

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE
LA NATURE ET DE LA VIE

N° :.....



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE

FILIERE : BIOTECHNOLOGIE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETAL

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par:

MAATOUG Salsabil

SAOUDI Nourelhouda

Intitulé

**Contribution à l'étude phytochimique et activité
biologique d'une plante médicinale *Mentha suaveolens*.**

Soutenu : Mercredi 12 Juin 2024 devant le jury composé de:

BENDIF Hamdi	Pr.	Université de M'Sila	Président
ADOUI Nabila	MCA	Université de M'Sila	Rapporteur
KHALFA Hanane	MCB	Université de M'Sila	Examineur

Année universitaire : 2023 /2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remercîments

Arrivé au terme de notre mémoire, nous remercions notre grand Dieu tout puissant, lui exprimant notre reconnaissance pour sa grande générosité.

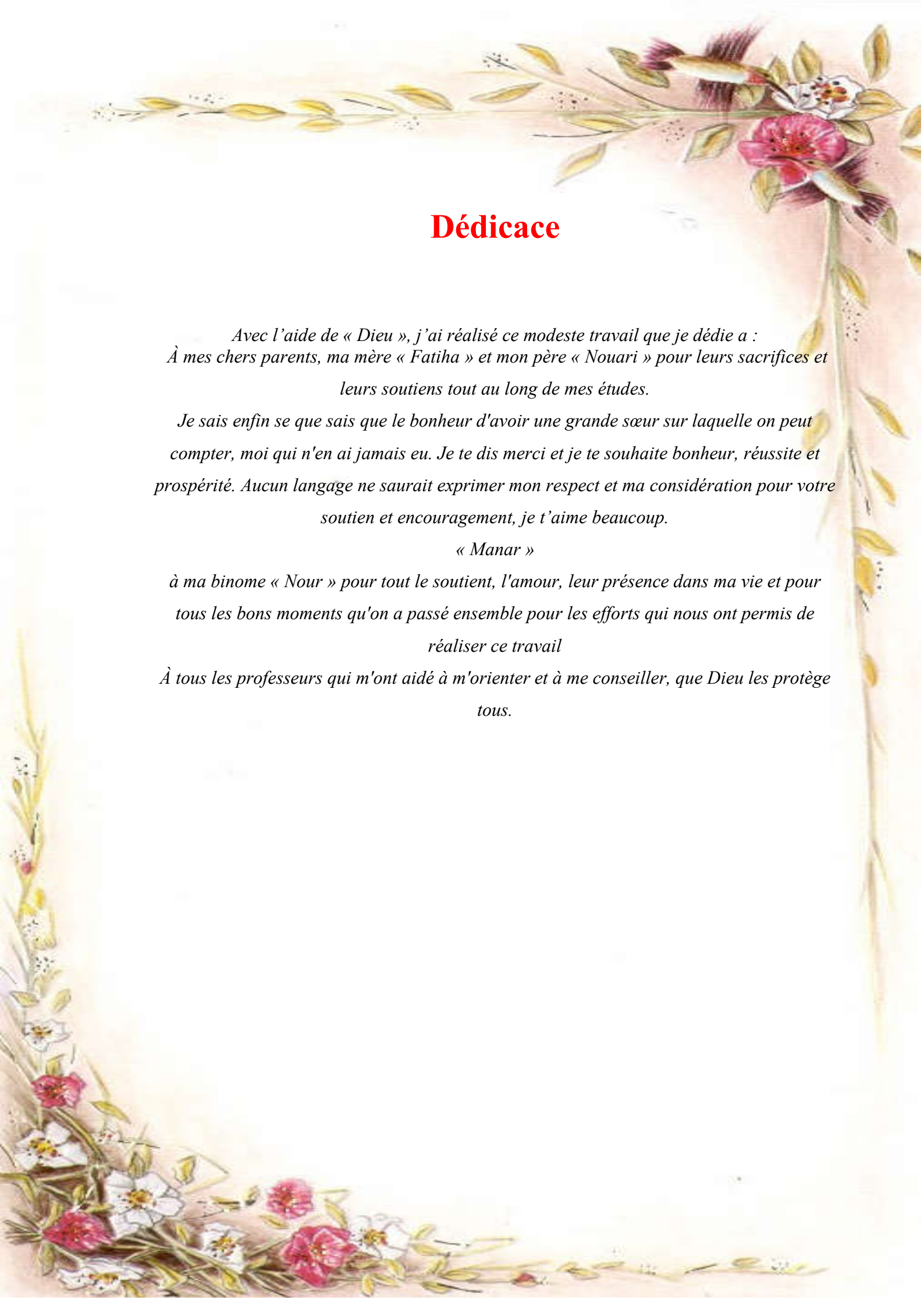
Nous remercions nos parents pour leur patience, générosité; qui nous ont toujours souhaité beaucoup de motivation et d'encouragements.

Nous tenons à remercier sincèrement Dr. ADOUI Nabila qui fut pour nous un encadreur attentif et disponible malgré ses nombreuses charges. Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance nous ont beaucoup aidées dans notre parcours.

Nous exprimons notre gratitude envers notre directeur de recherche, Pr. BENDIF Hamdi, pour tous ses conseils et ses encouragements, sa disponibilité et sa compréhension, ainsi que pour nous avoir donné le fruit de ses efforts sans relâche.

Nous recommandons nos plus cordiaux remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Nous ne saurons terminer sans remercier toutes les personnes dont leur contribution à notre travail est non négligeable



Dédicace

*Avec l'aide de « Dieu », j'ai réalisé ce modeste travail que je dédie à :
À mes chers parents, ma mère « Fatiha » et mon père « Nouari » pour leurs sacrifices et
leurs soutiens tout au long de mes études.*

*Je sais enfin se que sais que le bonheur d'avoir une grande sœur sur laquelle on peut
compter, moi qui n'en ai jamais eu. Je te dis merci et je te souhaite bonheur, réussite et
prospérité. Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre
soutien et encouragement, je t'aime beaucoup.*

« Manar »

*à ma binome « Nour » pour tout le soutien, l'amour, leur présence dans ma vie et pour
tous les bons moments qu'on a passé ensemble pour les efforts qui nous ont permis de
réaliser ce travail*

*À tous les professeurs qui m'ont aidé à m'orienter et à me conseiller, que Dieu les protège
tous.*

Dédicace

من قال انا لها ...نالها

وانا لها وان أبت رغما عنها أتيت بها

لم تكن الرحلة قصيرة ولا ينبغي لها ان تكون .ولم يكن الحلم قريبا ولا الطريق كان محفوف بالتسهيلات لكنني فعلتها
الى من زين اسمي بأجمل الألقاب من دعمني بلا حدود وإعطاني بلا مقابل إلى من علمني إن الدنيا كفاح وسلاحها العلم
والمعرفة الى من غرس في روحي مكارم الأخلاق إلى النور الذي أثار قلبي ولا ينطفئ نوره بقلبي أبدا حبيبي
والدي سعودي دراجي

الى نور عيني وضوء دربي ومهجة حياتيالى التي سندتني ووقفت بجانبي وقدمت لي الدعم لمواصلة طريقي الى التي
وهبتني حياتها واحتضنتني قلبها قبل يدها وسهلت علي الشدائد بدعائها إلى جنتي فوق الأرض
والدتي الحبيبة سعودي حبيبة

الى ضلعي الثابت وأمان أيامي إلى ملهمي لنجاحي إلى من شددت عضدي بهم فكأنوا لي ينابيع ارتوي منها ...إلى خيرة أيامي
وصفوتها إخوتي مريم سميرة ومحمد
لكل من كان عوننا وسندا لي في هذا الطريق عائلتي كلها أعمامي ككل وبالأخص من غمرنا بعطفه وحمايته عمي رابح
وخالي عزوز ...للأصدقاء الأوفياء ورفقاء السنين وأصحاب الشدائد والأزمات إلى صديقة دربي لأختي وحبيبتني وزميلتي في
المذكره سلسبيل

إلى من أفاض مشاعره ونصائحه الخاصة إلى اساتدتي الكرام الذي لم يتوانوا في مد يد العون شكرا لكم
أهديكم هذا الانجاز وثمره نجاحي الذي طالما تمنيته ها انا اليوم أتممت أول ثمراته بفضل الله عز وجل فالحمد لله على ماوهبني
وان يعينني ويجعلني مباركة أينما حللت.

Sommaire

Table des matières

Remercîments	
Dédicace	
Dédicace	
Sommaire	
Liste des Figures	
Introduction Générale :	1

Chapitre I

synthèse bibliographique

1. Plantes médicinales	4
1.1. Définition des plantes médicinales	4
1.2. Composition des plantes médicinales	4
1.3. Conservation des plantes médicinales	5
1.4. Modes de préparation des plantes médicinales :	6
1.5. Propriétés pharmacologiques des plantes médicinales	7
2. Métabolites secondaires et leur extraction	8
2.1. Métabolites secondaires :	8
2.2. La classification des métabolites secondaires :	9
2.2.1. Les substances phénoliques :	9
2.2.2. Les substances terpéniques :	10
2.2.3. Les produits alcaloïdes et azotés :	10
2.3. Méthodes d'extraction des principes actifs	10
2.3.1. Extraction par Soxhlet	11
2.3.2. Extraction par solvant organique :	11
2.3.3. Extraction assistée par micro-onde (MAE) :	11
2.3.4. Extraction par solvant à chaud et sous pression (ASE)	12
2.3.5. Extraction par fluide supercritique (SFE)	12
3. Présentation d'espèce étudiée	13
3.1. famille des Lamiaceae	13
3.2. Genre de <i>Mentha</i>	13
3.3. Espèce de <i>Mentha Suaveolens</i> :	15

3.3.1 description botanique :	16
3.3.2. la position systématique.....	16
3.3.3. la répartition géographique des plantes médicinales	16

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal :.....	18
1.1. Choix de la plante :	18
1.2. séchage et broyage.....	18
2. Matériel animal	18
2.1. Description des différents états de <i>Tribolium confusum</i>	19
3. Méthodes expérimentale.....	20
3.1. Extraction Par Macération	20
3.2. Préparation des extraits.....	20
3.3. Détermination de rendement et d'extraction	21
4. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie	21
4.1. dosage des polyphenols totaux	21
5. Evaluation des activités biologiques	22
6.1. Evaluation de la toxicité par effet contact.....	25
6.2. Evaluation de la toxicité par effet d'inhalation	26

chapitre III résultats et discussion

1. Détermination de rendement et d'extraction	32
2. Résultats d'analyse spectrophotométrie	32
Dosage des composé phénolique	32
3. Evaluation des activités biologique.....	34
3.1.2. Test d'inhalation	39
3.1.3. Test répulsif	46
3.2. Activité antioxydant.....	47
3.3. Activité antibactérienne.....	49
Conclusion	53
Références.....	55
Résumé.....	64

Liste des Figures

Figure 1 : La structure de base des terpènes (isoprène). (Chahrazed & Djihad, 2022)	10
Figure 2 : la structure d'alcaloïdes vrais. (Chahrazed & Djihad, 2022)	10
Figure a : <i>Mentha pulegium</i> L (Flio)	14
Figure b : <i>Mentha suaveolens</i> L (Merceta)	14
Figure C : <i>Menthe spicata</i> L	15
Figure d : <i>Mentha aquatique</i> L	15
Figure e : <i>menthe piperita</i> L	15
Figure 3 : Aspect morphologique de l'espèce <i>Mentha Suaveolens</i>	16
Figure 4 : différents stades biologiques de T confusum ; A : l'oeuf; B: larve, C: nymphe, D: adulte.(Tarek, 2017)	20
Figure 5 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>Mentha suaveolens</i>	25
Figure 6 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait hexanique de <i>Mentha suaveolens</i>	25
Figure 7 : Dispositif expérimental du traitement par contact des insectes (photo original)	26
Figure 8 : Dispositif expérimental dutraitement par d'inhalation des insectes (photo original)	27
Figure 9 : Dispositif expérimental du traitement par répulsif des insectes) photo original)	28
Figure 10 : Dispositif expérimental du traitemet par répulsif des insectes	33
Figure 11 : Mortalité corrigée des adultes de T. confusum traitée par l'extrait hexanique	37
Figure 12 : Mortalité corrigée des adultes de T. confusum traitée par l'extrait éthanolique	37
Figure 13 : droite de régression de l'extrait éthanolique en fonction des doses après 23 h.	38
Figure 14 : droite de régression de l'extrait hexanique en fonction des doses après 23 h.	38
Figure 15 : Mortalité corrigée des adultes de T. confusum traitée par l'extrait éthanolique	43
Figure 16 : Mortalité corrigée des adultes de T. confusum traitée par l'extrait hexanique	43
Figure 17 : droite de régression de l'extrait éthanolique en fonction des doses après 43 h.	44
Figure 18 : droite de régression de l'extrait hexanique en fonction des doses après 43 h.	44
Figure 19 : Courbe d'étalonnage d'absorbance	47
Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique.	48
Figure 21 : pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentration de l'extrait éthanolique	48
Figure 22 : Photos montrant des zones d'inhibition de la croissance bactérienne	50

Liste des tableaux

Tableau 1 : Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique	22
Tableau 2 : Préparation de la gamme d'étalon de la Quercétine	23
Tableau 3 : Pourcentages répulsifs selon le classement de (Mc Donald et al.,1970).	28
Tableau 4 : Les souches bactériennes sélectionnées	29
Tableau 5 : Rendement d'extraction de Mentha suaveolens	32
Tableau 6 : Teneurs des composés phénoliques	33
Tableau 7 : Toxicité d'extrait hexanique de M.suaveolens vis-à-vis au tribolium confusum.	34
Tableau 8 : Toxicité d'extrait éthanolique de M.suaveolens vis-à-vis au tribolium confusum.	35
Tableau 9 : Les équations des droites de régressions	37
Tableau 10 : Les DL50 obtenus après 23 h de traitement	39
Tableau 11 : Les DL50 obtenus après 23 h de traitement	39
Tableau 12 : Toxicité d'extrait hexanique vis-à-vis au tribolium costunum..	41
Tableau 13 : Les équations des droites de régressions	43
Tableau 14 : Les DL50 obtenus après 23 h de traitement	45
Tableau 15 : Résultats du test répulsif d'extrait éthanolique de Mentha suaveolens sur les adultes de tribolium confusum	46
Tableau 16 : Résultats du test répulsif d'extrait hexanique de Mentha suaveolens sur les adultes de tribolium confusum	46
Tableau 17 : les pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentration	47
Tableau 18 : résultats de l'activité antibactérienne des extraits M. suaveolens réalisé par la méthode de diffusion sur disque	49
Tableau 19 : résultats de l'activité antibactérienne des extraits M. suaveolens réalisé par la méthode de diffusion sur disque	

Liste des abréviations

% : Pourcentage

Mm : Millimètre

µL : Microlitre

ml : Millilitre

H : Heure

G : gramme

Mg : milligramme

R : Rendement DL 50 : la dose létale qui tue 50% d'individus

TL 50 : le temp létal qui tue 50% d'individus

UV : Ultra-Violet

µg EAG/ mg MS : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme de matière sèche

µg EQ/mg MS : Microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de matière sèche

DMSO : diméthyle sulfoxyde

CI50 : Concentration inhibitrice médiane [mg/ml]

EX : Extrait

Etha : éthanole

Hex : hexane

mext: masse de l'extrait

mmv: masse de la matière végétale

DPPH : 2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle

Introduction Générale

Introduction Générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies (**Zeghad, 2009**). Elles sont un patrimoine sacré et précieux et constituent une réponse de choix pour fournir à l'organisme, de façon naturelle, les substances nécessaires pour maintenir son équilibre vital. Actuellement, selon les estimations de l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (**Ali et al., 2013**).

Les plantes peuvent produire un grand nombre de métabolites secondaires (Polyphénols, Alcaloïdes, Terpènes...etc)(**Fraga,2007**). Ces métabolites comprennent de nombreuses classes de composés allant des acides phénoliques simples aux flavonoïdes complexes qui ont de nombreux usages dans l'industrie cosmétique, agroalimentaire et pharmaceutique. Ils sont connus par leurs large gamme d'activités biologiques, y compris la propriété anticancéreuse, anti-oxydantes, anti-inflammatoires et notamment antimicrobiennes (**Hogan et Kolter, 2002**)

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou en partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* qui les rendent bénéfique aux santés humaines tels que l'effet antithrombotique, antiagrégant plaquettaire, anti-inflammatoire (**Boskou, 2009**).

L'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique, qui constitue un véritable réservoir phytogénétique, avec environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, le Romarin fait partie des espèces végétales qui se présentent à l'état sauvage dans les zones littorales pas trop loin de la mer, les lieux secs et arides(Aurès)même au Sahara(**Beniston, 1982**).

Ce travail de recherche vise à approfondir notre compréhension sur la composition chimique et pouvoir des activités biologiques de l'espèce *Mentha suaveolens* et à fournir des informations importantes pour la médecine traditionnelle et les recherches pharmaceutiques.

L'objectif principal de cette étude est de caractériser les composés phytochimiques présents dans les extraits éthanolique et hexanique de l'espèce *Mentha suaveolens* afin d'évaluer leurs activité biologique. Pour se faire, plusieurs techniques de laboratoire seront utilisées, notamment la chromatographie sur couche mince, dosage des polyphénols et les

tests des activités biologiques tels que l'activité anti-oxydante, antibactériennes et insecticide.

Ce travail sera présenté comme suit :

-Une partie relative à l'étude bibliographique qui présente des généralités sur la phytothérapie , plantes médicinales et présentation de l'espèce étudié et qui se résume au premier chapitre .

