

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE
ET BIOCHIMIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET
DE VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

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

Par
BATTA Zahra

Intitulé

**Evaluation des activités antioxydante et
antimicrobienne de l'huile essentielle et
l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L.**

Soutenu devant le jury composé de:

M^r GHADBANE Mouloud

M^r HENDEL Noui

M^{me} BISSET Saghira

MCA - UMB –M'sila

MCB - UMB –M'sila

MAA - UMB –M'sila

Président

Rapporteur

Examinatrice

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A la pensée de mon oncle et grand-père

A mes très chers parents

Sources de mes joies et secret de ma force, vous serez toujours le modèle : Mon père, le grand homme et mon exemple, qui m'a encouragé Toujours, ta force et ton honnêteté Ma mère qui j'aime beaucoup dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour nous. Merci pour vos sacrifices. C'est à vous que je dois cette réussite.

A mes très chers Frères

Abdelkader et Abdelmalek

Et mes très chères sœurs

Siham, Nour et Bouchra

A tous mes oncles et tantes

A toute la famille BATTI

A mes très chères amies

Kherifi Salima et Guerbas Ferdous

zahra



Remerciements

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Dr. **HENDEL Noui**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'a accordé m'ont permis de réaliser ce travail.*

*Je tiens à remercier Dr. **GHADBANE Mouloud**, de m'avoir fait honneur de présider le jury de soutenance. Je remercie vivement M^{me} **BISSET Saghira**, d'avoir accepté de juger mon travail.*

*une grande part de ma reconnaissance s'adresse à M^{lle} **BAALI Faiza** pour son aide précieuse qui m'a permis de mener à bien la partie antioxydante de ce travail.*

Sommaire

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction	01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Plantes médicinales	03
1.1. Définition.....	03
1.2. Substances naturelles d'origine végétales.....	03
1.2.1. Les métabolites primaires.....	03
1.2.2. Les métabolites secondaires.....	03
1.3. Utilisation des plantes médicinales	05
2. Généralité sur la plante étudiée.....	06
2.1. Description botanique.....	06
2.2. Noms et position systématique.....	06
2.3. Habitat et distribution géographique.....	07
2.4. Composition chimique.....	07
2.5. Utilisation thérapeutique et industrielle.....	07
3. Stress oxydatif	08
3.1. Les espèces réactives d'oxygènes	08
3.2. Les antioxydants	08
4. Activité antimicrobienne.....	09

Chapitre II : Matériels et méthode

1. Matériel végétal.....	10
2. Procédés d'extraction.....	10
2.1. Extraction méthanolique.....	10
2.2. Extraction de l'HE.....	11
3. Dosage des composés phénoliques.....	11
3.1. Dosage des polyphénols.....	11
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	12
4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	12
4.1. Test de DPPH.....	12
4.2. Test de blanchiment du β -carotène.....	13
5. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	14
5.1. Microorganismes testés.....	14
5.2. Tests de confirmation des souches.....	14
5.3. Préparation de l'inoculum.....	14
5.4. Activité antibactérienne.....	14
5.5. Activité antifongique.....	15
5.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	15
Analyse statistique.....	16

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Rendement de la plante.....	17
2. Dosage des composés phénoliques de la plante.....	17
3. Activité antioxydante.....	18
3.1. Test de DPPH.....	18
3.2. Test de blanchiment de β -carotène.....	19

4.	Activité antimicrobienne.....	19
4.1.	Activité antibactérienne.....	19
4.2.	Activité antifongique.....	21
4.3.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	23
	Conclusion	25
	Références bibliographiques	26
	Annexes	

Liste des abréviations

BHT	Butylated hydroxyanisole ;
CMB	Concentration minimale bactéricide ;
CMI	Concentration minimale inhibitrice ;
DMSO	Dimethylsulfoxyde ;
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazile ;
EAG	Equivalent en acide gallique ;
EM	extrait méthanolique ;
EQ	équivalent de quercétine ;
ERO	espèces réactives de l'oxygène ;
HE	huile essentielle ;
I%	pourcentage d'inhibition ;
IC50	concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition ;
MHA	Mueller-Hinton Agar ;
PDA	Potato Dextrose Agar ;
TFT	teneur en flavonoïdes totaux ;
TPT	teneur en polyphénols totaux ;

Liste des figures

Figure 01 :	Structure de simple phénol	04
Figure 02 :	Structure de base des flavonoïdes	04
Figure 03 :	Aspects morphologiques de l'espèce <i>T. polium</i> L. de la région de la récolte.....	10
Figure 04 :	Procédés d'extraction : a) Macération, b) Evaporation sous vide, c) Hydrodistillation.....	11
Figure 05 :	teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'EM et de l'HE de <i>T. polium</i>	18
Figure 06 :	Effet de l'HE de <i>T. polium</i> (15µl/disque) sur les différentes souches testées	20
Figure 07 :	L'effet de l'EM de <i>T. polium</i> (600mg/mL) sur les différentes souches testées	21
Figure 08 :	Effet de <i>T. polium</i> sur <i>C. albicans</i> : (a) EM (600mg/mL) ; (b) HE (15µl/disque)	22
Figure 09 :	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne provoqué par l'HE et l'EM de <i>T. polium</i> au 7 ^{ème} jour d'incubation.....	22
Figure 10 :	Effet de l'HE de <i>T. polium</i> sur la croissance mycélienne des moisissures	22
Figure 11 :	Effet de l'EM de <i>T. polium</i> sur la croissance mycélienne des moisissures	23

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Les valeurs IC ₅₀ (mg/mL) de l'EM, de l'HE de <i>T. polium</i> et du standard dans le test de DPPH.....	18
Tableau 2 :	Les valeurs IC ₅₀ (mg/mL) de l'EM, de l'HE de <i>T. polium</i> et du standard dans le test de blanchiment de β-carotène.....	19
Tableau 3 :	Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de l'HE et l'EM de la <i>Teucrium polium</i>	20
Tableau 4 :	Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) de l'EM et de l'HE de <i>T. polium</i>	23

Résumé

Teucrium polium est une plante médicinale appartenant à la famille des Lamiacées, cette espèce connue sous le nom de « khayata », est très répandue dans le bassin méditerranéen. L'extrait méthanolique (EM) a été obtenu par macération et l'huile essentielle (HE) a été obtenue par hydrodistillation. Les rendements respectifs sont : 15.56% et 0.635%. La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Elle est de 143 mg EAG/g pour l'EM et 60 mg EAG/g d'HE. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode $AlCl_3$, leur teneur est de 137.5 et 0.28 mg EQ/g dans l'EM et l'HE respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes: la technique de blanchissement du β -carotène et la méthode de réduction de radical libre DPPH. Pour le premier test IC_{50} a été estimée à 2.90 mg/mL et 1.8mg/mL pour l'EM et l'HE respectivement, celle du BHT est 0.006mg/ml. Pour le second test la CI_{50} a été estimée à 0.035 et 10.46 mg/mL pour l'EM et l'HE respectivement, alors que celle du témoin positif BHT est de 0.02mg/mL. L'activité antibactérienne a été déterminée sur 8 souches bactériennes, selon la méthode des disques et puits de diffusion. La CMI est enregistrée allant de 31.25 jusqu'à 125mg/mL et la CMB était inférieure ou égale à 250mg/mL pour l'EM. La CMI allant de 5.72 jusqu'à 22.9 mg/mL et la CMB était inférieure ou égale à 45.83mg/mL pour l'HE. Pour les moisissures l'HE de *Teucrium polium* a provoqué une inhibition très importante sur toutes les moisissures testées avec un pourcentage d'inhibition qui varie de 50.29% à 87.11% et pour l'EM le pourcentage d'inhibition variait de 0.00% à 71.92%.

Mots clés - *Teucrium polium*, Lamiaceae, extrait méthanolique, huile essentielle, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

Teucrium polium is a medicinal plant belonging to the Lamiaceae family, this species known as "khayata", is widespread in the Mediterranean basin. The methanolic extract (ME) was obtained by maceration and the essential oil (EO) was obtained by hydrodistillation. The respective yields were: 15.56% and 0.635%. The total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it was 143 mg GAE/ g for the ME and 60 mg GAE / g of EO. The flavonoid content were evaluated using the AlCl₃ method, It was 137.5 and 0.28 mg QE / g in the methanolic extract and EO respectively. The antioxidant activity was evaluated using two different methods: the β -carotene bleaching technique and the DPPH free radical reduction method. For the first test IC₅₀ was estimated at 2.90 mg / mL and 1.8 mg / mL for ME and EO respectively, that of BHT is 0.006. For the second test The IC₅₀ was estimated at 0.035 and 10.46 mg / mL for the ME and the EO respectively. While that of the BHT positive control is 0.02 mg / mL. Antibacterial activity was determined on 8 bacterial strains. Using the method of propagation by means of disks and by wells. The minimum concentration of inhibitor (CMI) ranges from 31.25 to 125 mg/mL and the measurement of CMB \leq 250 mg / mL for EM and from 5.72 to 22.9 mg / mL and CMB \leq 45.83 μ l / mL for EO. For fungi, EO caused a very significant inhibition on all the fungi tested with a percentage inhibition which varies from 50.29% to 87.11% and for the EM the percentage of inhibition ranging from 0.00% at 71.92%.

Key words -*Teucrium polium*, Lamiaceae, methanolic extract, essential oil, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.

ملخص

نبته *Teucrium polium* من النباتات الطبية و تنتمي إلى عائلة Lamiceae ، وهذا النوع معروف باسم "الخيطة" ، منتشر على نطاق واسع في حوض البحر الأبيض المتوسط. تم الحصول على المستخلص الميثانولي بواسطة النقع macération والزيت الأساسي عن طريق التقطير بالبخار. تم تحديد المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu ، و وجد 143 mgEAG / g للمستخلص الميثانولي و 60 mg EAG / g بالنسبة للزيت الاساسي. تم تقييم الفلافونويدات باستخدام طريقة $AlCl_3$ ، فوجد محتواها في حدود 0.28 mgEQ/g و 137.5 mgEQ/g في المستخلص الميثانولي والزيت الأساسي على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقتين مختلفتين: تقنية تبييض البيتاكاروتين وطريقة تثبيط الجذر الحر DPPH ، في الاختبار الاول تم تقدير IC_{50} 2.90 mg / ml و 1.8 mg / ml بالنسبة للمستخلص الميثانولي و الزيت الاساسي على التوالي ، و بالنسبة لـ BHT mg/ml 0.006. بالنسبة للاختبار الثاني ، تم تقدير IC_{50} 0.35 و 10.46 mg / ml للمستخلص الميثانولي والزيت الاساسي على التوالي. في حين أن الشاهد BHT 0.02 mg / ml. تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا على 8 سلالات بكتيرية و خميرة واحدة باستعمال طريقة الانتشار عن طريق الأقراص و عن طريق الآبار. الحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI) يتراوح من 31.25 إلى 125 mg / ml و قياس $CMB \leq 250$ mg / ml بالنسبة للمستخلص الميثانولي و من 5.72 إلى 22.9 mg/ml و $CMB \leq 45.83$ mg/ml بالنسبة للزيت الاساسي. بالنسبة للفطريات ، تسبب الزيت العطري في تثبيط كبير جداً على جميع الفطريات التي تم اختبارها بنسبة تثبيط تتراوح بين 50.29% و 87.11% و تتراوح نسبة التثبيط بالنسبة للمستخلص الميثانولي بين 0.00% و 71.92%.

كلمات مفتاحية: *Teucrium polium* ، العائلة الشفوية ، المستخلص الميثانولي، الزيت العطري، البوليفينول ، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للجراثيم.

