.

Les plantes fraîchement récoltées sont laissées sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, et elles sont broyées grossièrement dans un moulin électrique.

La détermination botanique des espèces a été réalisée par Professeur Zellagui Amar selon (Quezel et Santa, 1962).

1.3. Parties utilisés

- Feuilles, fleurs et tiges de la plante *S.graeca* L.
- Parties aériennes et feuilles de la plante *T.numidicus* L.

Les feuilles et parties aériennes de la plante *T.numidicus* L. et une partie des feuilles, fleurs et tiges de la plante *S.graeca* L. sont destinées à l'extraction des huiles essentielles. Pour l'extraction des flavonoides, 100g des feuilles et 35g des fleurs de la plante *S.graeca* L. sèche ont été utilisés.

2. Méthodes analytiques

2.1. Flavonoïdes

2.1.1. Procédé d'extraction des flavonoïdes

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénols contenant dans les feuilles et fleurs de la plante *S.graeca* L. en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

Suivant le protocole d'extraction décrit par (Gilani *et al.*, 2001; Cetkovic *et al.*, 2007), et que l'on modifie en laboratoire, le matériel végétal broyé (100 g feuilles et 35g fleurs) est soumis à une extraction par macération dans un mélange hydro-alcoolique (MeOH/H₂O; 70/30; v/v) pendant 09 jours.

Le macérât est filtré puis concentré au moyen d'un évaporateur rotatif. Cette opération est répétée 03fois chaque 03 jours (02fois à froid et une fois à chaude) avec agitation de temps en temps. Les solutions hydro-alcooliques ou filtrats sont réunies et concentrées sous pression réduite à température ambiante. Après reprise par de l'eau bouillante, la solution est mise au repos pendant une nuit puis filtrée (l'intérêt de l'utilisation de l'eau distillée bouillante c'est pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation). On récupère la phase limpide qui va subir des affrontements successifs par des solvants de polarité croissante (*n*-hexane, Chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) permettant ainsi de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction et donc selon leur degré de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et tri-glycosylés) (Markham, 1982).

Ces affrontements se font dans une ampoule à décanter, la phase aqueuse et le solvant sont agités énergiquement puis laissés au repos pendant 30 à 60 minutes, la phase aqueuse et la phase organique (qui est chargée de molécules spécifiques) sont récupérées séparément. Les différentes phases récupérées (*n*-hexane, Chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) sont évaporées à sec et pesés, puis sont stockés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation. Le rendement d'extraction est mesuré par rapport au poids initial de la matière végétale sèche.

➤ Calcul du rendement

On appelle rendement le rapport entre le poids de chaque extrait et le poids de la plante sèche à traiter. Le rendement en pourcentage (R) est calculé par la formule suivante:

$R = PE / PP \times 100$ où

PE : poids de l'extrait sec en g

PP : poids de la plante sèche en g

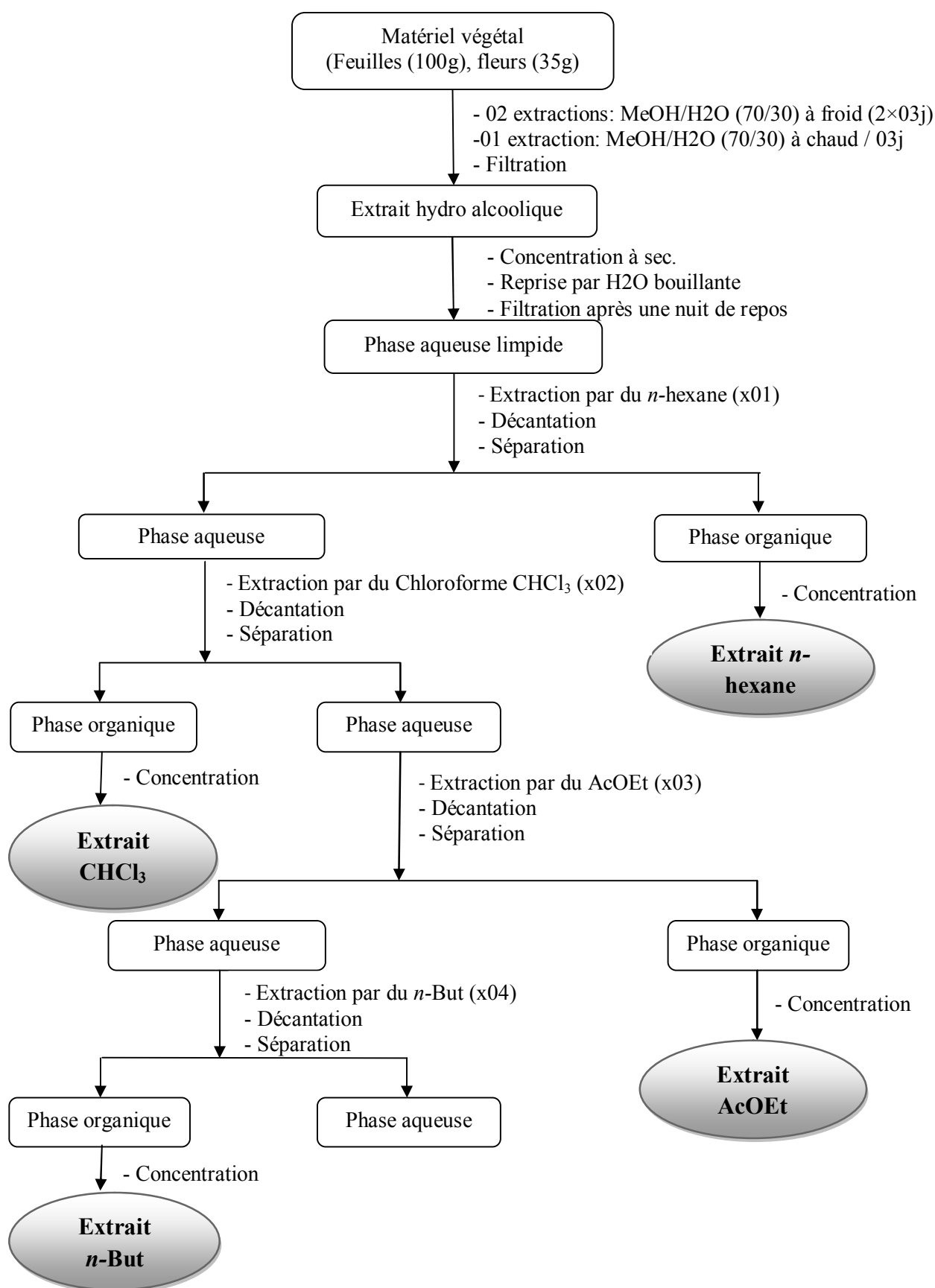


Figure 07: Protocole d'extraction des flavonoïdes (Cetkovic *et al.*, 2007).

2.1.2. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong *et al.*, 2006; Ojeil *et al.*, 2010; Simirgiotis *et al.*, 2013) modifiée au laboratoire.

La méthode de Folin-Ciocalteu est utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux. L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier, de couleur orange, est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques et possède une absorption maximale aux environs de 750 nm (Ojeil *et al.*, 2010).

➤ Mode opératoire

Un volume de 20 µl de chaque extrait (AcOEt et *n*-But) de chaque partie de la plante (feuille, fleurs) et du standard est mélangé avec 480 µl de l'eau distillée dans un tube à essai, le mélange (250 µl du réactif de Folin-Ciocalteu 1N et 1250 µl de carbonate de sodium à 20%) est additionné. Les tubes sont agités à l'aide d'un agitateur Vortex et conservés durant 40 minutes à l'obscurité et à une température ambiante. L'absorbance est mesurée à 750 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

➤ Expression des résultats

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-12 µg/ml), comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait en poudre (µg EAG/mg_{ext}).

1.2.1.3. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) citée par (Simirgiotis *et al.*, 2013) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

Ce réactif entraîne la formation d'un complexe jaune avec les flavonoïdes. Ce dernier présente un maximum d'absorption à 430 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présents dans l'échantillon.

➤ Mode opératoire

01ml de chaque extrait (AcOEt et *n*-But) de chaque partie de la plante (feuilles et fleurs) et du standard dissous dans le méthanol, avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

➤ Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x$) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75-35 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/ mg_{ext}).

2.2. Huiles essentielles

2.2.1. Extraction

Les HES sont extraites à partir des feuilles, fleurs et tiges de *S. graeca* L., feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison et parties aériennes de *T.numidicus* L. dans les trois périodes de développement (végétative, début de floraison et en pleine floraison). L'extraction est faite par un montage d'hydrodistillation (**figure 08**) où 100g de la plante sèche est introduite dans un ballon à tri cols, et imprégné d'eau, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle, en traversant le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, en ajoutant de l'éther diéthylique, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.

Les HES obtenues sont conservées à 4°C dans des tubes bien fermés, en verre ombré. Le rendement en HES est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche.

➤ Calcul du rendement

On appelle rendement le rapport entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids de la plante sèche à traiter. Le rendement en pourcentage (R) est calculé par la formule suivante:

$R = PH / PP \times 100$ où:

PH : poids de l'huile essentielle extraite en g

PP : poids de la plante sèche traitée en g

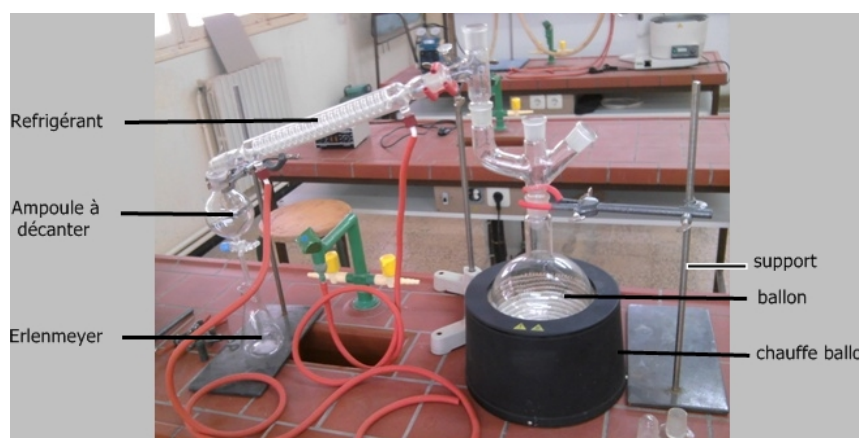


Figure 08: Montage d'extraction des Huiles essentielles.

2.2.2. Analyse par GC/MS

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de l'HES des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Agilent GC6890A couplé avec un détecteur Agilent 5973EI équipé d'une colonne capillaire réticulée 5% PH ME siloxane HP-5MS (30 m • 0,25 mm • épaisseur du film 0,25 µm). Les conditions d'exploration étant :

- Les flux de gaz porteur 1,6 ml He/ min,
- pression de la colonne 100 Kpa.
- température d'injecteur 220 °C
- température de détecteur 250 °C
- La température de la colonne a été maintenue à: 60 °C pendant 1 min, puis soulevé à partir de 60 °C à 200 °C avec 10 °C / min et maintenu pendant 5 min et de 200 °C à 240 °C avec 10 °C / min et maintenu pendant 6 min.

➤ Expression des résultats

Les composants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (RI) relatifs aux *n*-alcanes et à leurs MS avec les données (Librairies NIST et WILEY) correspondantes ainsi qu'aux spectres donnés par la littérature.

Activités biologiques

1. Activité anti-oxydante

1. 1. Test anti radicalaire au DPPH

Pour étudier l'activité anti radicalaire des différents extraits, nous avons choisi la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par (Zellagui *et al.*, 2012)^a avec quelques modifications.

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picrylhydrazyl (DPPH) (C₁₈H₁₂N₅O₆; 394.33) ayant une couleur violette en un composé jaune le diphényl picryl hydrazine le DPPH, dont l'intensité de la couleur jaune est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

➤ Mode opératoire

Le DPPH est solubilisé dans l'éthanol pour avoir une solution de 100 µM. Dans la cuve on introduit 20 µl de chaque extrait (solution mère à 1g/ml de l'éthanol) ainsi que les différents dilutions préparés (1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000). Et puis, on ajoute 02 ml de la solution éthanolique au DPPH. Après agitation, La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm en fonction du temps. Le contrôle négatif est composé de 20 µl de l'éthanol et 02ml de la solution éthanolique au DPPH. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide Ascorbique (vitamine C) dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon test.

➤ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire (AA) où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{ AA} = \left(\frac{[\text{Abs}_{\text{Control}} - \text{Abs}_{\text{Echantillon}}]}{\text{Abs}_{\text{Control}}} \right) * 100$$

Où

% AA: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire;

Abs_{Echantillon}: Absorbance de l'échantillon;

Abs_{Control}: Absorbance du control négatif.

2. Activité antimicrobienne

Au cours de notre étude consacrée à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits: E AcOEt et E *n*-But des feuilles de *S.graeca* L. et HES des parties aériennes de *T.numidicus* L., nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée par (NCCLS) cité par (Zellagui *et al.*, 2012)^b. Dont on a choisis trois souches de références provenant de l'institut pasteur à Alger et trois autres souches cliniques qui sont isolés de différents prélèvements de malades du CHU (Centre Hospitalo-universitaire de Constantine).

2.1. Les souches étudiées

➤ Souches de références

- *Escherichia coli* ATCC25922
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853
- *Staphylococcus aureus* ATCC25923

➤ Souches cliniques

- *Klebsiella pneumoniae*
- *Salmonella sp*
- *Candida albicans*

2.2. Préparation des extraits

Les extraits ont été repris avec le Dimethyl sulfoxyde (DMSO). Des dilutions en série de 1/2 à 1/16 ont été ensuite réalisées à partir d'une solution mère (08mg/ml) pour obtenir des concentrations de (08 mg/ml, 04 mg/ml, 02 mg/ml, 01 mg/ml et 0.5 mg/ml).

2.3. Préparation des disques

Nous avons utilisé le papier Whatman n°3 coupé en disques de 6 mm. Ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques, une fois préparés, sont placés dans un tube à essai et autoclavé durant 20 min à 121°C.

2.4. Réalisation du test antimicrobien

Les différentes espèces microbiennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures afin d'obtenir des colonies jeunes isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

Des colonies bien séparées des espèces microbiennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 09 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%. L'opacité de cette suspension microbienne doit être équivalente à 0,5 Mc Farland (10^6 UFC/ml) ou à des DO de 0,08 à 0,1 lue à 625nm. (L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum).

La gélose de Mueller Hinton (pour les bactéries) et Sabouraud (pour la levure) stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

Des boîtes de pétri stériles, préalablement coulées, sont ensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques stériles sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable, ensuite ces disques sont chargés de différents extraits à raison de 20 μ l par disque. Un témoin négatif a été réalisé avec 20 μ L de DMSO.

Les boîtes de Pétri sont placées au réfrigérateur, couvercles renversées, à 4°C pendant une heure pour permettre une pré-diffusion du contenu de chaque disque.

Les bactéries ont été incubées 24 h à 37 °C en atmosphère normale, tandis que les levures ont été incubées 48 heures au même degré.

➤ Expression des résultats

Après l'incubation, la lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions, à l'aide d'un pied à coulisse (résultats exprimés en mm). Chaque diamètre est représenté par la moyenne de trois mesures.

Chapitre II

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats de l'étude phytochimique

1. Flavonoïdes

1.1. Extraits préparés à partir des feuilles et fleurs de *S. graeca* L.

La préparation des extraits à partir des feuilles et fleurs de *S. graeca* L. par fractionnement bioguidé nous a permis d'obtenir quatre différents extraits:

- L'extrait *n*-hexane (E *n*-hex): représente l'extrait le plus apolaire, et le plus riche en produits lipophiles.
- L'extrait Chloroforme (E Ch): représente l'extrait moyennement apolaire.
- L'extrait acétate d'éthyle (E AcOEt): moyennement polaire.
- L'extrait *n*-butanol (E *n*-But): polaire.

Le rendement de chaque extrait par rapport au poids de la matière végétale sèche est représenté dans la **figure 09** ci-dessous.

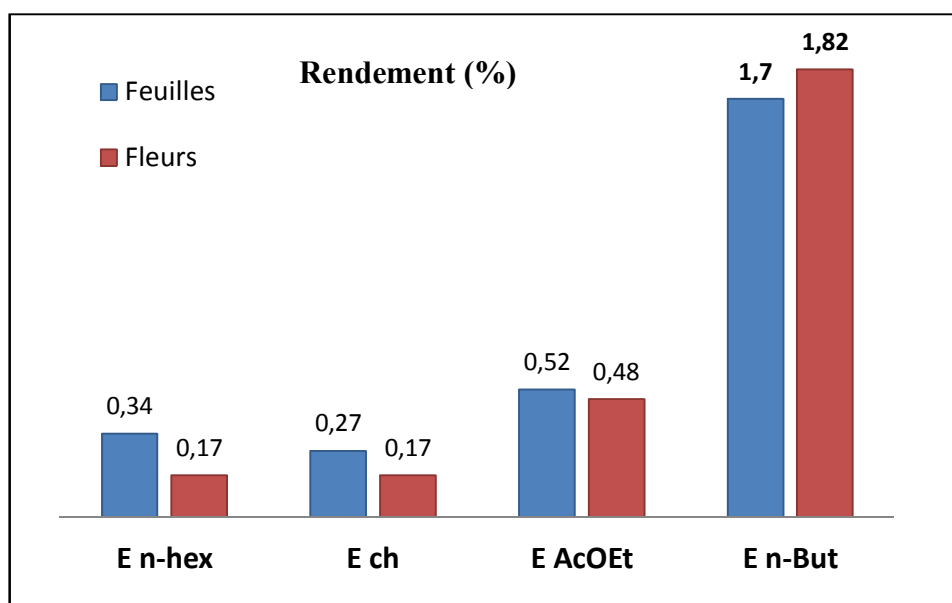


Figure 09: Rendement de divers extraits organiques des feuilles et fleurs de *S. graeca* L.

Le calcul des rendements par rapport au poids total de la matière végétale en poudre montre que parmi les différentes fractions de l'extrait brut, l' E *n*-But représente le rendement le plus élevé (1.82%), suivi par l'E AcOEt (0.48%), l'E Ch (0.17%) puis l'E *n*-hex (0.17%)

par rapport au poids total des fleurs, et l'E *n*-But (1.70%), suivi par l'E AcOEt (0.52%), l'E *n*-hex (0.34%) puis l'E Ch (0.27%) par rapport au poids total des feuilles.

Les résultats obtenus montrent que les deux parties de la plante ont donnés des masses en extraits polaires sec supérieurs à 1g/100g de plante en poudre. Du point de vue rentabilité en poids, ces extraits ont donnés les proportions les plus élevées en comparaison avec les extraits apolaires (E *n*-hex et E Ch) (**figure 09**); cela peut s'expliquer par le fait que le *n*-hexane et le Chloroforme sont des solvants organiques apolaires très volatils et juste utilisés pour dégraisser les drogues.

Des résultats similaires ont été rapportés par **Cetkovic et al., (2007)^a**, qui ont réalisés des extractions par la même méthode (par des solvants à polarité croissante) sur les parties aériennes de *Satureja montana* subsp. *kitaibelii*, ils ont obtenus des rendements de l'ordre de: 0.58±0.029, 0.49±0.024, 0.55±0.028, 2.13±0.106 en g/100g de la poudre végétal pour les extraits: éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol respectivement. Par ailleurs, (**Cetkovic et al., 2007^b**) ont obtenus des rendements de l'ordre de: 0.604+0.030, 0.462+0.022, 0.554+0.027 et 2.376+0.118 en g/100g de la matière végétale sèche (*Satureja montana* L.) pour les extraits : éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol, respectivement.