_Le deuxième chapitre traite la partie expérimentale qui est consacré à l'étude phytochimique et les activités biologiques de l'espèce végétale utilisée.

-Quant au troisième chapitre dans lequel nous présenterons nos résultats et discussions.

- Une conclusion générale qui résumera les résultats obtenus dans cette étude.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. Plantes médicinales

Les plantes médicinales ont un impact crucial sur la santé des individus et sur la survie de l'humanité. Par exemple, elles fournissaient aux peuples qui les cultivaient de l'huile pour la cuisine, du combustible, un baume pour la peau et des fibres pour la fabrication d'étoffes. Il était aussi employé dans le traitement des bronchites, des rhumes, des furoncles ou des troubles digestifs... Comme il a des vertus curatives, il n'est pas surprenant que les civilisations traditionnelles lui attribuent des vertus magiques, comme beaucoup d'autres plantes. Pendant des siècles, les plantes ont été collectées pour leurs propriétés magiques plutôt que pour leurs propriétés thérapeutiques.(Mebarka, 2018)

Depuis toujours, les plantes aromatiques et médicinales ont été une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce à leurs principes actifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les hétérosides, les saponosides, les quinones, les vitamines et les huiles essentielles. Ces métabolites sont employés dans le domaine médical (Lafon, 1988). Selon le dernier inventaire, il ressort que seulement 10% des plus de 350 000 espèces de végétaux connus et identifiées ont été examinées de manière phytochimique et pharmacologique (Beaulieu, 2006).(Newfel & metrouh, 2021)

1.1. Définition des plantes médicinales

La plante médicinale est une plante employée afin de prévenir, traiter ou apaiser différentes affections. Selon Farnsworth et al. (1986), les plantes médicinales sont des substances végétales qui ont au moins une partie de propriétés médicamenteuses. Il s'agit également de toutes les plantes qui renferment une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la fabrication de drogues bénéfiques.(Newfel & metrouh, 2021).

Selon le groupe consultatif de l'OMS qui a élaboré cette définition, une telle description permet également de différencier les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été scientifiquement établis des plantes traditionnellement considérées comme médicinales (Abayomi, 2010).(Newfel & metrouh, 2021)

1.2. Composition chimique des plantes médicinales

- Les plantes produisent des gaz carboniques, éliminent de l'oxygène et elles incluent: (Létard, Canard, Costil, Dalbiès, Grunberg, & Lapuelle, 2015)

des phénols, des composés organiques aromatiques tels que l'acide salicilique, le caféique, l'esther phénolique, la coumarine, qui ont des propriétés antiseptiques, antibactériennes et antihelminthiques ;

- de la coumarine (odeur de foin) qui a un effet antimicrobien et antispasmodique ;
- des tanins, le sous-groupe le plus important des polyphénols, qui ont des effets astringents et asséchants ;

- des anthraquinolones qui produisent une teinture jaune et des effets laxatifs ;

- des flavonoïdes qui donnent aux fruits et aux fleurs une teinte jaune, orange et rouge ;

- des flavonoïdes qui donnent une teinte jaune, orange et rouge. Les antioxydants assurent la protection des vaisseaux et du cœur.

- Les terpènes, ainsi que les sesquiterpènes, sont responsables du goût amer. Ils agissent en tant qu'anti-inflammatoires et microbiens. De manière générale, les principes amers favorisent également la production de sécrétions digestives, sont calmants et relaxants ;

- les huiles volatiles et fixes contiennent une grande quantité d'acides gras saturés, mono-insaturés, poly-saturés et essentiels pour la croissance cellulaire (parois cellulaires) ;

- des polysaccharides ou grands sucres tels que le fructose, le lactose, la cellulose, y compris les gommés, les mucilages et la fructosane (immunostimulant, anti-inflammatoire et anticancéreux).

- 4 des composés azotés tels que la belladone (atropine), le pavot somnifère (morphine), la digitaline (digitaline), la caséine, l'éphédrine, la quinine, la strychnine, la pipérine, la nicotine et la codéine. (Létard, Canard, Costil, Dalbiès, Grunberg, & Lapuelle, 2015)

1.3. Conservation des plantes médicinales

Pendant le stockage prolongé, il est essentiel de préserver l'intégrité des propriétés pharmacologiques des plantes en évitant toute altération de la nature des plantes causée par la vermine, les moisissures ou les micro-organismes. L'humidité favorise la croissance des moisissures et des micro-organismes, qu'elle soit issue de la plante elle-même, d'une mauvaise aération du lieu de conservation ou de l'humidité du sol.

Les éléments qui peuvent accélérer la fermentation ou l'oxydation de certains composants végétaux. Il est également fréquent, dans un premier temps, de procéder au

séchage par le soleil des produits récoltés, en tenant compte du fait qu'un séchage trop long au soleil a un impact non seulement sur la couleur, mais aussi sur la nature de ces produits. La qualité des plantes médicinales dépend des conditions de conservation, il est donc essentiel d'éviter toute perturbation de ces conditions. La plupart du temps, il est nécessaire de conserver les produits séchés à l'abri de l'humidité, dans un endroit sec et aéré.

❖ La mise en place dans un environnement frais prévient la propagation des spores et la prolifération des parasites.

❖ Les plantes qui subissent des transformations chimiques sous l'action des ultraviolets peuvent être conservées à l'abri de la lumière dans des récipients en porcelaine, en faïence ou en verre teinté.

❖ *La préservation dans un environnement imperméable peut être bénéfique pour les plantes qui sont rapidement oxydées ou qui renferment des substances volatiles. Si besoin est, la désinsectisation des plantes médicinales peut être réalisée par fumigation au soufre ou par l'utilisation d'un insecticide non toxique. Il est essentiel de respecter des conditions rigoureuses de conditionnement pour conserver les drogues toxiques afin d'éviter tout accident.

❖ La congélation : Les couleurs et les parfums sont préservés par la congélation, mais elle convient mieux aux plantes aromatiques qu'aux plantes médicinales. Il est possible de congeler les brins entiers dans des sachets en plastique. (Iserin, 2001)

1.4. Modes de préparation des plantes médicinales :

Dans les plantes médicinales, il y a les principes actifs qui soignent. Pour obtenir ces principes actifs, il faut faire des préparations spéciales en fonction des parties de la plante (feuilles, fleurs, racines, écorces) afin de les extraire. Les différentes techniques de préparations sont :

a) La décoction : Cette technique consiste à faire bouillir de l'eau froide dans laquelle on a mis des parties dures et épaisses des plantes et laisser cuire (tiges, racines, écorces, feuilles épaisses). Les plantes libèrent leurs substances actives dans de l'eau peu à peu au cours de la cuisson. La durée d'ébullition varie entre 10 et 20 min selon l'espèce.

b) L'infusion : L'infusion consiste à verser de l'eau bouillante sur les parties fragiles des plantes (feuilles, fleurs) et à laisser au repos pour quelques temps. Peu à peu les substances actives sortent des plantes et on observe une coloration progressive de l'eau.

c) La macération : Cette technique consiste à immerger les plantes dans un liquide froid (Vin, huile, alcool, eau) auquel elles donnent leurs propriétés et leurs arômes au bout d'un temps variable

d) Le cataplasme : Il consiste à appliquer une pâte de plantes fraîches sur la partie malade.

e) Les compresses : La compresse est l'application d'un linge que l'on a trempé dans une décoction de plantes. On l'applique ensuite sur la partie malade.

f) L'inhalation : C'est une technique qui consiste à dégager les voies respiratoires (nez, poumons, etc.) en respirant la vapeur chargée de substances actives des plantes. On se penche au-dessus du liquide chaud contenant de l'extrait liquide des plantes, la tête couverte d'une serviette pour respirer la vapeur pendant quelques minutes.

g) Bains de bouche et gargarismes : On prend quelques décoctions dans la bouche, qu'on garde en faisant des mouvements avec la bouche (ou avec la gorge). Après quelques minutes on recrache le liquide.

1.5. Propriétés pharmacologiques des plantes médicinales

L'objectif des enquêtes ethnobotaniques est de préserver les connaissances traditionnelles et de préserver la biodiversité riche. Cela se fait en enregistrant l'utilisation de la phytothérapie dans les zones rurales et ethniques. Les chercheurs ont été intéressés par de telles enquêtes afin de mettre en lumière les espèces végétales importantes fréquemment utilisées dans différents systèmes de santé.

Plusieurs médicaments ont été découverts grâce à l'ethnobotanique, tels que l'aspirine, qui est originaire du saule *Salix* sp de la famille des Salicacées, utilisé en Europe, et la réserpine, qui provient de l'utilisation indienne de *Rauwolfia* sp. (Chahrazad, Djamila, Amira, & Baya, 2022)

On a constaté que jusqu'à 25 % des médicaments prescrits en médecine traditionnelle sont associés directement ou indirectement à des substances naturelles, principalement végétales. Cette contribution rend hommage à l'ethnobotanique dans la recherche de nouveaux médicaments.

L'utilisation de l'ethnobotanique entraîne également la mise en œuvre de stratégies visant à améliorer la qualité de vie et les soins des populations des pays en développement, en intégrant au sein des programmes de santé les connaissances traditionnelles.

Les études ethnobotaniques ont permis de trouver de nouvelles molécules thérapeutiques dans les pays développés. Un exemple récent est celui de l'artémisinine, une

lactone sesquiterpénique isolée d'une plante herbacée appelée l'armoise annuelle « *Artemisia annua* L. », qui est traditionnellement utilisée en Chine pour traiter les fièvres et les symptômes de la malaria.

En outre, ces études ont permis l'émergence de concepts d'extraits purifiés standardisés qui renferment les molécules végétales qui lient, protègent, modulent ou augmentent l'activité des principes actifs. Ces trente dernières années ont vu le développement de ce concept grâce aux avancées dans les techniques d'analyse en phytochimie qui permettent d'identifier les molécules présentes dans un extrait végétal et de quantifier les molécules impliquées directement ou indirectement dans l'activité.

Actuellement, de tels extraits sont disponibles en France, comme le millepertuis, « *Hypericum perforatum* L. », dont les fleurs sont utilisées en médecine traditionnelle en Europe comme remède cicatrisant et dans le traitement des troubles de l'humeur. Les propriétés de la plante sont attribuées à deux groupes de molécules présents dans les extraits de millepertuis : les hypericines et l'hyperforine, qui sont très affines pour les récepteurs gabaergiques et sérotoninergiques.

La recherche ethnobotanique vise dans les pays en développement à étudier les pratiques traditionnelles, à recenser les plantes et à soumettre les espèces utilisées à des études chimiques pharmacologiques et toxicologiques afin de conseiller l'utilisation de plantes actives et non toxiques et de déconseiller l'utilisation de plantes dangereuses pour la santé.(Chahrazad, Djamila, Amira, & Baya, 2022)

2.Métabolites secondaires et leurs extraction

2.1.Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des substances qui ont une distribution restreinte dans le corps de la plante. Ils occupent diverses fonctions, y compris celle de moyen de protection contre les agressions extérieures. Toutefois, ils ne sont pas toujours indispensables à la survie du végétal.

Les produits du métabolisme secondaire sont extrêmement nombreux, avec plus de 200 000 structures définies et une grande diversité structurale, mais sont fabriqués en quantité limitée. Ces composés sont des marqueurs uniques d'une espèce, d'une famille ou d'un genre de plante et peuvent parfois servir à établir une classification chimique.

En termes pharmacologiques, les métabolites secondaires prénylés sont généralement plus efficaces que leurs homologues. Le processus de prénylation consiste à fixer une chaîne latérale (pentényle, geranyle et farnesyle) à une molécule acceptante.

Il joue un rôle crucial dans la production d'un large éventail de métabolites secondaires aromatiques ayant des propriétés pharmacologiques reconnues à travers les diverses catégories de ces composés. Ils forment un ensemble de produits naturels à explorer pour leurs propriétés antioxydants, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses.(Chahrazed & Djihad, 2022)

2.2.La classification des métabolites secondaires :

Selon Bruneton (2009), les composés du métabolisme secondaire sont répartis en trois grandes catégories.

- 1) Les substances phénoliques.
- 2)- Les substances terpéniques.
- 3)- Les produits alcaloïdes et azotés.

Chaque catégorie contient une grande variété de composés qui ont une très grande variété d'activités en biologie humaine. et sont couramment utilisés dans le domaine pharmaceutique.(Chahrazed & Djihad, 2022)

2.3.Les substances phénoliques :

Il y a deux propositions dans la littérature pour définir les polyphénols. La première définit ces molécules comme étant constituées de plusieurs groupements phénoliques, tandis que la deuxième mentionne la présence d'un groupement phénol polyhydroxylé

Les végétaux produisent ces polyphénols en tant que métabolites secondaires afin de se protéger contre les agressions environnementales. Les dérivés non azotés sont réputés pour leur grande diversité structurale, avec environ 8000 composés identifiés.(AICHAOUI, 2022).

2.4. Les substances terpéniques :

Les terpènes sont très variés sur le plan structurel. Le terpénoïde désigne tous les composés qui ont une structure moléculaire composée d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone...etc.). Ces composés sont des hydrocarbonés naturels, avec une structure cyclique ou à chaîne ouverte. Leur formule brute est $(C_5H_x)_n$, avec une valeur x variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule, et n peut varier entre (1-8), sauf dans les polyterpènes qui peuvent atteindre plus de 100 (comme le caoutchouc). Ces composés proviennent principalement de plantes. Les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux synthétisent ces substances. (Chahrazed & Djihad, 2022) (**figure 1**).

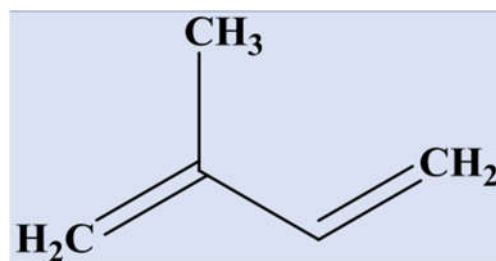


Figure 1 : La structure de base des terpènes (isoprène). (Chahrazed & Djihad, 2022)

2.4.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés, naturels, complexes, ayant une structure complexe et des propriétés pharmacologiques importantes. La découverte des médicaments (morphines, quinine, cocaïne, atropine...) et le développement de l'industrie pharmaceutique ont été très importantes pour eux. En étudiant leur mécanisme d'action, ils ont été utilisés comme réactifs biologiques dans les domaines de la neurochimie et de la chimiothérapie. Ils possèdent également une capacité antioxydante. (Chahrazad, Djamila, Amira, & Baya, 2022) (**figure 2**)

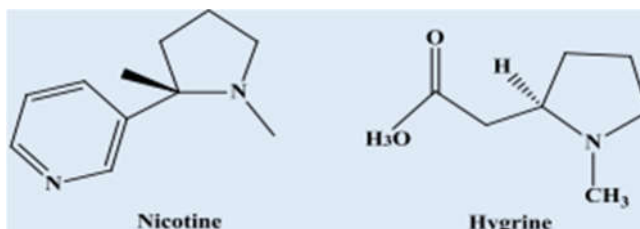


Figure 2 : la structure d'alcaloïdes vrais. (Chahrazed & Djihad, 2022)

2.5. Méthodes d'extraction des principes actifs

2.5.1.Extraction par soxhlet

L'utilisation de l'extraction Soxhlet est extrêmement bénéfique pour la préparation fines où l'analyse est concentrée à partir de la matrice dans son ensemble ou séparée de certaines substances interférant. Depuis plusieurs décennies, on a développé la préparation des échantillons environnementaux en utilisant diverses techniques. La méthode de prétraitement des échantillons solides par solvant, également appelée extraction solide-liquide (ou lixiviation, pour une terminologie plus appropriée), est l'une des méthodes les plus anciennes de prétraitement des échantillons solides. La méthode traditionnelle d'extraction Soxhlet demeure l'une des méthodes les plus couramment employées et le rôle de l'extraction Soxhlet dans le processus analytique global est important.(Ayuso, 2000)

2.5.2.Extraction par solvant organique

Il existe à ce jour dans la littérature plus de 23 000 articles référencés Pubmed décrivant des techniques d'extraction liquide-liquide. Ces méthodes permettent l'extraction de composés ayant des températures d'ébullition voisines, l'extraction azéotrope (mélange binaire de liquides, homogènes et de composition fixe, qui bout à une température constante), ou la séparation de molécules thermosensibles. En biologie, elles permettent la concentration et la purification de très nombreuses molécules comme les médicaments, pesticides, stéroïdes, lipides, vitamines, métaux... .Ces techniques permettent la récupération simultanée de plusieurs molécules.(Ayuso, 2000)

2.5.2.Extraction assistée par micro-onde (MAE)

Le mélange solvant/matrice est soumis à un champ électromagnétique de 2,45 GHz lorsde l'extraction assistée par microondes (MAE). En raison de l'influence du courant alternatif, les molécules à moment dipolaire vont changer d'orientation 4,9.10⁹ fois par seconde. L'énergie est transférée au mélange par rotation des dipôles et conduction ionique. Si un mélange hydro-alcoolique est composé de deux solvants polaires, il va s'échauffer rapidement.(MERIGA & KEMASSI, 2018)

De cette manière, la MAE favorise une meilleure pénétration du solvant dans la matrice.

