



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Larbi Tébessi –Tébessa Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de
la Nature et de la Vie

Département : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : des sciences de la nature et de la vie

Filière : sciences biologiques

Option : Pharmaco-toxicologie

Thème :

***Étude phytochimique et évaluation in vitro de
l'activité antioxydant Evaluation de l'activité
antimicrobienne de l'extrait méthanolique de Mélissa
officinalis***

Présenté par :

REMIKI Roumaissa

DJEBBAR Safia

KERASSA Rihab

Devant le 3 jury:

Md. BOUSEKINNE Samira

M. SALAMI Saifedine

M. MENACEUR Fouad

MCA

Université De Tébessa

Université De Tébessa

Université De Tébessa

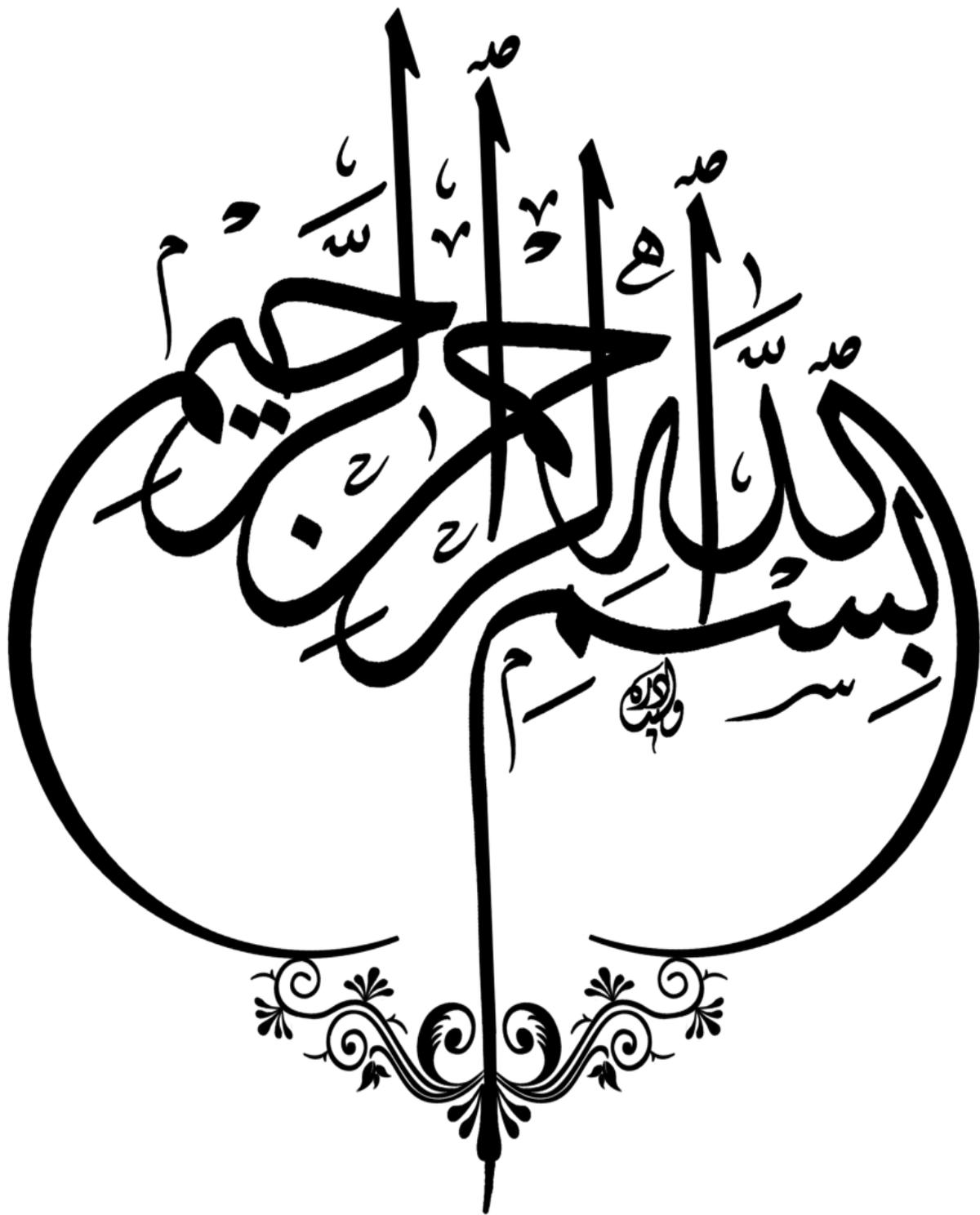
Président

Promotrice

Examineur

Date de soutenance : Le 09/06/2022 Note :/20

Année universitaire : 2021/2022



Remerciement

Au nom du dieu le clément et le miséricordieux louange à ALLAH le tout puissant

En premier lieu, je remercie Messsieur salami seif el dinne (docteur à l'Université de Tébessa)

je remercie cou encadreure Sara zouaoui de m'encadrer dans cette étude, pour sa patience, ses conseils et orientations durant toute la période de laréalisation de ce travail

La gentillesse et la bienveillance avec lesquelles vous avez guidé mes pas dans ce travail ont suscité ma bonne volonté de donner de mon mieux. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma haute considération, ma profonde reconnaissance et ma sincère gratitude.

En tant que Directeur de mémoire, merci pour votre soutien et votre accompagnement tout le long de notre recherche. Ainsi que pour vos disponibilité

et vos précieuses observations tout au long de ce travail

Nous exprimons toute nos reconnaissance à Messsieur menacer fouad (docteur à l'université de Tébessa) d' avoir bien voulu accepter de présider le

jury de cemémoire.

nos plus vifs remerciements vont à Madame bousekine samira(docteur

À l'université de Tébessa) qui a bien voulu accepter d'être

membre du jury(examinatrice) et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Enfin, nous tenons à témoignerons sincères remerciements à toutes les personnes qui

ont contribué de près ou de loin

à réaliser ce modeste travail.

contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*Je remercie en premier lieu mon dieu **ALLAH** le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de cette thèse, il a été et sera toujours à côté de moi pour réussir à terminer n'importe quel travail*

***A MES PARENTS** :Merci beaucoup, mes chers parents, **remiki azzdine**, **nadia fortas** Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études*

*Je remercie mes belles sœur **Narimen**, **Sabrina** Pour leur appui et leur encouragement*

*A mes chère frère **Tarek**, **Abdou**, **Ishak***

*A mes petit **Amir**, **mehdi***

*A mes tantes **layla**, **Kaltoum** paix a son âme*

*En premier mes je remercie mes joulie binome **Safia**, **Rihab***

Je remercie toute mes amies

***A mon fiancé :youssef** Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve*

tant attendu.

Dédicace

Je dédie ce travail

Aux êtres les plus chers : Mes parents

Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études

A Mon père

Toute l'encre, du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour

A ma mère

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement.

Mes souers

Rayan amira roudaina

Pour leur appui et leur encouragement

A mon fiancé fateh

Je ne serais exprimer ma profond reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve .tu mas toujours encouragé incité a faire de on mieux .ton soutien m a mieux .ton soutien a pérís de réaliser le rêve tant attendu

A ma grand famille mes amis et collegues

Rihab

Dédicaces

*Je remercie le Dieu pour la force et la patience
qui m'a donné*

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents

*Dont le mérite, les sacrifices et les qualités
humaines m'ont permis de vivre ce jour*

A mes chers frères : SAMIR ET DJAMAL ,islam

A ma plus belle grande sœur : samah et lamia

A mon fiancé

*Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de
mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le
rêve tant attendu.*

A mes grands-parents

*Ames petit :soudjod, iyed, malak,
mouatez, anfel, tasnime, joud grand amour de ma
vie*

A tous mes meilleurs amis

*Pour leur conseil et les souvenirs des bons
moments passés ensemble.*

Safia

RESUME

Notre travail a pour but de faire une étude phytochimique des métabolites secondaires et d'évaluer quelques propriétés biologiques de l'extrait méthanolique telles que : antioxydantes, antimicrobienne.

L'étude phytochimique a montré une forte quantité en flavonoïdes, alcaloïdes et tanins totaux, contrairement aux coumarines, stérols et triterpènes qui se présentent à des quantités plus faibles. En plus, le rendement d'extraction des composés phénoliques par le méthanol révèle un pourcentage de $5,49 \pm 1,02\%$. Le pouvoir antioxydant a été estimé par la détermination de la valeur d'IC50 de l'extrait méthanolique de la plante, qui correspond à 610 µg/ml contre 11 µg/ml pour le standard (acide ascorbique).

Par ailleurs l'activité antimicrobienne d'extraits méthanolique vis-à-vis de 03 souches bactériennes s'est révélée modérée en fonction de l'organe considéré, du type d'extraction, de la concentration et de la souche utilisée.

Dans notre cas l'extrait *Escherichia coli*.

. En définitive, *Melissa officinalis* peut constituer une source potentielle en antioxydants utilisés à des fins thérapeutiques. La plante possède un bon effet thérapeutique.

Mots clés : *Melissa officinalis*, screening phytochimique, composés phénoliques, pouvoir antioxydant.

ABSTRACT

. Our work aims to carry out a phytochemical study of secondary metabolites and to evaluate some biological properties of the methanol extract such as: antioxidants, antimicrobial.

The phytochemical study showed a high amount of flavonoids, alkaloids and total tannins, unlike coumarin, sterols and triterpenes which present at lower amounts. In addition, the extraction efficiency of phenolic compounds by methanol reveals a percentage of 5.49 1.02%. The antioxidant potency was estimated by determining the IC50 value of the plant's methanol extract, which corresponds to 610 µg/ml versus 11 µg/ml for the standard (ascorbic acid).

More over, the antimicrobial activity of methanol extracts vis-à-vis 03 bacterial strains was moderate depending on the organ considered, the type of extraction, the concentration and the strain used.

In our case the extract *Escherichia coli*..

. Ultimately, *Melissa officinalis* may be a potential source of antioxidants used for therapeutic purposes. The plant has a good therapeutic effect.

Keywords: *Melissa officinalis*, phytochemical screening, phenolic compounds, antioxidant power..

ملخص:

. يهدف عملنا إلى إجراء دراسة كيميائية نباتية للأيضات الثانوية وتقييم بعض الخصائص البيولوجية لمستخلص الميثانول مثل: مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات.

أظهرت الدراسة الكيميائية النباتية وجود كمية عالية من مركبات الفلافونويد والقلويدات والتانينات الكلية ، على عكس الكومارين والستيروولات والترايتيربين التي توجد بكميات أقل. بالإضافة إلى ذلك ، فإن كفاءة استخلاص المركبات الفينولية بواسطة الميثانول تكشف عن نسبة 5.49 1.02%. تم تقدير فعالية مضادات الأكسدة عن طريق تحديد قيمة IC لمستخلص الميثانول في النبات ، والتي تتوافق مع 610 ميكروغرام / مل مقابل 11 ميكروغرام / مل للمعيار (حمض الأسكوربيك).

علاوة على ذلك ، كان النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات الميثانول مقابل 03 سلالات بكتيرية معتدلة اعتمادًا على العضو المدروس ونوع الاستخراج والتركيز والسلالة المستخدمة.

في حالتنا استخراجا شيريشيا كولي

في النهاية ، قد تكون ميليسا أوفيسيناليس مصدرًا محتملاً لمضادات الأكسدة المستخدمة للأغراض العلاجية. النبات له تأثير علاجي جيد.

