

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Biotechnologies



Mémoire de Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Option : Biotechnologie Végétale

Filière : Agronomie

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Thème

**Etude phytochimique, activité antimicrobienne et
antioxydante de *Lavandula dentata L.* (la lavande dentée)**

Présenté par : Essemiani Naziha

Soutenu le : 11/10/2014

Devant le jury composé de :

M^{me}. Houmani Z.	Professeur	Université Blida 1	Présidente
M^{me}. Kebour D.	Maitre de conférences A	Université Blida 1	Promotrice
M^{me}. Mouméne S.	Maitre assistante A	Université Blida 1	Examinatrice
M^{me}. Tafifet L.	Doctorante	Université Blida 1	Examinatrice

2013 - 2014

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier :

Ma promotrice, M^{lle} Kebour D. Maitre de conférence A à l'université de Blida1 pour sa patience, ses encouragements et les efforts fournis.

M^{me} Houmani Z. Professeur à l'université de Blida1 d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de ce mémoire.

M^{me} Mouméne S. Maitre assistante A à l'université de Blida1 d'avoir consacré une partie de son temps pour examiner notre travail et faire partie du jury.

M^{me} Tafifet L. Doctorante à l'université de Blida1 d'avoir consacré une partie de son temps à examiner ce mémoire et faire partie du jury.

Je tiens à remercier vivement M^{me} Chabane D. à l'université de Blida1 l'ingénieur principal du laboratoire de biochimie pour son aide durant la période de la réalisation de ce modeste travail.

Je tiens aussi à remercier tout les ingénieurs des laboratoires du département de Biologie.

Enfin, merci à toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*Aux êtres les plus chers au monde, mes parents qui m'ont encouragé
durant toutes ces années d'études.*

*A mon mari **Mohamed Chérif**.*

*A mes deux fils **Anés et Walid**.*

A ma grand-mère en lui souhaitant une longue vie.

A ma tante et ses enfants.

A mes sœurs, mes frères, cousins et cousines.

*A mes amies : **Yousra, Chafika, Selma et Zahra**.*

A ma belle famille.

A toute ma famille paternelle et maternelle.

*A toute la promotion de biotechnologie végétale : **2013/2014**.*

Najiba

دراسة نباتية كيميائية, و دراسة للنشاط ضد الميكروبي و للمضادة الأكسدة لنبتة الجتجات (Lavandula dentat)

الملخص

هذا العمل هو مساهمة لدراسة نباتية كيميائية و تحليلية, متنوعة بدراسة لنشاط ضد الميكروبي و مضادات الأكسدة من أوراق والزهور لنبتة الجتجات.

وكشف الفحص الكيميائي النباتي وجود مركبات الفلافونيد, الصابونوسيد, لوكوانتوسيان, الجليكوسيدات, الكومارين, الهلام النباتي و الانتوسيانين مع انعدام القلويدات داخل أوراق والزهور للنبتة المدروسة. الإستخلاص الميثانولي للبوليفينول من مسحوق أوراق والزهور لنبتة الجتجات, أعطى مردود 17.٪.

يسمح الفحص الطيفي لنا قياس البولفينول العام والتي كانت $660.82 \pm 53,33$ ميكروغرام /غرام و $228.47 \pm 16,77$ ميكروغرام /غرام معادل حمض الغال بالنسبة للمستخلص الميثانولي و المستخلص المائي . علما أن نفس الفحص,مكننا من قياس تركيز الفلافونيد ، التي كانت $6,439 \pm 1,03$ ملغ / غ مكافئ روتين.

وأظهر تقييم نشاط ضد الميكروبي، عموما أن البكتيريا حساسة اتجاه المستخلص الميثانولي و مقاومة اتجاه المستخلص المائي 10٪ من أوراق والزهور لنبتة الجتجات. بينما اختبار السلالات الفطرية أظهرت حساسية مهمة اتجاه المستخلص الميثانولي.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي قدرة ازاحية متوسطة اتجاه جذر الحر DPPH . و $IC_{50} = 41,34 \pm 7,5$ ميكروغرام/ مل.

كلمات البحث : نبتة الجتجات, الفحص الكيميائي النباتي ، والنشاط ضد الميكروبي والنشاط المضاد للأكسدة .

Etude phytochimique, activité antimicrobienne et antioxydante de *Lavandula dentata* L. (la lavande dentée)

Résumé

Le présent travail, est une contribution, à l'étude phytochimique et analytique suivie par la mise en évidence de l'activité antimicrobienne et antioxydante des feuilles et fleurs de *Lavandula dentata* L.

Le screening phytochimique, a révélé la présence des flavonoïdes, des tannins catéchiques, des tannins galliques, des saponosides, des leuco-anthocyanes, des glycosides, des coumarines, des mucilages et des anthocyanes avec absence des alcaloïdes dans les feuilles et fleurs de la plante étudiée.

L'extraction méthanolique, des polyphénols de la poudre des feuilles et fleurs de la lavande dentée, a donné un rendement de 17 %.

Le dosage spectrophotométrique, nous a permis de quantifier les teneurs en composés phénoliques, qui ont été de $660,82 \pm 53,33 \mu\text{g}/\text{mg}$ éq acide gallique et $228,47 \pm 16,77 \mu\text{g}/\text{mg}$ éq acide gallique respectivement pour l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux. Ce dosage, nous a permis aussi de quantifier la teneur en flavonoïdes, qui a été de $6,439 \pm 1,03 \text{ mg}/\text{g}$ éq Rutine.

L'évaluation du pouvoir antimicrobien, a montré que, globalement, les bactéries ont été sensible vis-à-vis l'extrait éthanolique et résistante vis-à-vis l'extrait aqueux à 10% des feuilles et des fleurs de *Lavandula dentata* L. Tandis que, les souches fongiques étudiées, ont révélé une sensibilité plus importante vis-à-vis l'extrait éthanolique.

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique a montré un moyenne pouvoir de piégeage de radical libre DPPH. Le $\text{IC}_{50} = 41,34 \pm 7,56 \mu\text{g}/\text{ml}$.

Mots clés : *Lavandula dentata* L, screening phytochimique, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Phytochemical study, antimicrobial and antioxidant activity of *Lavandula dentata* L. (toothed lavender)

Abstract

This work is a contribution to the phytochemical and analytical study followed by the discovery of antimicrobial and antioxidant activity of the leaves and flowers of *Lavandula dentata* L.

The phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, tannins of catechin , gallic tannins , saponins , leuco - anthocyanins , glycosides , coumarins , mucilage and anthocyanin with absence of the alkaloids in the leaves and flowers the plant studied .

The methanolic extraction of polyphenols about leaves and flowers of the toothed lavender , gave a 17% yield .

The assay spectrophotometric has allowed us to quantify the levels of phenolic compounds which were $660,82 \pm 53,33 \mu\text{g} / \text{mg eq gallic acid}$ and $228,47 \pm 16,77 \mu\text{g} / \text{mg eq gallic acid}$ respectively for the methanol extract and aqueous extract. This assay has also allowed us quantified the flavonoid content, which was $6,439 \pm 1,03 \text{ mg} / \text{g eq Rutin}$.

Evaluation of antimicrobial activity showed that, overall, the bacteria were sensitive against the phenolic extract and resistant against the aqueous extract to 10 % of the leaves and flowers of *Lavandula dentata* L. While , the fungal strains tested , fungal strains tested, showed a higher sensitivity with regard to the ethanolic extract.

The study of the antioxidant activity of the methanol extract showed a modest power scavenging free radical DPPH. The $\text{IC}_{50} = 41,3 \pm 7,56 \mu\text{g} / \text{ml}$.

Keywords: *Lavandula dentata* L, phytochemical screening, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
ATCC	American Type Culture Collection
[C]	Concentration
DPPH	Diphenyl-1-picrylhydrazil
DO	Densité optique
EA	Extrait aqueux
EM	Extrait méthanolique
éq	équivalent
ISO	International Standard Organization
PFE	Projet de Fin d'Etudes
T°	Température
UV	Ultra-violet

Liste des figures

Figure 01: Biosynthèse des métabolites secondaires.....	3
Figure 02: Structure de base des flavonoïdes.....	5
Figure 03: Structures des différentes classes de flavonoïdes.....	6
Figure 04: Taxonomie du genre <i>Lavandula</i>	11
Figure 05: Feuilles dentées de <i>Lavandula dentata</i> L.....	12
Figure 06: Fleurs de <i>Lavandula dentata</i> L. regroupées en inflorescence.....	12
Figure 07: Carte géographique de la répartition des sections du genre <i>Lavandula</i>	13
Figure 08 : Cicadelle adulte (<i>Hyalesthes obsoletus</i>).....	15
Figure 09: Schéma général de la procédure expérimentale effectuée sur <i>la lavande dentée</i>	20
Figure 10: Protocole expérimental d'extraction méthanolique des feuilles et fleurs de la lavande dentée (<i>Lavandula dentata</i> L.)	24
Figure 11: Différentes étapes de l'activité antimicrobienne.....	31
Figure 12: Forme libre et réduite du DPPH.....	32
Figure 13: Présence des flavonoïdes.....	35
Figure 14: Présence des saponosides.	35
Figure 15: Présence des leuco-anthocyanes.....	36
Figure 16: Présence de glucosides.....	36
Figure 17: Présence des coumarines.....	36
Figure 18: Présence des mucilages.....	36
Figure 19: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	37
Figure 20: Résultat de l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique sur les souches utilisées.....	41
Figure 21: Zones d'inhibition des souches microbiennes : <i>Escherichia coli</i> , <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus subtilis</i> vis-à-vis l'extrait éthanolique.....	42
Figure 22: Absence des zones d'inhibition (9mm) pour <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus epidermis</i> et <i>Beauveria bassiana</i> vis-à-vis l'extrait aqueux.....	43
Figure 23: Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique.	45
Figure 24: Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en quercétine.....	45
Figure 25: Balance analytique.....	ANNEXE 2
Figure 26: Plaque chauffante.....	ANNEXE 2
Figure 27: Tests du screening phytochimique.....	ANNEXE 3

Liste des tableaux

Tableau 01: Classes des composés phénoliques.....	04
Tableau 02: Souches microbiennes utilisées.....	18
Tableau 03: Dosage différentiel spectrophotométrique, des composés phénoliques de l'extrait méthanolique et l'EA	26
Tableau 04: Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes de l'extrait méthanolique à 10mg/1ml	27
Tableau 05: Le degré de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre de la zone d'inhibition.....	30
Tableau 06: Taux d'humidité de la poudre des feuilles et des fleurs de <i>Lavandula dentata</i> L.....	34
Tableau 07: Résultats des différentes réactions du screening phytochimique.....	35
Tableau 08 : Rendement de l'extraction méthanolique de la poudre feuilles et des fleurs de <i>Lavandula dentata</i> L.....	36
Tableau 09 : Résultats du dosage des composés phénoliques de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux à 10% de <i>Lavandula dentata</i> L.....	38
Tableau 10 : Résultats du dosage spectrophotométrique, des flavonoïdes de l'extrait méthanolique de <i>Lavandula dentata</i> L.....	39
Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibitions des souches microbiennes étudiées.....	40