En ce qui concerne le matériel végétal frais, l'eau présente dans le végétal a un moment dipolaire (1,85 D) et peut également être utilisée comme un solvant. Cette méthode peut comporter certains bénéfices et des désavantages. En ce qui concerne l'efficacité de l'extraction, la stabilité et la reproductibilité de la technique, ainsi que la possibilité de

préserver les valeurs fonctionnelles des substances bioactives extraites, il existe des avantages remarquables. La faible sélectivité entraîne des inconvénients et des limitations, car elle dépend de la nature du solvant et de la température d'extraction.(MERIGA & KEMASSI, 2018)

2.5.3.Extraction par solvant à chaud et sous pression (ASE)

L'extraction par solvant à chaud et sous pression (ASE) est une méthode d'extraction développée par Dionex et introduite dans les laboratoires français vers 1996. L'extraction de polluants ou de composants de différentes matrices est accélérée en utilisant des températures élevées pouvant atteindre 200 °C et des pressions pouvant atteindre 200 bars [1-3]. Ce dispositif présente principalement l'avantage de diminuer les quantités de solvants, jusqu'à 75 %, et de pouvoir fonctionner sans dichlorométhane, un solvant halogéné dont la toxicité est connue. Les utilisateurs mettent en évidence l'augmentation du pouvoir solvant, la substitution avantageuse du tétrachlorométhane et du disulfure de carbone par l'éther de pétrole, ainsi que l'accélération des opérations.(Fournier, 2005)

2.5.4.Extraction par fluide supercritique (SFE)

Les fluides super critiques sont actuellement perçus comme des alternatives aux solvants organiques dans les procédés séparatifs, notamment ceux qui reposent sur l'extraction. Ainsi, l'extraction par fluide supercritique a pris la relève de diverses méthodes traditionnelles d'extraction liquide-solide, comme celles utilisant des procédés de macération, de percolation, de lixiviation, d'extraction accélérée par solvant, et bien d'autres encore. Effectivement, ces derniers présentent plusieurs désavantages tels que la toxicité des solvants, la durée de l'opération, le coût, etc., ainsi que la pollution de l'environnement.

En revanche, l'utilisation d'un fluide supercritique peut entraîner une amélioration significative du rendement d'extraction, et en raison de la sélectivité du fluide supercritique, une amélioration tout aussi importante de la pureté de l'échantillon. La plus répandue est l'extraction sur de la matière solide, avec la majorité des installations industrielles situées dans le domaine des industries agroalimentaires. L'extraction de la caféine du café peut être utilisée pour extraire des arômes tels que la baie rose, le gingembre, la vanille, etc. L'industrie du tabac a également utilisé cette technologie pour éliminer la nicotine de la cigarette, les caroténoïdes de la carotte du paprika, les polyphénols du vin, du thé ou des agrumes, les arômes du poivre, etc.

Toutefois, il convient de souligner l'importance grandissante des applications dans les secteurs pharmaceutiques tels que l'extraction ou la purification de composés actifs,

l'élimination de solvants résiduels, etc., ainsi que des applications de traitement des sols contaminés par des substances toxiques peu biodégradables.(MELLOUL, 2023)

3.Présentation d'espèce étudiée

3.1.Famille des lamiaceae

La famille des lamiacées ou labiées, également connue sous le nom de labiacée, est l'une des principales familles d'essences méditerranéennes. Les angiospermes dicotylédones sont une famille de plantes qui compte environ 258 genres et 6970 espèces.

Souvent herbacées ou sous arbrisseaux à poils glanduleux, les plantes sont généralement aromatiques. Elles sont de forme carrée, certaines sont dressées, d'autres sont couchées avec des feuilles opposées ou verticillées. Fleurs bisexuées, irrégulières, contenant à l'aisselle des feuilles des inflorescences plus ou moins allongées ou des inflorescences terminales plus ou moins denses. Les nervures du calice sont synsépales, bilabiées et présentent 5 à 15 nervures élargies. La corolle est très développée, avec deux lobes qui forment une lèvre supérieure et trois lobes qui forment une lèvre inférieure. Le fruit sec est divisé en quatre parties contenant chacune une graine individuellement.(YAHIAOUI & BENOUNE , 2021)

La flore d'Algérie est abondamment représentée par la famille des Lamiaceae, qui compte 183 taxons, dont 19 endémiques.

Cette est extrêmement homogène, car d'un point de vue anatomique, on observe la présence de paquets de collenchime aux quatre angles de la tige, tandis que les labies sont très riches en poils tecteurs et sécrétateurs. De nombreuses espèces présentent des manifestations d'adaptation à la sécheresse : feuilles volues, limbe replié en dessous, hypoderme collenchymateux, stomates enfoncés (dont deux cellules annexes perpendiculaires à la grande taille de l'ostiole apparaissent dans cette famille). En 1963, elle se classe quatrième derrière les Asteraceae (557 taxons), les Poaceae (456 taxons) et les Fabaceae (455) avec 27 genres et 140 espèces.(YAHIAOUI & BENOUNE , 2021)

3.2.Genre de *Mentha*

Elle est nommée en grec selon Menthê ou Mintha.(KHIARI, 2018). *Mentha* (Menthe) est un genre dicotylédon de plantes végétales de la famille des Lamiacées (sous-famille des Népétoïdées, tribu des Menthées) des régions tempérées et subtropicales d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Amérique.

Il y a des espèces sauvages dans ce genre, mais de nombreuses espèces cultivées pour leurs

vertus aromatiques et médicinales. (KHIARI, 2018)

Les espèces principales du genre *Mentha* comprennent les suivantes :

a. *Mentha pulegium* L (Flio) :

Il s'agit d'une plante fertile dont la descendance semble assez uniforme, qui se distingue des autres menthes par son port allongé, ses tiges en partie couchées sur le sol, ses fleurs rosées disposées au long de la tige et des rameaux, et son calice obturé. La plante peut atteindre une hauteur de 30 cm. (KHIARI, 2018)

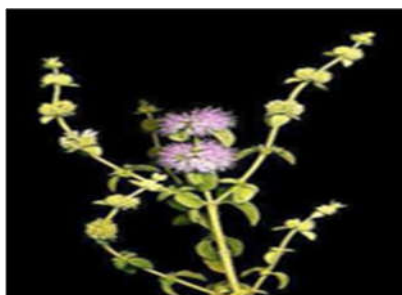


Figure a : *Mentha pulegium* L (Flio)

b. *Mentha suaveolens* L (Merceta) :

La détermination de la menthe à feuilles rondes n'est pas difficile en raison de la forme de ses feuilles rondes et épaisses. La tige, caractéristique des labiées, est carrée. La plante est toute recouverte de poils denses et blanchâtres qui la rendent agréable au toucher. Les rameaux sont terminés par des épis de petites fleurs. La plante mesure entre 25 et 80 cm de haut, avec une fleur de 5 mm de long. (KHIARI, 2018)



Figure b : *Mentha suaveolens* L (Merceta)

c. *Menthe spicata* L :

Les feuilles de la Menthe verte, également connues sous le nom de Menthe douce ou Menthe crépue, sont sessiles, lancéolées et dentées. Les fleurs sont disposées en épis allongés et sont blanches ou pourpres. (KHIARI, 2018)



Figure C : *Menthe spicata* L

d. *Menthe aquatique* L :

Plante à pubescence variable, à feuilles pétiolées, ovales, dentées et allongées. Plante de 30 à 80 cm de haut, avec des fleurs en capitule terminal arrondi, de couleur rouge à violet clair. (KHIARI, 2018).



Figure D: *Mentha aquatica* L

e. *Menthe piperita* L :

Elle est couramment cultivée en tant qu'hybride entre la menthe aquatique et la menthe en épi. (KHIARI, 2018)



Figure E : *menthe piperita* L

3.3. Espèce de *Mentha Suaveolens*

3.3.1 Description botanique

Mentha Suaveolens, également connue sous le nom de menthe odorante ou menthe ananas, est une plante herbacée vivace. Elle se caractérise par des feuilles ovales, crénelées et légèrement velues, et des fleurs blanches ou roses regroupées en épis à l'extrémité des tiges. Cette plante aromatique atteint généralement une hauteur de 30 à 60 cm et se propage facilement grâce à ses rhizomes.

Plante à épis cylindriques terminaux à fleurs blanches. La gorge est couverte d'une corolle non poilue. Feuilles sessiles ou quasi sessiles, ovales obtus, moins de deux fois plus longues que larges, ridées en série. Plante pubescente à fleurs fines et allongées, originaire de zones humides et inondées. Cette espèce est endémique de la Macaronésie, de l'Europe et du bassin méditerranéen. Il s'agit d'une plante vivace, principalement présente dans le biome tempéré. Il a des applications environnementales, telles que des médicaments et des aliments (APD, 2024 ; POWO, 2024 ; Quezel et Santa, 1963).(**figure 3**).



Figure 3 : Aspect morphologique de l'espèce *Mentha Suaveolens*

3.3.2. La position systématique

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha suaveolens*(KHIARI, 2018)

Cette classification taxonomique est basée sur les caractéristiques morphologiques, anatomiques et génétiques de la plante.

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé de la partie aérienne (tige-feuilles-fleurs) du *Mentha Suaveolens*.

Les parties aériennes de *Mentha Suaveolens* ont été collectées en novembre 2023 dans la région de Sétif, située au nord de l'Algérie. Un spécimen témoin (N° KR0125) a été identifié par le Pr. K.Rabbas de l'Université de M'sila (Algérie) et déposé dans l'herbier personnel de K.Rabbas.

1.1.Choix de la plante

La plante étudiée a été choisie essentiellement sur la base de son intérêt thérapeutique et sa disponibilité dans notre pays, plus précisément dans la wilaya de Sétif aussi à raison du manque des travaux sur les activités biologiques et phytochimique des extraits bruts de cette plante. Vu qu'elle est impliquée dans le traitement des maladies d'origine microbienne au cours de laquelle plusieurs personnes ayant une vaste connaissance de la façon d'utiliser cette plante, aussi sur son non-toxicité, l'utilisation dans les préparations culinaires et dans les tisanes.

1.2.Séchage et broyage

La tige, les feuilles et les fleurs de " *Mentha Suaveolens* " sont récoltés à maturité. Ensuite, elles sont séchées et broyées et conservées en poudre dans un flacon en verre bien fermé, dans un endroit sec, jusqu'à ce qu'elles soient utilisées à nouveau.

2. Matériel animal

Le matériel animal utilisé est le *Tribolium confusum*. Pour élever en masse le *Tribolium confusum*, des bocaux en plastique sont utilisés. Le milieu nutritif des bocaux est constitué de semoule de blé et de farine. Ils restent à température ambiante pendant une durée d'un mois.(Figure 5).

Les grains de blé dur (*Triticum durum*) et de semoule ont été utilisés pour l'élevage en masse de *Tribolium confusum*, dans des boîtes de pétri en verre de 15 cm de diamètre. Les boîtes de pétri ont été maintenues à l'obscurité dans une étuve réglée à une température de $33 \pm 1^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de $50 \pm 5\%$.

2.1.Description des différents états de *Tribolium confusum*

- a) **L'œuf** : L'œuf présente une forme oblongue et blanchâtre, presque transparent, avec une surface lisse recouverte d'une substance visqueuse qui lui permet de s'adhérer à la denrée infestée. Il mesure en moyenne 0,6 x 0,3 mm.
- b) **La larve** : Lorsque l'œuf éclos, il donne naissance à une larve jeune et blanche, de petite taille, pouvant atteindre 1.4 mm. Plusieurs étapes sont franchies, dont le nombre varie de 5 à 12 en fonction de la température, de l'humidité relative et de la qualité de l'alimentation. La larve finale est cylindrique, d'environ 7 mm de long et 0,8 mm de large, d'un jaune pâle. Elle est presque glabre, avec deux paires d'urogomphes.
- c) **La nymphe** : est de couleur blanche et nue, avec les segments de son abdomen divisés en lames rectangulaires avec des bords crénelés. La nymphe demeure sans abri et ne peut pas se déplacer.(**figure 4**)
- d) **L'adulte** : Le tégument de l'imago est d'un blanc jaunâtre, il se sclérotinise et se pigmente 2 à 3 jours après son apparition. Elle prend une teinte brun rouge et mesure entre 3 et 4 mm. À l'extrémité postérieure, ces élytres allongées, parallèles et arrondies, sont ponctuées de manière régulière par des cotés très fins. La forme des pattes est convexe, les tarses postérieures sont composées de quatre éléments. (Tarek, 2017)

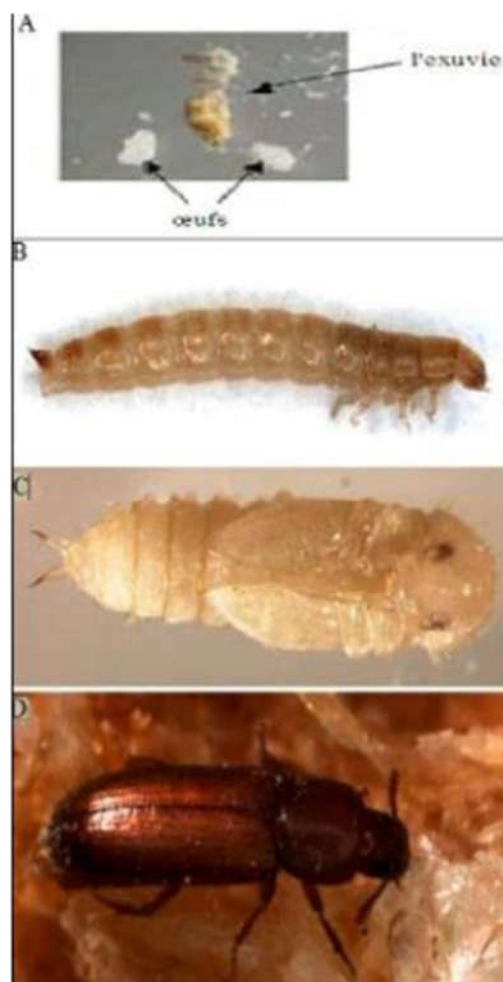


Figure 4 ; différents stades biologiques de *T. confusum* ; A : l'oeuf; B: larve, C: nymphe, D: adulte.(Tarek, 2017)

3. Méthodes expérimentale

3.1. Extraction Par Macération

- Une quantité de 20 g de matériaux végétaux a été pesée et mélangée avec 200 ml de solvant (éthanol et hexane).
- L'agitation : le mélange est agité à température ambiante pendant une durée de 24 heures.
- La filtration consiste à filtrer la solution obtenue après 24 heures d'agitation sur un papier filtre (Wattman N°1 de diamètre 0.2 μ m).

3.1.Préparation des extraits

Le filtrat final des deux extraits (ethanoliques et exaniques) sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à 35°C. Ensuite, on a récupéré, pesé, étiqueté et conservé les extraits secs à une température de +4 °C jusqu'à son utilisation.

3.2. Détermination du rendement de l'extraction

On définit le rendement des extraits comme le rapport entre la quantité d'essence extraite et la masse de la matière végétale utilisée. Les données obtenues permettent de déterminer les rendements à chaque période en utilisant la formule suivante.(ABADA & MESLOU, 2019)

$$\text{Rendement}[R(\%) = (m_{\text{ext}} / m_{\text{mv}}) \times 100]$$

R% : rendement d'extraction (%).

M_{ext} : masse de l'extrait en g.

M : masse de la matière végétale sèche en g.

4. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie

4.1. dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi,1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al. (2010). Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm. (Bensouici et al., 2020).

Instrument Réactifs utilisés :

Gamme d'étalonnage : Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissout dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S1 (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite:

25µg/ml	25µl de S1+ 175µl de MeOH
50 µg /ml	50µl de S1+ 150µl de MeOH
75µg/ml	75µl de S1+ 125µl de MeOH
100µg/ml	100µl de S1+ 100µ de MeOH
125µg /ml	125µl de S1+ 75µl de MeOH
150µg /ml	150µl de S1+ 50µl de MeOH
175 µg /ml	175µl de S1+ 25µl de MeOH

200µg /ml 200µl de S1

20µl de chaque dilutoon sont transférés dans une microplaque + 100µl FCR (1 :10) + 75µl de Na₂CO₃ (7,5%)+ incubation 2h + lecture à 765nm (Bensouici et al., 2020). (Tableau 1)

Tableau 1 :Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

well microtitre plate	Blank	Extracts	Standards Contrôle positif
Extrait (1mg/ml)	-	20ul	-
Galic acid	-	-	20ul
Water or méthanol	20ul	-	-
Folin-ciocalteau-reaget dilué (1 :10)	100ul	100ul	100ul
Incubation for 120 min at room temperature			
Solution (7,5%;75g/l)(Na ₂ CO ₃)	75ul	75ul	75ul
Mixture was left in dark for 2 hours temperature ambiante			
Absorbance was measured at 765 nm using a SPECTROstar Omega (<i>BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Germany</i>) microplate reader			

La teneur phénolique totale des extraits a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, et les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent acide gallique (GAE) par g de poids sec (ps) à travers lecourbe d'étalonnage de l'acide gallique (25-500 mgL⁻¹).

La teneur totale en polyphénols (YTPC) a été calculée par l'équation suivante :
où V représente le volume du milieu d'extraction, (L) et m représente la quantité de matière séchée (g).

$$Y_{TPC} (\text{mg GAE g}^{-1} \text{ dw}) = \frac{C_{TPC} \times V}{m}$$

5. Evaluation des activités biologiques

5.1. Activité anti-oxydante

Teste DPPH (2_2_diphenyle -1-picrylhydrazyle)

L'activité anti-radicalaire est déterminée spectrophotométriquement par le test DPPH (Blois 1958).Utilisation de l'a-tocophérol, du BHT et du BHA comme standards antioxydants.Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical

libre contenant un électron non apparié sur l'atome du pont d'azote (**Figure 6**). Pour cela, les molécules radicalaires forment un monomère relativement stable en termes de degré. À température ambiante, il présente une couleur violette en solution et possède une absorption caractéristique comprise entre 512 et 517 nm. Lorsque le radical libre 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est réduit par des composés anti radicalaires, son absorption à 517 nm diminue, ce qui correspond à la disparition de sa couleur violette dans la solution. Cela peut être mesuré réduction par spectrométrie UV-visible en mesurant l'intensité de la couleur jaune qui il s'agit du produit réduit. Ainsi, plus l'absorption à 517 nm diminue rapidement, plus la présence d'antioxydants efficaces dans le milieu (**Molyneux, 2004**).