INTRODUCTION

Introduction

Les herbes et les préparations à base de plantes ont été utilisées pour traiter les affections depuis la préhistoire, et le traitement de diverses maladies par des médicaments à base de plantes fait toujours partie intégrante de nombreuses cultures à travers le monde. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 80% des habitants des pays en développement utilisent presque exclusivement la médecine traditionnelle. Ces médicaments, dérivés directement ou indirectement de plantes, constituent 25% de l'arsenal pharmaceutique. La phytothérapie est devenue une pratique courante dans le monde entier depuis la dernière partie du vingtième siècle. Cela tient principalement à la reconnaissance de la valeur des pharmacopées traditionnelles et autochtones, à la nécessité de rendre les soins de santé abordables pour tous et à la perception selon laquelle les remèdes naturels sont en quelque sorte plus sûrs et plus efficaces que les remèdes dérivés des produits pharmaceutiques (Ahmad *et al*, 2006).

En Algérie, la phytothérapie fait partie intégrante de la culture locale. La population possède un savoir autochtone important acquis de manière empirique au fil des générations. Sa situation géographique et sa diversité climatique ont permis le développement d'une flore très riche et très diversifiée; qui a été utilisée depuis des temps immémoriaux pour traiter plusieurs maladies (Bouasla *et al*, 2017). L'Algérie est considérée comme l'un des pays les plus riches en termes de diversité végétale avec 3164 espèces de plantes dont les *Lamiaceae* (Benarba *et al*, 2015). Cette famille est l'une des principales familles de plantes dicotylédones, qui comprend environ 258 genres et 6900 espèces tels que le thym, la lavande sauvage et le *Teucrium*; particulièrement répandues depuis le bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale. Le genre *Teucrium* comprend plus de 300 espèces généralement aromatiques poussant à l'état spontané dans diverses régions du globe. Il est largement présent dans le bassin méditerranéen et plus particulièrement en Algérie où sont recensées respectivement 21 espèces (Fertout *et al*, 2017).

Teucrium polium L., plus connue sous le nom de germandrée dorée, est une espèce d'arbuste méditerranéenne appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Cette plante médicinale est utilisée depuis plus de deux mille ans en médecine traditionnelle. Il a été utilisé dans les pays méditerranéens pour traiter de nombreuses maladies telles que les douleurs abdominales, l'indigestion et le diabète. Plusieurs études sur des extraits aqueux et alcooliques de germandrée dorée ont révélé des propriétés antimicrobiennes, hypoglycémiques, antinociceptives et antioxydantes (Fiorentino *et al*, 2011).

Dans ce contexte s'inscrit notre travail dont l'objectif essentiel consiste à l'analyse quantitative du contenu en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique et de l'huile essentielle de *Teucrium polium* et l'étude de l'activité antioxydante et antimicrobienne.

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les plantes médicinales

1.1. Définition

Selon l'Organisation mondiale de la santé, une plante médicinale contient dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs de la synthèse de médicaments utiles.

Les plantes médicinales fournissent aux gens des médicaments pour prévenir les maladies, maintenir la santé ou guérir les maux. La plante médicinale possède des caractéristiques favorables à la santé, procure un soulagement temporaire des problèmes symptomatiques, ou a des propriétés curatives. Les racines, les feuilles, les graines, l'écorce ou toutes les parties d'une plante médicinale possèdent un principe thérapeutique, ou un précurseur de la synthèse de médicaments utiles (Alamgir, 2017).

1.2. Substances naturelles d'origine végétale

Les plantes synthétisent une vaste gamme de composés organiques classifiés traditionnellement comme métabolites primaires et secondaires, bien que les limites précises entre les deux groupes puissent parfois être quelque peu floues (Crozier *et al.*, 2006).

1.2.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires, y compris les glucides, les protéines, les lipides, les acides nucléiques, etc., sont synthétisés dans les plantes par des voies métaboliques primaires. Ils répondent aux besoins de base des activités vitales des plantes et sont donc présents dans toutes les plantes (Alamgir, 2017).

1.2.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des structures chimiques diverses classées en trois groupes: les phénoliques, les terpènes et les stéroïdes, et les alcaloïdes (Alvarez, 2014). Ils sont présents dans certains groupes taxonomiques sélectionnés (pas universellement dans toutes les plantes); apparemment, ils n'ont pas de fonction principale et servent principalement à la fonction défensive (attirer également les agents pollinisateurs) des plantes. Bon nombre d'entre eux sont physiologiquement actifs et sont utilisés comme agents thérapeutiques (Alamgir, 2017).

1.2.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques se caractérisent par le fait qu'ils possèdent au moins un cycle aromatique auquel sont attachés un ou plusieurs groupes hydroxyles (figure 01). Plus de 8 000

structures phénoliques ont été signalées et elles sont largement dispersées dans le règne végétal. Les composés phénoliques vont des composés simples, de faible poids moléculaire, à cycle aromatique unique aux tanins complexes en passant par les polyphénols. Ils peuvent être classés en fonction de l'encombrement et de l'arrangement de leurs atomes de carbone et sont généralement associés aux sucres et aux acides organiques (Crozier *et al.*, 2006).

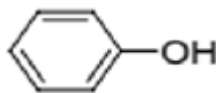


Figure 01- Structure de simple phénol (Pengelly, 2004).

1.2.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques à quinze atomes de carbone, avec deux cycles aromatiques reliés par un pont à trois carbones (figure 02). Ils sont les plus nombreux des composés phénoliques et se retrouvent dans tout le règne végétal. Ils sont présents à des concentrations élevées dans l'épiderme des feuilles et la peau des fruits et jouent un rôle important et varié en tant que métabolites secondaires. Chez les plantes, les flavonoïdes sont impliqués dans divers processus tels que la protection UV, la pigmentation, la stimulation des nodules fixateurs d'azote et la résistance aux maladies (Crozier *et al.*, 2006).

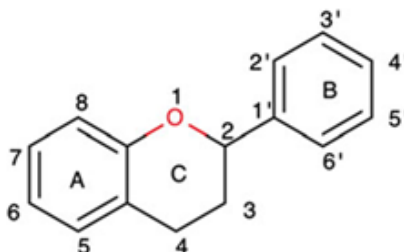


Figure 02 - Structure de base des flavonoïdes (Alvarez, 2014).

Les flavonoïdes ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales : antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation ; certains flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. Les isoflavones, que l'on trouve par exemple dans le trèfle rouge à citron (*Citrus limon*), sont efficaces dans le traitement des troubles liés à la ménopause (Chevallier, 1996).

1.2.2.3. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des principes odorants stockés dans des cellules végétales spéciales - glandes, poils glandulaires, conduits d'huile ou conduits de résine - situées dans n'importe quelle partie d'une plante ou de ses exsudations. Ces huiles sont responsables des arômes distinctifs associés aux différentes espèces de plantes. Elles sont solubles dans l'alcool et les graisses, mais peu solubles dans l'eau. La plupart des huiles essentielles sont incolores, à l'exception de l'azulène, qui est bleue. Lorsqu'elles sont exposées à la lumière et à l'air, elles s'oxydent et se résinifient facilement. On les appelle aussi huiles volatiles, car elles s'évaporent lorsqu'elles sont soumises à la chaleur (Pengelly, 2004). Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie (Chevallier, 1996).

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles montre qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants : des terpénoïdes (les plus fréquents) et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (moins fréquents) (Bencheikh, 2017).

Les huiles essentielles ont de nombreuses propriétés médicinales, susceptibles de répondre à tous les besoins des êtres humains. Elles sont antiseptiques, antibactériennes, anti-infectieuses et cicatrisantes. Elles peuvent souvent remplacer les antibiotiques et sont extrêmement efficaces pour combattre certaines infections pulmonaires, intestinales, cutanées ou urinaires. Les huiles essentielles ont une double action: elles combattent les germes pathogènes sans détruire les tissus sains; elles assainissent et modifient si nécessaire le «terrain» de l'individu traité (Buronzo, 2008).

1.3. Utilisation des plantes médicinales

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement en nature, sous forme de tisanes ou de poudres. Maintenant beaucoup sont présentées en gélules, mais il existe de nombreuses formes d'utilisation des plantes médicinales. Quelle que soit leur présentation, elles jouissent d'un regain d'intérêt largement suscité et entretenu par la publicité ainsi que par d'innombrables ouvrages de vulgarisation. De plus en plus de plantes sont utilisées en mélange. Pour ces préparations, des règles de bonnes pratiques officinales ont été instaurées. De nombreux paramètres sont à respecter comme le nombre de plantes, les associations possibles, la saveur, ou encore le goût qui devra être adapté au client. L'âge du patient et son état devront également être pris en compte. La menthe par exemple, sera évitée chez un patient ulcéreux. Signalons également que de nombreuses plantes s'emploient uniquement en homéopathie. C'est par exemple le cas de la souche *Arum triphyllum* provenant de l'*Arum* à trois feuilles, ou Navet indien, appartenant à la famille des *Araceae*. Elle est utilisée en

dilution dans le traitement des affections respiratoires et du surmenage de la voix. Pour finir il ne faut pas oublier que les plantes médicinales sont aussi utilisées dans la thérapeutique vétérinaire. Citons comme exemple le Serpolet (*Thymus serpyllum* L.) qui est utilisé comme antiseptique, ou contre les entérites et les parasitoses des volailles (Chabrier, 2010).

2. Généralité sur la plante étudiée

Teucrium polium L. est une plante appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Son nom dérive de l'union du termes Grecs «teúcrion», en l'honneur d'un ancien roi troyen qui, selon l'historiographe romain Pliny, fut le premier à l'utiliser à des fins médicales et «poliòn» signifiant gris, blanchâtre ; se référant à la couleur des fleurs (Venditti *et al.*, 2017). Ce genre comprend plus de 300 espèces généralement aromatiques poussant à l'état spontané dans diverses régions du globe. Il est largement présent dans le bassin méditerranéen et plus particulièrement en Algérie (Fertout *et al.*, 2016).

2.1. Description botanique

Teucrium polium est une plante arbustive vivace, très velue-laineuse et très polymorphe d'environ 10 à 35 cm de hauteur, à tiges nombreuses et ramifiées. Les fleurs ont une corolle blanche ou jaune, grappes denses au sommet des rameaux; le calice a la forme d'une cloche avec 5 dents égales plates, triangulaires ou acuminées. Les fruits sont des nucules brun clair à brun foncé avec une surface en treillis. Plante extrêmement variable, suivant le degré de ramification, la couleur des fleurs, celle des poils laineux qui recouvrent toute la plante, on a décrit de très nombreuses sous-espèces, reliées d'ailleurs par tous les intermédiaires etc. La floraison a lieu d'Avril à Juin. Toutes les parties aériennes des plantes ont une odeur agréable et aromatique (Ozenda, 2004 ; Jaradat, 2015).

2.2. Noms et position systématique

Selon Quezel et Santa (1963), *Teucrium polium* est classé comme suit:

Règne	Plantae
Embranchement	Phanérogames
sous Emb	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Teucrium</i>
Espèce	<i>Teucrium polium</i> L.

Cette Lamiacée est connue sous le nom français: Germandrée tomenteuse, et le nom anglais: Felty germander, Ezovion. On reconnaît plusieurs noms vernaculaires Arabes ou Berbères: Kayatta, Djaâda ou Gattaba (Algérie), Timzourin (Berbère-Algerie), Takmazzut (Touaregs-Algerie), Jâaida (Maroc), Elgaslam et Elhelal (Yémen), Hachichet elrih (Liban) (Bendif, 2017).

2.3. Habitat et distribution géographique

Le genre *Teucrium* est un genre important distribué en Europe, en Afrique du Nord et dans les régions tempérées d'Asie, mais principalement dans la région méditerranéenne. Certaines espèces, à savoir *Teucrium polium* L. et *T. orientale* L., sont largement répandues dans les régions steppiques, arides et semi-arides. Il aime le soleil et un sol léger et bien drainé et pousse sur les collines et les sables (Bukhari *et al.*, 2015; Ozenda, 2004). En Algérie, la plante est assez commune dans l'espace méditerranéo-saharien, plus rare au Sahara septentrional et au Tassili, elle pousse dans les lieux rocaillieux et secs, les lits arides, roches et sables (Bendif, 2017).