Globalement, ces résultats sont en accord avec les notre. Néanmoins, ils ont réalisés des extractions sur les parties aériennes de la plante, par contre nous avons étudié chaque partie de la plante à part. Nous avons indiqués que le rendement de l'E *n*-But des fleurs était supérieur à celui des feuilles. En contre partie, les rendements des extraits: E AcOEt, E Ch et E *n*-hex des feuilles étaient supérieur à ceux des fleurs.

Il est donc difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Dorman et al., 2000**). Ainsi, se varie d'une partie à une autre dans la même espèce.

1.2. Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes

Les taux des polyphénols et des flavonoïdes sont déterminés en traçant des droites d'étalonnage avec des coefficients de corrélation ($y= 0.029x$, $R^2 = 0,983$) et ($y=0.029x+0.097$, $= 0,974$) des standards: acide gallique et quercetine respectivement, les résultats sont

exprimés en microgramme d'équivalents de l'étalon utilisé par milligramme d'extrait (μg EE/mg d'extrait). Les résultats sont représentés dans le **tableau 08**.

Tableau 08: Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits des feuilles et fleurs de *S.graeca* L.

Partie de la plante	Extrait	Teneur en Polyphénols ^(a)	Teneur en Flavonoïdes ^(b)
Feuilles	E AcOEt	151,72 \pm 9,75	93,30 \pm 2,05
	E <i>n</i> -But	124,14 \pm 15,60	85,41 \pm 2,17
Fleurs	E AcOEt	50,57 \pm 8,78	13,88 \pm 2,47
	E <i>n</i> -But	38,62 \pm 1,95	09,56 \pm 1,55

(a) μg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

(b) μg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait.

- Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm écart type.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait (EAcOEt) des feuilles de *S.graeca* L. représente la teneur la plus élevée en polyphénols (151,72 \pm 9,75 μg EAG/mg_{Ext}) suivi par l'E *n*-But (124,14 \pm 15,60 μg EAG/mg_{Ext}), ces résultats confirment la grande richesse des feuilles de cette plante en substances polyphénoliques comparativement avec celle des fleurs. En plus, l'E *n*-But des fleurs représente la fraction la plus pauvre en polyphénols avec 38,62 \pm 1,95 μg EAG/mg_{Ext}.

Les mêmes résultats ont été enregistrés pour la teneur en flavonoïdes, où l'E AcOEt des feuilles de *S.graeca* L. représente la teneur la plus élevée en flavonoïdes (93,30 \pm 2,05 μg EQ/mg_{Ext}) suivi par l'E *n*-But (85,41 \pm 2,17 μg EQ/mg_{Ext}). Les teneurs les plus basses ont été obtenues avec l'E *n*-But des fleurs avec 09,56 \pm 1,55 μg EQ/mg_{Ext}.

Il est à noter aussi que l'E AcOEt est plus riche en polyphénols et flavonoïdes comparativement avec de l'E *n*-But dans les deux parties de la plante.

Ces résultats sont en accord avec celles réalisés par **Dorman *et al.*, (2004)**; qui ont déterminés, par la méthode de Folin-Ciocalteu, le contenu en polyphénols totaux dans les extraits polaires de *Satureja hortensis*, où ils ont trouvés une valeur de l'EAcOEt (500 \pm 47.3 mg EAG/g_{Ext}) 20 fois supérieur à celle trouvé dans l'En-But (27.01 \pm 9.1 mg EAG/g_{Ext}). Par

ailleurs, **Cetovic et al., (2007)^b** ont trouvés que l'E *n*-But de la plante *Satureja montana* L. présente la teneur la plus élevée en polyphénols (1358.14+67.91 µg/g de la plante sèche) que l'E AcOEt (969.43+48.47 µg/g de la plante sèche).

En effet, la teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes n'est pas stable, et se diffère d'une partie à une autre dans la même espèce. Les feuilles étaient particulièrement riches en polyphénols et flavonoïdes par rapport aux fleurs qui représentent une teneur moyennement faible.

2. Huiles essentielles

2.1. Résultats d'extraction par hydrodistillation

Les huiles essentielles sont extraites à partir des feuilles, tiges, fleurs de *S.graeca* L., feuilles et parties aériennes de *T.numidicus* L. des trois phases: phase I (végétative), phase II (début de la floraison) et phase III (pleine floraison), par hydrodistillation. Les rendements en huile essentielle représentés dans les **figures (10 et 11)** sont exprimés par le poids d'huile en (g) obtenu pour 100 g de matière végétale sèche.

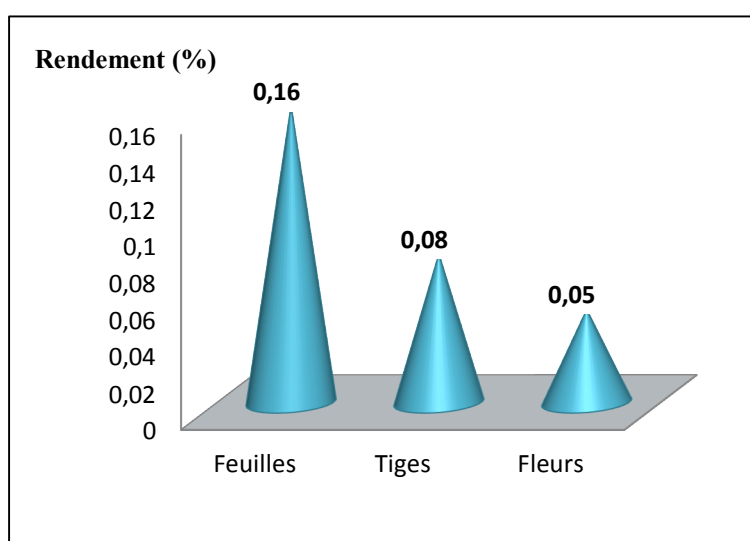


Figure 10: Rendement en HES de différentes parties de *S.graeca* L.

Les résultats représentés sur la **figure 10**, montrent que les rendements en HES des feuilles, tiges et fleurs de *S.graeca* L. obtenus sont de l'ordre de 0.16%, 0.08% et 0.05% respectivement.

Il est intéressant de remarquer que l'HES des feuilles présente le rendement le plus élevé suivi par des tiges et enfin des fleurs.

Ces rendements sont inférieurs à ceux trouvés des parties aériennes de l'espèce *Satureja calamintha* ssp. *sylvatica* de la région de Jijel (2.1%) (**Bensouici et al., 2013**).

Le rendement et la composition chimique des HES varient selon l'environnement, la période de récolte, l'état de plante et la technique d'extraction. Ces variations sont aussi observées entre les HES extraites des différentes parties de la même plante (feuilles, fleurs, tiges, graines et racines) (**Dorman et al., 2000; Dudareva et al., 2004**).

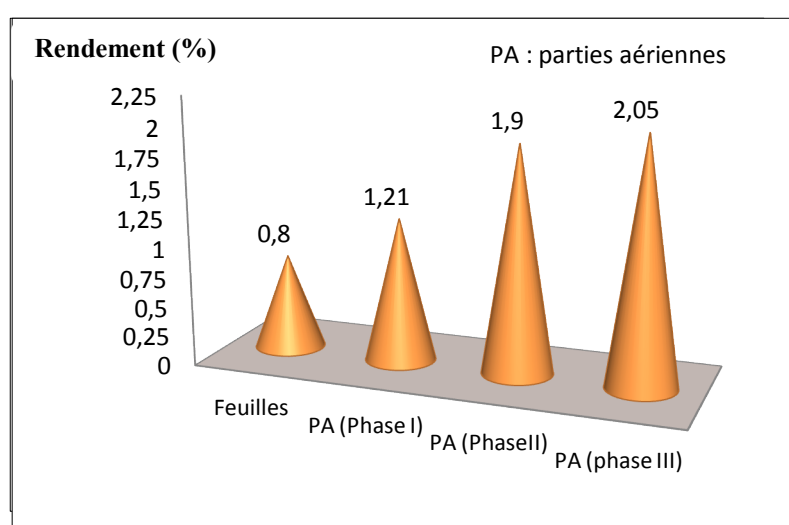


Figure 11: Rendement en HES des feuilles et parties aériennes de *T. numidicus* L.

La **figure 11** montre une variation des teneurs relatives de l'huile essentielle en fonction de la date de cueillette des parties aériennes de la plante *T. numidicus* L. Il faut noter que les meilleurs rendements sont obtenus durant la période de pleine floraison (phase III) avec 2.05%. Les récoltes pendant la phase végétative (phase I) sont caractérisées par de faibles rendements en HES (1.21%) par rapport aux autres récoltes. Le rendement en HES des feuilles de *T. numidicus* L. pendant la floraison était de 0.80%.

Les variations des rendements en huiles essentielles de Thym ont été étudiées par de nombreux auteurs s'accordant ou non avec les résultats obtenus;

Hudaib et al., (2002) ont montrés que le plus haut rendement en HES de *Thymus vulgaris* L. (1.2%) est obtenu avant la fin de floraison au mois de Juillet/Aout. Tandis que **Ozguven et Tansi, (1998)** et **Badi et al., (2004)** ont trouvés que le plus haut rendement en HES de

Thymus vulgaris L. est obtenu pendant la phase de pleine floraison. De même, **Nejad et al., (2008)** ont prouvés que le rendement en HES de *Thymus caramanicus* durant les différentes phases de croissance était de l'ordre: pleine floraison (2.5%) > début floraison (2.1%) > végétative (1.9%). Ces résultats sont plus proches que les notre.

En effet, la variation des rendements en HES peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante et la technique d'extraction utilisée mais également à la période de cueillette de la matière végétale.

2.2. Résultats de l'analyse par GC/MS:

60 composants, représentant (94.0%) de l'huile essentielle des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison ont été identifiés. Les composés obtenus, répertoriés selon leur ordre d'élution dans la colonne, sont résumés dans le **tableau 09**.

Tableau 09: Composition chimique de l'HES des feuilles de *Thymus numidicus* L. pendant la floraison.

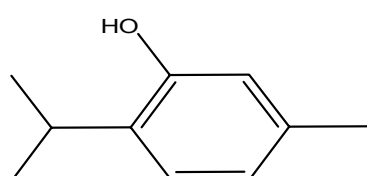
N°	Noms des constituants	T _R	%
1	α -Thujene	4.535	0.2
2	Cyclofenchene	4.683	0.4
3	α -Phellandrene	4.935	0.1
4	α Pinene	5.078	0.1
5	Pentyl vinyl ketone	5.928	0.5
6	β -Myrcene	6.452	0.6
7	β -Pinene	6.760	0.4
8	1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	7.219	0.3
9	β-Cymene	7.334	12.9
10	D-Limonene	7.917	0.2
11	c-Terpinen	8.781	0.2
12	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-	8.958	0.7
13	Octanol	9.433	0.1
14	Octyl formate	9.604	0.1
15	1-Nonen-3-ol	9.715	0.1
16	5-Isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hexan-2-ol	10.187	0.1
17	β-Linalool	10.440	10.7
18	α -Campholenal	10.953	0.1
19	cis-Verbenol	12.063	0.1
20	Borneol	12.827	0.1
21	α -Terpieol	13.407	0.6
22	Thymol methyl ether	16.069	3.3
23	(1R,2R,3S,5R)-(-)-2,3-Pinandediol	16.636	0.2
24	(+)-3-Carene, 2-(acetylmethyl)-	17.662	0.1
25	2-Chlorooctane	18.276	0.1

N°	Noms des constituants	T _R	%
26	Thymol	18.968	41.2
27	Carvacrol = iso thymol	19.201	2.8
28	Chlorocresol	20.278	11.2
29	cis-Verbenol	21.834	0.1
30	Copaene	22.589	0.1
31	β -Bourbonene	22.850	0.1
32	β -Caryophyllene	24.201	0.9
33	Germacrene D	24.661	0.1
34	β -cis-Ocimene	25.558	0.1
35	β -Farnesene	26.216	0.1
36	α-Amorphene	26.635	0.2
37	4aH-cycloprop[e]azulen-4a-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-	27.035	0.1
38	Ylangene	27.289	0.1
39	Ethanol, 2-(2-chloroethoxy)-1-phenyl-	27.397	0.1
40	α-Methylcyclohexene	28.191	0.6
41	α-Cubebene	28.523	0.3
42	α-Zingiberene	28.657	0.1
43	α-Caryophyllene=Humulene	29.512	0.2
44	Spathulenol	30.160	0.1
45	Caryophyllene oxide	30.277	0.3
46	Ethyl iso-allocholate	30.515	0.1
47	3,4-Dimethyl-2,5-diprop-2-enyl-2,5-dihydrothiophene 1,1-dioxide	31.558	0.1
48	δ-Cadinol, (-)-	32.739	0.1
49	Cubenol	32.893	0.1
50	alpha-Cadinol	33.187	0.1
51	Patchoulane	34.194	0.1
52	3-Ethoxy-1,1,1,7,7,7-hexamethyl-3,5,5-tris(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	36.433	0.3
53	Ledol	36.626	0.1
54	1-Cyclohexene-1-butanol, 2,6,6-trimethyl-	38.894	0.1
55	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	40.430	0.1
56	Hexahydrofarnesyl acetone	40.779	0.1
57	Cyclopropane, 2-methylene-1-pentyl-1-trimethylsilyl-	42.199	0.1
58	Stearic acid	44.857	0.3
59	Cycloisolongifolene, 8,9-dehydro-9-formyl-	45.548	0.3
60	Diazoprogesterone	46.709	0.1
Total			94.0

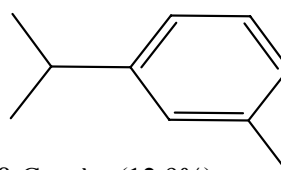
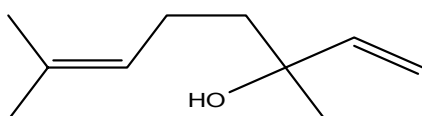
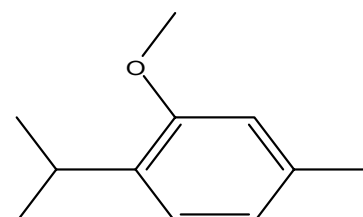
Tableau 10: Classification des constituants de l'HES des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison.

Classes chimiques	Pourcentage (%)
Monoterpènes hydrocarbonés	14,2
Monoterpènes oxygénés	58,3
Sesquiterpènes hydrocarbonés	2,2
Sesquiterpènes oxygénés	0,8
Autres	18,5

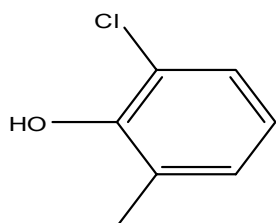
Les structures chimiques des composés majoritaires de cette huile essentielle sont représentées dans la figure ci-dessous:



Thymol (41,2%)

 β -Cymène(12,9%) β -Linalool (10,7%)

Methyl thymol ether (3,3%)



Chlorocresol (11,2%)

Figure 12: Structures chimiques des composés majoritaires de l'HES des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison.

Cette huile est majoritairement composée de thymol (41.2%), β -Cymene (12.9%), Chlorocresol (11.2%), Linalool (10.7%) et Methyl thymol ether (3.3 %).

On constate que l'huile essentielle des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison est très riche en monoterpènes oxygénés (58.3%) (**tableau 10**) et en particulier le thymol qui représente le pourcentage le plus élevé des composés majoritaires de l'huile. Ce qui a été constaté aussi par de nombreux auteurs:

L'HES des parties aériennes de *T.numidicus* poiret de la région de Constantine est composée majoritairement de thymol (68.2 %), carvacrol (16.9 %) et linalool (11.5 %) (**Kabouche et al., 2005**). Dans la même optique, l'HES des parties aériennes de la plante *T.numidicus* poiret pendant la floraison de la région de Berrahal est composée de thymol (66.31 %) comme composé majoritaire, suivi par linalool (8.61 %), *P*-cymene (6.20%), γ -terpinène (6.12%) et carvacrol (5.1 %), tandis que celle de la région de Souk ahras est composée majoritairement de thymol (57.20%), linalool (9.26%), γ -terpinene (9.19%) et *p*-cymene (7.55%) (**Giordani et al., 2008**).

Ainsi une étude a été réalisée par **Hadef et al., (2007)** montre une variation de la composition chimique de l'HES des parties aériennes de *T.numidicus* poir. en fonction du cycle biologique, les huiles essentielles de la période de fin mars et de fin avril présentent une teneur faible en monoterpènes et élevée en monoterpènes oxygénés et en phénols. Les échantillons du début de juin contiennent d'avantage de phénols. Les périodes de juillet sont caractéristiques de la fin du cycle biologique, avec une teneur élevée en *P*-cymène et faible en phénols et en linalool.

Résultats des tests biologiques

1. Evaluation de l'activité antioxydante

Les extraits qui ont été testés par la méthode de DPPH sont:

- Extrait *n*-hexane, Extrait CHCl₃, Extrait AcOEt et Extrait *n*-But des feuilles de la plante *S. graeca* L.
- Les huiles essentielles des feuilles, tiges, et fleurs de *S.graeca* L.
- Les huiles essentielles des parties aériennes de *T.numidicus* L. dans les trois phases de développement: phase I, phase II et phase III.
- Les huiles essentielles des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison.

L'acide ascorbique (Vitamine C) connu pour leurs propriétés antioxydants est utilisé comme contrôle positif.

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti-radicalaires des extraits végétaux (Yi *et al.*, 2008).

L'activité anti-radicalaire des extraits vis-à-vis le radical DPPH a été évalué spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Les résultats sont exprimés en tant que: pourcentage de l'activité antiradicalaire (%AA).

1.1. Activité anti-radicalaire des extraits de *S. graeca* L.

Les profils d'activité anti-radicalaire des extraits polaires et apolaires des feuilles de la plante *S. graeca* L. sont représentés dans les figures (13, 14, 15 et 16):

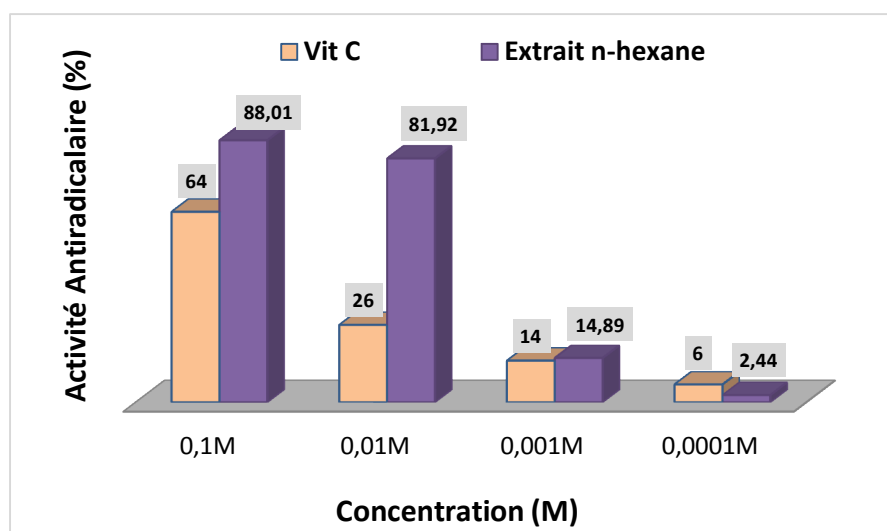


Figure 13: Piégeage du radical libre DPPH par l'extrait *n*-hexane des feuilles de *S. graeca* L. et la vit C.