Réactifs utilisés :

- L'éthanol
- DPPH : 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol. Conserver à - 20 °C à l'abri de la lumière. L'absorbance est de 0,5 nm (517 nm) dans un spectrophotomètre (ou 2,4 mg/2 ml)

Tocophérol

- Extrait végétal : (0,08 g/ml de MeOH)

*Standard : Quercétine : à différentes concentrations (0–50 µmol/L MeOH) ; $c = n * M$
 $= cvM = 50 / 1\ 000\ 000\ M/l * 1 / 1\ 000\ L * 250,29\ g/M = 0,0125\ mg/ml\ MeOH$ avec dilution. ont été utilisés pour l'étalonnage. (**Tableau 2**)

Tableau 2 : Préparation de la gamme d'étalon de la Quercétine

96_well microtitre plate	Control négatif	Echantillon n	Standards	Blanc Echantillon
DPPH(méthanol)	160 µL	160 µL	160 µL	
Extraits	–	40 µL	–	160 µL
Quercétine	–	-	40 µL	–
Meoh	40 µL	-	–	40 µL
Total Volume	250 µL	250 µL	250 µL	250 µL
L'incubation a été effectuée pendant 30 minutes à 37 °C				
L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques SPECTROstar Omega (BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Allemagne) (Molyneux, 2004).				

Le piégeage du radical DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition a été calculé de la manière suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = ((\text{Abs control neg} - (\text{Abs échantillon} - \text{Abs blanc echa})) / \text{Abs control}) \times 100$$

Où: Abs control est l'absorbance du contrôle négatif (préparé de la même manière que les autres puits sauf que 40 de l'extrait ont été remplacé par le méthanol), et Abs échantillon : est l'absorbance de l'échantillon.

La concentration inhibitrice de 50 % de radicaux (IC50) a été calculée et exprimée en IC50(µg/mL).

Les concentrations fournissant une inhibition de 50% sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe :

$$[\% \text{ inhibition} = f(\text{concentrations de l'échantillon})].$$

Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalents Trolox (TE)/g DWE.

Toutes les données sur l'activité anti-oxydante ont été exprimées sous forme de moyennes $\pm$ écarts types (ET) de mesures en triple. Les limites de confiance ont été fixées à $p < 0,05$. L'écart-type n'a pas dépassé 5% pour la majorité des valeurs obtenues.

On travaille avec l'équation de la courbe d'étalonnage. L'absorbance de l'extrait d'échantillon que vous avez obtenu doit être utilisée dans l'équation générée à partir des valeurs d'absorbance des étalons de trolox (axe y) par rapport à la concentration de trolox (axe des x). $y(\text{abs}) = a(x) + b$.

Vous devez remplacer "y" pour votre valeur d'absorbance, vous aurez alors une valeur exprimée en uM Trolox Equivalent / ml d'échantillon. **(Figure 5 ,6)**

Pour convertir de uM TE/ml d'échantillon en uM TE/g d'échantillon, vous devez utiliser l'équation suivante : $\text{uM TE/g} = (C \times V) / M$ Où:

C : Concentration en uM TE/ml d'échantillon.

V : Volume utilisé pour l'extraction de l'échantillon.

M : Masse de l'échantillon utilisé pour l'extraction.

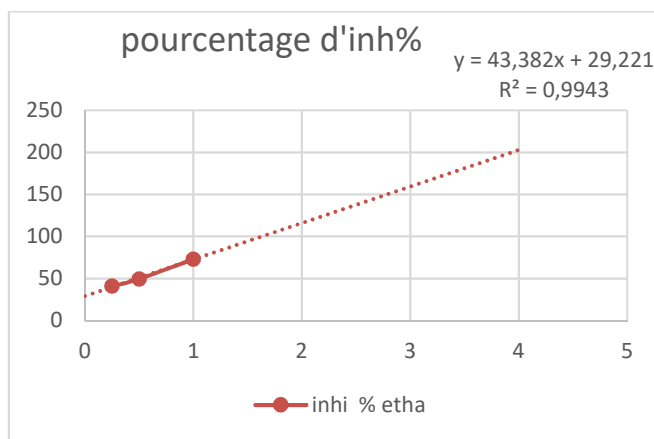


Figure 5 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait éthanolique de *Mentha suaveolens*

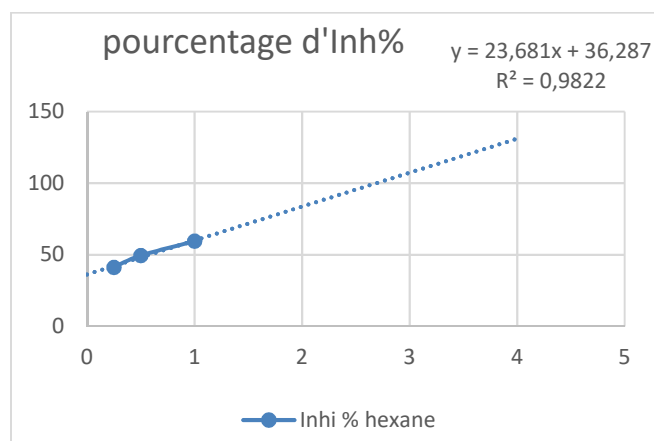


Figure 6 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait hexanique de *Mentha suaveolens*

6. Activités insecticides

6.1. Evaluation de la toxicité par effet contact

Le test est réalisé par l'application topique d'un volume de 1 µl (de chacune des doses testées), (utiliser une micropipette de 2 µl) prélevée par micropipette sur le pronotum de chaque adultes de *Tribolium confusum*. L'objectif de ce test est d'évaluer l'impact des extraits d'éthanol et d'hexane sur la mortalité des adultes de *Tribolium confusum*.

Les insectes traités sont placés dans des boîtes de Pétri en plastique, 10 insectes adultes dans chaque boîte.

Ces adultes sont également traités avec différentes doses des extraits (1%, 0.5%, 0.25%, 0.125% et 0.075%), nous utilisons trois répétition de chaque dose sauf les deux boîtes des témoins qui ne contiennent que le solvant seul (l'une pour l'éthanol et l'autre pour l'hexane). (Figure 7)

puis mises après à l'étuve à 28°C. Le comptage du nombre d'insectes morts se fait après 1h, 2h, 3h, 22h et 23h

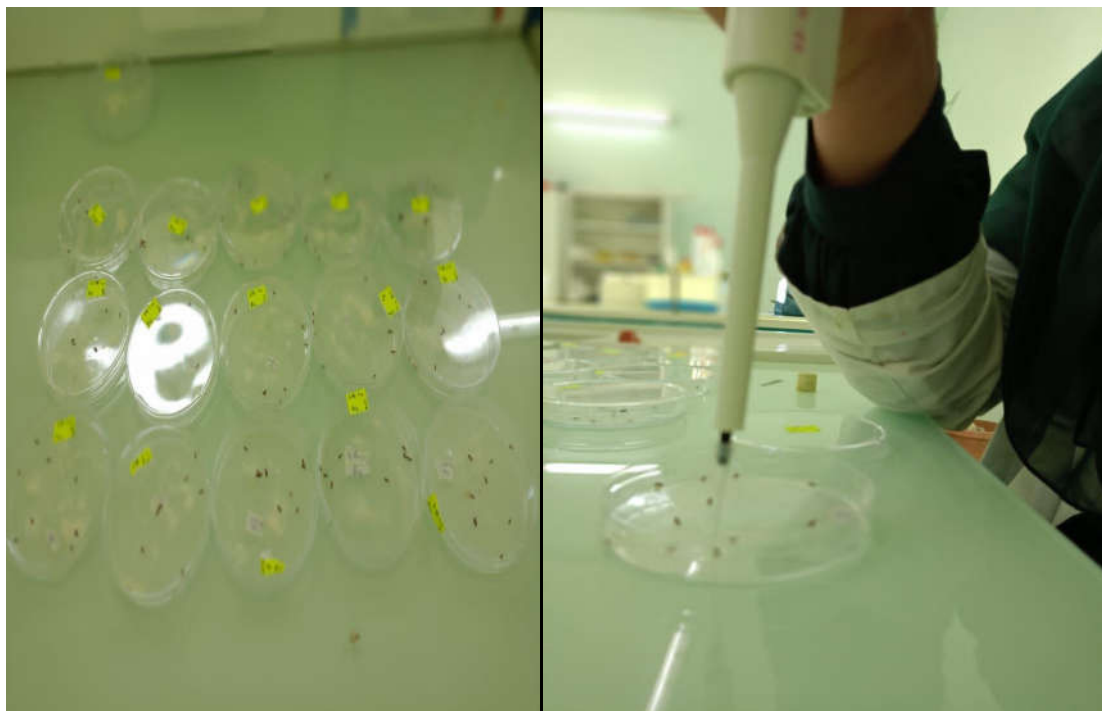


Figure 7 : Dispositif expérimental du traitement par contact des insectes (photo original)

6.2. Evaluation de la toxicité par effet d'inhalation

L'Evaluation de la toxicité des extraits par l'effet d'inhalation est réalisée par la saturation de l'environnement. Les différentes doses des extraits utilisées(1%, 0.5%, 0.25%, 0.125% et 0.075%) sont pulvérisées 300 μ l sur du papier buvard de 4cm de diamètre.

Ensuite, les papiers traités par les différentes doses des extraits sont placés sur face interne des couvercle des flacons de laboratoires en plastique (de 4 cm de diamètre et 7 cm de hauteur). Ces deniers sont maintenus fermés pendant 10 min avant d'introduire les insectes.(Figure 8)

10 adultes de *Tribolium confusum* sont placés à l'intérieur des flacon de laboratoire.

deux répétitions ont été effectuées pour chaque doses.

Pour les deux témoins, un papier traité avec l'éthanol et l'autre avec l'hexane.

La mortalité des adultes et observée après 18h, 19h, 22h, 23h, 24h, 42h et 43h.



Figure 8 : Dispositif expérimental du traitement par d'inhalation des insectes (photo original)

6.3. Evaluation de la toxicité par effet de la répulsivité

Test de répulsion : Ce test est réalisé en utilisant la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre (papier buvard), décrite par **Mc Donald et al. (1970)**

Le principe de ce test consiste à placer les disques du papier filtre ou Wattman de 8.5 cm dans chaque boîte de Pétri en plastique après avoir été découpés en deux parties égales, 4,5 cm de diamètre de chacune.

Une moitié de chaque disque est imprégné de 300 µl de dose (1%, 0.5%, 0.25%, 0.125% et 0.075%) d'extraits bruts d'éthanol et d'hexane diluée avec l'éthanol et l'hexane successivement à l'aide d'une micropipette de 500 µl, tandis que l'autre moitié, seul 300 µl de solvant (éthanol et hexane) a été utilisée. Une fois le solvant évaporé, les deux moitiés des disques ont été ressoudées au moyen d'une bande adhésive. Le disque de papier filtre ainsi reconstitué est placé dans une boîte de Pétri et un lot de 10 insectes adultes de *Tribolium confusum* a été placé au centre de chaque boîte. **(Figure 10)**

Le nombre d'insectes présents sur la partie de papier filtre traitée par l'extrait et le nombre de ceux présents sur la partie traitée uniquement par solvant ont été relevés au bout de 2h, 4h et 6h.

Le pourcentage de répulsion (PR) a été calculé en utilisant la formule suivante (**Mc Donald et al., 1970**) :

$$\text{Pourcentage de répulsion (PR) \%} = \left[\frac{(\text{NC} - \text{NT})}{\text{NC} + \text{NT}} \right] \times 100$$

NC : le nombre d'insectes présents sur la partie du papier non traitée.

NT : le nombre d'insectes présents sur la partie du papier traitée avec les différentes doses.

Selon le classement proposé par Mc Donald et ses collaborateurs (**Tapondjouet *al.*, 2003**) le pourcentage de répulsion moyen est réparti suivant six classes voir la classe 0 étant celle qui contient moins de 0,1% de répulsion.(**Tableau 3**), Ceci est résumé comme suit :

Tableau 3 : Pourcentages répulsifs selon le classement de (**Mc Donald et al.,1970**).

Classes	Intervalle de répulsion	Propriétés
Classe 0	$PR \leq 0,1 \%$	N'est pas répulsive
Classe I	$0,1\% < PR \leq 20\%$	Très faiblement répulsive
Classe II	$20 \% < PR \leq 40\%$	faiblement répulsive
Classe III	$40\% < PR \leq 60\%$	Modérément répulsive
Classe IV	$60\% < PR \leq 80\%$	Répulsive
Classe V	$80\% < PR \leq 100\%$	Très répulsive



Figure 9 : Dispositif expérimental du traitement par répulsif des insectes) photo original)

6.4. Méthodes d'analyse des données

Les données non traitées collectées lors de nos expériences sont soumises à un traitement ultérieur qui prend en considération les éventuelles causes de décès.

6.4.1. Détermination de DL 50

L'efficacité d'un toxique est évaluée en utilisant sa DL50, qui correspond aux quantités de substance toxique qui causent la mort de 50% des individus d'un lot. L'équation de la droite de régression des Probits correspond aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des concentrations de traitement permet de calculer la DL50. On utilise la formule de Schneider et la table des Probits pour déterminer la dose correspondant à un probit de 50% de mortalité. (Wabo-poné,2005)

6.4.2. Détermination de TL 50

L'efficacité d'un toxique est évaluée en utilisant sa TL50, qui correspond au temps nécessaire pour causer la mort de 50% des individus d'un lot. L'équation de régression des Probits correspond aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des temps de traitement permet de calculer la TL50. On utilise la formule de Schneider et la table des Probits pour déterminer la dose correspondant à un probit de 50% de mortalité. (Wabo-poné, 2005)

7. Activité anti-microbienne

L'activité antimicrobienne globale des extraits éthanolique et hexanique de *Mentha suaveolens* a été déterminée par un test de diffusion discale selon la méthode d'amélioration décrite par Nicoletti et al. (2012), suivant les lignes directrices du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2009), et tout l'équipement utilisé a été stérilisé dans un autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Les tests ont été effectués contre des bactéries considérées comme des souches de référence de l'American Type Culture Collection (ATCC).(Tableau 4)

Tableau 4 : Les souches bactériennes sélectionnées

NOM DE BACTERIES	GRAM	CODE
Escherichia coli	Gram -	ATCC25922
Staphylococcus aureus	Gram +	ATCC25935
Pseudomonas aeruginosa	Gram -	ATCC27853
Bacillus cereus.	Gram +	ATCC14579
Agrobacterium tumefaciens	Gram -	ATCC33970

7.1. Mise en culture des souches

Les souches bactériennes ont été soumises à une sous-culture continue pendant toute la nuit dans de l'agar nutritif et incubées à 37 °C pendant 24 h pour optimiser leur croissance, ensemencées pour assurer la pureté afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les souches, conservées sur gélose nutritive inclinée à 4 °C, sont revivifiées dans du bouillon nutritif à 37 °C pour les bactéries, puis ensemencées sur boîtes contenant des milieux sélectifs pour vérifier leur pureté. Après l'incubation, les souches sont ensemencées sur bouillon nutritif puis incubées à 37 °C pour les bactéries. De cette dernière culture, on prélève quelques gouttes et on les met dans 9 mL d'eau physiologique stérile à 0,9%. La suspension microbienne est bien homogénéisée. La turbidité est ensuite ajustée au standard **McFarland** 0,5 avec un spectrophotomètre, ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml pour les bactéries ($DO = 0,08$ à $0,1$ / $\lambda = 625$ nm), et $1-5 \times 10^6$ UFC/ml pour les levures ($DO = 0,12$ à $0,15$ / $\lambda = 530$ nm).

7.2. Principe de la méthode d'aromatogramme

Des disques de papier Whatman stériles (6 mm de diamètre) ont été placés à la surface des boîtes de Pétri ensemencées et saturé avec 10 µL d'extraits à 20 mg/mL solubilisés dans du diméthylsulfoxyde (DMSO).

Les boîtes de Pétri d'Agar Mueller-Hinton (MH) ont été incubées pendant 24 h à 35 ± 1 °C pour les bactéries et 24 h à 37 °C pour les levures et ont été cultivées sur de l'Agar Sabouraud Dextrose (SDA).

