



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université de Ziane Achour de Djelfa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des sciences agronomiques et des sciences vétérinaires

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : agroalimentaire et contrôle de qualité

Thème :

**Activité antioxydante des extraits de
quelques plantes de la famille des
lamiacées**

Présenté et soutenu par : Habita Dahmane

Chergui Adel

Encadreur : Azzouz Mohamed

Jury d'évaluation :

Président du jury : DAHIA M.

Examineur : GOUGUE F.

Examineur : BENABDERRAHMANE A.

***Année universitaire
2020 – 2021***

Remerciements

J'exprime tout d'abord, mes profonds remerciements et louanges à Allah tout puissant, qui m'a guidé sur le droit chemin et m'a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

*En second lieu, la première personne que nous tenons à remercier est notre encadreur Monsieur **Azzouz Mohamed** pour ses orientations, sa confiance, sa patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené à bon port. Qu'elle trouve dans ce travail notre profonde gratitude et un hommage vivant à sa haute personnalité.*

*J'adresse mes remerciements les plus sincères à Monsieur **DAHIA M**, d'avoir accepté d'honorer la présidence du jury.*

*Un grand remerciement à **GOUGUE F**, de m'avoir honoré de sa présence et d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*J'exprime toute ma gratitude à **BENABDERRAHMANE A**, de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail.*

Dédicace

Je dédie ce travail à :

À mes chers parents qui m'ont donné la possibilité de poursuivre mes études, pour l'espoir qu'ils me donnent, pour leurs conseils, leur guide affectueux dans la vie et leur soutien et encouragements durant mes années d'études, et j'espère que je puisse leur rendre le minimum de bonheur qu'ils m'ont offert, et que Allah les protège et les garde à mes côtés ;

À mon frère et ma sœur

À mes collègues et mes amis

Chergui Adel

Dédicace

A mes parents,

A mes frères

A mes sœurs

A mes amis

A tous qui me connaissent de près ou de loin.

Habita Dahmane

الملخص

تعتبر عائلة *lamiaceés* واحدة من أكثر العائلات تطوراً، وتضم مجموعة واسعة من النباتات العطرية والطبية، وهي تقدم خصائص نموذجية يسهل التعرف عليها لعالم نبات مبتدى: نبات عشبي، وساق رباعي الزوايا، وكورولا في شكل شفة. في شجرة النشوء والتطور، تم العثور على *lamiacées* على مستوى كاسيات البذور، ثنائية الفلقة وهي جزء من الترتيب *lamial*. *Lamiacées* هي في الغالب نباتات البحر الأبيض المتوسط. إن وجود الزيوت الأساسية والمركبات الفينولية المميزة في هذه العائلة وتعطي الخصائص البيولوجية مثل القدرة المثبطة للكائنات الحية الدقيقة وقدرات مضادات الأكسدة، فهي موجودة في أجزاء مختلفة من النبات.

هناك طرق عديدة لاستخراج هذه المستخلصات ومن بين هذه الطرق التقطير المائي للحصول على المستخلصات من الزيوت والتسريب والنقع لاستخراج المركبات الفينولية وكذلك العديد من الطرق لتحديد مكوناتها (*GC-MS* و *HPLC*) والعديد من الاختبارات لدراسة نشاطها المضاد للأكسدة، على سبيل المثال اختبار *DPPH* الأكثر شهرة والأكثر استخداماً.

في هذا العمل اخترنا نوعين من هذه الفصيلة (*Mentha rotundifolia L. Lavandula stoechas L*).

تم تحديد نشاط مضادات الأكسدة من خلال الدراسات السابقة للباحثين. من هذه النتائج لاحظنا وجود اختلاف في النشاط المضاد للأكسدة من نبات إلى آخر، ويعود ذلك إلى عدة عوامل منها نوع النبات وكميات المستخلصات التي يحتوي عليها وطريقة استخلاص هذه المستخلصات ونوع الاختبار المستخدم.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، المركبات الفينولية؛ *DPPH*. *Lamiacées*. أنشطة بيولوجية؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ *GC-MS* و *HPLC*؛ *Mentha rotundifolia L. Lavandula stoechas L*

Résumé

La famille des lamiacées considérée comme l'une des familles les plus évoluées, englobe une grande variété de plantes aromatiques et médicinales, elle présente des caractères typiques très facile à reconnaître pour un botaniste débutant : plante herbacée, tige quadrangulaire et la corolle à une forme de lèvre. Dans l'arbre phylogénétique les lamiacées se situent au niveau de l'angiosperme, dicotylédone et font partie de l'ordre lamiale. Les lamiacées sont surtout des plantes méditerranéennes. La présence des huiles essentielles et des composés phénoliques caractéristique dans cette famille et donne les propriétés biologiques tel que le pouvoir inhibiteur des microorganismes et des capacités antioxydantes, elles se trouvent dans différentes parties de la plante.

Il existe de nombreuses méthodes d'extraire ces extraits parmi ces méthodes il y'a l'hydrodistillation pour obtenir les extraits des huiles et l'infusion et la macération pour extraire les composés phénoliques et ainsi que de nombreuses méthodes pour identifier leurs composants (GC-MS et HPLC) et plusieurs tests pour étudier leur activité antioxydante par exemple le Test DPPH qui est le plus connu et le plus utilisable.

Dans ce travail nous avons choisi deux espèces de cette famille (*Mentha rotundifolia* L. *Lavandula stoechas* L.).

La détermination de l'activité antioxydante a été fait par des études précédentes des chercheurs. D'après ces résultats nous avons remarqué une différence dans l'activité antioxydante d'une plante à l'autre, et cela est dû à plusieurs facteurs, notamment le type de plante, les quantités d'extraits qu'elle contient, la méthode d'extraction de ces extraits et le type de test utilisé.

Mots clés : huiles essentielles, composés phénoliques ; DPPH ; Lamiacées ; activités biologiques ; activité antioxydante ; GC-MS et HPLC ; *Mentha rotundifolia* L. *Lavandula stoechas* L).

Abstract

The lamiaceae family considered as one of the most evolved families, encompasses a wide variety of aromatic and medicinal plants, it presents typical characters very easy to recognize for a novice botanist: herbaceous plant, quadrangular stem and the corolla in a shape lip. In the phylogenetic tree, lamiaceae are found at the level of the angiosperm, dicotyledonous and are part of the lamial order. Lamiaceae are mostly Mediterranean plants. The presence of essential oils and phenolic compounds characteristic in this family and gives the biological properties such as the inhibiting power of microorganisms and antioxidant capacities, they are found in different parts of the plant.

There are many methods of extracting these extracts among these methods there are hydrodistillation to obtain the extracts from the oils and the infusion and maceration to extract the phenolic compounds and as well as many methods to identify their components (GC -MS and HPLC) and several tests to study their antioxidant activity, for example the DPPH test which is the best known and the most usable.

In this work we have chosen two species of this family (*Mentha rotundifolia L.* *Lavandula stoechas L.*). The determination of antioxidant activity has been made by previous studies of researchers. From these results we noticed a difference in antioxidant activity from one plant to another, and this is due to several factors, including the type of plant, the amounts of extracts it contains, the method extraction of these extracts and the type of test used.

Keywords: essential oils, phenolic compounds; DPPH; Lamiaceae; biological activities; antioxidant activity; GC-MS and HPLC; *Mentha rotundifolia L.* *Lavandula stoechas L.*

Table des matières

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 2

Chapitre 1 : généralité sur la famille des lamiacées

1.1. Historique 5

1.2. Description et caractéristiques botaniques de la famille des Lamiacées..... 5

2.1. Appareil végétatif 6

2.2. Appareil reproducteur..... 7

1.3. Variations et principales espèces..... 8

1.4. Classification des lamiacées 10

1.5. Distribution géographiques des lamiacées 11

1.6. Utilisation 12

1.7. Généralités sur Quelques Principaux genres de Lamiacée..... 12

1.7.1. Le genre Lavandula 12

1.7.2. Le genre Mentha..... 13

1.7.3. Le genre Salvia 15

1.7.4. Le genre Satureja 16

1.7.5. Le genre Rosmarinus 17

1.7.6. Le genre Melissa 18

1.7.7. Le genre Ajuga	20
1.7.8. Le genre Thymus	20
1.7.9. Le genre Origanum	26

Chapitre 2 : Activité antioxydante

2. Activité antioxydante	25
2.1. Définition	25
2.2. Radicaux libres et stress oxydatif	25
2.2.1 Production des radicaux libres	26
2.2.1.1 Production endogène	26
2.2.1.2 Production exogène	28
2.2.2. Conséquences du stress oxydant	29
2.3. Les Antioxydants	30
2.3.1. Classification	30
2.3.1.1. Les antioxydants naturels	30
2.3.1.1.1 Les antioxydants endogènes (enzymatiques)	30
2.3.1.1.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)	31
2.3.1.2. Les antioxydants synthétiques	32
2.4. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant	33
2.5. Mécanismes d'action des antioxydants	34
2.6. Evaluation in vitro de l'activité antioxydante	34
2.6.1. Méthodes de piégeage des radicaux libres oxygénés	35

2.6.1.1. Piégeage du radical peroxyde (ROO●)	35
2.6.1.2. Piégeage du radical superoxyde (O ₂ · ⁻)	35
2.6.1.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂ scavenging activity)	36
2.6.1.4 Analyse de la capacité de piégeage du radical hydroxyle (HO●)	36
2.6.1.5. Analyse de la capacité de piégeage d'acide hypochloreux (HOCl)	36
2.6.1.6. Analyse de la capacité de piégeage de l'oxygène singulet (1O ₂)	37
2.6.1.7. Analyse de la capacité du piégeage d'oxyde nitrique (NON●)	37
2.6.2. Méthodes de piégeage des radicaux stables et évaluation de leur capacité de réduction	37
2.6.2.1. Piégeage du radical 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH●)	37
2.6.2.2. Puissance antioxydante de réduction du fer (analyse FRAP)	38
2.6.2.3. Chélation du fer ferreux	38
2.6.2.4. Activité antioxydant par le test ABTS. +	38
2.6.2.5. Test de réduction du cuivre (CUPRAC)	39
2.6.2.6. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène (β carotene bleaching method)	39

Chapitre 3 : les métabolismes secondaires

3. Les métabolismes secondaires	41
3.1. Définition	41
3.2. Les alcaloïdes	41
3.3. Polyphénols (Composés Phénoliques)	42

3.3.1. Localisation dans la plante et	42
3.3.2. Classification des Polyphénols	43
3.3.2.1. Les acides phénoliques	43
3.3.2.1.1. Les acides hydroxybenzoïques	43
3.3.2.2. Acides hydroxycinnamiques	44
3.3.2.3. Les anthocyanidines	44
3.3.2.4. Les coumarines	44
3.3.2.5. Les flavonoïdes	45
3.3.2.6. Tannins	45
3.3.3. Extraction des composés phénoliques	46
3.3.3.1. L'infusion	46
3.3.3.2. La macération	46
3.3.3.3. La décoction	46
3.3.3.4. Le soxhlet	46
3.3.4. Activité antioxydante des polyphénols	47
3.3.4.1. Chélation des ions métalliques	47
3.3.4.2. Effet scavenger (Piégeage des espèces réactives de l'oxygène)	48
3.3.4.3. Inhibition enzymatique	49
3.4.4. Induction de synthèse des enzymes antioxydantes	49
3.4. Les huiles essentielles	50
3.4.1. Définition	50
3.4.2. Localisation dans la plante	50

3.4.3. Composition chimique des huiles essentielles	50
3.4.3.1. Les terpènes	51
a. Les monoterpènes	51
b. Les sesquiterpènes	52
3.4.3.2. Les composés aromatiques	52
3.4.3.3. Composés d'origines diverses	53
3.4.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	53
3.4.4.1. Extraction par hydro distillation de l'huile essentielle	53
3.4.4.2. Expression a froids	54
3.4.4.3. Entraînement à la vapeur	54
3.4.4.4. Extraction par les solvants organiques	54
3.4.5. Méthodes d'analyse des extraits de plantes	55
3.4.5.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)	55
3.4.5.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	55
3.4.6. Activité antioxydante des huiles.....	56

Chapitre 4 : déterminations de l'activité antioxydante de quelques plantes

4. déterminations de l'activité antioxydante de quelques plantes.....	58
4.1. Etude faite par (FERDJIOUI S, 2014) Espèce : <i>Mentha rotundifolia</i>	58
4.1.1. Effet piègeur du radical DPPH'	58
4.1.2. Effet chélateur du fer ferreux	60

4.1.3. Le pouvoir réducteur du fer ferrique.....	62
4.2. Etude faite par (Abbou H et Benabida W, 2017) Espèce : <i>Lavandula stoechas</i>	
.....	65
Conclusion	70
Références bibliographiques	72

Liste des abréviations

ERO : espèces réactives de l'oxygène

ERN : espèces réactives de l'azote

EAq : extrait aqueux ;

IC₅₀ : concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition ;

HE : huile essentielle ;

BHT : Butylhydroxytoluène ;

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ABTS: 2,2'-azinobis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

FRAP: Ferric Reducting Antioxidant Power

Abs : Absorbance

H₂O₂ : Le peroxyde hydrogène

NO• : Le monoxyde d'azote

GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

AFNOR : association française de normalisation

MeOH : Methanol

R : Rendement

CCM : Chromatographie sur couche mince

V : Volume.

BHA : Butylhydroxyanisole.

BHT : Butylhydroxytoluène.

O₂· : Radical superoxyde.

RO₂·: Radical peroxyde

SOD: Superoxyde dismutase.

APG: Angiosperm phylogeny group.

O· : Radical libre d'oxygène.

OH : Hydroxyle.

ROO·: Radical peroxyde

OH·: Radical hydroxyle

°C : Degré celcius

R· : Radical libre.

% : Pourcent et Pourcentage.

> : Supérieur.

± : Plus ou moins.

α: alpha.

Extrait MeOH : Extrait Methanolique

CPG: Chromatographie en phase gazeuse

ISO: International Organisation for Standardization

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

ORAC: Oxygen Radical Antioxidant Capacity

Liste des figures

Figure 01 : A : Germandrée petit-chêne. B : fleur isolée de Germandrée d'Orient	7
Figure 02 : Variation de la corolle bilabée chez les Lamiacées	9
Figure 03 : Sauge des prés, portion d'inflorescence et étamine	9
Figure 04 : Plante de la famille des lamiacées	10
Figure 05 : Carte de répartition géographique de la famille des lamiacées (en rouge)	11
Figure 06 : Aire de la répartition de la menthe par le monde (en vert)	14
Figure 07 : Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde	16
Figure 08 : Aire de distribution du genre <i>Origanum</i>	23
Figure 09 : Formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et nitrogène (ERN)	26
Figure 10 : Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène	28
Figure 11 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène..	29
Figure 12 : Balance radicaux libres /antioxydants	34
Figure 13 : exemple d'alcaloïdes A) alcaloïdes vrais B) pseudo-alcaloïde C) proto-alcaloïde..	42
Figure 14 : Classification des Polyphénols	43
Figure 15 : Exemples de composé à radical hydroxybenzoïques	44
Figure 16 : Structure de base des flavonoïdes	45
Figure 17 : Sites proposés pour la chélation des ions métalliques par les flavonoides	48
Figure 18 : Mécanisme de l'activité scavenger des flavonoides via la fonction catéchol.....	48
Figure 19 : Structure chimique de certains monoterpènes	51
Figure 20 : Structure chimique de certains sesquiterpènes.....	52

Figure 21 : exemples des composés aromatiques	52
Figure 22 : Montage d'extraction par hydrodistillation	53
Figure 23 : courbes tracés en fonction des concentrations croissantes des EMM (a), EMS (b) de l'HE (c) et de BHA (d) et le pourcentage d'inhibition du DPPH*	59
Figure 24 : Activités antiradicalaires des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de <i>Mentha rotundifolia</i> et de BHA manifestées dans le test de DPPH*.....	59
Figure 25 : courbes tracées en fonction des concentrations croissantes d'EMM (a), d'EMS (b), EDTA (c) et des pourcentages de chélation du fer ferreux.	61
Figure 26 : courbes tracés en fonction des concentrations croissantes des EMM (a), EMS (b) de l'HE (c) et de BHA (d) et le pouvoir réducteur	63
Figure 27 : Activité anti-radicalaire au DPPH des HEs de <i>L. stoechas</i> L.	66
Figure 28 : Activité anti-radicalaire au DPPH de standard BHT.	66
Figure 29 : IC ₅₀ en µg/ml des HEs <i>L. stoechas</i> L. et de standard (BHT).	67

Liste des tableaux

Tableau 01 : Position systématique des lamiacées	11
Tableau 02 : Position systématique de Lavandula	13
Tableau 03 : Position systématique de Mentha	14
Tableau 04 : Position systématique de Salvia	15
Tableau 05 : Position systématique de Saturja	17
Tableau 06 : Position systématique de Rosmarinus	18
Tableau 07 : Position systématique de Melissa	19
Tableau 08 : Position systématique de Ajuga	20
Tableau 09 : Position systématique de Thymus	21
Tableau 10 : Position systématique de Origanum	22
Tableau 11 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées..	32
Tableau 12 : les EC ₅₀ des extraits et d'EDTA	61
Tableau 13 : Les EC ₅₀ des extraits et du BHA	63
Tableau 14 : Résultat du test antioxydant exprimant l'IC ₅₀ en µg /ml et AAI	67

Introduction

Introduction Générale

L'histoire des Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales (PPAM) est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples, montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'homme utilise les plantes depuis des milliers d'années, pour traiter divers maux. Le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments (**Lahrech, 2010**). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**O.M.S, 2002**).

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse, généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides, sont suspectés d'avoir des effets néfastes sur la santé du consommateur (**Ames, 1983 ; Wang et al., 2008**). De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants à la plupart des antibiotiques (**Essawi et Srour, 2000**). Suite à cette préoccupation, il semble donc important de trouver une alternative. Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces phénomènes de résistance bactérienne et d'oxydation des aliments. Dans ce but, l'utilisation des plantes représente un potentiel inestimable pour la recherche de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et/ou antioxydant (**Bruneton, 1999**). Ces plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires. Ces métabolites possèdent diverses propriétés biologiques. Les huiles essentielles ou essences, font partie de ce groupe de métabolite avec les alcaloïdes et les phénols (**Haddouchi et al., 2009**). Ces huiles se composent d'un certain nombre de composés de différentes origines biosynthétiques s'étendant des hydrocarbures terpénoïd aux composés de soufre, et de tels composés sont naturellement présents dans différentes concentrations (**Silva et al., 2015**).

Dans ce contexte, la famille des Lamiacées constitue une source très importante de plantes qui ont des effets antibactériens naturels, antioxydants, antifongiques et anti tumoraux, ce qui suggère que ses membres peuvent être viables alternatives aux produits synthétiques dans la thérapie de diverses maladies. Ainsi, les bienfaits prouvés pour la santé représentent la raison principale pour laquelle plusieurs plantes médicinales appartenant à cette famille sont de plus en plus exploités de nos jours, dans diverses formulations. Ces approches ont révélé non seulement des effets thérapeutiques similaires aux molécules chimiques de synthèse, mais aussi elles n'ont pas produit des effets secondaires et peuvent donc être utilisées sur de longues périodes (Cocan *et al.*, 2017).

Ce travail est structuré en quatre chapitres : le premier chapitre est consacré à l'étude botanique de la famille des Lamiacées. Le second chapitre présente une généralité sur l'activité antioxydante. Le troisième chapitre sur les métabolismes secondaires. Le dernier chapitre Comprend la détermination de l'activité antioxydante des extraits pour certaines plantes à travers des études faites par des chercheurs.

***Chapitre 1 : Généralité sur
la famille des lamiacées***

1.1. Historique

La famille des lamiacées (Lamiaceae) est l'une des principales familles des plantes à fleurs connues depuis longtemps à cause des propriétés médicinales, aromatiques ou culinaires des espèces qu'elle renferme, aussi connue sous le nom de famille de la menthe (**Pan et al., 2017**). La dénomination de Lamiaceae provient du genre *Lamium* et correspond au nom latin des lamiées, cette famille fut également connue sous le nom des labiées, du latin *Labium* signifiant lèvre, en référence à la forme caractéristique de ses fleurs (**Senejoux, 2011**).

Elle a été initialement décrite et nommée par Jussieu 1789 (**Brahmi et al., 2017**).

Les Lamiacées comprennent 6500 espèces dont l'aire de dispersion est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes : Thym, Lavande, Romarin caractérisent la flore des garrigues. Les Lamiacées sont rares, par contre, dans les régions arctiques et en haute montagne.

C'est une famille très homogène : une Lamiacée est facile à reconnaître. (**Dupont et Guignard, 2012**).

La famille des Lamiacées contient une très large gamme de composés comme les terpénoïdes, les iridoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les huiles essentielles et plus précisément les courtes chaînes des terpénoïdes qui sont responsables de l'odeur et la saveur caractéristique des Lamiacées (**Naghbi et al., 2005**).

