

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI OUZOU**



**FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE
Mémoire de Master en Chimie
Spécialité : Chimie Pharmaceutique**

Présenté par

DJERMANE MOURAD ET NEHAL AGHILES

THEME

***Etude phytochimique des extraits de quelques plantes de
la famille des Labiées***

Proposé et dirigé par Mme FERNANE Farida Professeur à l'UMMTO

Soutenu publiquement le 28 Septembre 2017 devant le jury composé de :

Mme AZIRA Hakima	MCA	UMMTO	Présidente
Mme FERNANE Farida	Pr.	UMMTO	Encadreur
Melle DERMECHE Leila	MCA	UMMTO	Examinatrice
Mme MANSOUR Malika	MCB	UMMTO	Examinatrice

Table de matière

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	01

Première Partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les Plantes Médicinales

I.1.Famille des Labiées.....	04
I.2.Genre Thymus Numidicus	05
I.3.Genre Lavande Stoechas.....	06
I.4.Genre Origanum Glandulosum	08

Chapitre II : Etude Phytochimique sur des extraits de plantes

II.1. Huiles essentielles	11
II.2. Procédés d'extraction	12
II.3 Classification des métabolites secondaires	13
II.3.1.Flavonoïdes.....	13
II.3.2.Tanins	16
II.3.3.Saponoides.....	17
II.3.4.Leuco-anthocyane	17
II.3.5.Terpénoïdes.....	17
II.3.6.Alcaloïdes	18

Deuxième Partie : Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1. I.1. Présentation du matériel végétal	20
I.2 Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal	21
I.3. protocoles d'extraction des métabolites secondaires	21
I.3.1.Extraction par pression à froid	21
I.3.2. Infusion	21
I.3.3.Décoction	22
I.3.4.Macération	22
I.3.4.1.Macération en milieu aqueux	22
I.3.4.2.Macération par solvant organique (éthanol)	22
I.4.Extraction des huiles essentielles	23

I.4.1.Evaluation du rendement en huiles essentielles	23
I.5. Tests phytochimiques sur les extraits des plantes fraîches et sèches	24
I.5.1.protocole d'identification des Tanins	24
I.5.2. protocole d'identification des Saponoides	24
I.5.3. protocole d'identification des Alcaloïdes	25
I.5.4.Test d'identification des Terpenoides	25
I.5.5. Test d'identification des Flavonoïdes	25
I.5.6. protocole d'identification des Leuco-anthocyanes	25
I.6. Isolation des fractions lourdes	25
I.6.1. Isolation des Flavonoïdes	26
I.6.2. Isolation des Tanins	26
Chapitre II : Résultats et discussions	
II.1.Taux d'humidité	29
II.2.Rendement de l'extraction par pression	29
II.3.Tests phytochimiques	30
II.3.1.Plantes fraîches	30
II.3.2. Plantes sèches	32
II.3.3. Plantes sèches de Yakouren	33
II.4.Résultats d'isolation des tanins et flavonoïdes	36
II.4.1.tanins.....	36
II.4.2.flavonoïde	38
II.5.Huiles essentielles.....	39
II.6.1. caractère organoleptique.....	39
II.6.1.rendements en HE.....	40
Conclusion générale	43
Références bibliographiques	
Glossaire	
Annexes	

Remerciements

Nos profonds et sincères remerciements vont en premier lieu à notre promotrice Madame FERNANE Farida qui a guidé ce travail, aussi d'avoir accepté de diriger ce travail. On la remercie pour l'aide qu'elle nous porté durant la réalisation de ce mémoire.


Nous tenons également à remercier les membres de jury pour avoir accepté de lire et d'évaluer notre travail.

Nos remerciements, vont aussi tous les étudiants de Département de chimie qui nous ont soutenus de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Dédicaces

Nous tenons à dédier ce travail en premier lieu, à mes chers parents pour leurs sacrifices et dévouement.

 *A mes très chers frères et sœurs*

 *A tous ceux qui ont contribué de loin ou de près, à la réalisation de ce travail.*

Mourad, Aghilas

Liste des figures

Figure 1 : genre *Thymus Numidicus*

Figure 2 : *Lavande Stoechas*.

Figure 3 : *Origanum Glandulosum*

Figure 4 : Schéma d'un montage d'hydro distillation

Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes

Figure 6 : Structure chimique des différentes classes de flavonoïdes

Figure 7 : Huile essentielle d'*Origanum Glandulosum*

Figure 8 : Huile essentielle du *Thymus Numidicus*

Figure 9 : Séparation de phase de chaque plantes en présence de chloroforme

Figure 10 : Séparation de phase de chaque plantes en présence de l'éther di éthylique

Figure 11 : Séparation de phase de chaque plantes en présence de l'acétate d'éthyle

Figure 12 : Séparation de phase de chaque plantes en présence de butanol

Figure 13 : Résidu sec (flavonoïde) de chaque plante

Figure 14 : Opération de macération des plantes dans d'éther de pétrole pendant 24 h.

Figure 15 : Pourcentage de résidu sec (tanins) de chaque plante

Figure 16 : Taux d'humidité des feuilles de chaque plante

Figure 17 : Taux d'humidité des tiges de chaque plante

Figure 18 : Comparaison des rendements tanins pour les différentes plantes

Figure 19 : Comparaison des rendements flavonoïdes pour les différentes plantes

Figure 20 : Rendement en huiles essentielles du *Thymus Numidicus* issu des différentes Régions.

Figure 21 : Rendement en huiles essentielles de *Thymus Numidicus* issu des différentes Régions.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification selon l'APG (Angiosperme Phylogeny Group)

Tableau 2 : Résultats des tests phytochimiques pour *Thymus Numidicus Poiret* de Bousoir

Tableau 3 : Résultats des tests phytochimiques de *Lavande Stoechas* de Bousoir

Tableau 4 : résultats des tests phytochimiques pour *Origanum Glandulosum* d'Ain El Hamam

Tableau 5 : résultats des tests phytochimiques pour *Thymus Numidicus Poiret* de Bousoir

Tableau 6 : résultats des tests phytochimiques pour *Lavande Stoechas* de Bousoir

Tableau 7 : résultats des tests phytochimiques pour *Origanum Glandulosum* d'Ain El Hamam

Tableau 8 : résultats des tests phytochimiques pour *Thymus Numidicus Poiret* de Yakouren

Tableau 9 : résultats des tests phytochimiques pour *Origanum Glandulosum* de Yakouren

Tableau 10 : rendement des tanins pour chaque plante

Tableau 11 : rendement des flavonoïdes pour chaque plante

Tableau 12 : rendement en huiles essentielles pour *Thymus Numidicus Poiret* de différentes régions

Tableau 13 : rendement en huiles essentielles pour *Origanum Glandulosum* de différentes régions

Tableau 14 : indices chimiques des huiles essentielles *Thymus Numidicus Poiret Origanum Glandulosum*

Liste des symboles et abréviations

H% : Teneur en eau

AEH : région Ain EL hammam

BS : région de boussoir

IK : région d'Yakouren

Flavo : flavones

Flava : flavanones

Flava_ol : flavanols et flavanonols

AZ : région d'Azazga

Cn : région de Constantine

TF : région de Tifrit

H.E : Huile essentielle

IA : Indice d'acide

IP : Indice de peroxyde

MS : Matière sèche

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

Depuis la plus haute antiquité, l'être humain s'est soigné avec les plantes et a apprécié leurs bienfaits apaisants et analgésiques. Actuellement les traitements à base des plantes médicinales sont décrits dans plusieurs ouvrages médicaux et notamment dans les pharmacopées. En effet, les effets secondaires induits par les médicaments, fabriqués industriellement, inquiètent de plus en plus les garants de la santé qui se tournent vers les soins naturels à base des plantes médicinales. En effet, ces dernières sont considérées comme un réservoir de molécules bioactives encore peu exploré.

L'Algérie, de part sa situation géographique, est dotée d'un patrimoine floristique assez riche composé de plantes aromatiques et médicinales. Dans le cadre de la valorisation de cette flore algérienne nous nous sommes intéressés à trois espèces de la famille des Lamiacées (Labiées) qui poussent en spontanément en Kabylie à savoir : *le Thymus Numidicus Poiret*; *l'Origanum Glandulosum* et la *Lavande Stoechas*.

Ces trois espèces sont endémiques; riches en huiles essentielles, en composés phénoliques, terpéniques et notamment en flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques.

Le principal objectif de notre modeste travail est l'étude phytochimique sur différents extraits de ces trois espèces.

Ce mémoire est composé de deux parties structurées comme suit :

Première Partie : Synthèse bibliographique

Cette partie comporte deux chapitres :

- Le premier chapitre rassemble des généralités sur les plantes médicinales ainsi qu'une description de la famille botanique des Labiées (Lamiacées) et ses genres *Thymus Numidicus Poiret*; *Origanum Glandulosum* et *Lavande Stoechas*.
- Le second chapitre est consacré à l'étude phytochimique sur les extraits de plantes ainsi que les techniques utilisées pour l'obtention de ces extraits.

Deuxième Partie : Partie expérimentale

Cette partie regroupe deux chapitres :

- Le premier chapitre décrit le matériel et les protocoles expérimentaux utilisés pour l'obtention des différents extraits des trois plantes ainsi que ceux adoptés pour l'étude phytochimique.
- Le second chapitre est consacré à la présentation et à l'interprétation des différents résultats expérimentaux obtenus.

Chapitre I

Plantes médicinales

I.1. Famille des Lamiacées

La famille des Labiées ou Lamiacées est une très grande famille de plantes aromatiques, connue pour sa diversité et ses vertus médicinales. Elle comprend plusieurs herbes aromatiques représentées par plus de 236 genres et 7172 espèces, qui sont utilisées depuis l'antiquité dans l'art culinaire, en parfumerie, et en thérapie (Hussain 2009).

De nombreuses espèces de cette famille sont cultivées dans les jardins pour usage culinaire ou médical. Caractérisées par leurs arômes, les Labiées contiennent de précieux réservoirs de composés chimiques multiples possédant une activité biologique différente selon leurs compositions structurales. Ce qui leur confère plusieurs propriétés pharmacologiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisantes...etc. (Baikkalia *et al.* 2007).

