

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique



Université Larbi Tebessi
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département de biologie des être vivants
Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème

**Evaluation de la teneur en métabolites secondaires chez
quelques plantes médicinales**

Présenté par :

Messaoud Hafssa

Labbik Nardjes

Devant le jury

Souhail Maalem	MCA Université de Tebessa	Président
Hindel Fatmi	MAA Université de Tebessa	Examineur
Souad Mehalaine	MCB Université de Tebessa	Encadreur

Année universitaire : 2018/2019

شكر



الشكر والحمد لله على اكمال انجاز هذه المذكرة.

أود أن أعرب عن عميق إمتناني للسيدة سعاد محل العين، دكتورة من جامعة تبسة، التي بدأت معنا هذا العمل والتي شجعتنا ودعمتنا علميا على مدار السنة.

نود أن نشكر أعضاء لجنة التحكيم، السيد سهيل معلم دكتور من جامعة تبسة والسيد هندال فاطمي استاذ من جامعة تبسة لقبول الحكم على عملنا. نشكر جميع أعضاء فريق مختبر بيولوجيا النبات لجامعة تبسة، على حسن ضيافتهم.

أشكر جميع زملائي وزميلاتي.

أخيرًا نود أيضًا أن نشكر جميع المشاركين في هذا العمل.





Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à ma mère qui m'ont
soutenue moralement et tout au long de mes études.*

Aussi je dédie ce travail

A mon frère et ma soeur

A la personne la plus précieuse dans mon cœur

A tout la famille

A tous mes amis et camarades

Que ce travail soit une part de ma reconnaissance

envers eux,

Lebik Nardjes





إهداء

أهدي هذا العمل إلى والدي الأعتاء ، فكل عبارات الشكر
والتقدير لهما

إلى أختي خولة وأخي ياسين.

إلى عبد الحكيم ق لمساعدته وتشجيعه خلال هذا العمل.

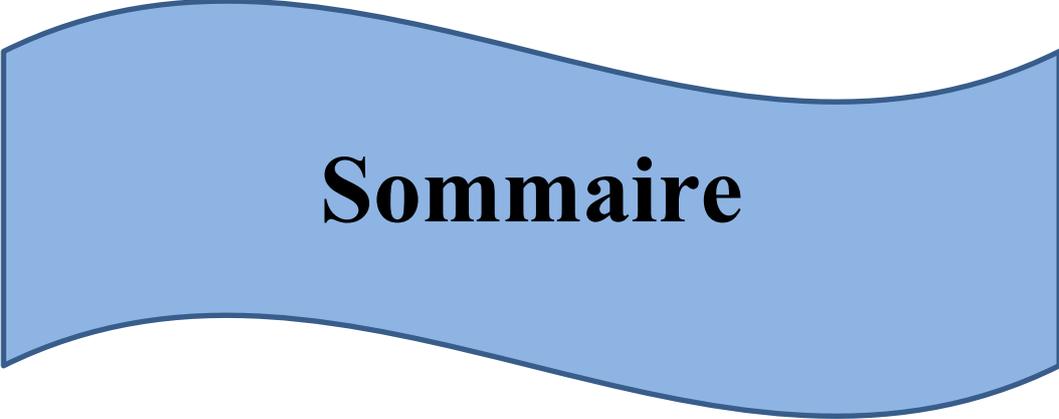
إلى صديقتي بسمة وأصدقائي الأعتاء.

أخيرًا ، ناهيك عن كل من ساهم من قريب أو بعيد في

تحقيق هذه المذكرة

حفصة مسعود





Sommaire

Sommaire

Introduction.....	1
Revu Bibliographique	
1. Métabolites secondaires	3
1.1. Importance des métabolites secondaires.....	3
1.2. Différents types de métabolites secondaires.....	4
1.2.1. Composés phénoliques.....	4
1.2.1.1. Biosynthèse.....	4
1.2.1.2. Classification des composés phénoliques.....	5
1.2.1.3. Rôles des composés phénoliques	6
1.2.2. Huiles essentielles.....	7
1.2.3. Alcaloïdes.....	7
2. Plantes étudiées.....	8
2.1. <i>Rosmarinus officinalis</i>	8
2.1.1. Classification.....	8
2.1.2. Description botaniques.....	8
2.1.3. Composition chimique.....	9
2.1.4. Propriétés biologiques.....	9
2.2. <i>Thymus algeriensis</i>	9
2.2.1. Classification.....	9
2.2.2. Description Botanique.....	9
2.2.3. Composition chimique.....	10
2.2.4. Propriétés biologiques.....	10
2.3. <i>Origanum vulgare</i>	10
2.3.1. Classification.....	10
2.3.2. Description botanique.....	11
2.3.3. Composition chimique.....	11
2.3.4. Propriétés biologiques.....	11
2.4. <i>Marrubium vulgare</i>	12
2.4.1. Classification.....	12

2.4.2. Description botanique.....	12
2.4.3. Composition chimique.....	13
2.4.4. Propriétés biologiques.....	13

Matériel et méthodes

1. Etude phytochimique.....	14
1.2. Matériel végétal.....	14
1.2.1. Tests préliminaires de principes actifs.....	14
1.2.1.1. Flavonoïdes.....	14
1.2.1.2. Saponosides.....	14
1.2.1.3. Tannins.....	14
1.2.1.4. Triterpènes.....	14
1.2.1.5. Alcaloïdes.....	15
1.2.2. Extraction des huiles essentielles.....	15
1.2.3. Extraction et dosage des composés phénoliques.....	15
1.2.3.1. Extraction.....	15
1.2.3.2. Dosage de composés phénoliques.....	16
2. Analyse statistique.....	16

Résultats et discussion

1. Etude phytochimique.....	17
1.1. Tests préliminaires de principes actifs.....	17
1.2. Teneur en huiles essentielles.....	19
1.3. Teneur en composés phénoliques.....	21

Conclusion.....	24
------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	26
---	-----------

Annexe.....	39
--------------------	-----------

Résumé

Dans le cadre de l'étude de produits métaboliques secondaires des plantes médicinales algériennes, nous avons étudié quatre espèces de plantes médicinales collectées de la région semi-aride de l'Algérie de la région de Ain Beida, la région de Mila et la région de Tebessa.

Les plantes étudiées sont : *Thymus algériensis*, *Rosmarinus officinalis* de Ain Beida, *Origanum vulgare* de Mila et *Marrubium vulgare* de Tébessa.

L'étude expérimentale consistait en des tests qualitatifs de substances actives ainsi que d'extraction et d'évaluation du rendement des composés phénoliques et des huiles essentielles chez les quatre plantes. L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation et le dosage de composés phénoliques par la méthode du Folin-ciocalteu.

Les tests qualitatifs de principes actifs effectués sur *O. vulgare* et *M. vulgare* ont montré que les deux plantes contiennent des saponines, tanins, terpènes, cardénolides, et des flavonoïdes et sont totalement exempts d'alcaloïdes.

L'analyse statistique a montré des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) dans le rendement des huiles essentielles de *T. algériensis* et *R. officinalis* pour l'année 2019 : $0.80\% \pm 0.004$ et $1.52\% \pm 0.004$ respectivement. *Origanum vulgare* a donné un rendement de $2,44\% \pm 0,12$. L'analyse statistique a aussi montré des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) dans la concentration des composés phénoliques de *T. algériensis* et *R. officinalis* au cours de différentes années d'études ; *T. algeriensis* a montré la concentration la plus élevée en 2015 (0.16 ± 0.02 mg EAG/ ml) et *R. officinalis* a enregistré la quantité la plus élevée en 2012 et 2014 (0.08 ± 0.002 mg EAG/ ml), *T. algeriensis* a également présenté la concentration la plus élevée en composés phénoliques par rapport à *R. officinalis*. Pour les quatre espèces végétales, *O. vulgare* a présenté la plus forte concentration de composés phénoliques en 2012 (0.206 ± 0.002 mg EAG/ ml) suivi de *T. algeriensis* en 2012 (0.108 ± 0.002 mg EAG / ml) puis *R. officinalis* en 2012 (0.082 ± 0.001 mg EAG / ml) alors que *M. vulgare* a enregistré la concentration la plus faible en 2011 (0.047 ± 0.002 mg EAG / ml).

Mots clés : Plantes médicinales, composés phénoliques, huiles essentielles, région semi-aride algérienne.

Summary

As part of the study of secondary metabolic products of Algerian medicinal plants, we studied four species of medicinal plants collected from the semi-arid region of Algeria from the region of Ain Beida, Mila and Tebessa.

The studied plants are: *Thymus algériensis*, *Rosmarinus officinalis* from Ain Beida, *Origanum vulgare* from Mila and *Marrubium vulgare* from Tebessa.

The experimental study consisted of qualitative tests of active substances as well as extraction and evaluation of the yield of phenolic compounds and essential oils in the four plants. The extraction of the essential oils was carried out by hydrodistillation and the determination of phenolic compounds by the Folin-ciocalteu method.

The qualitative tests of active ingredients carried out on *O. vulgare* and *M. vulgare*, showed that both plants contain saponins, tannins, terpenes, cardenolides, and flavonoids and are completely free of alkaloids.

Statistical analysis showed very highly significant differences ($P < 0.001$) in the yield of the essential oils of *T. algériensis* and *R. officinalis* for the year 2019: $0.80\% \pm 0.004$ and $1.52\% \pm 0.004$ respectively. *Origanum vulgare* had a yield of $2.44\% \pm 0.12$. Statistical analysis also showed very highly significant differences ($P < 0.001$) in the concentration of phenolic compounds of *T. algériensis* and *R. officinalis* in different years of the study; *T. algériensis* showed the highest concentration in 2015 (0.16 ± 0.02 mg EAG / ml) and *R. officinalis* recorded the highest amount in 2012 and 2014 (0.08 ± 0.002 mg EAG / ml), *T. algériensis* also exhibited the highest concentration of phenolic compounds compared to *R. officinalis*. Regarding all the plants, *O. vulgare* had the highest concentration of phenolic compounds in 2012 (0.206 ± 0.002 mg EAG / ml) followed by *T. algériensis* in 2012 (0.108 ± 0.002 mg EAG / ml) then *R. officinalis* in 2012 (0.082 ± 0.001 mg EAG / ml) while *M. vulgare* recorded the lowest concentration in 2011 (0.047 ± 0.002 mg EAG / ml).

Key words: Medicinal plants, phenolic compounds, essential oils, Algerian semi-arid region.

الملخص

في إطار دراسة منتجات الأيض الثانوي للنباتات الطبية الجزائرية ، قمنا بدراسة أربعة أنواع من النباتات الطبية ، تم جمعها من المنطقة شبه الجافة الجزائرية من منطقة عين البيضاء،ميلة و تبسة. تمثلت هذه النباتات في زعر الجزائري ، إكليل الجبل من عين البيضاء ، الزعر الشائع من ميلة والفراسيون الأبيض (*Marrubium vulgare*, *Origanum vulgare* , *Rosmarinus officinalis* , *Thymus algeriensis*) من تبسة.

تضمنت الدراسة التجريبية إختبارات الكشف النوعي للمواد الفعالة وإستخلاص وتقدير مردود المركبات الفينولية والزيوت الأساسية للنباتات الأربعة. تم إستخلاص الزيوت الأساسية بطريقة التقطير المائي والمركبات الفينولية بطريقة Folin-Ciocalteu.