Sommaire

Introduction.....	1
1. Recherche bibliographiques	
1.1. Métabolites secondaires.....	3
1.1.1. Définition.....	3
1.1.2. Intérêt des métabolites secondaires.....	3
1.1.3. Biosynthèse des métabolites secondaires.....	3
1.1.4. Classification des métabolites secondaires.....	4
1.1.4.1. Les composés phénoliques.....	4
1.1.4.2. Les isoprénoïdes (Stéroïdes et Terpénoïdes).....	7
1.1.4.3. Les composés azotés (dérivés des acides aminés).....	7
1.2. Généralités sur les plantes médicinales.....	8
1.2.1. Historique.....	8
1.2.2. Définition des plantes médicinales.....	8
1.2.3. Rôle des plantes médicinales.....	8
1.2.4. Définition de la phytothérapie.....	9
1.2.5. Les avantages de la phytothérapie.....	9
1.3. Généralités sur la famille des lamiacées.....	10
1.3.1. Présentation de la famille des lamiacées.....	10
1.3.2. Description botanique des lamiacées.....	10
1.4. Généralités sur la lavande dentée: <i>Lavandula dentata</i> L.....	10
1.4.1. Etymologie.....	10
1.4.2. Systématique.....	10
1.4.3. Description botanique de <i>Lavandula dentata</i> L.....	12
1.4.4. Origine de la lavande dentée.....	13
1.4.5. Plantation de <i>Lavandula</i>.....	14

Sommaire

1.4.6. Influence du sol sur la culture de <i>Lavandula</i>	14
1.4.7. Protection phytosanitaire de <i>Lavandula</i>	15
1.4.8 Récolte de <i>Lavandula</i>	15
1.4.9. Multiplication de <i>Lavandula dentata</i> L.....	16
1.4.10. Utilisations de la <i>Lavande</i> L.....	16
1.4.11. Composition chimique	17
2. Matériel et méthodes	
2.1. Lieu de travail.....	18
2.2 Matériel.....	18
2.2.1. Matériel biologique.....	18
2.2.2. Matériel non biologique.....	19
2.3. Méthodes.....	19
2.3.1. Taux d'humidité « H ».....	21
2.3.2. Tests du Screening phytochimique.....	21
2.3.3. Extraction méthanolique.....	23
2.3.4. Analyse quantitative de l'extrait méthanolique par spectrophotométrie.....	25
2.3.4.1. Dosage des composés phénoliques.....	26
2.3.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	27
2.4. Les activités biologiques.....	28
2.4.1 L'activité antimicrobienne.....	28
2.4.2. Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode au DPPH.....	32
3. Résultats et discussion	
3.1. Résultat de l'étude phytochimique.....	34
3.1.1. Détermination du taux d'humidité.....	34
3.1.2. Screening phytochimique.....	34

Sommaire

3.2. Résultat du rendement de l'extraction méthanolique.....	36
3.3. Résultats de l'analyse quantitative par spectrophotomètre UV- visible.....	37
3.3.1. Résultats du dosage des composés phénoliques.....	37
3.3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes.....	39
3.4. Résultats de l'étude des activités biologiques.....	40
3.4.1. Résultats de l'activité antimicrobienne.....	40
3.4.2. Résultats de l'activité antioxydante.....	44
Conclusion et perspectives.....	47

Annexes

Références bibliographiques

Introduction

Introduction

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes et dérivés, des terpènes, stéroïdes et des composés polyphénoliques (**Bahorun, 1997**).

Un grand nombre des plantes aromatiques, médicinales et des plantes à épices, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent une application dans divers domaines à savoir : en Médecine, en Pharmacie, en Cosmétologie, et en Agriculture.

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnues et répertoriées, et donc mises à profit, dans le cadre de la médecine traditionnelle et également dans la médecine allopathique moderne (**Bourgaud et al., 2001 ; Kar, 2007**).

Parmi ces composés, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun, 1997**).

L'Algérie par son aire géographique et sa diversité climatique est riche en flore naturelle, la gamme des plantes médicinales et aromatiques fait partie d'un grand patrimoine végétale de notre pays.

A cet effet, et dans le cadre de la contribution à la valorisation de la flore Algérienne, nous nous sommes intéressés à l'étude des feuilles et fleurs de *Lavandula dentata* L.. Car, cette plante, possède un large spectre d'intérêts thérapeutiques grâce aux composés phénoliques de ses feuilles et fleurs. Mais, qui n'ont pas été suffisamment étudiés contrairement aux huiles essentielles de cette plante, qui ont été l'objet de nombreux travaux antérieurs.

Introduction

L'objectif de notre travail, consiste à réaliser :

- Une étude phytochimique, pour déterminer le taux d'humidité de la poudre des feuilles et des fleurs de *Lavandula dentata* L. et la mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans la poudre et dans l'extrait aqueux à 10% (EA) des feuilles et des fleurs de la lavande dentée.
- Une Extraction méthanolique, de la poudre des feuilles et fleurs de *Lavandula dentata* L. afin d'évaluer son rendement.
- Une analyse quantitative par spectrophotomètre UV- visible, pour déterminer la teneur en composés phénoliques dans l'extrait méthanolique (EM) et l'extrait aqueux (EA) à 10%, et la teneur en flavonoïdes dans EM
- Une étude microbiologique : pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne de l'extrait phénolique et EA à 10% des feuilles et fleurs de la lavande dentée sur quelques souches microbiennes.
- Une étude de l'activité anti oxydante d'EM des feuilles et des fleurs de la plante étudiée.

Recherche bibliographiques

1. Recherche bibliographique

1.1. Métabolites secondaires

1.1.1. Définition

Les métabolites secondaires sont, par définition, des composés organiques non indispensables à la croissance, au développement et à la reproduction d'un organisme. Ils dérivent néanmoins de voies de biosynthèse provenant du métabolisme primaire et sont constitués principalement de trois grands groupes de composés : les alcaloïdes, les terpènes et les composés phénoliques (Pillet, 2001).

1.1.2. Intérêt des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd et al., 2002).

1.1.3. Biosynthèse des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires résultent généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mevalonate et du pyruvate (Verpoorte et Alfermann, 2000; Wink, 2010).

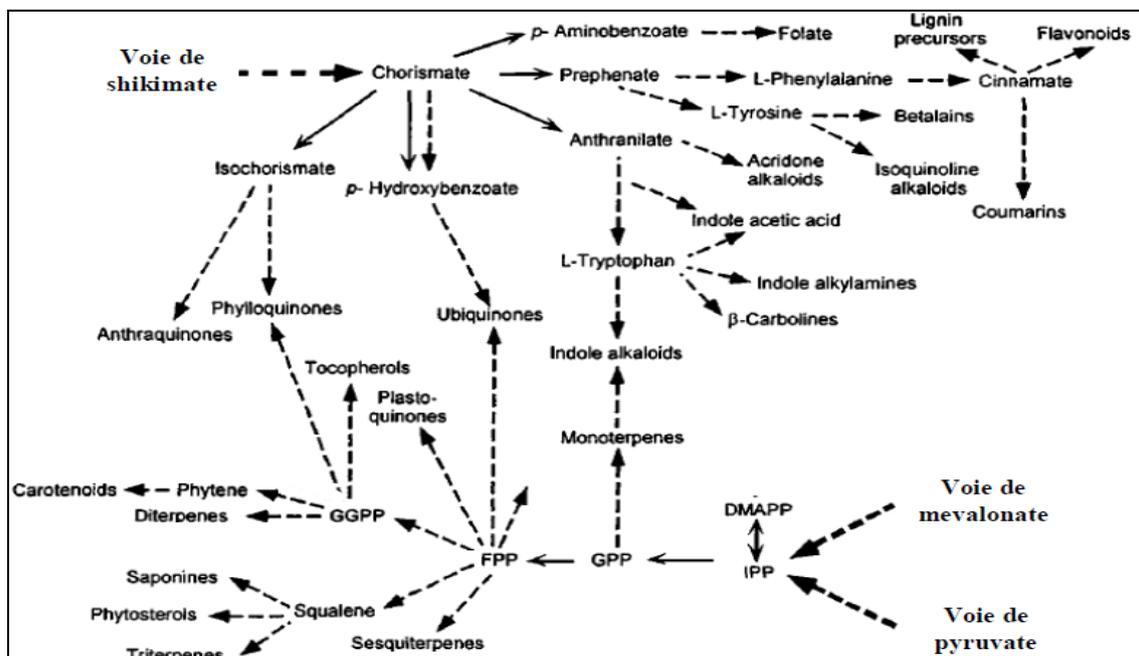


Figure 01: Biosynthèse des métabolites secondaires (Verpoorte et Alfermann, 2000; Wink, 2010).

1. Recherche bibliographique

1.1.4. Classification des métabolites secondaires

1.1.4.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol C_6H_5OH qui est un monohydroxybenzène.

Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes (**Walton et Brown, 1999**). Plusieurs classes de composés polyphénoliques sont définies selon le squelette de base (**Tableau1**).

Tableau 1 : Classes des composés phénoliques.

Squelette carbonée	Classes de composés phénoliques
C6	Phénols simples et benzoquinones
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénonnes et les acides phenylacétiques
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines,
C6-C4	phénylpropènes, chromons
C6-C1-C6	Naphthoquinones
C6-C2-C6	Xanthonnes
C6-C3-C6	Stilbènes et anthraquinones
C6-C1)2	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C3)2	Tannins hydrolysables
(C6-C3-C6)2	Lignanes et néolignanes
C6-C3) n	Biflavonoïdes
C6) n	Lignines et Catéchols
(C6-C3-C6) n	Tannins condensés

(**Daayf et Lattonzio, 2008**).

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. Ces composés montrent des activités, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (**Babar Ali et al., 2007**).

Ils sont anti-allergènes, vasodilatateurs (**Falleh et al., 2008**) et antioxydants (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

1. Recherche bibliographique

A) Les flavonoïdes

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. Ils sont présents sous forme glycosylée dans les plantes et stockés dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophylle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines. (Lhuillier, 2007).

A.1. Structure chimique

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné (**Figure 01**), que désigne la lettre C (**Dacosta, 2003**), portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (**Milane, 2004**).