Les genres les plus cités dans la littérature sont : "*Lavandula*" pour Lavande, le "*Mentha*" pour la menthe (Choudhury *et al.*, 2006), "*Rosmarinus*" pour romarin (Gachkar *et al.*, 2007, Marzouk *et al.*, 2006) et "*Thymus*" pour thym. (Rota *et al.*, 2008, Elhabazi *et al.*, 2006)

Selon l'Angiosperm Phylogeny Group (APG), la classification la plus usuelle pour la famille des Lamiacées est résumée dans le tableau 1. Elle traduit les efforts déployés en systématique pour que les systèmes de classification reflètent au mieux la phylogénie des familles mise en lumière par les avancées constantes de la génétique (Spichiger *et al.*, 2000).

Tableau 1: Classification selon l'Angiosperm Phylogeny Group (APG)

Sous Règne des Plantae
Sous embranchement : mangolyolitoyl
Classe : mono loxyde
Sous-classe : Astéridées
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiacéae

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés aux genres "*Thymus*", "*Lavandula*" et "*Origanum Glandulosum*".

I.2. Thymus Numidicus

Le nom *thym* proviendrait aussi bien du latin que du grec : *Thymus* en latin signifie "parfumer" et en grec "courage" (Benayache.; 2013).

Thymus Numidicus (figure 1) est une plante caractéristique de la flore méditerranéenne. Ses propriétés sont mises à profit en phytothérapie et en médecine (Ebrahimi *et al.*, 2008 ; Rasooli *et al.*, 2006 ; Cosentino *et al.*, 1999).



Figure 1 : genre *Thymus Numidicus*

I.2.1. Caractère botanique

Thymus Numidicus est un petit arbrisseau qui ne dépasse pas les 40cm (Figure 1). Ses feuilles réunies en épis au sommet sont en générale de formes elliptiques riches en huile essentielle et comportent des fleurs roses sessiles. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact (Soto-Mendivil *et al.* 2006).

La période de floraison se situe entre le mois de Mai et le mois de Juin. Ses petites fleurs varient du blanc au violet en passant par le rose (Soto-Mendivil *et al.* 2006).

I.2.2. Distribution géographique

Le genre *Thymus Numidicus* Poiret est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Naghbi *et al.* 2005). Il existe près de 350 espèces de *Thymus Numidicus* Poiret réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est un genre très répandu dans le nord ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye). Selon une étude

menée par **Nickavar *et al.* (2005)**, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. Elles sont réparties sur tout le littoral et dans les régions internes jusqu'aux zones arides. Ces dernières ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variabilités et leur tendance à s'hybrider facilement (**Mebarki, 2010**).

I.2.3. Usage et propriété

Le *Thymus Numidicus* est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes. Les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et en usage externe comme cicatrisants. Il possède des vertus antiseptiques utilisées pour soigner les infections pulmonaires, calmer les toux et diminuer les sécrétions nasales (**Rasooli *et al.*, 2006 ; Adwan *et al.*, 2006 ; Soto-Mendivil *et al.*, 2006**).

Il possède des Propriétés antioxydantes, antivirales, antifongiques, anti inflammatoires et antibactériennes (**Takeuchi *et al.*, 2004 ; Golmakani et Rezaei, 2008**). Une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes du *Thymus* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis*, bactérie qui cause la tuberculose (**Jiminez-Arellanes *et al.*, 2006**).

I.3. Genre *Lavande Stoechas*.

La *Lavande Stoechas* était nommée par les romains, pour son utilisation dans les bains. Durant des siècles, elle ne cessa d'être citée dans des textes ayant un trait à la médecine, à l'hygiène et à la beauté. Quant au parfum de la lavande il demeure l'un des composants de base de la parfumerie moderne (**Georges *et al.*, 2003**).

I.3.1. Caractère botanique

Le genre "*Lavande Stoechas*" se compose d'environ 28 espèces exemple : *Lavandula latifolia*, *Lavandula angustifolia*, *Lavandula X intermedia* et *Lavandula stoechas* (Figure 2) C'est une plante méditerranéenne des terrains siliceux, avec des fleurs violettes très foncées alignées en épis, et surmontés de bractées de couleur plus claire très caractéristiques (**Benabdelkader ; 2004**)

"*Lavande Stoechas*" pousse spontanément en Algérie dans les maquis et principalement les endroits ensoleillés. Il peut atteindre jusqu'à un mètre (1m) de longueur,

avec des tiges à feuilles soutenues, vertes pales avec des fleurs d'un bleu violet. L'ensemble fleurs et feuilles est très aromatique (Boutiba ; 2015).

I.3.2. Distribution géographique

Vingt espèces de *Lavandula* existent dans la région méditerranéenne. En général, elles poussent et s'épanouissent mieux dans des terrains secs, bien drainés, légers, sablonneux et pierreux en plein soleil (Grieve, 1971). Les lavandes poussent surtout sur des sols calcaires à l'exception des espèces des sections *Stoechas* qui préfèrent les sols siliceux. Toutes les espèces de lavande ont besoin d'une bonne circulation d'air dans les zones de forte humidité (Benabdelkader ; 2004).



Figure 2 : *Lavande Stoechas*.

En Algérie *Lavandula Stoechas* est très connue sous le nom local "amezzir" et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant (Rahmouni S.; Reghis S, 2016).

I.3.3. Usage et propriétés

Lavandula Stoechas a été utilisé depuis des siècles, sous forme d'huiles essentielles ou sous forme de fleurs séchées, pour de nombreuses fins cosmétiques et thérapeutiques. Traditionnellement, elle est utilisée comme désobstruant, stimulant, et contre les problèmes dermiques (barrett, 1996).

Des études montrent que l'huile essentielle de *Lavandula Stoechas* réduit la glycémie (Gamez *et al.* 1987) ; possède des effets bénéfiques dans le traitement du cancer (Horrigan, 1992) et un pouvoir antifongique et antioxydant (Mohammadi *et al.* 2011).

I.4. Le genre *Origanum Glandulosum*

L'Origanum Glandulosum est souvent considéré comme une forme sauvage de la marjolaine. Le terme Origan provient de deux mots grecs "Oros" et "Genos" qui signifient "Eclat des montagnes"(Richard, 1974).

L'*Origanum Glandulosum* (Figure 3) est une plante odorante qui appartient à la famille des lamiacées. Elle est endémique (Baba Aïssa, 1999) et pousse spontanément dans le nord de l'Afrique (en Algérie et en Tunisie en particulier) (Quezel et Santa, 1963) .

La saveur de cette plante est fortement aromatique et piquante et son odeur est forte, fraîche et balsamique. Les espèces du genre *Origanum Glandulosum* sont utilisées comme désinfectants puissants et comme agents odoriférants dans les produits cosmétiques (Richard, 1974; Cbiej, 1984).



Figure 3 : *Origanum Glandulosum*

I.4.1. Caractère botanique

L'espèce *Origanum glandulosum* est une plante herbacée ou sous ligneuse à la base qui pousse spontanément au niveau des broussailles et des garrigues. C'est une plante à tiges toutes dressées, souvent rougeâtres et velues (Baba Aïssa, 1999). Les fleurs réunies en épis denses, à fleurs restants contigus après la floraison. La corolle a une lèvre inférieure qui est bien plus longue que la lèvre supérieure (Quezel et Santa, 1963).

I.4.2. Distribution géographique

Le genre *Origanum Glandulosum*, comporte plusieurs espèces aromatiques. Il est originaire de Sud-Est méditerranéen et de l'Asie occidentale (Vokou et al., 1993). Environ 75% des espèces sont concentrés dans le pourtour méditerranéen et en particulier dans les régions méditerranéennes de l'Est. Dans l'espèce *Origanum glandulosum*, il existe plusieurs sous espèces qui diffèrent par le nombre de glandes, de bractées et de calices, ainsi que par la taille et la couleur des bractées (Kokkini, 1996).

I.4.3. Usage et propriété

L'*Origanum Glandulosum* est connu depuis l'antiquité pour ses qualités médicinales. En fait, une décoction de cette plante est utilisée contre la coqueluche, la toux, la fièvre, la bronchite (Ruberto et al., 2002), le rhume et le rhumatisme (Mahmoudi, 1990). Sous forme d'infusion elle est utilisée pour calmer les coliques (Baba Aïssa, 1999).

Ses effets sont dus principalement aux tanins et aux substances amères de la plante ainsi qu'à son huile essentielle. Les plantes médicinales qui présentent cette combinaison de substances actives sont excellentes contre les affections de l'estomac et de l'intestin, les ballonnements, les «maux de ventre», les douleurs d'estomac et les troubles biliaires (Fourment et Roques, 1941; Baba Aïssa, 1999).

L'*Origanum Glandulosum* est une plante apéritif, expectorante (Baba Aïssa, 1999), stimulante (Fourment et Roques, 1941; Baba Aïssa, 1999). Elle possède des propriétés antiseptiques (Baba Aïssa, 1999) et antispasmodiques (Sijelmassi, 1991 ; Baba Aïssa, 1999).

Chapitre II
Etude phytochimique
sur des extraits de plantes

II.1. Huiles essentielles

Les Huiles Essentielles (HE) sont le produit de la distillation d'une plante ou d'une partie de la plante. Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides très odorantes, volatiles, souvent colorées. Elles peuvent être stockées, dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, écorces, racines, graines. Elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes, la composition pouvant varier d'un organe à l'autre (**Bakkalia et al. 2008**).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées à proximité de la surface de la plante. Dans le cas des labiées ce sont les poils sécréteurs (**Nait Achour 2012**)

II.1.1. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses qui varie au sein d'un même genre, mais aussi dans une même espèce "chémotype" (**Bakkalia et al. 2008**).

Elles sont reconnues par deux ou trois composants majoritaires présents à des concentrations assez élevées (20-70%) comparativement aux autres (**Bakkalia et al. 2008**).

Le chémotype indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique. Cette classification permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace (**Bakkalia et al. 2008**).