D'après l'histogramme représenté dans la figure 13, on peut déduire que l'activité anti-radicalaire de l'extrait *n*-hexane et de la Vit C se diminue en correspondance avec la diminution de leurs concentrations. Une activité anti-radicalaire considérable et supérieure à celle de la Vit C a été observée à des concentrations: 10^{-1} M, 10^{-2} M et 10^{-3} M (88.01%, 81.92%

et 14.89%) respectivement, alors qu'on a enregistré une valeur de 2.44% à 10^{-4} M inférieur à celle du standard (6.0%).

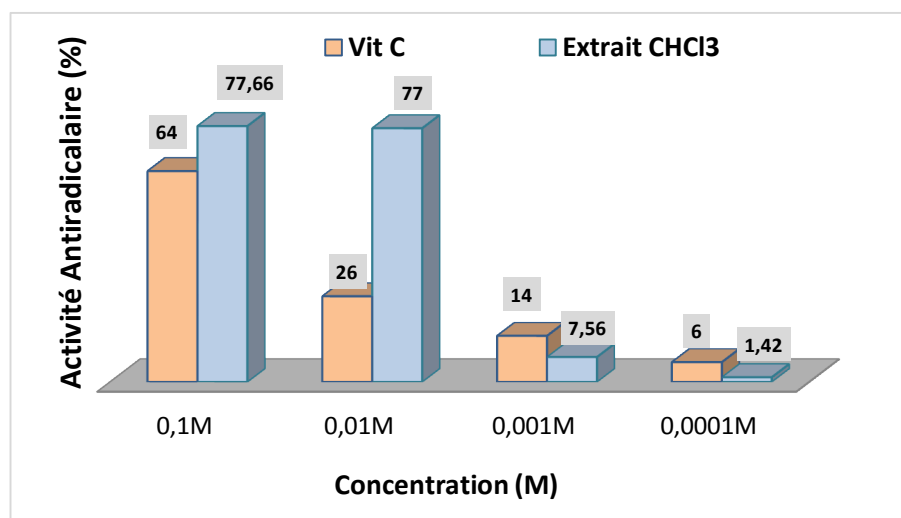


Figure 14: Piégeage du radical libre DPPH par l'extrait Chloroforme des feuilles de *S. graeca* L. et la vit C.

L'histogramme illustré dans la **figure 14** montre clairement une augmentation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait CHCl₃ et la Vit C correspondante à l'augmentation de la concentration. Des résultats supérieurs à celle de la Vit C ont été obtenues à des concentrations 10^{-1} M et 10^{-2} M (77.66% et 77%) respectivement. En contre partie, on a enregistré des valeurs du pouvoir anti-radicalaire inférieurs à celle du standard à des concentrations (10^{-3} M et 10^{-4} M), (7.56% et 1.42%) respectivement.

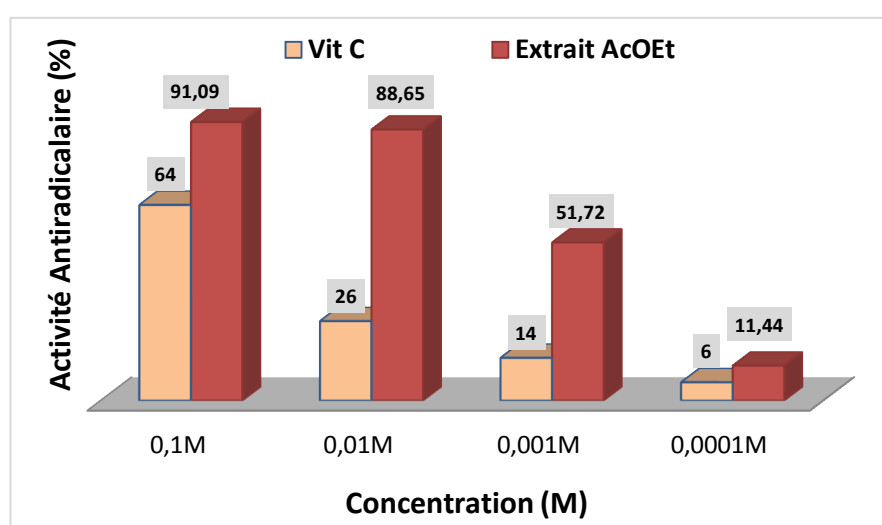


Figure 15: Piégeage du radical libre DPPH par l'extrait AcOEt des feuilles de *S. graeca* L. et la vit C.

L'histogramme représenté dans la **figure 15** indique que l'extrait d'AcOEt des feuilles de *S.graeca* L. et le standard (vit C) possèdent une activité anti-radicalaire dose dépendante. On remarque que notre extrait a présenté une activité très puissante comparativement avec celle du standard à toutes les concentrations. Une meilleure activité a été observée par l'extrait à une concentration de 10^{-1} M avec un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 91.09% en comparaison avec du standard (64%), et une valeur minimale a été enregistré à 10^{-4} M de 11.44% supérieur aussi à celle du standard (6.0%).

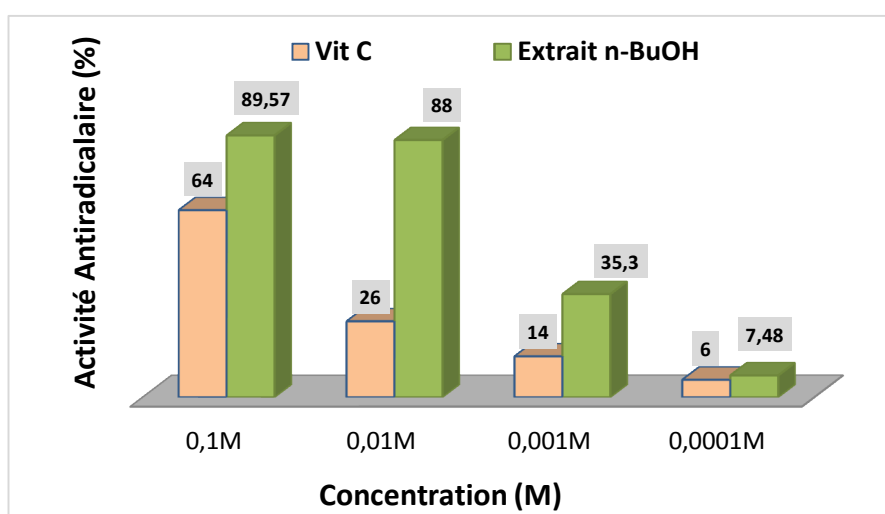


Figure 16: Piégeage du radical libre DPPH l'extrait *n*-Butanol des feuilles de *S.graeca* L. et la vit C.

La **figure 16** montre une activité anti-radicalaire dose dépendante de l'extrait *n*-Butanol des feuilles de *S.graeca* L. et la vit C. Les résultats obtenus par l'extrait ont été supérieurs à celle du standard à toutes les concentrations. Dont, on a enregistré une valeur maximale du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 89.57% à 10^{-1} M en comparaison avec celle de la Vit C (64%), et la plus faible valeur (7.48%) enregistré à 10^{-4} M était supérieur aussi à celle du standard (6.0%).

L'histogramme suivant (**figure 17**) nous a permis de mettre une comparaison entre les différents extraits des feuilles de *S.graeca* L. et la Vit C.

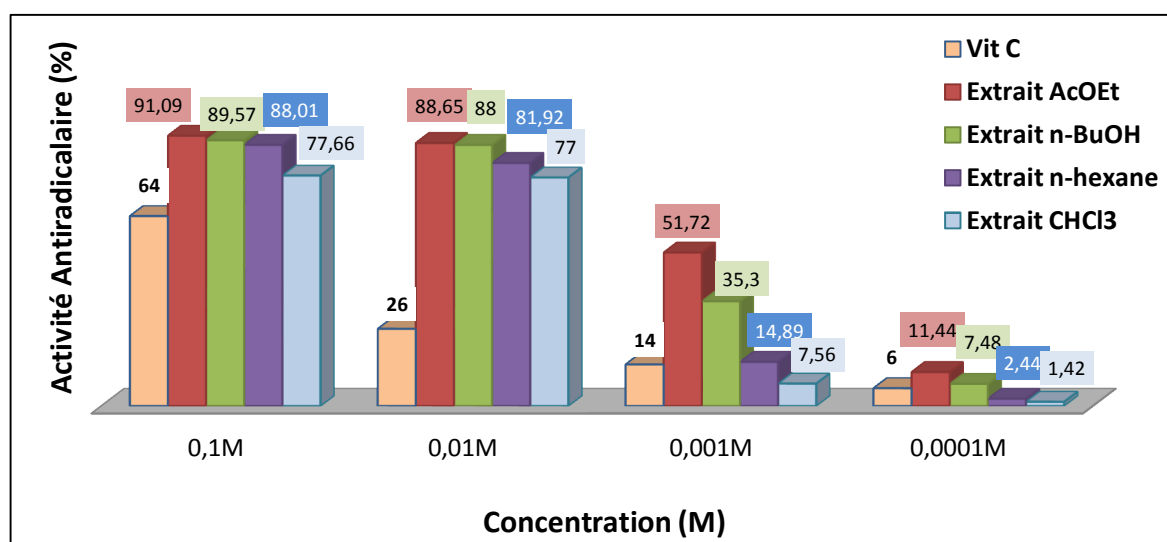


Figure 17: Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les extraits polaires et apolaires des feuilles de *S.graeca* L. et la vit C.

Les résultats illustrés dans la **figure 17** révèlent que tous les extraits organiques des feuilles de *S.graeca* L., ainsi que la vit C possèdent une activité anti-radicalaire dose dépendante.

L'E AcOEt a révélé l'activité anti-radicalaire la plus élevée (91.09%), suivi par l'E *n*-But (89.57%), l'E *n*-hex (88.01%) et en dernier l'E Ch (77.66%) à une concentration de 10^{-1} M. Ces extraits ont montrés des pouvoirs de piégeage du radical DPPH proches et sont tous supérieur à celui de la vit C à des concentrations: 10^{-1} M, 10^{-2} M et 10^{-3} M en excepte l'E Ch qui a présenté un pourcentage d'inhibition inférieur (7.56%) à celui de la Vit C (14%) à une concentration de 10^{-3} M. L'E *n*-hex et l'E Ch ont révélés des activités moins importantes que la Vit C à une concentration de 10^{-4} M.

Les extraits polaires (E AcOEt et E *n*-But) ont manifesté des activités relativement élevées par rapport à celles manifestées par les extraits apolaires (E Ch et l'E *n*-hex).

Ces résultats sont assez similaires avec ceux de (**Armata et al., 2008**), où la fraction d'AcOEt de la plante *Sideritis syriaca*. ssp. *syriaca* (Lamiaceae) analysé par HPLC a montré la présence d'une variété d'acides phénoliques de type hydroxycinnamique (acide Chlorogénique et acide quinique) et flavonoides (apigenin, apigenin 7-O-glucoside et isoscutellareine glycosides), présente l'activité antiradicalaire la plus élevé suivi par la fraction *n*-But, fraction d'éther di éthylique et en dernier la fraction de dichlorométhane.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire des extraits polaires des feuilles de *S. graeca* L. sont aussi en accord avec ceux obtenus par **Eminagaoglu et al., (2007)**. Ces derniers ont constatés que les extraits méthanoliques de *Satureja spicigera* Boiss. et *Satureja cuneifolia* ten. présentent une activité antioxydante importante. De la même optique, **Amiri, (2011)** a confirmé l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Satureja macrosiphonia* Bornm.

Les composés phénoliques semblent être des bons candidats pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux groupements hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres (**Momtaz & Abdollahi, 2008**). L'activité antiradicalaire importante des extraits (E AcOEt et E *n*-But) des feuilles de la plante *S.graeca* L. est probablement liée à leur fort contenu en polyphénols et en flavonoïdes.

Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, parce que la synergie entre les différents produits chimiques l'un avec l'autre devrait être pris en considération dans l'activité biologique (**Bourgou et al., 2008**).

1.2. Activité anti-radicalaire des huiles essentielles de *S.graeca* L.

Les profils d'activité anti-radicalaire des HES de différentes parties de la plante *S.graeca* L. sont représentés dans (les figures 18, 19 et 20):

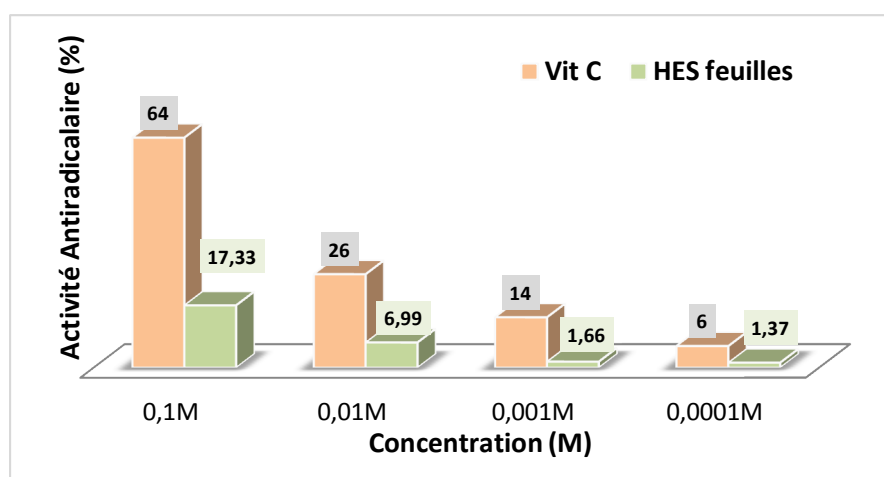


Figure 18 : Piégeage du radical libre DPPH par l' HES des feuilles de *S. graeca* L. et la vit C.

Les résultats représentés dans la **figure 18** montrent une activité anti-radicalaire dose dépendante de l'HES des feuilles de *S.graeca* L. ainsi que la Vit C. Une meilleure activité a été enregistrée à une concentration de 10^{-1} M avec un pourcentage d'inhibition du radical libre

DPPH de 17.33% en comparaison avec celle de la Vit C (64.0%), et la plus faible valeur a été enregistrée à une concentration de 10^{-4} M (1.37%) comparativement avec celle de la Vit C (6.0%).

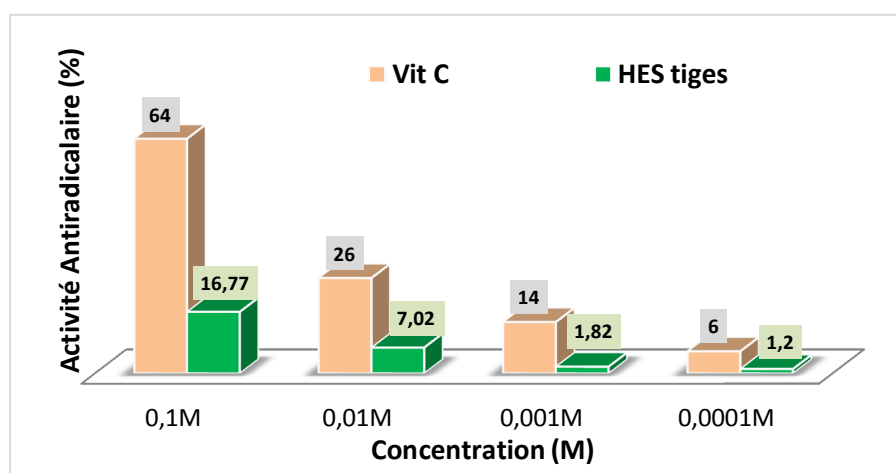


Figure 19: Piégeage du radical libre DPPH par l' HES des tiges de *S. graeca* L. et la vit C.

L'histogramme illustré dans la **figure 19**, montre clairement une activité anti-radicalaire dose dépendante de l'HES des tiges de *S.graeca* L. et la Vit C; avec l'enregistrement d'une valeur maximale du pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'huile essentielle (16.77%) à une concentration de 10^{-1} M, et la plus faible activité a été enregistré à une concentration de 10^{-4} M (1.20%). Ces valeurs sont moins importantes que celles trouvés par la Vit C.

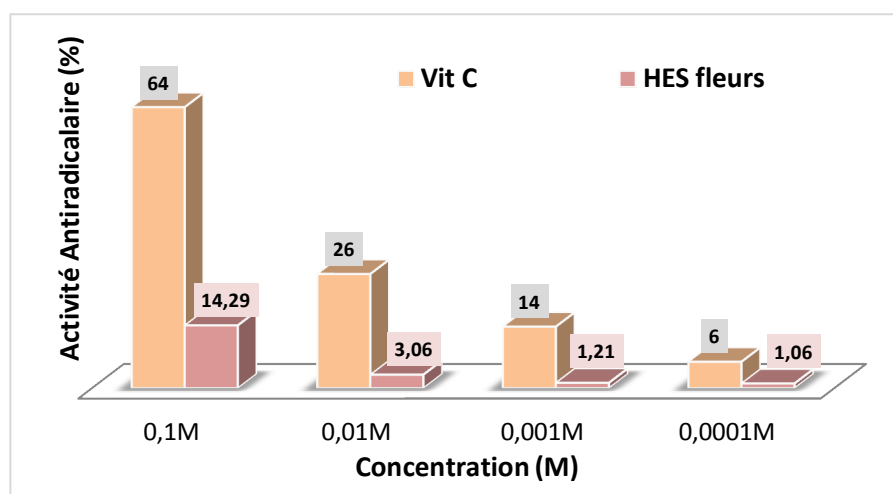


Figure 20: Piégeage du radical libre DPPH par l' HES des fleurs de *S. graeca* L. et la vit C.

Comme indiqué dans les résultats précédentes, la **figure 20** montre que l'HES des fleurs de *S.graeca* L. et la Vit C ont mêmes présentés une activité anti-radicalaire dose dépendante. Une valeur de 14.29% du piégeage du radical libre DPPH par l'HES moins importante que celle de la Vit C a été enregistrée. Ainsi, la plus faible activité anti-radicalaire a été enregistrée par l'huile à une concentration de 10^{-4} M (1.06%).

Afin de comparer l'activité antioxydante des huiles essentielles des trois parties de la plante *S.graeca* L. par la méthode du piégeage du radical libre DPPH et avec la Vit C, on propose l'histogramme ci-dessous:

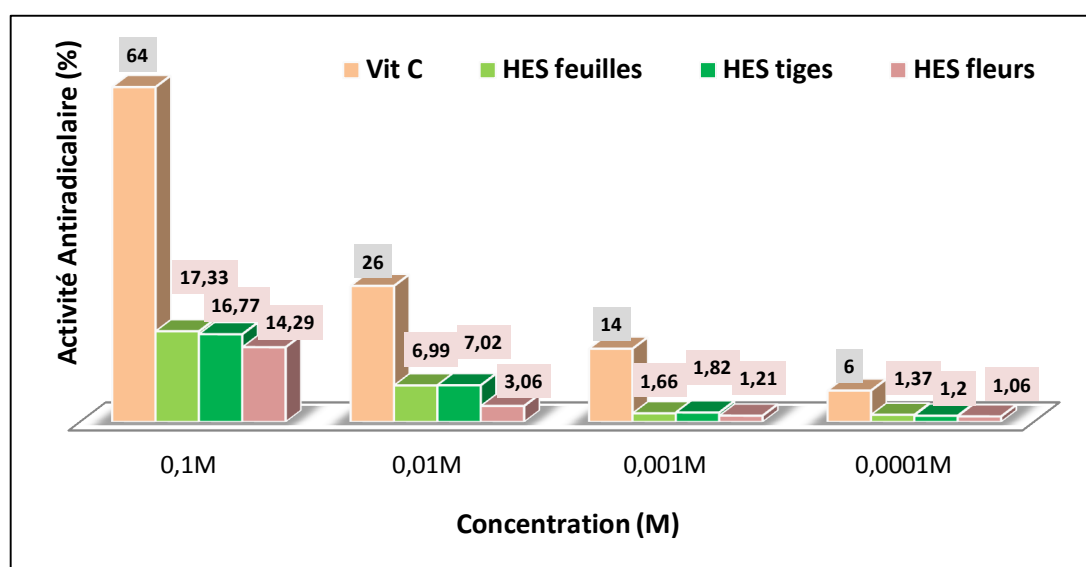


Figure 21: Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les HES de différentes parties de la plante *S. graeca* L. et la vit C.