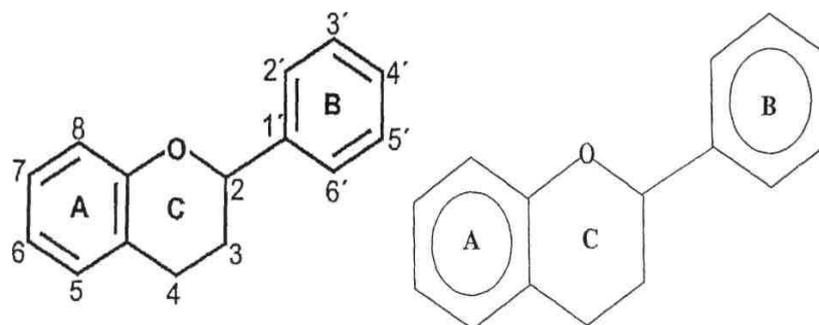


Figure 02: Structure de base des flavonoïdes (**Dacosta, 2003**).

A.2. Classification

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent-le même élément structural de base. Selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3, ils peuvent être regroupés en différentes classes (**Figure 02**) : Flavane, flavanone, Flavone, Flavonol et Isoflavane (**Bouakaz, 2006**)

1. Recherche bibliographique

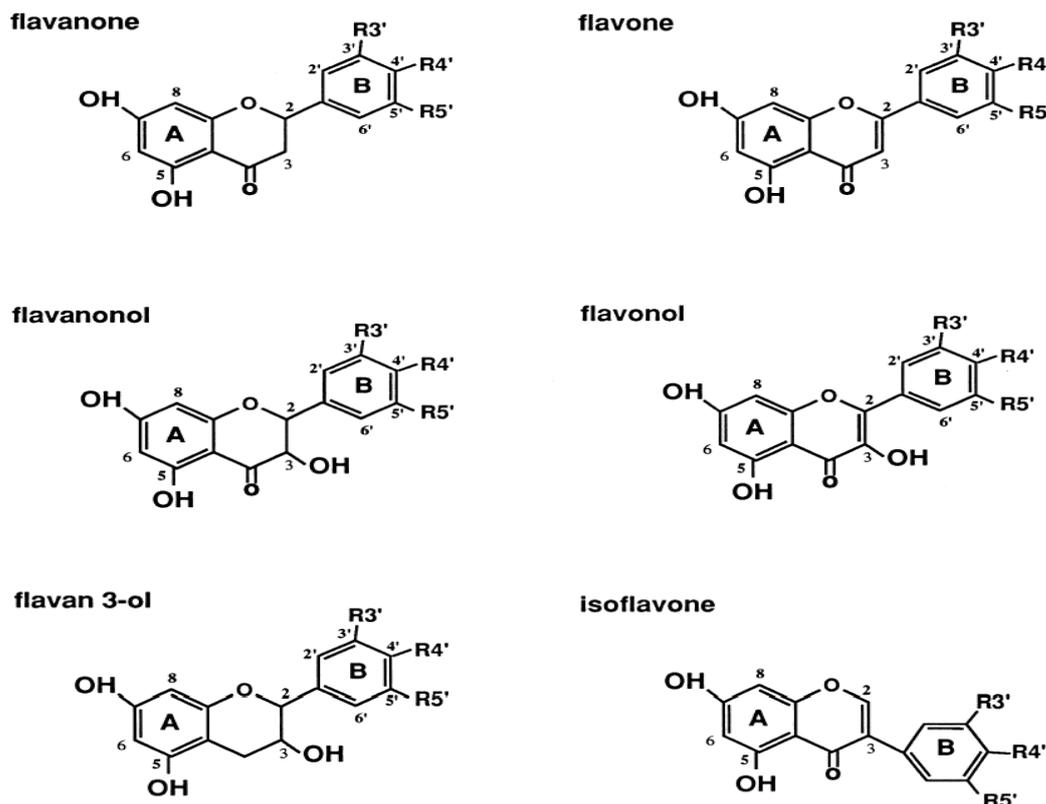


Figure 03: Structures des différentes classes de flavonoïdes
(Gamet-Payrastre *et al.*, 1999).

A.3. Rôle des flavonoïdes dans les plantes

Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois feuilles. Ils jouent un rôle dans la protection des plantes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable (Bruneton, 1999).

Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Marfak, 2003).

A.4. Propriétés biologiques

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (Bruneton, 1999). Quelques flavonoïdes sont des inhibiteurs efficaces de la biosynthèse des prostaglandines. Cet effet est dû à l'inhibition de certains enzymes (lipoxigénase, phospholipase, cyclo-oxygénase) impliqués dans leur biosynthèse. (Hodek *et al.*, 2002). Ils ont une activité antivirale, antispasmodiques et hypocholestérolémiants (Middleton *et al.*, 2000).

1. Recherche bibliographique

1.1.4.2. Les isoprénoïdes (Stéroïdes et Terpénoïdes)

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isoprénique (**Bhat, Nagasampigi et Sivakumar, 2005**).

1.1.4.3. Les composés azotés (dérivés des acides aminés)

Les alcaloïdes sont les composés azotés les plus connus. Ils ont une distribution restreinte car ils sont rencontrés chez 20% des angiospermes seulement. En plus des alcaloïdes, on trouve dans ce groupe : les acides aminés non protéiques, les glycosides cyanogéniques et les glucosinolates (**Walton et Brown, 1999**).

1. Recherche bibliographique

1.2. Généralités sur les plantes médicinales

1.2.1. Historique

L'historique de la médecine par les plantes se confond avec celle de la médecine tout court et celle de l'humanité. Depuis les temps les plus reculés et sur tous les continents, l'homme a cherché chez les végétaux sa nourriture et ses remèdes (**Ollier, 2011**).

La première ordonnance connue, à l'III^e millénaire avant Jésus-Christ, en Mésopotamie, prescrivait déjà des remèdes à base de saule pour soigner les maux de tête. Les Chinois connaissaient, bien avant notre ère, la préparation des extraits qui consistait à rassembler sous masse réduite tous les principes solubles des drogues en se débarrassant ainsi du volume fort en cambrant des matières inertes (**Kassel, 1996**).

Les Arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie tels que Abu Bakr al-Razi ou Rhazès (865-925). Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne et Ibn al Baytar. Ce sont les Arabes qui donnèrent à la pharmacie son caractère scientifique. Les traditions pharmaceutiques arabes passèrent en Europe et influencèrent profondément les grandes universités au 9^{ème} siècle (**Amar, 1995**).

1.2.2. Définition des plantes médicinales

Selon Roland (2002), la phytothérapie, est le traitement par les plantes, du grec « phython qui signifie ; plantes » et « thérapie ; soin ou cure ».

Selon **Paris et Schawenberg (1977)**, une plante médicinale, est toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces, peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation.

1.2.3. Rôle des plantes médicinales

Les plantes médicinales tiennent une place importante dans maints systèmes thérapeutiques (**Grunwald et Janicke, 2004**).

Par ailleurs, selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S), près de 6377 plantes sont utilisées en Afrique. Car, dans certains pays d'Afrique centrale, le savoir faire des guérisseurs traditionnels représente le seul moyen de traitement des maladies, surtout celles qui ont une grande ampleur comme la malaria et le syndrome d'immunodéficience acquise (sida) (**Pousset, 1989**).

1. Recherche bibliographique

Dans les pays développés, la médecine traditionnelle connaît toutefois un succès croissant, surtout qu'elle peut être acquise à moindre coût, sans effets secondaires **(Anonyme, 2003)**.

De nos jours, l'usage des plantes médicinales est fréquent sur toutes les zones rurales des pays du Maghreb, notamment au Maroc où le recours à ces plantes atteint jusqu'à 70% de la population **(Mohammedi, 2006)**.

1.2.4. Définition de la phytothérapie

La phytothérapie est, au sens étymologique, « la thérapeutique par les plantes » **(Gazengil et Orecchioni, 2001)**, elle utilise l'action des plantes médicinales et correspond au traitement des maladies par ces plantes sous différentes formes, à dose pondérale **(Grünwald et Janick, 2004)**.

1.2.5. Les avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre :
L'avantage de traiter par les plantes médicinales, des maladies bénignes, comme : le rhume ou plus sévères telles que la tuberculose. Le traitement par les plantes revient en premier lieu, pour lutter contre la résistance des bactéries aux antibiotiques **(Schauenberg, 1977)**.

Le traitement des maladies chroniques comme l'Asthme ou l'Arthrite où les effets secondaires induits par les médicaments, inquiètent les utilisateurs qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme **(Shealy, 1999)**.

Nous estimons que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments, or les plantes sont dépourvues de ces effets **(Iserin, 2007)**.

1. Recherche bibliographique

1.3. Généralités sur la famille des lamiacées

1.3.1. Présentation de la famille des lamiacées

La famille des Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées (Labiatae) est une importante famille de plantes dicotylédones, qui comprend environ 4000 espèces et près de 210 genres (Naghbi et al., 2005). Cette famille comporte de nombreuses plantes exploitées pour les essences ou cultivées pour l'ornementation et la plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (Judd et al., 2002).

1.3.2. Description botanique des lamiacées

C'est une famille très importante dans la flore d'Algérie, ces espèces sont souvent des plantes herbacées, ou sous-arbrisseaux, en général aromatiques. Leur tige est carrée, certaines espèces sont dressées, d'autres couchées portent des feuilles opposées ou verticillées. Les fleurs bisexuées et groupées à l'aisselle des feuilles en inflorescences plus ou moins denses, à calice tubuleux ou en cloche persistant, à corolle à tube très développé, ordinairement caduque et à 2 lèvres (rarement 1). Le fruit sec se séparant en quatre articles contenant chacun une graine (Guignard, 1998).

1.4. Généralités sur la lavande dentée : *Lavandula dentata* L.

1.4.1. Etymologie

Le mot *lavande* dérive du verbe laver. Il est peut être issu de l'italien *lavando* (action de laver) mais peut remonter au latin *lavare* qui signifie laver et aussi se baigner, les Romains ayant utilisé des lavandes pour parfumer leurs bains (Ryley, 1998).

1.4.2. Systématique

Récemment, la classification phylogénétique du genre *Lavandula* a été réexaminée par Upson et Andrews (2004) (Figure 04). Cette étude a conduit à reconnaître 39 espèces différentes réparties en trois sous-genres *Fabricia*, *Sabaudia* et *Lavandula* et huit sections. En outre, de nombreux hybrides et cultivars d'utilisation commerciale et horticole ont été formellement décrits.