II.1.2. Facteurs influant sur la composition des huiles essentielles

Plusieurs facteurs externes pouvant influencer la composition chimique et le rendement en huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques (**Piochon; 2008**). En plus de l'origine géographique, la période de récolte, la technique de séchage, la durée de l'opération de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes.

II.2.Procédés d'extraction

Le procédé d'obtention d'une essence végétale intervient de façon déterminante dans la nature du produit d'extraction.

Plusieurs procédés d'extraction sont utilisés à ce jour. Les plus connus sont la distillation à la vapeur d'eau, l'expression à froid, l'extraction par les solvants, par les graisses et l'extraction au CO₂ en phase supercritique.

Le choix du procédé d'extraction influe directement sur la qualité des produits et sur le rendement de l'extraction. Il est orienté par la localisation histologique et la composition chimique de ces essences. A l'échelle industrielle, la distillation à la vapeur demeure le procédé le plus utilisé vu sa facilité de mise en œuvre ; sa sélectivité et ne nécessite pas de dispositifs particuliers de sécurité (**Nait Achour ; 2012**)

II.2.1. Infusion

Cette technique consiste à verser de l'eau bouillante sur la plante puis couvrir et laisser infuser hors du feu (tisane, thé...).(El Haib ;2011)

II.2.2. Décoction

Cette technique consiste à porter à ébullition le mélange plante/eau froide. Elle est utilisée pour les parties les plus dures de la plante : racines, graines,etc. (**El Haib ;2011**)

II.2.3. Macération

Cette technique consiste à laisser reposer à froid pendant des heures le mélange solvant (eau ou autre) et plante. Cette technique est utilisée lorsque la plante est sensible à la température. (**El Haib ;2011**)

II.2.4. Hydro distillation

L'hydro distillation correspond à une distillation hétérogène. Elle consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues (**Pavida ;1976**)

Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité (**Pavida ;1976**).

Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (**El Haib ;2011**)

La durée d'une hydro distillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (**El Haib ;2011**).

II.3. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont produits en très faibles quantités. Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (**Vermerris, 2006**).

On distingue trois classes principales :

- 1- Les composés phénoliques
- 2- Les isoprénoïdes (Stéroïdes et Terpénoïdes)
- 3- Les composés azotés dérivés des acides aminés (Alcaloïdes)

II.3.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (**Ghedira, 2005**), qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols.

Actuellement, plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxy, méthoxy, méthyl, benzyl et isoprényl (**Beecher, 2003 ; Williams et Grayer, 2004 ; Kueny-Stotz, 2008**).

II.3.1.1. Structure chimique des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont un poids moléculaire faible se présentant en 15 atomes de carbone arrangés comme suit : C₆-C₃-C₆ (**Figure 4**). Elles sont composées de deux noyaux aromatiques A et B, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle.

Les substitutions variées au sein de la molécule donnent les différentes sous-classes de flavonoïdes. Les flavones et les flavonols sont les plus connus et les plus divers sur le plan structural. Les substitutions touchant les noyaux A ou B qui peuvent survenir dans chaque classe des flavonoïdes sont : une oxydation, alkylation, glycosylation, acylation, et sulfonation.

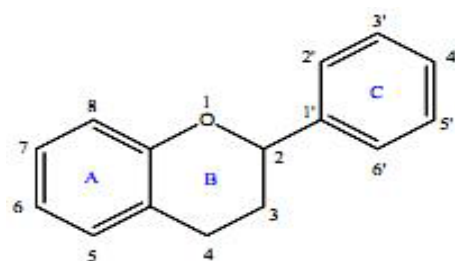


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (**Boudjouref,M ;2008**)

II.3.1.2. Localisation

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits Aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, l'arabinose. Ils peuvent en outre être des monomères ou des Oligomères (**Dacosta, 2003**).

Dans la plupart des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosidique dans les vacuoles des fleurs, des feuilles, des tiges ou des racines. Les flavonoïdes aglycones, notamment les flavonoïdes simples et polyméthylés sont plutôt présents sous forme de cires dans les feuilles, les écorces, les bourgeons floraux (**Iwashina, 2000**).

II.3.1.3. Classification

Les différentes structures chimiques de la classe flavonoïdes sont plus au moins très proches dans la structure de base. Par contre nous avons des groupements différents qui fonctionnalisent chaque structure.

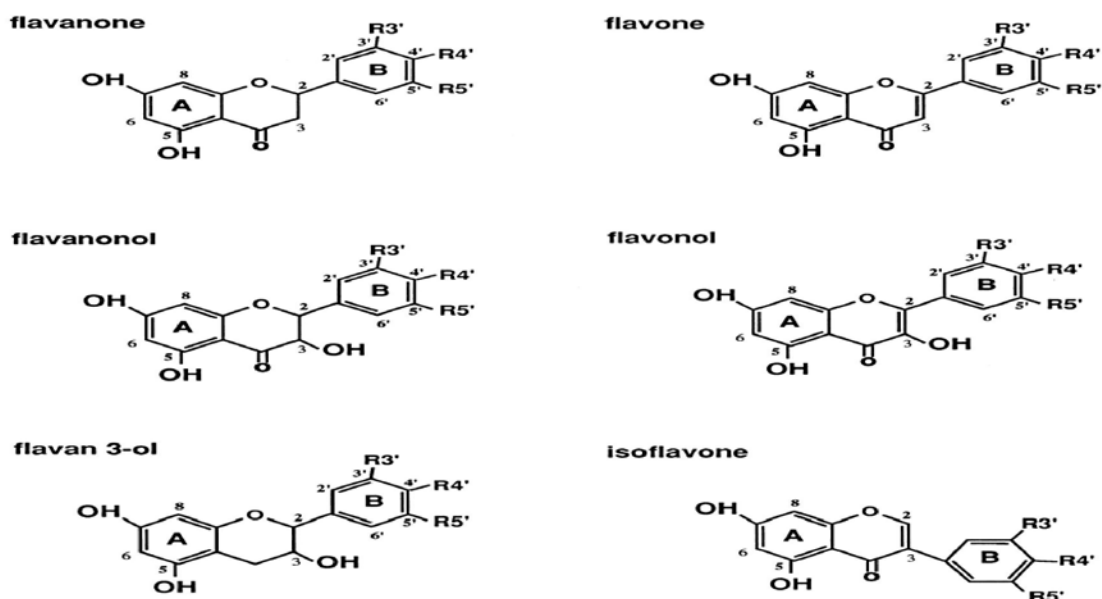


Figure 5: Structure Chimique des différentes classes de flavonoïdes

II.3.1.4. Biodisponibilité des flavonoïdes

Les flavonoïdes présentent des propriétés biologiques et anti-oxydantes. Cependant la qualité nutritionnelle et les effets systémiques des flavonoïdes dépendent de leur absorption au niveau du tractus digestif (Kebieche ; 2009).

Peu d'études systématiques ont été menées sur le volet pharmacocinétique des flavonoïdes chez l'homme. Toutefois, d'après des expériences menées sur des flavonoïdes destinés à l'alimentation, il semble que leur absorption soit faible et implique des mécanismes encore mal connus (Kebieche ; 2009).

Seuls les aglycones sont supposés être absorbables, alors que les glycosides, doivent subir l'hydrolyse de leur liaison osidique par l'action de la microflore intestinale pour leur permettre d'être absorbés au niveau du côlon. Les principaux sites de leur métabolisme sont la flore intestinale et le foie (Kebieche ; 2009)

II.3.1.5. Rôles des flavonoïdes chez les plantes

Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Par leur goût désagréable, les flavonoïdes peuvent jouer un rôle de protection des plantes en repoussant certains insectes (Madjour ; 2014).

Certains flavonoïdes jouent un rôle de lutte contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Madjour ; 2014)

II.3.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisins, dattes, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**). Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines ...) et des liaisons entre les fibres de collagènes (**Paolini et al., 2003**).

Leur structure chimique est particulièrement variable, mais comporte toujours une partie polyphénolique. Il existe deux catégories de tanins, d'origine biosynthétiques différentes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Paolini et al., 2003**).

II.3.2.1. Structure et classification

Selon leur structure chimique, les tanins sont classés en deux groupes: les tanins condensés et les tanins hydrolysables :

- **Les tanins condensés (pro-anthocyanidines) :** De structure plus complexe, ils sont largement présents dans le règne végétal. On les rencontre dans de nombreux produits alimentaires (fruit, légumes, boissons...) (**Peronny, 2005**). En présence d'acide forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges (**Atefeibu, 2002**).
- **Tanins hydrolysables :** Ce sont des esters de glucose. Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (le plus souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être de l'acide gallique (**Macheix et al., 2005**).

II.3.2.2. Présence des tanins chez les végétaux

Les tanins sont largement répandus dans le règne végétal, où on les retrouve aussi bien chez les Angiospermes que chez les Gymnospermes. Dans les *Angiospermes* les tanins sont plus abondants dans les Dicotylédones que dans les Monocotylédones (**Bessas et al., 2007**).

II.3.2.3. Paramètres influant la teneur en tannins

La teneur en tannins d'une plante dépend des facteurs intrinsèques (espèce, variété, partie ou stade végétales) et extrinsèques (conditions climatiques, pédologiques ou le stress de

prédation) (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Jean-Blain, 1998; Norton, 1999; Waterman, 1999).

II.3.2.4. Utilisation des tanins

- **En pharmacie** : Grâce à leurs propriétés astringentes les tanins sont utilisés comme antidiarrhéiques, vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes (**Paris et Hurabielle., 1981**).
- **Dans l'industrie** : Ils sont largement employés dans l'industrie du cuir surtout dans celle des vernis et peintures (**Paris et Hurabielle., 1981**).

II.3.3. Les anthocyanes

Ces molécules font partie de la famille des flavonoïdes et sont capables d'absorber la lumière visible. Ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines (**Bassas et al., 2007**).

II.3.4. Les saponines

Ce sont des molécules naturellement produites par des plantes ou des animaux. Ce sont des hétérosides complexes dits "*saponosides*", appartenant aux terpènes cycliques ou aux stéroïdes. (**Paolini et al., 2003**).