الكلمات المفتاحية: ميليسا أوفيسيناليس ، الفحص الكيميائي النباتي ، المركبات الفينولية ، القدرة المضادة للأكسدة.

TABLES DES MATIERES

Table des matières

Remerciement.

Dédicaces

RESUME

ABSTRACT

ملخص:

Introduction.....1

Première partie:Étude Bibliographique

Chapitre I: Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants

1. Stress oxydatif.....2

2. Radicaux libres.....2

3. Oxygène, espèces réactives de l'oxygène (ERO).....2

4. Différentes formes des radicaux libres.....3

4.1. Sources cellulaires des radicaux libres.....3

5. Antioxydants et protection cellulaire.....3

5.1. Superoxyde dismutase ou (SOD).....4

5.2. Catalase ou (CAT).....4

5.3. Glutathion peroxydase ou (GPx).....4

5.4. Vitamine E (tocophérol).....4

5.5. Vitamine C (acide ascorbique).....5

5.6. Polyphénols.....5

TABLES DES MATIERES

Chapitre II: Composés phénoliques

<i>1. Généralités.....</i>	<i>6</i>
<i>2. Principales classes des composés phénoliques.....</i>	<i>7</i>
<i>2.1. Les acides phénoliques.....</i>	<i>7</i>
<i>2.1.1 .Acides phénoliques et phénols simples.....</i>	<i>7</i>
<i>2.1.2. Acide phénoliques dérivés de l'acide benzoïque.....</i>	<i>8</i>
<i>2.1.3. Acide phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.....</i>	<i>8</i>
<i>2.2. Flavonoïdes.....</i>	<i>8</i>
<i>2.3. Anthocyanosides.....</i>	<i>9</i>
<i>2.4. Tannins.....</i>	<i>9</i>
<i>2.4.1. Tannins hydrolysables.....</i>	<i>10</i>
<i>2.4.2. Tannins condensés ou tannins catéchiques ou proanthocyanidols.....</i>	<i>10</i>
<i>3. Coumarines.....</i>	<i>11</i>
<i>4. Quinones.....</i>	<i>11</i>
<i>5. Lignanes.....</i>	<i>11</i>
<i>6. Les alcaloïdes.....</i>	<i>12</i>
<i>7. Rôle des composés phénoliques chez les plantes.....</i>	<i>12</i>

Chapitre III: Présentation et Description de la plante étudiée

<i>1. Phytothérapie et plantes médicinales.....</i>	<i>13</i>
<i>2. Melissa Officinalis .L.....</i>	<i>13</i>
<i>2.1.La Famille des Lamiacées.....</i>	<i>13</i>
<i>2.2. Descréption de la plante.....</i>	<i>13</i>
<i>2.3. Origines.....</i>	<i>14</i>
<i>2.4. Constituants principaux.....</i>	<i>14</i>
<i>2.5. Taxonomie de l'espèce.....</i>	<i>15</i>

TABLES DES MATIERES

<i>2.6. L'utilisation de la mélisse en phytothérapie.....</i>	<i>15</i>
---	-----------

<i>Deuxième partie.....</i>	<i>21</i>
-----------------------------	-----------

<i>Partie Expérimentale.....</i>	<i>21</i>
----------------------------------	-----------

Matériels et méthodes

<i>1.Préparation de l'extrait méthanolique (Melissa officinalis L).....</i>	<i>16</i>
---	-----------

<i>2. Détermination du rendement d'extraction.....</i>	<i>16</i>
--	-----------

<i>2.1. Screening des métabolites secondaires.....</i>	<i>17</i>
--	-----------

<i>3. Evaluation des activités biologiques.....</i>	<i>19</i>
---	-----------

<i>3.1. Evaluation de l'activité antioxydante dans l'extrait de M. officinalis L.....</i>	<i>19</i>
---	-----------

<i>4. Evaluation de l'activitéantimicrobienne.....</i>	<i>20</i>
--	-----------

<i>5. Etude statistique.....</i>	<i>23</i>
----------------------------------	-----------

Résultats et discussion

<i>1. Rendement d'extraction.....</i>	<i>24</i>
---------------------------------------	-----------

<i>2Screening phytochimique.....</i>	<i>24</i>
--------------------------------------	-----------

<i>3. Activités biologiques.....</i>	<i>25</i>
--------------------------------------	-----------

<i>3.1. Activitéantioxydante.....</i>	<i>25</i>
---------------------------------------	-----------

<i>Conclusion.....</i>	<i>30</i>
------------------------	-----------

<i>Références bibliographie.....</i>	<i>31</i>
--------------------------------------	-----------

Annexes28

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : d'acide désoxyribonucléique

ADP: L' adenosine diphosphate

ATCC: American Type Culture Collection

ATP: L 'adénosine triphosphate

BHA: Butylhydroxyanisole

BHT: Butylhydroxytoluène

CAT: catalase

CI50: Concentration d'inhibition à 50

Cu : cuivre

DPPH :Diphénylpicrylhydrazyle

EOA : Espèce oxygène active

Er : enzyme radicalaire

ERNS: Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

EROS: Espèces réactives de l'oxygène

Fe : fer

FeCL3 : Chlorure ferrique

GN: Gélose nutritive

GPX: Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion

H2O2: Peroxyde d'hydrogène

HCL : Acide chlorohydrerique

HO: Radical hydroxyl

LISTE DES ABREVIATIONS

HOCL: Acide hypochloreux

NO: Monoxide ed'azot

O2 : L'oxygène

O2-: Anion superoxyde

Rd : Reendement

SOD: super oxyde dismutase

UV : rayonnement ultraviolet

Zn : zinc

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	page
1	Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant (Antioxydants, n.d.).	02
2	Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production	04
3	Le phénol, le plus simple des composés phénoliques (Ahlem, 2012).	06
4	Classification et structure chimique des composés phénoliques	07
5	Squelette de base de tanins hydrolysables	10
6	Squelette de base de tanins condensés	11
7	Carte de répartition de la famille des <i>Lamiaceae</i> dans le monde	14
8	Différents étapes de Préparation de l'extrait méthanolique .	16
9	Principe de piégeage du radical DPPH	20
10	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différente concentration de l'extrait méthanolique de <i>Melissa officinalis</i>	26
11	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différente concentration de l'acide ascorbique	26
12	Résultats de l'activité antimicrobienne Obtenu. Après 24 h	28

Liste des Tableaux

N°	Titre	page
1	Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant (Antioxydants, n.d.).	02
2	Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production	04
3	Le phénol, le plus simple des composés phénoliques (Ahlem, 2012).	06
4	Classification et structure chimique des composés phénoliques	07
5	Squelette de base de tanins hydrolysables	10
6	Squelette de base de tanins condensés	11
7	Carte de répartition de la famille des <i>Lamiaceae</i> dans le monde	14
8	Différents étapes de Préparation de l'extrait méthanolique .	16
9	Principe de piégeage du radical DPPH	20
10	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différente concentration de l'extrait méthanolique de <i>Melissa officinalis</i>	26
11	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différente concentration de l'acide ascorbique	26
12	Résultats de l'activité antimicrobienne Obtenu. Après 24 h	28

Introduction

INTRODUCTION

Introduction

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Ces derniers à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques (**Dibong S.D et al., 2011**)

Le recours à la médecine à base des plantes est profondément ancré dans notre culture, car l'Algérie est réputée par la richesse de sa flore médicinale qui comprend des centaines d'espèces végétales (**Akharaiyi F ,2010**)

Melissa officinalis L. est une plante médicinale qui a longtemps été utilisée dans différents systèmes ethno-médicaux notamment dans la Médecine Traditionnelle Européenne et la Médecine Traditionnelle Iranienne pour le traitement de plusieurs maladies. Il est également largement utilisé comme légume et pour ajouter de la saveur aux plats

Ce travail avait pour objectif d'évaluer le screening phytochimique, l'activité antioxydante, antibactérien, phytochimie, des extraits méthanolique et aqueuse de la partie aérienne de *Melissa officinalis*

Ce mémoire se décline en deux parties :

La première partie est consacrée à l'étude bibliographique, composée de trois chapitres comprend les radicaux libres, stress oxydatif, les composés phénoliques et Présentation et Description de la plante étudiée

La deuxième partie est un travail de laboratoire sur l'extrait méthanolique sur l'activité antioxydante et antibactérienne et discuter les résultats qui détaillent l'effet de *Melissa* sur les paramètres à travers le travail de laboratoire

Première partie
Étude Bibliographique

Chapitre I

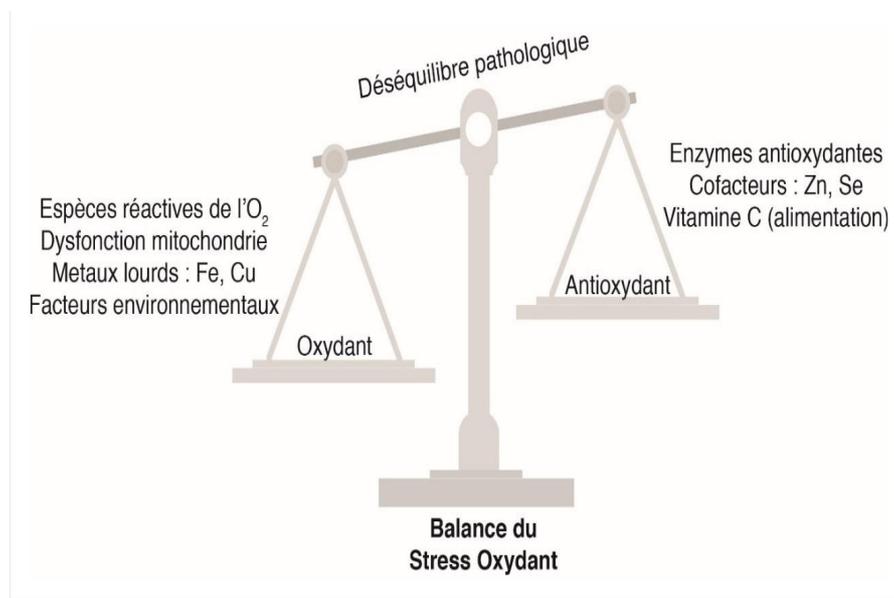
Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants

Chapitre 1 :Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants

1. Stress oxydatif

Le stress oxydant qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des premiers. Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs).

al



(Haleng *et al.*, 2007)

Figure 1 : Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant (Antioxydants, n.d.).

2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules chimiques très réactives ; il y a dans l'organisme au cours de divers métabolismes ou l'influence de certains facteurs et en particulier du rayonnement solaire. (CEROU, 1994)

3. Oxygène, espèces réactives de l'oxygène (ERO)

La chaîne respiratoire mitochondriale, dans laquelle les êtres aérobies puisent leur énergie, joue un rôle capital dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP (Adenosine DiPhosphate) en ATP (Adenosine TriPhosphate) (Delattre *et al.*, 2005)

Chapitre 1 :Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants

4. Différentes formes des radicaux libres

Les ER se divisent en deux familles : les espèces réactives de l'oxygène (EROs) et les espèces réactives de l'azote (ERNs) (Droge , 2002).

Tableau 1 : les différents formes des radicaux libres (Droge , 2002).