1. Recherche bibliographique

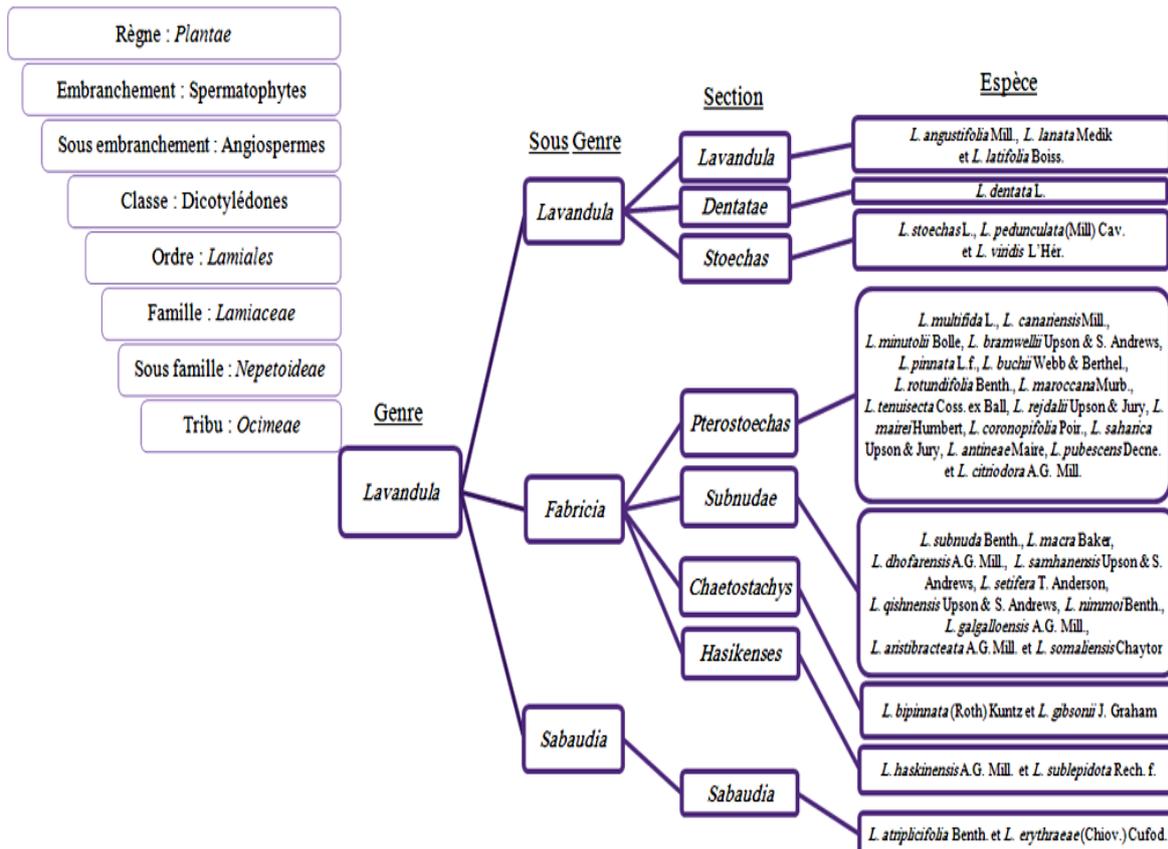


Figure 04 : Taxonomie du genre *Lavandula* (d'après Upson et Andrews, 2004)

Selon Upson et Andrews (2004) la lavande dentée appartient au :

- Règne: plantae
- Embranchement: Spermaphytes
- Sous embranchement: Angiospermes
- Classe :Eudicotylédones
- Sous classe : Astéridées,
- Ordre : Lamiales,
- Famille : Lamiacées (ex Labiées),
- Genre : *Lavandula*.
- Espèce: *dentata*

✓ **Noms vernaculaires** : Duzan, Helhal, Lizer.

✓ **Noms communs** : Lavande dentée, Lavande dentelée, Lavande des Alpes, Lavande alpine, Lavande anglaise, nommée par les anglophones 'Lavender 'French'. (Lim T.K., 2014)

1. Recherche bibliographique

1.4.3. Description botanique de *Lavandula dentata* L.

La lavande dentée est un arbuste aromatique, persistant et dressé jusqu'à un mètre de haut très ramifié, de couleur grisâtre. Ses feuilles sont opposées, oblongues -linéaires, à lancéolées, mesurant de 1,5 à 3,5 cm de long et dentées. Leur face supérieure est de couleur vert -grisâtre. Ses fleurs sont regroupées en inflorescence denses, mesurant 2,5 à 5 cm de long. Elles sont composées de bouquets portant 6 à 10 fleurs, ovales pointues. Elles sont de couleur rose pourpré vif, sans fleurs aux aisselles. La corolle est à deux lèvres. Son calice mesurant 5 à 6 mm de long et le fruit est un akène. La floraison début du mois d'Avril jusqu'au mois de Juin. (Bartels, 1997).



Figure 05: Feuilles dentées de *Lavandula dentata* L.
(Original,2014).

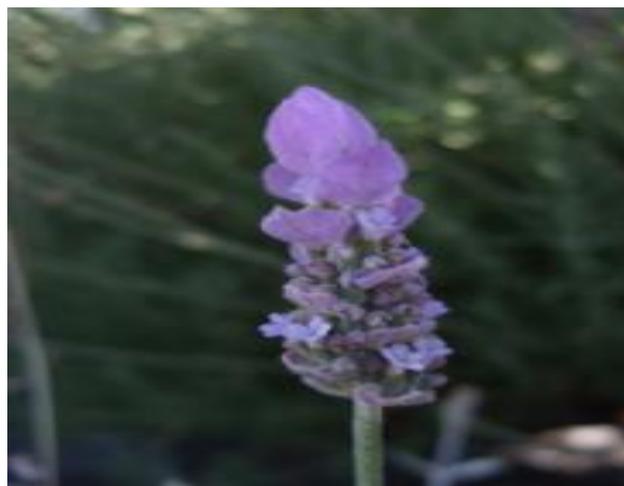


Figure 06: Fleurs de *Lavandula dentata* L. regroupées en inflorescence
(Original, 2014).

1. Recherche bibliographique

1.4.4. Origine de la lavande dentée

L'espèce est indigène dans le Sud et l'Est de l'Espagne, Gibraltar, les îles Baléares, Afrique du nord-ouest, l'Éthiopie, l'Érythrée, la Jordanie et la péninsule arabique. Elle est naturalisée ailleurs autour de la Méditerranée et en Australie-Occidentale, la Nouvelle-Zélande et en Californie (Lim T.K., 2014).

Le genre *Lavandula* appartient à l'ancien monde, avec une aire de répartition naturel qui s'étend de la Macaronésie à travers l'Afrique du Nord et tropicale, l'Europe Méditerranéenne, le moyen orient, la péninsule Arabique (Lis-Balchin, 2002).

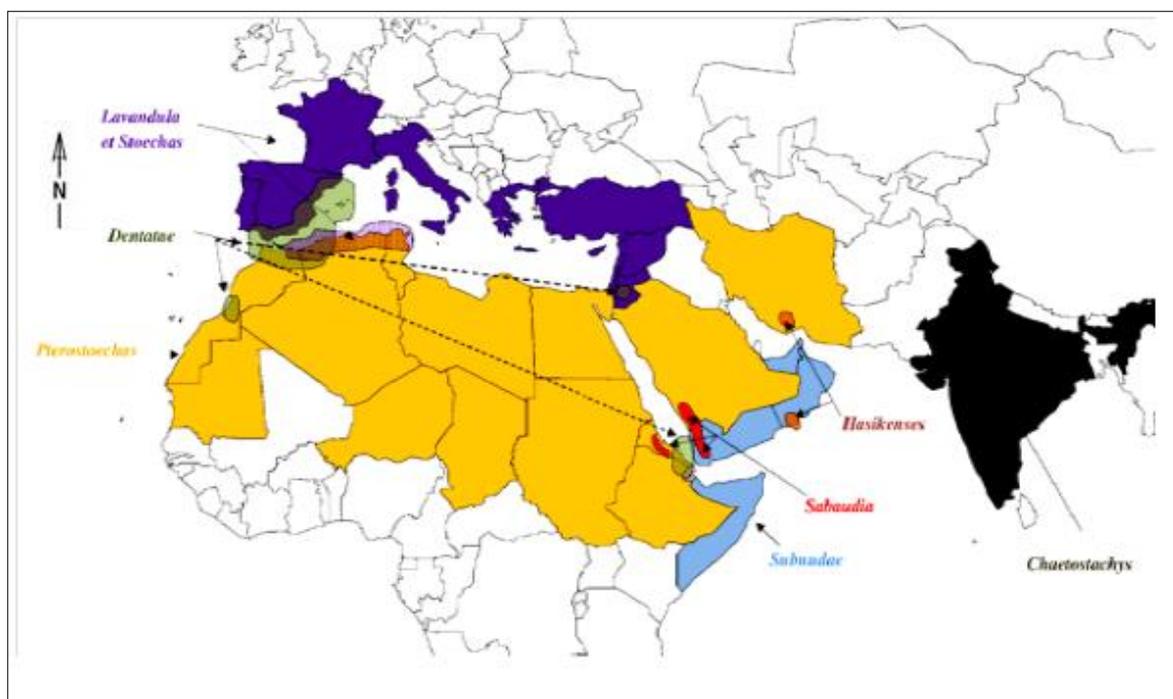


Figure 07: Carte géographique de la répartition des sections du genre *Lavandula* (d'après Guitton, 2011).

La clé de la carte géographique

- : Section *Pterostoechas*,
- : Sections *Lavandula et Stoechas*,
- : Section *Chaetostachys*,
- : Section *Subnuda*.
- : Section *Dentatae*,
- : Section *Sabaudia*
- : Section *Hasikenses*.

1. Recherche bibliographique

1.4.5. Plantation de *Lavandula*

Une plantation de lavande reste en place environ 10 ans. La parcelle se prépare un an avant la plantation et elle est en production à partir de la 2^{ème} année. Les rendements optimums en huile essentielle sont obtenus entre la 4^{ème} et la 6^{ème} année. La succession sur une même parcelle de plusieurs plantations de Lavande est néfaste pour l'état sanitaire des plants. Il est conseillé d'introduire sur un intervalle de 2 à 4 ans des cultures de rotation avec des légumineuses ou des céréales pour l'assolement. (Lis-Balchin, 2002).

Le semis se fait en mars avril pour que la jeune plantule profite des jours longs et chauds. La ligne de plantation est préparée sur une largeur de 30 cm, ligne simple ou jumelée avec un interligne de 1,50 m. Les graines ne sont pas enterrées, le froid de l'hiver casse la coque de protection et les graines peuvent alors germer (Gilly, 1997).

Une autre technique utilisée est la multiplication végétative : sur une plantation âgée de 2 à 4 ans pour *L. angustifolia* et de 6 à 8 ans pour *L. latifolia*, en hiver, les boutures sont prélevées et le plant, racine nue ou en motte, est placé dans un trou, racine pendante, enterré jusqu'au collet ou à la première ramification. La terre est ensuite légèrement tassée. Le bouturage est utilisé chez les Lavandes clonales, fertiles, et les Lavandins, hybrides stériles, pour conserver les qualités de certains clones (rendement en essence, meilleure résistance et adaptation aux terrains) à partir d'une population hétérogène (Gilly, 1997).

1.4.6. Influence du sol sur la culture de *Lavandula*

La Lavande est une plante extrêmement sèche qui aime avoir les pieds au sec une fois adulte.