L'activité a été réalisée en duplicata, et elle a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance (IZD) visible autour du disque de papier et en le comparant avec les diamètres de référence liés aux antibiotiques utilisés. Il est limité pour un diamètre entre 6 et 14 mm, et moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm, (**Duraffourd et al., 1990**). Des témoins négatifs ont été établis en utilisant des disques Wattman imprégnés de DMSO.

chapitre III

Résultats et Discussions

III. Les résultats

1. Détermination du rendement de l'extraction

Le pourcentage de rendement obtenu à partir de 20 g de matériau végétal sec et broyé est exprimé. Le tableau ci-dessous présente les résultats de l'extraction de la plante étudiée (*mentha suaveolens*) par macération avec 200 ml de l'éthanol et de l'hexane.(tableau 5)

Tableau 5 : Rendement d'extraction de *Mentha suaveolens*

Plante	solvant	Mext	Mmv	Rendement[R(%)= (mext/ mmv) x 100]
<i>Mentha suaveolens</i>	Éthanol	4	20	20
	hexane	3	20	15
mext: masse de l'extrait en g. mmv: masse de la matière végétale en g				

2. Résultats d'analyse spectrophotométrie

*Dosage des composés phénoliques

On a mesuré le taux total de polyphénols dans les deux extraits en utilisant la spectrophotométrie UV/Vis. L'utilisation de différentes concentrations d'acide gallique à partir d'une solution mère a permis d'évaluer la quantité de composés phénoliques présents dans l'extrait. La quantité totale de polyphénols est déterminée en utilisant l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Cette équation est exprimée en μg d'acide gallique équivalent par mg d'extrait ($\mu\text{gEAG}/\text{mg}$ d'extrait) : $Y = 8.2261x + 0.0608$

Un coefficient de détermination est utilisé : $R^2 = 0.9957$ (Figure 10)

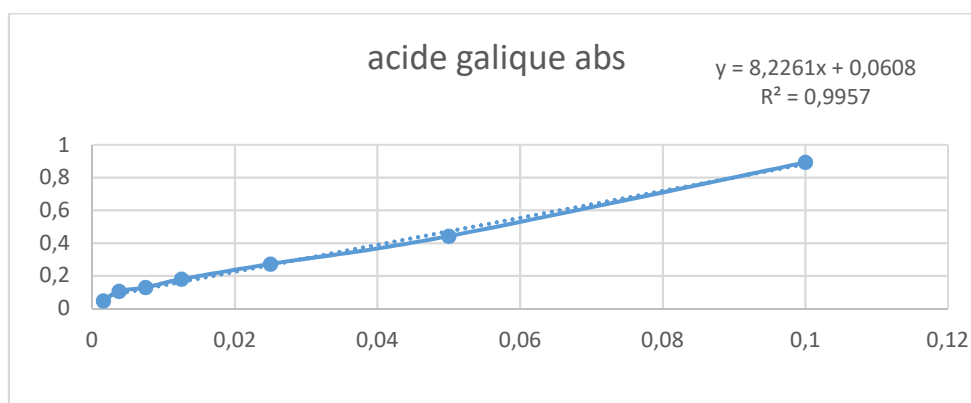


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les polyphénols sont mesurés dans les extraits obtenus de notre plante, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : Teneurs des composés phénoliques

Travaux		Teneurs des composés phénoliques (µgEAG/mg)
Nos étude		138
Benabdallah et al., 2016	M.aquatica	43.21

Les résultats du tableau indiquent que l'extrait de la plante étudiée est riche en polyphénols, mais avec des quantités variées en fonction des doses d'extrait brut utilisées. Il est démontré que la dose numéro trois contient la plus grande quantité de polyphénols (138µgEGA/mg d'extrait).

Ce résultat est moins élevé que celui obtenu par **Zekri (2017)** qui a constaté que la concentration des composés phénoliques dans l'extrait aqueux de l'espèce *M.suaveolens* de la région Maroc était de 581mg/l.

Benabdallah et al. (2016) indiquent que toutes les extractions effectuées ont révélé la présence de quantités significatives de composés phénoliques. Cependant, les quantités totales de phénols variaient considérablement d'une espèce étudiée à l'autre. Les quantités les plus élevées ont été observées pour *M. aquatica* (43,21 mg EAG/g), tandis que les quantités les plus faibles ont été observées pour *M. villosa* (14,66 mg EAG/g). En outre, les résultats montrent que les quantités totales de phénols diminuent dans l'ordre suivant : *M. aquatica* > *M. arvensis* > *M. piperita* > *M. pulegium* > *M. rotundifolia* > *M. villosa*. Cela indique une variation significative de la teneur en composés phénoliques entre les différentes espèces de *Mentha* étudiées, avec *M. aquatica* présentant les niveaux les plus élevés et *M. villosa* les niveaux les plus bas.

Les composés phénoliques sont des composants bioactifs importants que l'on retrouve dans différentes espèces de *Mentha*, notamment dans les plantes de *Mentha* d'Algérie. Des études ont montré que les plantes de *Mentha*, telles que *M. piperita* et *M. spicata*, sont riches en composés phénoliques, comprenant des phénols, des flavonoïdes et des terpènes (Ćavar Zeljković et al.,2021 ; Saqib et al., 2022).

3. Evaluation des activités biologiques

L'étude précédente a confirmé la présence de métabolites secondaires dans la plante médicinale *Mentha suaveolens*, ce qui nous a poussé à étudier les activités biologiques tel que activité anti oxydante , activité insecticide et bactérienne de notre extraits.

3.1.Activité insecticide

3.1.1.Test de contact

Les résultats de toxicité aigüe par contact, obtenus lors de dénombrement après traitement par les extraits hexanique et éthanolique de *Mentha suaveolens* sont représentés dans les tableaux(7) et (8).

Tableau 7 : Toxicité d'extrait hexanique de *M.suaveolens* vis-à-vis au *tribolium confusum*.

Doses (%)	Log dose	Temps (heure)	Mortalité moyenne	Mortalité corrigée (%)	probits
0.075	4.88	1	0.33	3.3	3.16
		2	2.33	4.12	3.26
		3	3.33	4.71	3.32
		22	3.66	9.42	3.68
		23	4.66	11	3.77
0.125	5.1	1	1.33	13.3	3.88
		2	3.33	16.62	4.03
		3	4.66	23.71	4.28
		22	5.33	33.28	4.56
		23	6.33	38.83	4.71
0.25	5.4	1	2	20	4.16

		2	3.66	20.75	4.18
		3	4.66	23.71	4.28
		22	5.33	33.28	4.56
		23	6.66	44.33	4.85
0.5	5.7	1	3	30	4.48
		2	4.66	33.25	4.56
		3	5.33	33.28	4.56
		22	5.66	38	4.69
		23	7	50	5
1	6	1	4	40	3.75
		2	5.33	41.62	4.78
		3	6	42.85	4.81
		22	6.66	52.28	5.08
		23	7.66	61	5.28
Témoin	-	1	0	-	-
		2	2	-	-
		3	3	-	-
		22	3	-	-
		23	4	-	-

Tableau 8 : Toxicité d'extrait éthanolique de *M.suaveolens* vis-à-vis au *tribolium confusum*.

Doses (%)	Log dose	Temps (heure)	Mortalité moyenne	Mortalité corrigée (%)	probits
0.075	4.88	1	0.33	3.3	3.16
		2	2.33	4.12	3.88
		3	2.66	8.25	3.6
		22	4	14.28	3.93
		23	4.33	19	4.12
0.125	5.1	1	1	10	3.72
		2	3	11.11	3.77

		3	3.66	20.75	4.18
		22	4.66	23.71	4.28
		23	5	28.57	4.43
0.25	5.4	1	2.33	23.3	4.26
		2	4	25	4.33
		3	4.33	29.12	4.45
		22	5.33	33.28	4.56
		23	6	42.85	4.81
0.5	5.7	1	2	20	4.16
		2	3.66	20.75	4.18
		3	4.66	33.25	4.56
		22	5.33	33.28	4.56
		23	6.33	47.57	4.93
1	6	1	3	30	4.48
		2	4.67	33.57	4.57
		3	5.66	45.75	4.89
		22	6.33	47.57	4.93
		23	8	71.42	5.56
Témoin	-	1	0	-	-
		2	2	-	-
		3	2	-	-
		22	3	-	-
		23	3	-	-

Les résultats montrent que le taux de mortalité augmente avec l'augmentation des doses.(Figure 11) (Figure 12). Au bout de 23h de traitement, les doses 0.5% et 1% ont donné les taux de mortalité les plus importants qui sont respectivement de 47.57% et 71.42 %. Par contre, les faibles doses D0 et D1, ont enregistré un taux de mortalité de 19% et 28.57% respectivement à 24 h après traitement.

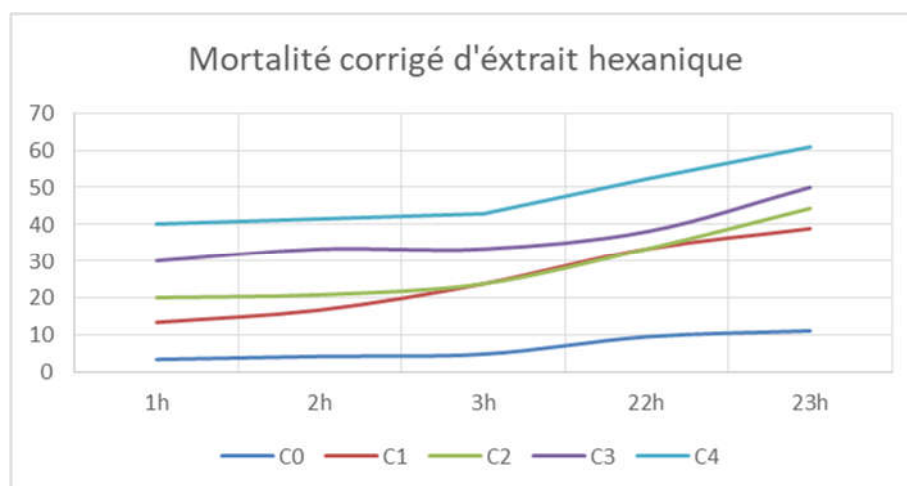


Figure 11 : Mortalité corrigée des adultes de *T. confusum* traitée par l'extrait hexanique

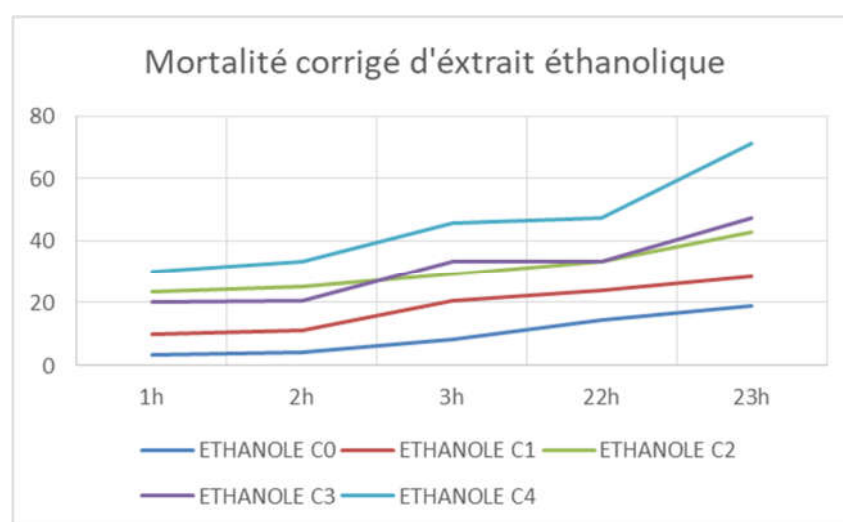


Figure 12 : Mortalité corrigée des adultes de *T. confusum* traitée par l'extrait éthanolique

3.1.1.1. Détermination de DL 50

La transformation des pourcentages de mortalités en Probit (unité de probabilité) après 23 heures de traitement permet d'obtenir les équations des droites des régressions (**Figure13,14**). Ensuite, ces données sont régressives en fonction du logarithme décimal. Les Figures représentent ces dernières.(**Tableau 9**)

Tableau9 : Les équations des droites de régressions

Extraits	Équation de droite	R ²
Extrait éthanolique	$y = 1.1889x - 1.6693$	$R^2 = 0.9616$
Extrait hexanique	$y = 1.1331x - 1.415$	$R^2 = 0.7922$

y: probits des taux de mortalités,
 x: logarithme décimal des concentrations.
 R^2 : Coefficient de détermination)

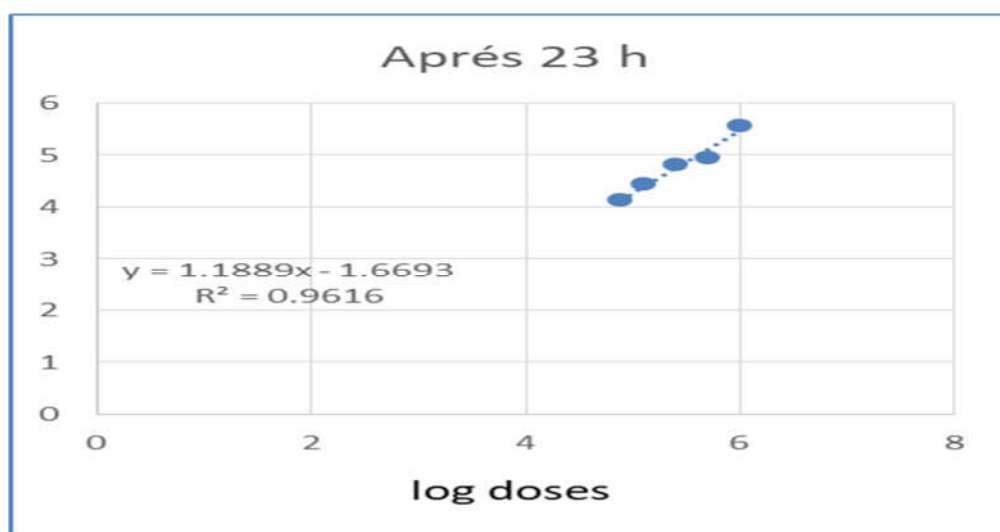


Figure 13 : droite de régression de l'extrait éthanolique en fonction des doses après 23 h.

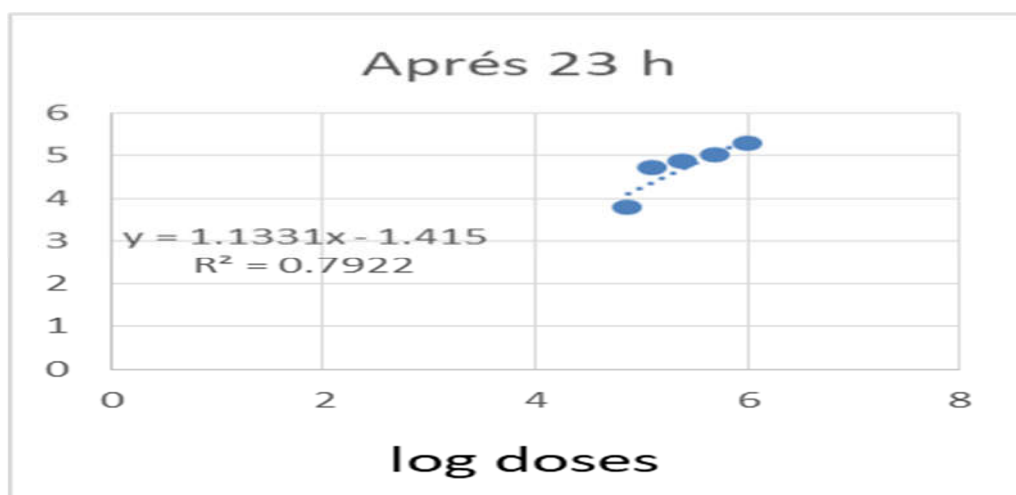


Figure 14 : droite de régression de l'extrait hexanique en fonction des doses après 23 h.

Les DL50 sont calculées après 23 heures seulement du traitement, comme c'est après ce temps qu'on a enregistré la mortalité la plus importante due aux extraits de plante. Les résultats obtenus sont représentés par le (Tableau10). Pour l'extrait éthanolique la DL50 est de 0.39 mg/ml, cette dose suffit pour tuer 50% des adultes de *T. confusum*. Tandis qu'il faut une dose de 0.45mg/ml pour l'extrait hexanique.

Tableau 10 : Les DL50 obtenus après 23 h de traitement

Extraits	DL50
E.éthanolique	0.39mg/ml
E.hexanique	0.45mg/ml

La toxicité des extraits de plantes sur les insectes des produits stockés a été un sujet d'intérêt dans diverses études. **Su (1985)** a réalisé une évaluation en laboratoire de l'activité biologique du *Cinnamomum cassia* sur quatre espèces d'insectes des produits stockés. **Yakhlef et al. (2020)** ont souligné l'effet insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* contre *Tribolium confusum*. Ces études démontrent le potentiel des extraits de plantes, y compris les espèces de *Mentha*, dans le contrôle des insectes des produits stockés grâce à leurs effets toxiques sur les ravageurs cibles.

3.1.2. Test d'inhalation

Nous représentons dans le tableau suivant les résultats de toxicité aigüe par inhalation, obtenus lors de dénombrement après traitement des extraits éthanolique et hexanique d'espèce de *Mentha suaveolens*. (**Tableau 11, 12**)

Tableau 11 : Toxicité d'extrait éthanolique vis-à-vis au *tribolium costunum*.

Doses (%)	Log dose	Temps (heure)	Mortalité moyenne	Mortalité corrigée (%)	Probits
0.075	4.88	18	0.5	5	3.36
		19	1.5	5.55	3.32
		22	2.5	6.25	3.46
		23	2.5	6.25	3.46
		24	3	12.5	3.84
		42	4	14.28	3.93
		43	4.5	21.42	4.2
0.125	5.1	18	1	10	3.72
		19	2	11.11	3.77
		22	3	12.5	3.84
		23	3.5	18.75	3.26
		24	3.5	18.75	4.11
		42	4.5	21.42	4.2

		43	5.5	35.71	4.63
0.25	5.4	18	2	20	4.16
		19	3	22.22	4.23
		22	4	25	4.33
		23	5	37.5	4.68
		24	5	37.5	4.68
		42	6	42.85	4.81
		43	7	57.14	5.18
0.5	5.7	18	4	40	4.75
		19	5	44.44	4.85
		22	6	50	5
		23	6	50	5
		24	7.5	68.75	5.49
		42	8	71.42	5.56
		43	8.5	78.57	5.79
1	6	18	6	60	5.25
		19	6.5	61.11	5.28
		22	7.5	68.75	5.49
		23	8	75	5.67
		24	8.5	81.25	5.89
		42	9.5	92.85	6.46
		43	9.5	92.85	6.46
Témoin	-	18	0	-	-
		19	1	-	-
		22	2	-	-
		23	2	-	-
		24	2	-	-
		42	3	-	-
		43	3	-	-

Tableau 12 : Toxicité d'extrait hexanique vis-à-vis au *tribolium costunum*.