2.4. Compositions chimiques

Il a été démontré que les plantes appartenant au genre *Teucrium* contiennent différentes classes de composés tels que les esters d'acides gras, les diterpènes, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les flavonoïdes et les polyphénols. Les flavonoïdes qui ont été isolés d'espèces de *T. polium* comprennent la cirsimaritrine, le cirsilol, le cirsilinol, le 5-hydroxy-6,7,3',4'-tétraméthoxyflavone, la salvigénine, l'apigénine 5-galloylglucoside, l'apigénine-7-glucoside, la vicénine-2- et la lutéoline-7-glucoside (Hasani *et al.*, 2007).

Dans l'ensemble, les huiles essentielles de *T. polium* ont été caractérisées par des sesquiterpènes, en particulier, le germacène D (13,8%), le β -eudesmol (8,7%), le bicyclogermacène (4,9%) et le (E) caryophyllène (4,2%) étaient les constituants dominants dans la zone d'extérieur des parties végétatives, tandis que le germacène D (12,5%), le timideobunol (5,6%), le δ -cadinène (4,7%) et le bicyclogermacène (4,6%) étaient les principaux composants volatils dans les fleurs (Bendif *et al.*, 2018).

2.5. Utilisation thérapeutique et industrielle

Les espèces de *Teucrium* sont utilisées comme plantes médicinales depuis plus de 2000 ans, et certaines d'entre elles sont encore utilisées en médecine populaire. Le *Teucrium polium* est utilisé comme remède traditionnel pour traiter divers maux; par exemple, comme antispasmodique, antirhumatismal, carminatif, stimulant, tonique, astringent, vulnérable, et même comme traitement contre le rhume et la stérilité féminine. Traditionnellement, dans les

pays méditerranéens, *T. polium* a été utilisé pour différents types de pathologies, telles que les troubles gastro-intestinaux, les inflammations, le diabète et les rhumatismes. Il est également utilisé comme antibactérien, antiulcéreux, hypotenseur, anorexique et antipyrétique (Bahramikia et Yazdanparast, 2012). Une infusion de ses parties aériennes est utilisée pour les maux de tête, comme vermifuge, dépuratif, et pour traiter les calculs rénaux. L'importance de ce genre dans les industries alimentaires réside également dans le fait que de nombreuses espèces présentent des activités antimicrobiennes, antioxydantes et antifongiques, ce qui les rend utiles en tant qu'ingrédients conservateurs naturels (Menichini *et al.*, 2009; Bendif *et al.*, 2018).

3. Stress oxydatif

Il fait référence au grave déséquilibre existant entre la production de radicaux libres et le système de défense antioxydant, entraînant des lésions des tissus fonctionnels (Ardestani *et al.*, 2008).

3.1. Les espèces réactives d'oxygènes

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont un groupe de molécules hautement réactives importantes pour la signalisation intracellulaire et intercellulaire, y compris, mais sans s'y limiter, l'anion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle (HO). La majorité des ERO endogènes sont produites en tant que sous-produit du transfert d'électrons inefficace au cours de la phosphorylation oxydative dans les mitochondries, où des ERO excessifs peuvent oxyder et endommager de manière irréversible les protéines, les lipides et l'ADN, créant un état pathologique appelé stress oxydatif impliqué dans de nombreuses maladies humaines (Wible *et al.*, 2017).

3.2. Les antioxydants

un antioxydant est "toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations comparée à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat" (Sies, 1997).

Il existe de nombreux systèmes enzymatiques dans les cellules et les fluides corporels permettant de contrôler le niveau d'espèces réactives qui pourraient sinon générer une cascade de produits qui, à leur tour, entraîneraient une attaque des oxydants. Les glutathion S-transférases constituent un groupe important de ces enzymes. Des intermédiaires électrophiles biologiquement réactifs peuvent être formés dans diverses voies métaboliques, notamment celles impliquant le cytochrome, et présentent un intérêt en toxicologie et en pharmacologie (Sies, 1997). Le système antioxydant endogène ne suffit pas et les humains dépendent de

divers types d'antioxydants présents dans leur régime alimentaire pour maintenir les radicaux libres tels que les vitamines C et E, les flavonoïdes et les acides phénoliques (Carocho *et al.*, 2013).

4. Activité antimicrobienne

Les maladies infectieuses sont responsables de 45% des décès dans les pays à faibles revenus et de presque une mortalité prématurée dans le monde entier. Les infections bactériennes représentent 70% des cas de mortalité causées par les microorganismes. Selon le National Institute of Health, les maladies infectieuses représentent la seconde cause de décès et la première cause de perte d'années de vie productives à travers le monde (Pieboji, 2007).

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques est devenue un grave problème de santé public touchant la quasi-totalité des agents antibactériens dans tous leurs champs d'action. Les antibiotiques perdent leur efficacité et les maladies que l'on croyait éradiquées réapparaissent. Des bactéries autrefois sensibles développent donc des résistances à des médicaments jusque-là efficaces. Cette diminution de l'efficacité des moyens de lutte oblige donc à explorer de nouvelles pistes, en synthétisant de nouveaux composés aux vertus bactéricides. La nouvelle démarche consiste à s'intéresser à la recherche de principes actifs dans les produits naturels d'origine végétale, plus particulièrement les métabolites secondaires à savoir les huiles essentielles. Celles-ci issues de plantes aromatique sont utilisées depuis longtemps pour traiter des pathologies et pour améliorer la santé et le bien-être (Bekhechi, 2009).

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

La partie aérienne de la plante étudiée (figure 03) a été récoltée dans les régions de Bou-saada (M'sila) durant le mois d'Avril 2019. Après la récolte, nous avons procédé au séchage à la température ambiante (20-25°C) pendant environ 15 jours à l'air libre. Ensuite, les échantillons ont été récupérés dans des sacs en papier propres et stockés à l'abri de la lumière et d'humidité.



Figure 03- Aspect morphologique de l'espèce *T. polium* L. de la région de récolte.

2. Procédés d'extraction

2.1. Extraction méthanolique par macération

Cinquante g de la plante broyée ont été extraits avec 500mL de méthanol absolu et le mélange a été maintenu sous agitation pendant 24h à température ambiante (figure 4a). L'extrait méthanolique (EM) a été filtré à l'aide d'étoffe de mousseline et le filtrat a été concentré à nouveau à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60°C (figure 04b). L'extrait obtenu a été séché au dessiccateur avant d'être finalement stocké au réfrigérateur avant utilisation. Le pourcentage de rendement de l'extrait a été calculé avant stockage (Atere, 2018).

Le rendement en extrait est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule suivante (Bachiri *et al.*, 2016):

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{M_{\text{Ext}}}{M_{\text{Ech}}} \times 100$$

Où ; M_{Ext} : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.
 M_{Ech} : Masse de l'échantillon végétal en g.

2.2. Extraction de l'huile essentielle (HE)

L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (figure 04 c). La distillation a été effectuée en utilisant 100g de matériel végétal séché et broyé dans 1 L d'eau distillée pendant 3h. Les HEs obtenues ont été conservées dans une petite bouteille en verre ambrée à 4 °C jusqu'à l'utilisation (Aburjai *et al.*, 2006).

Le rendement en HE est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule suivante (Bachiri *et al.*, 2016):

$$\text{Rendement}_{\text{HE}} (\%) = M'/M \times 100$$

Où ; M' : Masse de l'HE obtenue en g.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en g.



Figure 4- Procédés d'extraction : a) Macération, b) Evaporation sous vide, c) Hydrodistillation.

3. Dosage des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénols

Le test de Folin–Ciocalteu (FC) est la méthode la plus répandue pour l'estimation des composés phénoliques totaux. Cette méthode colorimétrique mesure le changement de couleur du réactif FC du jaune au bleu foncé en présence d'antioxydant à 750 nm. L'acide gallique est le standard couramment utilisé (Denys, 2013).

En bref, à 0.1 mL (1mg / mL) d'échantillon, 0.9 mL d'eau distillée et 0.2 mL de réactif FC ont été ajoutés et le mélange résultant a été vortexé. Après 5 minutes de repos, 1mL d'une solution à 7% (w/v) de Na_2CO_3 a été ensuite ajouté et la solution obtenue a été complétée à 2.5 mL avec de l'eau distillée.

La solution a été incubée pendant 90min à la température ambiante, après quoi l'absorbance vis-à-vis d'un contrôle contenant le solvant à 750nm. Le dosage des polyphénols

totaux se fait par comparaison de l'absorbance de chacun des échantillons par rapport à celle obtenue par un étalon qui est l'acide gallique et les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait) ou par g d'HE (mg EAG/g d'HE) (Atere *et al.*, 2018).

3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1972).

Le taux des flavonoïdes dans l'EM et l'HE de *T. polium* a été déterminé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Brièvement, 0.5mL de solution méthanolique de AlCl₃ (2%, w/v) a été mélangé avec le même volume de solution d'EM ou d'HE. Les valeurs d'absorbance des mélanges réactionnels ont été déterminées à 415 nm après une durée de 10 minutes contre un blanc. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g (mg EQ/g) de d'extrait ou par g d'HE (Aktumsek *et al.*, 2013).

4. Evaluation de l'activité antioxydante

4.1. Test de DPPH

Il s'agit d'un dosage spectrophotométrique basé sur le balayage des radicaux DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Il est un test de décoloration qui mesure la capacité des antioxydants à réagir directement avec les radicaux DPPH en surveillant la diminution de l'absorbance à 517nm due à la réduction des antioxydants ou à la réaction avec une espèce radicalaire (R•). Le DPPH est un radical libre stable présentant une absorbance maximale à 517 nm. Cependant, lorsqu'il rencontre un substrat donneur de proton tel qu'un antioxydant, les radicaux sont piégés et l'absorbance est réduite. La réduction de l'absorbance est la mesure du DPPH libre due à l'action de l'antioxydant (Denys, 2013).

Le pouvoir de piégeage des radicaux libres de l'extrait et de l'HE de *T. polium* a été déterminé selon la méthode décrite par Atere *et al.* (2018). Un volume de 500µl de la solution méthanolique de l'extrait ou de l'HE (à différentes concentrations) est mélangé avec 500µl d'une solution méthanolique de DPPH. Dans le contrôle l'EM et l'HE sont remplacés par le méthanol. Le milieu réactionnel est vigoureusement agité puis incubé à l'obscurité pendant 30min à la température ambiante. L'absorbance à 517nm est ensuite mesurée contre un blanc à l'aide d'un

spectrophotomètre. Le BHT est utilisé comme standard et le pourcentage d'inhibition du DPPH est calculé par la formule suivante :

$$I(\%) = [(A_c - A_t) / A_c] \times 100$$

Où $I(\%)$ est le pourcentage d'inhibition ; A_c est l'absorbance du contrôle ; et A_t est l'absorbance de l'échantillon. La concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition (IC_{50}) est calculée à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'EM ou de l'HE.

4.2. Test de blanchiment du β -carotène

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie par spectrométrie à 470 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène. Dans ce test la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Boudjouref, 2011).

La capacité de l'HE et de l'EM de *T. polium* pour empêcher le blanchiment du β -carotène a été étudiée selon la méthode décrite par Aktumsek *et al.* (2013). Brièvement, une solution mère de mélange de β -carotène et d'acide linoléique a été préparée comme suit: 0.5 mg de β -carotène a été dissous dans 1 mL de chloroforme. On a ajouté 25 μ L d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme a été complètement évaporé sous vide. Ensuite, 100 mL d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutés sous agitation vigoureuse; des aliquotes de 1350 μ L de ce mélange réactionnel ont été dispersés dans des tubes à essai et 150 μ L de l'extrait méthanolique ou de l'HE, selon une série de dilution prédéfinie, ont été ajoutés. Après agitation, l'absorbance a été mesurée immédiatement à 470nm et les mélanges ont été ensuite incubés pendant 2 heures à 50°C. La même procédure a été répétée avec le BHT utilisé comme étalon positif. Le méthanol a été utilisé comme contrôle négatif. Enfin, l'absorbance des mélanges (à 470nm) a été à nouveau mesurée après incubation et l'activité antioxydante relative ($I\%$) a été calculée selon la formule suivante :

$$I\% = [(A_t - C_t) / (C_0 - C_t)] \times 100$$

Où A_t et C_t représentent respectivement les valeurs de l'absorbance mesurées pour l'échantillon testé et le contrôle après 120min d'incubation, et C_0 représente la valeur de l'absorbance du contrôle mesurée au début de l'incubation. Les résultats sont exprimés en valeurs d' IC_{50}

(mg/mL); la concentration requise pour provoquer 50% d'inhibition du blanchiment du β -carotène.