A partir de l'histogramme représenté dans la **figure 21**, il est appaait que les HES des trois parties de la plante *S.graeca* L. (feuilles, tiges et fleurs) ainsi que la vitamine C possèdent une activité anti-radicalaire dose dépendante.

L'HES des feuilles de *S.graeca* L. a présentée l'activité anti-radicalaire la plus élevé (17.33%) suivi par des tiges (16.77%) et en dernier l'HES des fleurs (14.29%) à une concentration de 10^{-1} M. L'activité de ces huiles était moins importante que celle du standard (64%) à cette concentration.

A des concentrations de 10^{-2} M et 10^{-3} M, on a enregistré des pouvoirs du piégeage du radical libre DPPH de l'HES des tiges supérieur à celles des feuilles.

En comparaison avec l'antioxydant standard (Vit C), toutes les huiles essentielles testées s'avèrent moins actifs.

Nos observations sur l'activité antioxydante des HES de *S.graeca* L. viennent renforcer ceux observés par de nombreux auteurs sur différentes espèces du genre *Satureja* (**Radonic et al., 2003; C'avar et al., 2008 et De Oliveira et al., 2012**). Ces auteurs et plusieurs d'autres ont tous montrés que ces espèces ont des capacités anti-radicalaires variables, et que c'était liée principalement à la présence des monoterpènes phénoliques (thymol et carvacrol).

C'avar et al., (2008), ont confirmés l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Satureja montana* L., dont leur composés majoritaires sont Thymol et géraniol.

Malgré le fait que l'huile essentielle de *S.subspicata* L. a un pourcentage élevé des composés phénoliques (56.6%), contribuant significatif à l'effet antiradicalaire, il a montré une activité considérablement faible. Ces résultats inattendus ont été expliqués par la présence de certains terpenoids oxygénés minoritaires connus par leurs effets pro-oxydants comme le nerolidol (4.2%) (**C'avar et al., 2008**).

D'une autre part, une étude a été réalisée par **Amiri, (2011)** sur l'huile essentielle de *Satureja macrosiphonia* Bornm. de l'Iran pendant la floraison, dont leur composés majoritaires sont α -terpineol et borneol, témoigne d'une grande activité antioxydante par le test β -carotène-acide linoléique.

L'effet antioxydant des huiles essentielles de différentes parties de la plante *S.graeca* L. est probablement attribué à leurs richesse en composés phénoliques notamment thymol et/ou carvacrol. On note que les composés minoritaires ne devraient pas être négligés.

1.3. Activité anti-radicalaire des huiles essentielles de *T.numidicus* L.

Les profils d'activité anti-radicalaire des HES des feuilles pendant la floraison et des parties aériennes de *T.numidicus* L. dans les trois phases de développement: phase « I » (végétative), phase « II » (début de floraison) et phase « III » (pleine floraison) sont représentés dans les **figures (22, 23, 24 et 25)**:

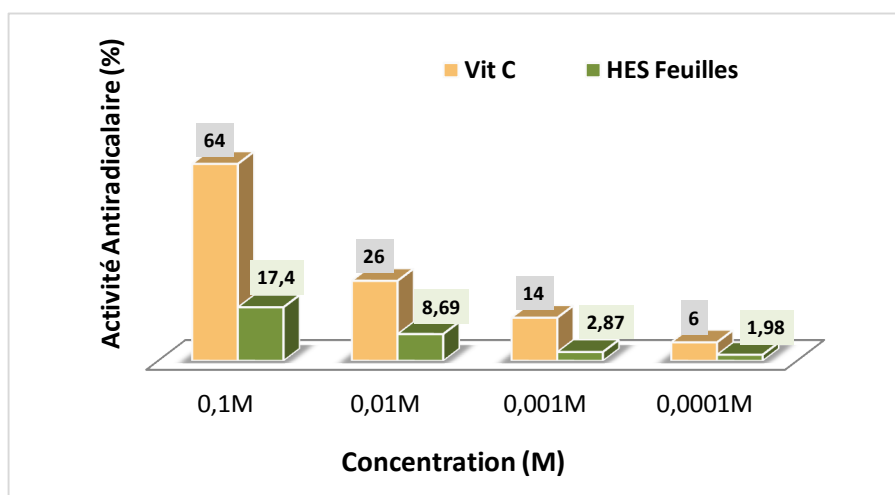


Figure 22: Piégeage du radical libre DPPH par l'HES des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison et la vit C.

Les résultats représentés dans la **figure 22**, ont montrés que l'activité anti-radicalaire de l'HES des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison et de la Vit C se diminue en correspondance avec la diminution de leurs concentrations. On remarque que l'huile essentielle a présenté une activité maximale à une concentration de 10^{-1} M (17.40%) et est inférieur à celle du standard (64.0%).

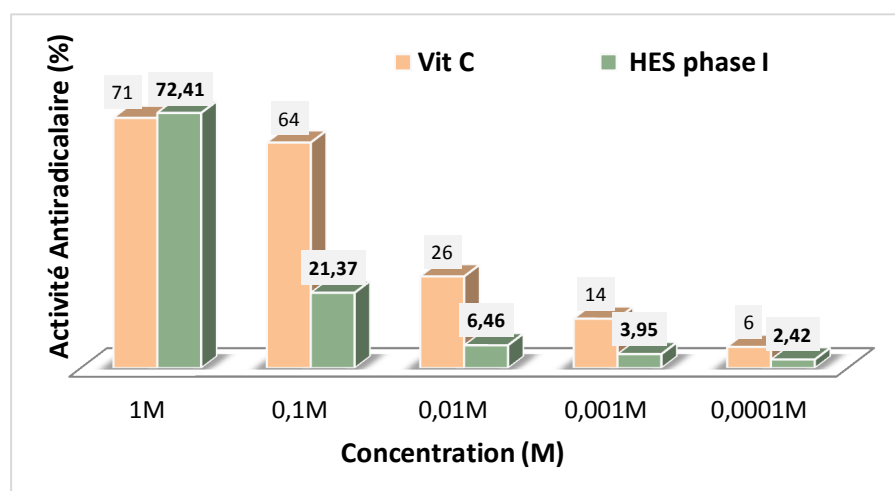


Figure 23: Piégeage du radical libre DPPH par l'HES des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase « I » et la vit C.

La **figure 23** a montrée que l'HES des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase « I » et la Vit C possèdent une activité anti-radicalaire dose dépendante. On observe que l'huile présente un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH supérieur à ceux du standard à une concentration de 10^{-1} M (72.41%). Tandis qu'elle présente des valeurs moins

importantes que le standard à des concentrations: $10^{-1}M$, $10^{-2}M$, $10^{-3}M$ et $10^{-4}M$ (21.37%, 6.46%, 3.95% et 2.42%) respectivement.

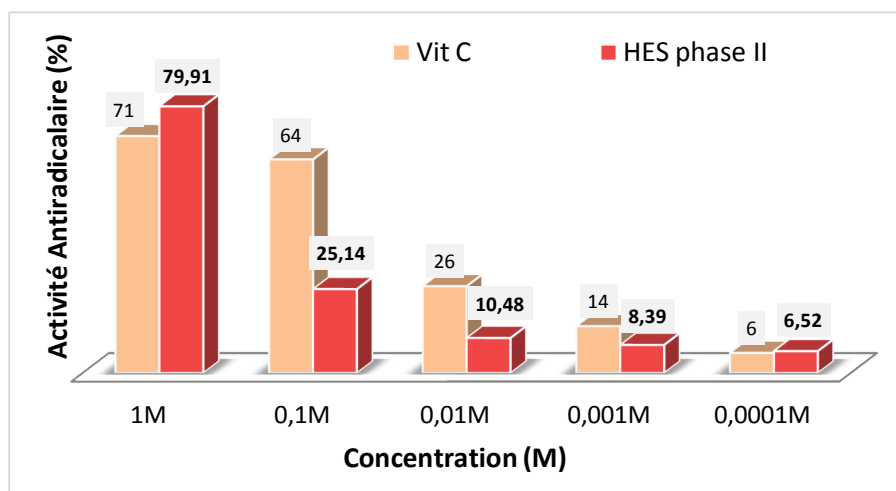


Figure 24: Piégeage du radical libre DPPH par l'HES des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase « II » et la vit C.

On observe que l'activité anti-radicalaire de l'HES des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase « II » et la Vit C augmente considérablement avec l'augmentation de leurs concentrations de l'extrait (**Figure 24**). Une valeur de 79.91% supérieure à celle du standard (71%) à une concentration de 1M a été enregistrée. De l'autre côté, on a enregistré des valeurs moins significatives que celle du standard à des faibles concentrations allant de $10^{-1}M$ à $10^{-4}M$.

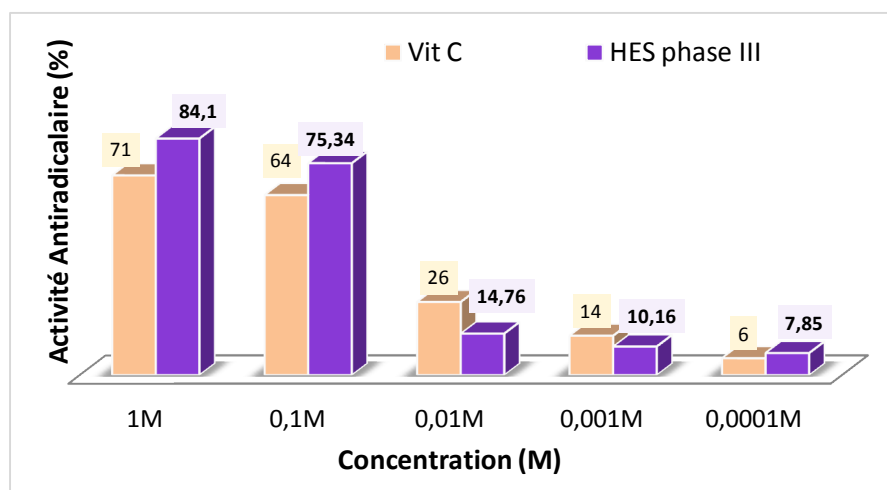


Figure 25: Piégeage du radical libre DPPH par l'HES des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase « III » et la vit C.

Les résultats représentés dans la **figure 25**, ont montrés que l'activité anti-radicalaire de l'HES des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase « III » a été supérieure à celle de la Vit C à des concentrations: 1M et 10^{-1} M (84.1% et 75.34%) respectivement. D'autre part, elle est moins importante que celle du standard à des faibles concentrations allant de 10^{-1} M à 10^{-4} M. Il est à noter aussi que l'activité anti-radicalaire de l'HES et la Vit C se diminue en correspondance avec la diminution de la concentration en extrait.

L'histogramme représenté dans la figure ci-dessous (**figure 26**) nous a permis de comparer l'activité anti-radicalaire entre huiles essentielles de *T.numidicus* L. pendant le cycle biologique et avec du standard (Vitamine C),

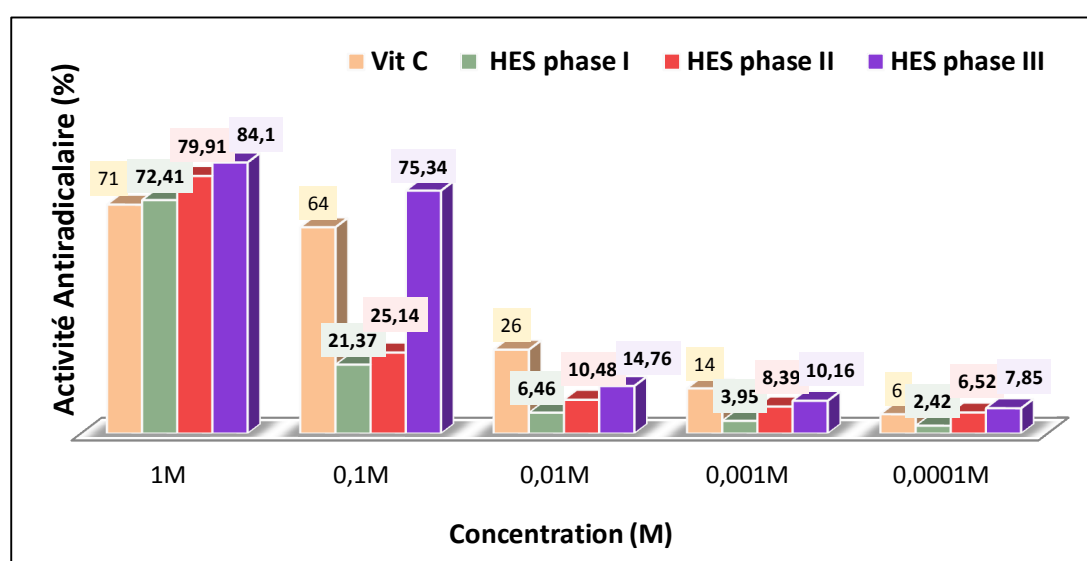


Figure 26: Piégeage du radical libre DPPH par les HES des parties aériennes de la plante *T.numidicus* L. pendant le cycle biologique et la vit C.

Les résultats obtenus (**Figure 26**) révèlent que toutes les huiles essentielles des parties aériennes de *T. numidicus* L. des trois phases de développement et de la vit C possèdent une activité anti-radicalaire dose dépendante.

L'HES de la phase « III » a présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée (84.10%), suivi par l'HES de la phase « II » (79.91%) et en dernier l'HES de la phase « I » (72.41%) à une concentration de 1M. Ces extraits ont tous montrés des pouvoirs de piégeage du radical DPPH importantes et supérieur à celui de la vit C (71%) à cette concentration.

A une concentration de 10^{-1} M, l'HES de la phase « III » a montré aussi une activité anti-radicalaire supérieur (75.34%) à celle de la vit C (64%). Cependant, les deux HES des phases

« I et II » ont révélés des faibles activités (21.37% et 25.14% respectivement) par rapport à la vit C.

Tous les HES des trois phases ont montrés des pouvoirs du piégeage du radical libre DPPH moins importantes que la Vit C à des concentrations: 10^{-2} M et 10^{-3} M.

A une concentration de 10^{-4} M, les HES des la phase « II et III » ont présentés des pouvoirs de piégeage du radical DPPH supérieur (6.52% et 7.85% respectivement) à celui de la vit C (6.0%).

En vue de ces résultats d'une façon générale, une meilleure activité anti-radicalaire a été montrée par l'HES de *T.numidicus* L. de la phase « III » (pleine floraison), suivie par de la phase « II » (début de floraison) et en dernier de la phase « I » (végétative).

La variation de l'activité anti-radicalaire de ces HES de la même plante explique les variations de leurs compositions chimiques. Ainsi, une étude a été réalisée par **Hadef et al., (2007)** montre que les huiles essentielles de *T. numidicus* L. de la période de fin mars (phase I) et de fin avril (phase II) présentent une teneur faible en monoterpènes et élevée en monoterpènes oxygénés et en phénols. Les échantillons du début de juin (phase III) contiennent d'avantage de phénols (thymol et carvacrol). Ceci est confirmé par un certains nombre de travaux; **Jukic et Milos, (2005)** ont montrés dans une étude portant sur l'huile essentiel de *Thymus vulgaris* L. que les chemotypes phénoliques (thymol et carvacrol) et non phénoliques (linalool) sont capable de réduire le radical DPPH avec un effet plus élevé enregistré pour les chemotypes phénoliques. En plus, **Amiri et al., (2011)** ont prouvés que l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Satureja macrosiphonia* Bornm. pendant la floraison était supérieur à celle de la phase végétative en utilisant la méthode de blanchissement de β -carotène.

Par ailleurs, les activités anti-radicalaires d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. ont été testées par **Bouhdid et al. (2006)**, par la technique de décoloration de la β carotène et le test du DPPH, le pouvoir antioxydant manifesté a été interprété par une action combinée des différents antioxydants endogènes contenus dans l'huile. Le thymol composé majeur de l'huile essentielle aussi bien que le carvacrol, sont de puissants agents réducteurs du radical DPPH et inhibent la peroxydation lipidique (**Bruneton, 1999**).

Nos résultats de l'analyse GC/MS sur l'huile essentielle des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison, dont le composé majoritaire était le thymol (41.7%), viennent confirmer l'activité anti-oxydante trouvée.

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribué à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques: le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol, le citronellal, la menthone et quelques monoterpènes: γ -terpenène et α -terpinène (**Edris 2007**).

2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Pour l'évaluation du potentiel antimicrobien de nos extraits, nous avons préféré de les tester contre plusieurs cibles, car chacune d'elles possède des structures cellulaires différentes et un métabolisme particulier.

2.1. Sensibilité aux huiles essentielles de *T.numidicus* L.

Les résultats du test de sensibilité microbienne vis-à-vis nos HES sont représentés dans les tableaux et figures ci-dessous:

Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibition par l'HES des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase « I ».

Souches microbiennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne (mm)				
	Dilutions				
	08mg/ml	04mg/ml	02mg/ml	01mg/ml	0.5mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC25922	12.00±0.50	10.83±0.29	10.17±0.29	09.50±0.50	6.33±0.58
<i>S. aureus</i> ATCC25923	12.67±0.29	11.33±0.29	10.33±0.29	10.17±0.29	10.17±0.29
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	8.83±0.29	8.17±0.29	8.00±0.00	7.33±0.29	7,00±0.00
<i>K.pneumoneae</i>	11.00±0.00	9.17±0.29	8.83±0.29	7.17±0.29	-
<i>Salmonella sp</i>	12.50±0.50	11.50±0.50	8.67±1.53	-	-
<i>C. albicans</i>	11.50±0.50	10.67±0.58	9.67±0.58	8.33±0.58	-

- (-): pas d'inhibition (ou $\leq 06\text{mm}$).

Le **tableau 11** montre que toutes les souches microbiennes sont sensibles vis-à-vis de l'HES de *T.numidicus* L. de la phase « I » à des concentrations [08, 04 et 02] mg/ml. Les souches de références: *E.coli* ATCC25922, *S.aureus* ATCC25923 et *P.aeruginosa* ATCC27853 sont sensibles à des faibles concentrations allant jusqu'à 0.5 mg/ml, tandis que les souches d'origine clinique (*K.pneumoneae*, *Salmonella sp* et *C. albicans*) ont été résistantes à cette concentration. En outre, la souche *Salmonella sp* a été résistante même à 01 mg/ml. Une valeur maximale de diamètre moyen de la zone d'inhibition de la croissance a été obtenue contre *S.aureus* ATCC25923 (12.67 mm) à 08mg/ml; En revanche, on a enregistré une valeur minimale contre *E.coli* ATCC25922 (6.33 mm) à 0.5 mg/ml.