Doses (%)	Log dose	Temps (heure)	Mortalité moyenne	Mortalité corrigée (%)	Probits
0.075	4.88	18	0.5	5	3.36
		19	1.5	5.5	3.4
		22	1.5	5.5	3.4
		23	2.5	6.25	3.46
		24	2.5	6.25	3.46
		42	3	12.5	3.84
		43	4	14.28	3.93
0.125	5.1	18	1	10	3.72
		19	2	11.11	3.77
		22	2	11.11	3.77
		23	3	12.5	3.84
		24	3.5	18.75	4.11
		42	3.5	18.75	4.11
		43	4.5	21.42	4.2
0.25	5.4	18	2	20	4.16
		19	3	22.22	4.23
		22	3.5	27.77	4.41
		23	5	37.5	4.68
		24	5.5	43.75	4.84
		42	6	50	5
		43	6.5	50	5
0.5	5.7	18	4	40	4.75
		19	5	44.44	4.85
		22	6	55.55	5.14
		23	7.5	68.75	5.49
		24	7.5	68.75	5.49
		42	8	75	5.67

		43	8.5	78.57	5.79
1	6	18	7.5	75	5.67
		19	8.5	83.33	5.96
		22	8.5	83.33	5.96
		23	9.5	93.75	6.53
		24	9.5	93.75	6.53
		42	9.5	93.75	6.53
		43	10	100	7.37
Témoin	-	18	0	-	-
		19	1	-	-
		22	1	-	-
		23	2	-	-
		24	2	-	-
		42	2	-	-
		43	3	-	-

Les résultats de l'activité insecticides des extraits d'*M. suaveolens* de Sétif ont montré que les extraits testée avait une efficacité insecticide contre les adultes de *T. confusum*. Dans lequel le taux de mortalité augmente avec l'augmentation des doses. (**Figure 15**) (**Figure 16**). Au bout de 43h de traitement, les doses 0.5% et 1% ont donné les taux de mortalité les plus importants qui sont respectivement de 78.57% et 100%. Par contre, les faibles doses D0 et D1, ont enregistré un taux de mortalité de 4% et 4.5% respectivement à 43 h après traitement.

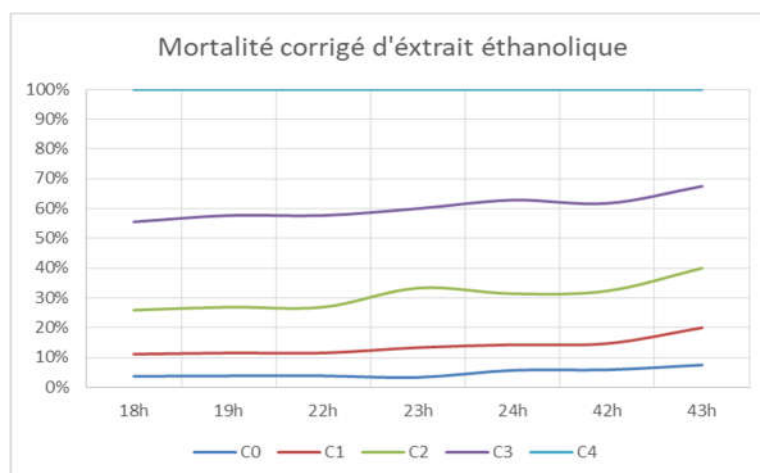


Figure 15 : Mortalité corrigée des adultes de *T. confusum* traitée par l'extrait éthanolique

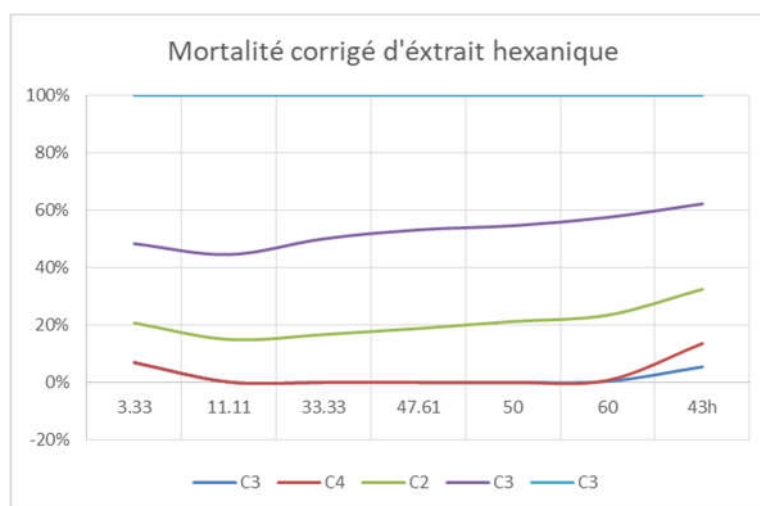


Figure 16 : Mortalité corrigée des adultes de *T. confusum* traitée par l'extrait hexanique

3.1.1.2. Détermination de DL 50

La transformation des pourcentages de mortalités en Probit (unité de probabilité) après 23 heures de traitement permet d'obtenir les équations des droites des régressions (**Figure 17,18**). Ensuite, ces données sont régressives en fonction du logarithme décimal. Les Figures représentent ces dernières. (**Tableau 13**)

Tableau 13 : Les équations des droites de régressions

Extraits	Équation de droite	R ²
Extrait éthanolique	$y = 2.002x - 5.5907$	$R^2 = 0.9986$
Extrait hexanique	$y = 3.0091x - 11.04$	$R^2 = 0.9524$

y: probits des taux de mortalités,
 x: logarithme décimal des concentrations.
 R^2 : Coefficient de détermination.

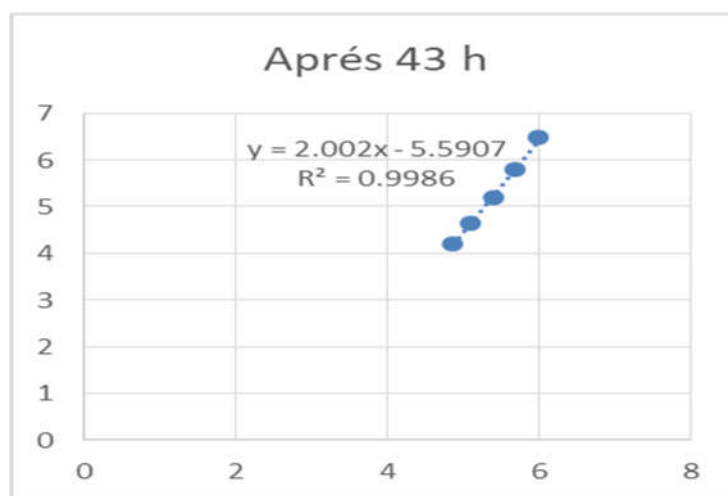


Figure 17 : droite de régression de l'extrait éthanolique en fonction des doses après 43 h.

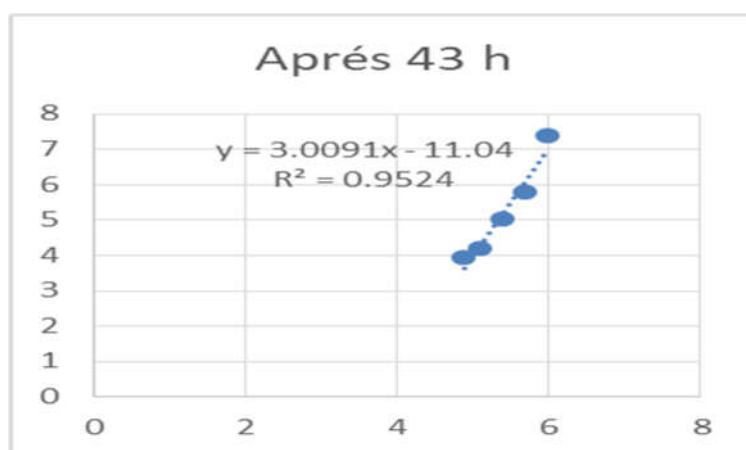


Figure 18 : droite de régression de l'extrait hexanique en fonction des doses après 43 h.

Les DL50 sont calculées après 43 heure seulement du traitement, comme c'est après ce temps qu'on a enregistré la mortalité la plus importante due aux extraits de plante. Les résultats obtenus sont représentés par le (**Tableau 14**). Pour l'extrait éthanolique la DL50 est de 0.19mg/ml, cette dose suffit pour tuer 50% des adultes de *T. confusum*. Tandis qu'il faut une dose de 0.21 mg/ml pour l'extrait hexanique.

Tableau 14 : Les DL50 obtenus après 23 h de traitement

Extraits	DL50
E. éthanolique	0.19 mg/ml
E. hexanique	0.21 mg/ml

Les recherches récentes ont porté sur la toxicité des extraits de plantes sur les ravageurs des grains stockés. **Ali et al. (2013)** ont examiné l'impact toxique des extraits de méthanol de différentes plantes, dont *Mentha longifolia*, sur la mortalité des larves de *Tribolium confusum*, en cherchant à évaluer la valeur de mortalité des larves exposées à différents extraits de plantes pendant des périodes variables.

De la même manière, **Ravan et ses collègues (2019)** ont étudié l'impact insecticide de l'extrait de feuilles de *Pistacia khinjuk* sur *T. confusum*, soulignant ainsi le potentiel des composés à base de plantes comme alternatives aux pesticides classiques. Une étude similaire menée par **Yakhlef et ses collègues (2020)** a examiné l'efficacité insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* chez les adultes de *T. confusum*, mettant en évidence le potentiel de la plante en tant que pesticide naturel. Ces résultats répondent à l'intérêt général pour l'utilisation d'extraits botaniques dans la lutte contre les parasites, comme le démontrent les études menées par **Zuhra et al. (2018)** et **Ziaee et al. (2016)** sur le potentiel toxique des insecticides et des nanoparticules de silice contre les ravageurs des grains conservés. Malgré l'importance accordée aux propriétés insecticides des extraits de plantes, **Moreno et al. (2002)** ont étudié les propriétés pharmacologiques de l'extrait de *Mentha suaveolens*, en soulignant son effet dépressif sur le système nerveux central et ses effets analgésiques. Cela laisse entendre que les extraits de plantes peuvent posséder différentes activités biologiques en plus de leurs propriétés insecticides.

Dans leur étude de toxicité, **Molinelli et ses collègues (2002)** ont examiné l'impact de l'élimination des métaux sur la toxicité des particules en suspension dans l'air, mettant en évidence l'importance de prendre en compte les facteurs environnementaux. Cela met en évidence l'importance d'effectuer des évaluations approfondies de la toxicité des extraits de plantes, notamment lorsqu'on prend en compte leurs potentielles applications dans la gestion des ravageurs. Globalement, la littérature témoigne d'un intérêt grandissant pour l'étude de la toxicité et des effets pharmacologiques des extraits de plantes, y compris ceux issus des espèces de *Mentha*, sur différents organismes comme *T. confusum*. Des études approfondies dans ce domaine pourraient apporter des renseignements précieux pour élaborer des stratégies de lutte contre les parasites respectueuses de l'environnement.

3.1.2. Test répulsif

Les tableaux suivants récapitulent l'évaluation de la réversibilité des différentes doses des deux extraits de *Mentha suaveolens* (éthanolique et hexanique) par rapport aux adultes de *Tribolium Confusum*. auranti. Ce taux de répulsion variait selon les doses et le temps (2 heures, 4 heures et 6 heures).(Tableau 15, 16)

Tableau 15 : Résultats du test répulsif d'extrait éthanolique de *Mentha suaveolens* sur les adultes de *tribolium confusum*

	C0			C1			C2			C3			C4		
	2h	4h	6h	2h	4h	6h	2h	4h	6h	2h	4h	6h	2h	4h	6h
% de rep	33.3	40	53.33	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	73.33	26.66	20	40	0	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	13.33	PR ≤ 0,1%	6.66
Class	II	II	III	0	0	V	II	I	II	0	0	0	I	0	I

Tableau 16 : Résultats du test répulsif d'extrait hexanique de *Mentha suaveolens* sur les adultes de *tribolium confusum*

	C0			C1			C2			C3			C4		
	2h	4h	6h	2h	4h	6h	2h	4h	6h	2h	4h	6h	2h	4h	6h
% de rep	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%	PR ≤ 0,1%
Classes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

La réversibilité est observée en fonction des doses (1%, 0,5%, 0,25%, 0,125% et 0,075%) ainsi que des périodes d'exposition (2h, 4h et 6h).

Selon les résultats, les doses de 0,075% et d'extrait d'éthanol ont été observées pour avoir un effet modérément répulsif sur les adultes de *tribolium confusum*, avec des taux variant de 30% à 60%.

Malgré le fait qu'il n'y ait pas de répulsivité dans le tableau d'extrait d'hexane.

3.2. Activité antioxydant

*Teste DPPH (2_2_diphenyle -1-picrylhydrazyle)

Le DPPH $\cdot$ (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée.

Le test DPPH a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydant de nos extraits éthanolique et hexanique. Le DPPH est un radical libre, stable, avec une bande d'absorbance à 517 nm, utilisé pour évaluer l'activité antioxydant des composés poly-phénoliques.

La quercitrine est utilisée comme standard dans ce test.

Le tableau (17) ci-dessous présente les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations utilisées (Figure 19)

Tableau 17 : les pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentration

C mg/ml	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.075
Abs hexa	0.1767	0.2346	0.3891	0.4852	0.5642	0.5835	0.6072
Abs étha	0.1784	0.1867	0.2587	0.4854	0.5669	0.6198	0.6468

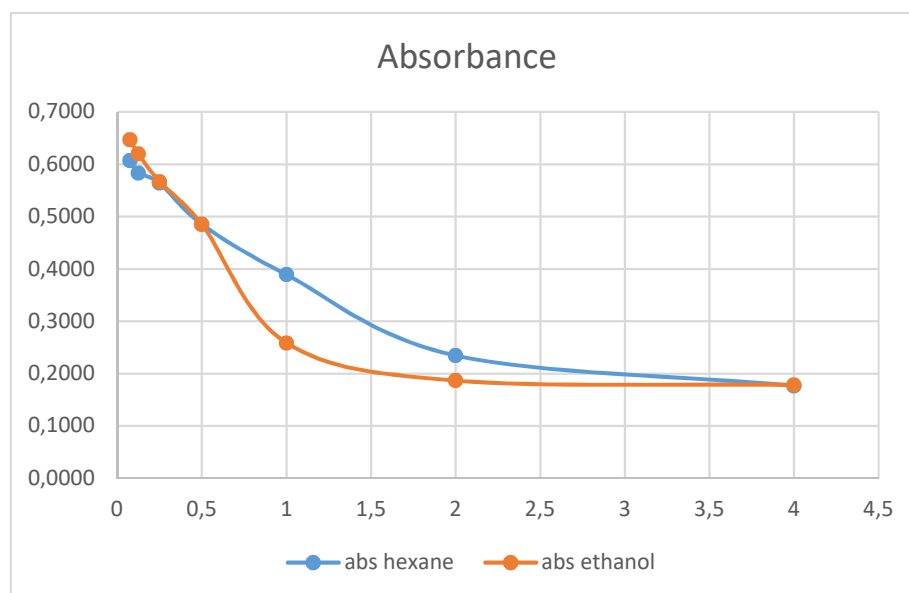


Figure 19 : Courbe d'étalonnage d'absorbance

Selon le tableau précédent, on peut observer que les deux extraits ont réussi à inhiber le radical DPPH à toutes les concentrations réalisées, avec des valeurs $\pm$ variables. La concentration augmente à mesure que le pourcentage d'inhibition augmente. On évalue l'index IC₅₀ en traçant deux courbes de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des deux extraits utilisés. On définit ce paramètre comme la quantité de composés phénoliques nécessaire pour inhiber 50% de l'activité initiale de DPPH (Merouane et al. 2014).

L'IC₅₀ est déterminé graphiquement par la régression linéaire du graphe tracé démontré dans les figures (20, 21).