On les trouve chez de nombreux végétaux (salsepareille, quinoa...) mais sont dégradées à la cuisson. Douées de propriétés tensioactives, les saponines font mousser leurs solutions et servent de détergent. Elles présentent une toxicité plus ou moins importante. Injectées dans le sang ou dans les tissus, elles provoquent la dissolution des cellules ou des tissus sous l'influence d'agents chimiques, physiques ou biologiques des globules rouges. (**Paolini et al., 2003**).

II.3.5. Les Terpénoïdes

Les Terpénoïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu des métabolites secondaires des végétaux. Ce sont des molécules polyéniques qu'on trouve également dans le règne animal. Les terpènes sont subdivisés, selon le nombre d'entités isoprène qui sont

incorporés dans leurs structures, en monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30). **(Kabouche ; 2015)**

II.3.6. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un groupe hétérogène, du point de vue structure, propriétés chimiques et effets biologiques qu'ils manifestent.

Ce sont des composés azotés, basiques qui précipitent avec des réactifs iodométriques tels que les réactifs de Mayer, Dragendorff. Ils peuvent être présents dans tous les organes de la plante **(Sahraoui; 2011)**.

Dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre les herbivores.

Les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes des quels nous pouvons citer: Les phénylalanines ; les Alcaloïdes isoquinoléiques ; les Alcaloïdes quinoléiques ; les Alcaloïdes pyridiques et pipéridiques ; les Alcaloïdes dérivés du tropane et les Alcaloïdes stéroïdes **(Macheix J-J ; 2005)**.

Ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme comme Anti tumoraux ; Antalgiques ; Spasmolytiques et Antitussifs **(Macheix J-J ; 2005)**

Partie Expérimentale

Chapitre I

Matériels et Méthodes

Le principal objectif de notre travail est l'étude phytochimique sur des extraits de trois plantes : *Thymus Numidicus*, *Lavandulas Stoechas* et *Origanum Glandulosum*.

En premier lieu, nous avons réalisé des tests d'identification sur des extraits obtenus à partir des feuilles fraîches et sèches de ces trois plantes. Ces tests ont pour but de vérifier et de quantifier la présence des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, tannins ; alcaloïdes, saponines...etc.

En second lieu nous avons mis en place des protocoles d'isolation des flavonoïdes et des tannins suivis d'une extraction des huiles par hydro distillation (selon un dispositif Clevenger) qui a été effectuée sur les feuilles sèches des plantes *Thymus Numidicus* et *Origanum Glandulosum*.

I.1. Présentation du matériel végétal

Les parties aériennes des plantes ont été récoltées en mois de Mai 2015 au niveau de différentes localités montagneuses de Tizi Ouzou.

Le tableau 2 regroupe les données générales concernant les cinq échantillons de plantes étudiées.

Tableau 2 - Données générales sur les cinq échantillons des plantes étudiées

Plante	Localité	Symbole	Altitude (m)	Climat
<i>Thymus Numidicus</i>	Akaoudj (Boussouar)	Thym BS	650	chaud tempéré en été, humide en hiver
	Yakourene	Thym IK	765	chaud tempéré en été, humide en hiver
<i>Lavande Stoechas</i>	Akaoudj (Boussouar)	Lavande BS	650	chaud tempéré en été, humide en hiver
	Yakourene	Lavande IK	765	chaud tempéré en été, humide en hiver
<i>Origanum Glandulosum</i>	Ain El hammam	Origan AEH	900	chaud tempéré en été, doux en hiver
	Yakour	Origan IK	700	chaud tempéré en été, doux en hiver

Les échantillons de *Thymus Numidicus* ont été récoltés depuis des milieux siliceux et sec par contre ceux de *Lavande Stoechas* depuis des maquis à des endroits ensoleillés. Pour *Origanum Glandulosum*, les échantillons sont récoltés depuis un sol léger, aéré et à des endroits ensoleillés

Une identification botanique des trois plantes a été effectuée par une équipe spécialisée du laboratoire de recherche en "Ressources naturelles" de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO.

I.2. Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal

L'évaluation de la teneur en eau pour chacune des trois plantes a été réalisée par séchage des feuilles de la plante à l'étuve à 105°C pendant 2 heures (Twidwell *et al.* 2002). Le taux d'humidité est évalué à l'aide de la formule suivante :

$$H\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

Avec

m_1 : Masse de l'échantillon avant dessiccation (g)

m_2 : Masse de l'échantillon après dessiccation (g)

H% : Teneur en eau

Pour plusieurs essais, on calcule la moyenne arithmétique selon l'équation suivante:

$$H\% = \frac{\sum_{i=1}^n H_i\%}{n} \quad (2)$$

Avec

$H_i\%$: Teneur en humidité de l'échantillon i

$i = 1, 2, \dots, n$: nombre d'échantillons.

I.3. Protocoles d'extraction des métabolites secondaires

I.3.1. Pression à froid (plantes fraîches)

Matériel végétal

Feuilles fraîches des trois plantes : *Lavande Stoechas* ; *Thymus Numidicus* et *Origanum Glandulosum*.

Mode opératoire (Bensalah.F; 2014)

- Peser une quantité de feuilles fraîches de chacune des trois plantes
- Ecraser les feuilles dans le mortier bien propre et sec
- Récupérer l'extrait brut obtenu et mesurer le volume à l'aide d'une éprouvette graduée

I.3.2. Extraction par infusion

Matériel végétal

Feuilles séchées à l'air libre de chacune des trois plantes.

Mode opératoire (Bensalah.F; 2014)

- Pour chacune des trois plantes, peser 5 g de feuilles sèches et les placer dans un bécher de 250ml. Puis y ajouter 100ml d'eau distillée bouillante.
- Agiter puis laisser le mélange refroidir. Après 2heures de contact, filtrer le mélange et transvaser le filtrat dans un flacon en verre.

I.3.3. Extraction par décoction**Matériel végétal**

Feuilles séchées à l'air libre des trois plantes : *Thymus Numidicus* *Origanum Glandulosum*. *Lavande Stoechas*

Mode opératoire

- Pour chacune des trois plantes, peser 5 g de feuilles sèches et les placer dans un bécher de 250ml. Puis y ajouter 100ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition dans un bain marie pendant 1heure. Ensuite filtrer le mélange et transvaser le filtrat dans un flacon en verre.

I.3.4. Extraction par macération**I.3.4.1.Macération en milieu aqueux**

Protocole expérimental (**Bensalah.F ; 2014**):

- Peser 5g des feuilles sèches de chacune des trois plantes
- Placer les feuilles dans un erlenmeyer et ajouter 100ml d'eau distillée
- Laisser le mélange à température ambiante pendant 24 heures.
- Filtrer et récupérer l'extrait dans un flacon en verre.

I.3.4.2. Macération en milieu organique (éthanol)

Protocole expérimental (**Bensalah.F ; 2014**):

- Peser 5g des feuilles sèches de chacune des trois plantes
- Placer les feuilles dans un erlenmeyer et ajouter 100ml d'éthanol à 10%
- Fermer et laisser le mélange à température ambiante pendant 24 heures.
- Filtrer et récupérer l'extrait dans un flacon en verre.

I.4.Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle (HE) a été effectuée à l'aide d'un montage d'hydrodistillation de type Clevenger (Figure 6) et ce pour les feuilles sèches de *Thymus Numidicus* et *Origanum Glandulosum*

Mode opératoire (Bensalah.F ; 2014):

- Peser une quantité m_s des feuilles sèches. Les placer dans le ballon
- Ajouter 250 ml d'eau tiède
- Extraire pendant 3 heures

I.4.1.Evaluation du rendement en Huile Essentielle

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue par extraction et la masse totale du matériel végétal traité.

Il est calculé à l'aide de la formule suivante (Nait Achour.K ;2012) :

$$R_{HE} = \frac{m_{HE}}{m_s} \times 100\% \quad (3)$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle (en %).

m_{HE} : Masse d'huile essentielle obtenue (en g).

m_s : Masse de la matière sèche (en g).



Figure 6 : Dispositif d'hydro distillation de type Clevenger

La masse m_s des feuilles sèches utilisée est respectivement de 81,2 g et 71,6 g pour *Thymus Numidicus* et *Origanum Glandulosum*.

I.5. Tests phytochimiques sur les extraits des plantes fraîches et sèches

Les tests phytochimiques sur des extraits végétaux sont une étape préliminaire d'une grande importance. Puisqu'ils révèlent la présence des constituants connus par leurs activités physiologiques et leurs vertus médicinales.

Ces tests nous permettent d'obtenir des informations sur la composition chimique des différents extraits. Ils sont basés sur des réactions colorimétriques et de précipitation par ajout de réactifs spécifiques (**Trease et al. 1989 ; Harbone et al. 1998**)

Les tests phytochimiques ont été effectués sur les extraits obtenus en milieu aqueux (décoction, infusion, macération) et en milieu organique (en utilisant l'éthanol comme solvant).

Les protocoles expérimentaux d'identification et de recherche des tanins, Saponosides, alcaloïdes et Terpénoïdes sont décrits par Trease et al. (1989) et Harbone (1998).

1.5.1-Protocole d'identification des Tanins :

Introduire dans un tube à essai 5ml d'extrait à analyser. Ajouter 1ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 2%. Une coloration verdâtre ou bleu noirâtre indique la présence des tanins.

1.5.2. Protocole d'identification des Saponosides :

Introduire dans un tube à essai 2ml de la solution aqueuse à analyser. Agiter fortement. La formation d'une écume persistante témoigne de la présence des Saponosides. Laisser le mélange reposer pendant 20 minutes puis mesurer la hauteur de la mousse pour classer la teneur en Saponosides :

- L'absence de mousse confirme l'absence de Saponosides donc test négatif
- Hauteur de mousse inférieure à 1cm témoigne d'une faible présence des Saponosides.
- Hauteur de mousse comprise entre 1 et 2cm témoigne d'une bonne présence des Saponosides donc test positif
- Hauteur de mousse supérieure à 2 cm implique test très positif

1.5.3. Protocole d'identification des alcaloïdes :

Introduire 1ml d'extrait à analyser dans deux tubes à essais. Acidifier le milieu par ajout de quelques gouttes de HCl. Ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube. Ajouter quelques gouttes de réactif Wagner dans le second tube.