Elle a un processus spécifique lui permettant de stocker toute son eau dans des microbilles se trouvant dans chaque petite graine. Ce stockage commence aux premières chaleurs de l'année, début mai, correspondant à l'apparition des premières fleurs. Ensuite, la plante se met en *stand by*, ne produisant plus de fleurs durant le mois de mai (mois changeant avec des gelées ou des pluies). Puis, de juin à août, la Lavande élabore le maximum d'huile essentielle et stocke l'eau au fur et à mesure que la chaleur s'amplifie. En fonction de la sécheresse, elle crée de grandes réserves d'eau à partir de la rosée matinale. Si on l'arrose toutes les semaines, le système est contrecarré et la plante sera très belle sur le plan végétatif mais avec de petites fleurs. (Lis-Balchin, 2002).

Une quantité limitée d'engrais est nécessaire pour développer des lavandes riches en huiles essentielles. Trop d'engrais aboutirait à la production d'un feuillage excessif au détriment de la production d'huile essentielle.

1. Recherche bibliographique

La lavande semble tolérante quant à la nature chimique du sol mais il est préférable de ne pas avoir un sol calcaire à plus de 120 % de calcaire actif ou un sol acide à $\text{pH} < 4,3$. Les sols en pente à $\text{pH} 7-7,5$ sont à privilégier. En hiver, il est préférable que le sol ne gèle pas. (Lim T.K., 2014).

1.4.7. Protection phytosanitaire de *Lavandula*

Le dépérissement à phytoplasme de *Lavandula* est du à une bactérie responsable de cette maladie : le phytoplasme du Stolbur dont l'insecte vecteur principal est la cicadelle (*Hyalosthes obsoletus*), petite cigale d'une taille de 1 mm **Figure** .



Figure 08 : Cicadelle adulte (*Hyalosthes obsoletus*). (Deysson, 1979).

Le phytoplasme du Stolbur est une bactérie sans paroi cellulaire, ne pouvant pas survivre en dehors d'un être vivant (on parle de parasite obligatoire). Elle passe du tube digestif de l'insecte à ses glandes salivaires et sera transmise d'un plant de lavande à l'autre lors des piqures d'alimentation de la cicadelle. La plante atteinte s'assèche et meurt

Le seul moyen de lutte est la rotation des cultures afin d'interrompre le cycle des cicadelles. (Deysson, 1979).

1.4.8. Récolte de *Lavandula*

La floraison de *Lavandula* a lieu, selon l'altitude et le climat de l'année, entre juin et septembre.

Après fécondation des fleurs et formation de la graine, il y a chute des fleurs et si la récolte tarde, les graines matures tombent. Chez les Lavandes vraies, 15 à 20 jours après l'apparition des premières fleurs, les calices fournissent le maximum d'essence, mais

1. Recherche bibliographique

rapidement cette richesse diminue un peu avant que n'apparaissent les premières graines mûres, et pendant tout le temps où les graines se forment. Chez les Lavandins qui n'ont pas de graine, les rendements se maintiennent à un taux élevé, même après la fin de floraison (Gilly, 1997).

1.4.9. Multiplication de *Lavandula dentata* L.

- **Le bouturage**

La période de bouturage en plein champ se situe du 15 mars au 15 avril, dans un sol encore humide, les boutures à talon sont enterrées au 2/3. La terre est doucement tassée autour, et arrosée.

- **Semis**

Période de semis est la 1^{ère} quinzaine de mai et Un voile de forçage est conseillé si le semis a lieu plus tôt. Les graines récoltées en Août peuvent être semées avec succès.

Les graines sont semées en pot maintenu à 20°C et humide et la germination a lieu en 3 à 6 semaines. (Emma, 1998).

1.4.10. Utilisations de la *Lavande*

Les huiles essentielles de la lavande sont de haut intérêt économique dans les industries des parfums, des cosmétiques, des arômes agro-alimentaires, pharmaceutiques et de nos jours également utilisées dans l'aromathérapie (Lis-Balchin, 2002 ; Upson et Andrews, 2004).

Dans l'industrie agro-alimentaire, les huiles essentielles de la lavande sont employées dans les boissons aromatiques, les crèmes glacées, les bonbons, les pâtisseries, et les gommes à mâcher (Kim et Lee, 2002).

Les infusions des parties aériennes d'un certain nombre d'espèces de lavande sont utilisées comme antiseptiques ou pour des actions carminatives, sédatives, spasmolytiques, antidouleurs ainsi que comme des agents de cicatrisation (Gamez *et al.*, 1990 ; Buchbauer *et al.*, 1991 ; Schulz, 2005). Certaines espèces ont un effet acaricide (Lis-Balchin, 2002).

Les espèces du genre *Lavandula* sont aussi des plantes mellifères qui génèrent des miels de couleurs et odeurs propres à chaque espèce. (Guyot-Declerck *et al.*, 2002).

De nombreuses plantes de lavande sont également vendues comme plantes ornementales pour les jardins populaires. (Grieve, 1971 ; Lis-Balchin, 2002).

1. Recherche bibliographique

Enfin, il a été mentionné que certaines lavandes sont aussi utiles dans l'agriculture biologique comme bio insecticides. Elles constituent des cultures de choix dans les terres arides (**González-Coloma et al., 2006**).

1.4.11. Composition chimique

Selon **Ferreres et al. (1986)** ; **Lawrence (1996)** ; **Mastelic et Kustrak (1997)** les constituants chimiques potentiellement actifs du genre *Lavandula* sont:

- Monoterpènes: α -pinene, β -pinene, β -ocimene, camphre, limonene, p-cymene, Sabinene et terpinene.
- Monoterpènes alcools: α -terpineol, borneol, lavandulol, linalool, p-cymen-8-ol, et transpivocarveol.
- Monoterpènes aldéhydes: aldéhyde de cumine.
- Monoterpènes éthers: 1,8-cineole.
- Monoterpènes esters: acetate de linalyl, acetate de terpenyl.
- Monoterpènes cétones: carvone, coumarine, cryptone, fenchone, et hylheptenone, noctanone.
- Nopinone et p-methylacetophenone.
- Benzenoides: eugenol, coumarine, carvacrol, acide hydroxycinnamique, acide rosmarinique, thymol.
- Sesquiterpenes: caryophyllene, oxide de caryophyllene, α -photosantanol, α -santalal.
- Norsantalenone.

Les flavonoïdes identifiés de *L.dentata* suivant **Ferreres et al. (1986)**: genkwanine (apigénine 7-méthyl éther), lutéoline, apigénine, lutéoline 7-glucoside, apigénine 7-glucoside, lutéoline 7-rutinoside, vitexine et vicenine-2.

Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Lieu de travail

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du Laboratoire du PFE (département de biologie) université de Blida 1 durant la période allant du mois d'Avril jusqu'au mois de juin (2014).

2.2 Matériel

2.2.1. Matériel biologique

a) Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles et des fleurs de la lavande dentée (*Lavandula dentata* L.), récoltés au mois de mars 2014.

Pour nos expérimentations nous avons utilisés 300g de poudre végétale.

La plante a été identifiée au niveau du département d'Agronomie de Blida 1 (laboratoire de botanique).

b) Micro-organismes (Bactéries et levure)

Les souches utilisées dans le test antimicrobien nous ont été délivrés par le laboratoire d'hygiène de l'APC de Blida, nous avons utilisé quatre souches bactériennes, une levure et un champignon qui sont illustrées en **Tableau 2**.

Tableau 2 : Souches microbiennes utilisées.

Souches microbiennes	ATCC	Famille
<i>Escherichia coli</i> (bactérie)	6051	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> (bactérie)	6538	<i>Staphylococaceae</i>
<i>Bacillus subtilis</i> (bactérie)	6633	<i>Bacillaceae</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (bactérie)	9341	<i>Staphylococaceae</i>
<i>Candida albicans</i> (levure)	24433	<i>Sacchromycetaceae</i>
<i>Beauveria bassiana</i> (champignon)	74040	<i>Ophiocordycipitaceae</i>

2. Matériel et méthodes

2.2.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé (l'appareillage, la verrerie, les réactifs et les milieux de culture) est illustré en **Annexe 1**.

2.3. Méthodes

Le matériel végétal récolté qui est constitué de feuilles et fleur de *Lavandula dentata L.*, est séché à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante pour éviter le développement des moisissures et la photo-oxydation des substances. Il est ensuite broyé à l'aide d'un broyeur mécanique sous forme d'une poudre fine et conservé dans des flacons en verre dans un endroit sec à l'abri de la lumière. **(Figure 09)**

Nous avons adopté pour la réalisation de notre étude ce plan général, qui résume la procédure expérimentale effectuées sur les feuilles et les fleurs de la lavande dentée (*Lavandula dentata L.*). **(Figure 09)**.