أظهرت الإختبارات النوعية للمواد الفعالة للزعر الشائع والفراسيون الأبيض ان كلاهما يحتوي على الصابونيات العفصيات ، التربينات ، الكاردينوليدات والفلافونويدات وخال تماما من القلويدات . أظهر التحليل الإحصائي فروقا معنوية عالية جدا ($P<0.001$) في مردود الزيوت الأساسية لزعر الجزائري وإكليل الجبل لسنة $2019:0.80\pm 0.004$ و $2015:1.52\pm 0.004$ على الترتيب. أعطى الزعر الشائع مردودا يقدر ب 2.44 ± 0.12 .

كما أظهر التحليل الإحصائي اختلافات معنوية عالية جدا ($P<0.001$) في تركيز المركبات الفينولية لزعر الجزائري وإكليل الجبل على مدى سنوات الدراسة المختلفة ($P<0.001$) ، حيث سجل زعر الجزائري أكبر تركيز سنة 2015 (0.16 ± 0.02 ملغ مكافئ حمض الغاليك / مل) ، و إكليل الجبل سجل أكبر كمية سنة 2012 و 2014 (0.08 ± 0.002 ملغ مكافئ حمض الغاليك / مل) ، كما تفوق زعر الجزائري بتسجيل أكبر تركيز من المركبات الفينولية مقارنة مع إكليل الجبل. فيما يخص الأنواع النباتية الأربعة ، أعطى الزعر الشائع أكبر تركيز من مركبات الفينول لسنة 2012 (0.206 ± 0.002 ملغ مكافئ حمض الغاليك / مل) يليه زعر الجزائري سنة 2012 (0.108 ± 0.002 ملغ مكافئ حمض الغاليك / مل) ثم إكليل الجبل سنة 2012 (0.082 ± 0.001 ملغ مكافئ حمض الغاليك / مل) ، بينما سجل الفراسيون الأبيض أضعف تركيز سنة 2011 (0.047 ± 0.002 ملغ مكافئ حمض الغاليك / مل).

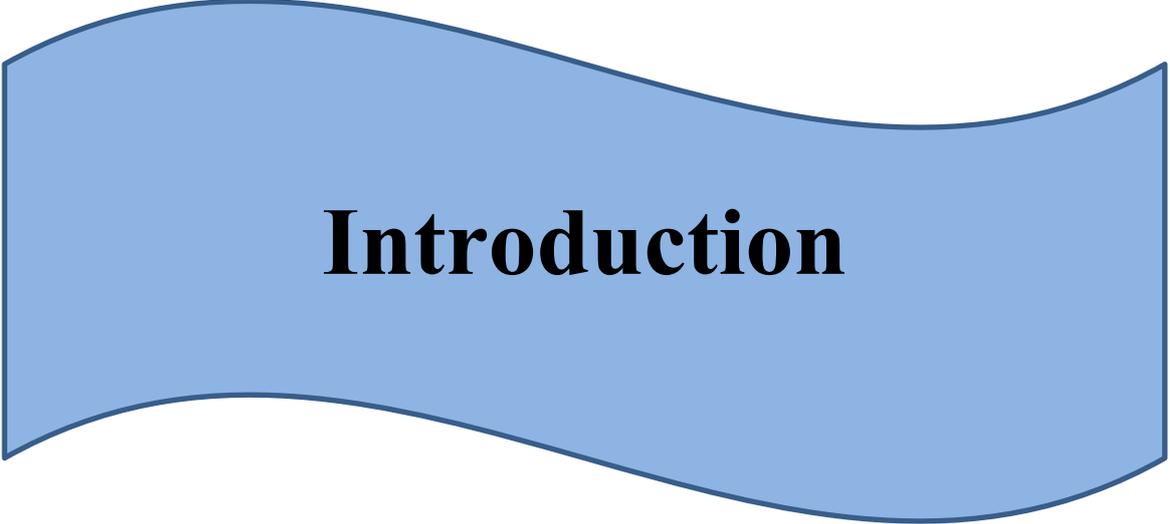
الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية ، المركبات الفينولية ، الزيوت الأساسية ، المنطقة شبه الجافة الجزائرية.

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
1	Structure du noyau phénol	4
2	Squelette de base des flavonoïdes	5
3	<i>Rosmarinus officinalis</i>	8
4	<i>Thymus algeriensis</i>	10
5	<i>Origanum vulgare</i>	11
6	<i>Marrubium vulgare</i>	13
7	Test de saponines	17
8	Test de tanins	18
9	Test de terpènes	18
10	Test de cardénolides : à gauche témoin, à droite résultat	19
11	Test de flavonoïdes	19
12	Teneur en huiles essentielles en (%) chez <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Thymus algeriensis</i>	20
13	Teneur en huiles essentielles en (%) chez <i>Origanum vulgare</i>	21
14	Teneur en composés phénoliques en mg EAG/ml chez <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Thymus algeriensis</i> pendant différentes années de collecte	22
15	Teneur en composés phénoliques en mg EAG/ml chez <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Thymus algeriensis</i> , <i>Origanum vulgare</i> collectés en 2012 et <i>Marrubium vulgare</i> collecté en 2011	23

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	Résultats de tests préliminaires de principes actifs chez <i>Origanum vulgare</i> et <i>Marrubium vulgare</i>	17



Introduction

Introduction

Depuis des temps immémoriaux, l'homme a utilisé des plantes, d'abord pour se nourrir, puis pour se soigner (Hostettmann et al., 1998). Les anciens écrits chinois et hiéroglyphiques de papyrus égyptien décrivent les utilisations médicinales des plantes. Les cultures autochtones telles que l'Afrique et les Amérindiens utilisaient des herbes dans leurs rituels de guérison, tandis que d'autres développaient des systèmes médicaux traditionnels tels que la médecine indienne ancienne et l'Ayurveda où les plantes étaient utilisées (Lugasi et al., 2003). Au fil du temps, des plantes ont été sélectionnées pour traiter différentes maladies. Les connaissances expérimentales accumulées sur différentes cultures ont permis de prendre des plantes comme source majeure de médicaments. Jusqu'au début du 20^{ème}, presque tous les médicaments étaient d'origine végétale (Lugasi et al., 2003).

Les plantes composantes biologiques de la biodiversité, sont au service du bien-être humain (Adjanooun, 2000). Les plantes fournissent de nombreux composés tels que les arômes, les antioxydants, les huiles, les parfums, les cosmétiques et les molécules actives (médicaments). Les plantes qui possèdent des propriétés thérapeutiques ou ont des effets médicaux bénéfiques sur le corps humain sont appelées plantes médicinales (Lugasi et al., 2003).

Les gens accordent de plus en plus d'attention à l'étude et à l'utilisation de ces plantes dans différentes parties du monde (Muthu et al., 2006). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 80% des personnes dépendent de la médecine traditionnelle dans les soins de santé primaires (OMS, 2002).

La médecine traditionnelle semble être l'alternative la plus appropriée pour combler les lacunes en matière de santé. Surtout depuis que les médicaments à base de plantes ont connu une nette reprise ces dernières années (Mpondo et al., 2012). Les plantes médicinales ont une grande importance pour la santé des individus et des communautés.

Les plantes ont une large gamme de produits chimiques de différentes structures. Parmi eux, les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Hopkins, 2003). Les métabolites primaires sont des produits dérivés directement du métabolisme primaire : sucres simples, acides aminés, protéines, acides nucléiques et produits organiques, qui interviennent dans la structure de la cellule végétale ainsi que dans ses fonctions physiologiques principales (Hopkins, 2003). Les métabolites secondaires sont parfois des structures chimiques complexes (Pathak et al., 1962; Zobel et Brown, 1990). Ils peuvent être classés de différentes manières en fonction de leurs propriétés chimiques, de leur origine végétale ou biologique et il est souvent difficile d'extraire des composés secondaires en raison de faibles concentrations

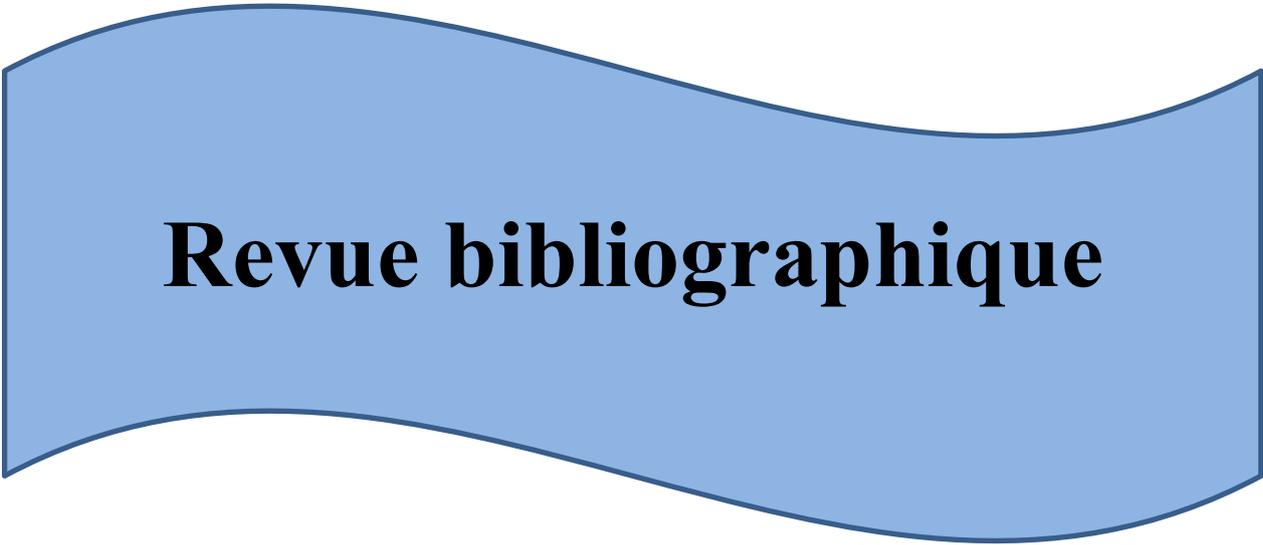
(Kinghorn et Balandrin, 1993). Les principaux composants biologiquement actifs des plantes sont les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes et les composés phénoliques (Hill, 1952).

Les composés phénoliques représentent un ensemble complexe de métabolites secondaires appartenant à de nombreuses familles (Regnault-Roger et al., 2008).

Les espèces végétales appartenant à la famille des Lamiaceae sont connues par leur synthèse de composés phénoliques et des huiles essentielles ce qui leur confère des propriétés thérapeutiques, et activités biologiques très importantes, exploitées dans des champs très diversifiés : pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, etc. Dans ce contexte, nous avons choisi quatre plantes médicinales de la famille des Lamiaceae, poussent spontanément dans la région semi-aride algérienne : *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus algeriensis* Boiss & Reut., *Origanum vulgare* L. et *Marrubium vulgare* L. pour une évaluation de leur teneur en composés phénoliques et en huiles essentielles. Ainsi de faire une comparaison dans la concentration de ces métabolites secondaires entre des plantes collectées récemment et d'autres stockées pour quelques années.

Notre travail comporte trois parties principales :

- La première partie comprend une synthèse bibliographique sur les plantes médicinales sélectionnées pour l'étude, les métabolites secondaires notamment les composés phénoliques et les huiles essentielles.
- La deuxième partie concerne le matériel et les méthodes utilisés dans l'expérimentation au laboratoire.
- La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus et à leurs discussions.



Revue bibliographique

1. Métabolites secondaires

On appelle métabolites secondaires des composés synthétisés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal. De nombreux métabolites secondaires possèdent des propriétés thérapeutiques et sont utilisés en médecine humaine (Hostettmann et Marstonn, 1995).