5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

5.1. Microorganismes testés

Les bactéries soumises à l'action de l'EM ou de l'HE de *T.polium* sont des bactéries de référence disponibles au niveau de laboratoire de microbiologie du département de Microbiologie et Biochimie: *Proteus mirabilis* ATCC 35659 ; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *S. epidermidis* ATCC 12228; *Bacillus subtilis* ATCC6633; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Salmonella enterica* ATCC 14028; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

Les champignons soumis à l'action de l'EM ou de l'HE sont des champignons disponibles au niveau du laboratoire de microbiologie du département : *Aspergillus niger*; *A. flavus* ; *Penicillium expansum*; *P. digitatum* et la levure *Candida albicans* ATCC 10231.

5.2. Préparation de l'inoculum

Les bactéries ont étéensemencées dans du bouillon nutritif et incubées à 37 °C/18h. Elles sont ensuiteensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 18h, pour optimiser leur croissance. A l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester sont prélevées et puis déchargées dans 9mL d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est bien homogénéisée et son opacité est ajustée à 0.5 de l'échelle de McFarland.

Les champignons sont cultivés sur le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) à 25°C pendant 7jours (Mouria *et al.*, 2005).

5.3. Activité antibactérienne

5.3.1. Test des puits de diffusion

La gélose Muller-Hinton (MHA) stérile a été versée dans chaque boîte de Pétri. Les boites ont étéensemencées selon le procédé d'écouviollange. Un disque de gélose de 7mm a été retiré de la géloseensemencée pour former un puits ; 4 puits ont été effectués. Trois de ces derniers ont été remplis de manière aseptique par 30 μ L d'EM (600mg/mL), et le 4^{ième} a été rempli de DMSO en tant que contrôle négatif. Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 1 heure pour que l'HE puisse diffuser. Après une incubation de 24h à 37 °C, les diamètres des zones d'inhibition de la croissance ont été mesuré en mm (Essawi *et al.*, 2000). La gentamicine (GM) à 10 μ g/disque a été utilisée comme contrôle positif.

5.3.2. Test des disques de diffusion

Ce test est inspiré de l'antibiogramme visant à tester la sensibilité des souches bactériennes par diffusion de l'HE en milieu solide créant ainsi un gradient de concentrations entre le composé et le microorganisme ciblé. Dans des boîtes de Pétri stériles, 20 mL de gélose MH sont coulés et laissés pendant 20 min. Après solidification, 0.1mL de suspension bactérienne a été ensemencé sur toute la surface par écouvillonnage. Des disques en papier Whatman stérile de 9mm de diamètre sont disposés sur la gélose et un volume de 15µL d'HE est introduit sur les disques. L'HE a été remplacée par le DMSO dans les témoins (Ouri *et al.*, 2016).

Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 1 heure pour que l'HE puisse diffuser, et elles ont ensuite été incubées pendant 24h à 37°C. La mesure des diamètres d'inhibition (y compris le diamètre de disque) a été effectuée (trois répétitions) et les valeurs moyennes ont été calculées (Ouis, 2015).

5.4. Activité antifongique

5.4.1. Effet de l'HE et de l'EM sur la croissance mycélienne des champignons

L'analyse de l'activité antifongique *in vitro* sur la croissance mycélienne a été évalué par la méthode des disques de diffusion pour l'HE et la méthode des puits de diffusion pour l'EM. Un disque de mycélium fongique (6mm), découpé de la périphérie d'une culture âgée de 7 jours, a été aseptiquement déposé au centre de chaque boîte de Pétri contenant le Potato Dextrose Agar (PDA) et l'HE et l'EM est déposer sur des disques de papier Whatman stériles (9mm) et dans des puits (7mm) respectivement. L'HE et l'EM ont été remplacés par le DMSO dans les témoins. Les boites ont été incubées à 25 °C pendant 7 jours. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne par rapport au témoin a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition mycélienne (\%)} = ((A - B)/A)*100$$

Où **A** est le diamètre moyen des colonies pour les ensembles de contrôle et, **B** est le diamètre moyen des colonies pour les ensembles de traitement.

L'efficacité des traitements a été évaluée en mesurant la croissance diamétrale moyenne des colonies au 2^{ième}, 5^{ième} et 7^{ième} jour après l'inoculation (Sharma *et al.*, 2016)

5.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) se définit comme la plus faible concentration de l'EM ou de l'HE pour inhiber la croissance visible des bactéries (Cuia *et al.*, 2018).

Les valeurs de la CMI ont été étudiées pour les souches bactériennes, car elles étaient sensibles à l'huile essentielle et/ou à l'EM. Les inoculum des souches bactériennes ont été

préparés à partir de cultures en bouillon de 12h et les suspensions ont été ajustées à la turbidité 0.5 de l'échelle McFarland. L'HE et l'EM ont tout d'abord été dissous dans du DMSO à 10%, et dans le bouillon nutritif, puis des séries de dilutions au demi ont été effectuées dans une gamme de concentrations allant de 3.9 à 500 mg/mL pour l'EM et de 0.78 à 100 µL/mL pour l'HE dans de petits tubes stériles contenant du bouillon nutritif. Les valeurs de CMI des extraits vis-à-vis des souches bactériennes et des isolats de *Candida albicans* ont été déterminées sur la base d'une méthode de dilution par micropuits. En bref, les plaques à 96 puits ont été préparées en répartissant dans chaque puits 95 µL de bouillon nutritif et 5 µL d'inoculum. Dans les premiers puits, on a ajouté des aliquotes de 100µL à partir des solutions mères d'HE et d'EM initialement préparés. Ensuite, 100 µL de leurs dilutions en série ont été transférés dans les huit puits consécutifs. Le dernier puits contenant 195µL de bouillon nutritif sans extrait et 5 µL d'inoculum a été utilisé comme témoin négatif. Le volume final dans chaque puits était de 200 µL. La plaque était recouverte et scellée, puis incubée aux températures appropriées pendant 24 h (Soken *et al.*, 2004).

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en HE ou en EM capable de tuer plus de 99.9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0.01 % de survivants). Afin de déterminer cette concentration, 0.1mL de chaque puits dans lequel aucune croissance n'est observée est ensemencé sur gélose nutritive puis incubé à 37°C pendant 24h. Les concentrations, dans les boîtes qui ne présentent aucune croissance, sont considérées comme CMB (Bachiri *et al.*, 2016).

6. Analyse statistique

Toutes les analyses de l'activité antioxydante sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par Analyse de la Variance (ANOVA) one way, permettant de calculer les moyennes et les écarts types. Les comparaisons statistiques ont été faites au moyen du test de Dunnett. Pour l'ensemble des données, la significativité a été admise avec une erreur de 5% ($P \leq 0.05$). Le logiciel utilisé est GraphPad Prism (7.0.0.0) pour Windows.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

1. Rendement de la plante

Dans ce travail, à partir de 50g des parties aériennes de *T. polium* et après évaporation du méthanol, un extrait visqueux de couleur vert foncée est récupéré; le rendement est de 15.56 %. Ce taux est assez proche de celui obtenu par Sharififar *et al.* (2009) (14.9%), mais faible par rapport à celui obtenu par Boumerfeg *et al.* (2012) (20.07%). Le rendement est dépendant de plusieurs facteurs à savoir le temps de macération, la température, le solvant d'extraction ainsi que son volume.

L'HE obtenue par hydrodistillation, de rendement 0.635%, était de couleur jaunâtre avec une très forte et persistante odeur. Ce rendement peut être considéré proche du moyen par rapport à d'autres régions en Algérie ; 1.66% de la région Tessala (Sidi Bel Abbès) (Fertout *et al.*, 2017), 0.21% (Tlemcen) (Belmekki *et al.*, 2013), 1.7% (Ain Mlila) (Kabouche *et al.*, 2007), ou d'autres régions méditerranéennes ; 0.8 % en Jordanie (Aburjai *et al.*, 2006).

Ces variations peuvent être dues à plusieurs facteurs, notamment le degré de maturité des fleurs, l'interaction avec l'environnement (type de sol et température), le moment de la récolte et la méthode d'extraction (Fertout *et al.*, 2016).

2. Dosage des composés phénoliques de la plante

La méthode de FC a été choisie pour doser les polyphénols pour les raisons suivantes ; (i) c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, (ii) la disponibilité du réactif de Folin-Ciocalteu et la méthode est bien standardisée, (iii) la longueur d'onde maximum (765 nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est coloré (krache, 2015). Les résultats obtenus des polyphenols sont exprimés en mg EAG/g en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Annexe I).

La détermination des taux de flavonoïdes selon la méthode de $AlCl_3$, dont la quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage (Annexe I), d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes d'EM et l'HE qui est exprimé en μg EQ/g d'EM ou d'HE.

Les résultats obtenus montrent que la teneur en polyphénols totaux (TPT) et la teneur en flavonoïdes totaux (TFT) de l'EM est plus élevée que celle de l'HE (figure 5). Les TPT et TFT obtenues dans la présente étude sont très élevées par rapport a celles obtenues par Khaled-Khodja *et al.* (2014) dans une étude menée au nord-est de l'Algérie où les teneurs sont 45.65mg EAG/g et 10.98 mg QE/g respectivement. De même, la même plante poussant au Tlemcen (Algeria) a présenté des teneurs faibles en polyphenols et flavonoides, 3.810 mg EAG/g et 3.2 mg QE/g (Belmekki *et al.*,2012).

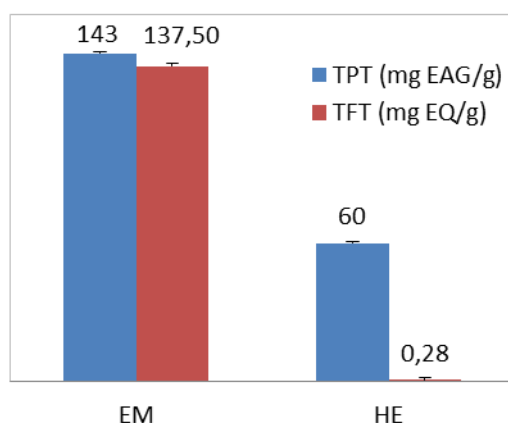


Figure 5. Teneurs en PT et en FT de l'EM et de l'HE de *T. polium*.

3. Activité antioxydante

3.1. Test de DPPH

Le test de réduction du radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation des activités antioxydantes. Le DPPH est un radical libre qui accepte un électron ou un atome d'hydrogène pour devenir une molécule stable non radicalaire. La capacité de réduire ce radical est déterminée par la diminution de l'absorbance à 517 nm induite par la substance étudiée.

D'après le test DPPH, l'EM testé a montré une activité antioxydante importante proche du témoin positif (Tableau 01) et beaucoup plus importante que celle de l'HE de la même plante (Annexe II).

Tableau 1- Les valeurs IC_{50} (mg/mL) de l'EM, de l'HE de *T. polium* et du standard BHT dans le test de DPPH.

	BHT	EM	HE	HE [#]
IC_{50} (mg/mL)	0.02±0.001 ^a	0.035±0.002 ^a	10.46±0.7 ^b	11.42±0.8

* les valeurs ayant la même lettre ne présentent pas de différences significatives selon l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA) suivie par le test de comparaisons multiples de Dunnett, $p < 0.05$.