Près 40 % des espèces de la famille des Lamiaceae sont censés contenir des composés qui possèdent des propriétés aromatiques, la plupart des études se sont concentrées sur leurs composants d'huile essentielle (**Veres, 2007**).

1.2. Description et caractéristiques botaniques de la famille des Lamiacées

La détermination botanique de cette famille est souvent délicate en raison de la variabilité extrême de ses espèces qui peuvent être soit herbacées odorantes, annuelles ou vivaces, soit des sous-arbrisseaux à poils glanduleux aromatiques, très rarement des arbres (**Martin, 2014**) ayant la consistance et la couleur de l'herbe. Elle constitue l'une des plus grandes familles d'angiospermes les plus répandues dans le règne végétal (**Bo et al., 2016**).

2.1. Appareil végétatif

- **Ce sont des herbes à tiges quadrangulaires** (souvent renflées aux noeuds) se multipliant, en une même saison, à l'aide de rejets aériens (stolons) ou rhizomateux ; en climat méditerranéen, ce sont des *chaméphytes* (Figure 01) comme les Thym, Lavandes (la tige, ligneuse et vivace, est alors arrondie en raison du fonctionnement répété des assises génératrices secondaires, circulaires). En régions tropicales, on rencontre des arbustes chez les genres *Clerodendron* et *Orthosiphon* et quelques arbres comme des *Vitex* et le Teck, typique des forêts tropicales de mousson d'Asie. **(Dupont et Guignard, 2012)**
- **Les feuilles sont simples et toujours opposées.** Elles sont, chez les espèces vivant dans les endroits secs, coriaces et présentent des adaptations leurs permettant de réduire leur transpiration (feuilles velues à limbe enroulé par-dessous ; stomates enfoncés). **(Dupont et Guignard, 2012)**
- **Ce sont des plantes à essence** dont l'odeur se dégage par simple attouchement : en effet, la localisation des huiles essentielles est très externe ; elles se forment dans des poils à essence et se localisent sous la cuticule qui se soulève **(Dupont et Guignard, 2012)**



Figure 01 : **A** : Germandrée petit-chêne. **B** : fleur isolée de Germandrée d'Orient ; *ét*, 4 étamines ; *st*, stigmate. On notera ici que les deux pétales supérieurs (*ps*) sont réduits et ne forment pas de lèvre supérieure mais descendent. (Frans A. S., et Richard S. C. 1988)

2.2. Appareil reproducteur

Les inflorescences

Les inflorescences, situées à l'aisselle des feuilles supérieures, sont du type de la cyme : d'abord bipares, puis unipares par manque de place. Elles sont fréquemment condensées en glomérules et, souvent, simulent autour de la tige un verticille de fleurs (et, si les entre-nœuds sont très courts et les feuilles réduites à des bractées, un capitule : Menthes) (Dupont et Guignard, 2012)

La fleur

Les fleurs : typiquement zygomorphes à deux lèvre (rarement à une), parfois à symétrie radiaire, hermaphrodites ou males-stériles (Martin 2014 ; kokkini *et al.*, 2003)

- *La corolle est typiquement bilabée*, d'où le nom de Labiées donné par les premiers botanistes : une lèvre est formée des deux pétales supérieurs, l'autre des trois pétales inférieurs.

- *L'androcée* possède quatre étamines rarement réduites à deux insérées sur le tube de la corolle (**Kokkini et al., 2003**) mais on trouve chez quelques rares *Lamiacées* tropicales une cinquième étamine (la supérieure) et, quelques genres dont les Sauges, le Romarin, n'ont plus que deux étamines. (**Dupont et Guignard, 2012**)
- *Le gynécée* comporte, disposés sur un disque nectarifère toujours présent, deux carpelles soudés qui se divisent chacun par une *fausse cloison* en deux demi-loges, chacune contenant un ovule. Le style unique qui semble partir de la base est dit *gynobasique*. Chez quelques espèces tropicales primitives, le style est encore terminal ; il est intermédiaire chez la Bugle. (**Dupont et Guignard, 2012**)

Le fruit

Le fruit : est un tétrakène (forment de quatre nucules) (**Martin, 2014**), chaque demi carpelle donnant naissance à un akène élémentaire. (**Martin, 2014 ; Dupont et Guignard, 2012**)

1.3. Variations et principales espèces

Cette famille étant très homogène, les variantes sont peu nombreuses.

Nous noterons d'abord des variations assez secondaires de la forme du calice et de la corolle. (**Dupont et Guignard, 2012**)

- Le *calice*, formant généralement un tube régulier, peut être bilabié (Sauge, Romarin) ou présenter des dents supplémentaires (six à dix chez la Ballote). (**Dupont et Guignard, 2012**)
- La *corolle* (Figure 02), presque régulière chez les Menthes, peut voir la lèvre supérieure se réduire considérablement (Bugle). (**Dupont et Guignard, 2012**)
- Plus intéressantes sont les particularités des étamines chez quelques espèces comme les Sauges, les Romarins. (**Dupont et Guignard, 2012**)

Les *Lamiacées* sont, en effet, des plantes très entomophiles (les miels de Lavande, de Romarin, sont réputés). *Cette entomophilie se traduit dans certains cas, par des dispositifs remarquables.* Par exemple, chez les Sauges (où il n'y a que deux étamines fertiles), le connectif séparant les deux loges s'allonge en forme de balancier (Figure 03). Une des loges devient stérile, la tête de l'insecte butte sur cette dernière et rabat ainsi la loge fertile sur son dos.

De nombreuses *Lamiacées* seront rencontrées en herborisation, Lamier blanc.

Lierre terrestre, Bugle, Ballote fétide, Origan, Serpolet, Saug des prés...

Beaucoup de *Lamiacées* sont utilisées en Pharmacie et en parfumerie pour leurs essences : Lavande, Menthe, Saug officinale, Mélisse...

Quantités d'aromates appartiennent à cette famille : Thym, Romarin, Origan, Marjolaine, Sarriette, Basilic... (Dupont et Guignard, 2012)



Figure 02 : Variation de la corolle bilabée chez les Lamiacées. (Frans A. S., et Richard S. C. 1988)

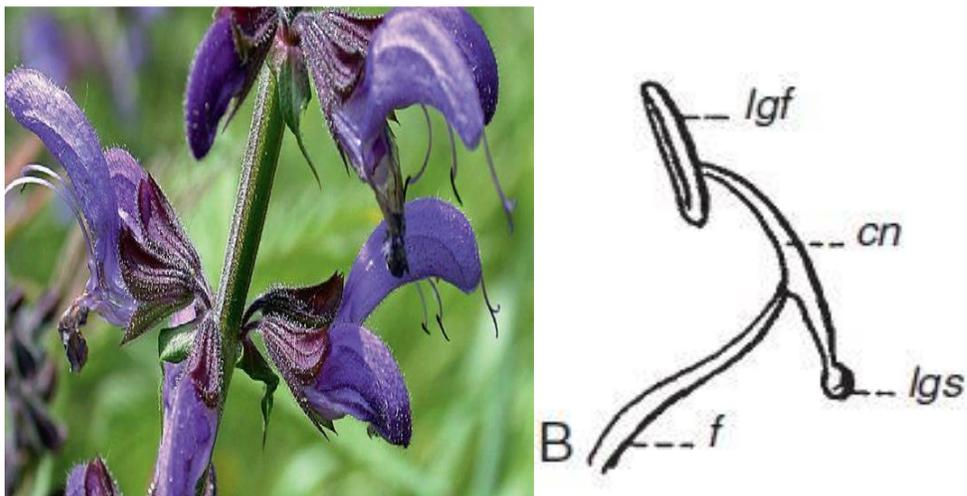


Figure 03 : Saug des prés, portion d'inflorescence et étamine.

lgf : loge fertile. *lgs* : loge stérile. *cn* : connectif. *f* : filet. . (Frans A. S., et Richard S. C. 1988)

Enfin plusieurs sont cultivées, comme les Sauges à fleurs rouges... *Stachys tubrifera* fournit les Crosnes du Japon, utilisés comme légume. Des formes arbustives (Clérodendrons, Orthosiphon [diurétique]) voire arborescentes (Teck, utilisé pour son bois) existent dans les régions tropicales. (Dupont et Guignard, 2012)



Figure 04 : Plante de la famille des lamiacées (**Ducarf, 2014**).

1.4. Classification des lamiacées

La classification de la majorité des sous-familles a été faite par Bentham en 1876 et la révision a été présentée par Briquet en 1895. Cependant, les rapports récents de la biologie moléculaire et le développement de la systématique moléculaire basée sur l'analyse des séquences de gènes, ont bouleversé les classifications usuelles et ont proposé en 1998 une nouvelle classification ordinale des plantes (APG. 1998). Cette classification révisée en 2002 (**APG, 2002**) est montrée dans le tableau 01 :

Tableau 01 : Position systématique des lamiacées selon l'APG II (APG, II ; Bray, 2005)

Embranchement	Spermatophytæ (Plante à graines)
Sous-embranchement	Angiospermae (graines protégées) ou plantes à fleurs
Classe	Dicotylédonae (Eudicots) ou dicotylédone vrai
Sous-classe	Asteropsidae
Groupe	Eustéroideae
Superordre	Lamianeae
Ordre	Lamiale
Famille	Lamiaceae

1.5. Distribution géographique des lamiacées

La famille des lamiacées a une distribution cosmopolite, de régions tempérées à tropicales, mais se trouve principalement dans le bassin méditerranéen (Brahmi *et al.*, 2017). Cependant, elle est absente dans les régions les plus septentrionales, ce sont des plantes des milieux ouverts, avec de rares espèces en forêt tropicale humide (Martin, 2014) (Figure 05).

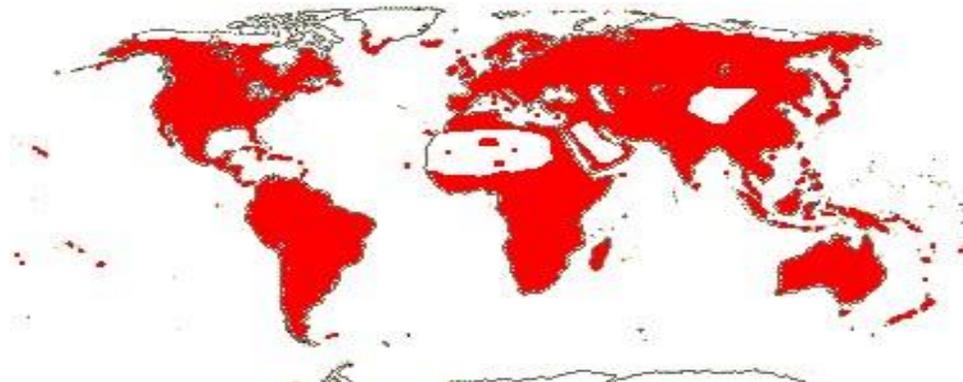


Figure 05 : Carte de répartition géographique de la famille des lamiacées (en rouge) (Zaabat, 2012)

En Algérie, cette Famille comprend 29 genres et 140 espèces se développant aussi bien dans les zones méditerranéennes que sahariennes (**Nouioua, 2012**).

1.6. Utilisation

Il s'agit d'une vaste famille très typiquement du monde végétal et qui possède une importance économique due à la production des nombreux composés phytochimiques. Plusieurs chercheurs ont souligné que les plantes qui appartiennent à la famille des lamiacées sont riches en composants actifs tels que menthone, menthol, acide coumarinique et carvone (**Rameshwar et al. 2012**) et en composés polys phénoliques et un grand nombre d'entre eux sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques, antifongiques, anti-tuberculoses, antitumorales, anticholinestérases, anti-leishmanioses, anti-dépressions, antidiabétiques, antispasmodiques, analgésiques, radioactives...etc. (**Bimakr et al., 2011 ; Rameshwar et al., 2012**).

1.7. Généralités sur Quelques Principaux genres de Lamiacée

1.7.1. Le genre *Lavandula*

Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées (Labiées, qui signifie "labié" en référence à la forme des lèvres des fleurs) (**Benabdelkader, 2012**), ces arbustes sont des plantes mellifères et célèbres pour leurs fleurs en épis blancs, roses, bleus ou violets, elles sont agréablement parfumées de mars à septembre (**Philippe, 1993**). On compte 39 espèces de lavandes, toutes originaires des régions sèches, ensoleillées et rocailleuses du monde (**Saadatian et al., 2013**). Selon (**Quezel et Santa, 1963**) le genre *Lavandula* de la famille des Lamiacées ne regroupe que cinq (5) espèces

Description botanique

Calice tubuleux, strié, denté au sommet, offrant une petite bractée arrondie, placée à sa partie supérieure. Corolle à deux lèvres : la supérieure émarginée ; l'inférieure a trois lobes obtus. Etamines renfermées dans le tube de la corolle. (**Frans A. S. et Richard S. C., 1988**).

La position Systématique est montrée dans le tableau 02 :

Tableau 02 : Position systématique de *Lavandula* selon (Quezel et Santa, 1963) :

Règne	Plantes
Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales (Labiales)
Famille	Lamiaceae ou Labieae
Genre	<i>Lavandula</i>

Répartition géographique

La répartition du genre *Lavandula* est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient), largement distribué dans les Iles canari, Islande et à travers tout le tell méditerranéen, Sud West de l'Asie, Afrique tropicale avec une disjonction vers l'Inde (Quezel et Santa, 1963 ; Upson *et al.*, 2000).

1.7.2. Le genre *Mentha*

Les menthes sont des plantes herbacées, vivaces, très odorantes que l'on trouve particulièrement dans les milieux humides (Brada, 2007). Elles sont susceptibles de se reproduire à partir de rhizomes et par marcottage. Dans leur ensemble, les menthes apprécient des situations fraîches, moyennement éclairées, des sols riches en bases et éléments nutritifs (Boutekedjiret, 1999 in Amri, 2001). Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et en parfumerie (Brada, 2007).

L'huile essentielle des espèces du genre *Mentha* présentes des activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antioxydants (Zarir, 2012). Le genre *Mentha* est représenté par environ 42 espèces (Bahadori *et al.*, 2018) et 13 hybrides (Mamadaliyeva *et al.*, 2017), c'est une plante herbacée vivace, dicotylédone gamopétale, susceptible de se reproduire par des rhizomes, par marcottage ou par bouturage (Sutour, 2010).

Description botanique

Calice cylindrique, à cinq dents presque égales ; corolle un peu plus longue que le calice, à

quatre lobes obtus presque égaux. Fleurs disposées en verticilles, très-serrées, axillaires ou en épis. (Frans A. S. et Richard S. C., 1988)

La position Systématique est montrée dans le tableau 03 :

Tableau 03 : Position systématique de Mentha selon Selon (Quezel et Santa, 1963 ; Guignard et Dupont, 2004)

Règne	Plantes
Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Mentha

Répartition géographique

La culture de cette plante se pratique principalement dans les régions humides, et subtropicales d'Europe et d'Asie, mais aussi en Afrique du Sud, en Australie et aux États-Unis. Elle est aujourd'hui retrouvée partout dans le monde, d'ailleurs elle est parfois considérée très envahissante (Deschamps *et al.*, 2008 ; Cirlini *et al.*, 2016)

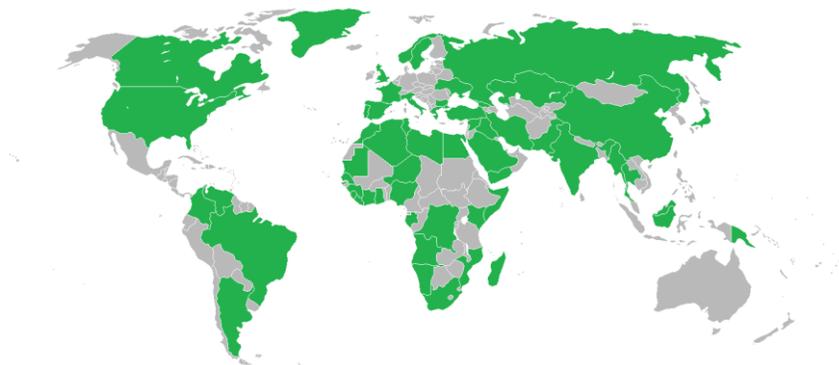


Figure 06 : Aire de la répartition de la menthe par le monde (en vert) (Carlier-Loy, 2015).

1.7.3. Le genre *Salvia*

Le nom *Salvia* est dérivé du latin *salvare* qui signifie « guérir ou être sûr et indemne » en se référant aux propriétés médicales de certaines espèces (**Blumenthal, 2000**). Ce genre englobe environ 900 espèces, répandues dans le monde entier et comprend plusieurs espèces ornementales, culinaires et médicinales parmi eux *Salvia verbenaca* L. (**Kamatou et al., 2008**).

Description botanique

Calice tubuleux, subcampanulé, a quatre ou cinq dents, quelquefois bilabié ; corolle tubuleuse, tube dilaté et comprimé latéralement a sa partie supérieure, plus long que le calice ; lèvre supérieure comprimée, falciforme ; lèvre inférieure à trois lobes inégaux, le moyen plus grand et arrondi ; étamines à filets courts, a anthères, dont les deux loges sont écartées l'une de l'autre par un connectif filamentiforme placé transversalement sur le sommet du filet. (**Frans A. S. et Richard S. C., 1988**).

La position Systématique est montrée dans le tableau 04 :

Tableau 04 : Position systématique de *Salvia* selon (**Judd et al., 2002**)

Royaume	Plantes
Sous royaume	Tracheobiontes
Embranchement	Spermatophytes
Division	Magnoliophytes
Classe	Magnoliopsides
Sous classe	Asteridae
Superordre	Lamianeae
Ordre	Lamiales
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Salvia</i>

Répartition géographique

La répartition du genre est distribuée dans trois régions principales dans le monde : 530 espèces à L'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (Figure 07) (Walker *et al.*, 2004).

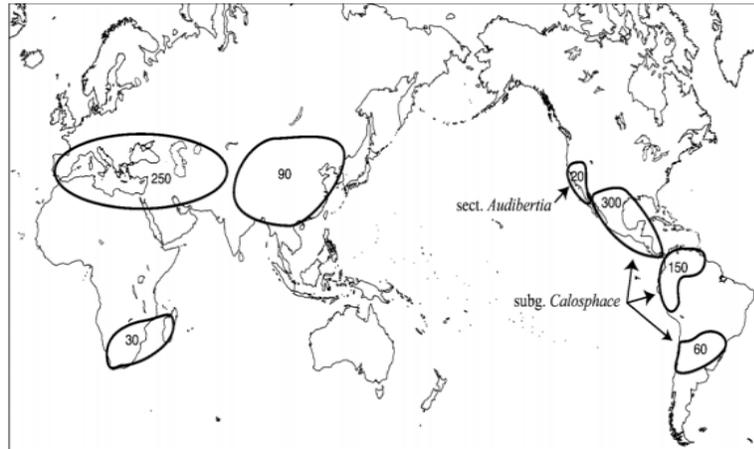


Figure 07 : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (Walker *et al.*, 2004).

1.7.4. Le genre *Satureja*

Le genre *Satureja* constitue environ 200 espèces d'herbes et d'arbustes, souvent aromatiques. Cette herbacée est annuelle sous des climats tempérés mais vivaces dans les régions arides, ensoleillées, pierreuses et rocheuses. Beaucoup de ce genre sont bien connus pour leur caractère aromatique et médicinal. Ce genre est caractérisé par des parties aériennes ayant un goût distinctif et peuvent être ajoutées à plusieurs préparations culinaires ou utilisées en médecine traditionnelle, pour traiter diverses affections (Gulluce *et al.*, 2003). Elle jouit d'une grande faveur populaire en Algérie et au Maroc comme remède contre la toux, l'indigestion et les infections respiratoires bénignes (Padrini F, et Lucheron M. T. 1996). Cette plante expectorante, stomachique, tonique (Baba Aissa F, 2000) possède des propriétés antiseptiques, antispasmodiques et carminatives (Lamendin H, 2007 ; Perrucci S *et al.*, 1994)

Description botanique

Calice tubuleux, strié : corolle presque régulière, tube recourbe de la longueur du calice ; lèvre supérieure redressée, plane, échancrée ; l'inférieure à trois lobes, celui du milieu plus grand, un peu concave et émarginé. (Frans A. S. et Richard S. C., 1988)

La position Systématique est montrée dans le tableau 05 :

Tableau 05 : Position systématique de *Satureja* selon (Morales *et al.*, 2002)

Règne	Plantae (végétal)
Embranchement	Spermaphytes (phanérogames)
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Métachlamydées (gamopétales)
Ordre	Tubiflorales
Sous ordre	Verbéninées
Famille	Lamiaceae (Labiaceae)
Genre	<i>Satureja</i>

Répartition géographique

Il est largement distribué dans la région de la Méditerranée, l'Asie et l'Amérique boréale (Cantino *et al.*, 1992 ; Skocibusic *et al.*, 2006).