Les métabolites secondaires sont produit à différents endroits de la cellule et emmagasinés surtout dans les vacuoles. Il sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre. En outre, leur concentration dans la plante varie souvent dans de grandes proportions au cours d'une période de 24 heures (Ravenet al., 2003).

1.1. Importance des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont importants pour le développement des plantes. C'est un groupe de différentes substances telles que les alcaloïdes, les huiles essentielles et les flavonoïdes. Dans la nature, ces substances chimiques paraissent jouer un rôle essentiel en réduisant l'appétibilité des plantes qui en contiennent ou en les rendant même repoussantes pour les animaux (Hopkins, 2003).

En raison de leur valeur au plan économique ou médical, les chercheurs en chimie organique ou ceux qui s'intéressent aux substances naturelles, ont étudié les métabolites secondaires depuis des siècles. Durant ces trois dernières décennies, il a été montré que de nombreux métabolites secondaires jouaient un rôle écologique important (Harborne, 1988; Rosenthal et Berenbaum, 1991; Paré et Tumlinson, 1997).

Les fonctions physiologiques précises des métabolites secondaires sont très discutées. On leur attribue des propriétés d'attraction de pollinisateur, de défense contre des agents pathogènes, des prédateurs ou encore contre des facteurs de contrainte liées à leur environnement direct : UV, température... (Bell, 1980). Pour ce qui concerne leurs fonctions chez les plantes, les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.). Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes), mais a été relativement peu exploité pour ce qui concerne le développement de variétés résistantes. Ces métabolites secondaires constituent, aujourd'hui un des leviers d'une possible intensification écologique de l'agriculture, en substituant

notamment l'usage d'intrants chimiques par des mécanismes de défense naturelle des plantes. (Bourgaud, 2013).

1.2. Différents types de métabolites secondaires

Il y a trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes : les substances phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Ravenet al, 2003).

1.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Mompon et al., 1996 ; He et al., 2008). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter, 1993). Contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme «phénol» englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin et Andriantsitohaina, 2002 ; Druzyńska et al., 2007). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig.1) auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Bruneton, 1999; Balasundram et al., 2006).

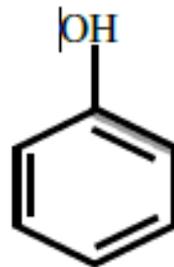


Fig 1. Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

1.2.1.1. Biosynthèse

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie du shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétyl- coenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulier (Guignard, 2000 ; Bruneton, 2008).

1.2.1.2. Classification des composés phénoliques

La classification des composés phénoliques est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Clifford, 1999; D'Archivio et al., 2007).

❖ Composés phénoliques simples

✓ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes rassemblent une très large gamme de composés polyphénoliques constitué de base à 15 atomes de carbones ayant une structure commune en C₆-C₃-C₆ (Derbel et Ghedira, 2005). Constituent des pigments, leur fonction principale chez les plantes est des colorations jaunes, oranges et rouges de différents organes végétaux (Derbel et Ghedire, 2005). Et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Crozier, 2003). Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre Citrus où ils représentent jusqu'à 1% des fruits frais), les légumes, le thé, le café en contiennent également des quantités importantes. Les flavonoïdes composés naturels, ils sont retrouvés dans plusieurs plantes médicinales (Derbel et Ghedire, 2005).

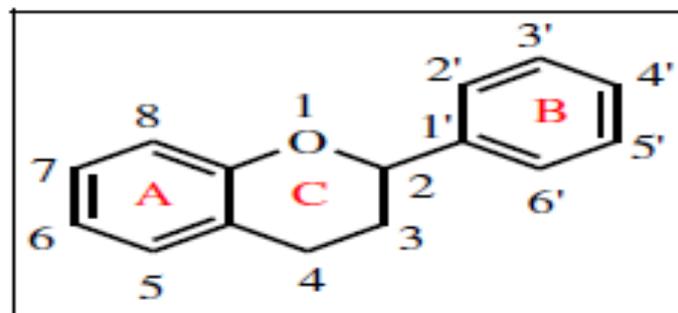


Fig. 2. Squelette de base des flavonoïdes (Crozier, 2003).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides (Chira et al., 2008).

✓ **Les acides phénoliques**

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 2008). Trois catégories de corps entrent dans ce groupe: les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines (Charnay et Tourmeau, 2006).

✓ **Alcools phénoliques**

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenyl ethanol) et hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenyl ethanol) sont les principales molécules de cette classe. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide linoléique (Micolet al., 2005 ; Silva et al., 2010).

❖ **Polyphénols complexes (tanins)**

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols. (Aguilera et al., 2008). Ces substances ont des propriétés de fusion avec les protéines (Catier et Roux, 2007) et donc leur aptitude à bronzer le cuir (Paris et Hurabeillen, 1981).

Dans le règne végétal, les tannins sont largement répandus et peut être trouvés dans divers organes, mais l'un d'entre eux est particulièrement visible dans les tissus anciens ou malades. Ils se trouvent dans des meurtrières et sont parfois liés à des protéines et à des bases (Catier et Roux, 2007). Les tanins sont divisés en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Linden et Lorient, 1994).

1.2.1.3. Rôles des composés phénoliques

Les composés phénoliques de plantes sont compatibles avec une large gamme de molécules qui partagent un benzène portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Ils se retrouvent partout dans des légumes et de certaines graines. Les composés phénoliques sont impliqués dans différents aspects de la vie végétale et sont donc impliqués dans la physiologie des plantes (lignification, interactions symbiotiques ...), dans les mécanismes de protection des plantes (interactions biologiques et non biologiques) ou dans la coloration des plantes (fleurs). En outre, ils sont utiles pour l'homme car ils contribuent au traitement de certaines maladies par leur effet sur le métabolisme humain et leurs propriétés anti-oxydantes (Rösch et al., 2004). Les composés phénoliques sont les antioxydants les plus importants synthétisés par les plantes. Ils confèrent aux plantes la capacité de se défendre contre l'oxydation, certaines attaques externes et la décomposition (Menat, 2006).

1.2.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils (Kalembe, 2003). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Burt, 2004). Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid (Burt, 2004). De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (Santoyo et al., 2005) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Kimbaris et al., 2006).

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (Paster et al., 1990 ; Caccioni et al., 1994 ; Cowan, 1999 ; Nielsen et al., 2000 ; Lamiri et al., 2001 ; Cimanga et al., 2002).

1.2.3. Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé d'origine naturelle (le plus souvent végétal), azoté plus ou moins basique, distribution restreinte et doué, à faible dose de propriétés pharmacologiques. L'appartenance aux alcaloïdes est confirmé par les réactions communes de précipitations avec les réactifs généraux des alcaloïdes (ex: réactif de Dragendorff) (Merghem, 2009). Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine. L'intérêt qu'on leur porte reposait traditionnellement sur leur action physiologique et psychologique et particulièrement violente chez l'homme (William, 2003).

2. Plantes étudiées

2.1. *Rosmarinus officinalis*

2.1.1. Classification

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L. (Franchomme, 1999 ; Bounnemain et Dumas, 1998).

2.1.2. Description botaniques

Le romarin est un arbrisseau vivement rameux touffu, toujours vert (feuilles persistantes), très aromatique, de 50 centimètres à 2 mètres de haut. Il possède des tiges ligneuses à écorce brun foncé, avec des feuilles sessiles opposées, étroites et entières (d'en moyenne 3 cm sur 3 mm). Ces feuilles ont des bords fortement réfléchis vert foncé sur le dessus, blanchâtres et tomenteuse. Le calice est bilabié, en forme ovale et duveteuse, nu à la base entière formée de trois sépales. L'androcée est constitué de deux étamines, avec des anthères allongées. Le style ne possède qu'un stigmate entier se développant en général après les étamines. Le gynécée reposant sur un épais. L'ovaire est divisé en deux loges qui contiennent chacune deux ovules. Le fruit est un akène brun foncé, lisse et globuleux de 2 à 3 mm de long. Chaque akène renferme un embryon sans albumen (Garnier et al., 1961 ; Anton et al., 2005).



Fig 3. *Rosmarinus officinalis*

2.1.3. Composition chimique

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance et de récolte ainsi que du moment de la récolte dans le cycle végétatif (Staub et Bayer, 2013). Ses feuilles riches en essence dont la composition varie avec les origines géographiques de la plante (Boullard, 1997). Les feuilles de romarin contiennent des dérivés polyphénoliques, des huiles essentielles, des flavones comme l'apigénine et la lutéoline et 2 à 4 d'acides uroliques et d'autres dérivés triterpéniques (Gilly, 2005). Elles contiennent aussi des lactones diterpéniques et des acides phénols (El Rhaffari, 2008).

2.1.4. Propriétés biologiques

Le romarin est à la fois une plante ornementale, aromatique et médicinale. Les feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées en tant que condiment et entrent dans la composition des thés et infusions. *Rosmarinus officinalis* sous forme de feuille séchées ou d'huile essentielle, trouve sa principale utilisation pour la fabrication de produits cosmétiques (parfums, savons, crèmes, tonifiants de cheveux, shampooings et autres préparations). *Rosmarinus officinalis* sert aussi pour produire les antioxydants naturels qui ont plusieurs utilisations dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et en pharmaceutiques (Chafai et al., 2014).

2.2. *Thymus algeriensis*

2.2.1. Classification

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus algeriensis* Boiss & Reut. (Bonnemain et Dumas, 1998).

2.2.2. Description Botanique

L'espèce pousse sur des sols calcaires pauvres et fertiles. Elle peut atteindre 20-50 cm de hauteur. Les feuilles sont opposées et linéaires. Les fleurs, aux bractées ovales et à corolle rose violacée ou pourpre blanchâtre, sont petites (5-7 mm). La floraison a lieu entre avril et juin. Il se reproduit par graines. (Quezel et Santa, 1963).



Fig4. *Thymus algeriensis*.

2.2.3. Composition chimique

Cette plante contient des polyphénols (tanins) (Iburg, 2006), et Les flavonoïdes : hespéridine, eriotréicine, narirutine (Takeuchi et al, 2004), lutéoline (Bazytko et Strzelecka, 2007). Cette espèce contient aussi des huiles essentielles.

2.2.4. Propriétés biologiques

Thymus algeriensis est une plante herbacée parfumée largement utilisée, à l'état frais ou séché, comme herbe culinaire (Chaieb et Boukhriss,1998). En outre, cette plante est également largement utilisée dans la médecine traditionnelle contre les maladies du tube digestif et anti-avortement (Le Floc'h, 1983). Récemment, l'huile essentielle de *T. algeriensis* s'est avérée posséder une activité inhibitrice intéressante vis-à-vis de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I, suggérant le potentiel de cette plante en tant qu'agent antihypertenseur (Zouari et al., 2011).

2.3. *Origanum vulgare*

2.3.1. Classification

Règne :Plantae

Sous-règne :Tracheobionta

Division :Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe :Asteridae

Ordre :Lamiales

Famille :Lamiaceae

Genre :Origanum

Espèce : *Origanum vulgare* L.

2.3.2. Description botanique

L'origan est un sous-arbrisseau vivace de 30 à 50 cm de hauteur, implanté sur les pentes escarpées du bassin méditerranéen. Ses rameaux rougeâtres, carrés, portent de petites feuilles duveteuses à la forme ovoïde se terminant en pointe. Ses fleurs, qui vont du blanc au mauve selon les espèces, sont groupées en bouquets ronds au sommet des rameaux. Son arôme puissant, épicé, lui donne toute sa place dans la classe des aromates (Cardenas, 2017).