L'apparition d'un précipité blanc dans le premier tube révèle la présence des alcaloïdes. De même, l'apparition d'un précipité brun dans le second tube révèle la présence des alcaloïdes.

1.5.4. Test d'identification des Terpénoïdes : test de Lakowski

Verser dans un tube à essai 2,5ml de l'extrait à analyser. Ajouter 0,4ml de chloroforme puis 0,6ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des Terpénoïdes (Trease et al. 1989 ; Harbone 1998).

1.5.5. Test d'identification des flavonoïdes :

Sur 5ml d'infusion de feuilles de plante ajouter 5ml d'alcool chlorhydrique puis 1ml d'alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration :

- Rose orangé indique la présence des flavones
- Rose violacée indique celle des flavanones
- Rouge indique la présence de flavanols et flavanonols.

1.5.6. Protocole d'identification des leuco anthocyanes :

Sur 5ml d'infusion de feuilles de plante ajouter 5ml d'alcool chlorhydrique puis 1ml d'alcool iso amylique. Chauffe au bain marin pendant 15minutes. L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée indique la présence des leuco anthocyanes (Trease et al. 1989 ; Harbone 1998).

I.6. Isolation des métabolites secondaires

I.6.1. Isolation des Flavonoïdes

Protocoles :

- Etape 1 : Préparation de l'extrait aqueux

Une quantité de 30 g de poudre végétale (feuilles séchées et broyées) est macérée dans 100 ml de méthanol pendant 72 h. Après filtration, le méthanol est évaporé à l'aide de l'évaporateur rotatif à une température de 60 °C sous vide. Le résidu sec

obtenu est ensuite traité avec 50 ml d'eau tiède pour l'obtention d'un extrait aqueux (Souad Feknous et al, .2014)

- Etape 2 : Isolation

Dans une ampoule à décanter, nous procédons à une série d'opérations d'extraction liquide-liquide par ajout de plusieurs fractions de solvants non miscibles à l'extrait aqueux obtenu lors de l'étape 1. L'addition de trois fractions de 30 ml de chloroforme chacune a permis l'élimination de la chlorophylle et des lipides (S. Feknous et al, .2014)

- L'ajout de trois fractions de 30ml d'éther di éthylique chacune permet d'extraire les génines et les flavonoïdes libres (S.Feknous et al, .2014)
- L'ajout de trois fractions de 30ml chacune d'acétate d'éthyle permet l'élimination des monosides et entraîne la majorité des hétérosides flavoniques (S. Feknous et al, .2014)
- Au cours de ces différentes étapes, nous récupérons la phase aqueuse. Pour la dernière phase aqueuse, nous ajoutons trois fractions de 30ml chacune de butanol pour récupérer la phase alcoolique. Cette dernière phase contenant les flavonoïdes est récupérée dans un ballon préalablement taré. Elle est ensuite soumise à une évaporation du butanol sous vide à 55 °C pour l'obtention du résidu sec. C'est l'extrait des flavonoïdes qui sera ensuite pesé (S. Feknous et al, .2014)

I.6.2. Isolation des Tanins

Protocoles :

Etape 1 : Préparation de l'extrait aqueux

30 g de poudre végétale est dégraissée par macération dans 100 ml d'éther de pétrole pendant 24 h. Après filtration, le marc est récupéré alors que la chlorophylle et les lipides sont éliminés (S.Feknous et al, .2014)

- Etape 2 : Isolation

Le marc récupéré est repris avec 50 ml d'éther di éthylique ensuite il sera filtré pour éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique. Le marc est repris une seconde fois avec 100 ml de méthanol puis filtré dans un ballon préalablement taré. Le filtrat méthanolique est ensuite soumis à une évaporation sous vide pour obtenir un

résidu sec. C'est un extrait pur de tanins qui sera ensuite pesé. (S. Feknous et al, .2014)

Le rendement en extrait sec de flavonoïdes ou tanins est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$R = \frac{m_{\text{sec}}}{m_m} \times 100\% \quad (5)$$

Avec :

m_{sec} : masse de l'extrait sec en (g)

m_m: masse de la poudre végétale en (g)

Chapitre II

Résultats et discussions

II.1. Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal

Le taux d'humidité évalué pour les feuilles fraîches de *Thymus Numidicus*, *Origanum Glandulosum* *Lavande Stoechas*, est représenté sur la figure 7.

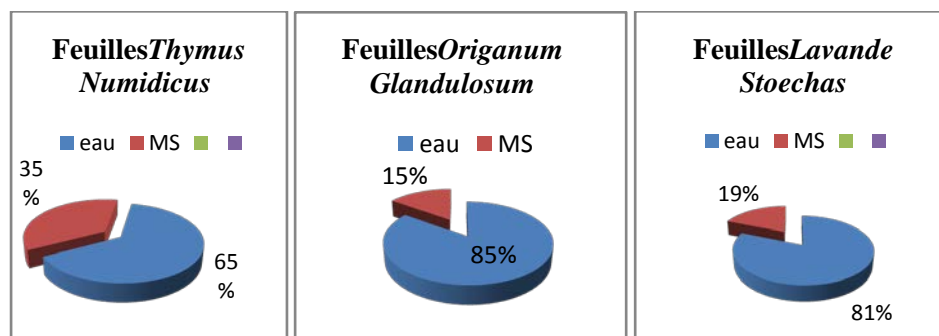


Figure 7 : Taux d'humidité des feuilles fraîches de chacune des trois plantes

Les résultats présentés sur la figure 7 montrent que les feuilles des trois plantes comportent entre 65% et 85% d'eau. Les feuilles *Origanum Glandulosum* renferment 85% d'eau suivies de celles de *Lavande Stoechas* avec 81% ensuite celles du *Thymus Numidicus* avec 65%.

Le taux d'humidité évalué pour les tiges fraîches de *Thymus Numidicus* ; *Lavande Stoechas* et *Origanum Glandulosum* est présenté sur la figure 8.

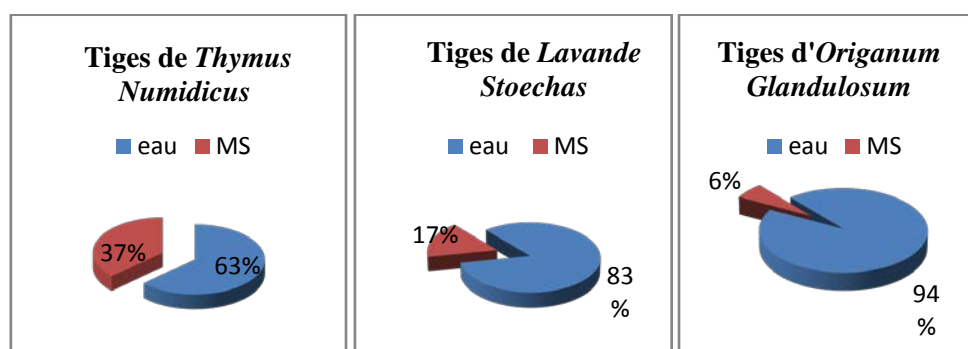


Figure 8: Taux d'humidité des tiges fraîches de chacune des trois plantes

Pour les tiges il semble, des résultats présentés par la figure 8, qu'elles soient composées essentiellement d'eau. Nous avons enregistré un taux d'humidité de 94% ; 83% et 63% respectivement pour les tiges *Thymus Numidicus*; *Lavande Stoechas* et *Origanum Glandulosum*

Nous constatons que la teneur en eau des tiges est supérieure à celle des feuilles. Par contre la teneur en eau au niveau des tiges et des feuilles est quasiment identique.

II.2 Extraction à froid par pression

Le rendement en extrait brut des feuilles *Origanum Glandulosum* fraîches a été évalué à environ **36,08%**. Par contre pour le *Thymus Numidicus*; *Lavande Stoechas* nous avons obtenu un rendement pratiquement nul.

Cependant, nous n'avons pas pu effectuer des tests phytochimiques sur les extraits obtenus par pression à froid à cause du faible rendement en extrait.

II.3. Tests phytochimiques

II.3.1. Cas des plantes fraîches

Les résultats des tests préliminaires de présence ou non des tanins, saponosides, alcaloïdes, Terpénoïdes, flavonoïdes et leuco-anthocyanes dans les extraits des plantes fraîches sont rassemblés dans les tableaux 2, 3 et 4 respectivement pour le cas du *Thymus Numidicus* ; *Lavande Stoechas* et *Origanum Glandulosum*.

Tableau 2 : Résultats des tests préliminaires pour le cas du *Thymus Numidicus* Bousoir

	Tanins	Saponoside	Alcaloïde		Terpenoïde	Flavonoïde			Leuco-anthocyanes
			Mayer	Wenger		Flavo	Flava	Flava_ol	
Infusion	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Décoction	+	- +	-	+	+	-	-	-	-
Macération (eau)	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Macération (éthanol)	+		+	+	+	-	-	+	-

+Présence ; - Absence ; - + Faiblement positif

Tableau 3 : Résultats des tests préliminaires pour le cas de la *Lavande Stoechas* Bousoir

	Tanins	Saponoside	Alcaloïde		Terpenoïde	Flavonoïde			Leucoanthocyanes
			Mayer	Wenger		Flavo	Flava	Flava_ol	
Infusion	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Décoction	+	+++	+	+	+	-	-	-	+
Macération (eau)	+	++	+	+	+	+	-	-	-
Macération (éthanol)	+	++	-	-	+	-	-	+	+

+Présence ; - Absence ; ++ Fortement positif ; +++ Très positif

Tableau 4 : Résultats des tests préliminaires pour *Lavande Stoechas* Ain El Hamam

	Tanins	Saponoside	Alcaloïde		Terpenoïde	Flavonoïde			Leucoanthocyane
			Mayer	Wenger		Flavone	flavanal	Flavanol	
Infusion	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Décoction	+	+++	-	+	+	-	-	-	+
Macération (eau)	+	++	+	+	+	+	-	-	-
Macération (éthanol)	+	- +	+	+	+	+	-	-	+