Il existe environ 50 espèces du sous genre *calamintha* repartis dans les régions tempérées de l'hémisphère nord, elles sont répandues en Iran et en Europe centrale.

En Algérie Le genre *Satureja* est présent en Algérie avec quatre sous genres ; parmi ces derniers le sous genre *Calamintha* regroupe cinq espèces et trois sous espèces (Quezel et santa, 1963).

1.7.5. Le genre *Rosmarinus*

Rosmarinus en Latin signifie la rosée marine, ce qui fait référence à la fois à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la méditerranée et à diverses légendes liées à cette plante (Boudy, 1948, Favre *et al.*, 1981, Grégory, 1988 in Eloutassi, 2004). Le genre *Rosmarinus* de cette famille

(Lamiacées) ne regroupe que trois espèces (**Bärtels, 1997**) qui sont toutes originaires du bassin méditerranéen : *R. officinalis*, *R. tomentosus* et *R. eriocal*

Le romarin est à la fois une essence aromatique et médicinale, reconnue pour ses vertus antiseptiques, toniques-stimulantes, anti-inflammatoires, cholagogues et antispasmodiques (**Campanili, 1998 ; Flamini *et al.*, 2002 ; Fiorenzuoli, 2000**).

Description botanique

Calice à deux lèvres, la supérieure comprimée, entière, striée, l'inférieure bifide : corolle à tube renflé supérieurement, à peu près de même longueur que le calice ; lèvre supérieure a deux divisions obtuses ; l'inférieure a trois lobes, celui du milieu plus grand, concave, un peu échancrée. Etamines Saillantes, filets subulés ; anthères rapprochées. (**Frans A. S. et Richard S. C., 1988**)

La position Systématique est montrée dans le tableau 06 :

Tableau 06 : Position systématique de *Rosmarinus* selon (**Cronquist, 1981**)

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>

Répartition géographique

Originaire du bassin méditerranéen, le romarin pousse à l'état sauvage dans les îles et les régions côtières (Sud et Centre de l'Italie, Sud de la France, Dalmatie, Sud et Est de l'Espagne, Portugal, Nord du Maroc, Nord de la Tunisie et Grèce), constituant l'une des essences typiques des garrigues (**Scartezzini, 2001**).

1.7.6. Le genre *Melissa*

Melissa est un genre botanique de la famille des lamiaceae. Il regroupe 4 espèces de plantes

aromatiques pérennes. Depuis plus de 2000 ans, les mélisses ont été utilisées comme plantes médicinales, notamment dans les monastères du Moyen Âge. Dont l'étymologie grecque renvoie aux abeilles, sont des plantes herbacées aromatiques et peuvent atteindre une hauteur entre 50 et 90 cm.

Description botanique

Calice tubuleux, bilabié ; lèvre supérieure à trois dents ; l'inférieure à deux dents : corolle à deux lèvres : la supérieure en forme de voûte, échancrée ; l'inférieure à trois lobes inégaux ; celui du milieu émarginé et cordiforme.

Ce genre diffère thym par son calice, dont l'intérieur est nu ; de l'origan, par ses fleurs non accompagnées de bractées, ni réunies en tête. **(Frans A. S., et Richard S. C. 1988).**

La position Systématique est montrée dans le tableau 07 :

Tableau 07 : Position systématique de Melissa selon (Quezel et Santa, 1962-1963)

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Melissa

Répartition géographique

On rencontre la Mélisse à l'état sauvage dans l'Amérique du nord, le sud de l'Europe et en Asie mineure dans des endroits tels qu'un bois, le bord d'une haie, ou un lieu non cultivé et frais **(Wichtl et Anton, 2003).**

1.7.7. Le genre *Ajuga*

Le genre *Ajuga* comprend 40- 50 espèces (**Diafat et al., 2016**). De nombreuses plantes d'*Ajuga* sont utilisées en horticulture comme couverture de sol ou de la frontière, et dans les jardins de rocaille, mais certains sont considérés comme des mauvaises herbes (**Bendif et al., 2017**).

Description botanique

Calice tubuleux, cylindrique, a cinq dents : corolle tubuleuse, renflée supérieurement ; lèvre supérieure presque nulle, formée de deux petites dents ; inférieure a trois lobes, les deux latéraux, ovales, obtue, celui du milieu plus grand et échancré en cœur. Etamines saillantes entre les deux dents, qui constituent la lèvre supérieure. (**Frans A. S., et Richard S. C. 1988**)

La position Systématique est montrée dans le tableau 08 :

Tableau 08 : Position systématique de *Ajuga* selon (**Quezel et Santa, 1962-1963**).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Ajuga</i>

Répartition géographique

Pousse dans différentes parties du monde, principalement dans les zones tempérées et chaudes,

1.7.8. Le genre *Thymus*

Thymus est un genre de plantes (couramment appelées thym) de la famille des Lamiacées. Ce genre comporte plus de 300 espèces et près d'une centaine de variétés de thym, sauvages et/ou cultivées (**cornichon, 2017**).

Description botanique

Calice tubuleux, strie, a cinq dents, trois supérieures, et deux inférieures, formant deux lèvres ; gorge du calice garnie, d'un bouquet circulaire de poils qui en bouche l'entrée ; tube de la corolle de la longueur du calice ; limbe bilabié ; lèvre supérieure légèrement échancrée; l'inférieure a trois lobes presque égaux , celui du milieu un peu plus grand et émarginé. **(Frans A. S. et Richard S. C., 1988)**

La position Systématique est montrée dans le tableau 09 :

Tableau 09 : Position systématique de *Thymus* selon **(Morales *et al.*, 2002)**

Règne	Plantae (végétal)
Embranchement	Spermaphytes (phanérogames)
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Métachlamydées (gamopétales)
Ordre	Tubiflorales
Sous ordre	Verbénacées
Famille	Lamiaceae (Labiaceae)
Sous famille	Stachyoideae
Genre	<i>Thymus</i>

Répartition géographique

Le thym est distribué dans le vieux continent, sur les côtes du Groenland et dans la région Macaronésienne (les canaries, Madère et les Açores). C'est une plante très répandue dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) ainsi que dans les montagnes d'Ethiopie, les montagnes d'Arabie du sud-ouest et la péninsule de Sinaï. Passant par les régions arides de l'Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya, il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon. Dans le nord, il pousse en Sibérie et en Europe nordique **(Jalas, 1971)**.

En Algérie Pour l'Algérie, Quezel et Santa (1963) décrivent 12 espèces de thym dont huit sont endémiques à l'Algérie et à l'Afrique du Nord.

1.7.9. Le genre *Origanum*

Le genre *Origanum* est une plante frutescente appartenant à la famille des lamiacées qui comporte environ 38 espèces, répandues dans les régions méditerranéennes, Euro Sibérienne et d'Irano Sibérienne. Plus 75%, d'*Origanum* se trouve autour des régions de l'est méditerranéen. (Sahin *et al.*, 2004). Le genre *Origanum* a été complètement remanié par J. H. Ietswaart en 1980 qui divisé en 3 groupes, 10 sections, regroupant au total 38 espèces : avec 6 sous-espèces et une autre avec 3 variétés et 17 hybrides naturels (ALLARD, 2015).

Description botanique

Calice court, a cinq dents, quelquefois bilabié, non garni de poils à son intérieur tube de la corolle plus longue que le calice. Lèvre supérieure bifide ; l'inférieure à trois lobes, celui du milieu plus grand, entier ; fleurs serrées, accompagnées chacune à leur base d'une bractée ovale, souvent colorée, formant de petits épis globuleux, entremêlés d'écailles imbriqués. (Frans A. S. et Richard S. C., 1988) :

La position Systématique est montrée dans le tableau 10 :

Tableau 10 : Position systématique de *Origanum* selon (Deysson, 1967) :

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Super ordre	Tubiflorales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (Labiæ)
Sous famille	Népétoïdées
Genre	<i>Origanum</i>

Répartition géographique

Le genre *Origanum* a été particulièrement étudié par Ietswaart en 1980. Il reconnaît 3 groupes, 10 sections, 38 espèces, 6 sous-espèces, 3 variétés et 16 hybrides. Le genre *Origanum* est largement présent des îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'est de l'Asie. On peut le rencontrer aussi en culture à Cuba ou dans l'île de Réunion, mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante (Figure 08).



Figure 08 : Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

Chapitre 2 : Activité antioxydante

2. Activité antioxydante

2.1. Définition

L'oxygène moléculaire est un élément crucial pour la vie des organismes aérobies, toute fois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives d'oxygène (ERO ou ROS, pour reactive oxygen species) et les espèces réactives de l'azote (ERN). Aux doses faibles, les ERO sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans la production de médiateurs cellulaires, l'élimination des produits toxiques et la défense contre l'invasion des microbes et des virus, de même que contre les cellules tumorales. Dans certain cas les ERO deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives (**Dallio, 2005 ; Koechlin Ramonatxo, 2006**).

2.2. Radicaux libres et stress oxydatif

Les radicaux libres sont des entités chimiques (espèces, atomes, molécules ou des fragments moléculaires) possédant un électron ou plus non apparié « célibataire » capable d'exister sous forme indépendante. Cela qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (**Kholkhal, 2014**).

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre la formation des radicaux libres ou ERO et la capacité du corps à les neutraliser, à réparer les dommages oxydatifs et à réguler leur production (**Zweier et al., 2006**).

Les **ERO** et **ERN** sont connues pour jouer un double rôle dans les systèmes biologiques, puisqu'elles peuvent être à la fois nocives mais aussi bénéfiques, voire indispensables pour les organismes vivants

-Bénéfiques, lorsqu'ils sont impliqués dans des rôles physiologiques au niveau des réponses cellulaires telles que la lutte contre des agents infectieux et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire.

-Nocifs, lorsqu'il y a un déséquilibre entre la balance des ERO et ERN et les systèmes de défense, comme conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (ADN, protéines, lipides) en lien avec l'apparition de nombreuses maladies graves (cancer,

artériosclérose, arthrite, maladies neurodégénératives) : c'est le stress oxydatif (**Evans et Halliwell, 1999 ; Bouchouka, 2016**).

Les principales espèces réactives de l'oxygène sont : le radical superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH), le monoxyde d'azote (NO), mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Roberts et al., 2010**).

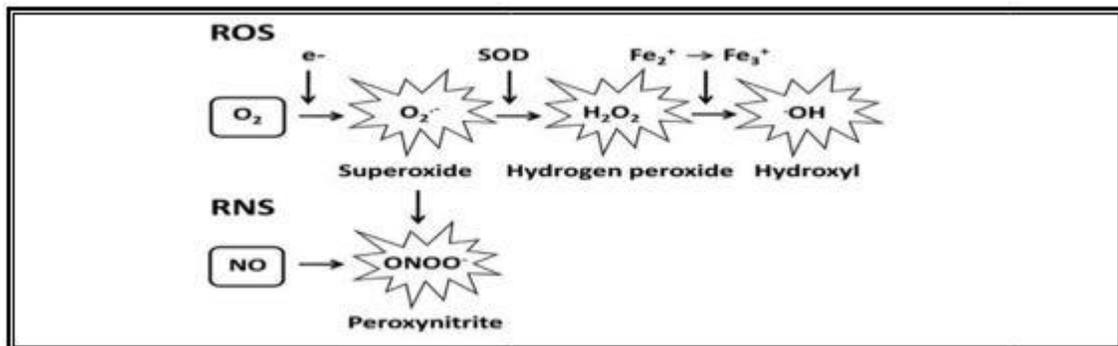


Figure 09 : Formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et nitrogène (ERN)
(**Codoner-Franch et al., 2011**).

2.2.1. Production des radicaux libres

On distingue deux types de production des radicaux libres :

2.2.1.1 Production endogène

L'une des sources majeures des ROS est la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette production résulte de l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire. Une telle réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial.



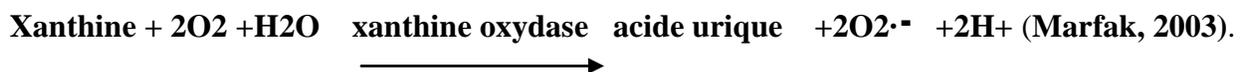
Autres chaînes du transport d'électrons (ex : peroxydes microsomes) contribuent dans la cellule aérobie. Les cytochromes P450 et b5 de également à la production du $O_2^{\bullet-}$ la chaîne du

transport d'électron des microsomes peut produire des ROS quand ils interrompent le cycle redox normal et détournent le flux d'électrons vers l'O₂ (Sevanian *et al.*, 1990).

D'autre part les ROS peuvent se produire au cours des processus pathologiques ou la production du radical répond à une stimulation et intervient dans le processus inflammatoire (NADPH oxydase et xanthine oxydase) (Antwerpen, 2006).

Les cellules phagocytaires activées sont le siège d'un phénomène appelé "explosion oxydative", consistant en l'activation du complexe NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Ce mécanisme lorsqu'il est contrôlé est capital dans la lutte infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers (Favier, 2003).

D'ailleurs le système xanthine/xanthine oxydase permet aussi la production de l'anion superoxyde :



Une autre espèce réactive oxygénée produite au cours de l'inflammation est le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ; en vue de réagir directement ou de produire l'acide hypochloreux par l'intervention de myéloperoxydase. Cette espèce (HClO) est caractérisée par un pouvoir oxydant nettement plus élevé que le H₂O₂.



Le monoxyde d'azote est produit aussi par un système enzymatique NO synthétase (NOS), à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages (Favier, 2003). D'autres systèmes sont capables de produire les ROS, citons par exemple : les réactions catalysées par les lipooxygénases et cyclooxygénases dans la voie de synthèse des leucotriènes et prostaglandines (Babior *et al.*, 2002), les aldéhydes oxydases ou les protéines hémiques qui peuvent oxyder leur fer (I) en fer (III) avec production du radical O₂[·] (Antwerpen, 2006).

C'est ainsi l'auto-oxydation des monoamines (dopamine, épinéphrine, et norépinéphrine) ; et l'hémoglobine en présence de traces de métaux peut également être à l'origine de la production des ROS (Gueye, 2007).

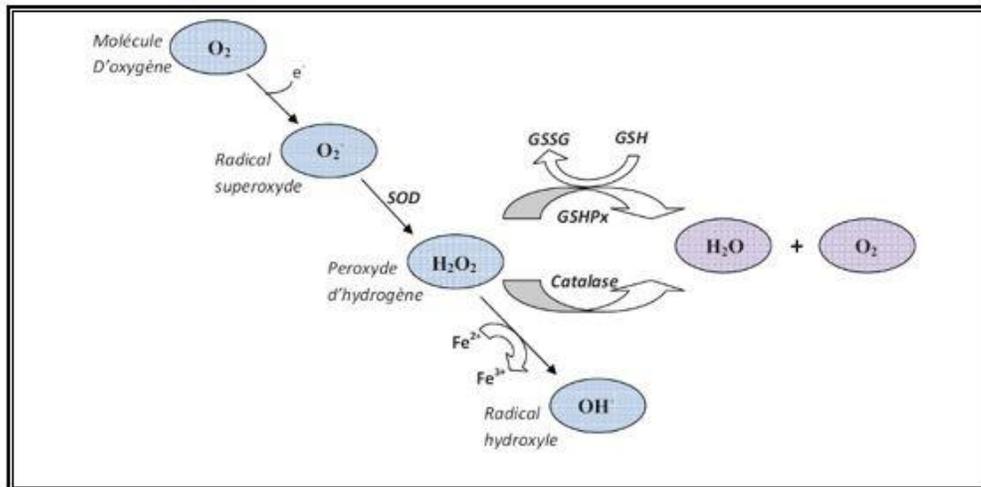


Figure 10 : Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène (Babior *et al.*, 2002)

2.2.1.2 Production exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres. Les rayonnements UV (ultra-violet) induisent la synthèse de radicaux libres et de molécules génératrices de radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants. Les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso *et al.*, 2007).

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes (Hadi, 2004).

Des toxiques tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), présents dans notre environnement (goudron, tabac, polluants industriels), sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires (Hadi, 2004).

La figure 11 résume l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène, impliqué dans le stress oxydant.

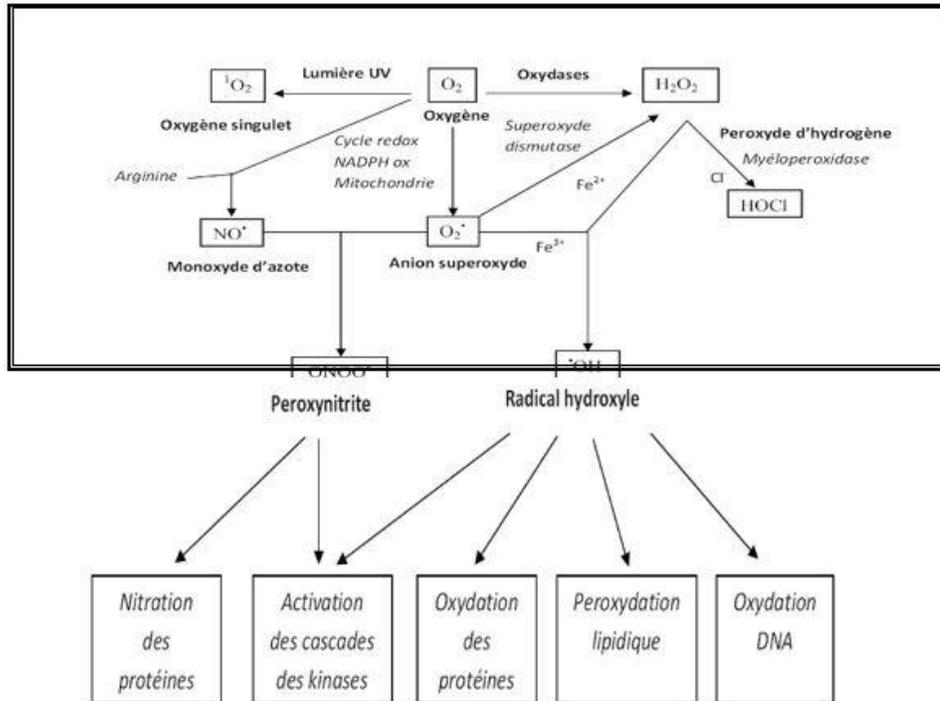


Figure 11 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l’oxygène
(Hadi, 2004)

2.2.2. Conséquences du stress oxydant

Les radicaux libres sont responsables de dommages sur toutes les molécules biologiques comme les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les hydrates de carbone (**Favier, 2003**) :

Au niveau de l’ADN, les radicaux libres peuvent induire des effets oxydatifs et mutagènes ou un arrêt des réplifications. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (**Shimizu H., 2004**). Les lipides sont une cible privilégiée des radicaux libres. Ceux-ci provoquent en effet l’oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) des phospholipides membranaires (principaux constituants des membranes des cellules), mais aussi des organites cellulaires et des noyaux. Ce phénomène est appelé peroxydation lipidique ou lipopéroxydation aboutissant à la formation de LDL oxydées qui sont captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d’athérome des maladies cardiovasculaires, l’attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la

membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier, 2003**). Les radicaux libres peuvent aussi agir sur les macromolécules en provoquant des inactivations enzymatiques, des fragmentations de ces molécules (collagène, protéoglycannes, acide hyaluronique) et la formation de dimères ou d'agrégats protéiniques dans les membranes cytoplasmiques (**Shimizu H, 2004**).

2.3. Les Antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ERO. Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, inhiber la peroxydation lipidique et la chélation des métaux de transition (**Diallo, 2005 ; Favier, 2006**).

2.3.1. Classification

Plusieurs antioxydants synthétiques et quelques composés naturels (tocophérol, acide ascorbique, Béta-carotène) sont officiellement autorisés pour l'utilisation dans l'alimentation. Leur présence s'avère également nécessaire au sein des produits pharmaceutiques et de cosmétiques afin d'éviter leur dégradation. Cependant, des études toxicologiques ont jugé certains antioxydants synthétiques comme sources de danger (**Barlow, 1990 ; Evans et Reynhout, 1992**).

2.3.1.1. Les antioxydants naturels

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types :

2.3.1.1.1 Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**Mika et al., 2004**).

- La superoxyde dismutase (SOD) : accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, il existe plusieurs isoenzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

- La catalase : présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

- La glutathion peroxydase (GPx) : La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydroperoxyde résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

2.3.1.1.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**Wang et al., 2003**).

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, la β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Les sources alimentaires de ces antioxydants naturelles sont présentées dans le tableau 11.

Tableau 11 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées
(Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Principaux nutriments	Sources alimentaires
Antioxydants	
Vitamine C	Agrumes, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile : de tournesol, de soja, de maïs Beurre, œufs, noix.
β -carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poissons, œufs, viande, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou œufs, poissons, viande

2.3.1.2. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs. Plusieurs antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), le tertiarybutylhydroquinone (TBHQ), le 2,4,5-trihydroxybutyrophenone (THBP), le di-tertbutyl-4-hydroxyméthylphénol (IONOX-100), le gallate de propyle (PG), le gallate d'octyle (OG), l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA) et le 4-hexylresorcinol (4HR), sont utilisés dans les cosmétiques et les huiles végétales (Guo *et al.*, 2006).