Fig5. *Origanum vulgare*

2.3.3. Composition chimique

L'origan contient de l'huile essentielle à 3%, des flavonoïdes, des acides triterpéniques, dont l'acide ursolique et l'acide oléanolique, ainsi que des acides phénols (cardenas, 2017).

2.3.4. Propriétés biologiques

L'origan est utilisé par voie interne, il est antalgique en calmant les douleurs musculaires et articulaires ainsi que les règles douloureuse. C'est aussi un tranquillisant du système nerveux, très indiqué pour les personnes nerveuses, dépressives, anxieuses ou sujettes aux migraines fréquentes. Cette plante médicinale peut aussi soulager les personnes souffrant de troubles digestifs et de spasmes intestinaux, stimuler l'appétit et réguler la tension

artérielle. En inhalation, cette médication naturelle nettoie les voies respiratoires (cardenas, 2017). Par usage externe, l'origan est un antiseptique efficace contre les aphtes, la gingivite et autres infections touchant la bouche. Son huile essentielle s'utilise en massage ou en application locale pour apaiser les foulures et les douleurs articulaires ainsi que pour soigner les plaies superficielles (cardenas, 2017).

2.4. *Marrubium vulgare*.

2.4.1. Classification

Embranchement : Spermatophytes

Division : Magnoliophytes

Classe : Magnolipsides

Sous classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Marrubium*

Espèce : *Marrubium vulgare* L.

2.4.2. Description botanique

Le marrube vulgaire est une plante, d'aspect blanchâtre à odeur forte et désagréable, de 30 à 80 cm de hauteur. Ses fleurs blanches, relativement petites, apparaissent du mois de Mai jusqu'au mois de Septembre, et parfois encore en hiver. Les feuilles ont toutes un pétiole. Ce dernier est très allongé chez les feuilles inférieures, au contraire très court et bordé par deux prolongements du limbe chez les feuilles supérieures (Boukef, 1986).

L'inflorescence est allongée et formée de groupes successifs renfermant chacun de nombreuses fleurs. Le calice est velu-cotonneux, avec un anneau de poils vers l'intérieur en haut du tube du calice, il est terminé par 6 à 10 dents crochues. La corolle, couverte de petits poils à l'extérieur, Les nectaires forment 4 lobes alternant avec les 4 parties de l'ovaire

C'est une plante vivace à tiges épaisses, cotonneuses, très feuillées, qui se perpétue (Quezel, 1963 ; Bellakhdar, 1997).



Fig 6. *Marrubium vulgare*

2.4.3. Composition chimique

Une étude bibliographique complète de *Marrubium vulgare* a révélé la présence de d'Euterpe et de phényl éthylènes, qui contient un principe amer dû à la présence de l-lactone (Novak, 1966), des composés glucosidiques (Hill, 1991). Parmi ces structures, on trouve l'actoside, le non-glucose et le phénylthanoïde et l'acétyl maroboside (Mann, 1994).

2.4.4. Propriétés biologiques

Actuellement, quelques espèces de genre *Marrubium* demeurent utilisées, pour le traitement des troubles gastro-intestinaux, diabète de type 2, difficultés respiratoires, bronchites asthmatiques, tuberculose, toux sèches, coqueluches, fièvres et diverses affections cutanées. (Issançalis, 1992; VanderJagt, 2002; Herrera-Arellano, 2004; Hellen et Stulzer , 2006; Al-Bakri, 2007). Une bonne activité antimicrobienne de l'espèce *Marrubium globosum* a également été observé (Rigano, 2006 ; Al-Bakri, 2007). L'action anti-oxydante du marrube semble protéger contre l'oxydation du « mauvais » cholestérol (LDL) et accentuer l'action du « bon » cholestérol (HDL) (Matkowski, 2006). La plante pourrait donc contribuer à prévenir l'athérosclérose (Berrougui, 2006).

Matériel et Méthodes

1. Etude phytochimique

1.2. Matériel végétal

Les quatre espèces végétales ont été collectées de la région semi-aride de l'Algérie, *Thymus algériensis* et *Rosmarinus officinalis* de la région de Ain Beida (latitude : 35° 47' 47", longitude : 7° 23' 34", altitude : 891 m), *Origanum vulgare* de la région de Mila (latitude : 36° 27' 00", longitude : 6° 16' 00", altitude : 486m) et *Marrubium vulgare* de la région de Tebessa (latitude : 35° 24' 19", longitude : 8° 06' 59", altitude : 960m).

Thymus algeriensis et *Rosmarinus officinalis* ont été récoltés pendant plusieurs années au cours de la phase floraison : 2010, 2011, 2012, 2013, 2015 et 2019 pour *Thymus algeriensis* et 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 et 2019 pour *Rosmarinus officinalis*. *Origanum vulgare* a été récolté au stade floraison pendant l'année 2012 et *Marrubium vulgare* à été récoltée au stade floraison au cours de l'année 2011.

Le matériel végétal utilisé était les parties aériennes (feuilles, fleurs, tiges) pour chaque espèce. Ces parties ont été coupées en petits fragments et stockées dans des sacs en papier à la température ambiante et à l'obscurité. Au cours de l'expérimentation, le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un mortier en porcelaine. Le matériel broyé obtenu a été conservé dans des flacons en verre pour son utilisation dans l'étude phytochimique.

1.2.1. Tests préliminaires de principes actifs

1.2.1.1. Flavonoïdes

Dix grammes du broyat végétal sont trempés dans de l'hydrochlorure 1% pendant 24 heures puis sont filtrés, l'hydroxyde d'ammonium est ajouté au filtra jusqu'à ce qu'il devient basique, l'apparition de la couleur jaune claire indique la présence de flavonoïdes. (Morreel et al., 2006).

1.2.1.2. Saponosides

Deux gramme de la poudre végétale sont bouillis dans 80 ml eau distillée puis filtrés. Après refroidissement, le filtrat est agité. L'apparition d'une mousse stable indique la présence de saponosides. (Hostettmann et Marston, 1995 ; Dinda et al., 2010).

1.2.1.3. Tannins

Dix grammes de la matière sèche végétale broyée sont trempés dans l'éthanol 50% et filtrés, on prend quelques millimètres du filtrat et on y ajoute des gouttes de chlorure de fer. La formation d'une couleur verte foncé indique la présence de tanins. (Claude et al., 2000).

1.2.1.4. Triterpènes

Cinq grammes de la poudre végétale sont trempés dans l'éthanol 70%, l'extrait alcoolique est évaporé, le résidu est dissout dans 2ml de chloroforme puis filtré , on prend une quantité suffisante du filtrat et l'introduit dans un tube à essai , on y ajoute 1ml d'acide acétique et 1ml d'acide sulfurique , l'apparition d'une couleur rouge violet suivie d'une couleur vert signe la présence de triterpènes.(Justin, T. F,2017).

1.2.1.5. Alcaloïdes

Dix gramme de la poudre végétale sont introduits dans une fiole d'Erlenmeyer en présence de 50 ml hydrochlorure (HCl), l'extrait acide est filtré puis on ajoute au filtrat l'hydroxyde de potassium jusqu'à l'obtention d'une solution basique qu'est extraite par le chloroforme. L'extrait chloroformique est évaporé puis 2 ml de HCl sont ajoutés au résidu. La présence des alcaloïdes est testée par l'addition des gouttes du réactif de Mayer qui entraine l'apparition d'un précipité blanc. (Bourmita et al., 2013).

1.2.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Trois distillations ont été réalisées de 50 g de matériel végétal sec pendant 2 heures. Les huiles obtenues ont été séparées complètement de l'eau et le rendement a été calculé par rapport à la matière sèche végétale comme suit :

$$\text{RHE (\%)} = \text{M} / \text{M}' \times 100$$

RHE : rendement de l'huile essentielle de la matière sèche végétale

M' : masse de l'huile essentielle en gramme

M : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

1.2.3. Extraction et dosage des composés phénoliques

1.2.3.1. Extraction

L'extraction des composés phénoliques est basée sur la macération dans l'éthanol. Pour extraire ces substances des quatre espèces étudiées, nous avons adopté le protocole décrit par Merghem (2009). Dix grammes de la poudre de la matière sèche végétale ont été macérés dans 100 ml d'éthanol (70 %) à la température ambiante pendant 24 h puis sont filtrés sur papier filtre, le filtrat est évaporés presque à sec sur une plaque chauffante à 80 °C, les extraits secs sont stockés et conservés dans des flacons en verre jusqu'à leur utilisation pour le dosage.

Pour l'année 2013, nous n'avons pas des quantités suffisantes de matières sèche pour *Thymus algeriensis* ainsi que pour l'année 2015 pour *Rosmarinus officinalis*, donc l'extraction n'a pas été effectuée.

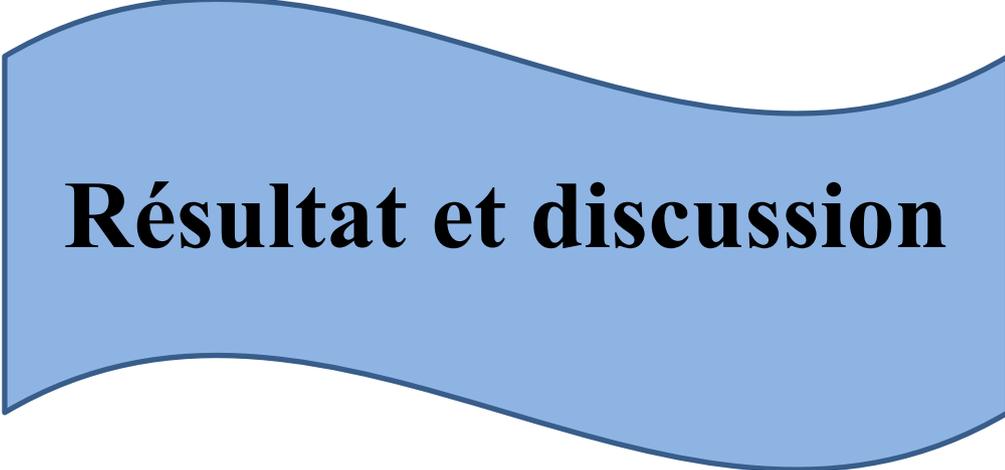
1.2.3.2. Dosage de composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux chez les quatre plantes ont été déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique ; lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés.

0.5 ml de l'extrait a été ajouté à 2.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 2 ml de Na_2CO_3 , le mélange finale a été incubé pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante. L'absorbance de l'extrait a été mesurée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm. Une gamme d'étalonnage a été préparée dans les mêmes conditions sans l'acide gallique. La concentration des composés phénoliques a été calculée de l'équation de la courbe d'étalonnage (Annexe 1).

2. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été traités statistiquement par une analyse de la variance à un facteur pour le rendement des huiles essentielles et à deux facteurs pour les composés phénoliques. Ainsi, une comparaison des moyennes a été faite par le test de Tukey pour distinguer les groupes homogènes et hétérogènes. Le traitement statistique a été réalisé par le logiciel Excel-Stat.



Résultat et discussion

1. Etude phytochimique

1.1. Tests préliminaires de principes actifs

Les tests qualitatifs de principes actifs effectués sur *O. vulgare* et *M. vulgare* ont montré que les deux plantes contiennent des saponines, tanins, terpènes, cardénolides et des flavonoïdes et sont totalement dépourvues d'alcaloïdes (Tableau 1).

Tableau 01. Résultats de tests préliminaires de principes actifs chez *Origanum vulgare* et *Marrubium vulgare*.