<i>Espèces Radicalaires</i>	<i>Espèces Non Radicalaires</i>
Anion superoxyde O ₂ ⁻	Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂
Radical hydroxyl HO.	Acide hypochloreux HOCl
Monoxide d'azote .NO	Peroxynitrite ONOO-
Grande instabilité : stabilisation par réaction avec les constituants cellulaire	Eléments de décomposition pour la détoxification par les systèmes de défense enzymatique

4.1. Sources cellulaires des radicaux libres

Il y a de nombreuses sources d'ERO dont l'importance varie selon les tissus. La réaction de Fenton produit des ERO dans la cellule. Les autres sources cellulaires de ERO sont enzymatiques et non enzymatiques (Droge , 2002)

5. Antioxydants et protection cellulaire

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléo plasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (J. Haleng *et al.*,2007)

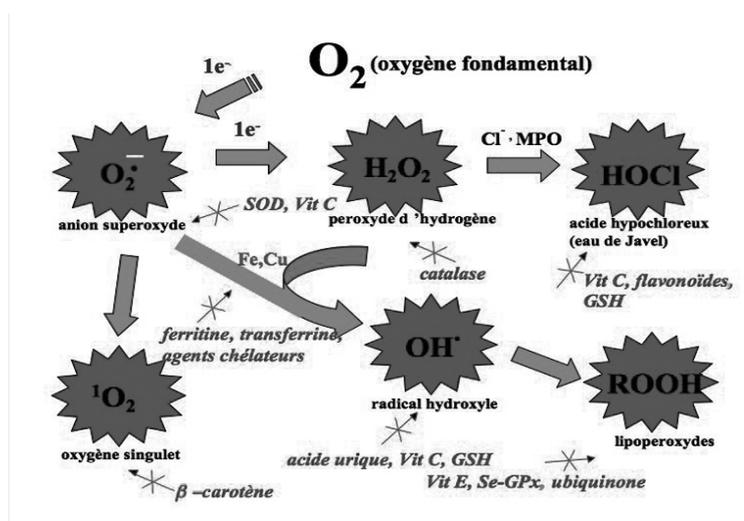


Figure 2 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production (Saad A *et al.*, 2006)

5.1. Superoxyde dismutase ou (SOD)

Les superoxyde dismutases sont des métalloprotéines qui sont les premières lignes de défense contre le stress oxydant, et l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. (Delattre *et al.*, 2005).

5.2. Catalase ou (CAT)

La catalase (CAT) est une enzyme héminique dont la réaction est localisée dans les peroxysomes, catalyse la dismutation de H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire : $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$ (M. Valko *et al.*, 2006).

5.3. Glutathion peroxydase ou (GPx)

Les glutathion peroxydases consistent en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras poly insaturés. (Wautier J, 1997)

5.4. Vitamine E (tocophérol)

La forme la plus abondante de la vitamine E est l' α -tocophérol (Haleng *et al.*, 2007).

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone) (Langsjoen PH *et al.*, 2003)

Chapitre 1 :Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants

5.5. Vitamine C (acide ascorbique)

est très largement utilisée mais sans beaucoup de preuves d'efficacité et un puissant agent réducteur qui réagit avec tous les radicaux peroxydes et qui désactive les superoxydes et le radical hydroxyle (**Rybak , 1974**)

5.6. Polyphénols.

Les polyphénols sont des antioxydants présents dans les végétaux. Ils vont piéger les radicaux libres (**Sears et Ricord , 2012**)

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement par l'apport en fruits et, dans une(moindre mesure, en légumes et en céréales. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges et le vin rouge) (**Langsjoen PH et al .,2003**).

Chapitre II:
Composés phénoliques

Chapitre II : Composés phénoliques

1. Généralités

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (SANAGO, 2006). Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (Amenai H, 2006).

La phytothérapie est l'une des vieilles médecines du monde (Jedidi *et al.*, 2018). Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner sans créer de nouvelles maladies (Abdoun N et Dermouche M, 2018). Malgré le développement phénoménal de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt populaire pour la phytothérapie n'a jamais cessé d'évoluer. De nos jours ces deux types de médication se retrouvent intimement liés puisque le modèle moléculaire de la plupart des médicaments mis sur le marché, ont pour origine la plante (Shu, 1998).

➤ Structure

La structure chimique, sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Ils sont classés sous différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Ahlem, 2012).

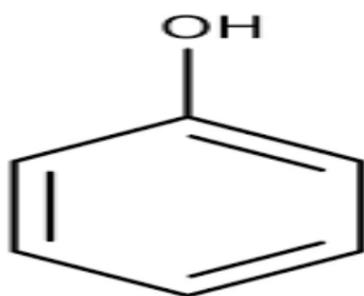


Figure 3 : Le phénol, le plus simple des composés phénoliques (Ahlem, 2012).

Chapitre II : Composés phénoliques

2. Principales classes des composés phénoliques

Les poly-phénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques poly hydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classe principales; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins. stilbènes, les coumarines ... (Delille, 2013).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006)

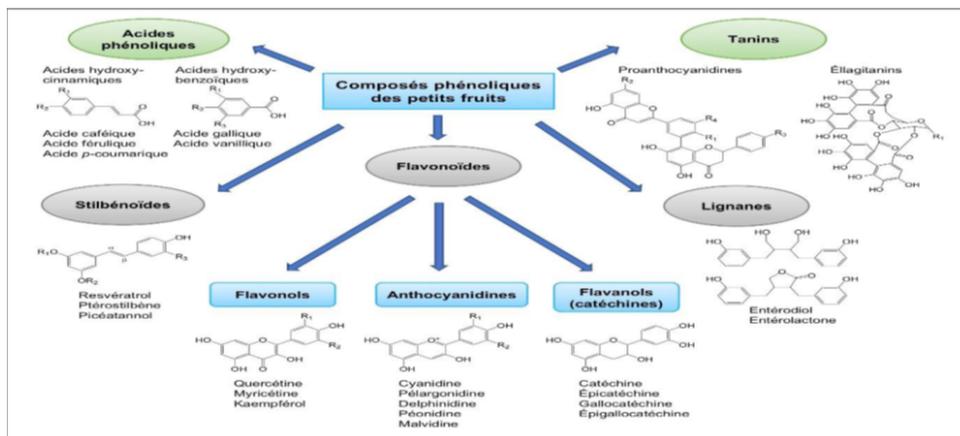


Figure 4 : Classification et structure chimique des composés phénoliques (Nile et Park, 2014).

2.1. Les acides phénoliques

Les acides hydroxybenzoïques dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque avec une structure de base de type C6-C1. Ces hydroxyles phénoliques OH peuvent ensuite être méthylé (Macheix, J *et al.*, 2005).

2.1.1. Acides phénoliques et phénols simples

Les acides phénoliques sont un groupe de métabolites secondaires largement distribués dans les plantes essentiellement dans les tiges et les feuilles des légumes, les fruits, les céréales et les plantes médicinales (ISERIN *et al.*, 2001)

Chapitre II : Composés phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Les phénols possèdent des activités anti inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (**ISERIN *et al.*, 2001**)

2.1.2. Acide phénoliques dérivés de l'acide benzoïque

Les acides phénoliques en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (**Bruneton, 1999**).

Les principaux acides hydroxybenzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides phydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et syringique (**Chanforan, 2010**).

2.1.3. Acide phénoliques dérivés de l'acide cinnamique

Les acides cinnamiques sont retrouvés dans les plantes sous forme d'esters d'acides quiniques, acide shikimique et acide tartrique. Par exemple, l'acide chlorogénique est l'ester de l'acide caféique et l'acide quinique (**Macheix *et al.*, 2005**).

2.2. Flavonoïdes

Le mot flavonoïde vient du terme latin « Flavus » qui signifie jaune. C'est une substance à poids moléculaire faible qui peut être considérée parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (**WICHTL et ANTON, 2009**).

Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné (**Martens et Forkmann, 1998**).

Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés à contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné (**ADOUANE, 2016**).

Chapitre II : Composés phénoliques

Tableau 2: Distribution alimentaire des principales classes de flavonoïdes

(ADOUANE, 2016)

Flavonoïdes	Aliments	Caractéristiques
Flavonols	Oignon, poireau, brocolis, pomme, choufrisé, olive, tomate.	Le groupes le plus abondants des composés phénoliques
Flavones	Persil, céleri, thym, romarin, peau des fruits	Les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration
Flavonones	Graines de soja et produits qui en dérivent. Fruit de genre	Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont

2.3. Anthocyanosides

Ces pigments hydrosolubles sont responsables de la coloration des plantes en bleu, rouge, rose, violet ou orange. 1,34 Ces couleurs varient en fonction du pH et dépendent aussi du nombre d'hydroxyles portés par le cycle B. Elles sont habituellement caractéristiques des pétales de fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues (**Harborn, 1976**)

2.4. Tannins

Les tannins sont des molécules polyphénoliques, le plus souvent hydrosolubles, des structures variées et de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines des plantes (**Watterson et Butler, 1983**)

Le tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (**HOPKINS, 2003**).

Chapitre II : Composés phénoliques

2.4.1. Tannins hydrolysables

Polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (**HOPKINS, 2003**).

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour parer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (**ISERIN *et al.*, 2001**)

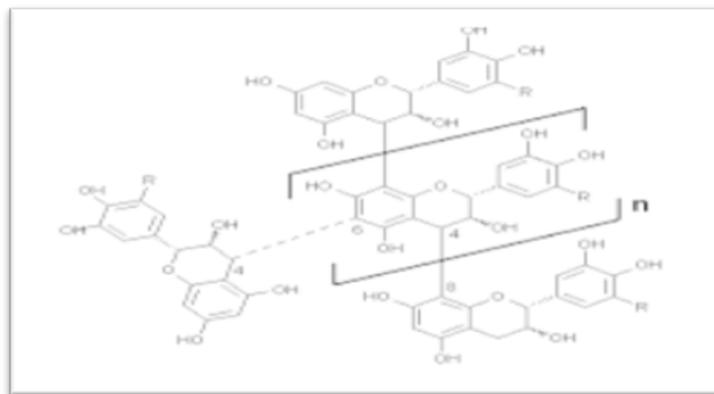


Figure 5
base de

hydrolysables (**Sereme *et al.*, 2010**)

: Squelette de
tanins

2.4.2. Tannins condensés ou tannins catéchiqes ou proanthocyanidols

Polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes decarbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (**HOPKINS, 2003**)

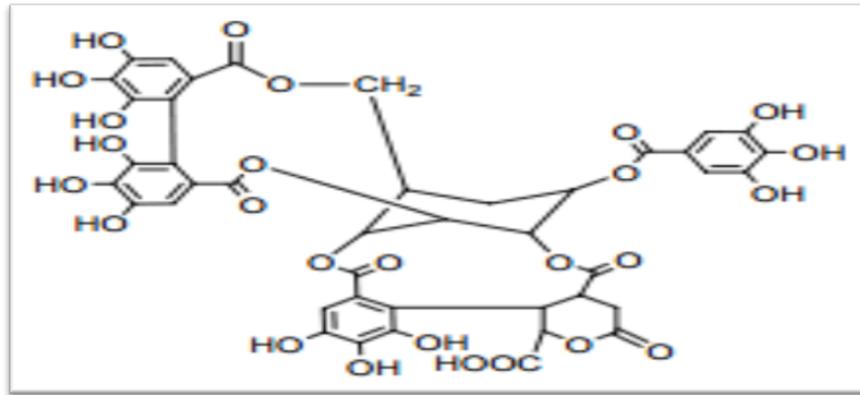


Figure 6: Squelette de base de tanins condensés (Muanda , 2010)

3. Coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le noyau benzo- α pyrone (coumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique (Jain et Joshi, 2012).