Le PG et le BHA sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant de la prooxidation des acides gras insaturés (Xiang *et al.*, 2007). Malgré la puissance de leur activité antioxydante, l'excès de ces antioxydants synthétiques (BHT, BHA, TBHQ) peut être toxique et peut même présenter un danger sur la santé humaine (Williams, 1994).

Les antioxydants peuvent protéger l'organisme contre les effets néfastes des espèces réactives comme suit :

- Inhibition de la formation des radicaux libres.
- Neutralisation des radicaux libres.
- Augmentation du système de défense du corps.
- Réparation des dommages résultants de radicaux libres (**Ferdjioui S., 2014**).

2.4. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (**Favier, 2003**). Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (**Sohal et al., 2002**). Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (**Kohen et Nyska, 2002**).

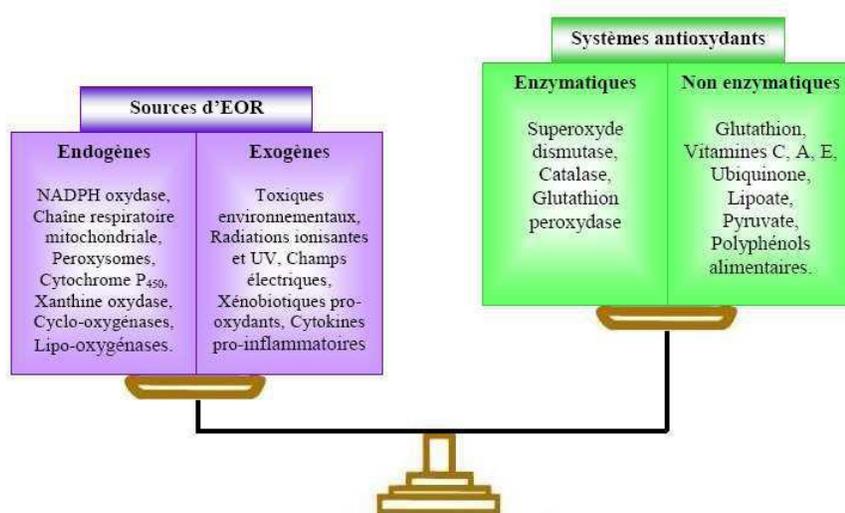


Figure 12 : Balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu H., 2004).

2.5. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

2.6. Evaluation in vitro de l'activité antioxydante

Actuellement, une grande diversité des méthodes analytiques pour la détermination de la capacité antioxydante est disponible. Ces analyses diffèrent entre eux en termes de forme dont sont exprimés les résultats. En plus, même lorsque seulement une de ces analyses est envisagée, ça engendre d'autres paramètres à prendre en considération tels que : le solvant, le temps de réaction et le pH (Magalhaes *et al.*, 2008).

Une batterie d'analyses mesurant différents aspects du comportement des antioxydants est recommandée pour produire un profil antioxydant complet.

La comparaison des données de différentes études est difficile. Il est également d'une grande importance de choisir des méthodes acceptées, validées et normalisées, avec des données, à la fois, comparables et disponibles dans la littérature.

La conception de telles méthodes se fonde sur l'utilisation des espèces oxydantes et les sondes (protéines, triacylglycérols, et modèles de cellules) avec la signification biologique appropriée que la réaction conditionne (concentration, temps de réaction, pH ...), liée étroitement à ce qui peut être in vivo (**Magalhaes et al., 2008**).

2.6.1. Méthodes de piégeage des radicaux libres oxygénés

2.6.1.1. Piégeage du radical peroxyde (ROO●)

La mesure de l'ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity) développée par (**Cao et al., 1993**) est une méthode simple et reproductible permettant d'évaluer la capacité antioxydante de différentes molécules (**Benderitter et al., 2003**). La β -PE (Porphyrinium cruentum β Phycoerythrin ou Phycoérythrine) est une protéine fluorescente extrêmement sensible au stress oxydatif. En présence d'AAPH [(2,2'-azobis(2-amidinopropane) dichloride), un donneur du radical peroxy, la structure tétramérique de la β -PE est modifiée, elle se dimérise. Cette dimérisation dépendante de la concentration en radicaux peroxydes du milieu réactionnel peut être suivie en mesurant la décroissance de la fluorescence de la β -PE en fonction du temps. Cette cinétique de décroissance de la fluorescence est directement reliée à la concentration de radicaux libres présents dans le volume réactionnel dans ces conditions définies de temps et de concentrations de la β -PE est d'AAPH.

2.6.1.2. Piégeage du radical superoxyde (O₂●-)

Cet essai évalue la capacité d'un produit à capturer un radical libre, l'anion superoxyde O₂●-. Ce radical est généré in vitro par le système hypoxanthine/xanthine oxydase. Dans cette méthode, le radical réduit le NBT₂⁺ (Nitro-Blue Tétrazolium) de couleur jaune, en bleu de formazan de couleur pourpre qui absorbe à 560 nm. Ainsi un composé antioxydant capable de capturer l'anion superoxyde empêchera la formation du bleu de formazan et la solution restera jaune. Les absorbances obtenues permettent de calculer un pourcentage d'inhibition de la réduction du NBT₂⁺ par rapport à un témoin constitué du milieu réactionnel dépourvu de composé anti-oxydant. On peut ensuite tracer une courbe représentant le logarithme du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en composé testé, et déterminer la CI₅₀ (concentration inhibant 50% de l'activité) du composé (**Parejo et al., 2002**).

2.6.1.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity)

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piègeurs la valeur d'absorbance de ce dernier à 230nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure blanche (Malgalhaes *et al.*, 2008).

2.6.1.4 Analyse de la capacité de piégeage du radical hydroxyle (HO•)

En raison de la réactivité élevée des radicaux hydroxyles, presque toutes les molécules dans les systèmes biologiques peuvent être considérées comme des piègeurs du radical HO•. Ainsi, l'évaluation du piégeage direct de HO• peut être non pertinente pour l'évaluation de l'action antioxydante d'un composé, simplement parce que des concentrations très élevées du piègeur sont exigées pour concurrencer les molécules adjacentes *in vivo*. Plusieurs méthodologies *in vitro* pour la détermination de la capacité du piégeage du HO• sont disponibles dans la littérature, la plupart du temps basé sur l'ensemble Fe³⁺ + EDTA + H₂O₂ + système d'acide ascorbique, pour produire un flux constant de HO•.

Ces radicaux attaquent le désoxyribose en position 2 (utilisé comme cible), le dégradant en une série de fragments, certains réagissent lors du chauffage avec de l'acide thiobarbiturique à un pH faible pour donner un chromogène rose (Halliwell *et al.*, 1987).

Si un antioxydant est ajouté au mélange de la réaction, il concurrencera avec le désoxyribose le radical HO•, empêchant ainsi la dégradation des espèces cibles (Hagerman *et al.*, 1998).

2.6.1.5. Analyse de la capacité de piégeage d'acide hypochloreux (HOCl)

L'acide hypochloreux est obtenu à partir du système enzymatique myéloperoxydase/H₂O₂/Cl⁻ ou en acidifiant l'hypochlorite de sodium commercial à pH 6.2 avec de l'acide sulfurique (Aruoma, 1997). L'analyse de l'élastase, mesure la capacité d'un composé à protéger l' α -1-antipeptidase (α -1-AP) contre l'inactivation par HOCl (Haenen et Bast, 1991). L'activité d'élastase est plus tard mesurée en utilisant un substrat d'élastase (ester de p-nitrophénol de N-t-BOC-L-alanine), l'absorbance est mesurée à 410 nm (Halliwell *et al.*, 1995).

2.6.1.6. Analyse de la capacité de piégeage de l'oxygène singulet (1O₂)

En raison de son affaiblissement de l'état fondamental d'énergie inférieure, 1O₂ émet la phosphorescence caractéristique à 1270 nm. Par conséquent, la capacité du piégeage du 1O₂ de plusieurs composés est mesurée par les taux d'affaiblissement de l'intensité de la lumière (Wilkinson et Helman, 1995).

2.6.1.7. Analyse de la capacité du piégeage d'oxyde nitrique (NON•)

Vriesman et ses collaborateurs (1997), ont développé une méthode relativement simple pour la quantification de la capacité de piégeage des composés contenant du soufre dans le soluté utilisant un NON•. L'oxyde nitrique est ajouté aux solutions tampon du composé piègeur (glutathion, bisulfure de glutathion, glutathion S-méthylque, cystéine N- acétyle, acide lipoïque et acide dihydrolipoïque) et sa concentration est suivie en fonction du temps. La limitation principale de cette méthode, consiste en sa longue durée et que la technique n'est pas facilement disponible (Perez *et al.*, 2007).

2.6.2. Méthodes de piégeage des radicaux stables et évaluation de leur capacité de réduction

2.6.2.1. Piégeage du radical 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

Dans cette analyse, le DPPH• de couleur pourpre est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle. La capacité de piégeage est généralement évaluée dans des milieux organiques en surveillant la diminution de l'absorbance à 515-528 nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante (Brand-Williams *et al.*, 1995).

La détermination de la capacité antioxydante est basée sur la réduction ampérométrique du DPPH• au carbone vitreux. Le courant qui en résulte sur une électrode vitreuse de carbone polarisée au potentiel fixe, est proportionnel à la concentration résiduelle de DPPH• après la réaction avec les antioxydants (Milardovic *et al.*, 2006).

En opposition à ce qui a été toujours crue, le mécanisme de réaction est basé sur une réaction de transfert d'électron, tandis que l'abstraction d'atome d'hydrogène est un processus réactionnel marginal, parce qu'elle se produit lentement dans des solvants forts, tels que le méthanol et l'éthanol (Foti *et al.*, 2004).

L'accessibilité stérique de DPPH• est une cause déterminante de la réaction, puisque les petites molécules qui ont un meilleur accès à l'emplacement du radical ont sans doute une capacité antioxydante relativement plus élevée (Huang *et al.*, 2005). D'une part, beaucoup de composés antioxydants de taille moléculaire élevée qui réagissent rapidement avec les radicaux peuvent réagir lentement ou peuvent même être inertes dans cette analyse.

L'inexistence de DPPH• ou des radicaux semblables dans les systèmes biologiques est également un point faible.

2.6.2.2. Puissance antioxydante de réduction du fer (analyse FRAP)

L'analyse FRAP mesure la capacité des antioxydants à ramener le complexe ferrique de la tripyridyl-s-triazine 2.4.6 [Fe (III) - (TPTZ) 2] 3+ intensément au complexe ferreux coloré par le bleu [Fe (II) - (TPTZ) 2]2+ dans un milieu acide (Benzie et Strain, 1999). Les valeurs sont calculées en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 593 nm et en la rapportant à une solution étalon d'ions ferreux ou à une solution étalon d'antioxydants (Tsao *et al.*, 2003).

Un point à prendre en compte est la production concomitante de Fe (II), qui est un prooxydant bien connu, et peut avoir comme conséquence la génération des radicaux additionnels dans le milieu de réaction. En plus, les composés qui absorbent à la même longueur d'onde peuvent s'y mêler, entraînant une surestimation des résultats (Ou *et al.*, 2002).

2.6.2.3. Chélation du fer ferreux

Dans ce test, le pouvoir chélateur est évalué selon la méthode décrite par Le *et al.* (2007). La ferrozine forme en présence du fer ferreux un chromophore de couleur rouge (Fe²⁺-Ferrozine), qui présente un maximum d'absorption à 562 nm. En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est perturbée, ce qui aboutit à une diminution de la couleur rouge qui est suivie Spectrophotométriquement (Le *et al.*, 2007).

2.6.2.4. Activité antioxydant par le test ABTS. +

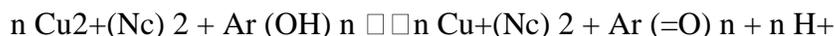
Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS. +) est stable sous sa forme libre. Ce radical est formé facilement à partir de l'acide correspondant

par oxydation en présence du persulfate de potassium. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction, (Amarati *et al.*, 2011).

2.6.2.5. Test de réduction du cuivre (CUPRAC)

La méthode CUPRAC (Apak *et al.*, 2004), décrite le développement d'un test de capacité antioxydante par réduction de cuivre et largement applicable pour les flavonoïdes, les acides phénoliques, les acide hydroxycinnamiques, les thiols, les antioxydants synthétiques et les vitamines C et E. Le réactif oxydant chromogène utilisé pour le dosage CUPRAC est le cation Cu (II)-Néocuproïne (Cu (II)-Nc) (Özyürek *et al.*, 2011).

Cette méthode, introduite par la chimie analytique, est basée sur la mesure de l'absorbance du Chromogène Cu⁺-Nc formé à la suite de la réaction redox d'antioxydants avec le réactif Cu²⁺-Nc, où l'absorbance de la lumière de 450 nm, il s'agit donc d'une méthode à transfert d'électron (ET) (Figure 13) ; le réactif Cu²⁺-Nc est donc réagit avec (n-é) réducteur antioxydants de la manière suivante :



2.6.2.6. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène (β-carotene bleaching method)

Cette technique consiste à mesurer à 470 nm, la décoloration du bêta-carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du bêta-carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50°C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de la décoloration du bêta-carotène (Koleva *et al.*, 2001). Cette méthode est, d'autre part, sujette au parasitage de composés absorbants dans la fenêtre spectrale du bêta-carotène et l'interprétation des données n'est pas aisée car le bêta-carotène est lui-même un antioxydant (Laguerre *et al.*, 2007).

*Chapitre 3 : les
métabolismes secondaires*

3. Les métabolites secondaires

3.1. Définition

Ce sont des substances naturelles produites en faible quantité dans les plantes (**Ali et al., 2013**) et les microorganismes comme les bactéries et les champignons (**Troppens et al., 2013**). A l'inverse des métabolites primaires ; les métabolites secondaires sont des espèces spécifiques qui ne sont pas directement impliquées dans le cycle de vie normal des plantes (**Lee et al., 2013**), mais les végétaux supérieurs ont la capacité de les synthétiser pour diverses fonctions adaptatives (**Wink, 2013**). Notamment, en réponse au stress biotique et abiotique qu'ils peuvent subir tels que les changements de températures, la sécheresse, la salinité, la radiation, les herbivores, les infections pathogènes, la défense contre l'attaque des organismes compétitifs dont les bactéries, les champignons, les insectes, les animaux et les autres plantes (**Kliebenstein., 2012 ; Costa et al., 2013**). Cependant, le rôle écologique le plus important des métabolites secondaires des plantes est lié à la fonction reproductrice qui garantit le succès évolutif de toutes les espèces vivantes, les pigments et les composés volatils de ces métabolites peuvent attirer les pollinisateurs et ainsi favoriser la dispersion des graines et la fécondation (**Iriti, 2013**).

Ces composés sont importants, non seulement en raison de leur rôle dans les plantes, mais aussi pour leurs propriétés biologiques comme antioxydant, antimicrobien et anti-cancérogènes et leurs effets thérapeutiques contre plusieurs maladies à savoir l'hypertension, le diabète et l'obésité (**Aires et al., 2013**).

3.2. Les alcaloïdes

Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative. Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas des dérivés des acides aminés. On les nomme alors alcaloïdes terpéniques et les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Les alcaloïdes ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée (réactifs de Mayer, de Dragendorf, de Wasicky, de Bouchardat) (**Krief, 2003**).

- Les alcaloïdes vrais : Ils dérivent d'acides aminés. Et comportent un atome d'azote dans

un système hétérocyclique. Ces substances sont douées d'une grande activité biologique

- Les pseudo-alcaloïdes : présentant le plus suivent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des drivés des acides aminés.
- Les proto-alcaloïdes : Sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés. Ils sont souvent appelés « amine biologique » et sont soluble d'une l'eau (**Badiaga, 2011**). (Figure 13)

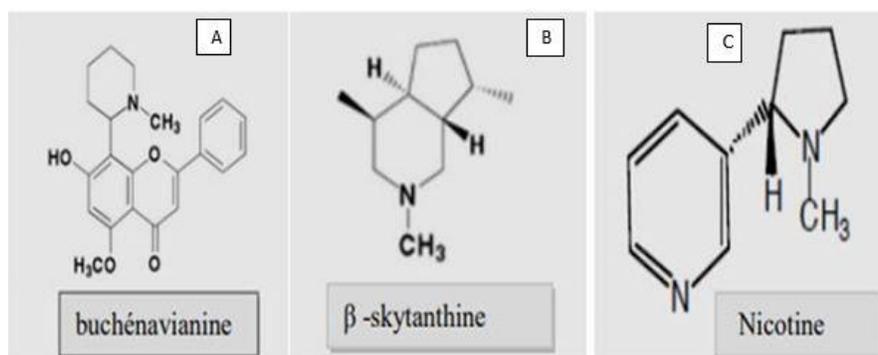


Figure 13 : exemple d'alcaloïdes A) alcaloïdes vrais B) pseudo-alcaloïde C) proto-alcaloïde (**Krief, 2003**)

3.3. Les polyphénols (Composés Phénoliques)

Ou « Composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules (**Bahorun, 1997 ; Garcia-Salas et al., 2010**). Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques : celle du shikimate, et celle issue de l'acétate (**Bruneton, 2009**).

L'élément structural fondamental qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (Ester, Méthyle ester, Glycoside...) (**Bruneton, 1999**).

3.3.1. Localisation dans la plante

Les polyphénols sont majoritairement présents dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles et les écorces de bois de tous les végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Les principales sources alimentaires sont les fruits et les légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et les légumes contribuent environ à la moitié de notre apport en polyphénols. Les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportent le reste (**Middleton et al., 2000**).

3.3.2. Classification des Polyphénols

Les polyphénols sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (**Dacosta, 2003**). Il existe plusieurs classes des polyphénols, principalement, les acides phénoliques simples, les phénols simples, stilbènes, coumarines, tanins, quinones, flavonoïdes, lignanes, lignines et xanthones (Figure 14).

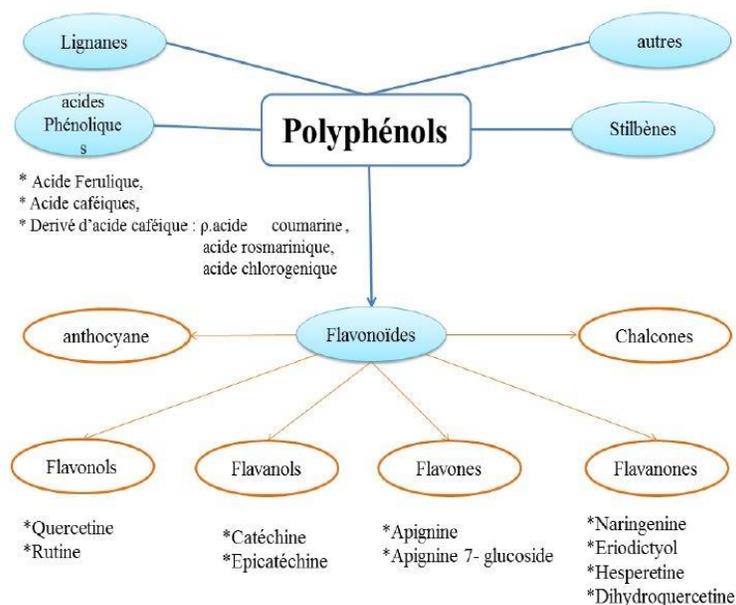


Figure 14 : Classification des Polyphénols (**De la Rosa et al., 2019**)

3.3.2.1. Les acides phénoliques : Cette classe est divisée en deux sous-classes :

3.3.2.1.1. Les acides hydroxybenzoïques

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque, et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Les hydroxybenzoïques incluent plusieurs molécules et les plus fréquentes sont ; L'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide syringique et le p-hydroxybenzoïque

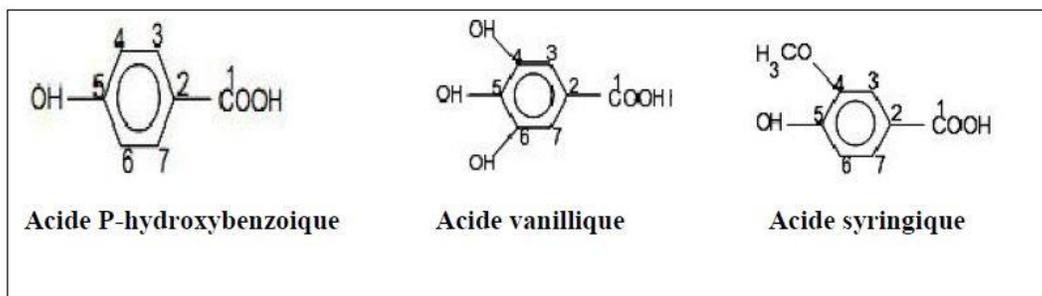


Figure 15 : Exemples de composé à radical hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

3.3.2.2. Acides hydroxycinnamiques

Ils dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3). Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, induisent une réactivité chimique importante de ces molécules, par exemple on cite l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique, et l'acide sinapique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

3.3.2.3. Les anthocyanidines

Sont des dérivés du flavylum ou 2-phényl- benzopyrylium, ils portent des fonctions phénolslibres, éthers ou glycosides (Jaakola, 2013).