Principe actif	Saponines	Tanins	Terpènes	cardénolides	Alcaloïdes	flavonoïdes
<i>M. vulgare</i>	+++	+	+	+	-	+
<i>O. vulgare</i>	+	++	++	+	-	+

(+) : présence, (-) : absence

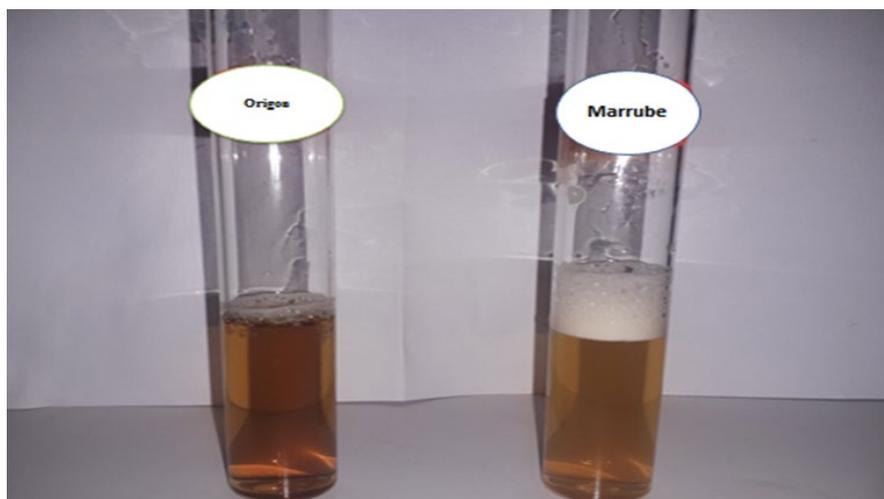


Fig7. Test de saponines

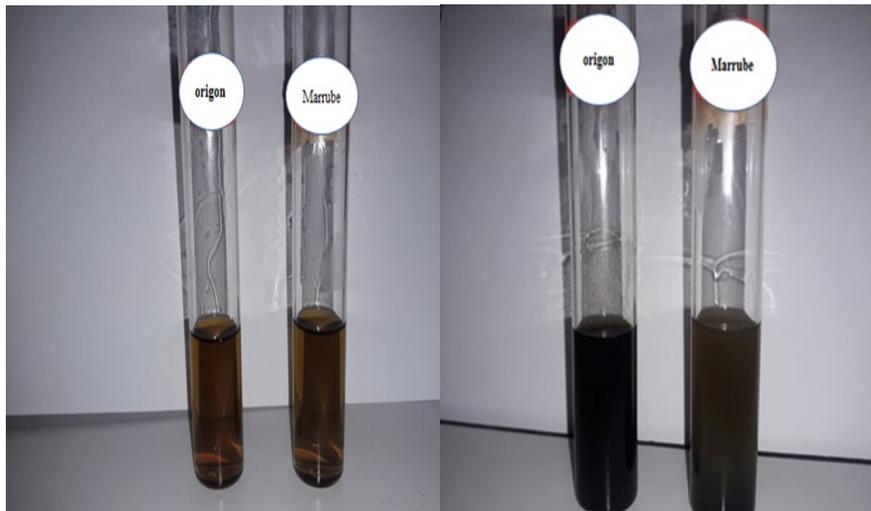


Fig 8. Test de tanins

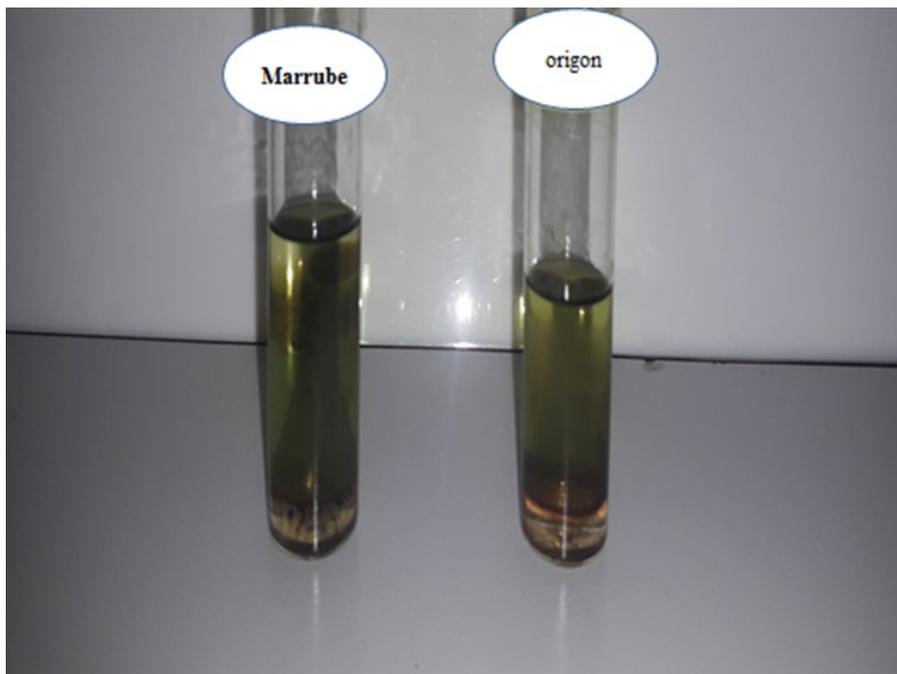


Fig 9. Test de terpènes

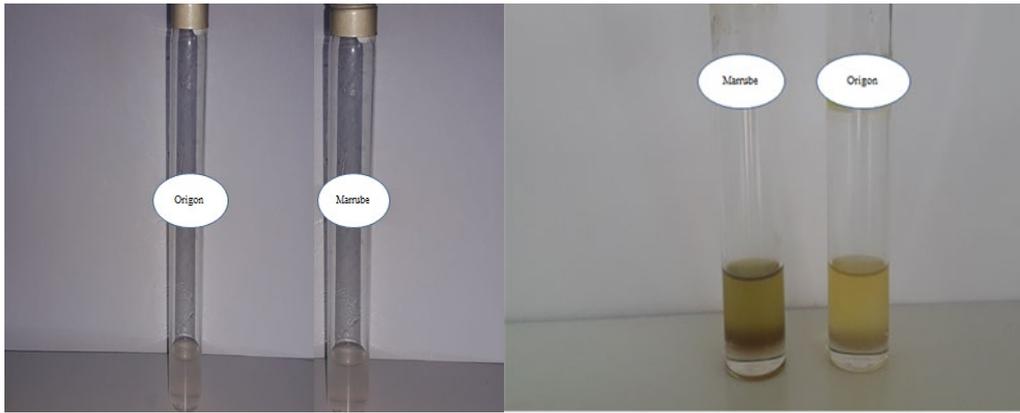


Fig 10. Test de cardénolides : à gauche témoin, à droite résultat

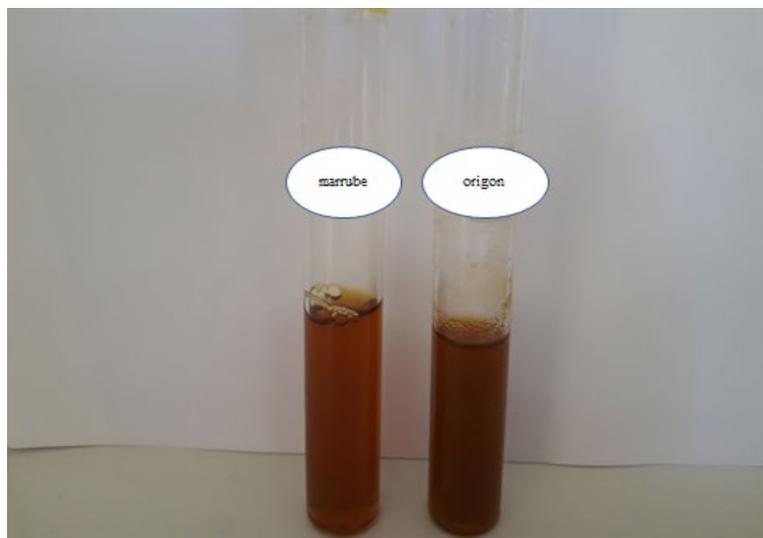


Fig 11. Test de flavonoïdes

1.2. Teneur en huiles essentielles

L'analyse statistique a montré une différence très hautement significative ($P < 0.001$) dans la concentration des huiles essentielles entre les deux espèces *Rosmarins officinalis* et *Thymus algeriensis*. *R. officinalis* a présenté un rendement plus élevé ($1.52\% \pm 0.04$) suivi de *T. algeriensis* ($0.80\% \pm 0.04$). *Origanum vulgare* a montré un rendement de $2.44\% \pm 0.12$ (Fig 11, Fig 12).

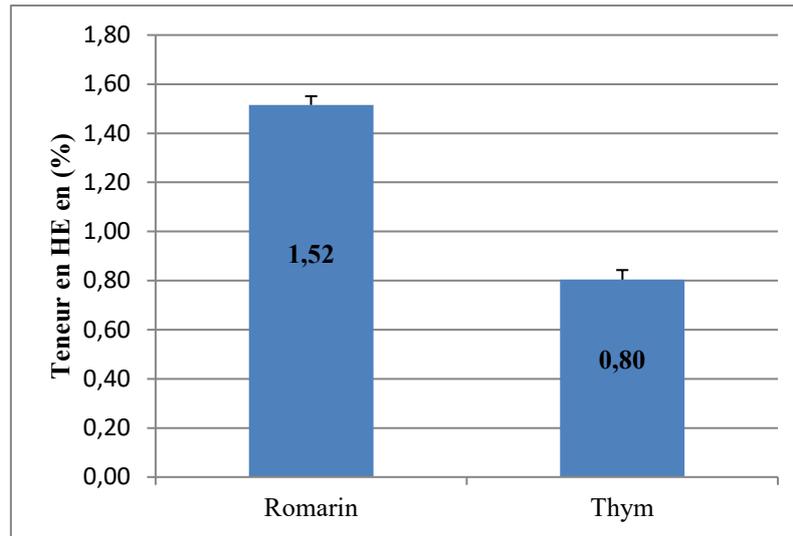


Fig 12. Teneur en huiles essentielles en (%) chez *Rosmarins officinalis* et *Thymus algeriensis*.

Nos résultats sur le rendement des huiles essentielles de *Rosmarins officinalis* collecté de la région de Ain Beida (Algérie) sont plus élevés de ceux enregistrés par Djeddi et al. (2007) qui ont évalué une teneur en huile essentielle de 0,82 % dans parties aériennes fraîches récoltés au stade floraison dans une zone à climat subhumide et en accordance avec les résultats de (Boutekdjiret et al., 2003) (1.5 %).

Bousbia et al. (2009) ont montré que le romarin cultivé a donné un rendement varie de 0.33 ± 0.09 % à 0.35 ± 0.07 % selon la méthode d'extraction et le rendement du romarin de la région de Bordj Bou Arreridj varient entre 0.44 et 1.5% (Boutekdjiret et al., 1998; 2003).

Des études ont suggéré que les différences dans les rendements en huiles essentielles de romarin sont attribuées à l'influence de différents facteurs tels l'habitat, le climat, le facteur génétique (Belbey, 2014).

Nos résultats montrent que le rendement des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* est plus élevé que les rendements marqués par plusieurs auteurs, chez la même espèce, qui ont obtenu des quantités entre 0.3% et 0.5% (Hazzit et al., 2009 ; Abdelhakim et al., 2013). Selon Aberchane et al. (2001) et Bourkhiss et al. (2011), de nombreux facteurs influencent le rendement, les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles tels que l'espèce, les conditions environnementales, la technique d'extraction, les conditions de séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturales et l'âge du matériel végétal.