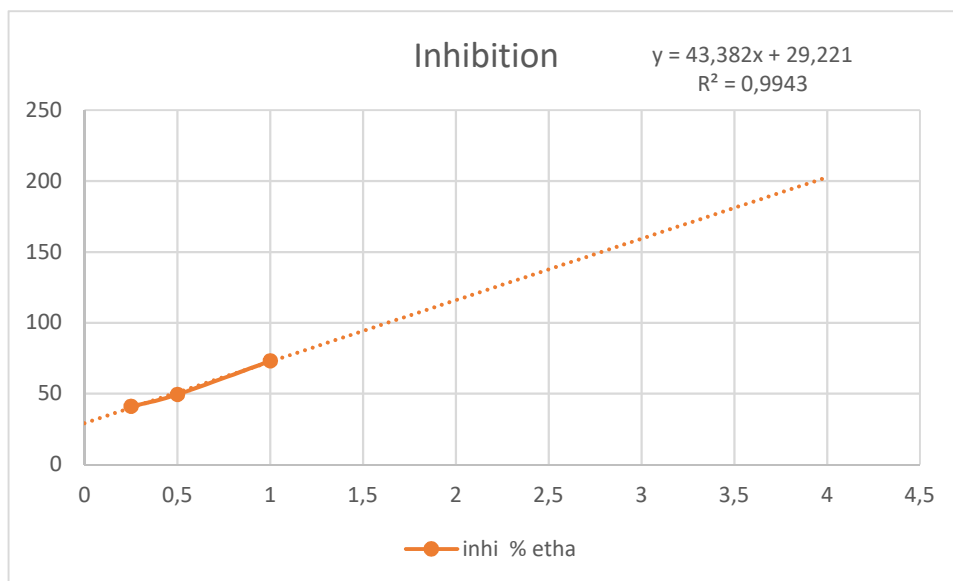


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique.

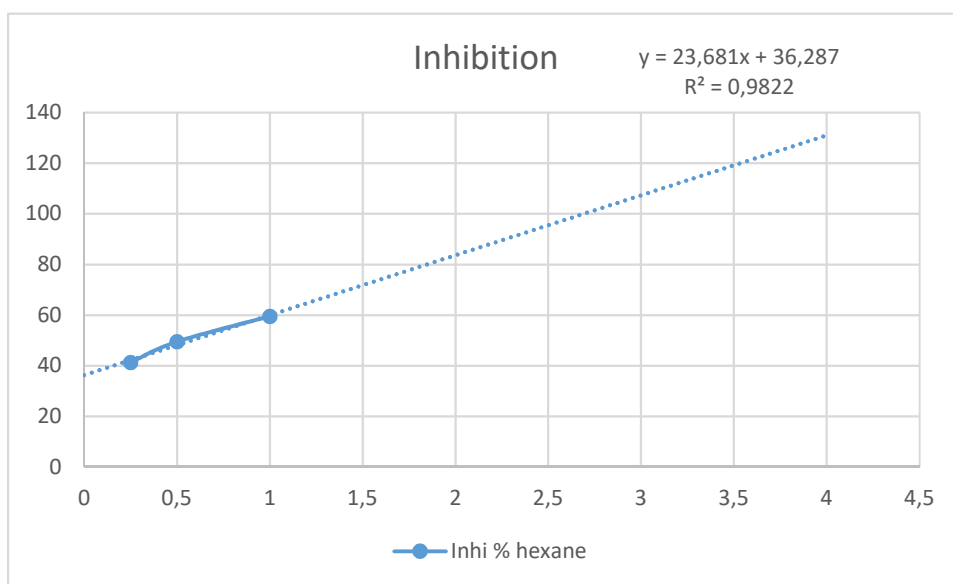


Figure 21 : pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentration de l'extrait éthanolique

Nous avons également pu évaluer la valeur d'IC₅₀ en observant le graphe, qui s'élève à environ IC₅₀ = 0.479023 mg/ml pour l'extrait éthanolique et IC₅₀ = 0.576228mg/ml pour l'extrait hexanique. Les niveaux de IC₅₀ sont similaires à ceux du standard de quercitine qui est une valeur d'IC₅₀ = 4.737968.

La valeur d'IC₅₀ diminue à mesure que l'extrait est perçu comme un antioxydant puissant. Les résultats de l'IC₅₀ confirment que nos extraits possèdent une grande capacité antioxydant.

Les résultats obtenus par **Djemai (2009)** démontrent que la quercétine présente une activité antioxydante remarquable vis-à-vis du DPPH (0,005 mg/ml), ce qui corrobore entièrement nos propres observations. Les analyses des extraits éthanolique et hexanique révèlent une activité antioxydante moindre par rapport à une étude précédente menée sur la même espèce, originaire de Bejaia (IC₅₀ = 0,1282 mg/ml pour l'extrait éthanolique, IC₅₀ = 0,1324 mg/ml pour l'extrait hexanique). Cette disparité pourrait être attribuée aux variations dans les méthodes d'extraction et aux différences dans l'origine de la plante (lieu et date de récolte, mode de séchage, etc.).

3.3. Activité antibactérienne

La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et hexaniques de *M.suaveolens* à l'égard de six souches bactériennes. Les résultats indiquent que la croissance bactérienne est inhibée en fonction du diamètre de la zone d'inhibition.(**Tableau 18**)

Tableau 18 : résultats de l'activité antibactérienne des extraits *M. suaveolens* réalisé par la méthode de diffusion sur disque

Dimensions des zones d'inhibition en mm			
Les souches bactériennes	Ex.étha	Ex.hex	DMSO
Staphylococcus aureus	10	8	-
Agrobacterium tumefaciens	-	24	-
Bacillus cereus	8	10	-
Pseudomonas aeruginosa	10	10	8
Escherichia coli	8	10	-

On peut observer des zones d'inhibition qui suggèrent que les deux extraits (éthanolique et hexanique) obtenus par macération présentent une activité antibactérienne. Les dimensions des diamètres d'inhibition obtenus varient de 8 à 48 mm. L'extrait hexanique présente une zone d'inhibition la plus importante à l'égard de la souche

bactérienne d'Agro 48 mm. L'extrait éthanolique présente la zone d'inhibition la plus faible envers les souches E. coli et Bc, ainsi que dans l'extrait hexanique envers la souche S. aur et dans le DMSO envers la souche de Pseudou. Amené à dire que la quantité des extraits éthanolique et hexanique appliquée sur les souches bactériennes à un effet direct sur les diamètres des zones d'inhibitions.

L'activité antibactérienne des différents extraits de *Mentha suaveolens* a été évaluée contre cinq souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque, une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des zones d'inhibition apparentes autour des disques chargés d'extraits végétaux (**tableau 18 et figure 22**). Les photos illustrant les zones d'inhibition sont présentées ci-dessous :

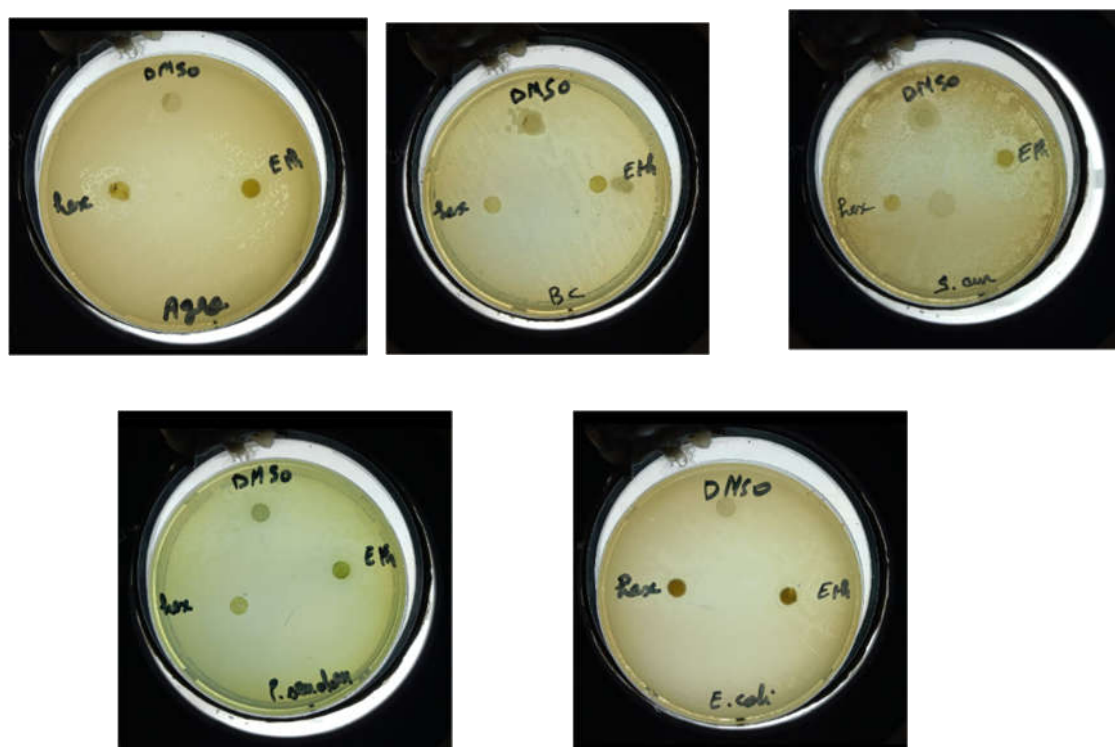


Figure 22 : Photos montrant des zones d'inhibition de la croissance bactérienne

Les bactéries Gram positif sont plus sensibles à l'action des extraits que les bactéries Gram négatif. Cette observation est cohérente avec les études antérieures qui ont montré que les bactéries Gram négatif sont généralement plus résistantes aux traitements antimicrobiens en raison de leur structure de paroi cellulaire.

En comparant nos résultats avec d'autres travaux, nous constatons qu'ils concordent avec plusieurs études antérieures. Par exemple, les résultats obtenus sont similaires à ceux de **Chebaibi et al. (2016)** et **Oumzil et al. (2002)** sur l'espèce *M. rotundifolia* du Maroc, qui

ont également montré un effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes étudiées. De plus, nos résultats sont cohérents avec les études de **Sutour et al. (2008)** et **Riahi et al. (2013)** sur l'espèce *M. suaveolens* d'Ajaccio et de la Tunisie, respectivement, qui ont démontré une activité antimicrobienne plus élevée contre les bactéries Gram positif que Gram négatif

Conclusion

Conclusion

En résumé, cette analyse détaillée de *Mentha suaveolens* a révélé sa présence abondante de composés phytochimiques qui possèdent des propriétés antioxydantes, insecticides et antimicrobiennes. Grâce aux résultats obtenus, il a été prouvé que les extraits de cette plante ont une activité antioxydante importante, due à leur forte teneur en composés phénoliques. Cela suggère que cette plante pourrait être utilisée comme source d'antioxydants naturels pour prévenir les dommages oxydatifs dans le corps humain. En outre, on a confirmé l'efficacité insecticide et antimicrobienne de *Mentha suaveolens*, confirmant ainsi ses propriétés avantageuses dans la lutte contre les insectes nuisibles et les infections bactériennes.

Ces résultats mettent en évidence l'importance de cette plante en tant qu'agent potentiel thérapeutique et comme solution naturelle pour lutter contre les ravageurs agricoles.

Néanmoins, malgré ces progrès prometteurs, il est essentiel de mener des études supplémentaires afin de mieux comprendre les mécanismes d'action de *Mentha suaveolens* et d'explorer son potentiel thérapeutique dans diverses affections.

Pour approfondir notre compréhension des usages médicaux et environnementaux de cette plante, il est nécessaire de continuer les recherches, ce qui ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la phytothérapie et de la lutte antiparasitaire. Finalement, cette étude apporte une contribution à l'approfondissement des connaissances sur les propriétés pharmacologiques de *Mentha suaveolens* et met en évidence son rôle essentiel en tant que ressource naturelle précieuse pour le développement de thérapies alternatives et de produits respectueux de l'environnement.

REFERENCE

Références

- [1]ABADA, H., & MESLOU, S. Y. (2019, 06 26). Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité . Aïn-Témouchent, Aïn-Témouchent, algérie.
- [2] AICHAOU, S. (2022, 06 13). Extraction ,Séparation et identification des Métabolites. algerie, Ouargla, Ouargla.
- [3]Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881.
- [4]Arabidopsis plants acclimate to water deficit at low cost through changes of carbon usage: an integrated perspective using growth, metabolite, enzyme, and gene expression analysis. *Plant physiology*, 154(1), 357-372.
- [5]Ayuso, M. D. (2000). ENVIRONMENTAL APPLICATIONS / Soxhlet Extraction. Academic Press.
- [6]Ayuso, M. D. (2000). ENVIRONMENTAL APPLICATIONS / Soxhlet Extraction. Academic Press.
- [7]Barek, S., Rahmoun, N. M., Aissaoui, M., El Haci, I. A., Bensouici, C., & Choukchou-
- [8]Braham, E. N. (2020). Phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of the Algerian *Genista saharae* solvent extracts. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 26(1), 1-13.
- [8]Bellocco, E., Barreca, D., Laganà, G., Calderaro, A., El Lekhlifi, Z., Chebaibi, S., ... & Trombetta, D. (2016).
- [9]Cyanidin-3-O-galactoside in ripe pistachio (*Pistachia vera* L. variety Bronte) hulls: Identification and evaluation of its antioxidant and cytoprotective activities. *Journal of functional foods*, 27, 376-385.
- [10]Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O., & Messaoud, C. (2016). Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 6(9), 760-766.
- [11]Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- [12]Ćavar Zeljković, S., Šišková, J., Komzáková, K., De Diego, N., Kaffková, K., & Tarkowski, P. (2021). Phenolic compounds and biological activity of selected *Mentha* species. *Plants*, 10(3), 550.
- [13]Chahrazad, L., Djamila, N., Amira, M., & Baya, K. (2022, septembre 14). CONTRIBUTION A UNE ETUDE ETHNOBOTANIQUE. tizi-ouzou, tizi-ouzou, algerie.

Reference

- [14]Chahrazad, L., Djamila, N., Amira, M., & Baya, K. (2022, septembre 14). CONTRIBUTION A UNE ETUDE ETHNOBOTANIQUE. tizi-ouzou, tizi-ouzou, algerie.
- [15] Chahrazad, D., & Djihad, M. (2022, 06 27). Métabolites secondaires du genre *Centaurea*. constantine, constantine, algerie.
- [16]Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard. In CLSI Document M02-A10, 10th ed.; Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI: Wayne, PA, USA, 2009 .
- [17]David, B., DE, A., Côté, E., Mabil, A., Baas, P., Blasco, F., ... & Wood, J. R. (2019). *Adansonia* est indexé dans/*Adansonia* is indexed in:—Science Citation Index Expanded (SciSearch®)—ISI Alerting Services®—Current Contents®/Agriculture, Biology, and Environmental Sciences®—Scopus.®
- [18]Djemai, E. (2009). How do roads spread AIDS in Africa? A critique of the received policy Wisdom.
- [19]Duraffourd, C., Kumala, E., Anselmi, L., Brecha, N. C., & Sternini, C. (2014). Opioid-Induced Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling in Rat Enteric Neurons.
- [20]Fournier, J. (2005, 9). l'actualité chimique. Histoire de la chimie, p. 51.
- [21] Hombach, M., Wolfensberger, A., Kuster, S. P., & Böttger, E. C. (2013). Influence of clinical breakpoint changes from CLSI 2009 to EUCAST 2011 antimicrobial susceptibility testing guidelines on multidrug resistance rates of Gram-negative rods. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(7), 2385-2387.
- [22]Hummel, I., Pantin, F., Sulpice, R., Piques, M., Rolland, G., Dauzat, M., ... & Muller, B. .(2010)
- [23]Iserin, P. (2001). encyclopédie des plantes médicinales. In P. Iserin, encyclopédie des plantes médicinales (p. 288). Belgique: la rousse.
- [23]KHIARI, M. (2018). Etude de l'effet de *Mentha* et *Pistacia* sur la toxicité du Nickel. annaba, annaba, algérie.
- [24] Kouchoukos, N. T., Sheppard, L. C., & McDONALD, D. A. (1970). Estimation of stroke volume in the dog by a pulse contour method. *Circulation Research*, 26(5), 611-623.
- [25]Létard, J.-C., Canard, J. M., Costil, V., Dalbiès, P., Grunberg, B., & Lapuelle, J. (2015). *Phytothérapie – Principes généraux*. cairn-info, pp. 29-30.
- [26]M.lawrence, b. (2006). *Medicinal and Aromatic Plants — Industrial Profiles*.Taylor & Francis Group.

Reference

- [27] Marouane, H., Shirazi-Adl, A., Adouni, M., & Hashemi, J. (2014). Steeper posterior tibial slope markedly increases ACL force in both active gait and passive knee joint under compression. *Journal of biomechanics*, 47(6), 1353-1359.
- [28] McFarland, M. D., Hill, H. T., & Tabatabai, L. B. (1987). Characterization of virulent and attenuated strains of pseudorabies virus for thymidine kinase activity, virulence and restriction patterns. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 51(3), 334.
- [29] Mebarka. (2018, juin 25). Etude de l'activité antibactérienne des. Biskra, Biskra, algerie.
- [30] MELLOUL, S. (2023). CONCEPTION DE FLUIDE SUPERCRITIQUE. constantine, constantine , algérie.
- [31] MERIGA, M., & KEMASSI, A. (2018, 07 04). Comparaison des méthodes d'extraction des. Ouargla, Ouargla, algérie.
- [32] Molinelli, A. R., Madden, M. C., McGee, J. K., Stonehuerner, J. G., & Ghio, A. J. (2002). Effect of metal removal on the toxicity of airborne particulate matter from the Utah Valley. *Inhalation toxicology*, 14(10), 1069-1086.
- [33] Molyneux, S. L., Lister, C. E., & Savage, G. P. (2004). An investigation of the antioxidant properties and colour of glasshouse grown tomatoes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 55(7), 537-545.
- [34] Moreno, E., Cloeckert, A., & Moriyón, I. (2002). *Brucella* evolution and taxonomy. *Veterinary microbiology*, 90(1-4), 209-227.
- [35] Newfel, K., & metrouh, a. (2021). Etude de l'effet analgésique d'une plante médicinale du genre *Thymus* chez un modèle biologique. Tébessa, Tébessa, Algérie.
- [36] Nicoletti, M. (2012). Nutraceuticals and botanicals: overview and perspectives. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(sup1), 2-6.
- [37] Oumzil, H., Ghouli, S., Rhajaoui, M., Ilidrissi, A., Fkih-Tetouani, S., Faid, M., & Benjouad, A. (2002). Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Mentha suaveolens*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 16(8), 727-731.
- [38] Poné, J. W., Bilong, C. B., & Mpoame, M. (2010). In vitro nematocidal activity of extracts of *Canthium mannii* (Rubiaceae), on different life-cycle stages of *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda, Heligmosomatidae). *Journal of helminthology*, 84(2), 156-165.
- [39] Riahi, L., Elferchichi, M., Ghazghazi, H., Jebali, J., Ziadi, S., Aouadhi, C., ... & Mliki, A. (2013). Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 49, 883-889.