+Présence ; - Absence ; ++ Fortement positif ; +++ Très positif

Des résultats enregistrés dans les tableaux 2 à 4, nous constatons que :

- Pour les plantes fraîches nous observons la présence dans tous les extraits des tanins, des terpénoïdes et des alcaloïdes
- Les flavones sont les plus abondants des flavonoïdes et ce dans tous les extraits
- Pour les flavanal et flavanol leur abondance est variable d'un extrait à l'autre
- Pour les saponosides nous avons constaté une forte présence dans tous les extraits obtenus par décoction et macération
- En ce qui concerne les anthocyanes on a une présence variable

II.3.2. Cas des plantes séchées

Les résultats des tests préliminaires de présence ou non des tanins, Saponosides, alcaloïdes, terpénoïdes, flavonoïdes et leuco-anthocyanes dans les extraits des feuilles des plantes séchées sont regroupés dans les tableaux 5, 6 et 7 respectivement pour les cas du *Thymus Numidicus* de Bousoir; *Lavande Stoechas* et *Origanum Glandulosum* d'Ain El Hamam

Tableau 5 : résultats des tests phytochimiques pour *Thymus Numidicus* Bousoir

	Tanins	Saponoside	Alcaloïde		Terpenoïde	Flavonoïde			Leuco-anthocyane
			Mayer	Wenger		Flavo	flava	Flava_ol	
Infusion	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Décoction	+	+	-	+	+	+	-	-	-
Macération (eau)	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Macération (éthanol)	+	-	+	+	+	+	-	-	+

+Présence ; - Absence ; ++ Fortement positif ; +++ Très positif

Tableau 6 : Résultats des tests phytochimiques pour la *Lavande Stoechas* de Bousoir

	Tanins	Saponoside	Alcaloïde		Terpenoïde	Flavonoïde			Leuco-anthocyane
			Mayer	wenger		Flavo	Flava	Flava_ol	
Infusion	+	- +	+	+	+	+	-	-	-
Décoction	+	+++	+	+	+	-	+	-	+
Macération (eau)	+	++	+	+	+	+	-	-	-
Macération (éthanol)	+	--	-	+	+	-	-	-	-

+Présence ; - Absence ; ++ Fortement positif ; +++ Très positif

Tableau 7 : Résultats des tests phytochimiques pour *Origanum Glandulosum* d'Ain El Hamam

	Tanins	Saponoside	Alcaloïdes		Terpénoïde	Flavonoïdes			Leuco-anthocyane
			Mayer	wenger		Flavo	Flava	Flava_ol	
Infusion	+	- +	+	+	+	+	-	-	-
Décoction	+	-	+	+	+	-	-	+	+
Macération (eau)	+	-	-	+	+	+	-	-	-
Macération (éthanol)	+	-	+	+	+	+	-	-	-

+Présence ; - Absence ; ++ Fortement positif ; +++ Très positif

Des résultats enregistrés dans les tableaux 5 à 7, nous constatons une certaine similitude entre les plantes sèches et fraîches vis-à-vis du taux de présence en tanins, terpénoïdes, flavonoïdes et alcaloïdes. Par contre pour les saponosides de l'*Origanum Glandulosum* d'Ain Al Hamam nous avons enregistré une différence de présence entre les plantes sèches et fraîches.

II.3.3.Plantes séchées de Yakouren :

Les résultats des tests préliminaires de présence ou non des tanins, saponosides, alcaloïdes, terpénoïdes, flavonoïdes et leuco-anthocyanes dans les extraits des feuilles séchées sont rassemblés dans les tableaux 8 et, 9 respectivement pour le cas du *Thymus Numidicus* et de l'*Origanum Glandulosum* de Yakouren.

Tableau 8 : Résultats des tests phytochimiques pour le *Thymus Numidicus* Yakouren.

	Tanins	Saponoside	alcaloïde		Terpénoïde	Flavonoïde			Leuco-anthocyane
			Mayer	wenger		Flavo	flava	Flava_ol	
Infusion	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Décoction	+	+	-	+	+	+	-	-	+
Macération (eau)	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Macération (éthanol)	+	++	-	+	+	+	-	-	-

+Présence ; - Absence ; ++ Fortement positif ; +++ Très positif

Tableau 9 : résultats des tests phytochimiques pour *Origanum Glandulosum* Yakouren.

	Tanins	Saponoside	Alcaloïde		Terpenoïde	Flavonoïde			Leuco-anthocyane
			Mayer	Wenger		Flavo	flava	Flava_ol	
Infusion	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Décoction	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Macération (eau)	+	-	-	+	+	-	-	-	-
Macération (éthanol)	+	- +	-	-	+	-	-	-	+

+Présence ; - Absence ; ++ Fortement positif ; +++ Très positif

Des résultats enregistrés dans les tableaux 8 et 9, nous constatons que :

- Pour les plantes fraîches on observe la présence, dans tous les extraits, des tanins, terpénoïdes et Alcaloïdes
- Pour les saponosides, nous avons enregistré une faible présence dans tous les extraits des plantes Yakouren.
- Absence des flavanols et Flavanol dans tous les extraits des plantes.
- Présence variable des anthocyanes

Les tests effectués sur les différents extraits révèlent la présence d'importants métabolites secondaires comme les flavonoïdes, les tannins, ainsi que les alcaloïdes. De point de vue biologique, ces métabolites sont constitués de composés potentiellement actifs rencontrés dans toute ou une partie de la plante. Ce sont des précurseurs de drogues très utiles en thérapie clinique (**Boutaleb.S, 2014**).

Des résultats obtenus pour le *Thymus Numidicus* et *Lavandula Stoechas*, nous constatons une faible différence sur le taux de présence en métabolites secondaires dans les feuilles sèches ou fraîches.

Les feuilles séchées d'*Origanum Glandulosum* d'Ain El Hamam ne contiennent pas la même quantité en Saponosides comparativement aux feuilles fraîches. Ceci nous laisse supposer que la dessiccation peut influencer sur la présence des métabolites secondaires dans les feuilles.

Nous avons détecté la présence des terpénoïdes, tanins et alcaloïdes quelque soit la méthode d'extraction utilisée. Ceci laisse présager une abondance naturelle de ces métabolites secondaires dans la plupart des espèces de la famille des labiées.

Les terpénoïdes sont présents dans toutes les plantes et dans tous les extraits analysés. Ceci indique la facilité des terpénoïdes à être extrait mais aussi leur disponibilité dans la famille des labiées (**Chen et al. 2011**). Des propriétés antibactériennes, cardiotoniques sont décrites chez les terpénoïdes. Leur présence signifie que les plantes sont riches en substances antimicrobiennes (**Mohammedia, 2013**).

Les tableaux 2 à 9 montrent que les tanins sont présents dans tous les extraits analysés. Ceci indique que les tanins sont faciles à extraire et omniprésents dans la plupart des espèces de la famille des labiées.

Les tanins sont largement répandus dans le règne végétal, où on les retrouve aussi bien chez les Angiospermes que chez les Gymnospermes. Dans les Angiospermes, les tanins sont plus abondants dans les Dicotylédones que dans les Monocotylédones (**R.Moufida, 2006**).

Concernant les alcaloïdes, nos résultats confirment leur présence dans les différents extraits analysés des plantes étudiées. Les alcaloïdes sont des composés fortement présents dans la plupart des plantes comme les *angiospermes*. (**M .Badiaga ; 2012**). Plusieurs sources estiment que 10 à 15% d'entre elles synthétisent des alcaloïdes. Certaines familles ont tendance marquée à synthétiser des alcaloïdes comme par exemple les dicotylédones (**M .Badiaga ; 2012**).

Pour les trois plantes que nous avons étudiées, les résultats des tests phytochimiques ont révélé une présence plus au moins variable en saponosides. Nous avons constaté que les saponosides sont plus présents dans *Lavandulas Stoechas* que *Thymus Numidicus*.

De plus, nous avons constaté que pour l'*Origanum Glandulosum* d'Ain Al Hamam les saponosides sont abondamment présents dans les feuilles fraîches que celles séchées. Ceci s'explique par le fait que les saponosides se dissolvent plus dans les plantes avec un taux d'humidité important ce qui entraîne la formation de solutions moussantes. Les travaux de **Badiaga,M (2012)** confirment le lien entre le taux d'humidité et la présence des saponosides dans les plantes.

Concernant les leuco-anthocyanes, nous avons enregistré des résultats variables concernant leur présence dans les différentes plantes étudiées.

Les résultats obtenus pour les flavonoïdes sont difficiles à comparer avec ceux de la littérature. En effet, le rendement n'est pas relatif, il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction est conduite. D'autre part, la méthode d'extraction affecte largement le taux contenu en flavonoïdes.

Cependant, nos résultats ont révélé que les flavonoïdes sont plus abondants dans le *Thymus Numidicus* que dans l'*Origanum Glandulosum* ou *Lavandula Stoechas*. Concernant les flavones, nous avons constaté leur présence dans les trois plantes étudiées. Les travaux de **Akroum Souad (2011)** confirment la place importante des flavones dans les plantes de la famille des lamiacées.

Pour *Origanum Glandulosum* séché d'Ain Al Hamam nous avons remarqué une plus grande présence de flavonoïdes comparativement à l'*Origanum Glandulosum* de Yakouren. Ceci est probablement dû à l'environnement qui est plus favorable avec un sol léger, aéré et des endroits ensoleillés.

Pour *Thymus Numidicus* séché Boussoir et Yakouren ; nous avons remarqué la présence des flavones avec les différentes méthodes d'extractions. Ce qui nous permet de conclure que les flavones sont plus abondants dans le *Thymus Numidicus*.

II.4. Résultats d'isolation des tanins et flavonoïdes

II.4.1. Tanins

Nous présentons sur la figure 9 les photos des extraits de tanins obtenus pour les différentes plantes. Les valeurs des rendements d'extraction en tanins sont regroupées sur la figure 10.

Les photos présentées sur la figure 9 montrent que la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques. De ce fait nous pouvons dire que l'*Origanum Glandulosum* et le *Thymus Numidicus* comportent beaucoup plus de tanins galliques et que la *Lavande Stoechas* utilisée est plutôt riche en tanins catéchiques.