3.3.2.4. Les coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2 pyrone (Iwueke, 2008).

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Madhavi, 1996).

3.3.2.5. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ce sont des substances naturelles très répandues dans la famille des Compositae (**Eberhard *et al.*, 2005**). Les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C₆-C₃-C₆) ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B formant généralement un hétérocycle oxygéné C. L'existence des différentes classes structurales des flavonoïdes serait fonction des modifications de l'hétérocycle C (**De Rijke *et al.*, 2006**).

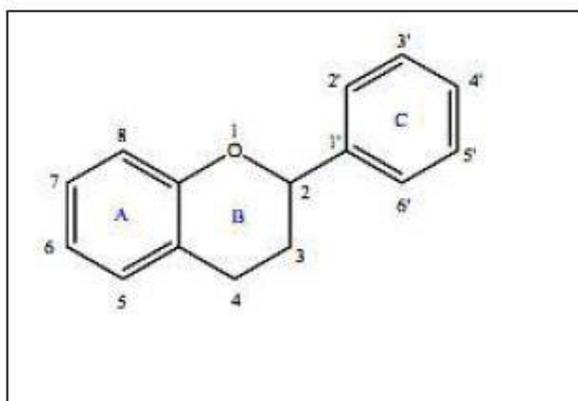


Figure 16 : Structure de base des flavonoïdes (**Krishna *et al.*, 2001**)

3.3.2.6. Tannins

Les tannins sont très abondants chez les angiospermes dicotylédones (Tannins hydrolysables) et les gymnospermes (Tannins condensés). Leur masse moléculaire est comprise entre 500 et 3000 PM (**Atefeibu, 2002**). Ils sont répandus, particulièrement, dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ces composés ayant en commun la propriété de tanner la peau (combinaisons à des macromolécules (Protéines, Polysaccharides...) par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes). Ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits (Propriétés biologiques).

3.3.3. Extraction des composés phénoliques :

L'extraction solide-liquide est la procédure la plus couramment utilisée. En effet, ces techniques sont faciles d'utilisation, très efficaces et peuvent être largement appliquées. Les solvants d'extractions les plus communément utilisés sont les alcools (méthanol, éthanol), l'acétone, l'éther éthylique et l'acétate d'éthyle. Cependant, pour les composés très polaires tels que les acides phénoliques ne pouvant être extraits complètement avec les solvants organiques purs, les mélanges d'alcool-eau ou acétone-eau sont recommandés (**Naczk et Shahidi, 2004**). Les solvants moins polaires (dichlorométhane, chloroforme, hexane, benzène) sont utilisés pour éliminer les composés apolaires (cires, huiles, chlorophylle).

Classiquement, les techniques d'extractions solide-liquide utilisées sont : l'infusion, la macération, la décoction, l'extraction au Soxhlet et, dans certains cas, l'extraction par sonication et l'extraction assistée par microondes.

3.3.3.1. L'infusion : c'est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement porté à ébullition que l'on laisse refroidir. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes et le thé.

3.3.3.2. La macération : c'est une méthode d'extraction solide-liquide similaire à l'infusion qui s'effectue à température ambiante. Elle est généralement utilisée pour l'extraction de composés sensibles à la chaleur.

3.3.3.3. La décoction : elle consiste à réaliser l'extraction à température d'ébullition du solvant. Cette opération s'oppose à la macération dans laquelle le solvant d'extraction est à température ambiante (**Muanda, 2010**).

3.3.3.4. Le soxhlet : c'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Les inconvénients les plus significatifs de cette méthode sont : la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économiques mais pose aussi des problèmes sur le plan environnemental. Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger si

la matière végétale contient des composés thermolabiles. Etant donné la grande quantité de solvant utilisée, l'étape postérieure d'évaporation/concentration devient limitante (**Grigonis et al., 2005 ; Penchev, 2010**).

3.3.4. Activité antioxydante des polyphénols

L'activité antioxydante des polyphénols est liée à leur structure, il existe une corrélation entre cette dernière et l'arrangement spatial des substituants. En effet, la position ainsi que le degré d'hydroxylation influencent fortement cette activité (**Heim et al., 2002 ; González et al., 2020**).

Les polyphénols sont de puissants antioxydants. Grâce à leur diversité structurale, ils sont impliqués dans cette activité via plusieurs mécanismes en agissant à différents niveaux des réactions radicalaires ; piégeage des radicaux libres, chélation des ions de métaux de transition, inhibition des enzymes génératrices d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), induction d'enzymes antioxydantes endogènes et prévention de la peroxydation lipidique (**Szymanowska et Baraniak, 2019 ; Sánchez-Rodríguez et al., 2020**).

3.3.4.1. Chélation des ions métalliques

Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres et leurs réactions de propagation par la chélation des ions de métaux de transitions, en particulier ceux du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^{2+}) (**Brown et al., 1998**), qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques (**Kontoghiorghes, 2020**). Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et dans certaines enzymes antioxydantes comme la catalase et la superoxyde dismutase (**Cotelle, 2001**). Cependant, ils peuvent aussi générer des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive H_2O_2 , selon la réaction de Fenton (**Cotelle, 2001 ; Ghedira, 2005 ; Gardeli et al., 2008**). D'après (**Kurek Górecka et al., 2014**), les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques sont (Figure 17) :

- Les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C
- Le noyau catéchol sur le cycle B
- Les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C

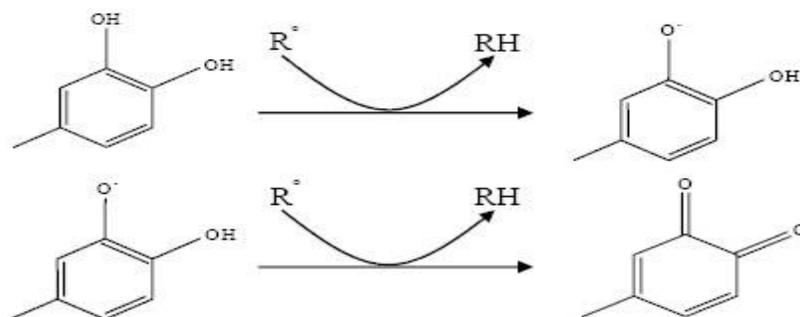


Figure 17 : Sites proposés pour la chélation des ions métalliques par les flavonoïdes
(Kurek-Górecka *et al.*, 2014)

3.3.4.2. Effet scavenger (Piégeage des espèces réactives de l'oxygène)

Les polyphénols sont de puissants antioxydants qui peuvent non seulement neutraliser les radicaux libres, mais également supprimer la génération de radicaux libres, réduisant ainsi le taux d'oxydation en inhibant la formation ou en désactivant les espèces actives et précurseurs de radicaux libres. Plus fréquemment, ils agissent comme des piègeurs directs de radicaux des réactions en chaîne de peroxydation lipidique. De ce fait, ils donnent un électron aux radicaux libres, en les neutralisant grâce à leur caractère réducteur en devenant eux-mêmes des radicaux stables (moins réactifs), arrêtant ainsi les réactions en chaîne (González *et al.*, 2020) ou interagir avec un autre radical selon la figure 18 (Pietta, 2000 ; Macheix *et al.*, 2005).

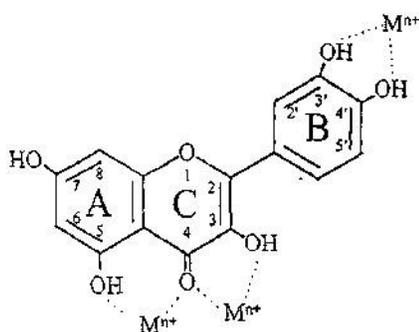


Figure 18 : Mécanisme de l'activité scavenger des flavonoïdes via la fonction catéchol
(Pietta, 2000)

3.3.4.3. Inhibition enzymatique

Les composés phénoliques possèdent un potentiel élevé d'inhibition des enzymes génératrices de formes réactives d'oxygène dans les systèmes biologiques, un mécanisme important d'effet antioxydant, via l'inhibition de la régulation des enzymes clé telles que xanthine oxydase, responsable de l'apparition du radical anion superoxyde et d'urate. Plusieurs travaux ont rapporté que les flavonoïdes sont les molécules les plus susceptibles d'être impliquées dans cet effet (Nagao *et al.*, 1999 ; Nessa *et al.*, 2010 ; Kurek-Górecka *et al.*, 2014 ; De Franco *et al.*, 2020 ; Mohos *et al.*, 2020).

La relation structure-activité des flavonoïdes en tant qu'inhibiteurs de la xanthine Oxydase a montré que l'interaction hydrophobe était importante dans cette liaison et que l'inhibition de cette enzyme augmentait généralement avec des affinités croissantes dans la classe des flavones et des flavonols (Lin *et al.*, 2015). Les groupes hydroxyle en C-5 et C-7 et la double liaison entre C-2 et C-3 étaient essentiels pour une meilleure activité inhibitrice sur la xanthine oxydase. D'autre part, un groupe hydroxyle en C-3' dans le cycle B et en C-3 en contribuent favorablement (Cos *et al.*, 1998). La chélation est également le mécanisme le plus fréquent d'inactivation enzymatique (Kurek-Górecka *et al.*, 2014).

3.3.4.4. Induction de synthèse des enzymes antioxydantes

Les polyphénols, notamment les flavonoïdes peuvent diminuer le stress oxydatif soit par la capacité réductrice intrinsèque, soit par l'induction de l'expression de gènes codant pour des enzymes et des protéines antioxydantes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase, etc.) (Umeno *et al.*, 2016 ; Fusco *et al.*, 2020 ; Roamba *et al.*, 2020). Tocophérol par le transfert d'un atome d'hydrogène au radical a-tocopheryle (Miura *et al.*, 1994).

3.4. Les huiles essentielles

3.4.1. Définition

Les huiles volatiles, ou essences aromatiques végétales nommées huiles essentielles car elles renferment la "Quinta essentia", la fragrance de la plante (**Lamarti et al., 1994**), sont des substances odorantes, volatiles, huileuses donc de nature hydrophobe, totalement solubles dans les alcools, l'éther et dans les huiles végétales et minérales. Lorsqu'elles sont pures et naturelles, elles ne contiennent aucun corps gras : elles sont uniquement constituées de molécules aromatiques volatiles (**Coraline et al., 2006**). Actuellement, environ 3000 huiles essentielles sont connues, dont 300 sont commercialement importantes, surtout pour les produits pharmaceutiques, agronomiques, alimentaires, hygiéniques, cosmétiques et les industries de parfum (**Prabuseenivasan et al., 2006**).

3.4.2. Localisation dans la plante

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs, en particulier les sommités fleuries (lavande, menthe, bergamotier, tubéreuse) mais aussi les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier) et bien que cela soit moins habituel, dans les écorces (cannelier), les bois (bois de rose, santal, camphrier), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre), les fruits (tout-épices, anis, badiane), les graines (muscade) et les boutons floraux (clou de girofle) (**Belaiche, 1979 ; Paris et Hurabielle, 1981**).

3.4.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés naturels très complexes qui peuvent contenir environ 20-60 composantes à de tout à fait différentes concentrations. Ils sont caractérisés par deux ou trois composantes importantes à d'assez hautes concentrations (20-70 %) comparés à d'autres composantes présentées en quantités de trace (**Croteau et al., 2000 ; Betts, 2001 ; Bowles, 2003 ; Pichersky et al., 2006**). Les constituants des huiles essentielles appartiennent,

de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (terpènes) d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquents d'autre part, tous caractérisés par un poids moléculaire bas (Bakkali *et al.*, 2008).

3.4.3.1. Les terpènes

Les terpènes (= terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles, on les trouve fréquemment dans les huiles volatiles des plantes (Lamarti *et al.*, 1994).

Les terpènes présentent structurellement et fonctionnellement différentes classes. Ils sont formés des combinaisons de plusieurs unités de 5 carbones à la base (C5) appelé isoprène. Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : monoterpènes (C10) et sesquiterpènes (C15), mais existent aussi les hemiterpènes (C5), diterpènes (C20), triterpènes (C30) et tetraterpènes (C40) (Bruneton, 1999). On appelle un terpène contenant de l'oxygène un terpénoïde.

a. Les monoterpènes :

Ils sont formés par le couplage de deux unités isopréniques (C5) (Figure 19). Ils sont les molécules les plus représentatives, constituant 90 % des huiles essentielles et permettent une grande variété de structures.

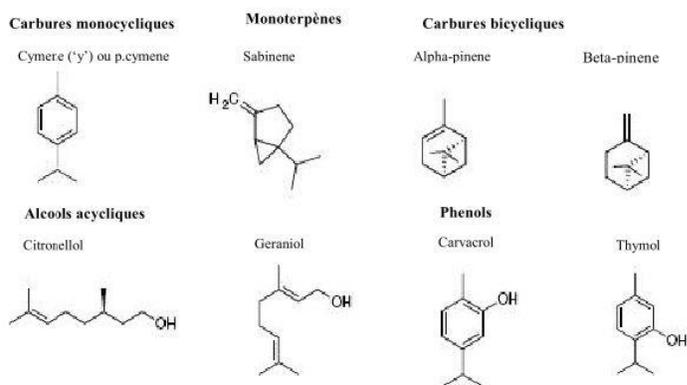


Figure 19 : Structure chimique de certains monoterpènes.

b. Les sesquiterpènes :

Ils sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques (C₁₅). L'extension de la chaîne augmente le nombre de cyclisations qui permet une grande variété de structures (Figure 20). La structure et la fonction du sesquiterpène sont semblables à ceux des monoterpènes. Les exemples de plantes contenant ces composants sont : Angélica, bergamote, cumin des prés, céleri, citronella, coriandre, eucalyptus, géranium, genièvre, lavandin, lavander, citron, lemongrass, mandarine, menthe, orange, pastille de menthe, petit grain, pin, Rosemary, sage, thym (**Bakkali *et al.*, 2008**).

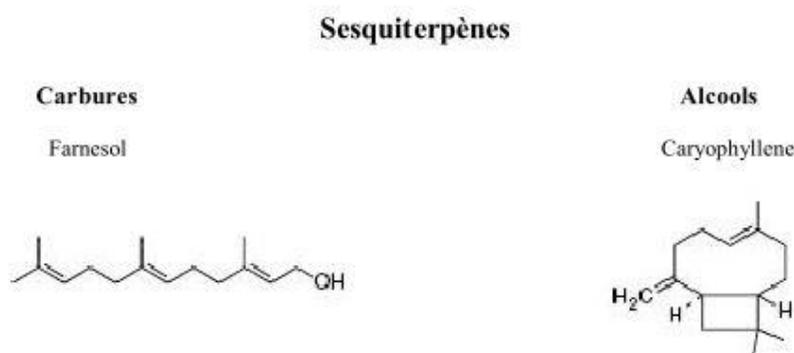


Figure 20 : Structure chimique de certains sesquiterpènes.

3.4.3.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C₆-C₃) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyles-et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C₆-C₁) comme la vanilline ou comme l'athranilate de méthyle. (**Bekhechi et Abdelouahid, 2014**).

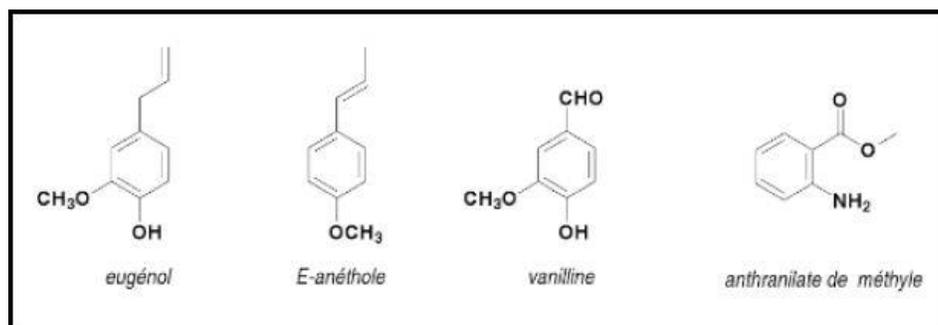


Figure 21 : exemples des composés aromatiques. (**Bruneton, 1999**)

3.4.3.3. Composés d'origines diverses

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles ;

- Composés issus de la dégradation d'acide gras ((3z) -hexén-1-ol, (2E) -hexénals et les acides jasmoniques) ;
- Composés issus de la dégradation de terpène ;
- Composés non spécifiques pouvant contenir dans leurs structures des atomes d'azote ou de soufre (**Bruneton, 1999**).

3.4.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles de corps végétales, voici les principales méthodes

3.4.4.1. Extraction par hydro distillation de l'huile essentielle

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon figure 22 remplis d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (**Bruneton, 1993**).

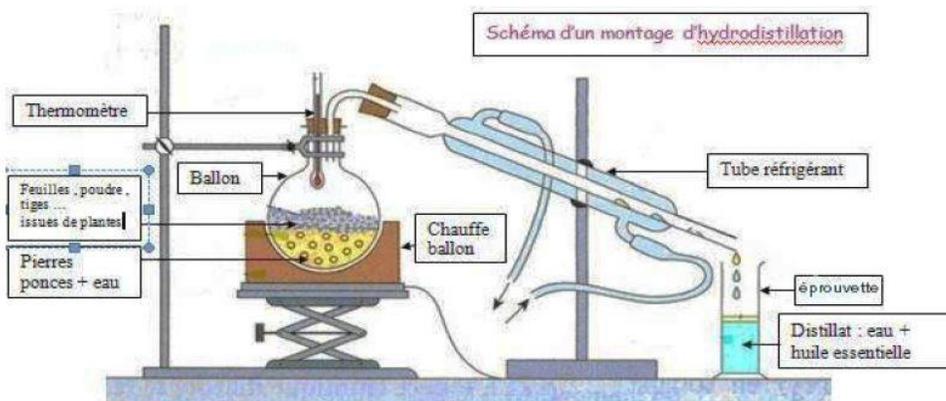


Figure 22 : Montage d'extraction par hydrodistillation. (**Bruneton, 1993**).

3.4.4.2. Expression a froids

C'est une technique d'extraction des essences végétale. Le principe de ce procédé mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riche en huiles essentielles L'huiles essentielles ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau Formation d'une émulsion constituée d'eau et d'essence L'essence est alors isolée de l'eau grâce à une décantation **(Bruneton ; 1993)**.

3.4.4.3. Entraînement à la vapeur

Cette technique qui ne met pas en contacte directe l'eau et le matériel végétale contrairement à l'hydro distillation. Elle est basée sur l'utilisation d'une source de vapeur externe pour extraire et libérer les huiles essentielles de corps végétales.

Durant le passage de la vapeur à travers le matériel végétale, les cellules éclatent et libèrent les huiles essentielles qui seront vaporisées sous l'action de la chaleur pour former un mélange (eau+huiles essentielles).

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en deux phases bien distinctes une phase aqueuse (l'eau aromatique) et une phase organique l'huile essentielle **(Bruneton, 1993)**.

3.4.4.4. Extraction par les solvants organiques

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone **(Dapkevicius, Venskutonis et al., 1998 ; Kim and lee 2002)**.

En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient selon Des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau.

- Des alcoolats : extraction avec de l'éthanol dilué.
- Des teintures ou solutions non concentrées obtenues à partir de matières premières traitées par l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau.
- Des résinoïdes ou extraits éthanoliques concentrés.

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement (**Iagunez ; 2006**)

3.4.5. Méthodes d'analyse des extraits de plante

L'analyse des huiles essentielles et des polyphénols reste une étape importante, cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques comme :

3.4.5.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est aujourd'hui une des techniques les plus utilisées en chimie analytique.

Le principe cette technique consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (Gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse.

La principale difficulté rencontrée lors de ce couplage est due à la grande différence de pression.

En effet, la spectrométrie de masse requiert un niveau de pression très bas, alors que la chromatographie en phase gazeuse se déroule à un niveau de pression plus élevé.

L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention et des spectres de masse des constituants individualisés avec ceux des produits de référence contenus dans des bibliothèques informatisées contenant plusieurs milliers de spectres.

3.4.5.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance est indiquée pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour effectuer des préfractionnements. Elle peut être couplée également à un analyseur de masse.

Cette technique utilise une phase stationnaire et une phase mobile liquide circulant sous l'effet d'une haute pression.

Après la séparation des différents constituants de l'échantillon, un logiciel assure l'acquisition et le traitement des données.

3.4.6. Activité antioxydante des huiles essentielles

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir **(Richard F, 1992)**.

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation **(Multon, 1998)**. En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène **(Madhavi et al., 1996)**.