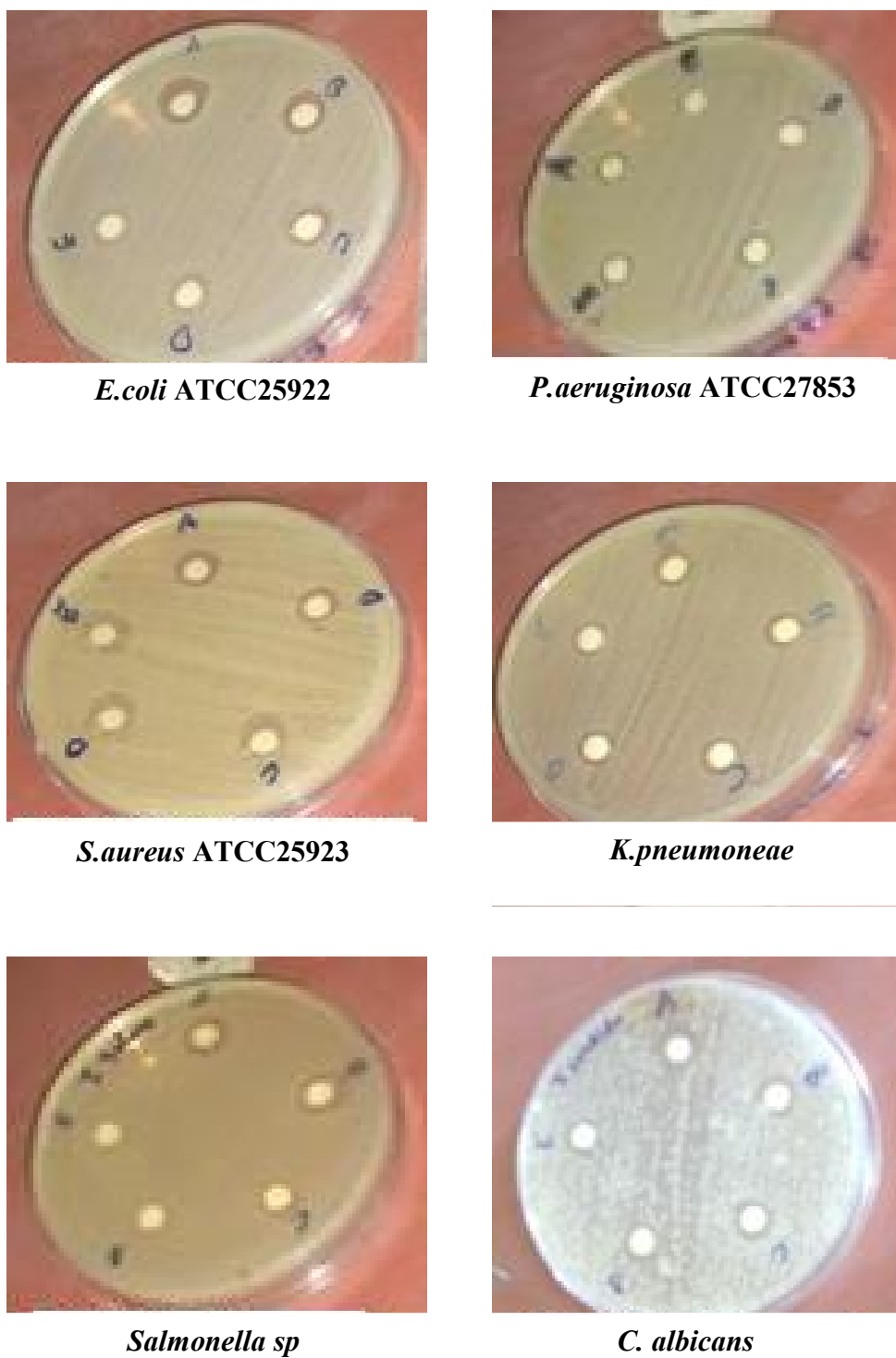


Figure 27: Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'HES de *T.numidicus* L. de la phase « I ».

Tableau 12 : Diamètres des zones d'inhibition de l'HES des parties aériennes de *T.numidicus* L. de la phase « II ».

Souches microbiennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne (mm)				
	Dilutions				
	08mg/ml	04mg/ml	02mg/ml	01mg/ml	0.5mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC25922	13.67±0.58	12.00±0.50	10.33±0.58	7.33±0.29	6.50±0.50
<i>S. aureus</i> ATCC25923	14.17±0.76	12.17±0.29	11.33±0.58	11.17±0.29	10.67±0.29
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	10.17±0.29	8.92±0.38	8.83±0.58	7.50±0.00	6.33±0.29
<i>K.pneumoneae</i>	12.83±0.29	10.17±0.29	9.17±0.29	7.00±0.00	-
<i>Salmonella sp</i>	14.00±0.29	12.50±0.50	10.83±0.29	8.67±0.58	-
<i>C. albicans</i>	13.67±0.58	12.17±0.29	10.50±0.50	9.67±0.58	-

- (-): pas d'inhibition (ou ≤ 06 mm).

Les résultats représentés dans le **tableau 12** montrent que toutes les souches microbiennes ont été sensibles vis-à-vis de l'HES de *T.numidicus* L. de la phase « II » à des concentrations [08, 04, 02 et 01] mg/ml. Les valeurs des diamètres moyens des zones d'inhibition de la croissance microbienne se diminuent en correspondance avec la diminution de la concentration en huile. Dont, on a enregistré une valeur maximale contre *S.aureus* ATCC25923 (14.17 mm) à 08 mg/ml, et la valeur minimale a été enregistrée contre *P.aeruginosa* ATCC27853 (6.33 mm) à 0.5 mg/ml. Cependant, la souche *K.pneumoneae* s'apparait sensible vis-à vis cette huile même à une concentration faible (01 mg/ml).



E.coli ATCC25922



P.aeruginosa ATCC27853



S.aureus ATCC25923



K.pneumoneae



Salmonella sp



C. albicans

Figure 28: Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'HES de *T.numidicus* L. de la phase « II ».

Tableau 13 : Diamètres des zones d'inhibition de l'HES des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase « III ».

Souches microbiennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne (mm)				
	Dilutions				
	08mg/ml	04mg/ml	02mg/ml	01mg/ml	0.5mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC25922	13.83±0.29	12.83±0.29	11.33±0.58	9.50±0.50	9.17±0.29
<i>S. aureus</i> ATCC25923	15.50±0.85	13.50±1.00	12.83±0.29	12.33±0.58	12.00±0.50
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	11.17±0.29	9.50±0.50	9.50±0.00	8.17±0.29	7.67±0.29
<i>K.pneumoneae</i>	15.00±0.50	11.50±0.50	9.67±0.29	8.00±0.00	7.50±0.00
<i>Salmonella sp</i>	14.83±0.29	12.33±0.58	11.33±0.29	9.33±0.58	8.00±0.00
<i>C. albicans</i>	13.90±0.85	12.50±0.50	11.33±1.16	10.33±0.58	9.33±0.58

- (-): pas d'inhibition (ou ≤ 06 mm).

Les résultats mentionnés dans le **tableau 13** ont révélées que toutes les souches microbiennes testées ont été sensibles à l'HES de *T.numidicus* L. de la phase « III » à tout les concentrations appliqués [08, 04, 02, 01 et 0.5] mg/ml. On peut déduire que les diamètres moyens des zones d'inhibition de croissance se diminuent en fonction de la diminution de la concentration. Une valeur maximale de zone d'inhibition de la croissance a été enregistrée contre *S. aureus* ATCC25923 avec 15.50 mm à 08mg/ml, tandis que la valeur minimale a été enregistrée contre *K.pneumoneae* avec 7.50 mm à 0.5mg/ml.



E.coli ATCC25922



P.aeruginosa ATCC27853



S.aureus ATCC25923



K.pneumoneae



Salmonella sp



C. albicans

Figure 29 : Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'HES de *T. numidicus* L. de la phase III.

Les résultats indiqués dans les tableaux et figures ci-dessus montrent que les huiles essentielles de *T.numidicus* L. des trois phases agissent différemment sur les souches testées. On observe de moyens écarts dans les diamètres des zones d'inhibitions obtenus, allant de [6.33 à 15.50] mm. Ces résultats montrent clairement une diminution du diamètre moyen des zones d'inhibition correspondante à une diminution de la concentration de l'HES appliquée (08mg/ml, 04mg/ml, 02mg/ml, 01mg/ml et 0.5mg/ml). Si on veut détailler chaque concentration séparément, on trouve:

A une concentration de 0,5 mg/ml, on a enregistré la valeur la plus élevée du diamètre moyen de la zone d'inhibition contre *S.aureus* ATCC25923 (12,00 mm) pour l'HES de la phase « III » suivie d'une valeur de 10,67 mm pour l'HES de la phase « II » et puis de 10.17 mm pour l'HES de la phase « I » contre la même souche (*S. aureus*); une valeur plus faible a été enregistrée par *P.aeruginosa* ATCC27853 (6.33 mm). Alors que *K. pneumoniae*, *Salmonella sp* et *C.albicans* ont révélés une forte résistance vis-à-vis de l'huile essentielle des phases « I et II » à cette concentration.

A une concentration de 01 mg/ml, où une légère progression des diamètres moyens des zones d'inhibition au cours de toutes les souches microbiennes par les huiles des trois phases. Une valeur maximale a été enregistrée contre *S.aureus* ATCC25923 (12.33 mm) pour l'HES de la phase « III », suivie d'une valeur de 11.17 mm pour la phase « II » et en dernier 10.17 mm pour la phase « I ». Les souches *K.pneumoniae* et *Salmonella sp* ont été également inhibés par l'HES des phases « I et II » à cette concentration.

A une concentration de 02 mg/ml, on a observé ainsi qu'une légère augmentation du diamètre moyen de la zone d'inhibition de chacune des souches microbiennes dans différentes concentrations en huiles des trois phases. D'où la valeur la plus élevé a été enregistré par *S.aureus* ATCC25923 (12.83 mm) pour l'HES phase « III » et la plus faible par *P.aeruginosa* ATCC27853 (08.00 mm).

A une concentration de 04 mg/ml, une légère augmentation du diamètre moyen de la zone d'inhibition a été remarqué aussi, d'où atteignant une valeur maximale par *S.aureus* ATCC25923 (13,50 mm) pour l'HES de la phase « III » et la plus faible valeur a été enregistrée par *P.aeruginosa* ATCC27853 (08.17 mm) pour l'HES de la phase « I ».

A une concentration de 08 mg/ml, où on observe clairement une augmentation du diamètre moyen de la zone d'inhibition au cours des six souches microbiennes. Dont on a

enregistré un diamètre moyen maximal par *S.aureus* ATCC25923 (15.50 mm) pour l'HES de la phase « III ».

A travers ces résultats, nous avons constaté que la zone d'inhibition s'augmente considérablement avec l'augmentation de la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi par **Baydar et al., (2004)**. Les auteurs ont révélés des zones d'inhibition de l'ordre de (26.5 mm), (00 mm), (29.5 mm) respectivement pour les souches *S. aureus*, *E. coli*, *K.pneumoniae* pour une dilution de 1/100 d'huile essentielle d'*Origanum onites* L., ces zones sont augmentées de l'ordre de: (36.0 mm), (32.5 mm), (38.0 mm) pour une dilution au 1/50.

Par ailleurs, nos résultats montrent donc une grande variabilité des qualités inhibitrices des extraits vis-à-vis des différentes souches. La souche de *S.aureus* ATCC25923 à gram positif était plus sensible que les autres souches bactériennes testées à gram négatif. Les souches de *P.aeruginosa* ATCC27853 se révèlent les plus résistantes, cela est liée à sa grande capacité de développer des résistances vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens, d'où son implication fréquente dans les infections hospitalières (**Mann et al., 2000**).

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries à Gram positif par rapport aux celles à Gram négatif (**Hussain et al., 2011 ; Mojab et al., 2008 ; Lakušić et al., 2008 ; Hussain et al., 2008 ; Skocibusic et al., 2006; Burt, 2004**). Ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes de la paroi cellulaire. Les bactéries à gram positif ont une seule couche alors que les bactéries à gram négatif ont une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules.

Dans le cas de *Candida albicans*, levure responsable de mycoses chez l'homme, les résultats sont spectaculaires, il est évident que *C.albicans* est plus sensible vis-à-vis ces HES des trois phases à une concentration [01mg/ml]. En revanche, elle a présenté une résistance aux HES des phases « I et II » à une concentration de 0.5mg/ml. Ceci confirment les résultats de **Giordani et al.,(2004)**, où ils ont montrés de très bonne activité antifongique de l'HES de *T.numidicus* poir. de la région de Berahal vis-à-vis *C. albicans*.

En vue de ces résultats d'une façon générale, une meilleure activité a été montrée par l'HES de la phase « III » (pleine floraison), suivie par de la phase « II » (début de floraison) et en dernier de la phase « I » (végétative).

La variation de l'activité antimicrobienne de ces HES de la même plante explique les variations de leurs compositions chimiques. Ainsi une étude a été réalisée par **Hadef et al., (2007)** montre que les huiles essentielles de *T. numidicus* Poiret de la période de fin mars et de fin avril présentent une teneur faible en monoterpènes et élevée en monoterpènes oxygénés et en phénols. Les échantillons du début de juin contiennent d'avantage de phénols. Les périodes de juillet sont caractéristiques de la fin du cycle biologique, avec une teneur élevée en *P*-cymène et faible en phénols et en linalol.

Giordani et al., (2004) ont suggèrent qu'il y'a une relation entre la forte activité antifongique des HES de *T. numidicus* poiret et leur fort contenu phénolique en particulier en thymol et carvacrol et précurseurs (*p*-cymene et γ -terpinene).

De même, **Zouari et al., (2011)** ont proposés que l'activité antimicrobienne des HES de *T. algeriensis* Boiss. et Reut. est due à la présence des monoterpènes oxygénés qui constituent 44.85% de l'huile.

Nos résultats de la composition chimique de l'HES des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison indiquent la présence de thymol comme composé majoritaire (41.7%). Alors, on peut conclure que l'activité antimicrobienne des HES de *T.numidicus* L. a été due principalement à la présence de ce chémotype phénolique.

Toutefois, on a également considéré que les composants mineurs, ainsi que d'une éventuelle interaction entre les substances peuvent également affecter les activités antimicrobiennes. En fait, d'autres constituants tels que γ -terpinène, ont été considérés relativement comme de bonne activité en raison de leurs effets synergiques ou antagonistes possibles (**Amiri et al., 2011**).

A la lumière de ces résultats, il est possible de conclure que les huiles essentielles de *T. numidicus* L. en différentes phases de développement montrent une activité antimicrobienne considérable contre les souches microbiennes testées, et cela justifie son utilisation traditionnelle comme un remède antimicrobien.

2.2. Sensibilité aux extraits polaires de *S.graeca* L.

Les résultats du test de sensibilité microbienne vis-à-vis nos extraits sont représentés dans les tableaux et figures ci-dessous:

Tableau 14: Diamètres des zones d'inhibition de l'E AcOEt des feuilles de *S. graeca* L.

Souches microbiennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne (mm)				
	Dilutions				
	08mg/ml	04mg/ml	02mg/ml	01mg/ml	0.5mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC25922	09.17±0.76	08.17±0.28	07.50±0.50	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC25923	15.00±2.00	13.83±0.76	13.50±0.50	12.50±0.50	12.17±0.76
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	09.50±0.50	08.83±0.29	08.67±0.29	08.00±0.00	07.83±0.29
<i>K.pneumoneae</i>	12.33±0.29	11.50±0.50	09.83±0.76	08.00±0.00	07.67±0.29
<i>Salmonella sp</i>	11.17±0.76	09.67±0.58	09.00±0.87	07.50±0.50	-
<i>C. albicans</i>	12.17±0.76	09.67±0.58	-	-	-

- (-): pas d'inhibition (ou ≤ 06 mm)

Les résultats représentés dans le **tableau 14** montrent une sensibilité de toutes les souches microbiennes testées par l'extrait d'acétate d'éthyle à des concentrations [08 et 04] mg/ml. Une résistance a été remarquée par *C. albicans* à 02 mg/ml, *E. coli* ATCC25922 et *C. albicans* à 01 mg/ml et *E. coli* ATCC25922, *Salmonella sp* et *C. albicans* à 0.5 mg/ml. L'activité antimicrobienne de cet extrait était dose dépendante. D'où nous avons enregistré une valeur maximale de diamètre moyen de la zone d'inhibition de 15 mm contre *S. aureus* ATCC25923 à une concentration 08 mg/ml et la valeur minimale était de 07.50 mm contre *Salmonella sp* à 01 mg/ml.

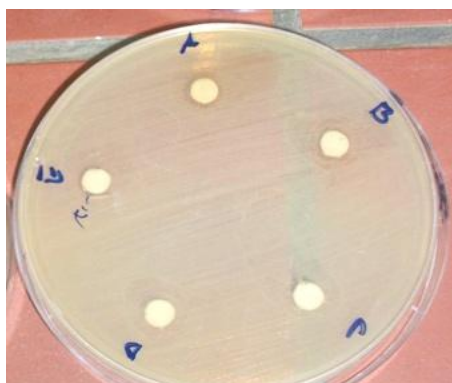
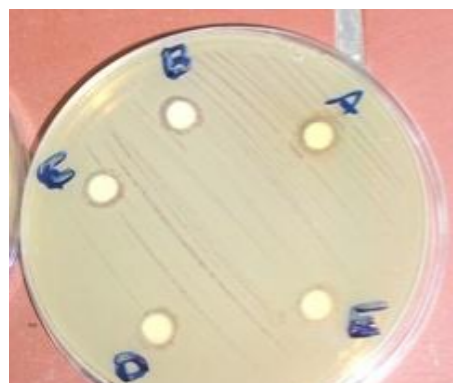
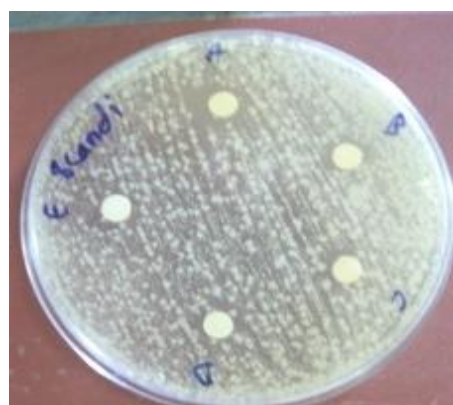
*E.coli* ATCC25922*P.aeruginosa* ATCC27853*S.aureus* ATCC25923*K.pneumoneae**Salmonella* sp*C. albicans*

Figure 30 : Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'Extrait d' AcOEt des feuilles de *S.graeca* L.

Tableau 15 : Diamètres des zones d'inhibition de l'E *n*-But des feuilles de *S. graeca* L.

Souches microbiennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne (mm)				
	Dilutions				
	08mg/ml	04mg/ml	02mg/ml	01mg/ml	0.5mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC25922	09.83±0.29	07.83±0.29	06.83±0.29	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC25923	16.00±1.32	15.17±0.76	14.17±0.76	13.50±0.50	12.17±0.76
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	10.00±0.50	08.67±0.29	08.67±0.29	08.33±0.58	08.00±0.00
<i>K.pneumoneae</i>	09.67±0.58	08.67±0.58	08.17±0.29	07.83±0.29	07.59±0.00
<i>Salmonella sp</i>	09.33±0.58	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	10.17±0.76	09.83±0.76	-	-	-

- (-): pas d'inhibition (ou ≤ 06 mm).