[#] la valeur est exprimée en $\mu\text{l/mL}$.

En fait, des études antérieures réalisées par Sharififar *et al.* (2009) ont montré que l'EM de *T. polium* présente une très importante activité antiradicalaire vis-à-vis du BHT (IC_{50} de $20.1 \pm 1.7 \mu\text{g/mL}$ vs $18.3 \pm 1.9 \mu\text{g/mL}$, respectivement) ; Aouadhi *et al.* (2013) ont également étudié l'activité antioxydante de l'EM de la même espèce et ont mentionné une IC_{50} de $21 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$.

L'HE a montré une activité de piégeage de DPPH assez faible ($IC_{50} = 10.46 \pm 0.07$); De plus, des études antérieures par El Atki *et al.* (2019) ont montré une activité significative de piégeage des radicaux libres des HE de *T. polium* poussant au Maroc avec $IC_{50} = 7.2 \pm 0.55$ mg/mL.

La différence peut être liée à la polarité des solvants d'extraction et/ou aux conditions climatiques des zones de collection. En plus les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange fait que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (Falleh *et al.*, 2008). Ce qui devrait être pris en considération dans l'activité biologique.

3.2. Test de blanchiment du β -carotène

Le test du β -carotène/acide linoléique est une méthode utile pour évaluer l'activité inhibitrice de la peroxydation lipidique d'extraits de plantes. Le tableau 02 montre la capacité antioxydante d'extrait méthanolique et l'HE de *T. polium* mesurée par blanchiment du β -carotène.

Dans ce test, l'HE de *T. polium* présentait une activité d'inhibition meilleure que celle de son l'EM, mais les 02 extraits sont faibles par rapport au BHT (BHT > HE > EM), Annexe III.

Tableau 2- Les valeurs IC_{50} (mg/mL) de l'EM, de l'HE de *T. polium* et du standard dans le test de blanchiment du β -carotène.

	BHT	EM	HE	HE [#]
IC_{50} (mg/mL)*	0.006±0.00 ^a	2.9±0.3 ^b	1.8±0.4 ^c	1.99±0.44

* les différentes lettres indiquent une différence significative selon l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA) suivie par le test de comparaisons multiples de Dunnett, $p < 0.05$.

[#] la valeur est exprimée en μ l/mL

Les composés phénoliques de cette espèce sont les responsables majeurs de ses potentialités antioxydantes. Cette activité ne dépend pas seulement de la concentration en composés phénoliques mais aussi de la structure et de l'interaction entre les différents composés antioxydants (Bettaieb *et al.*, 2017).

4. Activité antimicrobienne

4.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'HE et l'EM de *T. polium* est évaluée par la méthode des disques et des puits de diffusion respectivement. Les diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes sont exprimés en mm après 24 h d'incubation à 37 °C (Tableau 03).

Sachant que, le DMSO (solvant) a été testé comme contrôle négatif, les résultats montrent que le solvant ne présente aucun effet sur la croissance des souches bactériennes et l'antibiotique

(la gentamicine) utilisé comme contrôle positif présente un effet d'inhibition sur la croissance presque de toutes les souches testées.

Les résultats obtenus (figure 06), montrent que l'huile essentielle de *T. polium* a une activité élevée contre *S. aureus* ATCC 25923, et a une action moindre contre *S. epidermidis* ATCC 12228, *E. coli* ATCC25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 700603 et aucun effet sur *S. enterica* ATCC14028, *P. mirabilis* ATCC35659, *B. subtilis* ATCC 6633.

Tableau 3- Diamètres des zones d'inhibition illustrant l'activité antibactérienne de l'HE (15µL/disque) et de l'EM (600mg/mL) de *T. polium* et la Gentamicine GM (10µg/ disque).

Souches testées	Zone d'inhibition (mm)		
	HE	EM	GM
<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	+	+	24
<i>S. enterica</i> ATCC 14028	+	12.66±0.57	21
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	32.16±0.50	14.16±0.57	26
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	13.16±1.04	11.50±0.70	22
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	+	+	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10.83±0.76	9.75±1.06	15
<i>E. coli</i> ATCC 25922	11.00±0.00	13.00±0.50	26
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	12.00±0.00	+	21

+ croissance totale
- n'est pas testée

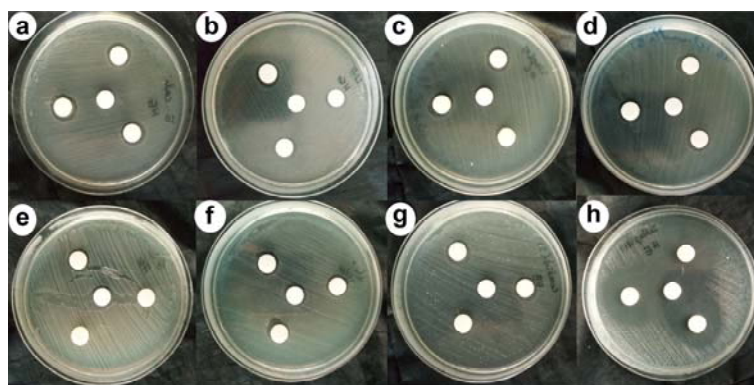


Figure 6- Effet de l'HE de *T. polium* (15µl/disque) sur les différentes souches testées.
a) *E.coli*; b) *S.epidermidis*; c) *B. subtilis*; d) *S.enterica* e) *K. pneumoniae* ; f) *P. aeruginosa*; g) *P.mirabilis* ; h) *S. aureus*.

Des recherches antérieures sur d' HE de *T. polium* par Lograda *et al* (2014) ont également constaté une activité élevée contre *E. coli* et *S. aureus*.

L'activité antibactérienne de l'EM a été relativement significative contre 5 souches parmi les huit testées : *S. epidermidis* ATCC12228, *S. enterica* ATCC14028, *E. coli* ATCC25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853. Les bactéries *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. mirabilis* ATCC35659 et *B. subtilis* ATCC 6633 paraissent résistantes (figure 07).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Darabpour *et al.* (2010) où l'EM de la plante une activité antimicrobienne notamment sur *E.coli*, *S. aureus* et une résistance est observée avec *P. mirabilis*. La résistance observée pourrait être due à la perméabilité de la membrane cellulaire ou à d'autres facteurs génétiques.

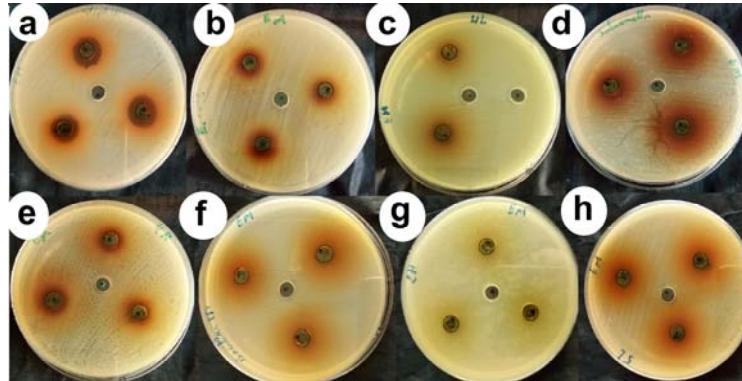


Figure 7. L'effet de l'EM de *T. polium* (600mg/mL) sur les différentes souches testées. a) *S.aureus*; b) *E.coli*; c) *P. aeruginosa*; d) *S.enterica*; e) *S.aureus* f) *B.subtilis* ; g) *Proteus mirabilis*; h) *K. pneumoniae*

4.2. Activité antifongique

L'activité antifongique de l'EM et de l'HE de *T. polium* a été étudiée vis-à-vis de 04 moisissures et une levure en utilisant le milieu PDA. L'effet des extraits de *T. polium* sur la levure *Candida albicans* ATCC 10231 a été évalué par la méthode de disques de diffusion pour l'HE et par la méthode des puits de diffusion pour l'EM comme décrit ci-dessus pour les bactéries.

Les résultats obtenus ont démontré que l'EM et l'HE de la partie aérienne de *T. polium* a un effet inhibiteur sémi-laire sur la croissance de *C. albicans* avec une zone d'inhibition de 12.50 ± 0.00 mm pour l'EM et 12.16 ± 1.04 mm pour l'HE (figure 08).

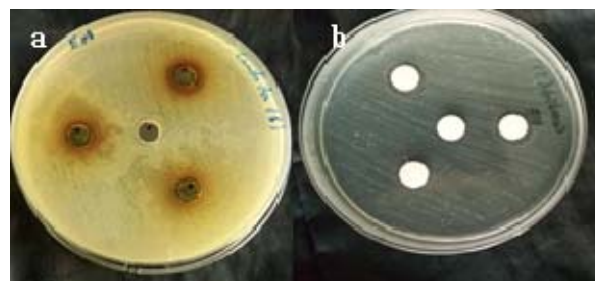


Figure 8- Effet de *T. polium* sur *C. albicans* : (a) EM (600mg/mL) ; (b) HE (15µl/disque)

Contrairement à nos résultats, Darwish et Aburjai (2010) n'ont enregistré aucune activité antimicrobienne de l'EM de la *T. polium* sur *C. albicans*.

Des recherches antérieures par Kerbouche *et al.* (2015) ont également constaté a un effet inhibiteur d'HE sur la croissance de *C. albicans* avec une zone d'inhibition de 13.7 ± 0.6 mm.

4.2.1 Effet de l'HE et de l'EM sur l'aspect filamenteux des champignons

En general, l'HE et l' EM appliqués par les différentes méthodes, ont réduit la croissance des champignons testés. L'HE a réduit significativement ou a complètement inhibé la croissance de certaines moisissures testées.

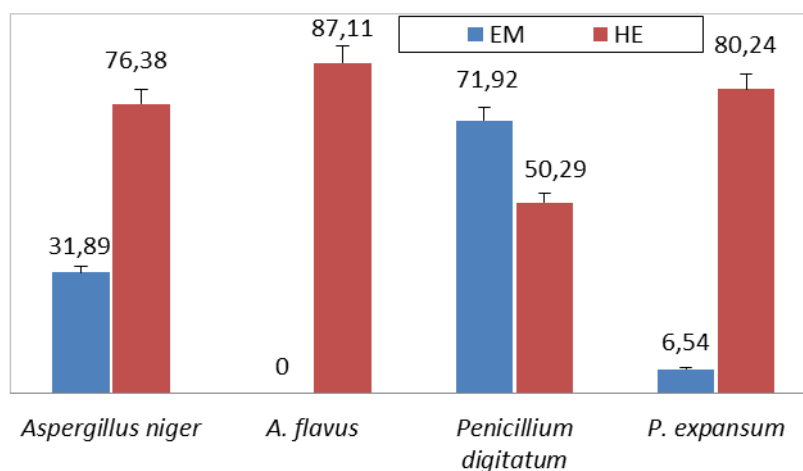


Figure 9- Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne provoqué par l'HE et l'EM de *T. polium* au 7^{ème} jour d'incubation.

Les résultats obtenus (figure 10) montrent que l'HE de *T. polium* a provoqué une inhibition très importante sur toutes les moisissures testées avec un pourcentage d'inhibition qui varie de 50.29% à 87.11% . *Penicillium. digitatum* est le plus sensible à la concentration de 15µl/mL en HE avec une inhibition complète. L'effet remarquable de l'HE de la plante peut être attribué à sa richesse en composés chimiques différents (Asdadi *et al.*, 2016).