*Chapitre 4 : détermination
de l'activité antioxydante de
quelques plantes*

4. Détermination de l'activité antioxydante de quelques plantes de la famille de Lamiacées

4.1. Etude faite par (FERDJIOUI S, 2014) Espèce : *Mentha rotundifolia*

Dans le présent travail ; l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de *M. rotundifolia* a été évaluée par trois tests différents : L'effet piègeur du radical DPPH[•], Le pouvoir réducteur du fer ferrique, l'effet chélateur du fer ferreux.

4.1.1. Effet piègeur du radical DPPH[•]

L'activité anti-radicalaire des extraits obtenus à partir des parties aériennes de *Mentha rotundifolia* est comparée à celle du BHA et exprimée en IC₅₀. Ce paramètre est défini comme étant la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH[•] dans le milieu réactionnel, l'activité est inversement proportionnelle à la valeur d'IC₅₀. Les IC₅₀ sont calculées à partir les équations des courbes qui déterminent le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur (Figure 23).

Les résultats ont montré que les différents extraits piègent les radicaux DPPH[•] avec des IC₅₀ de l'ordre de (265,491 ± 2.221 µg/ml), (133.160 ± 11.346 µg/ml) et (1755±0,006 µg/ml) pour EMM et EMS l'huile essentielle respectivement. Cette activité reste toujours très inférieure à celle du standard, le BHA (20,701± 0.065 µg/ml) (Figure 24).

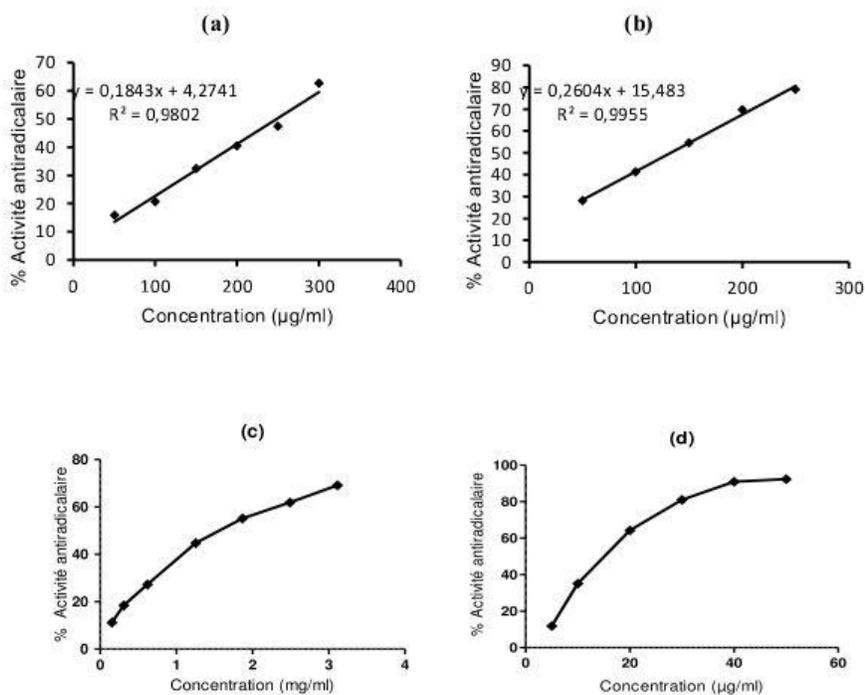


Figure. 23 : courbes tracés en fonction des concentrations croissantes des EMM (a), EMS (b) de l'HE (c) et de BHA (d) et le pourcentage d'inhibition du DPPH*.

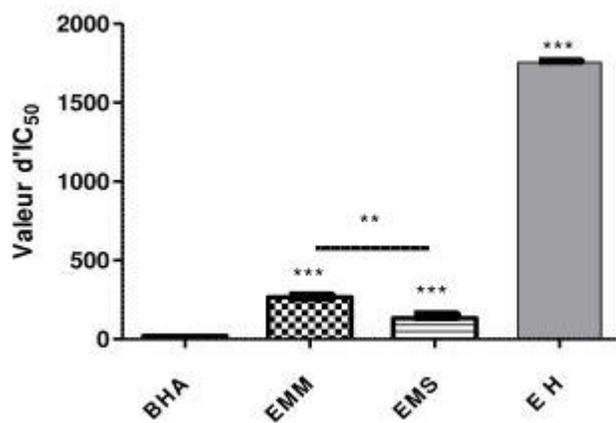


Figure 24 : Activités antiradicalaires des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de Mentha rotundifolia et de BHA manifestées dans le test de DPPH*. La comparaison est réalisée avec le BHA ;

** : $p \leq 0,01$, *** : $P \leq 0,001$.

Nos résultats ne concordent pas avec ceux enregistrés par (**Nickavar *et al.*, 2008**) qui ont étudié l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de quatre plantes médicinales du genre *Mentha* dont *Mentha rotundifolia* qui a donné une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 21.71 (19.90-23.67) µg/ml. En revanche, dans une étude faite par (**Sarikurkcu *et al.*, 2008**) sur une plante de la famille Lamiaceae (*Marrubium globosum* subsp. *Globosum*) ; l'extraits méthanolique au Soxhlet a montré une valeur d'IC₅₀ de 157.26 ± 1.12 µg/ml qui est proche de notre résultat. De même l'huile essentielle a montré une IC₅₀ de 1203.38±7.18 µg/ml.

Les travaux concernant l'évaluation de la capacité d'huile essentielle du genre *Mentha* de piéger le radical DPPH' exprimée par les valeurs d'IC₅₀, ont donné des résultats différents variant d'une espèce à une autre ; à savoir *M. longifolia* ssp (IC₅₀ = 10700 ± 5.0 µg/ml) (**Gulluce *et al.*, 2007**), *M. piperita* (IC₅₀ = 60.41± 0.60 µg/ml) (**Kizil *et al.*, 2010**), *M. pulegium* (IC₅₀ = 6200 ± 0.2 µg/ml) (Teixeira *et al.*, 2012). Cette différence dans les valeurs des IC₅₀ peut être attribuée à la différence dans la concentration de DPPH' utilisée dans le test et le temps d'incubation d'une part (**Sharma *et al.*, 2009**) et à l'influence des autres facteurs intrinsèques et extrinsèques qui peuvent affecter la composition chimique des plantes d'autre part.

4.1.2. Effet chélateur du fer ferreux

Ce test permet de mettre en évidence la capacité chélatrice des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de *M. rotundifolia*. Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanoliques possèdent une activité chélatrice en capturant les ions ferreux avant qu'ils soient complexés avec la ferrozine) dose dépendante en comparaison avec l'EDTA (. Par contre, l'huile essentielle n'a montré aucune activité chélatrice (Figure 25). La concentration de l'échantillon qui produit 50% d'effet chélateur (EC₅₀) est présentée dans le (Tableau 12). Les différences entre les extraits méthanoliques et l'EDTA et entre les extraits eux-mêmes sont statistiquement significatives (p < 0,05).

Tableau 12 : les EC₅₀ des extraits et d'EDTA. Les valeurs représentent la moyenne de deux essais ± SD.

Echantillon	EC ₅₀ (mg/ml)
EMM	3.417 ± 0.011***
EMS	2.194 ± 0.038***
EDTA	0.0111 ± 0.06

- : pas d'activité, La comparaison est réalisée avec l'EDTA ; ***: p ≤ 0.001.

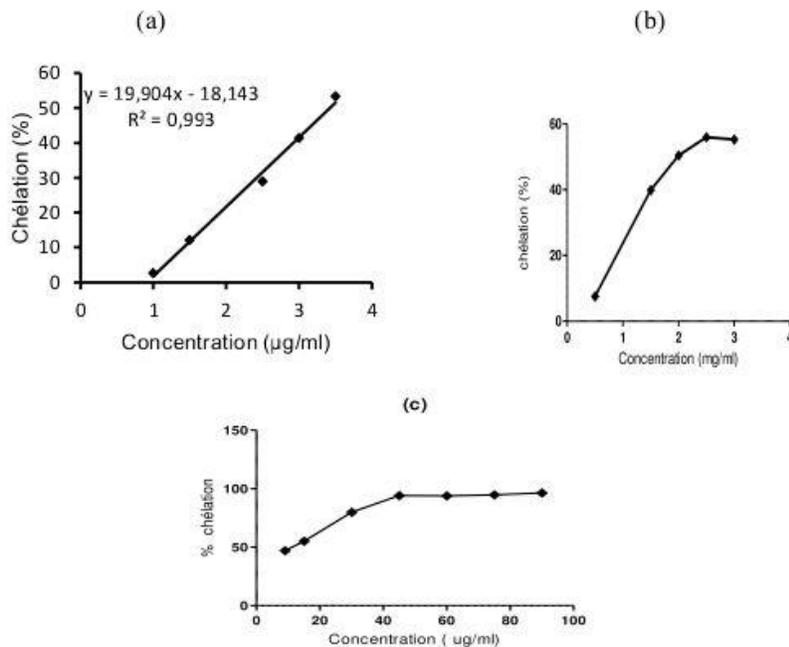


Figure 25 : courbes tracées en fonction des concentrations croissantes d'EMM (a), d'EMS (b), EDTA (c) et des pourcentages de chélation du fer ferreux.

Les activités antioxydantes des composés phénoliques sont également attribuées à leur capacité de chélater les ions de métaux de transition tels que le fer et le cuivre (**Vladimir-Knežević et al., 2011**) qui jouent un rôle important dans les processus d'oxydation conduisant à la formation de radicaux hydroxyles via la réaction de Fenton (**Ebrahimzadeh et al., 2010**) Les agents chélateurs peuvent inhiber la génération de radicaux en stabilisant les métaux de transition et par conséquent réduire les dommages des radicaux libres (**Yumrutas et al., 2012**).

(**Sivakumar et Meera, 2013**) ont rapporté que les agents chélateurs qui forment une liaison de

type σ avec les métaux sont actifs comme antioxydants secondaires car ils réduisent le potentiel redox et stabilisent la forme oxydée de l'ion métallique. Parmi les différentes espèces d'ions métalliques ; les ions ferreux (Fe^{2+}) sont les pro-oxydants les plus puissants (**Beyhan *et al.*, 2010**) pour cela on les utilise comme indicateur de l'activité chélatrice de nos extraits. À la lumière des résultats obtenus dans ce test, les extraits méthanoliques exercent une activité chélatrice avec des doses élevées par rapport au standard EDTA. Par contre, l'huile essentielle n'a manifesté aucun effet chélateur vis-à-vis du Fe^{2+} dans les concentrations utilisées.

(**Ebrahimzadeh *et al.* 2010**) ont révélé que l'extrait de la plante *Mentha spicata* obtenu par l'éthanol-eau (70-30 v/v) est capable de chélater les ions Fe^{2+} avec une valeur d' IC_{50} de $757.4 \pm 29.5 \mu\text{g/ml}$. Cette valeur est significativement inférieure à notre résultat, ceci peut être expliqué par la différence de la méthode d'extraction et la composition chimique des plantes. En revanche, notre résultat obtenu avec l'HE est en accord avec celui obtenu par (**Bounatirou *et al.*, 2007**) ; En effet ces derniers ont montré que l'huile essentielle de la plante *Thymus capitatus* (famille lamiaceae) n'exerce aucun effet chélateur ce qu'ils ont expliqué par la présence des composés monohydroxylés comme le carvacrol, incapables de former des complexes avec le Fe^{2+} .

4.1.3. Le pouvoir réducteur du fer ferrique

C'est une analyse de l'activité antioxydante qui est basée sur la capacité des constituants des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats représentés dans la Figure 26 montrent que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. Le Tableau 13 résume les concentrations effectrices 50% (EC_{50}) des extraits et de BHA. Les différences entre les extraits méthanoliques, l'HE et le BHA sont statistiquement significatives (***: $p \leq 0.001$).

Tableau 13 : Les EC₅₀ des extraits et du BHA. Les valeurs représentent la moyenne de deux essais ± SD.

Echantillon	EC ₅₀ (mg /ml)
EMM	0.550 ± 3.613 ^{***}
EMS	0.468 ± 1 ^{***}
L'huile essentielle	1.625 ± 0.004 ^{***}
BHA	0.089 ± 0.285

Les comparaisons sont réalisées avec le BHA ; ^{***}: p ≤ 0.001

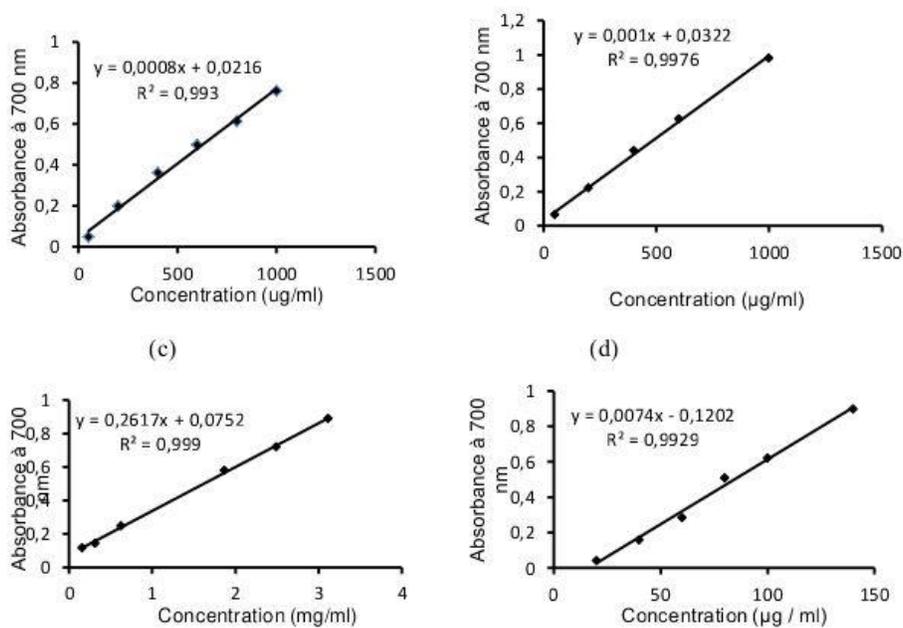


Figure 26 : courbes tracés en fonction des concentrations croissantes des EMM (a), EMS (b) de l'HE (c) et de BHA (d) et le pouvoir réducteur.

Le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante (Yumrutas *et al.*, 2012) parce qu'il est lié à sa capacité de faire un don d'électrons à des espèces de radicaux libres et les réduire en une forme plus stable et non réactive (Osman, 2013). Les agents réducteurs peuvent également réduire les intermédiaires oxydés du processus de la peroxydation lipidique (Sivakumar et Meera, 2013) donc ils peuvent réagir comme des antioxydants primaires et secondaires (Misra et Dey, 2012).

Les valeurs des CE₅₀ obtenues dans ce test montrent que les extraits méthanoliques et l'huile essentielle de *M. rotundifolia* possèdent une capacité réductrice importante mais elle est inférieure à celle du BHA, cette activité démontre leur propriété de donation d'électrons et par conséquent leur capacité de neutraliser les radicaux libres.

Dans une étude faite par (**Sarikurku et al., 2008**) ; les extraits de la plante *Marrubium globosum* subsp. *globosum* a montré une capacité réductrice avec une valeur d'CE₅₀ égale à $4315.80 \pm 2.54 \mu\text{g/ml}$ et $625.63 \pm 1.02 \mu\text{g/ml}$ pour l'HE et l'extrait méthanoliques au Soxhlet respectivement. Cette activité est semblée faible en comparaison de nos résultats.

Les résultats obtenus dans ces tests montrent qu'il y a une relation dose - dépendante corrélation positive entre le potentiel antioxydant et la teneur en composés phénoliques des extraits méthanoliques ce qu'est en accord avec d'autres travaux (**Aljadi et Kamaruddin; 2004; Lee et al, 2011; Stagos et al., 2013; Gourchala et al., 2013**). Toutefois, certaines équipes de chercheurs n'ont pas confirmé cette relation (**Matkowski et al., 2006 ; Boulanouar et al., 2013**).

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (**Athamena et al., 2010**).

Les composés phénoliques les plus antioxydants sont les flavonoïdes (**Tapas et al., 2008**) et les acides hydroxycinamiques comme (p-coumarique, ferulique, chlorogénique, l'acide transcinnamique) (**Bourgou et al., 2008**).

L'activité antioxydante des huiles essentielles pourrait être due aussi à la présence des composés phénoliques. Dans une étude faite par (**Gharib et Silva., 2013**) sur quatre plantes médicinales de la famille Lamiaceae a montré qu'il y a une corrélation positive entre les quantités des composés phénoliques dans les huiles essentielles et l'activité antioxydante.

Selon (**Bourgou et al., 2008**), les composés des huiles essentielles les plus efficaces dans l'activité antioxydantes sont les monoterpènes oxygénés en particulier les phénols et les alcools. Notre huile est riche en monoterpènes oxygénés essentiellement l'oxyde piperitenone ce qui peut expliquer leur activité antioxydante. En revanche d'après (**Djenane et al., 2010**) les huiles

essentielles qui sont riches en composés non phénoliques ont également un pouvoir antioxydants.

Il faut noter que ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des HE qui sont responsables de cette activité antioxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (Laib, 2012).

4.2. Etude faite par (Abbou H et Benabida W, 2017) Espèce : *Lavandula stoechas*

L'utilisation de plusieurs méthodes analytiques complémentaires est recommandée pour l'évaluation de l'efficacité antioxydante des HEs (Sacchetti *et al.*, 2005 ; Sarikurkcu *et al.*, 2010).

Presque 90% des études sur l'activité antioxydante (AA) utilisent la méthode du DPPH (Kulusic *et al.*, 2004 ; Moon et Shibamoto, 2009). Cette méthode est simple et rapide d'étudier l'antioxydant (Koleva *et al.*, 2002) mais fortement sensible (Moon et Shibamoto, 2009).

Dans notre travail l'objectif est d'évaluer l'AA des HEs de *L.stoechas* L. par le test de piégeage du radical DPPH pour déterminer l'IC₅₀, cette dernière a été employée par plusieurs groupes de chercheurs afin de présenter leurs résultats (Abdulmajed *et al.*, 2005 ; Ranga *et al.*, 2009 ; Ahmad *et al.*, 2012).

Il est bien connu que quand une solution de DPPH est mélangée avec celle d'une substance contenant des antioxydants, le radical libre stable DPPH (couleur violet foncé) est converti en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm (Molyneux, 2004).

A partir des valeurs obtenues de l'Abs (ou DO), les PI des HEs et l'antioxydant standard (BHT) ont été calculés. Les résultats lors de ce test ont permis de tracer les courbes de la figure (27, 28), qui représente le PI en fonction de la concentration.

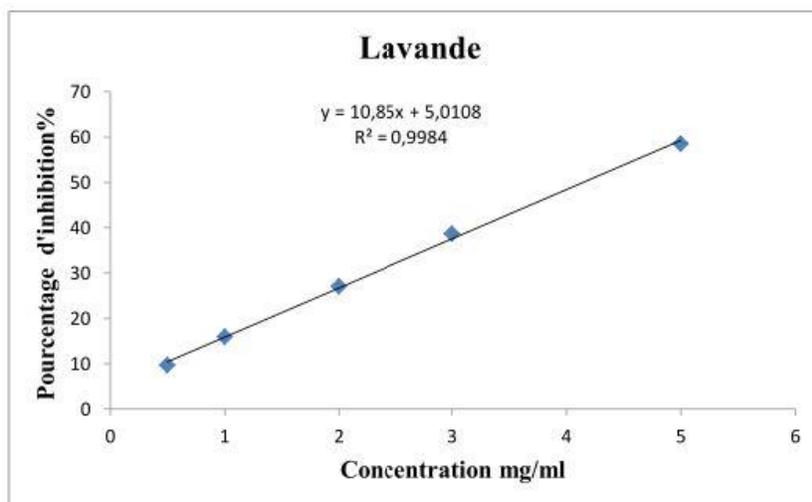


Figure 27 : Activité anti-radicalaire au DPPH des HEs de *L. stoechas* L

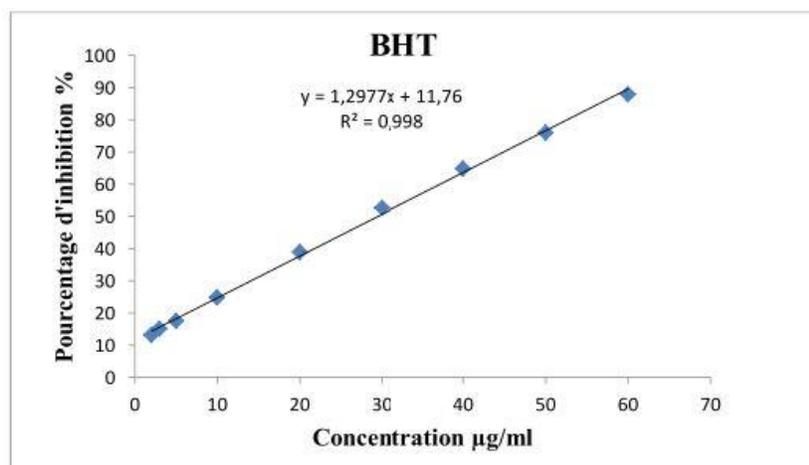


Figure 28 : Activité anti-radicalaire au DPPH de standard BHT.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les HEs ou pour le BHT.