Figure 9 : Résidus secs de tanins extraits du *Thymus Numidicus* Yakouren, *Origanum Glandulosum* Yakouren, *Thymus Numidicus*, *Lavande Stoechas Boussoir* et *Origanum Glandulosum* d'Ain El Hamam (Vue de gauche à droite)

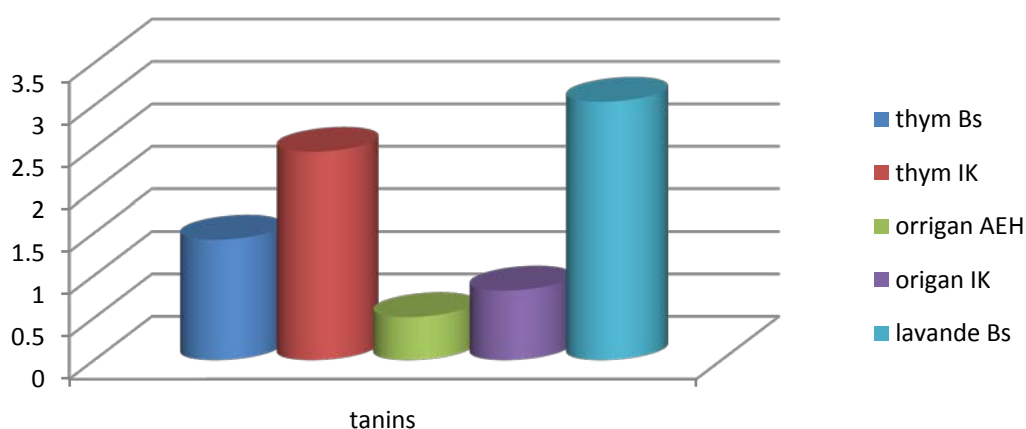


Figure 10 : Rendement en tanins obtenu pour chaque plante

Nous constatons que le *Thymus Numidicus* de Yakouren possède un rendement en Tanins plus important que le *Thymus Numidicus* de Boussoir. Cependant l'*Origanum Glandulosum* de Yakouren présente un rendement plus important que l'*Origanum Glandulosum* Ain El Hamam.

Pour la *Lavande Stoechas* de Boussoir, nous avons obtenu un rendement de plus de 3,04%. Ceci montre que la *Lavande Stoechas* comporte le taux le plus élevé en tanins par rapport aux autres plantes étudiées.

II.4.2. Flavonoïdes

Nous regroupons sur la figure 11 les photos des extraits de flavonoïdes obtenus pour les différentes plantes. Les valeurs des rendements d'extraction en flavonoïdes sont regroupées dans la figure 12.

Pour le *Thymus Numidicus* de Bousoir, nous avons obtenu un rendement plus conséquent par rapport à celui du *Thymus Numidicus* de Yakouren. Pour le cas de l'*Origanum Glandulosum*, nous remarquons que les rendements sont presque égaux pour *Origanum Glandulosum* d'Ain El Hamam et celui de Yakouren. Pour la *Lavande Stoechas*, nous avons obtenu un rendement plutôt faible en flavonoïdes 0,4%.

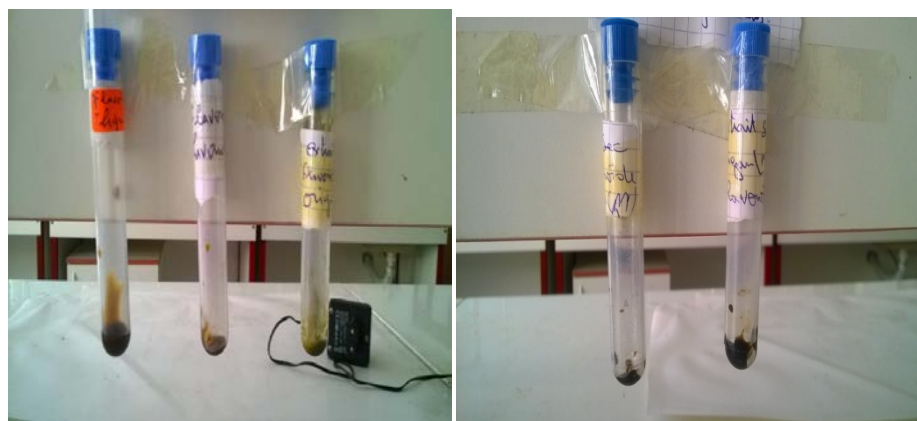


Figure 11- Résidu sec (flavonoïde) obtenu pour *Thymus Numidicus* Bs, *Lavande Stoechas* BS, *Origanum Glandulosum* Ain El Hamam, *Origanum Glandulosum* Yakouren. et *Thymus Numidicus* Yakouren (de gauche à droite)

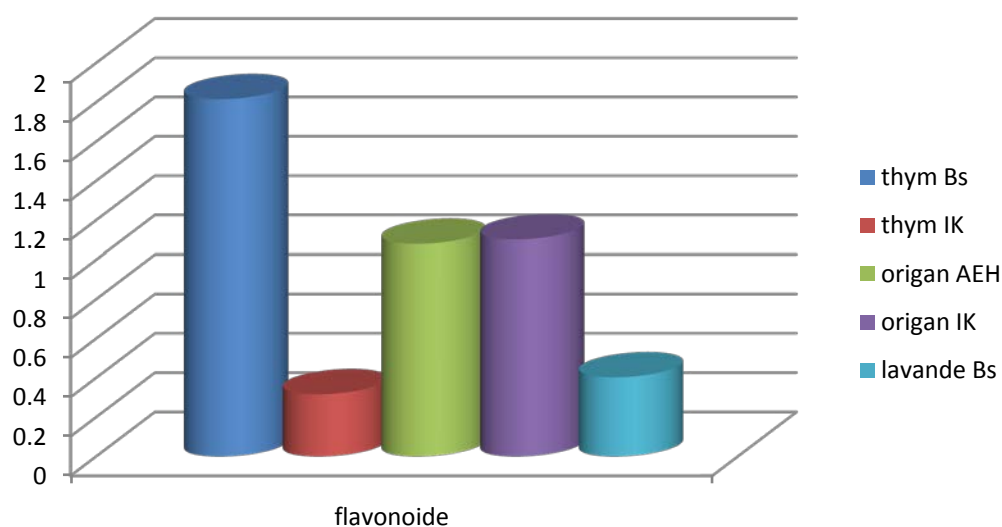


Figure 12 - Rendement d'extraction en flavonoïdes pour chaque plante

Des résultats d'extraction des tannins et des flavonoïdes, nous pouvons conclure que :

- Les feuilles de *Lavande Stoechas* Bousoir et *Thymus Numidicus* de Yakouren sont riches en tanins mais faibles en flavonoïdes
- Les feuilles du *Thymus Numidicus* de Bousoir présentent un rendement important en tanins et flavonoïdes
- Les feuilles d'*Origanum Glandulosum* d'Ain El Hamam et d'*Origanum Glandulosum* de Yakouren présentent un rendement faible en tanins mais important en flavonoïdes

II.5.Huile essentielle

II.5.1Caractères organoleptiques

L'huile essentielle d'*Origanum Glandulosum* obtenue de couleur jaune clair a l'aspect très légèrement visqueux (Figure 13). Elle dégage une odeur aromatique, aux notes épicées et amères.

L'huile essentielle de *Thymus Numidicus* obtenue a l'aspect d'un liquide visqueux, de couleur jaune avec une très forte odeur (Figure 14).



Figure13- Huile essentielle de *l'Origanum glandulosum*



Figure 12: Huile essentielle du *Thymus Numidicus*

II.5.2. Rendement en huiles essentielles

Le rendement d'extraction, en HE du *Thymus Numidicus* de Bousoir est de 1,95% et celui de Yakouren est de 2,4%. A titre comparatif, nous présentons dans le tableau 10 les valeurs des rendements en huile essentielle des feuilles de *Thymus Numidicus* issues de différentes régions.

Tableau 10 : Rendement en huile essentielle du *Thymus Numidicus* issu de différentes régions

Plantes	Thym BS	Thym IK	Thym TF [*]	Thym Cn ^{**}
Rendement en HE (%)	1.95	2.4	1.58	2

^{*}*Thymus Numidicus* de Tifrit (Azazga) à une altitude de 700m (Messara, 2012)

^{**}*Thymus Numidicus* de Djebel allouahch (Constantine) à une altitude de 800m (Kabouchi *et al.* 2005)

Le meilleur rendement en huile essentielle du *Thymus Numidicus* provient de Yakouren suivi de celui de Bousoir. Comparées aux valeurs des rendements annoncées dans la littérature nous pouvons conclure que nos rendements sont compétitifs.

D'après les résultats regroupés dans le tableau 10, nous constatons que l'altitude a une influence sur le rendement des huiles essentielles. Il semble que le rendement d'extraction en huile essentielle soit proportionnel à l'altitude.

Desjobert *et al.* (1997), avancent que l'étude complète d'une huile essentielle doit passer par la prise en compte des facteurs édaphiques. Ainsi, les résultats obtenus nous permettent de supposer que la différence des teneurs en huiles essentielles des différentes plantes sont étroitement liées aux conditions climatiques et aux dispersions géographiques (altitude, nature du sol...).

D'après les résultats regroupés dans le tableau 11, nous constatons que l'altitude a une influence sur le rendement des huiles essentielles des feuilles de *Origanum glandulosum*. Il semble que le rendement d'extraction en huile essentielle soit proportionnel à l'altitude.

Tableau 11- Rendement en huile essentielle de *l'Origanum glandulosum* issu de différentes régions

Plantes	Origan AEH	Origan T*	Origan TR**	Origan BM***
Rendement en HE (%)	3.82	4.5	3.9	3.53

*Feuilles séchées de *l'Origanum glandulosum* de Tlemcen à une altitude de 1190m (Bendahou M., 2007)

** Feuilles séchées de *l'Origanum glandulosum* de Tlemcen à une altitude de 1100m (Bendahou M., 2007)

*** Feuilles séchées de *l'Origanum glandulosum* de Tlemcen à une altitude de 670m (Bendahou M., 2007)

Conclusion générale

Conclusion générale

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie présente un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les feuilles et les tiges des plantes étudiées présentent une teneur en eau assez importante. Pour *l'Origanum glandulosum*, nous avons constaté que la teneur en eau des tiges est supérieure à celle des feuilles. Par contre pour le *Thymus Numidicus* et *Lavandulas Stockas* leurs teneurs sont quasiment identiques.