2. Matériel et méthodes

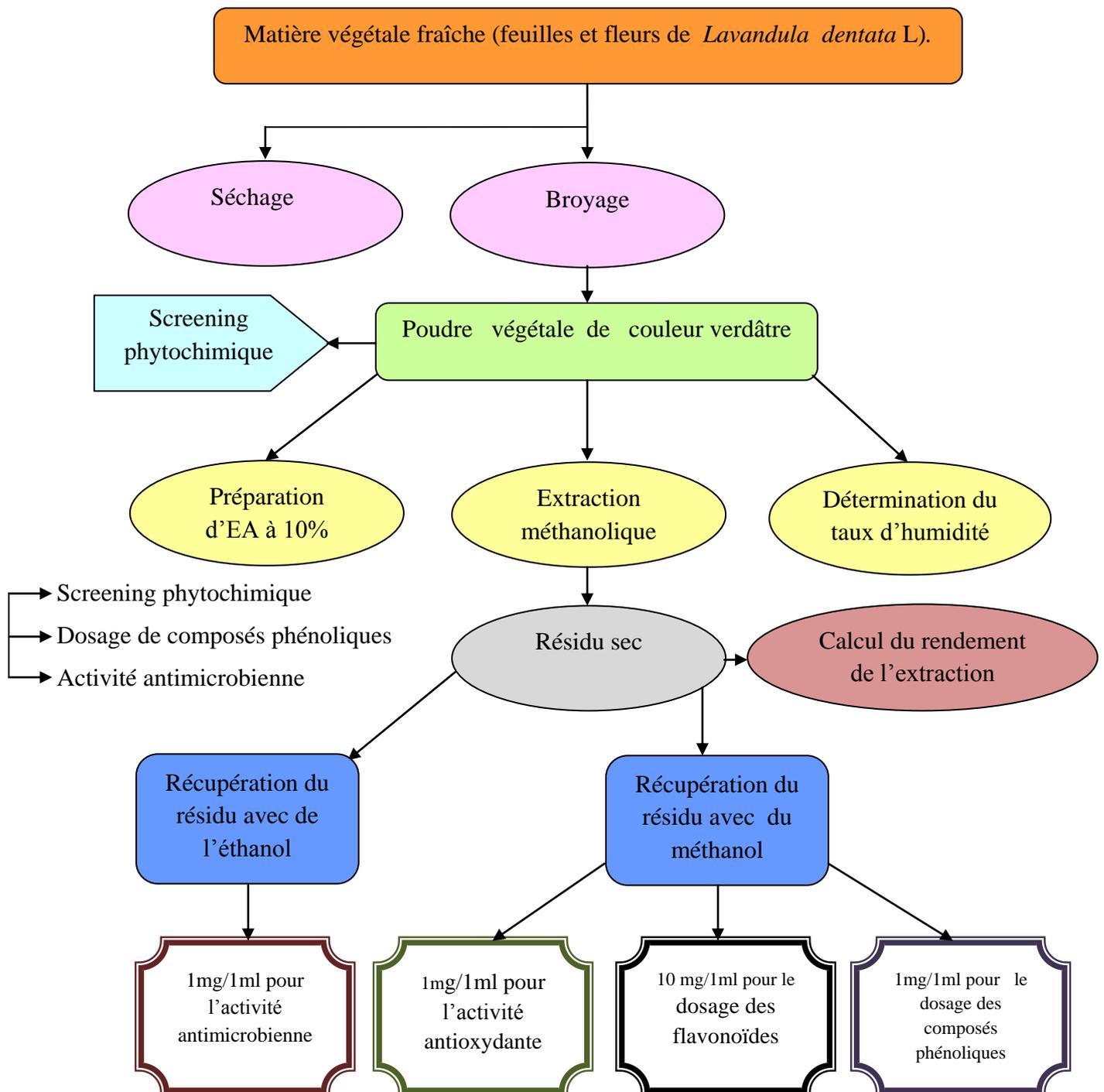


Figure 09 : Schéma général de la procédure expérimentale effectuée sur la lavande dentée (*Lavandula dentata* L.).

2. Matériel et méthodes

2.3.1. Taux d'humidité « H »

Selon la méthode **ISO 662**. Il s'agit de déterminer la différence en masse de l'échantillon (la poudre des feuilles et fleurs de *Lavandula dentata L.*) avant et après étuvage,

- Sécher les béchers dans l'étuve et les laisser refroidir puis peser leur poids,
- Après avoir taré, peser 5 g de poudre végétale dans des béchers avec une balance de précision,
- Placer les béchers dans l'étuve à 105 °C pendant 24 heures (peser après 3h jusqu'à l'obtention d'un poids constant).

Le taux d'humidité est calculé d'après la formule suivante :

$$H = \frac{(P_i - P)}{P_i} \times 100$$

H : Taux d'humidité en pourcent.

P_i : Masse de l'échantillon avant séchage en étuve (g).

P : Masse de l'échantillon après séchage en étuve (g).

❖ Préparation de l'extrait aqueux (à 10%)

A 10 g de poudre végétale, sont ajoutés 100 ml d'eau distillée bouillante, laissé infuser pendant 10 min, puis filtrer. Le filtrat est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée.

2.3.2. Tests du Screening phytochimique

Le but de ces tests est de connaître la composition en métabolites secondaires, ils sont effectués, soit sur la poudre du broyat, soit sur l'EA (**Bouyer, 1996**).

a) Les flavonoïdes

A 5 ml d'infusé, sont additionnés 5 ml d'HCL, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isoamylique. La réaction des flavanols, flavanones et flavones par le magnésium métallique donne une couleur rouge orangée ce qui indique la présence des flavonoïdes.

2. Matériel et méthodes

b) Les tannins

✓ Les tannins catéchiques

A 5 ml d'EA, sont ajoutées quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 5%. L'apparition d'une couleur bleue noirâtre indique la présence des tannins.

✓ Les tannins galliques

A 5 ml d'EA, sont ajoutés 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl_3 . L'apparition d'une couleur bleue noirâtre indique la présence des tannins galliques.

c) Les saponosides

A 2 ml d'EA, sont additionnées quelques gouttes d'acétate de plomb. L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.

d) Les anthocyanes

Quelques gouttes d'HCL concentré, sont ajoutées à 5 ml d'EA.

L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des anthocyanes.

e) Les leuco-anthocyanes

A 2 g de poudre végétale, sont additionnés à 20 ml d'un mélange de propanol /acide chlorhydrique (v/v). Le mélange est porté à l'ébullition dans un bain-marie pendant quelques minutes.

L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des leuco-anthocyanes.

f) Les alcaloïdes

5 g de poudre végétale sont humectés avec 20 ml d'ammoniaque à $\frac{1}{2}$, puis laisser macérer pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3v /v).Le filtrat est épuisé par HCL à 2N.

Des réactions de précipitation sont effectuées sur la solution chlorhydrique. En présence des alcaloïdes, le réactif de dragendroff donne un précipité rouge tandis que le réactif de Valser Mayer donne un précipité blanc.

g) Les glycosides

A 2 g de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique.

Une coloration rouge brique apparait. Après agitation une coloration violette se forme en présence de glucosides.

2. Matériel et méthodes

h) Les coumarines

on fait bouillir 2 g de poudre végétale dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 min dans un bain-marie puis filtrer, à 5 ml de filtrat, sont ajoutés 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide avec formation d'un trouble.

i) Les mucilages

Dans un tube à essai, à 1ml d'EA sont ajoutés 5 ml d'alcool absolu. La formation d'un précipité floconneux blanc montre la présence des mucilages (**Paris et Moyses, 1976**).

2.3.3. Extraction méthanolique

Le méthanol est recommandé est fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques (**Falleh et al., 2008**).

✓ Mode opératoire

Le protocole que nous avons suivi pour l'extraction des composés phénoliques a été décrit par (**Upson et al., 1999**).

On met 10g de poudre de matière végétale sèche en ébullition dans un bain marie à 70 ° C pendant 5 min avec 200 ml de méthanol à 70%. Le mélange subit une macération pendant 24h sous agitation magnétique à température ambiante. Le macérât est filtré puis évaporé à sec à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif de type (**Bourgaud et al., 2001**).

Le résidu sec obtenu est soit :

- Repris dans un volume de méthanol dans le but d'obtenir un extrait avec une concentration de 1mg /1ml pour le dosage des composés phénoliques et de 10 mg/1ml pour le dosage des flavonoïdes.
- Repris dans un volume d'éthanol dans le but d'obtenir un extrait avec une concentration de 1mg/1ml pour le test antimicrobien.

Les différentes étapes de l'extraction méthanolique sont présentées dans la **figure 10**.

2. Matériel et méthodes

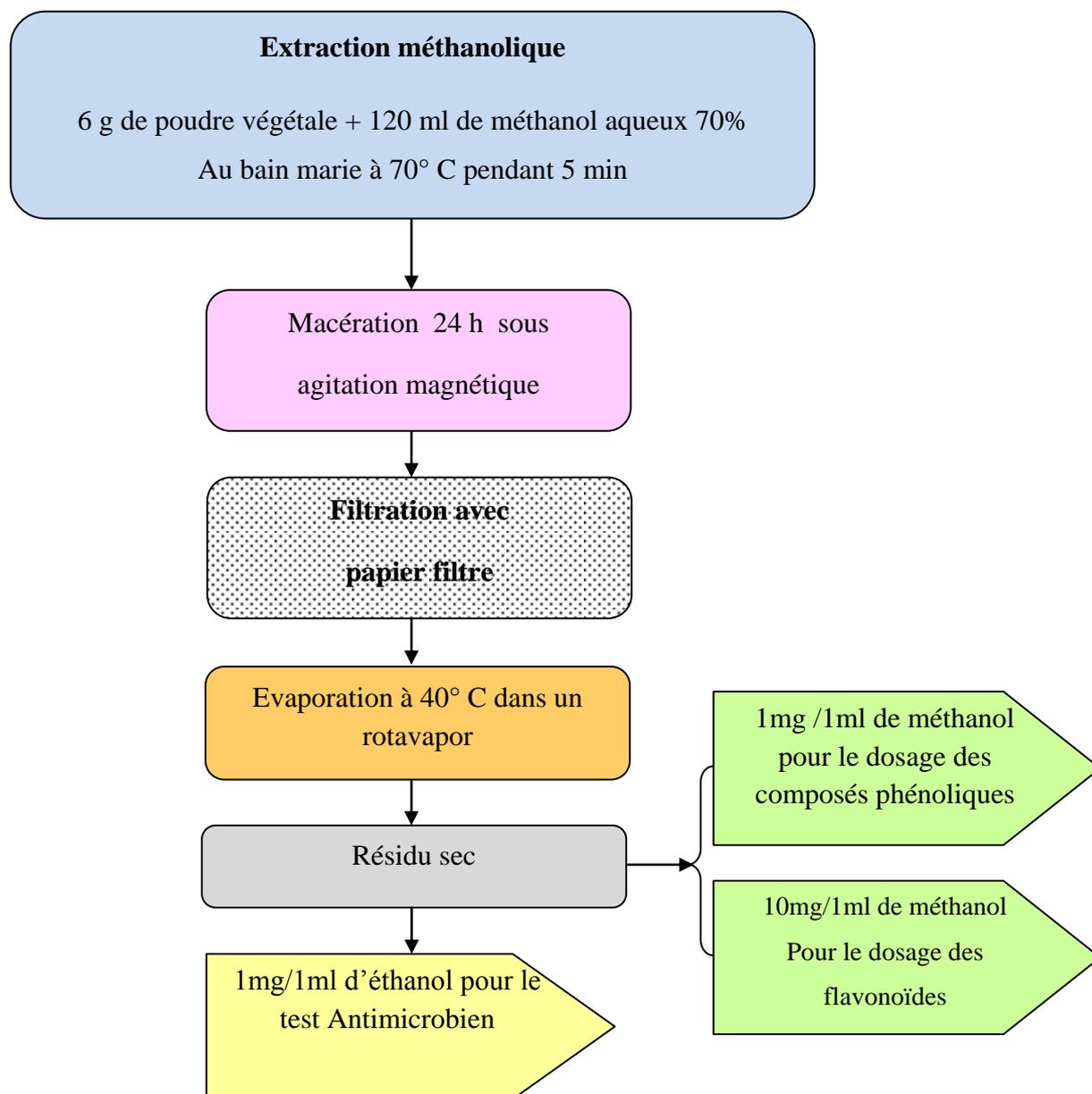


Figure 10: Protocol expérimental d'extraction méthanolique des feuilles et fleurs de la lavande dentée (*Lavandula dentata L.*) . (Original, 2014).

2. Matériel et méthodes

✓ Rendement de l'extraction

Le calcul de rendement est exprimé en pourcentage de masse en extrait : c'est le rapport en % masse entre l'extrait sec méthanolique et la poudre végétale.

Dans notre étude, nous avons exprimé le rendement en (% masse) pour 6g de matière végétale.