Le **tableau 15** montre que toutes les souches microbiennes ont révélées sensibles vis-à-vis de l'extrait *n*-butanol à une concentration de 08 mg/ml. Une résistance a été enregistrée par *Salmonella sp* à des concentrations [04, 02, 01 et 0.5] mg/ml, *C. albicans* à [02, 01 et 0.5] mg/ml et *E. coli* ATCC25922 à [01 et 0.5] mg/ml. L'activité antimicrobienne de cet extrait était dose dépendante. Une meilleure activité a été enregistrée contre *S.aureus* ATCC25923 avec un diamètre moyen de la zone d'inhibition de 16.00±1.32 mm, et la valeur minimale a été obtenue contre *E. coli* ATCC25922 (06.83±0.29 mm) à 02 mg/ml.

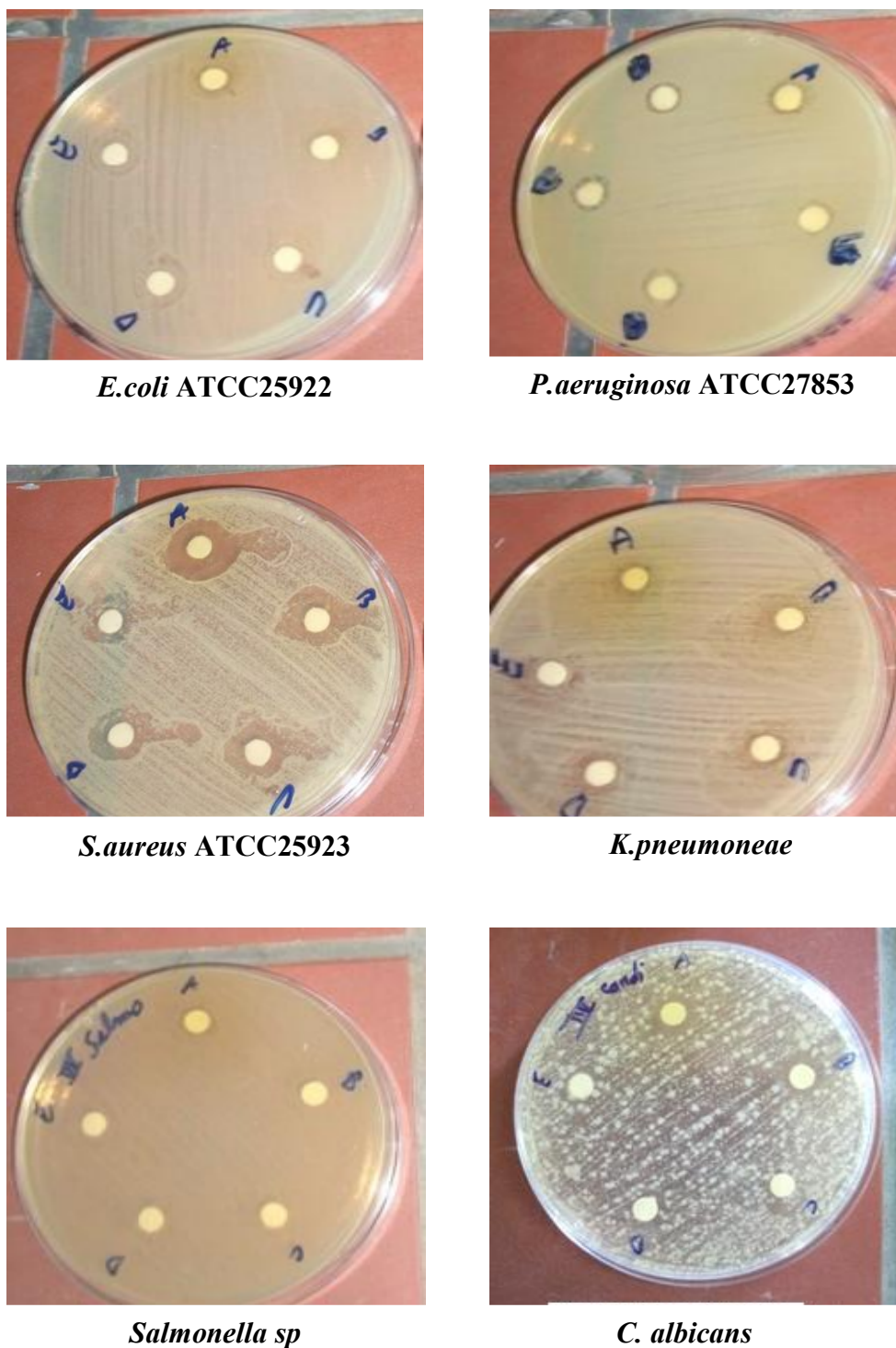


Figure 31 : Photos montrant les zones d'inhibition des microorganismes testés par l'E *n*-But des feuilles de *S. graeca* L.

En vu de ces résultats, on peut constater que les extraits: E AcOEt et E *n*-But des feuilles de *S.graeca* L. ont inhibés la croissance de tous les microorganismes testés à une concentration de 08mg/ml. Les diamètres des zones d'inhibition les plus importants sont enregistrés avec *S. aureus* ATCC25923 (bactérie à Gram positif) pour les deux extraits.

Ces extraits exercent une activité antimicrobienne dose dépendante. Ainsi, les tableaux et figures ci-dessus montrent clairement la diminution du diamètre des zones d'inhibition correspondant à une diminution de la concentration de l'extrait appliqué.

L'activité maximale a été obtenue par l'E *n*-But contre *S.aureus* ATCC25923 avec un diamètre moyen de la zone d'inhibition de la croissance de 16.00 ± 1.32 mm à une concentration de 08 mg/ml. Par ailleurs, nous avons noté une résistance d'où aucune zone d'inhibition n'a été détectée avec:

- L'E AcOEt contre *E. coli* à une concentration de [01 et 0.5] mg/ml, *Salmonella sp* à 0.5mg/ml et *C. albicans* à [02, 01 et 0.5] mg/ml.
- L'E *n*-But contre *E. coli* à une concentration de [01 et 0.5] mg/ml, *Salmonella sp* à [04, 02, 01 et 0.5] mg/ml et *C. albicans* à [02, 01 et 0.5] mg/ml.

Plusieurs études ont eu pour objet la détermination du pouvoir antimicrobien de certains extraits du genre *Satureja*, on cite celles de (**Amanlou et al., 2004, Adiguzel et al., 2007 et Cetkovic et al., 2007^a**) et plusieurs d'autres qui ont tous révélé une importante activité de ces extraits. Nos résultats obtenus avec les extraits polaires (E AcOEt et E *n*-But) de *S. graeca* L. ont été comparés avec ceux de (**Cetkovic et al., 2007^a**) où ils ont obtenus des résultats très proches que les notre pour l'extrait AcOEt de *Satureja montana* L. subsp. *Kitaibelii* à une concentration de 100mg/ml contre *S. aureus* (15.3 ± 0.58 mm), *E. coli* (0.00mm) et *P. aeruginosa* (16.7 ± 0.52 mm). En revanche, ils ont enregistrés une faible activité par rapport à nos résultats pour l'extrait *n*-But: *S. aureus* (10.00 ± 0.00 mm), *E. coli* (0.00mm) et *P. aeruginosa* (0.00mm).

Plusieurs classes de polyphénols telles que les tannins condensés et tannins hydrolysables, les flavonoïdes comme les flavan-3-ols et flavonol et les acides phénoliques sont des substances antibactériennes importantes (**Daglia, 2012**).

Nos extraits ont été trouvés contenir une quantité de polyphénols et flavonoïde très importante, donc on peut dire que l'activité antimicrobienne de ces extraits est due, au moins partiellement, à la présence de ce type de composés chimiques actifs dans leur composition.

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (**Amanlou *et al.*, 2004**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales considérées comme étant une source importante de molécules naturelles bioactives et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale.

Dans ce contexte, on s'est intéressé à une valorisation des molécules bioactives par l'étude phytochimique et activités biologiques de différents extraits à savoir extraits flavonoïques et huiles essentielles de deux Lamiacées: *Thymus numidicus* L. et *Satureja graeca* L. de la région de Mila et Constantine respectivement.

La détermination des rendements en huiles essentielles a montré une rentabilité chez l'espèce *T.numidicus* L. durant la phase de pleine floraison (2,05%), alors qu'il s'affaiblit en passant de la phase du début de floraison (1,90%) à la phase végétative (1,21%). Une rentabilité aussi a été montrée par de l'HES des feuilles de *T.numidicus* L. pendant la floraison (0,80%). Ainsi, un meilleur rendement a été obtenu par l'HES des feuilles de *S.graeca* L. (0,16%) en comparaison avec celui des tiges (0,08%) et des fleurs (0,05%).

Les extraits obtenus par fractionnement bioguidé à partir des feuilles et fleurs de *S. graeca* L. nous a permis de calculer les rendements de chaque partie de la plante notamment les extraits (*n*-hexane, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-Butanol), dont les rendements les plus remarquables sont celles des fractions polaires (*n*-But) avec des valeurs de 1,82% et 1,70% pour les fleurs et feuilles respectivement.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les deux extraits analysés (E AcOEt et E *n*-But) des deux parties de la plante *S.graeca* L. par colorimétrie a montré que l'E AcOEt et l'E *n*-But des feuilles renferment plus de phénols totaux ($151,72 \pm 9,75 \mu\text{g EAG}/\text{mg}_{\text{Ext}}$ et $124,14 \pm 15,60 \mu\text{g EAG}/\text{mg}_{\text{Ext}}$) respectivement en comparaison avec ceux des fleurs ($50,57 \pm 8,78 \mu\text{g EAG}/\text{mg}_{\text{Ext}}$ et $38,62 \pm 1,95 \mu\text{g EAG}/\text{mg}_{\text{Ext}}$). Au même titre que le taux des flavonoïdes dans les extraits E AcOEt et E *n*-But des feuilles avec ($93,30 \pm 2,05 \mu\text{g EQ}/\text{mg}_{\text{Ext}}$ et $85,41 \pm 2,17 \mu\text{g EQ}/\text{mg}_{\text{Ext}}$) comparativement avec celles des fleurs ($13,88 \pm 2,47 \mu\text{g EQ}/\text{mg}_{\text{Ext}}$ et $09,56 \pm 1,55 \mu\text{g EQ}/\text{mg}_{\text{Ext}}$).

Ces résultats confirment la grande richesse des feuilles de cette plante en substances polyphénoliques et flavonoïdes comparativement avec celle des fleurs.

Les résultats d'analyse chimique de la composition de l'huile essentielle des feuilles de *T. numidicus* L. pendant floraison par chromatographie en phase gazeuse couplé à la

spectroscopie de la masse indiquent qu'il est composé majoritairement de thymol (41,2%), β -Cymene (12,9%), Chlorocresol (11,2%), β -Linalool (10,7%) et Methyl thymol ether (3,3 %).

Nos extraits ont été testés pour leurs pouvoirs antioxydant en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Nos résultats indiquent que les fractions d'acétate d'éthyle et du *n*-butanol des feuilles de *S.graeca* L. qui sont riche en composés phénoliques et flavonoides présentent une meilleure activité anti-radicalaire comparativement avec celles des fractions *n*-hexane et Chloroforme. Ainsi, on a révélé que tous ces extraits ont des capacités de réduction du radical libre DPPH supérieurs à celui de la vitamine C à des concentrations 10^{-1} M, 10^{-2} M et 10^{-3} M.

Les HES de différentes parties de cette plante ont révélés des activités anti-radicalaires modérés et moins importantes que la vitamine C. On a trouvé que l'activité de l'HES des feuilles était supérieur relativement à celles des tiges et des fleurs.

Les HES des parties aériennes de *T.numidicus* L. pendant le cycle biologique ont présentés des activités antioxydantes très importantes. Dont les capacités de piégeage du radical libre DPPH sont classées dans l'ordre: HES en phase de pleine floraison > HES en phase de début de floraison > HES en phase végétative. La variation de l'activité anti-radicalaire de ces HES de la même plante est probablement due aux variations de leurs compositions chimiques.

Il est intéressant de noter que l'HES des parties aériennes de *T.numidicus* L. de la phase « III » a présenté une meilleure activité antimicrobienne. Ceci peut s'expliquer par sa richesse en monoterpenes oxygénés notamment thymol et/ou carvacrol.

L'activité antimicrobienne des extraits flavonoïques (E AcOEt et E *n*-But) des feuilles de *S.graeca* L. et HES de *T.numidicus* L. a été évaluée *in vitro* par la méthode de diffusion en milieu gélosé contre six souches microbiennes dont trois sont des souches de référence (*E.coli* ATCC25922, *S.aureus* ATCC25923 et *P.aeruginosa* ATCC27853), deux espèces bactériennes (*K.pneumoneae*, *Salmonella sp*) et une levure (*C.albicans*) sont d'origine clinique. Tous les extraits étudiés ont réagi positivement sur toutes les souches microbiennes testées à des concentrations variant de [0,5 à 08] mg/ml. Les diamètres des zones d'inhibition étaient variables en fonction de la concentration d'extrait. Les bactéries à Gram positif ont été plus sensibles que celles à Gram négatif, particulièrement *S. aureus* ATCC25923, qui s'est

montrée être l'espèce la plus sensible en enregistrant une meilleure activité avec un diamètre de $16,00 \pm 1,32$ mm par l'E *n*-butanol.

L'activité antimicrobienne des extraits (E AcOEt et E *n*-But) est apparemment due à leur fort contenu en composés phénoliques et flavonoïdes.

Ces résultats restent préliminaires, il serait donc intéressant de poursuivre les investigations sur ces espèces:

- L'isolement, la purification et l'identification des constituants à partir des fractions d'acétate d'éthyle et *n*-butanol de *S.graeca* L. pour connaître les composés responsables de l'activité antioxydante et antimicrobienne.
- La composition chimique des HES de différentes parties de la plante *S. graeca* L. et celles des parties aériennes de *T. numidicus* L. des trois phases devrait être caractérisée afin de préciser les principes actifs.
- Une étude quantitative plus approfondie pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) de ces extraits.
- Ce n'est aussi qu'un test préliminaire pour d'autres tests pharmacologiques complémentaires.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

References Bibliographiques

❖ A

- 1- **Adiguzel A., Ozer H., Kilic H., et Cetin B. (2007).** Screening of antimicrobial activity of essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis* on food borne bacteria and fungi, Czech Journal of Food Sciences, 25:81–89.
- 2- **Amanlou M., Fazeli M.R., Arvinb A., Amin H.G. et Farsam H. (2004).** Antimicrobial activity of crude methanolic extract of *Satureja khuzistanica*, *Fitoterapia*, 75: 768–770.
- 3- **Amarowicz, R., Troszynska, A., Shahidi, F. (2005).** Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions, J food lipids, 12: 344-358.
- 4- **Amiri H. (2011).** The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja macrosiphonia* Bornm, Natural Product Research, 25: 232–243.
- 5- **Angela M., Laur V., Daniela H., Dragulescu C., Iuliana A. et Olah N.K. (2008).** Polyphenolic analyses from *Thymus* species, Production romany academy, 3: 117-121.
- 6- **Antwerpen P.V. (2006).** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myeloperoxydase /peroxyde d'hydrogène /chlorure, Thèse de Doctorat, Université libre de Bruxelles, 122p.
- 7- **Armata M., Gabrieli C., Termentzi A., Zervou M. et Kokkalou E. (2008).** Constituents of *Sideritis syriaca. ssp. syriaca* (Lamiaceae) and their antioxidant activity, Food Chemistry 111: 179–186.
- 8- **Avlessi F., Dangou J., Wotto D.V., Alitonou G.A., Sohounhloue D. K. et Menut C. (2004).** Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena anisata* (Wild) Hook, C. R. Chimie, 7: 1057–1061.

❖ B

- 9- **Badi H.N., Yazdani D., ALI S.M. et Nazari F. (2004).** Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L., Industrial Crops and Products, 19: 231-236.
- 10- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils, *Food Chemical Toxicology*, 46 : 446–475.
- 11- **Baydar H., Sagdic O., Ozkan G., Karadogan T. (2004).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey, Food Control, 15: 169–172.
- 12- **Bazylko A. et Strzelecka H. (2007).** A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts, *Fitoterapia*, 78: 391–395.

- 13- **Benkiniouar R., Touil A., Zaidi F., Rhouati S., Chosson E., Seguin E., Comteg. et Bellvert F. (2010).** Isolation and identification of five free flavonoid aglycones from *Thymus numidicus*, *J.Soc.Alger.Chim.*, 20: 11-15.
- 14- **Bensouici C., Benmerache A., Chibani S., Kabouche A., Abuhamdah S., Semra Z. et Kabouche Z. (2013).** Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Satureja calamintha* ssp. *sylvatica* from Jijel, Algeria, *Scholars Research Library*, 5 (2):224-227.
- 15- **Bezić N., Šamanić I., Dunkić V., Besendorfer V. et Puizina J. (2009).** Essential Oil Composition and Internal Transcribed Spacer (ITS) Sequence Variability of Four South-Croatian *Satureja* species (Lamiaceae), *Molecules*, 14: 925-938.
- 16- **Billerbek V.G. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques, *Phytothérapie*, 5 : 249-253.
- 17- **Blázquez M. A., Zafra-Polo M. C. et Villar A. (1989).** Effects of *Thymus* species extracts on rat duodenum isolated smooth muscle contraction, *Phytotherapy Research*, 3: 41–42.
- 18- **Boros B., Jakabová S., Dörnyei Á., Horváth G., Pluhár Z., Kilár F. et Felinger A. (2010).** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species, *Journal of Chromatography A*, 1217: 7972–7980.
- 19- **Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Bouhdid D., Skali N.S., Abrini J. (2006)** *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimie, Agadir*. 324-327.
- 20- **Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S. et McAnalley B. (2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé, *GlycoScience & Nutrition*, 4 (6): 7p.
- 21- **Branen, A.L. (1975).** "Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52: 59-63.
- 22- **Bräuchler C., Meimberg H. et Heubl G. (2010).** Molecular phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae) – Taxonomy, biogeography and conflicts, *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 501–523.
- 23- **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales, *Tec et Doc Lavoisier*. Paris, p 278-279.
- 24- **Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, *Int. J. Food Microbiol*, 94: 223-253.

- 25- **C'avar S., Maksimovic M., Šolic M. E., Jerkovic'-Mujkic A. et Bešta R. (2008).** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils; *Food Chemistry*; 111: 648–653.
- 26- **Cabana R., Silva L.R., Valentão P., Viturro C.I. et Andrade P.B. (2013).** Effect of different extraction methodologies on the recovery of bioactive metabolites from *Satureja parvifolia* (Phil.) Epling (*Lamiaceae*), *Industrial Crops and Products*, 48: 49– 56.
- 27- **Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L. et Ferret A. (2007).** Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation, *Journal of Dairy Science*, 90: 2580–2595.
- 28- **Celiktas O.Y., Hames Kocabas E.E., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T. et Baser K.H.C. (2007).** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations, *Food Chem.*, 100: 553-559.
- 29- **Cetkovic G. S., Čanadanović-Brunet J. M., Djilas S.M., Tumbas V.T., Markov S.L. et Cvetković D.D. (2007) ^a.** Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts, *Int. J. Mol. Sci.*, 8: 013-1027.
- 30- **Cetkovic G.S., Mandić A.I., Čanadanović-Brunet J.M., Djilas S.M. et Tumbas V.T. (2007) ^b.** HPLC Screening of Phenolic Compounds in Winter Savory (*Satureja montana* L.) Extracts, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 30: 293–306.
- 31- **Corticchiato M., Bernardini A., Costa J., Bayet C., Saunois A. et Voirin B. (1995).** free flavonoid aglycones from *Thymus Herba barona* and its monoterpeneoid chemotypes, *Phytochemistry*, 40:115-120.
- 32- **Crozier A., Jaganath I.B. et Clifford M.N. (2009).** "Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health, *Nat Prod Rep*, 26: 1001-1043.
- 33- **Curtay J.P et Robin J.M. (2000).** Intérêt des complexes antioxydants, *Nutrithérapie Info*, 4p.