En premier lieu, les tests phytochimiques, sur les différents extraits des feuilles des plantes étudiées, ont révélé la richesse de ces plantes en tanins, terpénoïdes et alcaloïdes.

En second lieu, les résultats de l'isolation de certains métabolites secondaires nous ont permis de détecter les plantes les plus riches en flavonoïdes et tanins.

Et enfin, les rendements des huiles essentielles obtenues par hydro-distillation à partir des feuilles de *Thymus Numidicus* de Bousoir et *l'Origanum glandulosum* d'Ain el hammam sont respectivement de l'ordre de 1.95% et 3.82%

L'extraction des huiles essentielles de *l'Origanum glandulosum* et du *Thymus Numidicus* nous ont permis de comparer les résultats des rendements en huiles par apport aux différentes régions et déterminer les paramètres qui influent sur le rendement.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées. Les perspectives à venir peuvent se focaliser sur les points suivants :

- La détermination de la structure et de la composition chimique des flavonoïdes, tanins et alcaloïdes extraits des trois plantes étudiées
- L'évaluation de leurs activités antibactériennes vis-à-vis de plusieurs bactéries
- Formulations de quelques médicaments à base de ces différents extraits compte tenu des résultats d'analyse chimique et de tests antibactériens.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

• A

- **Ahmed kabouche ,2005** ; Thèse Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae.
- **Akroun Souad ; 2011** ; Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturel ; thèse doctorat en sciences option : physio-toxicologie.
- **Atefeibu E.S.I.** Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar. 2002 pp 33.

• B

- **Baba Aïssa F, 1999** ; Encyclopédie des plantes utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed. Librairie Moderne-Rouiba, pp 46 —47 - 194 - 195 —231.
- **Badiaga M, 2012** ; Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith ; HAL Id: tel-00719564 <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00719564> Submitted on 20 Jul 2012
- **Bakkalia. F, Averbeck. S, Averbeck. D, Idaomar.M.** Biological effects of essential oils A review. *Food and Chemical Toxicology.* 46, , , Pages 446–475 (2008).
- **Barrett P.** Growing and using **lavender**. A Storey Country wisdom bulletin. US, **1996** *Journal of the Science of Food & Agriculture* **1996**;
- **Beecher G. R.** Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutri.*, 2003, 133 (10), 3248S-3254S.
- **Benabdelkader T, 2004** ; Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique ; Submitted on 27 Feb 201
- **BENAYACHE Feryal,** étude phytochimique et biologique de l'espèce *thymus numidicus* poiret, avril 2013.
- **Bendahou M. (2007).** Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat d'Etat, option Biochimie, université Abou Bah Belkaïd.
- **Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M.** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie. 2007.

- **Boudjouref M ; 2011 ;** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L.
- **BOU Talbi.S ;2014;** Criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Arthrospira platensis*).
- **Boutiba ; 2015;** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de *Thymus inodorus* Desf ; diplôme de Master en Biologie.
 - **C**
- **Chen, F., Tholl, D. et al. (2011).** The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. *Plant J.* 66, 212-229.
- **Cosentino S,** Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E and Palmas F-in vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils-*Letters in Applied Microbiology*; 1999, Vol. 29; pp 130-135.
 - **D**
- **D.L. Pavida.** G.M. Lampman. G.S. Kriz, Introduction to organic laboratory techniques, W.B. Saunders Co.Philadelphia, USA. **1976**, 567.
- **Dacosta Y.** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed).Paris. 2003, pp 317
- **DEHAK K,** 2013 : thèse sur Méthodes d'extraction et de séparation des substances.
 - **E**
- **Ebrahimi S.N.,** Mirjalili J.H, Sonboli A., Yousefzadi M-Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages- *Journal Food Chemis*; 2008, Vol. 10; pp 1016.
- **EGK Caisse de Santé 2008 I** www.egk.ch
 - **F**
- **Fourment P., Roques H, 1941 ;** Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Documents et Renseignements Agricoles, Bull. 61, Alger.
- **Feknous.S.,Fairouz Saidi.,Mohammed said;2014:** Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.)
 - **G**
- **Gamez, M.J.,** Jimenez, J., Risco, S., Zarzuelo, A., Hypoglycemic activity in various species of genus *Lavandula* Part I: *La6andula stoechas* L. and *Lavandula multifida* L. *Pharmazie* 42, 706–707. (1987).

➤ **Ghedira K.** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 2005, Vol 3(4) ; pp 162-169.

➤ **Grieve, M,1971** ; A Modern Herbal, Vol. II (New York: Dover Publications, Inc; ISBN0-486-22799-5)

• **H**

➤ **Hemingway, R.W, 1992**; Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Lpant polyphenols: synthesis, proprieties, significande*. Laks P.E, Hemingway R.W New York.

➤ **Horrigan, C.**, Complementary cancer care III. *International Journal of Aromatherapy* 4, 28–29, (1992).

➤ **Hussain Aboullah ijaz**, Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. Thèse de doctorat. Université d'agriculture Faisalabad, Pakistan, (2009).

• **I**

➤ **Iwashina T, 2000** ; *Journal of Plant Research* 113: 287-299.

• **K**

➤ **Kokkini S. (1996)**. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In proceedings of the IPGRI International workshop on *Oregano*, 8 — 12 May 1996, Padulosi S (ed.). CIHEAM:• Valenzano, pp 2 —12.

• **M**

➤ **Macheix J-J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. (2005)**, Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes

➤ **Mahmoudi Y. (1990)**. La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Palais du livre, Blida.

➤ **Marfak, A. (2003)** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges.

➤ **Mebarki N., 2010**. Thèse de magistère. de chimie, Université –M'Hamed Bougara-Boumerdes.

➤ **Messara, 2012** ; Mémoire de master en Chimie pharmaceutique - UMMTO-- Extraction des huiles essentielles de quelques plantes de la famille des Labiées - Essais de formulation.

- **Milane, H., (2004)** ; La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
 - **Mohammedi .Z (2011)**. Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister Université de Tlemcen.
 - **Mohammedi.Z, 2013**, Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie ,page113.
 - **Mouffok .S (2011)**. Etude des métabolites secondaires de *Centaurea pubescens* ssp. *Omphalotricha* (Asteraceae) Mémoire de Magister Université de Batna. p 125-134.
 - **Mueller-Harvey, I. et Mc Allan, A.B. (1992)**. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.* 1, 151-217.
- **N**
- **Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., Ghorbani A. (2005)**.Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 4(2): 63-79
 - **Nait Achour Khaled, 2012** ; étude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus, Mémoire de Magister, UMBB, Décembre 2012.
 - **Nikavar B. , Mojab F., Doulat-Abadi R . (2005)**. Food chemistry 90(4):609-611.
- **P**
- **Paolini V., Dorchie Ph., Hoste H. ; 2003**. Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. *Alter. Agri.*, 17-19.
 - **Paris M. et Hurabielle M., 1980** : Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie), Tome 1 Paris.
 - **Pavida G.M Lampman. G.S. Kris, Introduction to organic laboratory techniques, WB saunders Co. Philadelphia,USA.1976,567**
 - **Peronny S.** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie. 2005, pp 151.
 - **Piochon M ,2008** ; Étude Des Huiles Essentielles D'espèces Végétales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activités Pharmacologiques Et Hémi-Synthèse. Université Du Québec À Chicoutimi.

• **Q**

- **Quezel P., Santa S, 1963** ; Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. CNRS, Paris.

- **R**

- **Rahmouni S.; Reghis S, 2016** ; Etude phytochimique et évaluations des activités antioxydantes et antibactériennes des espèces : *Lavandula stoechas*
- **Rasooli I., Rezaei M.B., Allameh A-** Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*-International Journal of Infectious Diseases ; 2006, Vol. 10; pp 236-241.
- **Richard H, 1974** ; Quelques espèces et aromates et leurs huiles essentielles. Serie synthèse bibliographiques, C. D. U P. A., pp 2.
- **Rira Moufida, 2006** ; Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins.
- **Ruberto G., Barratta M. T. , Sari 1VI., Kaâbeche M. (2002)**. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance J*, 17: 251-254.

- **S**

- **Sahraoui, 2011** ; UN1901 laboratoire de pharmacognosie univ. ency.education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharm3an_pharmacognosie19-alcaloides.pdf
- **Sijelmassi A, 1991** ; Les plantes médicinales du Maroc. 2ème éd. Le fenec.
- **Soto-Mendivil E.A., Moreno-Rodriguez J.F., Estarron-Espinosa M., Garcia-Fajardo JA et Obledo-Vazquez E.N**-Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*-E-Gnosis [online]; 2006, Vol. 4; N° 16.
- **Spichiger R. E., Savolainen V. V., Figeat M., 2000**. Botanique Systematique des Plantes a Fleurs. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne.

- **T**

- **Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. (2004)**.. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 68 (5): 1113- 1134.
- **Tarek Benabdelkader, 2014** ; thèse Biodiversite, bioactivite et biosynthese des composés terpeniques volatils des lavandes ailees, *Lavandulastoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique.

- **V**

- **Vermeris**, W. Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB). 2006.
- **Vokou D.**, Kokkini S., Bessiere J. M. (1993). Geographic variation of Greek Oregano (*O. vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochem. System. Ecol.*, 21: 287 —295.

Annexes

Annexe -- Préparation de quelques réactifs

Réactif de Mayer

- 25g d'iodure de potassium
- 6.77g de chlorure mercurique
- L'eau distillée 250 ml

Réactif de Wagner :

- 2g d'iodure de potassium
- 1.27g iode
- 100 ml d'eau distillée

Préparation de la solution d'alcool chlorhydrique

- 10 gouttes d'acide de chlore dans 125 ml d'éthanol à 70%