Les coumarines tirent leur nom de (coumarou) nom vernaculaire de la fève tonka (Dipteryx odorata Willd., Fabaceae) d'où fut isolée, en 1820, la coumarine (Jain et Joshi, 2012).

4. Quinones

Les dérivés quinoniques renferment au sein de leur molécule des quinones. Ces dernières sont des composés oxygénés, caractérisés par le motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (p-quinone) ou par celui du 1,2-dicéto cyclohexa3,5-diéniq (o-quinone). Elles sont liées au benzène, au naphthalène, à l'anthracène,...et au naphtodianthracène (Bruneton, J *et al.*, 2012)

5. Lignanes

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

Chapitre II : Composés phénoliques

6. Les alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**WICHTL et ANTON, 2009**).

7. Rôle des composés phénoliques chez les plantes

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature, soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux, dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...), et des produits qui endérivent par la transformation, dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...), pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (**Haniche W, 2020**).

De plus en plus d'études indiquent que les poly phénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neuro-dégénérative) (**Fleuriet et al., 2005**).

Chapitre III

Présentation et Description de la plante étudiée

1. Phytothérapie et plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine ; feuille, fleur (**Dutertre ,2011**).

La phytothérapie est une discipline qui étudie les plantes médicinales donc est une façon de mettre à profit les propriétés médicinales des végétaux en utilisant les plantes sous forme de préparations dites "galéniques" afin de soigner ou de prévenir les maladies (**CHAMER ,2016**).

2. *Melissa Officinalis* .L

C'est une plante médicinale et aromatique (**Kothe HW, 2007**). Elle est également une plante herbacée vivace de la famille des *Lamiacées*, très répandue en Algérie (avec des feuilles à l'odeur et la saveur citronnées .

2.1.La Famille des Lamiacées

La famille Lamiaceae (Labiées) du Latin (Labia) c-a-d lèvre, signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (**Couplan F, 2000 ; Naghibi F ,2005**) c'est une grande famille comprenant 3200 à 4000 espèces réparties en 200 à 220 genres. Parmi les plus connues, on peut citer la menthe, le thym, le romarin, la lavande, l'ortie Les Lamiaceae sont très importantes dans la flore algérienne, mais certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Hammoudi R, 2015**). Ils possèdent souvent des poils glanduleux et des glandes sous- épidermiques à huiles essentielles, dont on note le caractère aromatique des plantes de cette famille (**Zeghib A, 2013**).

2.2. Description de la plante

La famille Labiatae (Lamiaceae) est une famille des plantes à fleurs, avec environ 220 genres et près de 4000 espèces dans le monde entier. Cette famille a une distribution presque cosmopolite (**Jamzad Z et al., 2003**). Rependus dans tout le monde, mais principalement dans le bassin méditerranéen (Fig7) (**Miller, 2006**)

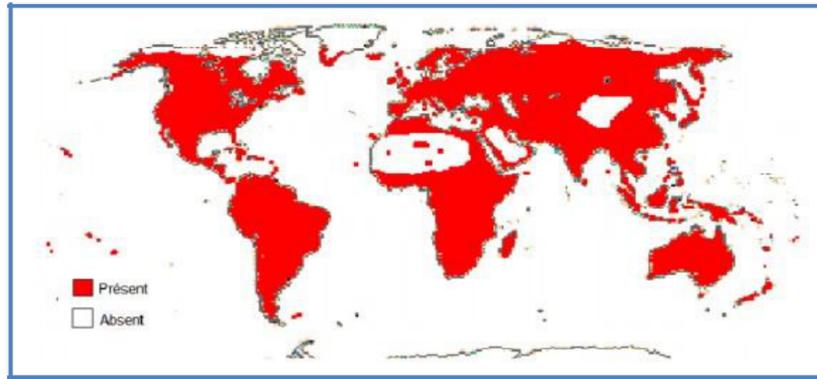


Figure 7 : Carte de répartition de la famille des *Lamiaceae* dans le monde (Tabti , 2017)

Les plantes de cette famille sont herbacées ou arbustives généralement aromatiques, elles sont caractérisées généralement par des tiges en carrées, feuilles opposées souvent simples, et fleurs irrégulières (Zygomorphe) (Blamey et wilson , 1991).

2.3. Origines

le nom de la *Mélissa Officinalis* vient du grec *Mélistophulon* qui signifie « feuille à abeilles ». Elle est plus communément appelée citronnelle ou mélisse-citronnelle, bien que la véritable citronnelle (*Cymbopogon nardus*) soit une graminée asiatique. Les anglais la nomment lemon-balm et les allemands Zitronenmelisse ou Melissenkraut (Kothe HW, 2007)

2.4. Constituants principaux

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques, terpènes et alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Mansour, 2009).

2.5. Taxonomie de l'espèce

Les plantes de la famille des *Lamiaceae* sont classées comme suit (Tab.3).

Tableau 3 : Classification taxonomique de la famille des *Lamiaceae* (Quézel et Santa, 1962-1963)

Règne	Plante
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>

2.6. L'utilisation de la mélisse en phytothérapie

La Mélisse possède une activité antibactérienne (*Shigella sp*) et antifongique (*Trichophyton sp*). Elle est anti-oxydante, capteur de radicaux libres (Mimica-Dukic *etal.*, 2004) et anti-tumorale (Allyne *et al.*, 2004).

On a utilisé la Mélisse en tisane avec d'autres plantes antispasmodiques (Verveine, [Réglisse](#), [Fenouil](#) et Camomille) pour traiter les coliques des enfants (Weizman et Alkrinawi, 1993).

Pour le traitement des troubles du sommeil des résultats formidables ont été obtenus avec un extrait contenant de la Mélisse, de la Camomille, et du Fenouil (Savino et Cresi., 2005).

Un extrait associé à base de Mélisse et de Valériane est utilisé contre l'[insomnie](#) est efficace plus que le Triazolam (Dressing, et Riemann, 1992). La Mélisse agit aussi sur la qualité du sommeil chez des personnes ne présentant pas ce problème (Cerny et Schmid, 1999).

Deuxième partie

Partie Expérimentale

Matériels et méthodes

1. Préparation de l'extrait méthanolique (*Melissa officinalis* L)

La récolte a été réalisée à Barika (période de récolte Septembre 2021), Wilaya de Batna. L'extrait de *M. officinalis* L. a été obtenu à partir de sa poudre en utilisant un mélange méthanol-eau (7 : 3, v : v) sous agitation pendant 24 h à une vitesse de rotation de 200 tr / min. Le rapport utilisé dans cette étude était de 1 :10 (m : v) (échantillon de 50 g avec 500 ml de solvant). La fraction soluble dans le méthanol obtenue a été filtrée et concentrée sous pression réduite à 60°C en utilisant un évaporateur rotatif. L'extrait a été conservé à l'obscurité à 4°C.

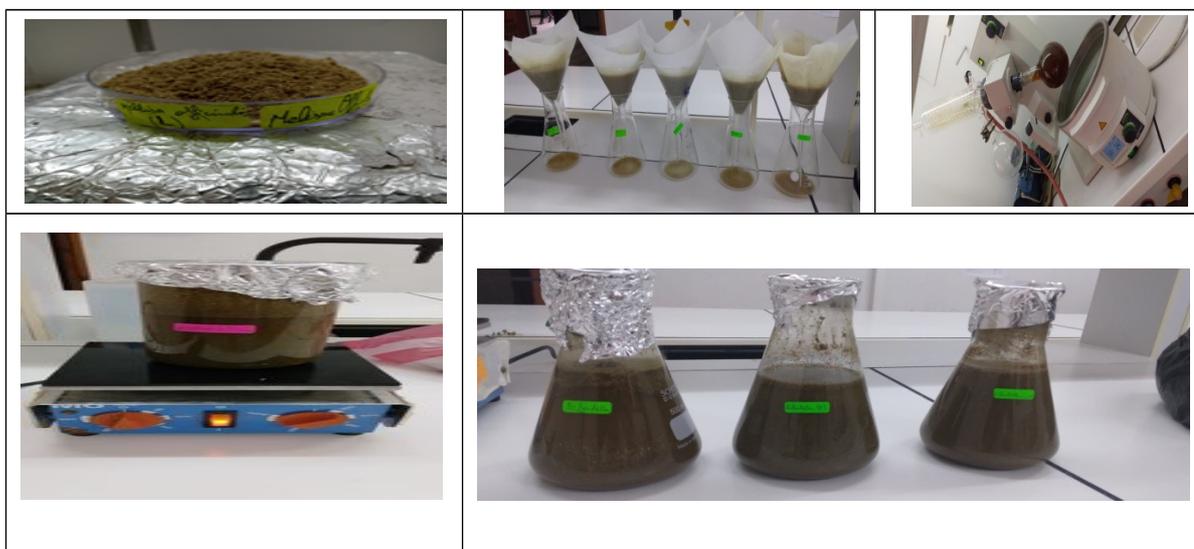


Figure 8 : Différents étapes de Préparation de l'extrait méthanolique .

2. Détermination du rendement d'extraction

C'est le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après l'évaporation du solvant et la masse de la matière végétale sèche. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rd (\%)} = (M_{\text{ext}} / M_{\text{mvs}}) \times 100$$

Où ; Rd : Rendement(%), M_{ext} : Masse de l'extrait sec (g), M_{mvs} : Masse de la matière végétale sèche (g).

2.1. *Screening des métabolites secondaires*

Le screening phytochimique est un ensemble de réactions chimiques simples, permettant d'orienter rapidement vers l'étude détaillée de quelques types de constituants chimiques. (**Bruneton J, 1999**).

Le screening phytochimique a été effectué selon la méthode décrite Par **BRUNETON (Girre L, 1980)**.

- **Principe**

Les tests phytochimique consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

Le but de ces tests est de mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaires (anthocyanes, tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, saponosides, glucosides, quinones). Les tests sont effectués soit sur la poudre, soit sur un l'infusé.

Les résultats seront classés selon (**Négué Diarra M, 2003**) :

- Réaction franchement positive : + + +
- Réaction moyennement positive : + +
- Réaction faiblement positive : +
- Réaction difficile à interpréter : ±
- Réaction négative :-

Ce screening a été réalisé sur la poudre de Mélissa, son infusé (10 % p/v), son décoctât et sur son extrait éthanolique. Nous nous sommes servis des techniques analytiques décrites par Bruneton (**Bruneton J., 1999**) et (**Boudjema et al., 2020**).

a) **Préparation de l'infusé**

Une quantité de 10g de la poudre végétale est ajoutée dans 100 ml de l'eau bouillante et la solution ainsi obtenue est gardée au repos pendant 30 min. Après filtration, nous avons obtenu l'infusé à 10%.

b) Préparation du décoctât

10 g de la poudre végétale est mise en contact avec 100 ml de l'eau distillée puis portée à ébullition pendant 5 à 15 min. Après refroidissement, le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Wattman.

- **Recherche des alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont été testés en utilisant 0,5ml de HCl (1%) ajouté à 1,5 ml de chaque extrait puis on ajoute 3 gouttes du réactif de Wagner. Un précipité crème indique la présence des alcaloïdes (**Maria John *etal.*, 2015**).