Reference

- [40]Saqib, S., Ullah, F., Naeem, M., Younas, M., Ayaz, A., Ali, S., & Zaman, W. (2022). *Mentha*: Nutritional and health attributes to treat various ailments including cardiovascular diseases. *Molecules*, 27(19), 6728.
- [41] Scholar] Duraffourd, C.; D'Hervicourt, L.; Lapraz, J.C. *Cahiers de phytothérapie clinique*. In 1. Examens de Laboratoires Galénique. *Eléments Thérapeutiques Synergiques*, 2nd ed ;.
- [42]Su, C. (1985). Endothelium removal augments vasodilation by sodium nitroprusside and sodium nitrite. *European journal of pharmacology*, 114(1), 93-96.
- [43]Sutour, S., Bradesi, P., de Rocca-Serra, D., Casanova, J., & Tomi, F. (2008). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Mentha suaveolens* ssp. *insularis* (Req.) Greuter. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(2), 107-114.
- [44]Taponjdjou, L. A., Lontsi, D., Beibam Luc, S., Jongwon, C., Kyung-Tae, L., Hyun-Ju, J., & Hee-Juhn, P. (2003). In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of the two triterpenes, ursolic acid and 23-hydroxyursolic acid, from *Cussonia bancoensis*. *Archives of pharmacal research*, 26, 143-146.
- [45]Tarek, M. (2017). utilisation de la poudre végétale de la Romarin, Eucalyptus, Marubbe et des micro-ondes dans cadre de la lutte contre *tribolium confosum*. boumerdes, boumerdes, algérie.
- [46]Tarek, M. (2017). utilisation de la poudre végétale de la Romarin, Eucalyptus, Marubbe et des micro-ondes dans cadre de la lutte contre *tribolium confosum*. boumerdes, boumerdes, algérie.
- [47]Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food*
- [48]YAHIAOUI, A., & BENOUNE , C. E. (2021). Étude bibliographique d'une plante appartenant au genre *Satureja*. constantine, constantine, algérie.
- [49]YAHIAOUI, A., & BENOUNE , C. E. (2021). Étude bibliographique d'une plante appartenant au genre *Satureja*. constantine, constantine, algérie.
- [50]Yakhlef, A., & Rietveld, E. (2020). Innovative action as skilled affordance-responsiveness: An embodied-mind approach. *Creativity and Innovation Management*, 29(1), 99-111.
- [51]Zekri, M., El Kafhali, S., Aboutabit, N., & Saadi, Y. (2017, October). DDoS attack detection using machine learning techniques in cloud computing environments. In 2017 3rd international conference of cloud computing technologies and applications (CloudTech) (pp. 1-7). IEEE.
- [52]Ziaee, V., Rezaei, A., Harsini, S., Maddah, M., Zoghi, S., Sadr, M., ... & Rezaei, N. (2016). Polymorphisms of genes encoding interleukin-4 and its receptor in Iranian patients with juvenile idiopathic arthritis. *Clinical rheumatology*, 35, 1943-1948.

Reference

- [53]Zuhra, S., Khan, N. S., & Islam, S. (2018). Magnetohydrodynamic second-grade nanofluid flow containing nanoparticles and gyrotactic microorganisms. *Computational and Applied Mathematics*, 37, 6332-6358.
- [54]AICHAOUI, S. (2022, 06 13). Extraction ,Séparation et identification des Métabolites. algerie, Ouargla, Ouargla .analytical chemistry, 6(1), I1-1.
- [55]Iserin, P. (2001). encyclopédie des plantes médicinales. In P. Iserin, encyclopédie des plantes médicinales (p. 288). Belgique: la rousse .
- [56]l'évaluation de l'activité . Aïn-Témouchent, Aïn-Témouchent, algérie .Masson: Paris, France, 1990. [Google Scholar] P. (2012). In vitro biological activities of the essential oil from the 'resurrection plant' *Myrothamnus moschatus* (Baillon) Niedenzu endemic to Madagascar. *Natural Product Research*, 26(24), 2291-2300.

ANNEXE

Annexe

Annexe 1 : Tableau de mortalité moyenne des adultes de *Tribolium confusum* avec l'extret éthanolique de *M. suaveolens* traités par contact.

ETHANOLE							
C/H	M.temoin	MOY0	Moy1	MOY2	MOY3	MOY4	sur
1h	0	0.333333	1	2.333333	2	3	10
2h	2	2.333333	3	4	3.666667	4.67	8
3h	2	2.666667	3.666667	4.333333	4.666667	5.666667	8
22h	3	4	4.666667	5.333333	5.333333	6.333333	7
23h	3	4.333333	5	6	6.333333	8	7

Annexe 2 : Tableau de mortalité moyenne des adultes de *Tribolium confusum* avec l'extret hexanique de *M. suaveolens* traités par contact.

heXANNE							
C/H	M.temoin	MOY0	MOY1	MOY2	MOY3	MOY4	sur
1h	0	0.333333	1.333333	2	3	4	10
2h	2	2.333333	3.333333	3.666667	4.666667	5.333333	8
3h	3	3.333333	4.666667	4.666667	5.333333	6	7
22h	3	3.666667	5.333333	5.333333	5.666667	6.666667	7
23h	4	4.666667	6.333333	6.666667	7	7.666667	6

Annexe 3 : Tableau de mortalité corrigée des adultes de *Tribolium confusum* avec l'extret éthanolique de *M. suaveolens* traités par contact.

ETHANOLE					
C/H	C0	C1	C2	C3	C4
1h	3.3	10	23.3	20	30
2h	4.12	11.11	25	20.75	33.37
3h	8.25	20.75	29.12	33.25	45.75
22h	14.28	23.71	33.28	33.28	47.57
23h	19	28.57	42.85	47.57	71.42

Annexe

Annexe 4 : Tableau de mortalité corrigée des adultes de Tribolium confusum avec l'extret hexanique de M. suaveolens traités par contact.

HEXANNE					
C/H	C0	C1	C2	C3	C4
1h	3.3	13.3	20	30	40
2h	4.12	16.62	20.75	33.25	41.62
3h	4.71	23.71	23.71	33.28	42.85
22h	9.42	33.28	33.28	38	52.28
23h	11	38.83	44.33	50	61

Annexe 4 : Tableau de mortalité moyenne des adultes de Tribolium confusum avec l'extrait hexanique de M. suaveolens traités par inhalation.

MORTALITE MOYENNE							
M/H	M.TEMOIN	MOY0	MOY1	MOY2	MOY3	MOY4	Sur
18h	0	0.5	1	2	4	7.5	10
19h	1	1.5	2	3	5	8.5	9
22h	1	1.5	2	3.5	6	8.5	9
23h	2	2.5	3	5	7.5	9.5	8
24h	2	2.5	3.5	5.5	7.5	9.5	8
42h	2	3	3.5	6	8	9.5	8
43h	3	4	4.5	6.5	8.5	10	7

Annexe 5 : Tableau de mortalité moyenne des adultes de Tribolium confusum avec l'extrait éthanolique de M. suaveolens traités par inhalation.

mortalite moyenne							
M/H	TEMOIN	MOY0	MOY1	MOY2	MOY3	MOY4	Sur
18h	0	0.5	1	2	4	6	10
19h	1	1.5	2	3	5	6.5	9
22h	2	2.5	3	4	6	7.5	8
23h	2	2.5	3.5	5	6	8	8
24h	2	3	3.5	5	7.5	8.5	8
42h	3	4	4.5	6	8	9.5	7
43h	3	4.5	5.5	7	8.5	9.5	7

Annexe 6 : Tableau de mortalité corrigée des adultes de Tribolium confusum avec l'extrait hexanique de M. suaveolens traités par inhalation.

la mortalité corrigée					
C/H	0.08%	0.13%	0.25%	0.50%	1%
18h	5	10	20	40	75
19h	5.5	11.11	22.22	44.44	83.33
22h	5.5	11.11	27.77	55.55	83.33
23h	6.25	12.5	37.5	68.75	93.75
24h	6.25	18.75	43.75	68.75	93.75
42h	12.5	18.75	50	75	93.75
43h	14.28	21.42	50	78.57	100

Annexe

Annexe 7 : Tableau de mortalité corrigée des adultes de *Tribolium confusum* avec l'extrait éthanolique de *M. suaveolens* traités par inhalation.

la mortalité corrigée					
C/H	0.08%	0.13%	0.25%	0.50%	1%
18h	5	10	20	40	60
19h	5.55	11.11	22.22	44.44	61.11
22h	6.25	12.5	25	50	68.75
23h	6.25	18.75	37.5	50	75
24h	12.5	18.75	37.5	68.75	81.25
42h	14.28	21.42	42.85	71.42	92.85
43h	21.42	35.71	57.14	78.57	92.85

Résumé

Le présent travail de recherche était d'évaluer les activités biologiques et identifier la composition chimique de l'espèce *Mentha suaveolens*. Cette essence est une plante aromatique connue par ses propriétés médicinales et elle appartient à la famille des lamiaceae. Le but principal était de mieux comprendre les composés de cette plante et d'évaluer leur activité antioxydante, insecticide et antimicrobienne, dans le but de mieux comprendre son potentiel thérapeutique et ses applications concrètes. L'extraction des composés de la plante a été réalisée par macération, ce qui a donné des extraits concentrés à base d'éthanol et d'hexane. La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour mesurer les polyphénols (Dosage des polyphénols). Tandis que l'activité antioxydante a été évaluée par le test DPPH. Des évaluations d'activité insecticide ont été effectuées sur des adultes de *Tribolium confusum* par contact, inhalation et répulsion, avec l'application directe des extraits sur les insectes afin de mesurer la mortalité. Finalement, on a examiné l'activité antimicrobienne en utilisant la méthode de diffusion sur disque, ce qui a permis d'effectuer une évaluation qualitative. Les extraits de *Mentha Suaveolens* ont démontré une grande richesse en composés phénoliques, avec des taux élevés de phénols totaux. Les extraits éthanolique et hexanique ont montré des IC50 de 0.47 mg/ml et 0.57 mg/ml respectivement, mettant en évidence leur potentiel antioxydant considérable. Pour l'activité insecticide, nous avons étudié l'impact des extraits de *Mentha Suaveolens* sur les adultes de *Tribolium confusum* en laboratoire. Les deux extraits ont été administrés par traitement topique, par inhalation et par répulsion. Tout comme l'effet de répulsion a été expérimenté. On a utilisé 5 doses de 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125% et 0,075%. D'après les résultats, les extraits de *M.suaveolens* ont démontré leur capacité à agir comme un insecticide contre les adultes de *Tribolium confusum*. De plus, on a constaté une activité antimicrobienne importante chez toutes les souches bactériennes testées, en particulier contre *Pseudomonas aeruginosa*. Cet impact est plutôt important, avec des zones d'inhibition variant de 8 à 24 mm. En résumé, cette étude renforce l'intérêt des extraits de *Mentha suaveolens* en tant qu'agents thérapeutiques prometteurs. Il est conseillé de continuer les études afin d'approfondir la compréhension des composés actifs, d'explorer d'autres techniques d'extraction et d'évaluation de l'activité, et de réaliser des tests in vivo afin de vérifier leur efficacité dans des conditions cliniques réelles. Ces progrès pourraient favoriser l'émergence de nouveaux traitements naturels et une utilisation plus efficace des ressources végétales pour la santé.

Mots-clés: *Mentha suaveolens*, antioxydante, insecticide, antimicrobienne, polyphénols, , *Tribolium confusum*.

Summary:

The present research work was to evaluate the biological activities and identify the chemical composition of the species *Mentha suaveolens*. This essence is an aromatic plant known for its medicinal properties and it belongs to the Lamiaceae family.

The main goal was to better understand the compounds of this plant and to evaluate their antioxidant, insecticidal and antimicrobial activity, with the aim of better understanding its therapeutic potential and its concrete applications. The extraction of plant compounds was carried out by maceration, which gave concentrated extracts based on ethanol and hexane. The Folin-Ciocalteu method was used to measure polyphenols (Polyphenol Assay).

While the antioxidant activity was evaluated by the DPPH test. Insecticidal activity evaluations were carried out on adults of *Tribolium confusum* by contact, inhalation and repulsion, with the direct application of the extracts to the insects to measure mortality. Finally, the antimicrobial activity was examined using the disk diffusion method, which allowed a qualitative assessment to be made. *Mentha Suaveolens* extracts demonstrated a high richness in phenolic compounds, with high levels of total phenols. . The ethanolic and hexanic extracts showed IC50s of 0.47 mg/ml and 0.57 mg/ml respectively, highlighting their considerable antioxidant potential.

For insecticidal activity, we studied the impact of *Mentha Suaveolens* extracts on adults of *Tribolium confusum* in the laboratory. Both extracts were administered by topical treatment, by inhalation and by repulsion. Just like the repulsion effect was experienced. We used 5 doses of 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125% and 0.075%. According to the results, *M.suaveolens* extracts demonstrated the ability to act as an insecticide against *Tribolium Confusum* adults. Additionally, significant antimicrobial activity was observed in all bacterial strains tested, particularly against *Pseudomonas aeruginosa*. This impact is rather significant, with inhibition zones varying from 8 to 24 mm. In summary, this study reinforces the interest of *Mentha suaveolens* extracts as promising therapeutic agents.

It is advisable to continue studies in order to deepen the understanding of the active compounds, to explore other extraction techniques and evaluation of activity, and to carry out *in vivo* tests to verify their effectiveness in real clinical conditions. This progress could encourage the emergence of new natural treatments and a more efficient use of plant resources for health.

Keywords: *Mentha suaveolens*, antioxidant, insecticide, antimicrobial, polyphenols, , *Tribolium Confusum*.

ملخص:

العمل البحثي الحالي هو تقييم الأنشطة البيولوجية وتحديد التركيب الكيميائي لنوع *Mentha suaveolens* وهو نبات عطري معروف بخصائصه الطبية وينتمي إلى عائلة *Lamiaceae*. كان الهدف الرئيسي هو فهم مركبات هذا النبات بشكل أفضل وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة والمبيدات الحشرية والمضادة للميكروبات، بهدف فهم أفضل لإمكاناته العلاجية وتطبيقاته الملموسة. تم استخلاص المركبات النباتية بطريقة النقع والتي أعطت مستخلصات مركزة أساسها الإيثانول والهكسان وتم استخدام طريقة Folin-Ciocalteu لقياس البوليفينول (Polyphenol Assay).

بينما تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة بواسطة اختبار DPPH. تم إجراء تقييمات لنشاط المبيدات الحشرية على البالغين من *Tribolium confusum* عن طريق التلامس والاستنشاق والتناثر، مع التطبيق المباشر للمستخلصات على الحشرات لقياس معدل الوفيات. أخيرًا، تم فحص النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار القرصي، مما سمح بإجراء تقييم نوعي. وأظهرت مستخلصات *Mentha Suaveolens* ثراءً عاليًا في المركبات الفينولية، مع مستويات عالية من الفينولات الكلية. أظهرت المستخلصات الإيثانولية والهكسانية أن IC_{50} s تبلغ 0.47 مجم/مل و 0.57 مجم/مل على التوالي، مما يسلط الضوء على إمكاناتها الكبيرة المضادة للأكسدة.

بالنسبة لنشاط المبيدات الحشرية، قمنا بدراسة تأثير مستخلصات *Mentha Suaveolens* على البالغين من *Tribolium confusum* في المختبر. تم إعطاء كلا المستخلصين عن طريق العلاج الموضعي، عن طريق الاستنشاق والتناثر. تمامًا كما حدث تأثير التناثر. استخدمنا 5 جرعات من 1%، 0.5%، 0.25%، 0.125% و 0.075%. ووفقًا للنتائج، أظهرت مستخلصات *M.suaveolens* القدرة على العمل كمبيد حشري ضد البالغين *Tribolium Confusum*. بالإضافة إلى ذلك، لوحظ نشاط كبير مضاد للميكروبات في جميع السلالات البكتيرية التي تم اختبارها، وخاصة ضد الزانفة الزنجارية. وهذا التأثير مهم إلى حد ما، حيث تتراوح مناطق التثبيط من 8 إلى 24 ملم. باختصار، تعزز هذه الدراسة اهتمام مستخلصات نبات النعناع كعوامل علاجية واعدة.

يُنصح بمواصلة الدراسات لتعميق فهم المركبات النشطة، واستكشاف تقنيات الاستخلاص الأخرى وتقييم النشاط، وإجراء اختبارات على الجسم الحي للتحقق من فعاليتها في الحالات السريرية الحقيقية. يمكن أن يشجع هذا التقدم على ظهور علاجات طبيعية جديدة واستخدام أكثر كفاءة للموارد النباتية من أجل الصحة.

الكلمات المفتاحية: نبات النعناع، مضادات الأكسدة، مبيد حشري، مضادات الميكروبات، البوليفينول، تريبوليوم كونفوسوم.