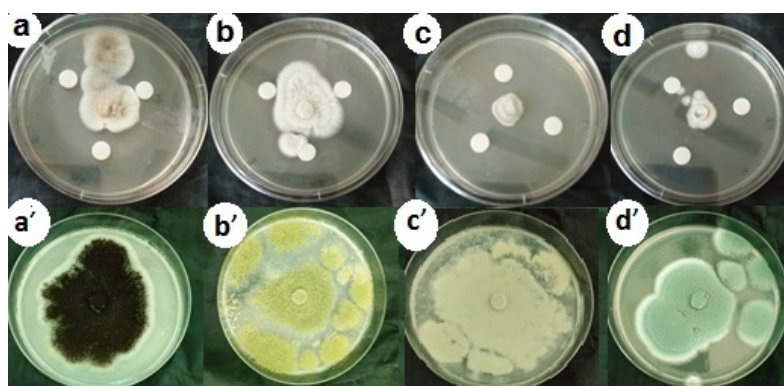


Figure 10- Effet de l'HE de *T. polium* sur la croissance mycélienne des moisissures : (a) *A. niger* ; (b) *A. flavus* ; (c) *P. digitatum* ; (d) *P. expansum* ; (a',b',c',d') les contrôles respectivement.

Les résultats obtenus par belmekki *et al.*(2013) montre que 10 μ L d'HE a un effet faible sur *Aspergillus Flavus*, *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifer* avec un pourcentage d'inhibition de 25.9,10.53,0 respectivement.

L'EM de *T. polium* appliqué par la technique des puits a présenté un effet inhibiteur qui varie de 0.00 % à 71.92%. *Penicillium expansum* est le plus résistant à 600mg/mL avec un pourcentage d'inhibition de 6.54% et le champignon le plus sensible est *P. digitatum*.

Des études réalisés par mahmoud *et al.* (2011) ont enregistré une activité inhibitrice significative sur *Aspergillus niger* et *A.parasticus* avec un pourcentage 67.4 et 61 respectivement.

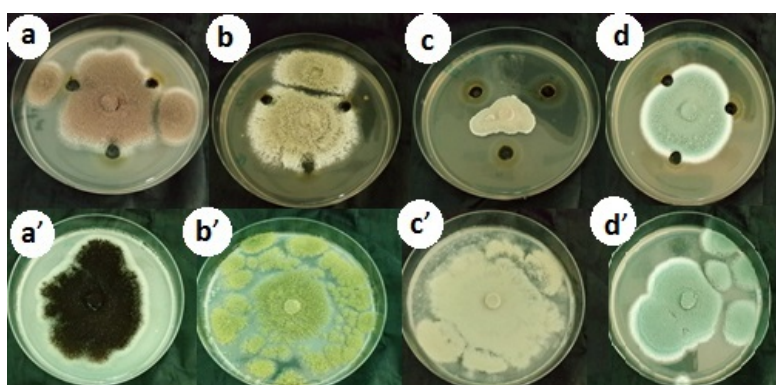


Figure 11- Effet de l'EM de *T.polium* sur la croissance mycélienne des moisissures : (a) *A. niger* ; (b) *A. flavus* ; (c) *P. digitatum* ; (d) *P. expansum* ; (a',b',c',d') les contrôles respectivement.

4.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Des données plus précises sur les propriétés antibactériennes ont été obtenues par la détermination des concentrations bactériostatiques et bactéricides. Les valeurs des CMI et CMB de l'EM et de l'HE de *T. polium* sont présentées dans le tableau 04.

Tableau 4- Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) ou levuricide (*) de l'EM et de l'HE de *T.polium*.

Souches testées	CMI (mg/mL)		CMB (mg/mL)	
	EM	HE	EM	HE
<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	62.5	22.9	125	45.83
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	62.5	5.72	125	22.9
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	62.5	11.45	125	22.9
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	31.25	11.45	125	45.83
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	62.5	11.45	125	45.83
<i>E. coli</i> ATCC 25922	62.5	11.45	250	-
<i>S. enterica</i> ATCC 14028	31.25	11.45	125	22.9
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	125	11.45	250	45.83
<i>C. albicans</i> ATCC 10231 *	62.5*	11.45*	125*	22.9*

- : toutes les concentrations utilisées ne sont pas bactéricides.

L'huile essentielle de *T. polium* s'est révélé très efficace pour inhiber la croissance de toutes les bactéries testées. En fait, les valeurs de CMI et de MBC pour les microorganismes testés étaient comprises entre 5.72 et 22.9 mg/mL et 22.9 à 45.83 mg/ mL, respectivement.

La valeur de CMI mentionnée par Fertout-Mouri *et al.* (2017) est de l'ordre de 31.25µg/mL et enregistrée pour *S. aureus*. Cette concentration peut être considérée, comme très forte (< 500 µg/mL).

Cette forte capacité des HEs est due principalement aux terpènes qui constituent les principaux composants des HEs; ainsi, des recherches sur les effets des terpénoïdes sur la membrane bactérienne isolée suggèrent que cette activité est due à des propriétés lipophiles des terpènes, à la puissance de leurs groupements fonctionnels et à leur solubilité aqueuse. Plusieurs processus comprenant l'inhibition du transport des électrons, la translocation des protéines, la phosphorylation et d'autres réactions enzymatiques peuvent avoir lieu. En outre, l'activité antibactérienne des extraits de plantes dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, la période de récolte, les conditions édaphoclimatiques, la méthode d'extraction, la composition chimique, ainsi que les types de microorganismes testés et les conditions de réalisation des tests (Bachiri *et al.*, 2016).

L'EM semble avoir une activité antimicrobienne contre tous les microorganismes testés. La CMI de l'EM est comprise entre 31.25 et 125mg/mL. Les deux bactéries *B. subtilis* et *S. enterica* sont les plus sensibles à l'action de l'EM avec une CMI de l'ordre de 31.25 mg/mL ; alors que *K. pneumoniae* exige une CMI élevée (125mg/mL). La valeur de la CMB la plus élevée est enregistrée pour *K. pneumoniae* et *E. coli* ; elle est de 250mg/mL.

Des études antérieures portant sur la même plante récoltée en Iran et en Jordanie ont révélé que l'extrait méthanolique de *T. polium* constituait une source d'agent antimicrobien, mais il existe souvent d'importantes variations dans l'intensité des activités antimicrobiennes. Par exemple, Darabpour *et al.* (2010) ont démontré que l'extrait méthanolique de *T. polium* de l'Iran inhibait la croissance de plusieurs bactéries avec différentes CMI. Cet extrait inhibait la croissance de *S. aureus*, *S. typhimurium* avec une CMI de 40 mg/mL. De plus, 10 mg/mL représentent également la CMB contre *B. anthracis*. En Jordanie, Tarawneh *et al.* (2010) ont démontré que l'extrait méthanolique de *T. polium* était actif contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives et que l'activité inhibitrice la plus élevée était observée contre *E. coli* (CMI = 1.2 mg/mL), tandis que l'effet antimicrobien le plus faible a été observé contre *P. aeruginosa* (CMI = 2.4 mg/mL) et *S. aureus* (CMI = 2.2 mg/mL).

CONCLUSION

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le but de la valorisation d'une des plantes de la famille lamiacées, l'une des familles les plus importantes dans la flore de l'Algérie, nous avons effectué un travail permettant à contribuer à la mise en évidence des activités biologiques de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L.; une lamiacée issue de la région de Bou Sâada.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antioxydants et antimicrobiens ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les différents extraits en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante. L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement actives. Une étude *in vivo* est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits de cette plante.

REERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aburjai, T., Hudaib, M., Cavrini, V., (2006).** Composition of the Essential Oil from Jordanian Germander (*Teucrium polium* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 18:1, 97-99. DOI: 10.1080/10412905.2006.9699398
- Ahmad , I., Aqil, A. , Owais, M., (2006).** *Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs.* WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. 384p. ISBN-13: 978-3-527-31530-7
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S., Duran, A., (2013).** Assessment of the antioxidant potential and fatty acid composition of four *Centaurea* L. taxa from Turkey. *Food Chemistry*, 141 (2013) 91–97. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.092>
- Alamgir, A.N.M.(2017).** *Therapeutic Use of Medicinal Plants and their Extracts : Pharmacognosy.* Springer International Publishing.546p. ISBN : 978-3-319-63861-4
- Alvarez, M.,(2014).** *Plant Biotechnology for Health : From Secondary Metabolites to Molecular Farming.* Springer International Publishing Switzerland.161p .ISBN 978-3-319-05771-2
- Aouadhi, C., Ghazghazi, H., Hasnaoui, B., Maaroufi, A., (2013).** SecondaryMetabolite, antioxidant and AntibacterialActivities of *Teucrium polium* L MethanolicExtract. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, Vol., 4 (8),1790-1797, 2013. ISSN 2051-1914
- Ardestani, A.,Yazdanparast, R., Jamshidi, SH., (2007).** Therapeutic Effects of *Teucrium polium* Extract on Oxidative Stress in Pancreas of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *JOURNAL OF MEDICINAL FOOD*, 11 (3) 2008, 525–532. DOI: 10.1089/jmf.2006.0230
- Asdadi, A., Hamdouch, A., Gharby, S., Moutaj, R., Chebli, B., Idrissi hassani, L.-M., (2016).** Reveal antifungal activities of essential oils from *Lavandula dentata* L. a way of valuing the arganeraie. *Der Pharma Chemica*, 8 (3) : 249-253. ISSN 0975-413X
- Atere, T.G., Akinloye, O.A., Ugbaja, R.N., Ojo, D.A., Dealtry, G. (2018).** In vitro antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer* leaf. *Food Science and Human Wellness*, 7 (2018) 266–272.
- Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibijbijen, J., Nassiri, L., (2016).** Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 12 (30): 313-333. DOI : 10.19044/esj.2016.v12n30p313
- Bahramikia, S., Yazdanparast, R ., (2012).** Phytochemistry and Medicinal Properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). *Phytotherapy research*. DOI: 10.1002/ptr.4617
- Bekhechi, Ch., (2009).** Analyse (les huiles essentielles de quelques espèces aromatiques I (le la région de Tlemcen) et étude de leur pouvoir antibactérien. Thèse de Doctorat en Biologie Moléculaire et Cellulaire, spécialité : Biochimie. Tlemcen, Université Abou bakr Belkaïd.241p.
- Belmekki, N., Bendimerad, N. , (2012).** Antioxidant activity and phenolic content in methanol crude extracts from three Lamiaceae grown in southwestern Algeria.. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 2012, 2 (1):175-181. ISSN : 2231 – 3184
- Belmekki,N., Bendimerad,n., Bekhechi,C., Fernandez, X.,(2013).** Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. *Journal of medicinalplants research*, Vol. 7(14), pp. 897-902.

- Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bekkar, A., Elouissi, M., Khaldi, A., Hamimed, A., (2015).** Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.030>
- Bencheick, S., (2017).** Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium ssp Aurasianum Labiatae*. Thèse de Doctorat en Sciences appliquées, spécialité : génie des procédés et environnement. Ouargla, université KASDI MERBAH.98p.
- Bendif, H., (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse pour l'obtention du Doctorat en Sciences Biologiques, spécialité : biotechnologies végétales. Alger, L'école Normale Supérieure de Kouba, 145 p
- Bendif, H., Lazali, M., Souilah, N., Miara, M., Kazernavičiūtė, R., Baranauskienė, R., Venskutonis, P., Maggi, F., (2018).** Supercritical CO₂ extracts and essential oils from *Teucrium polium* L. growing in Algeria: chemical composition and antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Research*, 15 (3): 110–114. ISSN: 1041-2905 (Print) 2163-8152. DOI : <https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1493406>
- Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Saidani Tounsi, M., Fauconnier, M.-L., Ksouri, R., (2017).** Etude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des différents extraits de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 39(2) : 2096-2105. ISSN : 2286-5314
- Bouasla, A., Bouasla, I., (2017).** Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine*, 7113(17)30122-8. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.09.007
- Boumerfeg, S., Baghiani, A., Djarmouni, M., Ameni, D., Adjadj, Charef, N., Khennouf, S., Arrar, L., (2012).** Inhibitory Activity on Xanthine Oxidase and Antioxidant Properties of *Teucrium polium* L. Extracts. *Chinese Medicine*, 2012, 3, 30-41. DOI:10.4236/cm.2012.31006
- Bukhari, N., Al-Otaibi, R., Ibrahim, A., (2015).** Biodiversity characteristics of *Teucrium polium* species in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22, 181–185. DOI : 10.1016/j.sjbs.2014.11.00
- Buronzo, A.M., (2008).** *Grand guide des huiles essentielles*. Hachette Pratique. 256 p .ISBN: 2012373623
- Carocho, M., Ferreira, I., (2012).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51 (2013) 15–25. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>
- Chabrier, J., (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie. France, Université HENRI POINCARÉ - NANCY 1. 173p.
- Crozier, A., Clifford, M.-N., Ashihara, H., (2006).** Plant Secondary Metabolites : Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. 1 éd. Blackwell Publishing Ltd, 353p. ISBN : 978-1-4051-2509-3
- Cui, H., Pan, H.W., Wang, P.H., Yang, X.D., Zhaia, W.C., Dong, Y., Zhou, H.L., (2018).** Essential oils from *Carex meyeriana* Kunth: Optimization of hydrodistillation extraction by response surface methodology and evaluation of its antioxidant and antimicrobial activities. *Industrial Crops et Products*, 124(2018)669-676. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.041>
- Darabpour, E., Motamedi, H., Seyyed, M., Seyyed, N., (2010).** Antimicrobial properties of *Teucrium polium* against some clinical pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 124-127.
- Darwish, R.M., Aburjai, T.A., (2010).** Antimicrobial Activity of some Medicinal Plants against Different *Candida* Species. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, Volume 4, No. 1, 2011
- Denys, C., (2013).** *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. Springer, Germany. 612p. ISBN 978-1-4614-4310-0

- El atki, A., Aouam , I., El Kamari, F.,Taroq, A., Lyoussi, B., Oumokhtar, B., Abdellaoui, A., (2019).** Phytochemistry, antioxidant and antibacterial activities of two Moroccan *Teucrium polium* L. subspecies: Preventive approach against nosocomial infections. *Arabian Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.04.001>
- Essawi, T., Srour, M., (1999).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70 (2000) 343–349. DOI : [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00187-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00187-7)
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C., (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331 : 372–379. DOI : [10.1016/j.crv.2008.02.008](https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.02.008)
- Fertout-mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., Bengherraz, Z. , (2016).** Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, (2017) 15:346-353. DOI : [10.1007/s10298-016-1048-1](https://doi.org/10.1007/s10298-016-1048-1)
- Fertout-Mouri, N., Latrèche, A., Mehdadi, Z., Toumi-Bénali, F., Khaled, M.B.,(2016).** Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Teucrium polium* L. of Tessala Mount (Western Algeria). *Phytothérapie*, 15:346-353. DOI [10.1007/s10298-016-1048-1](https://doi.org/10.1007/s10298-016-1048-1)
- Fiorentino, A., Abrosca, B, Pacifico, S., Scognamiglio, M., D’Angelo, G.,Gallicchio, M. , Chambery,A., Monaco, P.,(2011).** Structure elucidation and hepatotoxicity evaluation against HepG2 human cells of neo-clerodane diterpenes from *Teucrium polium* L. *Phytochemistry*, 72 (2011) 2037–2044. doi:[10.1016/j.phytochem.2011.07.006](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.07.006)
- Jaradat ,N., (2015).** Review of the taxonomy, ethnobotany, phytochemistry, phytotherapy and phytotoxicity of germander plant(*Teucrium polium* L.). *Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research*, Vol 8, Issue 2, 2015 ISSN - 0974-2441
- Kabouche, A., Kabouche , Z., Ghannadi, A., Sajjadi, S. E., (2007).** Analysis of the Essential Oil of *Teucrium polium* ssp. *aurasiacum* from Algeria, *Journal of Essential Oil Research*, 19:1, 44-46, DOI: [10.1080/10412905.2007.9699227](https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699227)
- Kerbouche, L., Hazzit,M., Ferhat, M.A., Baaliouamer, A., Miguel, M.G., (2015).** Biological Activities of Essential Oils and Ethanol Extracts of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq. and *Origanum floribundum* Munby, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18:5, 1197-1208, DOI: [10.1080/0972060X.2014.935065](https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.935065)
- Khaled-Khodja, N., Boulekbache-Makhlouf , I., Madani, Kh.,(2014).** Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial Crops and Products*, 61 (2014) 41–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.037>
- Krache, I.,(2015).** Effets anti-inflammatoire, antioxydants et toxiques de l’extrait de *Teucrium polium* L. Thèse de Doctorat en Sciences, spécialité : Biochimie. Sétif, Université ferhat abbas sétif 1.113p.
- Lograda,T.,Ramdani,M.,Chalard,P.,Figueredo,G.,Deghar,A.,(2014).**Chemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Teucrium polium* L. Essential Oil from Eastern Algeria. *American Journal of Advanced Drug Delivery*, 697-710
- Mahmoud,M., Al-Ameri,S., Abbas,S.,(2011).** Extraction, Identification and Antimicrobial Activity of Some Phenolic Acids As Antioxidants in *Teucrium polium* Plant.*Karbala Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- Menichini, F., Conforti, F., Rigano, D., Formisano, C., Piozzi , F., Senatore, F. , (2008).** Phytochemical composition, anti-inflammatory and antitumour activities of four *Teucrium* essential oils from Greece. *Food Chemistry*, 115 (2009) 679–686. DOI: [10.1016/j.foodchem.2008.12.067](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.067)

- Mouria, C., ouazzani Touhami, A., Badoc, A., Douira, A., (2005).** Effet de diverses farines sur la compétitivité des inoculums de trois souches de *Trichoderma* vis-à-vis des champignons phytopathogènes du sol. *Bull. Soc. Pharm* , 144 : 211-224
- Ouis, N., (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de Doctorat en Sciences, spécialité : chimie organique. Oran, Université d'Oran 1, 198p
- Ozenda, P.,(1977).** *Flore du Sahara*. 2^{ème} édition. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. 621p. ISBN: 2222002923
- Parisa, H., Nargues, Y., Sanaz, V., Azadeh, M., Gholamreza, D., Abdollahi, M., (2007).** In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to α -tocopherol. *Acta Pharm.* 57 (2007) 123–129.
- Pengelly, A., (2004).** *The Constituents of Medicinal Plants* : An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine. 2nd edition, CABI Publishing. ISBN 1 74114 052 8.
- Pieboji, J., (2007).** caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de Doctorat en biochimie. Belgique , Université de Liège. 104p.
- Quezel, P., Santa, S., (1963).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Centre de la recherche scientifique. Paris. 1170p.
- Ribéreau-Gayon , J., Peynaud, M., Ribéreau-Gayon, P., Sudraud, P., (1972).** Sciences et techniques du vin. 1 éd. Paris, Dunod, 671p. ISBN : 2040013245 9782040013240
- Shariffifar, F., Dehghn-Nudeh, Gh., Mirtajaldini, M., (2009).** Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L.. *Food Chemistry*, 112 (2009) 885–888. doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.064
- Sharma, A., Rajendran, S., Srivastava, A., Sharma, S., Kundu, B.,(2016).** Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.09.011>
- Sies, H.,(1996)** . Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *experimental Physiology* (1996), 82, 291 295
- Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, A.-H., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M., Sahin, F., (2004).** The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15 : 627–634. DOI : 10.1016/j.foodcont.2003.10.005
- Tarawneh, KA., Irshaid , F., Adnan, SJ., Ezealarab, M., Khleifat, K. M.,(2010).** Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Activities of Methanolic Extracts of Some Medicinal Plants in Northern Part of Jordan. *Journal of Biological Sciences*. 10(4): 325-332 .
- Venditti, A., Frezza, C. , Trancanella, E., Majd Zadeh, S. , Foddai ,S., Sciubba , F., Delfini, M., Serafini , M., Bianco,A., (2017).** A new natural neo-clerodane from *Teucrium polium* L. collected in Northern Iran. *Industrial Crops and Products*, 97 (2017) 632–638. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.010>
- Wible, D., Bratton, Sh., (2017).** Reciprocity in ROS and autophagic signaling. *Current Opinion in Toxicology* , 2018, 7:28–36. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.10.006>

ANNEXES

ANNEXE I

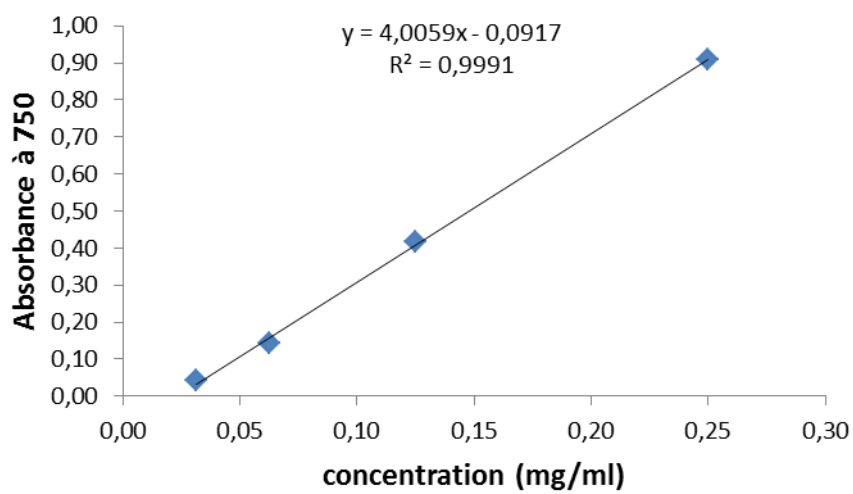


Figure 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

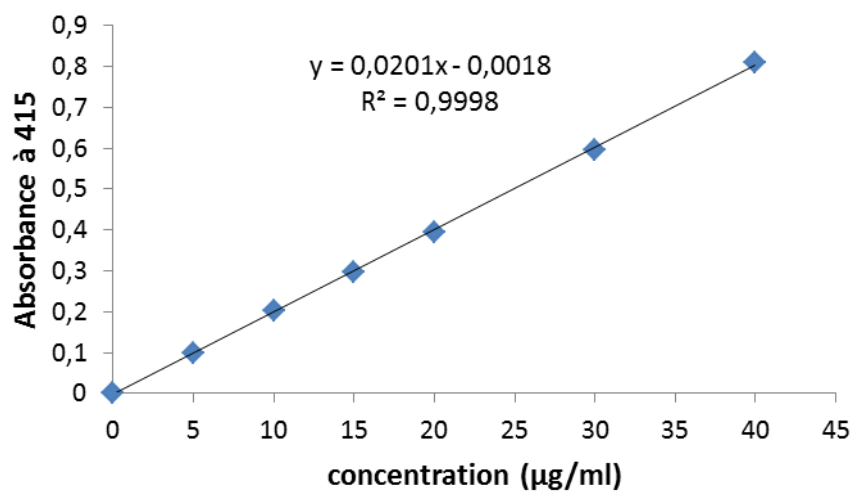


Figure 2. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux

ANNEXE II

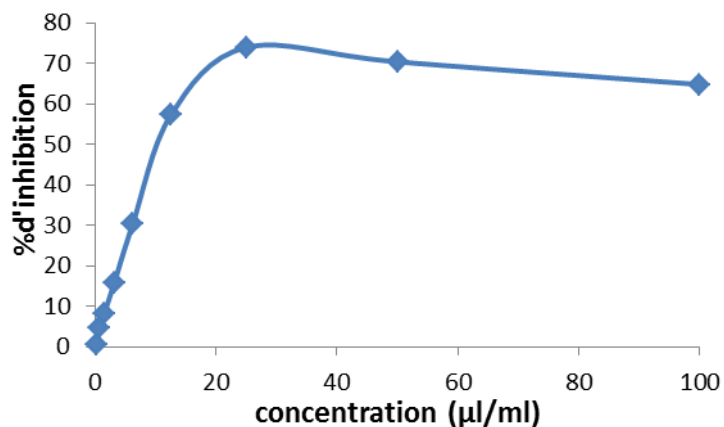


Figure 03 : Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'HE de *T. polium*.