La cinétique du pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC₅₀, qui correspond à la concentration d'HEs, ou de BHT nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notant que plus l'IC₅₀ est faible plus l'activité antioxydante du composé est importante. Les résultats des propriétés antioxydantes des HEs de la plante étudiée

et le BHT sont présentés dans le tableau 14 et figure 29. L'activité est exprimée sous la forme de valeurs d'IC₅₀ et d'indice d'activité antioxydant (AAI).

Tableau 14 : Résultat du test antioxydant exprimant l'IC₅₀ en µg /ml et AAI.

Extrait/substance chimique	IC ₅₀ ± SD	AAI
Huile essentielle de <i>L. stoechas</i>	4140 ± 0,05	0,001
L. BHT	29,62 ± 0,13	1,35

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3)

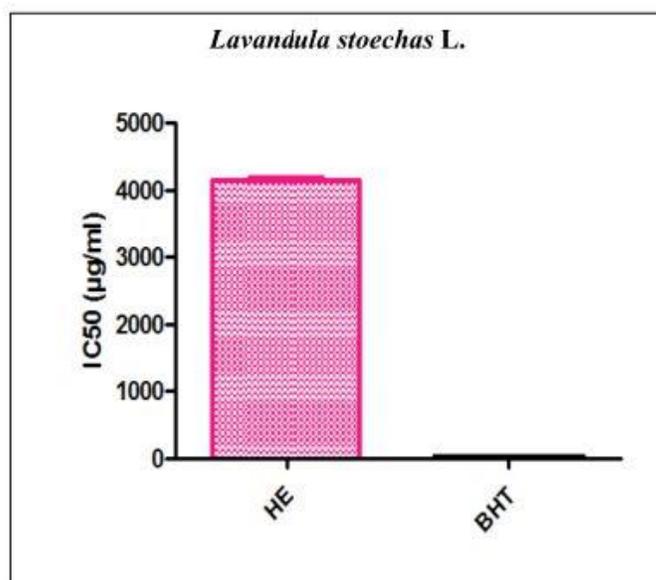


Figure 29 : IC₅₀ en µg/ml des HEs *L. stoechas* L. et de standard (BHT).

Les HEs présentent une activité antioxydante modéré avec une IC₅₀ de 4140 ± 0,05 µg/ml et un AAI de 0,001 par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, le BHT (IC₅₀= 29,62 ± 0,13µg/ml et AAI = 1,35) (P< 0,0001). Et plus élevé que celles menée par Benabdelkader (2012) sur les HEs de *L. stoechas* L. de trois régions de la wilaya de Bouira (Algérie) (Lakhedaria, Ain Bessam, Taguedit) avec des valeurs d'IC₅₀ de (5100µg/ml ; 32420 µg/ml ; 26800µg/ml).

L'AA des HEs peut être attribuée à divers mécanismes, de nombreuses études ont montré que les activités biologiques des HEs sont liées à leur composition chimique telle que les composés majoritaires. Cependant ce n'est pas uniquement ces dernières qui sont responsables de cette activité, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (**Sidi Boulouar et Ziane, 2003**).

Cette activité peut être entendue à la forte proportion de sesquiterpènes oxygénés (**Cherrat, 2013**). En outre, la présence du méthyl de l'eugénol peut jouer un rôle important dans les propriétés antioxydantes de cette HEs (**Ruberto et Baratta, 2000**), ce qui peut mener à des résultats variables selon le test employé.

Néanmoins, des substances supplémentaires, même à l'état de trace, participent à cette activité, ainsi, la présence de carvacrol même à faible concentration dans les HEs peut expliquer l'activité de piégeage du radical DPPH (**Economou et Venskutonis, 1991**).

D'après les résultats de (**Benabdelkader, 2012**), il semble que l'AA des HEs de *L. stoechas* L. algériennes peut être due à la présence de différentes molécules. En accord, l'HEs qui contient le plus grand nombre de molécules antioxydantes s'est avérée être également la plus antioxydante.

Conclusion

Conclusion

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

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques et des huiles essentielles auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes et des capacités antioxydantes.

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antioxydants des extraits de quelque plante de la famille de Lamiacée, plantes largement utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde.

Nous avons collecté des informations sur l'activité antioxydante des extraits de deux plantes (*Mentha rotundifolia* L. *Lavandula stoechas* L.). En se basant sur des études précédentes mené par des chercheurs dans ce domaine

D'après ces informations nous pouvons déduire que les extraits tel que les composés phénoliques et les huiles essentielles ont une importance dans notre vie quotidienne en raison de leur propriété biologique tel que l'activité antioxydante. Alors ces substances sont considérées comme des agents antioxydants qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé.

Nous pouvons également conclure que l'activité antioxydante des huiles essentielles et des composés phénoliques diffère d'une plante à l'autre, et cela est dû à plusieurs facteurs, dont la différence de type, ce qui signifie que chaque plante possède des quantités variables de ces extraits, aussi à la méthode de son extraction, le type de test utilisé.

References bibliographiques

- **Abbou Hanane et Benabida Wissem. (2017)** : Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A. Thèse de master en Biologie option : Biotechnologie et protection des végétaux.
- **Abdelli W., (2017)**. Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat : Microbiologie Appliquée. Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem, p. 15-19
- **Abdulmajed K., McGuigan C. and Heard C. M. (2005)**: Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res*; 39: 491-498.
- **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007)** Reactive oxygen species and superoxide dismutases : role in joint diseases, *Revue du Rhumatisme*, 2007, 74, 636-643.
- **Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. and Basir A. (2012)**: DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicol. Ind. Health*.
- **Aires A., Marques E., Carvalho R., Rosa E. A. S. and Saavedra M. J. (2013)**. Evaluation of biological value and appraisal of polyphenols and glucosinolates from organic baby-leaf salads as antioxidants and antimicrobials against important human pathogenic bacteria. *Molecules*. 18: 4651- 4668.
- **Ali M., Abbasi B. H. and Ul-haq I. (2013)**. Production of commercially important secondary metabolites and antioxidant activity in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L. *Industrial Crops and Products* 49:400-406
- **Aljadi A.M. and Kamaruddin M.Y. (2004)**. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry* **85**: 513-518.
- **Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Aarab L. and Chaouch A. (2011)**. Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 158(4), 513-523.
- **Ames B.M. (1983)**: Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. *Science*.221: 1256–1263.

- **Antwerpen P-V (2006)**. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myeloperoxydase /peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de Doctorat. Université libre de Bruxelles. 2006 pp 122
- **APG II (Angiosperm Phylogeny Group). (2002)**. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants, APG II. Bot. J. Linn. Soc.141: 399-436.
- **APG. (1998)**. An ordinal classification for the families of flowering plants. Annals of the Missouri Botanical Garden 85: 531–553
- **APG. (2003)** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Botanical Journal of the Linnean Society 141 :399–436
- **Aruoma, O.I. (1997)** Scavenging of hypochlorous acid by carvedilol and ebselen in vitro, Gen Pharmacol, 1997, 28 (2), 269-272.
- **Atefeibu E.S.I. (2002)**. Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'*Acacia Nilotica* Var *Andesonii*. Thèse de Doctorat, Université cheikh Anta Diop de Dakar. Pp 33.
- **Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S. and Khebri S. (2010)**. Activite anti- oxydante et Antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* l. *Lebanese Science Journal* 11(1) : 69-81.
- **Baba Aissa F. (2000)** Encyclopedie des plantes utiles.Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba. 46p.
- **Babior B-M., Lambeth J-D., Nauseef W. (2002)** The neutrophil NADPH Oxidase. Arch Biochem Biophys, 2002, 397 pp 342-344.
- **Badiaga M., (2011)** Etude ethanobotanique phytochimique et l'activité biologique de
- **Bahadori M. B., Zengin G., Bahadori S., Dinparast L., Movahhedine N. (2018)**. Phenolic composition and functional properties of wild mint (*Mentha longifolia* var.*calliantha* (Stapf) Briq.). International Journal of Food Properties. 21 (1): 198-208.
- **Bahorun T. (1997)**. Substances naturelles actives:la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritus*. 83 94.

- **Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D., Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 446-475.
- **Barroso J. G., Pedro L. G. (2007).** Chemical composition antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry* **10**: 5146–155.
- **Bärtels A., (1997) :** Guide des Plantes du Bassin méditerranéen. Editions Ulmer.
- **Bekhchi, C., Abdelouahid, D. (2010).** Les huiles essentielles. Office des publications universitaires
- **Belaiche P., 1979.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme. Ed. Maloine, Paris.
- **Benabdelkader Tarek. (2012) :** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Biologie végétale. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, Français, France ; Ecole normale supérieure de Kouba, Alger, Algérie.
- **Benderitter, M; Vincent-Genod, L; Pouget, J.P; Voisin, P. (2003)** The cell membrane as a biosensor of oxidative stress induced by radiation exposure: a multiparameter investigation, *Radiat Res* 2003, 159:471-483.
- **Bendif, H., Lazali, M., Harir, M., Miara, M. D., Boudjeniba, M., & Venskutonis, P. R. (2017).** Biological screening of *Ajuga iva* extracts obtained by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction. *Journal of Medicinal Botany*, **1**, 33-41.
- **Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1999)** Ferric reducing (antioxidant) power as a measure of antioxidant capacity: the FRAP assay, *Methods Enzymol*, 1999, Vol. 299; pp 15-36.
- **Betts, T. J. (2001).** Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. *J. Chromatogr. A* 936: 33-46.
- **Beyhan O., Elmastas M. and Gedikli F. (2010).** Total phenolic compounds and antioxidant capacity of leaf, dry fruit and fresh fruit of feijoa (*Acca sellowiana*, Myrtaceae). *Journal of Medicinal Plants Research* **4(11)**: 1065-1072.
- **Bimkr M., Rahman R. A., Ganjloo A., Taip S. F., Liza M. S., Sarker M. Z. I. (2011).** Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive

flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves by using response surface methodology. *Food Bioprocess Technol.* 89: 67-72.

- **Blumenthal M. (2000).** Herbal medicine, expanded commission E monographs in Integrative Medicine Communications, Newton.
- **Bo L., Philip D. C., Richard G. O., Gemma L. C. B., Chun-Lei X., Zhong-Hui M., Yun-Hong T., Dian-Xiang Z. (2016).** A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its subfamilial classification. *Scientific Reports.* 6 : 1-18.
- **Boizot N. & Charpentier.J.P., (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'INRA.* pp : 79-82.
- **Bouchouka, E., (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes. Thèse pour l'obtention du Doctorat en Sciences Biologiques, spécialité : phytochimie. Annaba, Université Badji Mokhtar, 98 p
- **Boulanouar B., Abdelaziz G., Aazza S., Gago G., Graç M. and Miguel M. (2013).** Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products* 46: 85– 96.
- **Boutekdjiret C., Bentahar F., Belabbes R. & Bessiere J.M. (1999)** Study of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil yield and composition as a function of the plant life cycle. *J. Essent. Oil Res,* 11 (2): 238-240.
- **Bowles, E. J. (2003).** Chemistry of Aromatherapeutic Oils. Allen & Unwin, ISBN 174114051X.
- **Brada M, Bezzina M, Marlier M, Carlier A. (2007).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du nord de l'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 11 : 3-7.
- **Brahmi F., Hadj-Ahmed S., Zarrouk A., Bezine M., Nury T., Madani K., Chibane M., Vejux A., Andreoletti P., Boulekbache-Makhlouf L., Lizard G. (2017).** Evidence of biological activity of *Mentha* species extracts on apoptotic and autophagic targets on murine RAW264.7 and human U937 monocytic cells. *Pharmaceutical Biology.* 55 (1): 286-293.
- **Brahmi F., Khodir M., Chibane M., Pierre D. (2017).** Chemical composition and

biological activities of mentha species. Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature. 47-79.

- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995)** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, LWT-Food Sci Technol, 1995, 28 (1), pp 25-30.
- **Bray L. (2005)**. Phylogénie des Angiospermes. Http : www. Botanique.org. Consulté le 25/04/18.
- **Brown, J. E., Khodr., H., Hider, R. C. and Rice-Evans, C. A. (1998)**. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. Biochemical Journal, 330: 1173-1178.
- **Bruneton J., (1993)**. Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales.
- **Bruneton J. (2009)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Ed. Paris : Tec & Doc Lavoisier.
- **Bruneton J., (1999)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- **Campanili E., (1998)**. Dictionnaire de la phytothérapie et des plantes médicinales. Techniques Nouvelles. p.421-424.
- **Cantino, P.D., Harley, R.M., Wagstaff S.J. (1992)**. Genera of Labiatae: Status and classification. In Harley, R.M., Reynolds, T., (eds.) Advances in Labiate Science, Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 511-522.
- **Cao, G; Alessio, H.M; Cutler, R.G. (1993)** Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants, Free Radic Biol Med 1993, Vol. 14; pp 303-311.
- **Carlier-Loy P. (2015)**. *Mentha spicata* : Description et utilisations en thérapeutique et en agriculture comme antigerminatif sur la pomme de terre. Thèse de doctorat. Université de Picardie Jules Verne. France.
- **Chaintreau A., Joulain D., Marin C., Schmidt CO., Vey M., 2003**. Quantification of fragrance compounds suspected to cause skin reactions. J Agric. Food. Chem. 51 : 398-403.
- **Cherrat Lamia. (2013)** : Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Université Abdelmalek Essaadi. Faculté des sciences et techniques- Tanger.

- **Cirlini M., Mena P., Tassotti M., Herrlinger K A., Nieman K M., Dall’Asta C., Del Rio D. (2016).** Phenolic and volatile composition of a dry spearmint (*Mentha spicata L.*) extract. *Molecules*. 21 (1007): 1-15.
- **Codoner- Franch P., Pons-Morales S., Boix-Garcia L., Valls-Bellés V. (2010)** Oxidant/antioxidant status in obese children compared to pediatric patients with type 1 diabetes. *Pediatric Diabete*, 2010, 11 (4): pp 251-7.
- **Coraline, B., Aurélie, B., Tanguy, C., Aurélie, L. G. (2006).** Les Huiles Essentielles. U.C.O Bretagne Nord.
- **Cornichon, B. E. (2017).** *THYM* [Online]. Available: <http://binette-etcornichon.com/p/thym/> [Accessed 04/03 2017].
- **Costa F, Yendo A.C. A., Fleck J. D., Gosmann G. and Fett-Neto A. G. (2013).** Accumulation of a bioactive triterpene saponin fraction of *Quillaja brasiliensis* leaves is associated with abiotic and biotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 66: 56-62.
- **Cotelle, N. (2001).** Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry*, 1: 569-590.
- **Cronquist A., (1981):** An integrated system of classification of flowering plants. *Columbia Univ. Press. New York*.1262 P.
- **Croteau, R., Kutchan, T. M., Lewis, N. G. (2000).** Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists.
- **Dacosta Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.
- **Dastmalchi, K., Damien Dorman, HJ., Oinonen, PP., Darwis, Y., Laakso, I., Hiltunen, R., 2008.** Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis L.*) extract. *Food. Sci. tech LWT*. 41 (3), 391-400.
- **De Franco, E. P. D., Jares Contesini, F., Lima da Silva, B., de Piloto Fernandes, A. M. A., Wielewski Leme, C., Gonçalves Cirino, J. P., Bueno Campos, P. R. And de**
- **De la Rosa, L.A., Moreno-Escamilla, O.J., Rodrigo-García, J., Alvarez-Parrilla, E. (2019).** Phenolic compounds *in* Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables, pp. 253-271.
- **Deschamps C., Zanatta J. L., Bizzo H. R., Oliveira M. C., Roswalka L. C. (2008).** Seasonal evaluation of essential oil yield of mint species. *Ciênc. Agrotec*. 32: 725-730.

- **De Rijke E., Out P., Niessen WMA., Ariese F., Gooijer C., Brinkman UAT., (2006).** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J.Chromatogr. A.* 1112: 31 - 63.
- **Deysson G., (1967).** Physiologie et biologie des plantes vasculaires, croissance, production, écologie, physiologie. Ed Société d'édition déneigement supérieur. Paris, 335p.
- **Diafat, A., Araar, L., Derradji, Y., & Bouaziz, F. (2016).** Acute and chronic toxicity of the methanolic extract of *Ajuga iva* in rodents. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, **9(2)**, 9-16.
- **Diallo, A., (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* willd. (Myrtaceae). Thèse pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie, spécialité : Pharmacie. Mali, Université d'Odonto-Stomatologie de Bamako, 100p
- **Disease in a defined population: the Hisayama study, Stroke,35 (9): 2072-2077.**
- **Djenane D., Aïder M., Yangüela J, Idir L., Gómez D. and Roncalés P. (2010).** Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat Science* **92** : 667–674.
- **Dupond F., Guignard J. L. (2012).** Botanique : Les familles de plantes. Elsevier Masson (15 ed.). Paris. P300.
- **Ebrahimzadeh M. A., Nabavi S. M. and Nabavi S. F. (2010).** Biological activities of *Mentha spicata* l. *Pharmacology online* **1**: 841-848.
- **Eberhard T., Robert A., Annelise L., (2005).** Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.
- **Economou L et Venskutonis R. (1991):** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs. *J. Sci. Food Agr.* **77**, 140-146.
- **Eltouassi, N. (2004)** Elaboration de procédés biotechnologiques pour la valorisation du romarin (*Rosmarinus officinalis*). Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 57p.
- **Essawi T. & Srour M., (2000):** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J.Ethnopharmacol.* **70**: 343–349.
- **Evans, P., Halliwell, B., (1999).** Free radicals and hearing: cause, consequence, and criteria. *Annals of the New York academy of sciences*, **884**: 19-40.
- **Fasty D., 2007.** Ma bible des huiles essentielles. Leduc Editions. P :20.

- **Favier, A. (2003)** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité en chimie, 2003, pp 108-115.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, p108-115.
- **Favier, A., (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann pharm*, 64 : 390-396.
- **FERDJIQUI SIHAM. (2014) :** Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia*. Université Ferhat Abbas Sétif-1. Thèse de magister en biologie. Option : Biochimie.
- **Ferdjioui, S. (2014).** Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia*. Thèse de Magister. Université Ferhat Abbas de Sétif.
- **Fiorenzuoli F., (2000).** Les 100 herbes du Salut. Techniques Nouvelles, p.196-197.
- **Flamini G., Cioni P. L., Morelli I., Macchia M., Ceccarini L., (2002).** Main agronomic productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L. and chemical composition of their essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. n.50, p.3512-3517.
- **Foti, M.C., Daquino, C., Geraci, C.** Electron- Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH Radical assay, *Journal Org Chem*, 2004, Vol.69; pp 2309-2461.
- **Franchomme P., Pénoël D., (1990).** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. P :445.
- **Frans A. Stafleu., et Richard S. Cowan., (1988),** Taxonomic literature: A selective guide to botanical publications and collections with dates, 2e éd.Paris p448
- **Fusco, R., Cordaro, M., Siracusa, R., D'Amico, R., Genovese, T., Gugliandolo, E., Peritore, A. F., Crupi, R., Impellizzeri, D., Cuzzocrea, S. & Di Paola, R. (2020).** Biochemical Evaluation of the Antioxidant Effects of Hydroxytyrosol on Pancreatitis Associated Gut Injury. *Antioxidants*, 9: 1-18.

- **Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. and Fernández-Gutiérrez A. (2010).** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15, 8813-8826.
- **Gardeli, C., Papageorgiou, V., Mallouchos, A., Theodosis, K. & Komaitis, M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107 : 1120-1130.
- **Gharib F.A. L and Silva J. A. T. (2013).** Composition, Total phenolic content and antioxidant activity of the essential of four Lamiaceae herbs. *Medicinal and Aromatic Plant Science Biotechnology* 7(1): 19-27.
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4 : 162-169.
- **González, I., Morales, M. A. Rojas, A. (2020).** Polyphenols and AGEs/RAGE axis. Trends and challenges. *Food Research International*, 129: 1-12.
- **Gourchala F. and Henchiri C. (2013).** Study of the effect of dates on blood glucose and lipid profile in healthy human subjects. *International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences* 3(3): 826-833.
- **Grigonis D., Venskutonis P.R., Sivik B., Sandahl M. & Eskilsson C.S., 2005.** Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). *J. Supercrit. Fluids*. 33(3) : 223-233.
- **Gueye P-M. (2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-erythrocytaire sur le globule rouge. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur Strosbourg. 2007, pp 247.
- **Gulluce M., Şahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A. & Ozkan H. 2007:** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chem.* 103: 1449–1456.
- **Haddouchi F., Lazouni HA., Meziane A. et Benmansour A., (2009) :** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique SCIENCE*. 05(2) : 246 – 259.