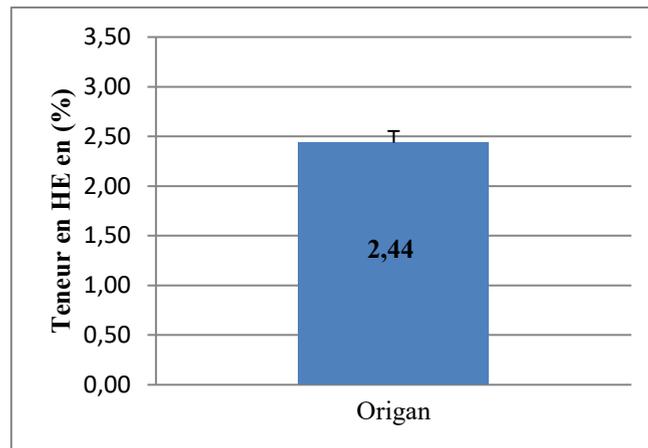


Fig 13. Teneur en huiles essentielles en (%) chez *Origanum vulgare*.

Notre résultat sur le rendement des d'huiles essentielles de *Origanum vulgare* est proche de celui obtenu par Amrouni et al. (2014) sur la quantité des huiles de *Origanum vulgare* collecté des régions montagneuses du Nord-est de l'Algérie ($2,7\% \pm 0,06$) et Bouhaddouda et al. (2016) ($2,52\%$). Alors que Derwich et al. (2010) a rapporté un rendement plus faible de $1,15\%$ sur la même plante. Ainsi que Mechergui et al. (2010) ont rapporté un rendement entre $0,1$ à $0,7\%$. La variation de la composition des huiles de *Origanum vulgare* est due à la localisation géographique du site de récolte, le climat et le facteur génétique (kintzios, 2002).

1.3. Teneur en composés phénoliques

Les deux espèces ont présenté des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) dans la concentration des composés phénoliques. *Thymus algeriensis* a présenté la meilleure concentration dans l'année 2015 ($0,16$ mg EAG/ml) suivi des autres années avec des rendements entre $0,10 \pm 0,001$ et $0,14 \pm 0,002$ mg EAG/ml. *R. officinalis* a enregistré les meilleures quantités pendant les années 2012 et 2014 ($0,08 \pm 0,002$ mg EAG/ml) suivi des autres années qui ont présenté des quantités entre $0,03 \pm 0,001$ et $0,07 \pm 0,001$ mg EAG/ml.

Ainsi, *Thymus algeriensis* a présenté des teneurs en composés phénoliques plus élevées que celles observées chez *Rosmarinus officinalis* (Fig 13).

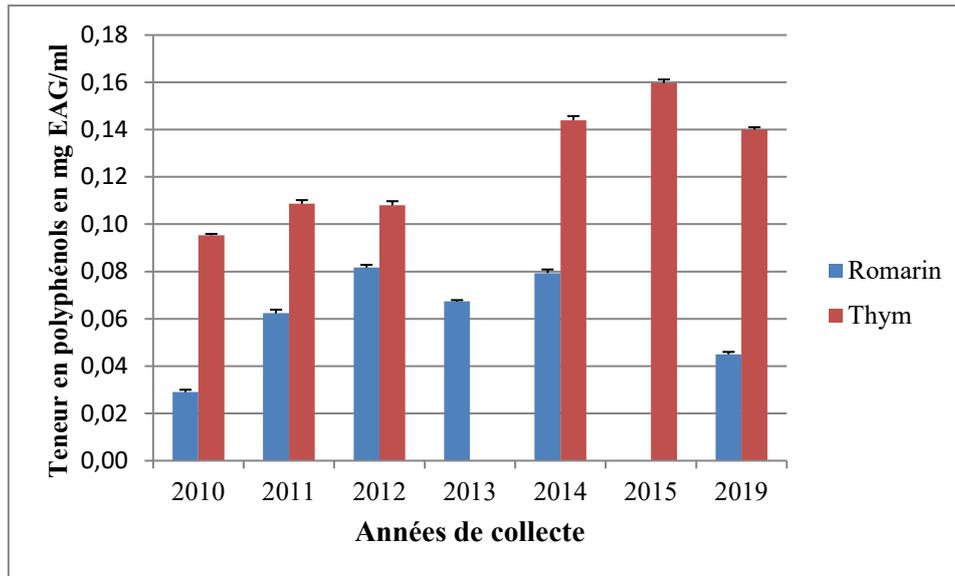


Fig 14. Teneur en composés phénoliques en mg EAG/ml chez *Rosmarinus officinalis* et *Thymus algeriensis* pendant différentes années de collecte.

Nos résultats obtenus sur les composés phénoliques sont en accordance avec ceux rapportés dans la littérature. Zeghad (2009) a rapporté une teneur de composés phénoliques de $10,42 \pm 0,003$ mg EAT/g chez *Rosmarinus officinalis*. Muchuweti et al. (2007) ont estimé une teneur de $10,83$ mg EAG/g chez la même plante.

Zeghad (2009) a montré que *Thymus vulgaris* présente une quantité de $9,07 \pm 0,002$ mg EAT/g et Madi (2010) a montré une teneur de $18,57 \pm 0,02$ mg EAG/g chez *Thymus algeriensis*.

La distribution des métabolites secondaires dans les différentes parties de la plante peut changer pendant la croissance de la plante. Cela peut être lié aux conditions de l'environnement : la température élevée, exposition à la lumière, sécheresse, salinité, qui affectent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Falleh et al., 2008). En outre, La teneur en composés phénoliques d'une plante dépend aussi de conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage (Podsdek, 2007).

L'analyse statistique a montré une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les quatre espèces étudiées, *Origanum vulgare* a présenté la concentration la plus élevée $0,206 \pm 0,002$ mg EAG/ml suivi de *Thymus algeriensis* $0,108 \pm 0,002$ mg EAG/ml, et *Rosmarinus officinalis* avec une concentration de $0,082 \pm 0,01$ mg EAG/ml. *Marrubium vulgare* a présenté la quantité la plus faible de $0,047 \pm 0,002$ mg EAG/ml (Fig 14).

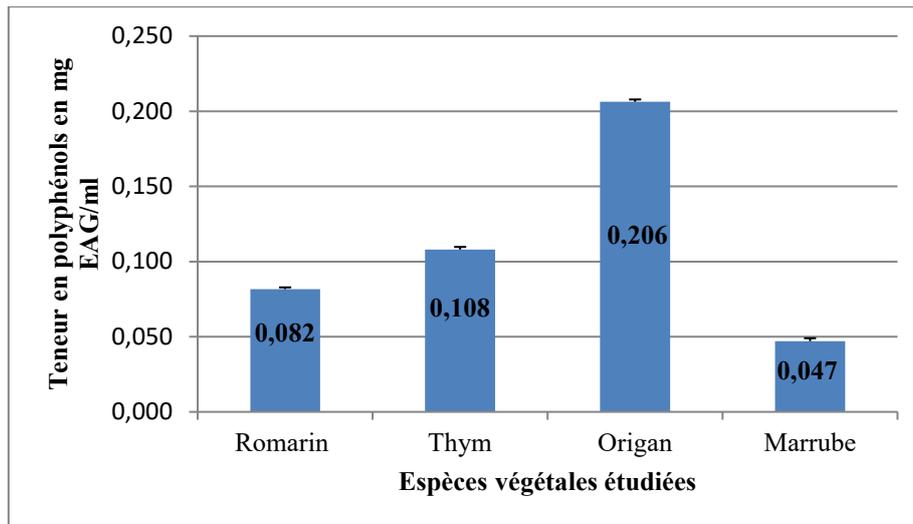
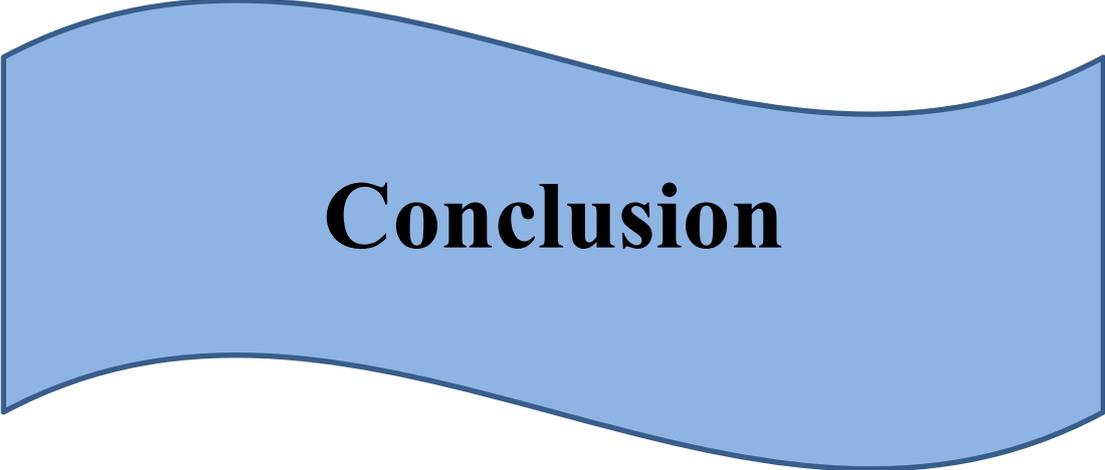


Fig 15. Teneur en composés phénoliques en mg EAG/ml chez *Rosmarins officinalis*, *Thymus algeriensis*, *Origanum vulgare* collectés en 2012 et *Marrubium vulgare* collecté en 2011.

La teneur en composés phénoliques obtenue de la matière végétale sèche de l'origan est inférieure à celle obtenue par Al Anbari et Hasan (2015) qui ont évalué une quantité de 373.2 mg EAG/g. Alors que Amrane (2017) a trouvé une quantité de composés phénoliques faible de 1.66 mg EAG/g par rapport à notre résultat. Concernant *Marrubium vulgare*, Kasmi (2016) a montré une teneur plus élevée que notre résultat ($61,41 \pm 0,006$ mg EAG/g) et Hamadache (2011) a rapporté une concentration très proche de notre valeur (46.06 mg EAG/g) chez *Marrubium vulgare*. La variation du taux de polyphénols peut être due à la diversité variétale, les conditions climatiques (température), la maturité de la plante et les différents procédés d'extraction tels que le type de solvant et le temps d'extraction (Popovici et al., 2009).



Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales représentent la source chimique naturelle de la pharmacopée et l'avènement de la chimie moderne. Grâce à leur synthèse de composants phytochimiques actives, elles possèdent une large gamme d'activités biologique. L'extraction des composés polyphénoliques et des huiles essentielles est une étape cruciale pour la valorisation de principes actifs chez les plantes.