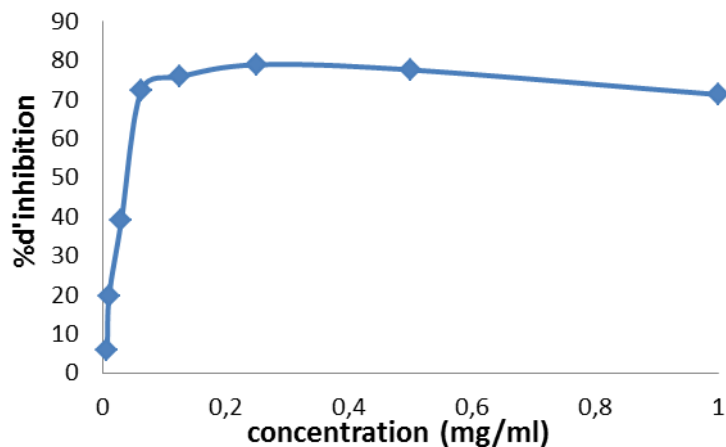


Figure 04 : Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'EM de *T. polium*.

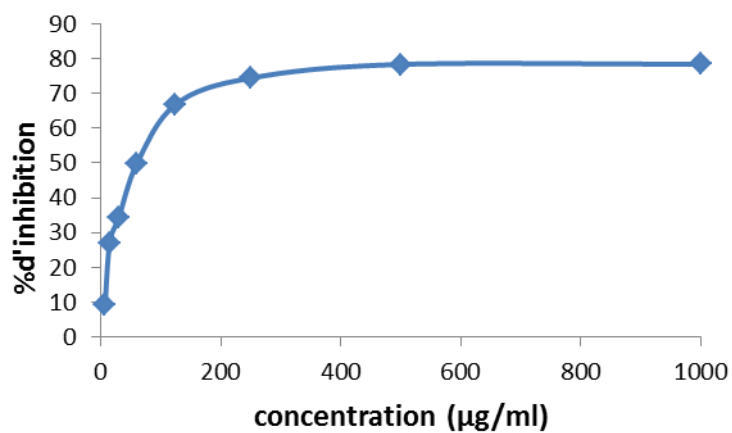


Figure 05 : Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations du standard (BHT)

ANNEXE III

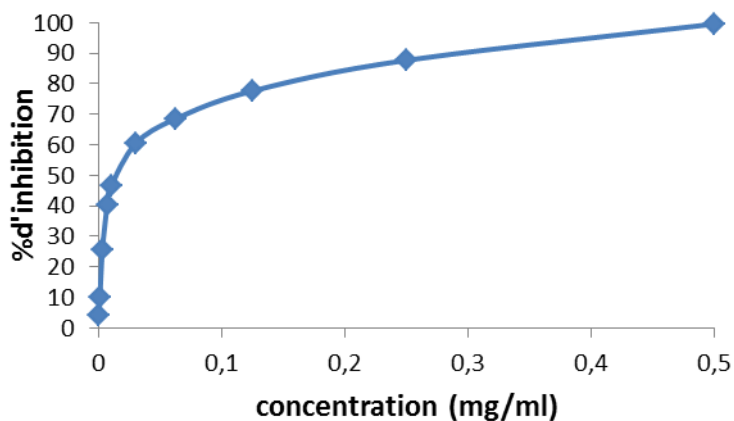


Figure 06 : Pourcentages d'inhibition du blanchiment de β -carotène en fonction des concentrations du standard (BHT).

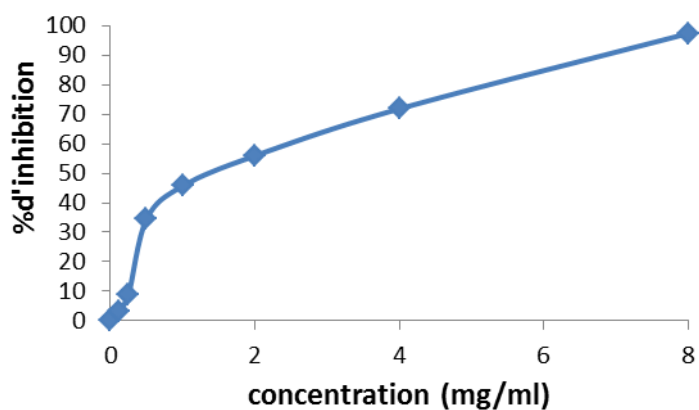


Figure 07 : Pourcentages d'inhibition du blanchiment de β -carotène en fonction des concentrations de l'EM de *T. polium*.

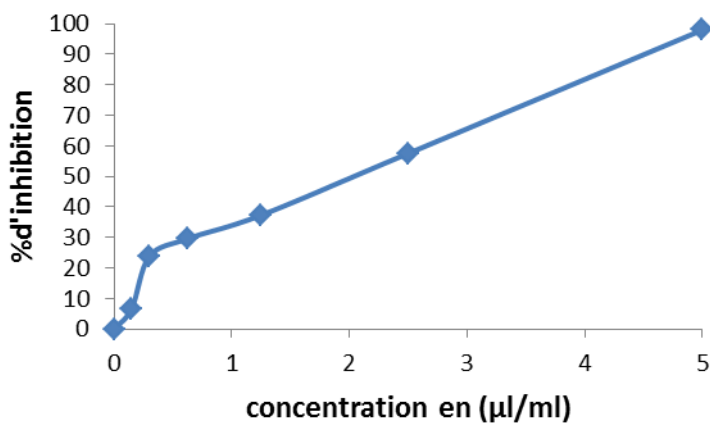


Figure 08 : Pourcentages d'inhibition du blanchiment de β -carotène en fonction des concentrations de l'HE de *T. polium*.

نبته *Teucrium polium* من النباتات الطبية و تنتمي إلى عائلة Lamiceae ، وهذا النوع معروف باسم "الخياطة" ، منتشر على نطاق واسع في حوض البحر الأبيض المتوسط. تم الحصول على المستخلص الميثانولي بواسطة النقع macération والزيت الأساسي عن طريق التقطير بالبخار. تم تحديد المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu ، و وجد $143 \text{ mgEAG} / \text{g}$ و $60 \text{ mgEAG} / \text{g}$ للنسبة للزيت الاساسي. تم تقييم الفلافونويدات باستخدام طريقة AlCl_3 ، فوجد محتواها في حدود 137.5 mgEQ/g و 0.28 mgEQ/g في المستخلص الميثانولي والزيت الأساسي على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام طريقتين مختلفتين: تقنية تبيض البيتاكاروتين وطريقة تثبيط الجذر الحر DPPH ، في الاختبار الاول تم تقدير IC_{50} $2.90 \text{ ml} / \text{mg}$ و $1.8 \text{ ml} / \text{mg}$ بالنسبة للمستخلص الميثانولي و الزيت الاساسي على التوالي ، و بالنسبة لـ BHT $0.006 \text{ ml} / \text{mg}$. بالنسبة للاختبار الثاني ، تم تقدير IC_{50} 0.35 و $10.46 \text{ ml} / \text{mg}$ للمستخلص الميثانولي و الزيت الاساسي على التوالي. في حين أن الشاهد BHT $0.02 \text{ ml} / \text{mg}$. تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا على 8 سلالات بكتيرية و خميرة واحدة باستعمال طريقة الانتشار عن طريق الأقراص و عن طريق الآبار. الحد الأدنى للتركيز للثبيط (CMI) يتراوح من 31.25 إلى $125 \text{ ml} / \text{mg}$ و قياس $\text{CMB} \leq 250 \text{ ml} / \text{mg}$ بالنسبة للمستخلص الميثانولي و من 5.72 إلى $22.9 \text{ ml} / \text{mg}$ و $\text{CMB} \leq 45.83 \text{ ml} / \text{mg}$ بالنسبة للزيت الاساسي. بالنسبة للفطريات ، تسبب الزيت العطري في تثبيط كبير جداً على جميع الفطريات التي تم اختبارها بنسبة تثبيط تتراوح بين 50.29% و 87.11% و تتراوح نسبة التثبيط بالنسبة للمستخلص الميثانولي بين 0.00% و 71.92% .

كلمات مفتاحية: *Teucrium polium* ، العائلة الشفوية ، المستخلص الميثانولي، الزيت العطري، البوليفينول ، الفلافونويد، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للجراثيم.

Abstract

Teucrium polium is a medicinal plant belonging to the Lamiceae family, this species known as "khayata", is widespread in the Mediterranean basin. The methanolic extract (ME) was obtained by maceration and the essential oil (EO) was obtained by hydrodistillation. The respective yields were: 15.56% and 0.635%. The total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it was 143 mg GAE/ g for the ME and 60 mg GAE/ g of EO. The flavonoid content were evaluated using the AlCl_3 method, It was 137.5 and 0.28 mg QE / g in the methanolic extract and EO respectively. The antioxidant activity was evaluated using two different methods: the β -carotene bleaching technique and the DPPH free radical reduction method. For the first test it was estimated at 2.90 mg / mL and 1.8 mg / mL for ME and EO respectively, that of BHT is 0.006. For the second test The IC_{50} was estimated at 0.035 and 10.46 mg / mL for the ME and the EO respectively. While that of the BHT positive control is 0.02 mg / mL. Antibacterial activity was determined on 8 bacterial strains. Using the method of propagation by means of disks and by wells. The minimum concentration of inhibitor (CMI) ranges from 31.25 to 125 mg / mL and the measurement of $\text{CMB} \leq 250 \text{ mg} / \text{mL}$ for EM and from 5.72 to 22.9 mg / mL and $\text{CMB} \leq 45.83 \mu\text{l} / \text{mL}$ for EO. For fungi, EO caused a very significant inhibition on all the fungi tested with a percentage inhibition which varies from 50.29% to 87.11% and for the EM the percentage of inhibition ranging from 0.00% at 71.92%.

Key words -*Teucrium polium*, Lamiaceae, methanolic extract, essential oil, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Résumé

Teucrium polium est une plante médicinale appartenant à la famille des Lamiacées, cette espèce connue sous le nom de « khayata », est très répandue dans le bassin méditerranéen. L'extrait méthanolique (EM) a été obtenu par macération et l'huile essentielle (HE) a été obtenue par hydrodistillation. Les rendements respectifs sont : 15.56% et 0.635%. La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Elle est de 143 mg EAG/g pour l'EM et 60 mg EAG/g d'HE. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode AlCl_3 , leur teneur est de 137.5 et 0.28 mg EQ/g dans l'EM et l'HE respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes: la technique de blanchissement du β -carotène et la méthode de réduction de radical libre DPPH. Pour le premier test elle a été estimée à 2.90 mg/mL et 1.8mg/mL pour l'EM et l'HE respectivement, celle du BHT est 0.006mg/ml. Pour le second test la CI_{50} a été estimée à 0.035 et 10.46 mg/mL pour l'EM et l'HE respectivement, alors que celle du témoin positif BHT est de 0.02mg/mL. L'activité antibactérienne a été déterminée sur 8 souches bactériennes, selon la méthode des disques et puits de diffusion. La CMI est enregistrée allant de 31.25 jusqu'à 125mg/mL et la CMB était inférieure ou égale à 250mg/mL pour l'EM. La CMI allant de 5.72 jusqu'à 22.9 mg/mL et la CMB était inférieure ou égale à 45.83mg/mL pour l'HE. Pour les moisissures l'HE de *Teucrium polium* a provoqué une inhibition très importante sur toutes les moisissures testées avec un pourcentage d'inhibition qui varie de 50.29% à 87.11% et pour l'EM le pourcentage d'inhibition variait de 0.00% à 71.92%.

Mots clés -*Teucrium polium*, Lamiaceae, extrait méthanolique, huile essentielle, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antimicrobienne.