- **Hadi, M. (2004)** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques, Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur, Domaine : Pharmacochimie, Université Strasbourg I, 2004, pp155.
- **Haenen, G.R., Bast, A. (1991)** Scavenging of hypochlorous acid by lipoic acid, *Biochem Pharmacol*, 1991, 42 (11), pp 06-2244.
- **Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W., Riechel, T.L.** High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants, *Journal Agric Food Chem*, 1998, Vol 46 (5), pp 1887-1892.
- **Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Aruoma, O.I. (1995)** Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1995, Vol.35; pp 07-20.
- **Halliwell, B; Gutteridge, J.M.C (1987)** Aruoma, O. The deoxyribose method: a simple test-tube assay for determination of rate constant for reaction of hydroxyl Radicals, *Anal. Biochem*, 1987, pp 1215-219.
- **Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J. (2002).** Flavonoid's antioxidants:
- **Huang, D.J., Ou, B.X., Prior, R.L. (2005)** The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, *Journal Agric Food Chem*, 2005, Vol 53 (6), pp 1841-1856.
- **Ietswaart, J.H. (1980).** A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). Leiden Botanical Series, vol. 4. Leiden Univ. Press, The Hague.
- **Iriti M. (2013).** Plant neurobiology, a fascinating perspective in the field of research on plant secondary
- **Iserin P, Moulard F, Rachel R, Biaujeaud M, Ringuet J, Bloch J, Ybert E, Vican P, Masson M, Moulard F, Restellini J-P et botrel A. (2001).** La rousse: encyclopédie des plantes
- **Iwueke AV., Nwodo OFC., (2008).** Antihyperglycaemic effect of aqueous extract of *Daniella oliveri* and *Sarcocephalus latifolius* roots on key carbohydrate metabolic enzymes and glycogen in experimental diabetes. *Biokemistri*. 20: 63 - 70.
- **Jaakola L., 2013.** New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends in plant. science*. 18:477-483.
- **Jalas J., (1971).** Note of thymus L. (Labiatae) in Europe.1. Supraspecific classification

and nomenclature. Botanical Journal of the Linnean Society, Vol. 64, p.p. 199-215.

- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P. (2002)** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. 1ere Ed: Paris et Bruxelles. pp. 369-384.
- **Kamatou G.P.P., Makunga N.P., Ramogola W.P.N., Viljoen A.M. (2008)** South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. *Journal of ethnopharmacology*, 119(3) : 664-672.
- **Kholkhal, F., (2014).** Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp coloratus* et *ssp euciliatus*. Thèse pour l'obtention du Doctorat en Sciences, spécialité : Produits naturels, aspects nutritionnels et activités biologiques. Tlemcen, Université Abou Bekr Belkaid, 164p
- **Kim N.-S. and D.-S. Lee (2002).** Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography–mass spectrometry." *Journal of Chromatography a* **982**(1) : 31-47.
- **Kizil S., Hasini N., Tolan V., Kiliç E. and Yüksel U. (2010).** Mineral content, essential oil components and biological activity of two *Mentha* species (*M. piperita L.*, *M. spicata L.*). *Turkish Journal of Field Crops* **15**(2):148-153.113. Kliebenstein
- **Koehlin-ramonatxo, C., (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Cli nut and met*, 20 : 165-177.
- **Kokkini S., Karousou R., Hanlidou E. (2003).** Herbs | Herbs of the Labiatae. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 3082-3090.
- **Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., De Groot, A., Evstatieva, L.N. (2013).** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochem Anal*, 2001, Vol.13; pp 08-17.
- **Kontoghiorghes, G. J. (2020).** advances on chelation and chelator metal complexes in medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 1-8.
- **Krief S., (2003)** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse Doct-Ecologie et chimie, Museum national d'histoire naturelle, MNHN, Paris,346p.

- **Krishna D., Chaluvadi M., Raj N. and Sripal R., (2001).**, Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol.* 33: 2-16.
- **Kulisic T., Radonic A., Katalinic V. and Milos M. 2004:** Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85, 633-640.
- **Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M. & Świerczek-Zięba, G. (2014).** Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, 19: 78-101.
- **Laguerre, M., López-Giraldo, L.J., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2010).** Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante, *Fondamental, OCL*, 2007, Vol.14 (5) ; pp 278-292.
- **Lagunez Rivera, L. (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe.
- **Lahrech K. (2010) :** "Extraction et analyses des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. et de *Saccocalyxatureioide*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques," Theses, Université d'Oran Es-Senia, Oran.
- **Laib I. (2012).** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. *Nature & Technologie* 7: 44 -52.
- **Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., Carde, J.P. (1994).** Biogénèse des monoterpènes : la chaîne isoprénique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.* 133 : 79 - 99.
- **Lamendin H. (2007)** Soignez votre bouche par les plantes : remède d'hier et aujourd'hui. 5ème Ed. L'Harmattan. Paris. 34p. [13] Perrucci S., Mancianti F., Cioni P.L., Flamini G., Morelli I., et Macchioni G. (1994). In vitro antifungal activity of essential oils against some isolated of *Microsporum canis* and *Microsporum*
- **Lee C., Chen L., Chang T., Ke W., Lo Y. and Wang C. (2011).** The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. *Food Chemistry* 124: 833-841.
- **Lee D, Yoon M. H., Kang Y. P., Yu J., Park J. H., Lee J., Kwon S. W. (2013).** Comparison of primary and secondary metabolites for suitability to discriminate the origins of *Schisandra chinensis* by GC/MS and LC/MS. *Food Chemistry* 141: 3931–3937.

- **Lin, S., Zhang, G., Liao, Y., Pan, J. & Gong, D. (2015).** Dietary Flavonoids as Xanthine Oxidase Inhibitors: Structure-Affinity and Structure-Activity Relationships. *Journal*
- **Lu, Y., Foo, L.Y., (2001).** Antioxidant activity of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chem.* 75, 197–202.
- **Möller M. (1997).** Production, purification et activité biologique des picéïdes (stilbènes) extraits de cultures cellulaires de *vitis vinifera* L. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 136, 7-18.
- **Macheix J.J., Fleuriet A. and Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p. 4-5.
- **Macheix, J.J., Fleuriet, A. & Jay- Allemand, C.H. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Pp : 1-31.
- **Madhavi DL., Deshpande SS., Salunkhe DK., 1996.** Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.
- **Magalhaes, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J. (2008)** Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *Analytica Chimica Acta*, 2008, Vol.613; pp 01-19.
- **Mamadaliyeva N. Z., Akramov D., Ovidi E., Tiezzi A., Nahar L., Azimova S. S., Sarker S. D. (2017).** Aromatic medicinal plants of the *Lamiaceae* family from Uzbekistan: ethnopharmacology, essential oils composition, and biological activities. Academic Editor. 4(1) : 8.
- **Marfak, A., (2003)** Radiolyse Gamma des Flavonoides. Etude de Leur Réactivité avec les Radicaux issus des Alcools : Formation de Depsides. Docteur de l'université de Limoges Spécialité : Biophysique, Université de Limoges, Ecole Doctorale Sciences Biologie Santé, Faculté de Pharmacie, 2003, pp220.
- **Martin P. (2014).** Les familles de plantes à fleurs d'Europe : Botanique systématique et utilitaire. Presses Universitaires de Namur (ed.). Belgique. P289.
- **Matkowski A. and Piotrowska M. (2006).** Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia* 77: 346-353.

Matricaria chamomilla: antioxidant activity and inhibitory effect on digestive enzymes. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 35 (1): 42-49.

- **Middleton E., Kandaswami C. & Theoharides T.C., (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.* 52 : 673-839.
- **Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S., (2004).** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochem. Rev.* 3 :173-193.
- **Milardovic, S., Ivekovic, D., Grabaric, B.S. (2006)** A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical, *Bioelectrochemistry*, 2006, Vol.68; pp 175-265
- **Misra B. B. and Dey S. (2012).** Phytochemical analyses and evaluation of antioxidant efficacy of *in vitro* Callus Extract of East Indian Sandalwood Tree (*Santalum album L.*) *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* **1(3):** 7-16
- **Mohos, V., Fliszár-Nyúl, E. & Poór, M. (2020).** Inhibition of xanthine oxidase-catalyzed xanthine and 6-mercaptopurine oxidation by flavonoid aglycones and some of their conjugates. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 : 1-10.
- **Molyneux P et Songklanakarin J. (2004):** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *SciencesTechnology.* Vol 26 (2): 211-219.
- **Moon J-K. and Shibamoto T. (2009):** Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J. Agric. Food Chem.*, 57 (5), pp.1655-1666.
- **MORALES, R., STAHL BISKUP, E. & SÁEZ, F. (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. *Thyme: the genus Thymus*, 1-43.
- **Muanda F.N, (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, université Paul Verlaine, Metz. France.
- **Multon JL., Richard-Molard D., and Roquebert MF., 1998.** Moisissures des alimentpeu hydrates. Lavoisier Tec&Doc, France.

- **Naczki M. & Shahidi F., (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A*. 1054: 95-111.
- **Nagao, A., Seki, M. & Kobayashi, H. (1999).** Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63 (10): 1787-1790.
- **Naghbi F., Mosaddegh M., Motamed S-M. and Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79.
Nauclea latifolia smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse Doct., Univ.Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes ,137p.
- **Nickavar B., Alinaghi A. and Kamalinejad M. 2008.** Evaluation of the Antioxidant Properties of Five *Mentha* Species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), 203-209.
- **Nouioua W. (2012).** Biodiversité et ressources phylogénétiques d'un écosystème forestier « *Paeonia mascula* (L.) mill. ». Mémoire de Magister en biodiversité et gestion des écosystèmes. Département de biologie végétale et d'écologie. Faculté des sciences de la nature et la vie. Université Sétif (Algérie).
- **O.M.S., 2002 :** Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.
- **Oliveira Carvalho, P. (2020).** Enzyme-assisted modification of flavonoids from *Matricaria chamomilla*: antioxidant activity and inhibitory effect on digestive enzymes. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 35 (1): 42-49.
- **Osman I. H. (2013).** *In Vitro* Antioxidant activity of *Mentha pulegium* from Saudi Arabia. *Bioscience Research* **10(1)**: 33-37.
- **Ou, B.X., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, E.K., Prior, R.L., Huang, D.J. (2002).** Novel Fluorometric Assay for Hydroxyl Radical Prevention Capacity Using Fluorescein as the Probe, *Journal Agric Food Chem*, 2002, Vol. 50 (10); pp 2772-2777.
- **Özyürek M., Kubilay G., Tütem E., Kevser S. B., Erol E., S. Esin Ç., Baki S., Yildiz L., Karaman S., Apak R. (2011).** A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical Methods*. 3 (11): 2439.
- **Padrini F., et Lucheron M. T. (1996).** Le grand livre des huiles essentielles Guide pratique

pour retrouver vitalité bien être et beauté avec les essences et l'aramassage énergétique avec plus de 100 photographies. Ed. DeVecchi. 15p.

- **Pan L., Zhe-Chen Q., Lu-Xian L., Ohi-T T., Joongku L., Tsung-Hsin H., Cheng-Xin F., Kenneth M., Cameron., Ying-Xiong Q. (2017).** Molecular phylogenetics and biogeography of themint tribe *Elsholtzieae* (*Nepetoideae*, *Lamiaceae*), with an emphasis on its diversification in East Asia. *Scientific Reports*. 7 : 1-12.
- **Parejo I; Viladomat F; Bastida J; Rosas-Romero A; Flerlage N; Burillo J; Codina C. (2008)** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*; 2002, Vol. 50; pp 6882-90.
- **Paris M. & Hurabielle M., (1981).** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome 1 : généralités, monographies. Ed. Masson, Paris.
- **Perez, C., Sanchez, J., Marmol, F., Puig-Parellada, P., Pouplana, R. (2007)** Reactivity of Biologically Important NSAID Compounds with Superoxide O₂⁻, nitric oxide .NO and Cyclooxygenase Inhibition, *QSAR Comb Sci*, 2007, Vol.26 (3); pp 368-377.
- **Philippe Jean-Marie. 1993 :** Le guide de l'apiculture. La Calade: Edisud.
- **Pichersky, E., Noel, J. P., Dudareva, N. (2006).** Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science*. 311 : 808-811.
- **Pietta, P.G. (2000).** Flavonoids as antioxydants. *Journal of Natural Products*,63:1035-1042.
- **Piquet MA., et Hébuterne X., (2007).** Nutrition en pathologie digestive ; Ed : DOIN ; p : 16,20.
- **Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. (2006).** In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Compl. Altern. Med*. 6: 39.
- **Quezel P et Santa S. (1963) :** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Préface du Pr L. EMBEGER. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. 15, quai Anatole- France- Paris 7.
- **Rameshwar N., Ismail R. B., Chen Y., Sasidharan S., Kumar P. (2012).** Chemical composition and antioxidant activity of the crude methanolic extracts of *Mentha*

spicata. *Journal of Phytology*. 4 (1): 13-18.

- **Ranga R. R., Tiwari A. K., Prabhakar R. P., Suresh B. K., Ali A. Z., Madhusudana K. and Madhusudana R. J. 2009:** New furanoflavanoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorg. Med. Chem.* 17: 5170-5175.
- **Richard F., (1992).** *Manuel des corps gras*, Paris, Ed : Lavoisier, Tec.&Doc. P :1228-1242.
- **Roamba, E. N., Dibala, C. I., Bengaly, M. D., Diao, M., Konate, K. & Dicko, M. H. (2020).** Evaluation of the nutritional and antioxidant potentialities of *Capparis corymbosa*. *African Journal of Food Science*, 14 (7): 201-208.
- **Roberts RA., Smith RA., Safe S., et al. (2010)** Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, 2010, Vol. 276; pp 285-94.
- **Roginsky, V., Lissi, E.A. (2005)** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chem*, 2005, Vol. 92 (2); pp 235-254.
- **Ruberto G. and Baratta M.T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69, 167-174.
- **Saadatian M., Aghaei M., Sarahpour Met Balouchi Z. 2013:** *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 1(2) “Chemical composition of lavender (*Lavandula officinalis* L.) Extraction extracted by two solvent concentrations”. p. 214-217.
- **Sahin, F. (2003).** Invitro antibacterial, Antifungal, and Antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbalparts and callus cultures of *satureja hortensis* L. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 51: 3958-3965.
- **Sahin, F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M. Agar, G. et Ozer, H. (2004).** Biological activities of the essential oil and Methanol extract of *Origanum vulgare*ssp. *vulgar* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*.
- **Sánchez-Rodríguez, C., Peiró, C., Rodríguez-Mañas, L. and Nevado, J. (2020).** polyphenols attenuate highly-glycosylated haemoglobin-induced damage in human peritoneal mesothelial cells. *Antioxidants*, 9: 1-15.

- **Sarikurkcu C., Ozer M.S., Eskici M., Tepe B., şendil C. and Mete E. (2010):** Essential oil composition and antioxidant activity of *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis* var. *longicaulis*. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1801-1805.
- **Sarikurkcu C., Tepe B., Daferera D., Polissiou M. and Harmandar M. (2008).** Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (Lamiaceae) by threedifferent chemical assays. *Bioresource Technology* **99**: 4239-4246
- **Sarni-Manchado P and Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 2-10.
- **Scartezzini F., (2001).** Il tempo dei Rosmarini Influenza dell'epoca di raccolta sul contenuto ela composizione dell'olio essenziale di due cloni di rosmarino (*Rosmarinus officinalis* L.) coltivati in Trentino. *Erboristeria domain*, n.10, p.42-46.
- **Sevanian A., Nordenbrand K., Kim E., Ernester L., Hochstein P. (1990)** Microsomal lipid peroxidation: The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450. *Free Radic Biol Med*, 1990, Vol. 8; pp 145-152
- **Sharma O. P. and Bhat T. K. (2009).** DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry* **113**: 1202-1205.
- **Shellie R., Marriott P., Chaintreau A., 2004.** Quantification of suspected allergens in ragrances: evaluation of comprehensive two-dimensional GC for quality control. *Flavor. Fragr. J.* 19: 91-98.
- **Shimizu, H. (2004).** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study, *Stroke*,35 (9): 2072-2077.
- **Sidi Boulenouar. K & Ziane. A. (2003) :** Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. de la région de Tlemcen. Mémoire de DES en Biochimie. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, 54 p.
- **Sies, H. (1997).** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82 :291–295.
- **Silva L F., Cardoso M. das G., Batista L. R., Gomes M. de S., Rodrigues L. M. A., Rezende D. A. de C. S.,Teixeira M. L..., Carvalho M. S. S., Santiago J. de A.et Nelson D. L., (2015):** “Chemical characterization,antibacterial and antioxidant activities of

essential oils of *Mentha viridis* L. and *Mentha pulegium* L. (l),” *Am. J. Plant Sci.*, vol. 6, pp. 666–675.

- **Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (2011).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods Enzymol*, 1999, Vol. 299; pp 152-178.
- **Sivakumar C. H. V. and Meera I. (2013).** Antioxidant and Biological Activities of Three Morphotypes of *Murraya koenigii* L. from Uttarakhand. *Food Processing & Technology* **4(7)**: 1-7.
- **Skocibusic M, Bezic N, Dunkic V (2006):** Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. *Food Chem* **96**: 20–28.
- **Stagos D., Portesis N., Spanou C., Mossialos D., Aligiannis N., Chaita E., Panagoulis C., Reri E., Skaltsounis L., Aristidis M., Tsatsakis A. M. and Kouretas D. (2013).** Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. *Food and Chemical Toxicology* **50**: 4115–4124.
- **Sutour S. (2010).** Etude de la composition chimique d’huiles essentielles et d’extraits de menthes decorse et de kumquats. Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli. France.
- **Tapas A. R., Sakarkar D. M. and Kakde R. B. (2008).** Flavonoids as nutraceuticals: A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. **7(3)**: 1089-1099.
- **Tolba L., (2016).** Détermination d’une méta-paramètre pour l’estimation de la capacité
- **Troppens D. M., Chu M., Holcombe L. J., Gleeson O., O’Gara F., Read N. D. and Morrissey J. P. (2013).** The bacterial secondary metabolite 2, 4-diacetylphloroglucinol impairs mitochondrial function and affects calcium homeostasis in *Neurospora crassa*. *Fungal Genetics and Biology* **56**: 135–146.
- **Tsao, R., Yang, R., Young, J.C., (2003)** Antioxidant Isoflavones in Osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid, *Journal Agric Food Chem*, 2003, Vol. 51 (22); pp 6445-6451.

- **Umeno, A., Horie, M., Murotomi, K., Nakajima, Y. & Yoshida, Y. (2016).** Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. *Molecules*, 21: 1-15.
- **Upson T. M., Grayer R. J., Greenham J. R., Williams C. A., Al-ghamdi F et Chen F.H. (2000):** Leaf favonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochemicals Systematics and Ecology*. n. 28, p. 991-1007.
- **Veres K. (2007).** Variability and biologically active components of some Lamiaceae species. Ph.D. Thesis, Department of Pharmacognosy, University of Szeged, Hungary.
- **Vladimir-Knežević S., Blažeković B., Štefan M. B., Alegro A., Kószegi T. and Petrik J. (2011).** Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia. *Molecules* **16**: 1454-1470.
- **Vriesman, M.F., Haenen, G.R., Westerveld, G.J., Paquay, J.B.G., Voss, H.P., Bast, A (1997).** *Pharm World Sci*, 1997, Vol. 19, pp 283-326.
- **Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J., & Wink, M. 2004 -** *Salvia* (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systmatics, radiation, and ecological pecializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91 (7), pp. 1115–1125.
- **Wan PJ., Pakarinen DR., Hron RJ., 1995.** Alternative hyrocarbon solvent for cottonseed extraction. *J. Am.Oil Chem. Soc.* 72:653-659.
- **Wang L., Yen JH., Liang HL., Wu1 MJ., (2003).** Antioxidant Effect of Methanol Extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.). *Journal of Food and Drug Analysis*. 11(1): 60-66.
- **Wang W., Wu N., Zu Y.G. & Fu Y.J., 2008:** Antioxydative activity of *Rosemarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chem.* 108: 1019-1022.
- **Wichtl Max, Anton Robert. (2003)** *Plantes thérapeutiques (2° Éd.) Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*
- **Wilkinson, F., Helman, W.P., Ross, A.B. (1995)** Rate Constants for the Decay and Reactions of the Lowest Electronically Excited Singlet State of Molecular Oxygen in Solution, *Journal Phys Chem*, 1995, Vol. 24; pp 590-663.

- **Yumrutas O. and Saygideger S. D. (2012).** Determination of antioxidant and antimutagenic activities of *Phlomis armeniaca* and *Mentha pulegium*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **02(01)**: 36-40.
- **Zaabat N. (2012).** Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de deux espèces de la famille des Lamiacées : *Marrubium deserti* de Noé et *Phlomis bovei* de Noé. Thèse de doctorat. Algérie.
- **Zweier, J., Hassan, L., Talukder, M.A., (2006).** The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc. Res*, 70(2): 181-190.