Dans notre travail, nous avons réalisé les tests qualitatifs de substances actives ainsi que l'extraction et l'évaluation du rendement des composés phénoliques et des huiles essentielles chez quatre plantes médicinales collectées de la région semi aride algérienne :

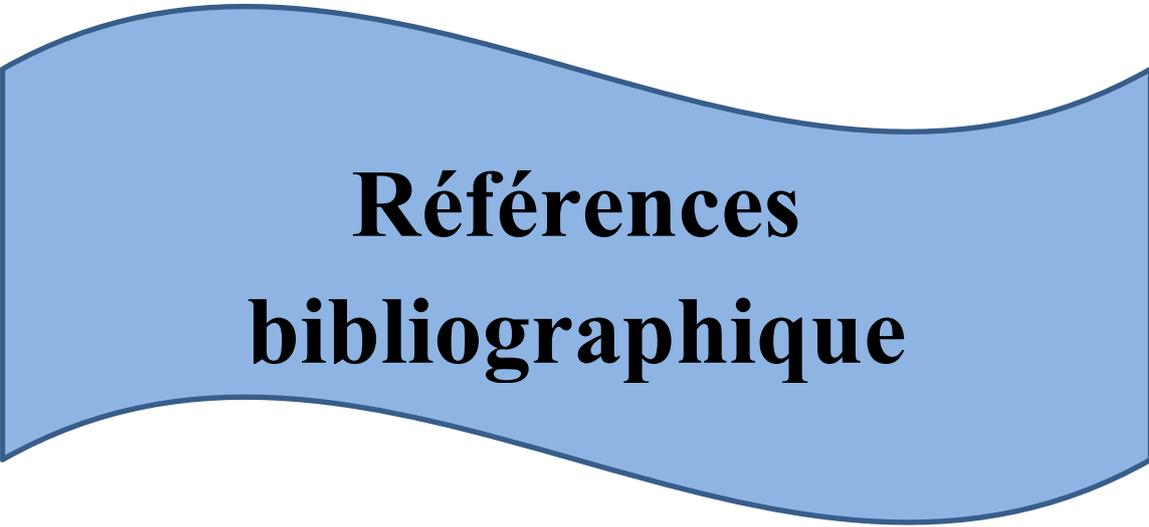
Thymu algeriensis, *Rosmarinus officinalis*, *Marrubium vulgare* et *Origanum vulgare*.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

- ✓ Les tests qualitatifs de principes actifs effectués sur *O. vulgare* et *M. vulgare* ont montré que les deux plantes contiennent des saponines, tanins, terpènes, cardénolides, et des flavonoïdes et sont totalement dépourvues d'alcaloïdes.
- ✓ Le rendement des huiles essentielles de *T. algériensis* et *R. officinalis* pour l'année 2019 est différent significativement : $0.80\% \pm 0.004$ et $1.52\% \pm 0.004$ respectivement. *Origanum vulgare* a donné un rendement de $2.44\% \pm 0.12$.
- ✓ Au cours de différentes années de l'études, *T. algeriensis* a montré la concentration la plus élevée en 2015 (0.16 ± 0.02 mg EAG/ ml) et *R. officinalis* a enregistré la quantité la plus élevée en 2012 et 2014 (0.08 ± 0.002 mg EAG/ ml), *T. algeriensis* a également présenté la concentration la plus élevée en composés phénoliques par rapport à *R. officinalis*.
- ✓ *Origanum vulgare* a présenté la plus forte concentration de composés phénoliques en 2012 (0.206 ± 0.002 mg EAG/ ml) suivi de *T. algeriensis* en 2012 (0.108 ± 0.002 mg EAG / ml) puis *R. officinalis* en 2012 (0.082 ± 0.001 mg EAG / ml) alors que *M. vulgare* a enregistré la concentration la plus faible en 2011 (0.047 ± 0.002 mg EAG / ml).

Conclusion

- Les teneurs en composés phénoliques dans la matière végétale collectée récemment et stockée pendant quelques années chez deux espèces étudiées *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis* indiquent que le stockage n'a pas beaucoup altéré les teneurs en composés phénoliques.
- Le stockage de plantes médicinales dans des conditions favorables n'affecte pas beaucoup le rendement de métabolites secondaires. Dans des études ultérieures, l'effet de stockage sera testé sur la composition chimique de métabolites secondaires chez les plantes étudiées.



**Références
bibliographiques**

(A)

Al-Anbari, A.K & Hasan, M.A. 2015. Antioxidant Activity in Some Citrus Leaves and Seeds Ethanolic Extracts. International Conference on Advances in Agricultural, Biological & Environmental Sciences. P: 93-97.

Aberchane, M., Fechtal, M., Chaouch, A., Bouayoune, T. 2001. Influence de la durée et de la technique d'extraction sur le rendement et la qualité des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica manetti*). Annales de la recherche forestière au Maroc ISSN 0483-8009 CODEN AFRMA. 34, P : 110- 118.

Adjanohoun, E. O., Adjanohoun, E, de Souza, S et Sinsin, B. 2000. La biodiversité face au développement des industries pharmaceutiques africaines. In : Réseau des « espèces ligneuses médicinales », Eyog Matig (eds). Compte rendu de la première réunion du réseau tenue 15-17 décembre 1999 à la station IITA Cotonou, Bénin P : 88-103.

Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L. A., Favela-Torres, E., Aguilar, C.N. 2008. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. Applied Microbiology and Biotechnology. 78. P: 189-199.

Al-Bakri, A. G et Afifi, F.U. 2007. Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. J Microbial Methods. Jan; 68(1) P:19-25.

Amrane, H. 2017. Recherche des extraits végétaux à activité Anti-hémolytique

Antoinette, M. 2005. Secrets d'une herboriste. Ed : Davphiu. P: 460-462.

Amrouni, S., Touati¹, M., Hade², Y., Djahoudi³, A. 2014. Effet de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénémase. DOI 10.1007/s10298-014-0842-x

Antoinette, M. 2005. Secrets d'une herboriste. Ed : Davphiu. P: 460-462.

(B)

Balasundram, N., Sundram, K. et Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and

agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry.99, P: 191–203.

Bazylko, A. et Strzelecka, H. 2007. A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia*. 78 P: 391-395.

Belbey, L.2014. Activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis* L., et son in vitro effet sur *Penicillium digitatum*. P : 20.

Bell E, A. 1980. The physiological role(s) of secondary (natural) products. In: The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Secondary plant products. Conn E. E. (Eds.), Academic Press.7.P: 1-20.

Bellakhdar, J. 1997. Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle, Ibs Press. P: 341.

Berrougui, H., Isabelle, M., Cherki, M., Khalil, A. 2006. Dec. *Marrubium vulgare* extract inhibits human-LDL oxidation and enhances HDL-mediated cholesterol efflux in THP-1 macrophage. *Life Sci*. 14.80(2). P: 105-12.

Bouhaddouda, N., Aouadi, S., Labiod, R. 2016. Evaluation of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Methanolic Extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. P: 104-112.

Boukef, M-K. 1986. Médecine Traditionnelle et Pharmacopée Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique. Paris, France.P : 163-164.

Boullard, B. 1997. Dictionnaire plante et champignons. Ed. Estem. P : 717.

Bounnemaï, J. L., Dumas, C. 1998. La biologie végétale. Ed : presses Universitaire de France. P: 18.

Bourgaud, F.2013. Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; Exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, Unité Mixte de Recherche 1121 Université de Lorraine-INRA, Nancy-Colmar), Fondateur de la société Plant Advanced Technologies, Nancy. P : 1-5.

Bourkhiss M, Hnach M, Lakhlifi T, Boughdad A, Farah A, Satrani, B. 2011. Effet de l'Age et du Stade Végétatif sur la Teneur et la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Thuya de Berbere. Les technologies de laboratoire. 6(23), P : 64-68.

Bourmita, Y., Belboukhari, N., Cheriti, A., Ould, J. M. D.2013. Recherche Préliminaire Des Sources Végétales Sahariennes A Alcaloïdes Pour Usage Bio-Insecticides. 3, (1), P: 98-102.

Bousbia, N; Abert, M; Ferhat, M; Petitcolas, E; Meklati, B et Chemat, F.2009. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity .Food Chemistry, 114, P: 355–362.

Boutekdjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R et Bessière, J.M. 1998 The essential oils from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria, J. Essent. Oil Res. 10, P: 680-682.

Boutekdjiret C., Bentahar F., Belabbes R., et Bessière J.M.2003. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. Flavour Fragr. J. 18, P : 481–484.

Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Ed, Tec&Doc, paris. P : 487-488.

Bruneton, J. 2008. Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. P : 198-260.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food and Microbiology. 94. P: 223-253.

(C)

Caccioni ,D.R.L. & Guizardi ,M. 1994. Inhibition of germination of fruit and postharvest pathogenic fungi by essential oil components. J. Essent. Oil Res. 6. P : 173-179.

Cardenas,J. 2017. Plants Médicinales.

Catier, O., Roux, D. 2007. Botanique Pharmacognosie Phytothérapie ,3ème édition, Wolters Kluwer. p: 74.

Chafai, E. A., Boukil, A., Bachar, M., Driss, L., Guermal, A., Aafi, A. 2014. Manuel Des Bonnes Pratiques De Collecte Du Romarin « Rosmarinus Officinalis ». Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification Avenue Omar Ibn Al-Khattab. P : 763.

Chaieb, M, Boukhriss, M. 1998. Flore suscinte et illustrée des zones arides et sahariennes de Tunisie. Association de la Protection de la Nature et de l'Environnement, l'Or du Temps (Ed.), Sfax, Tunisia. P : 42.

Charnay, P., Tourmeau, J. 2006. Le Petit Futé Guide pratique de la Dégustation, Éditeur Nouvelles Editions de l'Université. P : 203.

Chira, K., Such, J., Saucier, C., Teissède, L. 2008. Les polyphénols du raisin. Ed : Springer. 6, P: 75-82.

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., Vlietinck, A. J. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. J. Ethnopharmacology. 79. P: 213-220.

Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12. P: 564-582.

Claude, M. H., Bruno, S., Pierrette, R & Annette, H. 2000. Role Des Produits Secondaires (Tannins Et Alcaloïdes) Des Espèces Forestières De L'est De Madagascar Face Aux Populations Animales. Diversity and Endemism in Madagascar. P: 105-114.

Clifford, M.N. 1999. Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida. 41 (5) P: 393-397.

Crozier, A. 2003. Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*". Ed. Goldberg. P: 27- 48.

(D)

D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C. et Masella, R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità*. 43(4), P:348-361.

Derbel, S., Ghedire, K. 2005. Les phytonutriments et leur impact sur la santé, *Phytothérapie*. 1, P:28-34.

Derwich, E., Benziane, Z. & Taouil, R., 2010. GC/MS analysis of volatile compounds of the essential oil of the leaves of *Mentha pulegium* growing in Morocco. *Chem. Bull. "POLITEHNICA" Univ. (Timisoara)*. 55 (69). P: 103-106.

Dinda, B., Debnath, S., Mohanta, B. C., Harigaya, Y. 2010. Naturally occurring triterpenoid saponins. *Chemistry and Biodiversity*. 7. P: 2327–581.

Djeddi, S.; Bouchenah, N.; Settar, I et Skaltsa, H. D. 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4), P: 547-913.

Druzyńska, B., Stepnińska, A. et Wolosiak, R. 2007. The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 6, P: 27-36.

(E)

El Ouali, L.A., El-Akhal, F., Ouedrhiri, W., Ouazzani, C. F., Guemmouh, R., Greche, H. 2013. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioidis* 8, 31, P : 33.

El Raffari, L. 2008. Catalogue des plantes potentielles pour la conception des tisanes, Financé par : bioersity et IFAD. P: 108-110.

(F)

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008); Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies. 331 P: 372-379

Franchomme, P. 1999. L'aromathérapie, thérapeutique de pointe en médecine naturelle au médicament. Observatoire du mode des plantes Sat-Tilman. 24 (9), P: 11-14.

(G)

Garnier, G., Bezanger-Beauquesne, L., Debraux, G. 1961. Ressources médicinales de la flore française. Tome II. Paris : Vigot Frères, P : 1512.