❖ D

- 34- **Dacosta Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs, Masson Ed, Paris, 317p.
- 35- **Daglia M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents, *Current Opinion in Biotechnology*, 23:174–181.
- 36- **De Oliveira T.L.C., De Carvalho S.M., De Araújo Soares R., Andrade M.A., das Graças Cardoso M., Ramos E.M., Piccoli R.H. (2012).** Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite, *LWT - Food Science and Technology* 45: 204-212.

- 37- **De Oliveira T.L.C., Soares R.A., Ramos E. M., Cardoso M.d.G., Alves E. et Piccoli R.H. (2011).** Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite, *International Journal of Food Microbiology*, 144: 546–555.
- 38- **Djenane D., Yangüela J., Montañés L., Djerbal M. et Roncalés P. (2011).** Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef, *Food Control*, 22: 1046-1053.
- 39- **Dob T., Dahmane D., Benabdelkader T. et Chelghoum C. (2006).** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut, *The International Journal of Aromatherapy*, 16: 95-100.
- 40- **Dorman H.J.D. et Deans S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied microbiology*, 88(2): 308-316.
- 41- **Dudareva N., Pichersky E. et Gershenzon J. (2004).** Biochemistry of plant volatiles, *Plant Physiology*, 135: 1893–1902.
- 42- **Dziedzic S.Z. et Hudson B.J.F. (1983).** Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils, *Food Chemistry*, 12: 205-212.

❖ E

- 43- **Edris A.E. (2007).** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents, A review *Phytother. Res*, 21: 308-323.
- 44- **El Ouali L.A., El-akhal F., Ouedrhiri W., Ouazzani C.F., Guemmouh R. et Greche H. (2013).** Thymus essential oils (*Thymus vulagris* and *Thymus satureioidis*) from center of Morocco: chemical composition and antimicrobial activity, *les technologies de laboratoire*, Vol 8: N°31.
- 45- **Eminagaoglu O., Tepe B., Yumrutas O., Akpulat H.A., Daferera D. et Polissiou M. (2007).** The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja spicigera* (K. Koch.) Boiss. and *Satureja cuneifolia* Ten, *Food Chemistry*, 100: 339–343.

❖ F

- 46- **Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *L'actualité chimique*, 108-115.
- 47- **Ferrerres F., Tomas F., Barberan F.A.T. et Hernandez L. (1985).** Free flavones aglycones from *T. membranaceus* Boiss. subsp. *membranaceus*, *Plant. Med. Phytother.*, 19: 89-97.
- 48- **Frankel E.N. et Meyer A.S. (2000).** "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants, *Journal of science of food and agriculture*, 80: 1925-1941.

❖ G

- 49- **Ghedira K. (2006).** La nigelle cultivée: *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae), *Phytothérapie*, 4: 1-7.
- 50- **Ghorab H, Kabouche A, Semra Z, Ghannadi A, Sajjadi EB, Touzani R et Kabouche Z. (2013).** Biological activities and compositions of the essential oil of *Thymus ciliatus* from Algeria, *Scholars Research Library*, 5: 28-32.
- 51- **Gilani A.H., Aziz N., Khurram I.M., Chaudary K.S. et Iqbal A. (2001).** Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji), *Journal of the Pakistan Medical Association*, 51: 115-120.
- 52- **Giordani R., Hadeff Y., Kaloustian J. (2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants, *Fitoterapia*, 79: 199–203.
- 53- **Giweli A., Džamić A.M., Soković M., Ristić M.S. et Marin P. D. (2012).** Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils of *Satureja thymbra* Growing Wild in Libya; *Molecules*, 17:4836-4850.
- 54- **Gohari A.R., Saeidnia S., Gohari M.R., Afrapoli F.M., Malmir M. et Hadjiakhoondi A. (2006).** Bioactive flavonoids from *Satureja atropatana* Bonge, *Natural product research*, 23(17):1609-14.
- 55- **Gohari A. R., Ostad S. N., Afrapoli F. M., Malmir M., Tavajohi S., Akbari H. et Saeidnia S. (2012).** Evaluation of the Cytotoxicity of *Satureja spicigera* and Its Main Compounds, *The Scientific World Journal*, Article ID 203861, 5 p.
- 56- **Gueye P.M. (2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge, Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg, 247p.
- 57- **Guignard J. L. (2001).** Botanique systématique moléculaire, Masson, Paris, 221-225.

❖ H

- 58- **Hadeff Y., Kaloustian J., Chefrour A., Mikail C., Abou L., Giordani R., Nicolay A. et Portugal H. (2007).** Chemical composition and variability of the essential oil of *Thymus numidicus* Poir. from Algeria, *Acta Botanica Gallica*, 154:2, 265-274.
- 59- **Hadeff Y., Kaloustian, J., Giordan, R., Regli, P., Chefrour, A., Abou, L., Mikail, C. and Portugal, H. (2004).** Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et de *Thymus numidicus* Poiret d'Algérie. 6e symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales, Grasse, France.
- 60- **Hadjmohammadi M.R., Soltani M. et sharifi V. (2012).** Use of hollow fiber liquid phase microextraction and HPLC for extraction and determination of apigenin in human urine after consumption of *Satureja sahendica* Bornm., *Journal of Chromatography B*, 900:85– 88.

- 61- **Halliwell B. et Whiteman M. (2004).** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?, *British Journal of pharmacology*, 142:31-32.
- 62- **Hazzit M., Baaliouamer A., Veríssimo A.R., Faleiro M.L. et Miguel M.G. (2009).** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils, *Food Chemistry*, 116: 714–721.
- 63- **Hudaib M, Speroni E, Di Pietra A. et Cavrini V. (2002).** GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle, *J Pharm Biomed Anal.*, 29 (4): 691-700.
- 64- **Hussain A. I., Anwar F., Nigam P.S., Sarker S.D., Moore J.E., Rao J. R. et Mazumdar A. (2011).** Antibacterial activity of some *Lamiaceae* essential oils using resazurin as an indicator of cell growth, *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1199-1206.
- 65- **Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Latif S., Sherazi S.T.H., Ahmad A., Worthington J. et Sarker S. D. (2013).** Chemical composition and bioactivity studies of the essential oils from two *Thymus* species from the Pakistani flora, *LWT - Food Science and Technology*, 50: 185-192.
- 66- **Hussain, A.I.; Anwar, F.; Sherazi, S.T.H.; Przybylski, R. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations, *Food Chem.*, 108: 986–995.

❖ I

- 67- **Ismaili H., Sosa S., Brkic D., Fkih-Tetouani S., Iidrissi A., Touat D., Aquino R. P. et Tubaro A. (2002).** Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Thymus broussonettii*, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 54: 1137–1140.
- 68- **Ismaili H., Tortora S., Sosa S., Fkih-Tetouani S., Iidrissi A., Della Loggia R., Tubaro A. et Aquino R. (2001).** Topical anti-inflammatory activity of *Thymus wilddenowii*, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53:1645–1652.

❖ J

- 69- **Jabri K. I., Bettaieb I., Msaada K., Hammami M. et Marzouk B. (2012).** Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*, *Journal of Functional Foods*, 4: 661-669.
- 70- **Jean Bruneton (1999).** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, 3^{ème} éd,
- 71- **Judd, Campbell, Kellogg et Stevens (2002).** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique, Deboeck Université, Paris, pp 384.
- 72- **Jukic M. et Milo M. (2005).** Catalytic Oxydation and Antioxydant Properties of Thyme Essential Oils (*Thymus vulgarae* L.), *Croatica Chemica Acta*, 78 (1): 105-110.

❖ K

- 73- **Kabouche A. (2005).** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae, Thèse de Doctorat en Chimie, Département de Chimie, Université Mentouri-Constantine.
- 74- **Kabouche, A., Kabouche, Z. and Bruneau, C. (2005).** Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. *Flavour. Frag. J.*, 20: 235-236.
- 75- **Kaufmann, M. et Wink, M. (1994).** "Molecular systematics of the Nepetoideae (family Labiatae): phylogenetic implications from rbcL gene sequences." *A Journal of Biosciences* 49: 635-645.
- 76- **Kazuyasu S. , Kazuki K. , Hitoshi A. et Gen-ichi D. (1995).** Luteolin: A Strong Antimutagen against Dietary Carcinogen, Trp-P-2, in Peppermint, Sage, and Thyme, *J. Agric. Food Chem.*, 43: 410–414.
- 77- **Kohen R. et Nyska A. (2002).** Oxidation of biological systems: Oxidation stress phenomenon, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification; *Toxicolo Pathol*, 30: 620-650.

❖ L

- 78- **Lakusic B., Ristic M., Slavkovska V., Stankovic J.A. and Milenkovic M. (2008).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Satureja horvatii* Šilić (Lamiaceae), *Journal of Serbian. Chemistry. Society*, 73 (7): 703–711.
- 79- **Lehucher Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. et Prost M. (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines, *Press Med*; 30:1076-1081.
- 80- **Loziene K., Venskutonis P.R., Sipailiene A. et Labokas J. (2007).** Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes, *Food Chemistry*, 103: 546–559.
- 81- **Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V. et Biro L. (2003).** The role of antioxidant-phytonutriments in the prevention of diseases, *Acta. Biologica Szegedensis*, 1-4:119-125.

❖ M

- 82- **Macheix J.J., Fleuriet A. et Sarni-Manchado P. (2006).** "Composés phénoliques dans la plante - Structure, biosynthèse, répartition et rôles." *Les polyphénols en agroalimentaire*, Paris, Lavoisier, p 1-28.
- 83- **Madigan M. et Martinko J. (2007).** *Brock-Biologie des microorganismes*, 11^{ème} édition, Pearson Education, France, 1047p.
- 84- **Mann C.M., Cox S.D. et Markham J.L. (2000).** The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* contributes to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), *Letters in appl. Microbiol.*, 30: 294-297.
- 85- **Mariana P., et Laurian V. (2007).** Study of polyphenols from the species *Thymus pulegioides* L (Lamiaceae), *Farmacia- Bucuresti*, 55 (3): 297- 302.

- 86- **Mario B. (2006).** The use of Winter savory (*Satureja montana*) or its extracts comprising rosmarinic acid for treatment of premature ejaculation, PCT Int. Appl., WO 2006037535 A2 20060413.
- 87- **Markham, K.R. (1982).** Techniques of flavonoid identification, *Academic Press*. London, 133p.
- 88- **Merghem R., Jay M., Viricel M-R, Bayet C. et Voirin B. (1995).** Five 8-C-Benzylated Flavonoids from *Thymus hirtus* (Labiatae), *Phytochemistry*, 38: 637-640.
- 89- **Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques, Thèse de doctorat en science, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- 90- **Miura K. et Nakatani N. (1989).** Antioxidative activity of flavonoids from thyme (*Thymus vulgaris L.*), *Agric. & Biol. Chem.*, 53: 3043-3045.
- 91- **Miura K., Kikuzaki H., Nakatani N. (2002).** Antioxidant Activity of Chemical Components from Sage (*Salvia officinalis L.*) and Thyme (*Thymus vulgaris L.*) Measured by the Oil Stability Index method, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (7), pp 1845–1851.
- 92- **Moghaddam F. M., Farimani M.M., Salahvarzi S. et Amin G. (2006).** Chemical Constituents of Dichloromethane Extract of Cultivated *Satureja khuzistanica*, *eCAM*, 4:95–98.
- 93- **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-219.
- 94- **Momtaz, S., et Abdollahi, M. (2008).** As systematic review of the biological activity of *Satureja L.* species. *Pharmacologyonline*, 2: 34–54.
- 95- **Morel S. (2011).** Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae), Thèse de Doctorat en des Biomolécules, UFR des Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé, Université d'Angers.
- 96- **Morales R. (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: Stahl-Biskup., Saez, F. (Eds), *Thyme: The Genus Thymus*, Taylor & Francis, London, pp: 1-43.

❖ N

- 97- **Naghbi F., Mosaddegh M., Motamed S.M. et Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran from Ethnobotany to Pharmacology, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79.
- 98- **Nauciel C. (2000).** Bactériologie médicale, Masson (Ed), Paris, 275.
- 99- **Nejad E.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A. et Yousefzadi M. (2008).** Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages, *Food Chemistry*, 110: 927- 931.

100- **Nickavar B., Mojab F. et Dolat-Abadi R. (2005).** Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran; *Food Chemistry*, 90 (4): 609-611.

❖ **O**

101- **Ojeil A., El Darra N., El Hajj Y., Bou Mouncef P., Rizk T.J. et Maroun R.G. (2010).** Identification Et Characterisation De Composés Phenoliques Extraits Du Raisin Chateau KSARA, *Lebanese Science Journal*, Vol. 11, No. 2, 2010.

102- **Oke F., Aslim B., Ozturk S. et Altundag S. (2009).** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten, *Food Chemistry* 112: 874–879.

103- **Oussalah M., Caillet S., Saucier L. and Lacroix M. (2006).** Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat, *Meat Science*, 73: 236–244.

104- **Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et Lacroix M. (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *S Typhimurium*, *S aureus* and *L monocytogenes*, *Foods Control*, 18: 414–420.

105- **Özgülven M. et Tansi S. (1998).** Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L as influenced by ecological and ontogenetical variation, *Turk. J. agric. for.*, 22: 537-542.

106- **Oztürk M. (2012).** Anticholinesterase and antioxidant activities of Savory (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil, *Food Chemistry*, 134: 48 –54.

❖ **P**

107- **Pietta P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants, *Journal of natural products*, 63: 1035-1042.

108- **Prescott L., Harley J., Klein D. (2003).** *Microbiologie*, De boeck (Ed), Bruxelles, 1135p.

❖ **Q**

109- **Quezel P. et Santa S. (1962).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, C.N.R.S., Paris ; pp 805.

❖ **R**

110- **Radonic, A., & Milos, M. (2003).** Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *Satureja montana* L., *Free Radical Research*, 37, 673–679.

111- **Roby M.H.H., Sarhan M.A., Selim K.A. et Khalel K.I. (2013).** Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts, *Industrial Crops and Products*, 43: 827– 831.

- 112- **Ruiz-Navajas Y., Viuda-Martos M., Sendra E., Perez-Alvarez J.A. et Fernández López J. (2012).** Chemical characterization and antibacterial activity of *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oils, two *Thymus* endemic species from southeast of Spain, *Food Control*, 27: 294-299.

❖ **S**

- 113- **Saeidnia S., Nourbakhsh M.S., Gohari A.R., Davood A. (2011).** Isolation and Identification of the Main Compounds of *Satureja sahendica* Bornm., *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(6): 1450-1453.
- 114- **Saidj F. (2006).** Extraction de l'huile essentielle de Thym : *Thymus numidicus Kabylica*; Mémoire de magistère en technologie des hydrocarbures, Département de génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Université M'Hamed Bougarra-Boumerdes.
- 115- **Saidj F., Rezzoug S A., Bentahar F., Boutekedjiret C. (2008).** Chemical Composition and Insecticidal Properties of *Thymus numidicus* (Poiret) Essential Oil from Algeria, *Journal of essential oil-bearing plants*, 11 (4): 397-405.
- 116- **Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems, *International Journal of Food Science and Technology*, 8: 121-137.
- 117- **Sangwan N.S., Farooqi A.H.A., Shabih F. et Sangwan R.S. (2001).** Regulation of essential oil production in plants, *Plant Growth Regulation*, 34: 3–21.
- 118- **Schwämmle B., Winkelhausen E., Kuzmanova S. et Steiner W. (2001).** Isolation of Carvacrol Assimilating Microorganisms, *Food Technol. Biotechnol.*, 39 (4) 341–345.
- 119- **Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z. et Ahmadi S. (2007).** The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad, *Food Chemistry*, 100: 1054–1058.
- 120- **Shahidi, F. et Naczk M. (2003).** "Antioxidant properties of food phenolics." Phenolics in food and nutraceuticals. *Boca Raton*, CRC Press, p 403-442.
- 121- **Siddhuraju P. (2007).** Antioxydant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindus indica* seed coat, *LWT*, 40: 982-990.
- 122- **Simirgiotis M. J., Bórquez J., Schmeda-Hirschmann G. (2013).** Antioxidant capacity, polyphenolic content and tandem HPLC–DAD–ESI/MS profiling of phenolic compounds from the South American berries *Luma apiculata* and *L. chequén*, *Food Chemistry*, 139: 289–299.
- 123- **Skocibusic M., Bezic N. et Dunkic V. (2006).** Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia, *Food Chemistry* 96: 20–28.

124- **Skoula M., Grayerc R.J. et Kite G.C. (2005).** Surface flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja spinosa* (Lamiaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 33: 541–544.

125- **Soto-Mendivil E.A., Moreno-Rodreguez J.F., Estarron-Espinosa M., Garcia-Fajardo J.A., et Obledo-Vazquez E.N. (2006).** Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*, *e-Gnosis* (Online), 4: 16.

126- **Stefanovits-Bányai É., Tulok M.H., Hegedûs A., Renner C. et Varga I.S. (2003).** Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones, *Acta Biol Szeged*, 47(1-4):111-113.

❖ T

127- **Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. et Cliver, D.O., (2010).** Antimicrobial herb and spice compounds in food, *Food Control* 21, 1199-1218.

128- **Touafek w. (2010).** Etudes phytochimiques de plantes medicinales de Nord et du Sud Algériens, Thèse de Doctorat en Chimie organique, Département de Chimie, Université Mentouri-Constantine.

129- **Treki A.S., merghem R. et dehimat L. (2009).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée : *Thymus hirtus*, *Sciences & Technologie*, 29: 25-29.

❖ V

130- **Vansant G. (2004).** Radicaux libres et antioxydant: principe de base symposium. « Antioxydant et alimentation », Institut Danone.

❖ W

131- **Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W., Chen F. (2006).** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 97: 705-711.

❖ Y

132- **Yalçin F.N., Kaya D. (2006).** Ethnobotany, Pharmacology and Phytochemistry of the Genus *Lamium* (Lamiaceae), *Pharm. Sci.*, 31: 43-52.

133- **Yi Z., Yan Y., Liang Y. et Zeng B. (2008).** *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids, *LWT- Food Sci.*, 41: 597-603.

134- **Yoo K-M., Lee C-H., Lee H., Moon B-K. et Lee C-Y. (2008).** Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs, *Food chemistry*, 106: 929-936.

❖ Z

135- **Zellagui A., Gheraf N. et Akkal S. (2012)^a.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *OEnante virgata* aerial parts, endemic in Algeria, *Int. J. Med. Arom. Plants*, Vol. 2, No. 2, pp. 235-239.

- 136- **Zellagui A., Said N.L., Gherraf N. et Rhouati S. (2012)** ^b. Phytochemical screening of five Algerian plants and the assessment of the antibacterial activity of two *Euphorbia guyoniana* extracts, *Der Pharmacia Lettre*, 4 (5):1438-1444.
- 137- **Zouari N., Fakhfakh N., Zouari S., Bougatef A., Karray A., Neffati M. et Ayadi M.A. (2011)**. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae), *Food and Bioproducts Processing*, 89: 257–265.