- **Recherche des substances polyphénoliques**

- **Recherche des anthocyanes**

Leur identification consiste à rajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl 0,1N) à 5ml d'infusé. La réaction donne une coloration rouge en présence d'anthocyanes. (**Dahon., 2003**).

- **Recherche des tanins**

On ajoute à 5 ml d'infusé quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 5%. La réaction donne une coloration bleu-noirâtre en présence des tanins (**Karumi *et al.*, 2004**).

- a. **Tanins catéchiques**

On ajoute 7 ml de réactif de Stiasny (Formol 30%, HCl concentré : 1/0,5) à 15 ml d'infusé. Ce mélange est chauffé au bain-Marie à 90°C pendant 15 min. La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

- b. **Taninsgallique**

On ajoute 2g d'acétate de sodium à 5 ml d'infusé. On y ajoute quelques gouttes de FeCl₃ (1%). La réaction donne une coloration bleu foncé en présence des tanins galliques.

- **Recherche des flavonoïdes**

Réaction à la cyanidine. 1ml de chaque extrait est ajouté à 100 μ l de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la couleur rouge ou orange (**Karumi *et al.*, 2004**).

Matériels et méthodes

- Les saponosides

10ml de chaque extrait est agité pendant 15 secondes dans un tube à essai puis laissé au repos pendant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1cm indique la présence de saponosides (N° **Guessan et al, 2009**).

- Les stérols et triterpènes

Réaction de Lieberman-Burchardt 5ml de chaque extrait est évaporée. Le résidu est dissout dans 1ml d'anhydride acétique et 0,5ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert indique leur présence (**Edeoga et al, 2005**).

- Polyphénols

Deux millilitres de chaque extrait est mélangé avec quelques gouttes d'une solution à 2% de FeCl₃. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée est le signe de la présence de polyphénols (**Bidie et al., 2011**).

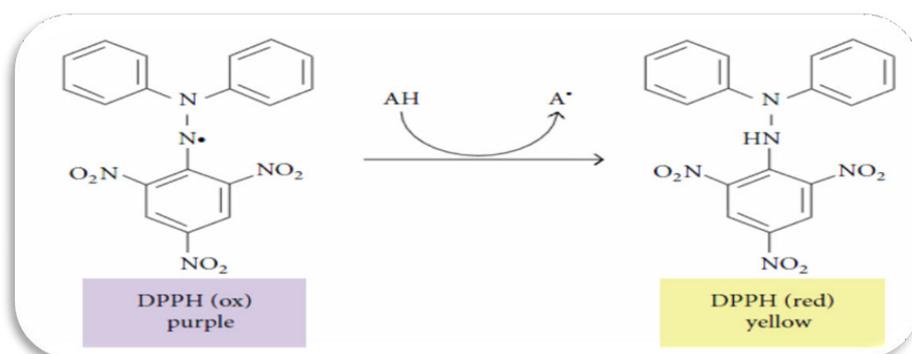
3. Evaluation des activités biologiques

3.1. Evaluation de l'activité antioxydante dans l'extrait de *M. officinalis* L.

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique de *Mélissa officinalis* L. est testée selon la méthode de : piégeage du radical libre **DPPH**.

• L'activité antiradicalaire au DPPH

L'activité du DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (**Blois, 1958**), le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune.



Figure

9 :

Principe de piégeage du radical DPPH (Teixeira *et al.*, 2013).

Le DPPH absorbe à **517 nm**, mais lors de la réduction par un antioxydant, son absorption diminue. Brièvement, une solution de **0,4 mM** de DPPH préparée dans le méthanol et **160 µl** de cette solution ont été ajoutés à **40 µl** d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol à des concentrations différentes. Trente minutes plus tard, l'absorbance a été mesurée à **517 nm**. Le BHA, BHT et l' α -tocophérol ont été utilisés comme normes anti-oxydantes, pour la comparaison de l'activité avec les extraits utilisés.

La faible valeur d'absorbance de la réaction du mélange indique une activité de piégeage des radicaux libres supérieure.

La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Extrait}}) / A_{\text{Blanc}}] \times 100$$

A_{Blanc} est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A_{Extrait} est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

- **Détermination d'IC50**

Selon **Samarth et al., 2008**. La valeur IC50 est la concentration qui assure la réduction de 50% du DPPH déterminée graphiquement pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration.

4. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Le principe de cette étude consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes soumis au contact des principes et extraits de la plante.

Matériels et méthodes

- **Principe**

L'évaluation du pouvoir anti-microbien est réalisée par la technique de **diffusion des disques** sur milieu gélosé (Güllüce M *et al.*, 2006). Dès l'application des disques imbibés par les substances actives à analyser, ces dernières diffusent

Uniformément. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires, correspondant à une absence de culture (Fauchere JL, 1997).

- **Souches bactériennes testées**

Les souches microbiennes testées ont été choisies pour leurs fréquences élevées dans les contaminations humaines, et sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection) (**Tableau 04**).

Tableau 4 : Caractéristiques des souches microbiennes testées

Souche	N° ATC C	Gram	Famille	Principales infections causées
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	-	<i>Pseudomonadaceae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Voies aériennes inférieures - Septicémie. - Crampes abdominales. - Troubles digestifs.
<i>Escherichia coli</i>	8739	-	<i>Enterobacteriaceae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Infections nosocomiales. - Gastro-entérite. - Infections respiratoires.

Matériels et méthodes

				oires.
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 538	+	<i>Micrococcaceae</i>	- Gastro-entérite. - Infections urinaires. - l'arthrite.

- **Conservation des souches**

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur la gélose nutritive (GN). Incubées pendant 24 h à 37 °C, elles sont conservées à 5 °C dans des tubes contenant de la gélose nutritive incliné.

- **Préparation de l'inoculum**

La suspension bactérienne est préparée à partir des cultures pures : à l'aide d'une anse de platine on racle 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques. On décharge l'anse dans 05 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% NaCl, après homogénéise la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex.

- **Mode opératoire**

- **Ensemencement**

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé MH est coulé aseptiquement à raison de 20 ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. On laisse sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

- **Application des disques**

Des disques de papier Whatman N°1 stérilisés de 6 mm de Ø sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile puis imprégnés d'un volume de 10 µl d'extrait. Un autre disque sec est déposé comme contrôle négatif.

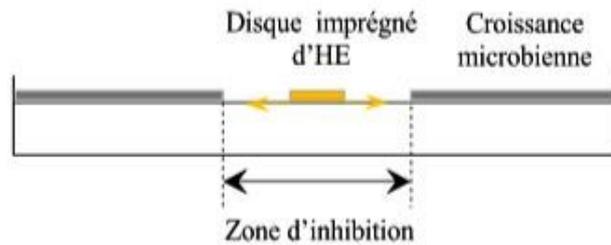
- Incubation

On laisse les disques diffuser sur la paillasse pendant 30 min, puis on transfère les boîtes pour incubation dans une étuve bactériologique, en les renversant sur leur couvercle (37°C pendant 24h pour les bactéries).

• Lecture et expression des résultats

Après écoulement du temps d'incubation requis, la sensibilité des souches testées est déterminée, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition développée autour du disque, à l'aide d'un pied à coulisse (exprimé en mm).

La zone d'inhibition est définie comme étant une auréole formée autour du disque, où aucune croissance n'est observée (**Ponce AG et al.,2003**)



La mesure du diamètre des halos d'inhibition est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité (Tableau 5).

Tableau 5 : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (**Ponce A.G et al.,2003**)

Diamètres de la zone d'inhibition (Ø)	Sensibilité du germe
Ø < 8 mm	Résistant ou non sensible
Ø compris entre 9 à 14 mm Ø	Sensible
compris entre 15 à 19 mm Ø > 20 mm	Très sensible Extrêmement

Matériels et méthodes

	t sensible
--	------------

5. Etude statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI50 (Concentration d'inhibition à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)]. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par " Student's t-test " et le test ANOVA uni varié. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Le rendement moyen de l'extrait méthanolique de la plante est de $5,49 \pm 1,02\%$. Plusieurs auteurs ont rapporté un rendement peu élevé. De plus en Algérie, Adimi L Z, 2018 a récolté la même plante de la région de Sétif et il a obtenu un rendement d'extraction de 16,1%. Cette variabilité du rendement pourrait être due à plusieurs facteurs, tels que l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétale elle-même, le stade de la croissance, la période de récolte, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction (Viljoen A.M et *al.*, 2006) et (Sefidkon Fet *al.*, 2007).

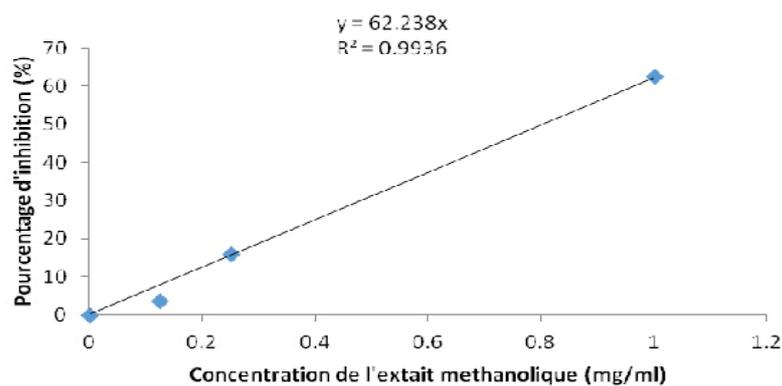
2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques permettent de détecter les principaux composés chimiques présents dans la partie aérienne de *Melissa officinalis*. Les résultats des tests réalisés sur l'extrait méthanolique, l'infusé et le décoctât de notre plante sont mentionnés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Résultats du screening phytochimique de la plante *Melissa officinalis*..

Métabolites	Flavonoïdes	Leucoanthocyanes	Tanins		Polyphénols	Quinones	Saponines	Les stérols	Triterpènes	Alcaloïdes
		Anthocyanes	Tanins Gallic	Tanins Cathechic						
Plante <i>Melissa</i> <i>Officinalis</i> L.	+++	-	+++	+++	+++	-	+	+	+	+++
(-) : Absence, (+) : Présence en faible quantité, (++) : Présence en quantité moyenne, (+++) : Présence en quantité importante.										

tableau
que les
présents
quantité
poudre



D'après le
06, nous
remarquons
principaux
composés
en grande
dans la
de la

mélisse sont : les flavonoïdes, les tanins totaux, les polyphénols et les alcaloïdes.

Triterpènes sont moyennement présents tandis que les autres composés tels que les stérols et les saponines et sont présents en faible quantité. De plus, notre plante est caractérisée par l'absence totale des anthocyanes, des leuco-anthocyanes et des quinones.