Gilly, G. 2005. Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse. Ed : le harmattan. P : 289-296.

Guignard, J.L. 2000. Les composés aromatiques In : Biochimie végétal. Ed: Dunod. P:161-217.

(H)

Hamadache, N.2011. Criblages des extraits phenoliques d'origine végétal le dosage d'activité antimicrobienne : recherche des inhibité en naturelle des β β -l la catalases.

Harborne, J. 1988. Introduction to ecological biochemistry. Edition New york: Academic press 3eme edition. P: 384.

Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A.R., Faleiro, M.L., and Miguel, M.G. 2009. Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. Food. Chem., 116, P: 714 – 721.

He, Z., Xia, W. et Chen, J. 2008. Isolation and structure elucidation of phénoliques compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology*. 226, P: 1191-1196.

Hellen, K. S., Monika, P. T., Julio, A. Z., Valdir, C. F., Valfredo, S. 2006. Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*, *Journal of Ethnopharmacology* .108. P: 379–384.

Herrera-Arellano, A. A. L., Aguilar-Santamaria, B., Garcia-Hernandez, P., Nicasio-Torresa, J., Tortoriello. 2004. Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics, *Phytomedicine*, 11. P: 561–566.

Hill, A.F. 1952. *Economic Botany. A textbook of useful plants and plant products*. 2nd edn. McGraw-Hill Book Company Inc, New York. P: 560.

Hill, R.S., Making, H.L.J.m., Kirk, D. N.M., Murphy, G.M. 1991. *Dictionary of steroids-chemical data-structures and bibliographies*, London, Chapman & Hall. P: 127-153.

Hopkins, W.G. 2003. Assimilation du carbone et productivité. Dans: *Physiologie végétale*. Traduction de la 2ème édition américaine par Serge Rambour. Editions De Boeck université, P: 515.

Hostettmann, K., Marston A. 1995. *Saponins*. Cambridge : Cambridge University Press. P: 564.

Hostettmann, K., Potteray, O. and Wolfender, J. L. 1998. The potential of higher plants as a source of new drugs. *Chimie*, 52, 10-17.

(I)

Iburg, A. 2006. *Le petites encyclos des plantes médicinales*. Ed: Grund. P: 18.

Issançalis., Mohamed, H., Taha, K., Peter, R. 1992. Phenylpropanoïd glycosides from *Marrubium alysson*, *Phytochemistry*. 31, (10) P: 3624 -3626.

(J)

Justin, T. F., 2017. Identification of Terpenoid Chemotypes Among High (-)-trans- Δ Tetrahydrocannabinol-Producing *Cannabis sativa* L. Cultivars. 2(1) P: 34–47.

(K)

Kalemba, D., & Kunicka, A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10. P: 813-829.

Kasmi, H. 2016. Extraction et dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits des plantes : *Marrubium vulgare*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* et *Salvia officinalis*

Kimbaris, A.C., Siatis, N.G., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A., Pappas, C.S., Polissiou, M.G. 2006. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem*. 13. P: 54-60.

Kinghorn, A. D., Balandrin, M. F. 1993. Human medicinal agents from plants. (Eds.) Washington: ACS Symposium Series 534.

Kintzios, S.E. 2002. origano :the genera oiganum and lippia (medicinal and aromatic plants _Industrial profiles) _Taylor & Francis. P: 296.

(L)

Lamiri, A., Lhaloui, S., Benjilali, B. & Berrada, M., 2001. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola Destructor* (Say). *Field Crops Res.*, 71. P : 9-15.

Le Floch, E. 1983. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (Ed.), Imprimerie Officielle de la République Tunisienne. P : 402.

Linden et Lorient, D. 1994. Pigments et aromes .In : Biochimie agro-industrielle valorisation alimentaire de la production agricole. Ed : Masson. P: 338-340.

Lugasi, A., Hovari, J., Sagi K.V. and Biro, L. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biol. Szegediediensis*. 47, 119-124.

(M)

Madi,A. 2010. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques.

Mann, J., Davidson, R.S., Hobbs, J.B.,Banthorpe, D.V., Harborne,J.B. 1994. Produits naturels: leur chimie et leur signification biologique. Print book : English: 1st ed. P : 528.

Martin, S. et Andriantsitohaina, R. 2002. Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angiologie*. 51. P: 304-315.

Matkowski, A., Piotrowska, M. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. 77(5). P: 346-53.

Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Lamine, S.B., Boukhchina, S. & Khouja, M.L. 2010. Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp *glandulosum* (Desf.) letsvaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agr*. 90 P: 1745-1749.

Menat, E. 2006. Les polyphénols de thé, du vin et du cacao, *Phytothérapie*, 1. P : 540-545.

Mergham, R. 2009.Eléments de biochimie vegetale,Bahaeddine, Editions,Algérie .P : 85

Micol, V., Caturia, N., Perez-Fons, L., Mas, V., Perez ,L. et Estepa ,A. 2005. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia Rhadovirus (VHSV). *Antiviral Research*. 66, P : 129-136.

Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P. et Surbel, D. 1996. Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». Ed INRA.P: 31-35.

Morreel K, Goeminne G, Storme V, Sterck L, Ralph J, Coppieters W, Breyne P, Steenackers M, Georges M, Messens E, Boerjan W. 2006. Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in *Populus*: a case study. *Plant J.* 47. P: 224-37.

Mpondo Mpondo, E., Dibong, S.D, Ladoh, Y.C.F., Priso, R.J., Ngoye, A. 2012. Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala. *Journal of Animal & Plant Sciences.* 15. P: 2083-2098.

Muchuweti, M., Kativu, E., Mupure, C. H., Chidewe, C., Ndhala, A. R. et Benhura, M. A. N. 2007. Phenolic composition and antioxidant properties of some species. *American journal of food technology.* 2 (5) P : 414-420.

Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N. & Ignacimuthu, S. 2006 . Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine.* 2. P: 43.

(N)

Nenadis, N., Nenadis, M. 2002. Observation on Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using Rapid 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) Tests. *Journal of the American Oil and Chemistry.* 79 (12). P: 1191-1194.

Novak, L.; Buzas, G.; Minker, E.; Kolfai, M. et Szendrei, K. 1966. *Planta med.* 14,P: 57.

(O)

O.M.S, 2002. Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.

(P)

Pare, P.W et Tumlinson, J.K. 1997 . Denovo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants . *Plant physiol.* 114. P: 1161-1167.

Paris, M., Hurabeillen, M. 1981. *Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie.* Ed:

Masson. P: 210-215.

Paster, N., Juven, B. J., Shaaya, E. Menasherov, M., Nitzan, R., Weisslowicz, H., Ravid, U. 1990. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on molds and foodborne bacteria. Lett. Appl. Microbiol., 11. P: 33-37.

Pathak, M. A., Farrington, D. J. and Fitzpatrick, T. B. 1962. The presently known distribution of furocoumarins (psoralens) in plants. Journal of investigative Dermatology. 39 P: 225-299.

Podsdek, A.2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. LWT. 40 P: 1-11.

Popovici , C., Saykova , I.,Tylkowski, B.2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, (4), P : 25-39.

(Q)

Quezel, F. et Santa. S. 1962-1963. Nouvelle Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Ed.CNRS, Paris France.1-2, P : 801-802.

(R)

Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. 2003. Biologie végétale. P32, 527
Regnault-Roger, C., Philogene, B.J.R.; Vincent, CH. 2008. Biopesticides d'origine végétale. Ed.Lavoisier,p 259, 280.

Richter, G. 1993. Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. p: 317-339.

Rigano, D., Arnold N.A, Bruno M., Formisano C., Grassia A., Piacente S., Piozzi F., Senatore, F. 2006. Phenolic compounds of Marrubium globosum ssp.libanoticum from Lebanon Biochem. Syst. Ecol., 34. P: 256-258.

Rösch, D., Krumbein, A. and Kroh, L.W. 2004. Antioxidant gallic catechins, dimeric and trimeric proanthocyanidins from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) pomace. *European Food Research and Technology*, 219(6). P: 605-613.

Rosenthal, G.A et Berenbaunu, R.1991. *Herbivores: their interactions with secondary metabolites*.vol.1.the chemical participants. Cité in raver p.H.I. P:165-219.

(S)

Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J. & Reglero, G. 2005. Chemical composition and activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*. 68. P: 790-795.

Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. 2006. *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed Tec et Doc Lavoisier. P: 02-11.

Silva S., Gomes L., Leitao F., Bronse M., Caelho A.V. et Boas V. 2010. Secoiridoids in olive seed: characterization of nüzhenide and 11-methyl oleosides by liquid chromatography with diode array and mass spectrometry. *Grassasy Aceites*. 61(02) P: 157-164.

Staub, H., Bayer, L. 2013. *Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues*. Paris : Grancher. P : 685.

(T)

Takeuchi, H., Lu, Z. G. et Fujita, T. 2004. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry*. 68, P: 1113-1134.

(V)

VanderJagt, T.J. R., Ghattas, D.J., VanderJagt, M., Crossey, R.H. & Glew. 2002. Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico, *Life Sciences*, 70. P: 1035–1040.

(W)

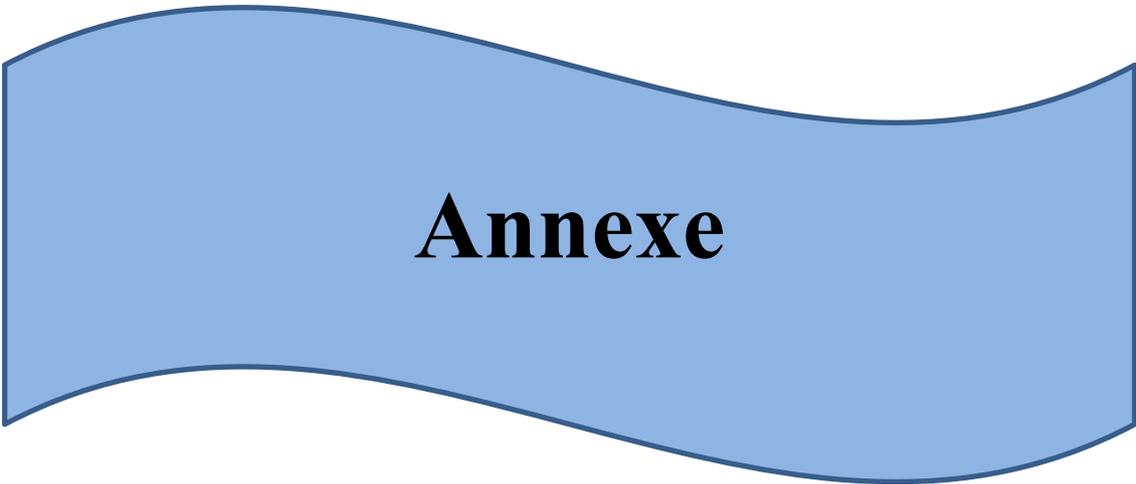
William, G. H. 2003. *Physiologie végétale*, Éditeur, De Boeck Supérieur. P: 282.

(Z)

Zeghad, N. 2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en biotechnologie végétale. Université Mentouri Constantine. P: 84

Zobel, A. M. and Brown, S. A. 1990. Dermatitis-inducing furanocoumarins on leaf surfaces of eight species of Rutaceous and Umbelliferous plants. *Journal of Chemical Ecology* 16, 3 P:693-700.

Zouari, N., Fakhfakh, N., Zouari, S., Bougatef, A., Neffati, M., Ayadi, M.A. 2011. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae). *Food Bioprod Process.*, 89. P: 257-265.



Annexe

Annexe 01. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