Le rendement d'extraction a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Rendement \%} = (\text{MS} / \text{MV}) \times 100$$

MV : masse de la poudre végétale utilisé pour l'extraction.

MS : masse de l'extrait sec obtenue après évaporation.

Sachant que :

$$\text{MS} = (\text{poids du ballon avec l'extrait après évaporation}) - (\text{poids du ballon vide})$$

2.3.4. Analyse quantitative de l'extrait méthanolique par spectrophotométrie

La spectrophotométrie est une méthode couramment employée pour la détermination de la concentration d'un composé qui soit natif ou résultant d'une extraction méthanolique. Elle permet d'utiliser toute la gamme du visible et éventuellement de l'ultraviolet, si le spectrophotomètre est équipé d'une source UV (**Kamoun, 1997**).

❖ Principe :

La colorométrie se base sur la propriété de certains composés qui absorbent d'avantage la lumière à des longueurs d'ondes spécifiques dans le spectrophotomètre UV-visible (**Plummer, 1989**).

Le dosage des composés phénoliques utilise très fréquemment leur spectre d'absorption, soit dans l'UV pour la plupart des autres composés, en choisissant pour chacun d'eux la longueur d'onde d'absorption maximale. Les lectures sont faites par rapport à un témoin (**Allemand et al., 2005**).

2. Matériel et méthodes

2.3.4.1. Dosage des composés phénoliques

❖ Principe

La teneur en composés phénoliques, a été déterminée en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. Ce dernier, forme un complexe rédox avec l'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique lors de l'oxydation des phénols (**Singleton et al., 1998**).

❖ Mode opératoire

Le mode opératoire que nous avons suivi a été établie par (**Singleton et Rossi, 1965 ; Singleton et al., 1998**).

La préparation de la solution témoin, la solution de EM (1mg/1ml) et de EA à 10% des feuilles et des fleurs de la lavande dentée est illustrée dans le **Tableau 03**.

Tableau 03: Dosage différentiel spectrophotométrique, des composés phénoliques de l'EM et L'EA.

Témoin	250µl du folin ciocalteu (1ml+9ml de méthanol) + 50µl de méthanol Incubation (5 min) → 750µl de carbonate de sodium à 7% +5ml d'eau distillée → Incubation à température ambiante pendant 120 min
Essai 1 (EM) (3 répétitions)	250µl du folin ciocalteu (1ml+9ml de méthanol) + 50µl d'extrait méthanolique → Incubation (5 min) → 750µl de carbonate de sodium à 7% +5ml d'eau distillée → Incubation à température ambiante pendant 120 min
Essai 2 (EA à 10%) (3 répétitions)	250µl du folin ciocalteu (1ml+9ml de méthanol) + 50 µ de EA à 10% Incubation (5min) → 750µl de carbonat de sodium à 7% +5ml d'eau distillée → Incubation à température ambiante pendant 120 min

Pour les solutions témoin, essai₁ et essai₂, sont lues à 760 nm. La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax+b$) réalisée par un extrait d'étalon « acide gallique » à différentes concentrations dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons.

Les résultats sont exprimés en µg équivalent acide gallique par 1mg du poids sec de la plante en poudre.

2. Matériel et méthodes

2.3.4.2. Dosage des flavonoïdes

A) Formation des complexes avec le chlorure d'aluminium:

La formation par chélation de complexe entre les composés phénoliques et les métaux est largement utilisée, pour la réalisation des spectres d'absorption. En effet, le chlorure d'aluminium (AlCl_3) fait intervenir les propriétés chélatantes des ions d'aluminium (Al^{3+}) à l'égard des flavonoïdes, il se forme soit des complexes labiles avec deux hydroxyles libres en position ortho, soit des complexes stables avec le carbonyle en position 4 et l'hydroxyle en position 5 et /ou en 3 (**Lauranson, 1989**).

C) Mode opératoire:

Le protocole que nous avons suivi pour la mesure de l'absorbance est décrit par (**Abdel-Hameed, 2008**). Puisque le dosage différentiel spectrophotométrique repose sur les propriétés chélatantes des ions (Al^{3+}) sur les flavonoïdes, donc on prépare deux solutions d'extrait méthanolique à 10 mg /1ml. (**Tableau 04**).

Tableau 04: Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes de l'extrait méthanolique à 10mg/1ml.

Témoin	100 μl d'extrait méthanolique + une goutte d'acide acétique + 5 ml de méthanol → Incubation à température ambiante pendant 40 min.
Essai (n=3)	100 μl d'extrait méthanolique + 100 μl de chlorure d'aluminium à 20% + une goutte d'acide acétique → le mélange est dilué dans 5ml de méthanol → Incubation à température ambiante pendant 40 min.

Nous avons utilisé la Rutine à 0,5 mg/ml comme standard. La lecture de l'absorbance est effectuée dans les mêmes conditions expérimentales que notre extrait méthanolique.

La lecture des deux solutions (témoin, essai) est faite par spectrophotomètre à 415nm.

2. Matériel et méthodes

La teneur des flavonoïdes est exprimée en mg équivalence de la Rutine, cette dernière est calculée par la formule suivante :

$$x = \frac{A.m_0}{A_0.m}$$

x: Teneur en flavonoïdes (mg/mg de l'extrait méthanolique en équivalent de la rutine).

A: Absorbance de l'échantillon.

A₀: Absorbance du standard (rutine).

m: Masse de l'échantillon.

m₀: Masse de la rutine.

2.4. Les activités biologiques

2.4.1 L'activité antimicrobienne

Le but de cette étude microbiologique consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes (bactéries et levures) soumis au contact d'EM et EA de la plante, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques absorbants.

❖ Principe

Selon la **Pharmacopée européenne (2002)**, la technique consiste à utiliser des disques de papier absorbants de 9 mm de diamètre, imprégnés d'une quantité d'extrait et déposés à la surface d'une gélose inoculée et uniformémentensemencée par la suspension bactérienne à étudier (dont la concentration est ajustée à 10^7 - 10^8 germes/ml avec un spectrophotomètre). La diffusion de l'extrait dans la gélose, permet d'avoir comme résultat positif une zone d'inhibition après incubation.

La lecture des résultats, se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibitions, obtenues pour chacune des souches.

❖ Mode opératoire

D'après **Lesueur et al., 2007**, l'activité antimicrobienne est réalisée comme suit :

✓ Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

La gélose **Nutritive** pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.

La gélose **Muller Hinton** pour l'étude la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes.

2. Matériel et méthodes

La gélose **Sabouraud** pour l'isolement et l'entretien des champignons et l'étude de leurs sensibilités aux extraits.

✓ Conservation et repiquage des souches

Les souches sont conservées à 4°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (Gélose nutritive).

A partir de ces tubes à essai un repiquage a été réalisé. Les milieux sont incubés respectivement à 37°C pendant 24H pour les bactéries (repiquées sur le milieu MH) et à 25°C pendant 48H pour les levures (repiquées sur le milieu SAB).

✓ Préparation des milieux de cultures

Les milieux Muller-Hinton (MH, pour les bactéries) et Sabouraud (SAB, pour les levures), sont liquéfiés dans un bain marie à 95°C. Sous une hotte à flux laminaire, les milieux de cultures gélosés, sont coulés dans des boites de Pétri stériles à raison de 15 ml par boite. Chaque boite de Pétri doit être étiquetée et porte les indications suivantes : nom du milieu et date de préparation. Après refroidissement et solidification des milieux gélosés, les boites de Pétri préparées, seront utilisées immédiatement ou conservées dans des conditions évitant toute modification de leur composition.

✓ Préparation des suspensions bactériennes et fongiques (inoculum)

A partir d'une culture jeune de 18 à 24 h pour les bactéries et 48 h pour les levures, des suspensions bactériennes sont réalisées en prélevant quelques colonies isolées, qui seront ensuite mises dans 5 ml d'eau physiologique. Ces suspensions sont agitées au vortex. Une première lecture de la suspension est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre de type GENOVA à la longueur d'onde de 620 nm. L'absorbance doit être comprise entre 0,22 et 0,32 pour les bactéries et entre 2 et 3 pour les levures. Les valeurs comprises dans les intervalles cités ci-dessus correspondant à une concentration optimale de 10^7 à 10^8 germes/ml. Si une des valeurs trouvées à la première lecture n'est pas comprise dans l'intervalle, un ajustement est réalisé en ajoutant de l'eau physiologique, si elle est inférieure à la valeur minimale ou en ajoutant des colonies, si elle est supérieure à la valeur maximale. Une nouvelle lecture est réalisée jusqu'à l'ajustement de la suspension aux valeurs désirées. Six tubes correspondant aux six souches utilisées sont ainsi obtenus. Ils seront incubés pendant quelques temps (20 à 30 min) dans une étuve à 37°C pour les suspensions bactériennes et à 25°C pour les fongiques.

2. Matériel et méthodes

✓ Ensemencement par inondation

De chaque tube contenant les suspensions bactériennes ou fongiques, une quantité de 1 ml est prélevée, puis déposée et étalée sur le milieu MH ou SAB respectivement. Les boîtes de Pétri doivent être sécher pendant 15 min à 35°C dans une étuve.

✓ Dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile, un disque absorbant de 9 mm est imbibé avec l'extrait méthanolique (1mg de résidu sec /1ml d'éthanol) par simple contact du bout du disque avec l'extrait. Celui-ci est absorbé progressivement jusqu'à imprégnation totale de tout le disque. De la même manière, un autre disque sera imbibé de l'EA à 10% de la plante et déposés dans une boîte différente, donc il a été nécessaire de préparer pour chaque souche microbienne deux boîtes de pétri. Les disques sont disposés d'une façon que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas. Après diffusion dans le milieu pendant 1h30 à une température de 30°C, Les boîtes sont incubées à 37°C pour les bactéries et à 25°C pour les levures. La lecture s'effectue après 24 h d'incubation pour les bactéries et 48 h pour les levures.

Remarque: un contrôle négatif a été fait avec des disques imprégnés d'éthanol.

✓ Lecture des résultats

L'EM et l'EA à 10% possèdent une activité antimicrobienne si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu après incubation dépasse le diamètre du disque absorbant.

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied coulisse. Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont classés en 4 classes. **(Tableau 05).**

Tableau 05: Le degré de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre de la zone d'inhibition

Degré de sensibilité des souches	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Souche résistante	$D=9$
Souche sensible	$10 \leq D \leq 14$
Très sensible	$15 \leq D \leq 19$
Extrêmement sensible	$D > 20$

(Moreira et al., 2005).

2. Matériel et méthodes

Les différentes étapes de l'activité antimicrobienne sont illustrées dans la **figure 11**.