Ces résultats sont confirmés par **Mutalib L., 2015.** qui a enregistré la présence des terpénoïdes et des saponines. Par contre nos résultats sont peu différents à ceux obtenus par **Bounihi A., 2015** qui a travaillé sur la même plante, récoltée de la région d'El Djadida (Maroc). Cet auteur a mentionné d'une part la présence moyenne des flavonoïdes et des saponines, et d'autre part, l'absence totale des alcaloïdes et des stérols. Cette différence de composition, pourrait être liée à la variation des conditions climatiques, l'âge de la plante, la période de récolte et même aussi de la dessiccation. Plusieurs auteurs ont révélé la richesse des plantes en flavonoïdes. **Ulubelen et al., 2005.** ont signalé que chez les lamiacées, les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties de la plante et sont plus riches dans les parties aériennes. Ils représentent environ 0,2 à 0,7 % des constituants chez la mélisse **Teusher E. et al., 2005.** Et D'après **Cao et al. 2014.**

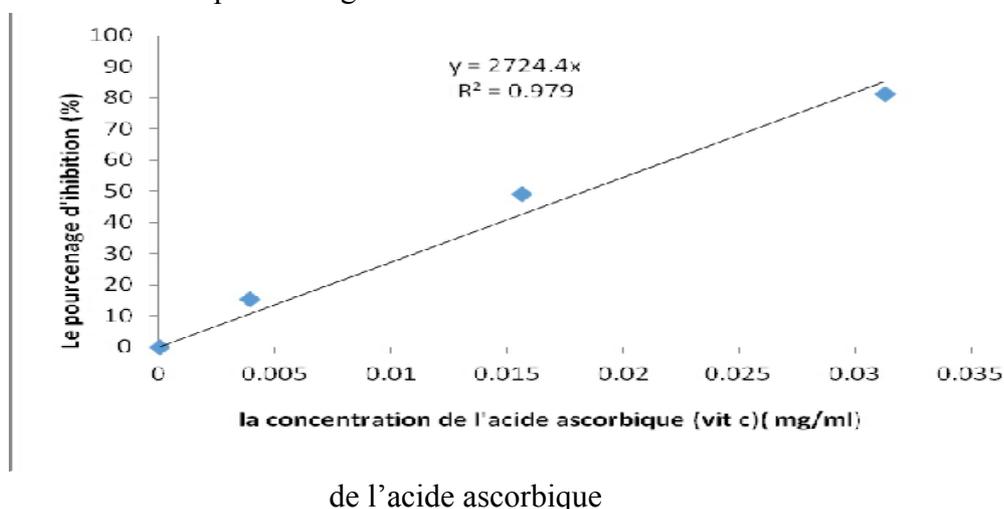
3. Activités biologiques

3.1. Activité antioxydante

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Melissa officinalis* sont représentés graphiquement dans les figures 10 et 11

Figure 10 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différente concentration de l'extrait méthanolique de *Melissa officinalis*

Figure 11 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différente concentration



Les résultats montrent que l'augmentation de la concentration de l'extrait provoque l'élévation de pourcentage d'inhibition du radical libre et par conséquent l'augmentation de l'activité anti-radicalaire. Pour une concentration de 31,25 $\mu\text{g/ml}$, il apparait clairement qu'une faible activité de 7,38 % est obtenue par l'extrait méthanolique et qu'elle est devenue 62,62 % avec une concentration de 1000 $\mu\text{g/ml}$, contrairement au standard (Acide Ascorbique) qui a exercé un fort effet antioxydant avec une valeur de 94,92 % pour une concentration de 360 $\mu\text{g/ml}$. En comparant avec **Albayrak et al. 2013** qui ont travaillé sur la même plante provenant de la Turquie, ils ont testé l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique, de l'infusé et du décoctât, dont le résultat d'inhibition de ce dernier était de 92,32 % pour une concentration de 2 mg/ml. En outre, l'extrait méthanolique et l'infusé ont

révélé un fort effet inhibiteur comparé à un autre agent antioxydant (BHT).

• Détermination des IC50 de l'extrait et du standard

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %, plus la valeur d'IC50 est basse plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Nos résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous:

Tableau 7 : Valeurs d'IC50

	Extrait méthanolique (mg/ml)	Acide ascorbique (mg/ml)
IC 50	0,61	0,011

D'après le tableau 7, nous constatons que l'extrait méthanolique présente un effet antioxydant important vis-à-vis du radical DPPH. En effet la concentration inhibitrice piégeant 50% du radical DPPH (IC50) est de 610 µg/ml pour l'extrait de *Mélissa officinalis* et de 11 µg/ml pour le standard (AA). La valeur d'IC50 de l'extrait est supérieur à celle du standard néanmoins ce résultat reste satisfaisant. Ces valeurs sont différentes de celles signalées par **Romaiana et al. 2008**, qui ont travaillé sur la même espèce ou ils ont trouvé une valeur d'IC50 de l'ordre de 483 ±25,5 µg/ml. Par contre, il est en désaccord avec ceux **d'Albayrak et al.2013** et **Miraj et al. 2016** qui ont testé le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de la même plante et ils ont enregistré des valeurs faibles **d'IC50** correspondant à 20,16 µg/ml et 48,76 µg/ml respectivement.

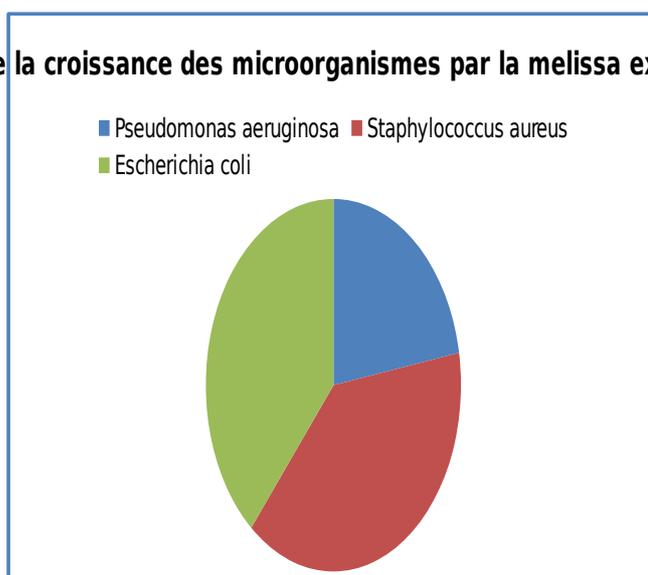
Cette différence du pouvoir antioxydant est en fort corrélation avec la composition chimique de la plante (**Oke F et al., 2009**). D'après **Peireira et al. 2008**, la mélisse pourrait être donc considérée comme un agent antioxydant dans la prévention de nombreuses maladies neurologiques liées à un stress oxydatif.

3.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Mélissa officinalis* L.



Figure 12 : Résultats de l'activité antimicrobienne Obtenu. Après 24 h

Inhibition de la croissance des microorganismes par la melissa exprimée en %



L'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Mélissa officinalis* L. montre une réduction significative de la croissance bactérienne au terme de la zone d'inhibition indiquant que la plante a présenté une activité antimicrobienne contre le microorganisme sélectionné. (Yadegarnia d, et al .,2006)

Tableau8 :Diamètresdeszonesd'inhibitiondesextraitsdeMelissa officinalis.

Extrait	CONC	Diamètre de zone d'inhibition en mm (moyen±écart -type) et sensibilité

Résultats et discussion

	ENTRATION	Staphylococcus aureus		Escherichia coli		Pseudomonas aeruginosa	
		Diamètre	Sensabilité	Diamètre	Sensabilité	Diamètre	Sensabilité
l'extrait méthanolique de Mélissa officinalis	2mg/ disque	16.5±0.70	+	0	-	14.9. 9±0.5 2	+
	1mg /disque	14.6±0.65	+	0	-	13.2 ±0.8	+
	0.5mg/ disque	11.9±1.4	+	0	-	11 ±0.60	+

Staphylococcus aureus présente la zone d'inhibition la plus élevée avec $16.5 \pm 0,70$ mm vis-à-vis de *l'extrait méthanolique de MELISSA*. Aussi, la concentration de 0,5mg/disque était suffisante pour inhiber la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de $11 \pm 0,60$ mm. La souche *Escherichia coli* qui s'est montrée résistante. D'une façon générale les extraits les plus concentrés sont les plus actifs.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des principes actifs connues par leurs propriétés thérapeutiques. Ce travail avait pour objectif d'évaluer le screening phytochimique, l'activité antioxydante, anti antimicrobienne des extraits méthanolique de *Melissa officinalis*. Les résultats de screening phytochimique ont montré que la plante est riche en flavonoïdes, Alcaloïdes, tanins totaux alors qu'elle est caractérisée par une absence totale des anthocyanes, leuco anthocyanes et des quinones libres. Les tests évaluant l'activité antioxydante ont montré que les extraits de la mélisse présente une valeur d'IC50 de l'ordre de 610 µg/ml donnant ainsi un bon pouvoir antioxydant. Les résultats obtenus ont clairement montré que l'extrait méthanoïque de la plante étudié donne une bonne activité anti-microbienne contre

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* En effet, les propriétés pharmacologique de *Melissa officinalis* révélées dans ce travail justifient leur application dans la phytothérapie traditionnelle et pourrait indiquer leur usage thérapeutique comme antioxydant, anti-inflammatoire et sédative.

Références bibliographie

Références bibliographiques

A

Abdoune, N., & Dermouche, M. (2018). *Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la wilaya de Bouira (communes Haizer et El Asnam)* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Adimi L Z, 2018. Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale : la Mélisse (*Melissa officinalis*). Thèse de Doctorat, Université de Sétif, Algérie, 203p.

Adouane S., 2016 – Etude ethnobotaniques des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de magister, Univ mohamed khider, Biskra.

Adouane S., 2016 – Etude ethnobotaniques des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de magister, Univ mohamed khider, Biskra.

Ahlem, M. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. *Memoire En Biochimie Appliquée*, 87.

Akharaiyi F. C. and Boboye B., 2010. Antibacterial and Phytochemical Evaluation of Three Medicinal Plants. *J. Nat. Prod.*, 3:27-3

Albayrak S., Aksoy A., Albayrak S., and Sagdic O, 2013. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species. *Iran. J. Sci. Technol* ; 4: 1-9.

Albayrak S., Aksoy A., Albayrak S., and Sagdic O, 2013. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species. *Iran. J. Sci. Technol* ; 4: 1-9.

Allyne, C.D. S., Cerli, R. G., and Daniela, S.A., 2004 - Celuta Sales Alviano, Arie Fitzgerald Blank, Péricles Barreto Alves. *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Volume 56, Issue 5, pages 677–681

Amenai HG; (2006). *médicinale plante : traditions of yesterday and brugs of tomorrow molecular aspects of médecine* .27-1-7.

B

Bispo M.D., Mourão R.H., Franzotti E.M., Bomfim K.B., Arrigoni-Blank M.F., Moreno M.P., Marchioro M., Antonioli A.R. (2001). Antinociceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animal. *J. Ethnopharmacol*, 76 : 81-86.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [10]. *Nature*, 181(4617), 1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>.

Références bibliographiques

Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier Technique de l'Inra*, 79–82

Boudjema K., Benmansour F., Ghezali S., Ouamar L., Hali L et Fazouane F, 2020. Phytochemical Screening and evaluation of some biological activities of plant extracts *Adiantum capillusveneris* L. et *Tamarix gallica* L. *African Review of Science, Technology and Development*, 5(2):70-85.

Bounihi A, 2015. Criblage phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentharotundifolia* (Lamiacées). El Djadida (Maroc). Thèse de doctorat, Université de médecine et de pharmacie. Rabat, 133p

Bruneton J, 1999. Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales. 3ème Edition Tec & Doc, Paris : France; 1120p.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (3e éd.). Paris, France : Tec et Doc

Bruneton, J., “ Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ”, Tec et doc édition Lavoisier, Paris, 3ème édition, (1999), 1120p.