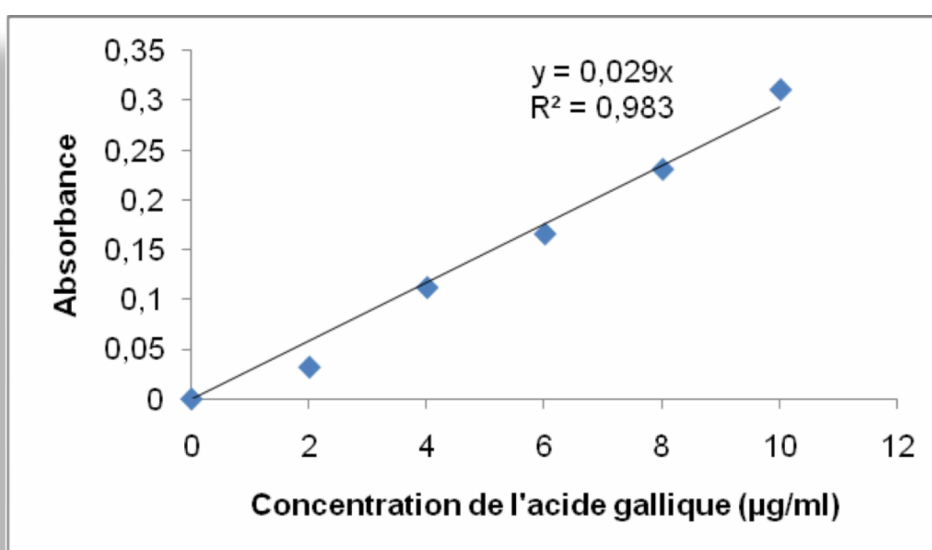
ANNEXES

Annexe 01: Rendement en extrait sec des fractions de la plante *S.graeca* L.
(g/100g de matériel végétale sec).

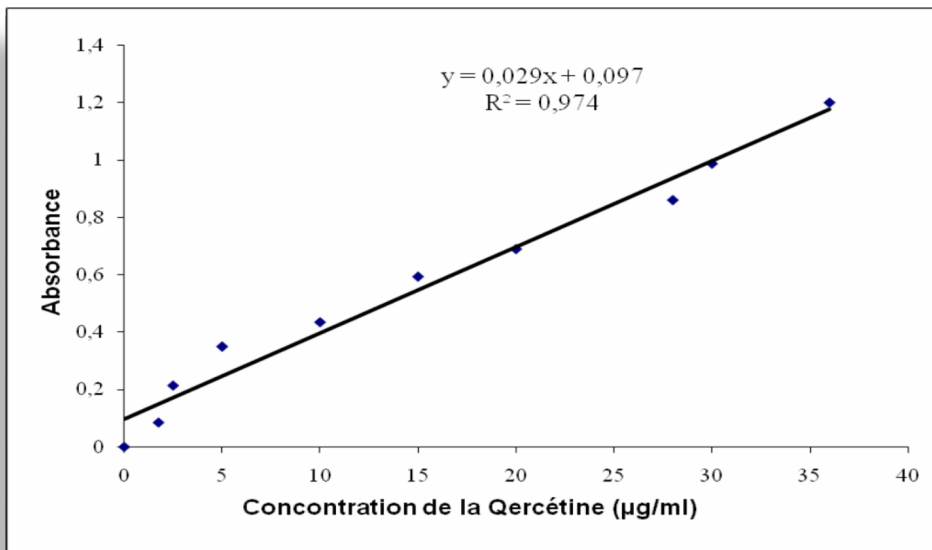
Extrait	Rendement(%)	
	Feuilles	Fleurs
<i>n</i> -Hexane	0.34	0.17
Chloroforme	0.07	0.17
Acétate d'éthyle	0.52	0.48
<i>n</i> -Butanol	1.70	1.82

Annexe 02: Rendement en huiles essentielles des deux plantes *S.graeca* L. et
T.numidicus L. (g/100g de matériel végétale sec).

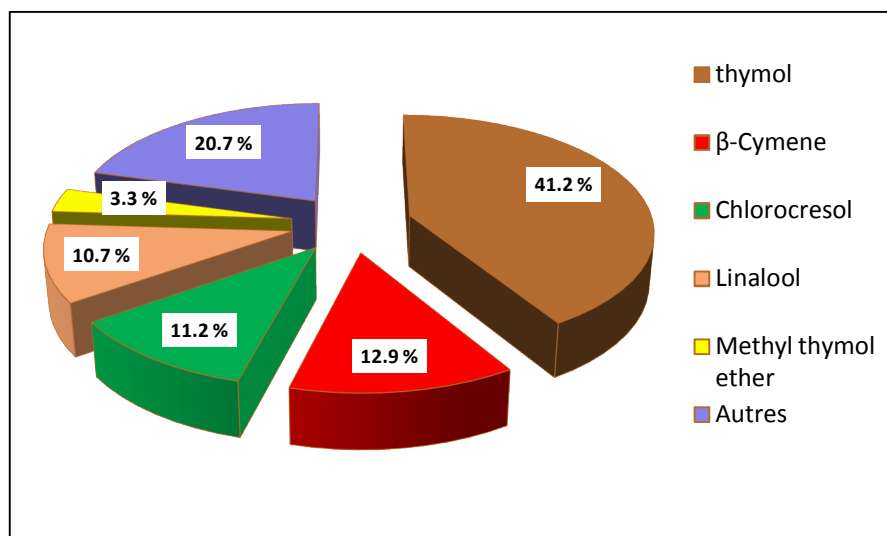
Plante	Rendement(%)		
	Tiges	Feuilles	Fleurs
<i>Satureja graeca</i> L.	0.08	0.16	0.05
<i>Thymus numidicus</i> L.	Parties aériennes		
	Phase I	Phase II	Phase III
	1.21	1.90	2.05



Annexe 03: Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm écart type de trois essais).



Annexe 04: Droite d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm écart type de trois essais).



Annexe 05 : Distribution en pourcentage des composés majoritaires de l'HES des feuilles de *T.numidicus* L.

Annexe 06: Essai Antioxydant: Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'E AcOEt des feuilles de *S.graeca* L.

Temps		1	1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,075	0,067	0,079	0,421	0,690
	%	92,39	90,37	88,65	39,51	8,24
60 s	DO	0,075	0,065	0,079	0,400	0,680
	%	92,39	90,66	88,65	42,53	9,57
90 s	DO	0,074	0,062	0,079	0,391	0,68
	%	92,49	91,09	88,65	43,82	9,57
120 s	DO	0,073	0,062	0,079	0,376	0,679
	%	92,60	91,09	88,65	45,98	9,71
03 min	DO	0,073	0,062	0,079	0,36	0,671
	%	92,60	91,09	88,65	48,28	10,77
05 min	DO	0,072	0,062	0,079	0,336	0,666
	%	92,70	91,09	88,65	51,72	11,44
DPPH	DO	0,986	0,696	0,696	0,696	0,752

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 07: Essai Antioxydant : Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'E *n*-But des feuilles de *S.graeca* L.

Temps		1	1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,092	0,062	0,073	0,418	0,537
	%	90,74	89,22	87,30	27,30	6,61
60 s	DO	0,087	0,060	0,070	0,389	0,534
	%	91,24	89,57	87,83	32,35	7,13
90 s	DO	0,087	0,060	0,069	0,382	0,534
	%	91,24	89,57	88,00	33,57	7,13
120 s	DO	0,086	0,060	0,069	0,372	0,534
	%	91,34	89,57	88,00	35,30	7,13
03 min	DO	0,086	0,060	0,069	0,372	0,532
	%	91,34	89,57	88,00	35,30	7,48
05 min	DO	0,084	0,060	0,069	0,372	0,532
	%	91,54	89,57	88,00	35,30	7,48
DPPH	DO	0,993	0,575	0,575	0,575	0,575

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 08: Essai Antioxydant : Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'E *n*-hexane des feuilles de *S.graeca* L.

Temps		1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,085	0,123	0,533	0,605
	%	86,42	80,32	12,77	1,79
60 s	DO	0,082	0,114	0,531	0,605
	%	86,90	81,76	13,09	1,79
90 s	DO	0,079	0,114	0,531	0,605
	%	87,38	81,76	13,09	1,79
120 s	DO	0,078	0,113	0,531	0,603
	%	87,54	81,92	13,09	2,11
03 min	DO	0,075	0,113	0,528	0,602
	%	88,02	81,92	13,58	2,27
05 min	DO	0,075	0,113	0,52	0,601
	%	88,01	81,92	14,89	2,44
DPPH	DO	0,626	0,625	0,611	0,616

DO: Densité optique

%: pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 09: Essai Antioxydant: Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'E Ch des feuilles de *S. graeca* L.

Temps		1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,206	0,260	0,847	0,910
	%	77,44	71,52	7,23	0,33
60 s	DO	0,205	0,240	0,845	0,907
	%	77,55	73,71	7,45	0,66
90 s	DO	0,204	0,232	0,844	0,905
	%	77,66	74,59	7,56	0,88
120 s	DO	0,204	0,225	0,844	0,903
	%	77,66	75,36	7,56	1,10
03 min	DO	0,204	0,218	0,844	0,900
	%	77,66	76,12	7,56	1,42
05 min	DO	0,204	0,21	0,844	0,900
	%	77,66	77,00	7,56	1,42
DPPH	DO	0,913	0,913	0,913	0,913

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 10: Essai Antioxydant: Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'HES des feuilles de *S.graeca* L.

Temps		1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,549	0,615	0,652	0,652
	%	16,57	6,53	1,66	0,91
60 s	DO	0,549	0,613	0,652	0,651
	%	16,57	6,84	1,66	1,06
90 s	DO	0,549	0,613	0,652	0,65
	%	16,57	6,84	1,66	1,22
120 s	DO	0,548	0,612	0,652	0,65
	%	16,72	6,99	1,66	1,22
03 min	DO	0,546	0,612	0,652	0,649
	%	17,02	6,99	1,66	1,37
05 min	DO	0,544	0,612	0,652	0,649
	%	17,33	6,99	1,66	1,37
DPPH	DO	0,658	0,658	0,663	0,658

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 11: Essai Antioxydant: Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'HES des tiges de *S.graeca* L.

Temps		1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,565	0,609	0,648	0,660
	%	13,08	7,02	1,82	1,05
60 s	DO	0,547	0,609	0,648	0,660
	%	15,85	7,02	1,82	1,05
90 s	DO	0,545	0,609	0,648	0,659
	%	16,15	7,02	1,82	1,20
120 s	DO	0,545	0,609	0,648	0,659
	%	16,15	7,02	1,82	1,20
03 min	DO	0,543	0,609	0,648	0,659
	%	16,46	7,02	1,82	1,20
05 min	DO	0,541	0,609	0,648	0,659
	%	16,77	7,02	1,82	1,20
DPPH	DO	0,65	0,655	0,66	0,667

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 12: Essai Antioxydant: Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'HES des fleurs de *S.graeca* L.

Temps		1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,571	0,638	0,651	0,655
	%	13,22	2,45	1,21	0,91
60 s	DO	0,569	0,636	0,651	0,655
	%	13,53	2,75	1,21	0,91
90 s	DO	0,566	0,634	0,653	0,654
	%	13,98	3,06	0,91	1,06
120 s	DO	0,566	0,634	0,651	0,654
	%	13,98	3,06	1,21	1,06
03 min	DO	0,565	0,634	0,651	0,654
	%	14,13	3,06	1,21	1,06
05 min	DO	0,564	0,634	0,651	0,654
	%	14,29	3,06	1,21	1,06
DPPH	DO	0,658	0,654	0,659	0,661

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 13: Essai Antioxydant: Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'HES de *T.numidicus* L. de la phase I.

Temps		1	1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,388	0,787	0,856	0,876	0,889
	%	56,84	12,85	6,24	3,84	2,31
60 s	DO	0,388	0,777	0,854	0,876	0,889
	%	56,84	13,95	6,46	3,84	2,31
90 s	DO	0,370	0,770	0,854	0,846	0,888
	%	58,84	14,73	6,46	7,14	2,42
120 s	DO	0,350	0,758	0,854	0,875	0,888
	%	61,07	16,06	6,46	3,95	2,42
03 min	DO	0,320	0,747	0,854	0,875	0,888
	%	64,40	17,28	6,46	3,95	2,42
05 min	DO	0,248	0,710	0,854	0,875	0,888
	%	72,41	21,37	6,46	3,95	2,42
DPPH	DO	0,899	0,903	0,913	0,911	0,910

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 14: Essai Antioxydant: Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'HES de *T. numidicus* L. de la phase II.

Temps		1	1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,230	0,760	0,821	0,847	0,863
	%	75,03	16,94	10,37	7,73	6,20
60 s	DO	0,215	0,747	0,821	0,845	0,861
	%	76,66	18,36	10,37	7,95	6,41
90 s	DO	0,210	0,740	0,820	0,842	0,860
	%	77,20	19,13	10,48	8,28	6,52
120 s	DO	0,206	0,732	0,820	0,841	0,860
	%	77,63	20,00	10,48	8,39	6,52
03 min	DO	0,190	0,720	0,820	0,841	0,860
	%	79,37	21,31	10,48	8,39	6,52
05 min	DO	0,185	0,685	0,820	0,841	0,860
	%	79,91	25,14	10,48	8,39	6,52
DPPH	DO	0,921	0,915	0,916	0,918	0,920

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Annexe 15: Essai Antioxydant: Réduction de l'absorbance et pouvoir réducteur du radical DPPH en fonction du temps et de la dose de l'HES de *T. numidicus* L. de la phase III.

Temps		1	1/10	1/100	1/1000	1/10000
30 s	DO	0,182	0,400	0,864	0,895	0,910
	%	81,33	57,67	9,53	8,11	5,99
60 s	DO	0,178	0,340	0,860	0,895	0,910
	%	81,74	64,02	9,95	8,11	5,99
90 s	DO	0,172	0,314	0,840	0,880	0,902
	%	82,36	66,77	12,04	9,65	6,82
120 s	DO	0,172	0,294	0,837	0,880	0,902
	%	82,36	68,89	12,36	9,65	6,82
03 min	DO	0,160	0,280	0,814	0,875	0,898
	%	83,59	70,37	14,76	10,16	7,23
05 min	DO	0,155	0,233	0,814	0,875	0,892
	%	84,10	75,34	14,76	10,16	7,85
DPPH	DO	0,975	0,945	0,955	0,974	0,968

DO : Densité optique

% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH

ملخص

جزء كبير من الأبحاث المهمة حالياً يهتم بدراسة الجزيئات الطبيعية الفعالة بيولوجياً ذات منشأ نباتي. يهدف عملنا هذا إلى تقييم المواد الفعالة بيولوجياً ذات نشاط صيدلاني من خلال دراسة فيتوكيميائية ودراسة الفعالية البيولوجية لنوعين نباتيين ينتميان إلى العائلة الشفوية (Lamiaceae) هما: *Thymus numidicus* L. و *Satureja graeca* L. من أجل ذلك، تم تحضير أربعة مستخلصات من كل جزء من أجزاء النوع *Satureja graeca* L. (أوراق و أزهار) باستخدام طريقة الاستخلاص الموجه بيولوجياً: مستخلص *n*-هكسان، مستخلص الكلوروفورم، مستخلص خلات الإيثيل و مستخلص *n*-بيوتانول. و قد أظهر التحليل نصف كمي للفينولات المتعددة و الفلافونويدات باستخدام المطيافية الضوئية احتواء مستخلص خلات الإيثيل للأوراق الكمية العالية من الفينولات المتعددة حيث قدرت ب $9,573 \pm 151,72$ مكغ/ملغ من المستخلص معادل حمض الغاليك و كمية الفلافونويدات ب $2,048 \pm 93,30$ مكغ/ملغ من المستخلص معادل الكرسيتين، مقارنة مع الأزهار. بين التحليل باستخدام كروماتوغرافيا الطور الغازي مع مطيافية الكتلة GC/MS للزيت الأساسي لأوراق نبتة *T. numidicus* L. خلال مرحلة الإزهار بأنه يحتوي أساساً على المركبات الآتية: thymol (41,2%)، β -Cymene (12,9%)، Chlorocresol (11,2%)، β -linalool (10,7%) و Methyl thymol ether (3,3%). تقدير النشاط المضاد للأوكسدة بطريقة تثبيط الجذر الحر DPPH أظهر فعالية جد معتبرة للمستخلصين *n*-بيوتانول و خلات الإيثيل عند تركيز 10^{-4} M مقارنة مع الفيتامين (ج): 11,44% و 7,48% على التوالي. كذلك أبدى الزيت الأساسي للأجزاء الهوائية من نبتة *T. numidicus* L. خلال مرحلة الإزهار قدرة عالية على اختزال الجذر الحر DPPH مقارنة مع الزيوت الأساسية للطورين الخضري و بداية الإزهار. النشاط ضد ميكروبي الذي أجري على السلالات الميكروبية *S.aureus* ATCC25923، *E.coli* ATCC25922، *P.aeruginosa* ATCC27853، *C.albicans* و *Salmonella sp*، *K.pneumoneae*، أظهر بأن كل المستخلصات المختبرة تفاعلت إيجابياً مع كل السلالات عند تراكيز مختلفة. و قد تم تسجيل أعلى متوسط قطر تثبيط بقيمة $16,00 \pm 1,32$ ملم ضد *S.aureus* ATCC25923.

الكلمات المفتاحية: *Satureja graeca* L.، *Thymus numidicus* L.، الفينولات المتعددة، الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للأوكسدة و النشاط ضد ميكروبي.

Résumé

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules bioactives naturelles d'origine végétale. Notre travail vise à valoriser ces molécules qui ont des propriétés pharmacologiques à partir de deux espèces endémiques appartenant à la famille des Lamiaceae: *Satureja graeca* L. et *Thymus numidicus* L. En effet, quatre extraits ont été préparés, à partir de chaque partie de la plante *S.graeca* L. (feuilles et fleurs) par fractionnement bioguidé: Extrait *n*-hexane, Extrait chloroforme, Extrait acétate d'éthyle et Extrait *n*-butanol. L'analyse semi-quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes des fractions réalisée par colorimétrie, a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles renferme plus de phénols totaux soit $151,72 \pm 9,573$ µg/mg d'extrait en équivalent d'acide gallique comparativement avec ceux des fleurs, au même titre que le taux des flavonoïdes avec $93,30 \pm 2,048$ µg/mg d'extrait en équivalent de quercétine. La composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *T.numidicus* L. (pendant la floraison) obtenu par hydrodistillation est déterminée par GC/MS. Cette huile est composée majoritairement de: thymol (41,2%), β-Cymene (12,9%), Chlorocresol (11,2%), β-Linalool (10,7%) et Methyl thymol ether (3,3 %). L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH a indiqué que les fractions d'acétate d'éthyle et du *n*-butanol présentent des meilleures activités anti-radicalaire à une concentration de 10^{-4} M comparativement avec celle de la Vit C, 11,44% et 07,48% respectivement. Ainsi, une meilleure activité antioxydante a été obtenue par l'huile essentielle des parties aériennes de *T. numidicus* L. de la phase de pleine floraison par rapport à celle de la phase végétative et du début de floraison. L'activité antimicrobienne a été réalisée sur *S.aureus* ATCC25923, *E.coli* ATCC25922, *P.aeruginosa* ATCC27853, *K.pneumoneae*, *Salmonella sp* et *C.albicans* par la méthode d'aromatogramme, a montré que tous les extraits testés sont doués d'activité antimicrobienne appréciable avec des zones d'inhibition pouvant atteindre $16,00 \pm 1,32$ mm de diamètre sur *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Les résultats trouvés présentent un intérêt pour l'utilisation de ces plantes à des fins thérapeutiques.

Mots clés: *Satureja graeca* L., *Thymus numidicus* L., polyphénols, huiles essentielles, activité antimicrobienne et activité antioxydante.