Bruneton, J., Jain, P. K., & Joshi, H. (2012). *Coumarin: chemical and pharmacological profile. Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 236-240

Bruneton, J., Jain, P. K., & Joshi, H. (2012). Coumarin: chemical and pharmacological profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 236-240

C

Cao H., Chen X., Jassbi A.R., et al, 2015. Microbial biotransformation of bioactiflavonoides. *Biotechnol*, 33 : 2014-223.

Cerny, A., and Schmid, K., 1999 - Tolerability and efficacy of valerian/lemon balm in healthy volunteers (a double-blind, placebo-controlled, multicentre study). *Fitoterapia*. 70, pp. 221–228.

CEROU(SYLVIA) _ radicaux libres et pathologie humaine _ ACTUALISATION ET perspectives d avenir _ (thèse ; pharm ; limoges ; 1994)

Chanforan, C. (2010). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate (Thèse de doctorat). Université d'Avignon.

Chemar K., 2016 – Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de la région EL Outaya. Mémoire de Mester, Univ. Med Khider, Biskra, 8-11

Références bibliographiques

Couplan F.(2000). Dictionnaire étymologique de botanique. Nestlé (Ed). Luisane. Paris.

D

Dahon., “ Polarimetric Scattering and SAR Information Retrieval”, EdYa-Qiu Jin, Feng Xu. (2003), 215pp.

Delattre J, Beaudeau J-L, Bonnefont-Rousselot D.—*Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques*. Première édition. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 2005, 547 pages

Delille L., 2013 – Les plantes médicinales d’Algérie. Ed. BERTI, Alger,122 p.

Dibong S.D., Mpondo M.E., Nigoye A., Kwin M. Fet Betti J.L., 2011. Ethnobotanique et phytomédecines des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *J. Appl. Biosci*, 37:2496-2507

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47–95

Dutertre J., 2011. Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l’île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. *Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 - Victor Segalen. U.F.R. des sciences médicales*. 120p

E

Edeoga H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *Afric J. Biotech*, 4 : 685-688.

F

Fauchere JL. “ Bactériofiches: Techniques en bactériologie clinique ”, Edition marketing SA, (1997), 174p.

Fleuriet A; Jay-Allemand C; Macheix JJ.(2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216

G

Girre L., “ Connaître et reconnaître les plantes médicinales ”, Edition Ouest. France, (1980), 332p.

Güllüce M, S kmen M, Daferera D, A ar G , zkan H, Kartal N, Polissiou M, S kmen A, ah n F., “In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and

Références bibliographiques

methanol extract of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis*”, *J. Agronomic and food chemistry*, (2006), 51:3958-3965.

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liege*, 62(10), 628–638. Antioxydants, L. (n.d.). *Livret Nutrition*.

Hammoudi R.(2015). Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de doctorat ès science biologie, Université Kasdi Merbah Ouargla, 5 ; 23 ; 62 ; 63p.

Hopkins W.G., 2003 – Physiologie végétale. Ed.Boeck et Lancier SA, Paris, 514 p

I

Iserin P., 2001- Encyclopédie des plantes médicinales. Ed.Larousse-bordas, paris :275 p.

J. Haleng J. Pincemail), J.O. Defraigne), C. Charlier, J.P. Chapelle .,2007)

J

Jain, P. K., & Joshi, H. (2012). *Coumarin: chemical and pharmacological profile. Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 236-240

Jamzad Z, Ingrouille and Simmonds MSJ, (2003). Three new species of *Nepta* (lamiaceae). *Taxon*

Jedidi, S., Aloui, F., Selmi, H., Rtibi, K., Dallali, S., & SEBAI, C. A. E. H. (2018). Ethnobotanical survey on the traditional use of officinal sage (*Salvia officinalis* L.) in Tabarka and Ain Drahem (Northwestern of Tunisia). *J. New Sci.*, 18, 3402-3412

K

Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugb-Uaja V.O. (2004). Identification of active principes of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J. Med Sci*, 4 : 179-182.

Kothe HW., (2007). 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Terres Editions. ISBN : 978-2-35530-pp3-5.

Références bibliographiques

Langsjoen PH, Langsjoen AM.— The clinical use of HMG CoA – reductase inhibitors and the associated depletion of coenzyme Q10 - A review of animal and human publications. *Biofactors*, 2003, 18, 101-111

M

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

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

Martens, S., Forkmann, G., 1998. Flavonoid biosynthesis in gerbera hybrids: genetics and enzymology of flavones. XXV International Horticultural Congress, Part 11: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding-Gene 521, pp. 67-72

Martens, S., Forkmann, G., 1998. Flavonoid biosynthesis in gerbera hybrids: genetics and enzymology of flavones. XXV International Horticultural Congress, Part 11: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding-Gene 521, pp. 67-72

Miller, R. E., McConville, M.J., & Woodrow, I. E.(2006). Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae). *Phytochemistry*, 67(1), 43-51.

Miraj M., Azizi N.,Kianif S,2016.A review of chemical components and pharmacological effects of *Melissa officinalis* L. *Der Pharm. Lett*, 8(6):229-237.

Mutaib L.Y, 2015. Physicochemical, phytochemical and biological study of *Melissa officinalis* growing naturally in Kurdistan Region, Iraq: comparative study: 66-72.

N

N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D., Aké-Assi. (2009). L. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte d'Ivoire). *Sci. Nat*, 6(1): 1-15.

Naghbi F., Mosaddegh M., Mohammadi Motamed S., Ghorbani A., (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, Iran, *J. Pharm. Res.* 26379.

Négué Diarra. M., “ Etude phytochimique d'une plante antipaludique utilisée au Mali: *Spilanthes oleracea* Jacq. (Asteraceae) ”, Université de BAMAKO, Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie, Mali, Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie, (2003), 78 p, 42- 48.

Références bibliographiques

Nile, S. H., & Park, S. W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30(2), 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.007>

O

Oke F., Aslim B., Ozturk S and Altundag S, 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* ten. *Food chem*, 112(4) : 874-879.

P

Pereira R.P., Fachinetto R., Puntel R.L and al., 2008. Antioxydant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. Pharmacopée Européenne, 6ème édition.

Ponce A.G., Fritz R., Delvalle C. et Roura S.I., “Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard”, *Lebensmittel- Wissenschaft and Technologic-LWT*, (2003), 36:679-684.

Q

Quézel P. & Santa S., 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S. Ed., Paris, 1170 p. (2 vol.).

R

Romaiana P.P and Roselei F, 2008. Antioxidant Effects of Different Extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon Citratus*.

Rybak b ;biologie de l oxygène ,ed maloin ;1974

S

Saad A, Virella G, Chassereau Ch, et al.—OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *J Lipid Res*, 2006, 47, 1975-1983.

Samarth R, M., Panwar M., Soni A., Kumar M., Kumar A, 2008. Evaluation of antioxidant and radical scavenging activities of certain radioprotective plant extract, *Food Chem*, 106: 868-873.

Sanago R., 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali): 53.

Références bibliographiques

Sefidkon, F., Abbasi K., Jamzad Z and Ahmadi S, 2007. The effect of distillation methods and stage of plant growth in the essential oil content and composition of *Satureja Rechingeri jamzad*. *Food Chem*, 100 : 1054- 1058.

Sereme A., Millogo-Rasolodimby J., Guinko S. and Nacro M. (2010). Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. *Journal des Sciences*. 10 (2): 24-32

Shu, Y.Z., 1998. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *Journal of Natural Products* 61, 1053–1071.

Site d'internet Scientific Bouguendous Rachida.

T

Tabti, M.-E., tahdjerit, O. (2017). étude taxonomique de quelques populations de *Salvia verbenaca* ssp. *Euverbenaca* et ssp. *clandestina* (Lamiaceae) du golfe de Bejaia et de la vallée de la soummam. mémoire de l'obtention du diplôme master en taxo-génétique végétale et évolution. univ. Bejaia

Teixeira J., Gaspar A., Garrido E.M., Garrido J., Borges F. (2013). Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *BioMed Research International*, 2013 : 1- 11.

Teusher E., Anton R et Lobstein A, 2005. Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edition Tec et doc ; 300-303p.

U

Ulubelen A , Topcu G, Kolak U, 2005. Labiatae Flavonoids and their Bioactivity, *Studies in Natural Products Chemistry*, 30:233-302.

V

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>

Viljoen A.M., Denirci B., Baser K.H.C., Potgieter C.J and Edwards T.J, 2006. Microdistillation and essential oil chemistry a useful tool for detecting hybridisation in *Plectranthus* (Lamiaceae), *S. Afr. J. Bot*, 72 : 99-104.

Références bibliographiques

Watterson, J. J., Butler, L. G. (1983). Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *J Agr Food Chem*; 31: 41–45

Watterson, J. J., Butler, L. G. (1983). Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *J Agr Food Chem*; 31: 41–45

Watterson, J. J., Butler, L. G. (1983). Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *J Agr Food Chem*; 31: 41–45

Wautier J-L.— Récepteurs des produits de glycation avancée et diabète sucré. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 1997, 9, 637-641

Weizman, Z., and Alkrinawi, S.,1993 - [Efficacy of herbal tea preparation in infantile](#)

Wichtl M., Anton R., 2009. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

Wichtl, M., Anton, R., Bernard, M., Czygan, F.-C., 2003. Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, Tec & Doc; Ed. médicales internationals

Wichtl, M., Anton, R., Bernard, M., Czygan, F.-C., 2003.Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, Tec & Doc; Ed. médicales internationals

Y

Yadegarnia d, Gachkar l, Rezaei m b, Taghizadeck m, Astaneh s a, Rasooli I
2006.Phytochemistry 67, 1249-1255

Z

Zeghib A. , (2013). Etude photochimique et activités antioxydant es antiproliférative, genre *Thymus*. Thèse de doctorat en sciences, chimie organique, Université de Constantine 1, 2 -érienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques.

Annexes

Annexes

L'ANNEXE



pe 1

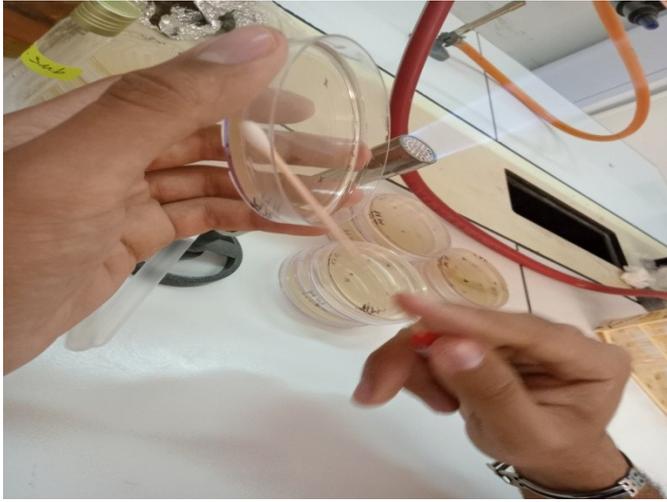
Le répiquage

pe 2

isocalam



Annexes

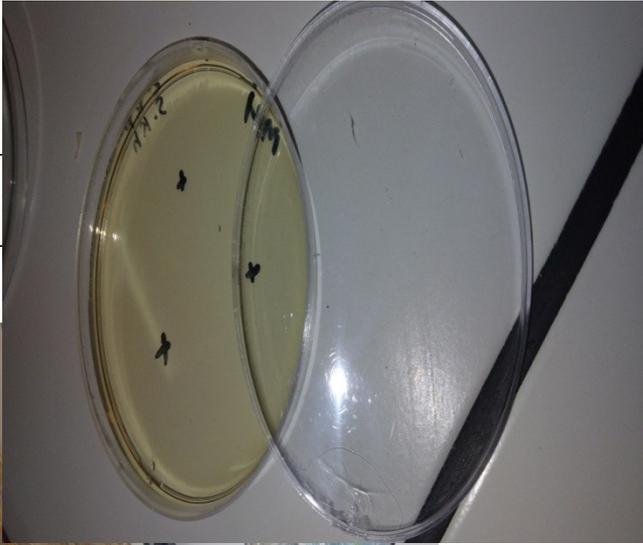


étape 3

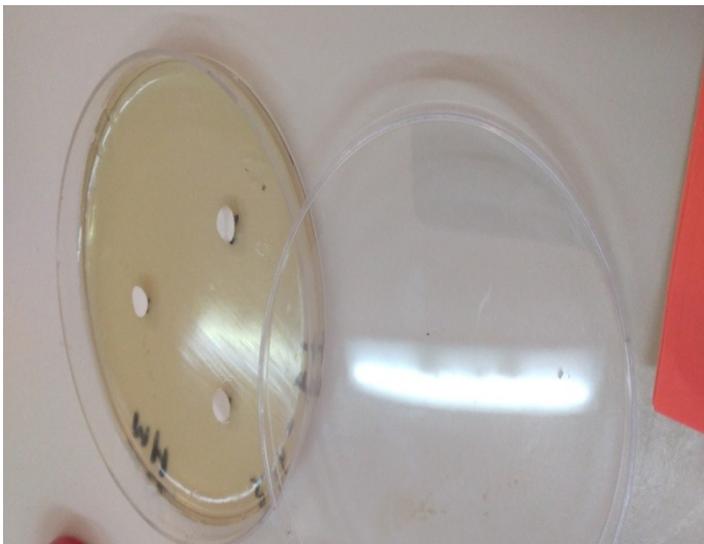
Ensemencement



Annexes



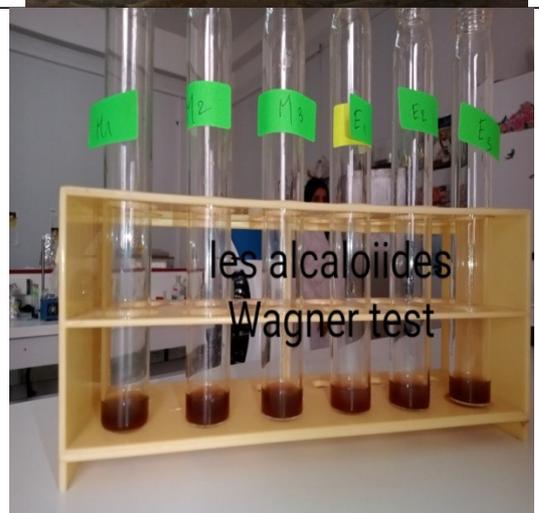
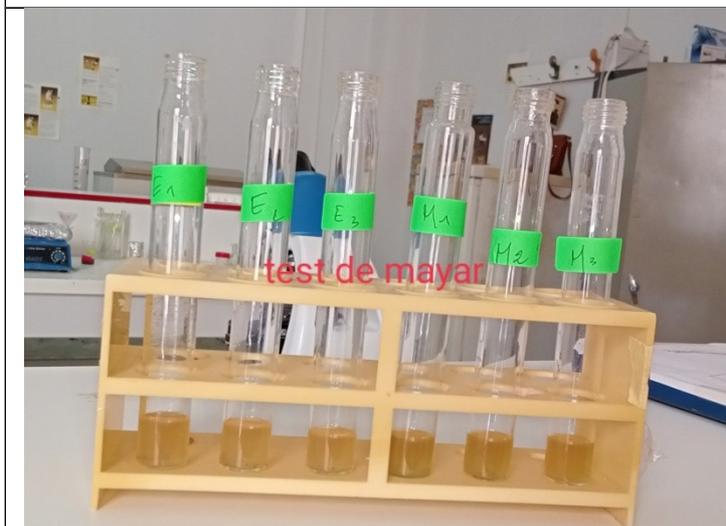
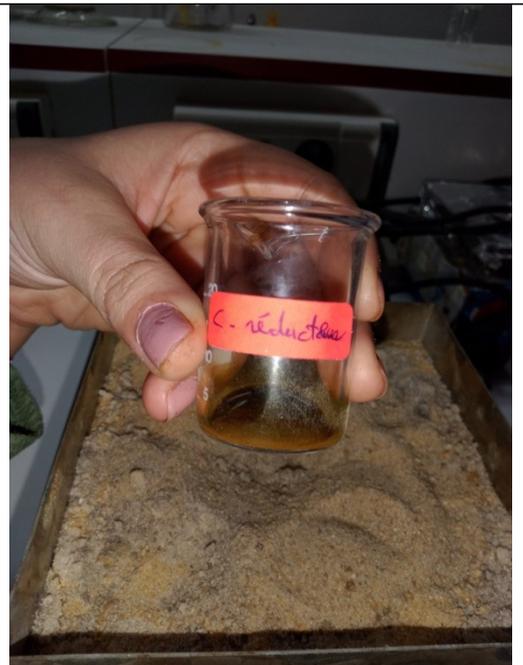
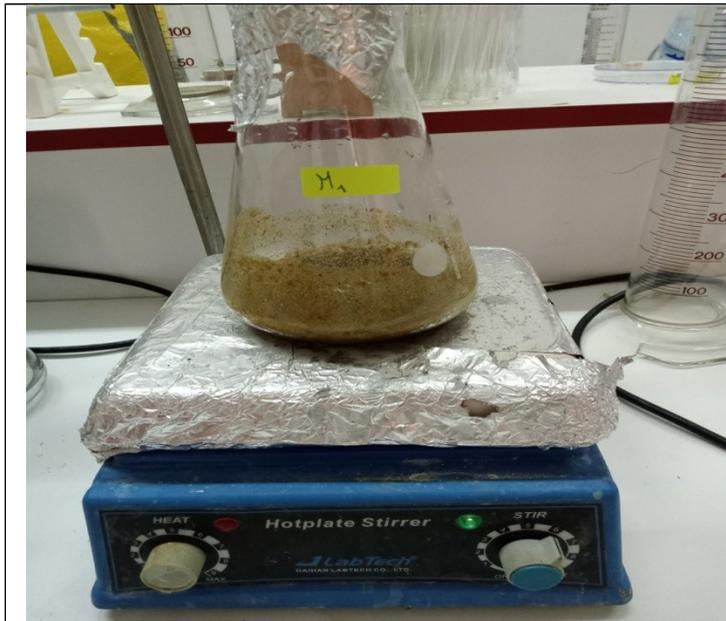
L arumatogramme



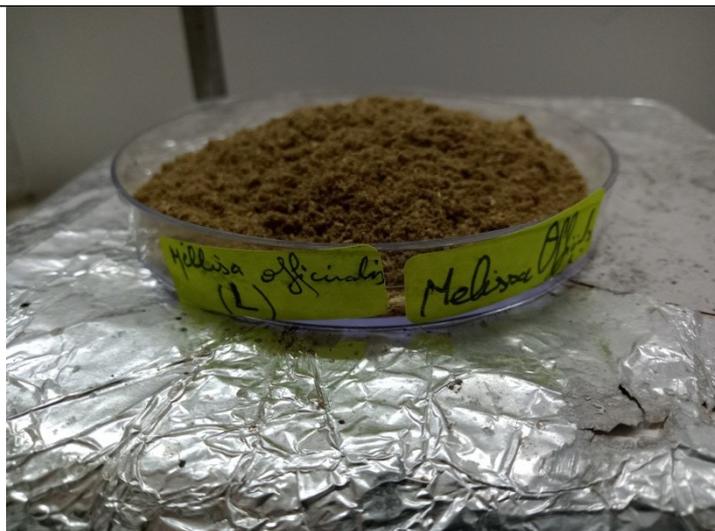
Annexes



Annexes



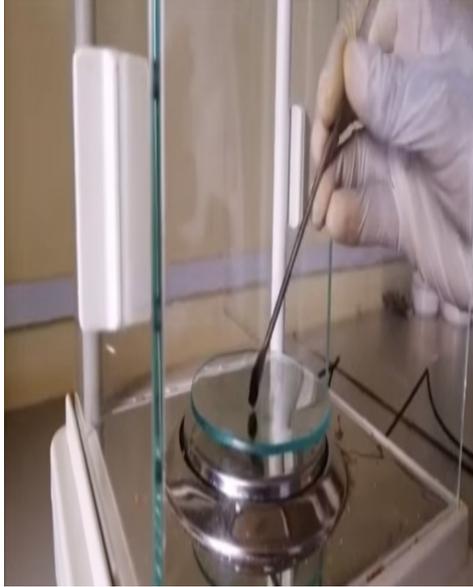
Annexes



Annexes

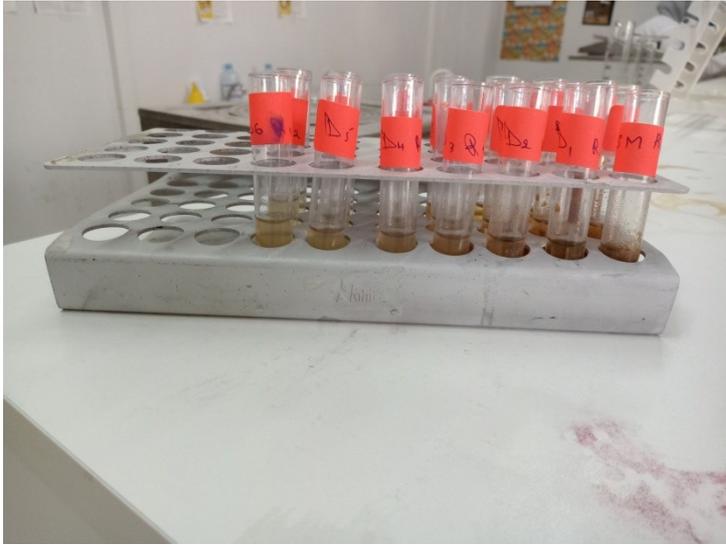
--	--

Préparation de dpph

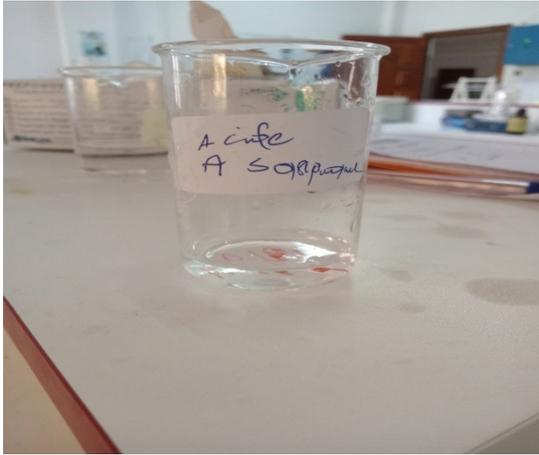


Réaction de dpph avec les dilution de l he .deposé 30 min à l obscurité

Annexes



Annexes



Lecture de la densité optique 517 nm