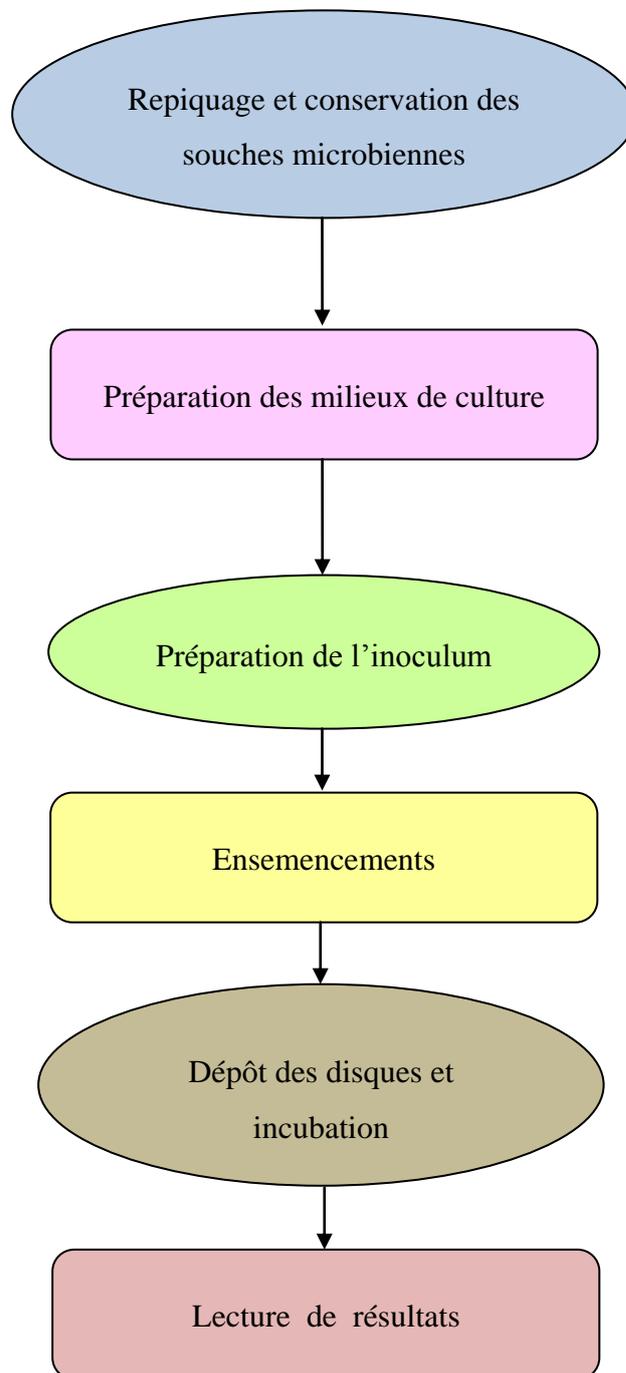


Figure 11 : Différentes étapes de l'activité antimicrobienne (Original, 2014).

2. Matériel et méthodes

2.4.2. Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode au DPPH

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes des extraits des plantes.

Pour évaluer les activités antiradicalaire et antioxydantes nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil), qui est un radical libre stable et qui montre une coloration violette foncée mais, lorsqu'il est réduit, cette coloration devient jaune pâle (Leclerc, 1975 ; Al-Reza *et al.*, 2012).

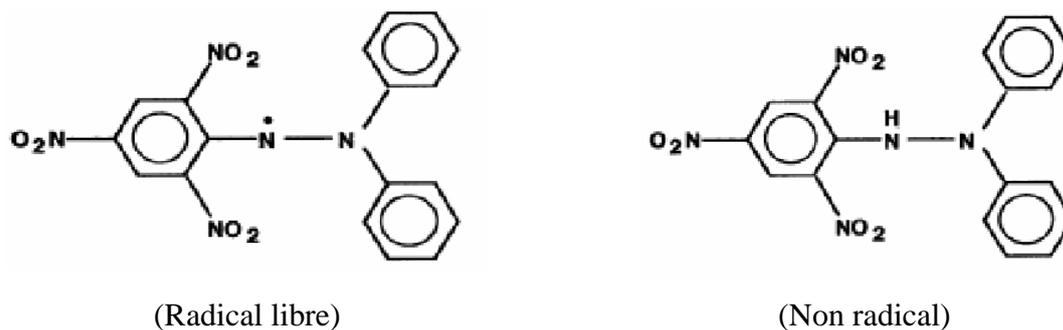


Figure 12: Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux, 2004) (Chen *et al.*, 2004)

✓ Préparation de la solution du DPPH

Nous solubilisons 2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol absolu. Le mélange est conservé à l'abri de la lumière.

✓ Préparation de l'extrait

Une solution mère est préparée en dissolvant 1 mg d'EM dans 1 ml de méthanol absolu (1mg/ml). A partir de cette solution, on réalise une série de dilution de l'ordre du µg/ml.

✓ L'essai au DPPH

Dans des tubes secs stériles, on introduit à partir de la solution mère (5µl, 10µl, 50µl, 100µl, 150µl et 200µl) ; on ajuste à 1 ml avec du méthanol. On ajoute 2ml de la solution de DPPH dans chaque tube. On laisse incuber pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard « la quercétine » dont elle est préparée en suivant les mêmes étapes que précédemment.

La lecture de la densité optique se fait à 517 nm (Wang *et al.*, 2002).

2. Matériel et méthodes

✓ Expression des résultats

L'activité antioxydante exprime la capacité de piéger le radical libre. Elle est estimée par le pourcentage(%) de décoloration du DPPH en solution dans du méthanol selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{blanc}} - \text{Abs}_{\text{test}}}{\text{Abs}_{\text{blanc}}} \right) \times 100 \quad (\text{Mensor et al., 2001})$$

Abs_{blanc}: absorbance du blanc.

Abs_{test}: absorbance de l'échantillon.

Le blanc est composé de 1ml de méthanol et 2 ml de solution de DPPH. On effectue 3 répétitions pour chaque essai. Chaque valeur de l'activité oxydante est donc calculée sur la moyenne de trois répétitions. Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures avec son écart type (n=3).

La valeur EC₅₀ (appelée aussi IC₅₀) est déterminée pour notre extrait méthanolique. Elle est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Le témoin est constitué de méthanol.

La valeur EC₅₀ moyenne a été calculée par régressions linéaires sur la courbe qui porte en abscisse, la concentration de composé testé, et en ordonnée, l'activité antioxydante en pourcentage (Novoes-Panda et al., 2002).

Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

3.1. Résultat de l'étude phytochimique

3.1.1. Détermination du taux d'humidité

Le résultat du taux d'humidité de la matière végétale, (la poudre végétale des feuilles et des fleurs de la lavande dentée) est représenté dans le **tableau 06**.

Tableau 06: Taux d'humidité de la poudre des feuilles et des fleurs de la lavande dentées.

Poids de la matière végétale avant séchage P_i (g).	5,0001
Poids de la matière végétale après séchage P (g).	4,5201
Le taux d'humidité de la matière végétale $H(\%)$.	9,600 \pm 0,2

Le taux d'humidité, de la poudre des feuilles et des fleurs de la lavande dentée, a été de 9,600%. Cette valeur, apparaît nettement inférieure à 12 %. Ce résultat répond aux normes **d'ISO 662 (1992)**.

Ce résultat démontre que, notre matériel végétal a été séché et conservé dans de bonnes conditions, ce qui rend, par conséquent les résultats de nos analyses phytochimiques fiables.

3.1.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique, effectué soit sur la poudre, soit sur EA à 10% des feuilles et des fleurs de *Lavandula dentata* L., nous a permis d'obtenir les résultats suivants (**Tableau07**).

3. Résultats et discussion

Tableau 07: Résultats des différentes réactions du screening phytochimique.

Métabolites secondaires	Feuilles et fleurs
Flavonoïdes	Présence
Tannins catéchiques	Présence
Tannins galliques	Présence
Saponosides	Présence
Leuco-anthocyanes	Présence
Glycosides	Présence
Coumarines	Présence
Mucilages	Présence
Anthocyanes	Présence
Alcaloïdes	Absence

Les résultats expérimentaux, du screening phytochimique, ont montré la présence des flavonoïdes, des tannins catéchiques, des tannins galliques, des saponosides, des leuco-anthocyanes ,des glycosides, des coumarines, des mucilages et des anthocyanes avec absence des alcaloïdes dans les feuilles et fleurs *Lavandula dentata* L. (Figures: 13, 14, 15, 16, 17, 18)

Une détermination plus précise, de la composition chimique de chaque famille de métabolites secondaires, aurait été souhaitée pour connaître et attribuer les effets thérapeutiques constatés ; par manque de matériel de séparation et d'analyse tel que HPLC/MS, ainsi que les étalons.

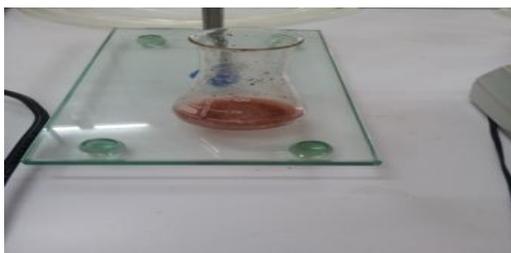


Figure 13: Présence des flavonoïdes.



Figure 14: Présence des saponosides.

3. Résultats et discussion



Figure 15: Présence des leuco-anthocyanes.

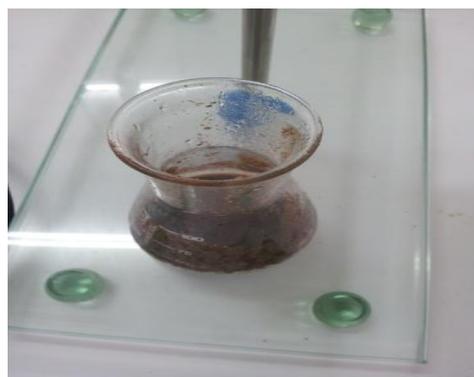


Figure 16: Présence de glucosides.



Figure 17: Présence des coumarines



Figure 18: Présence des mucilages

3.2. Résultat du rendement de l'extraction méthanolique

Le résultat du rendement de l'extraction méthanolique de la poudre des feuilles et fleurs de la lavande dentée est mentionné dans le **tableau 08**.

Tableau 08: Rendement de l'extraction méthanolique de la poudre des feuilles et fleurs de *Lavandula dentata* L.

MS : Masse de l'extraction obtenue après évaporation (g)	1.02
MV : Masse de la poudre végétale utilisée pour l'extraction (g)	6,00
Rendement de l'extraction (%)	17

Dans notre étude, le rendement de l'extraction méthanolique, faite sur la poudre des feuilles et fleurs de *Lavandula dentata* L. a été de 17%.

3. Résultats et discussion

Les travaux de **Majhenic et al., (2007)**, ont démontré, que l'extraction par les solvants à une température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenus à une température ambiante. Ce qui, justifie la valeur obtenue de notre rendement.

D'autre part ceci peut être expliqué par la méthode d'extraction utilisée : macération dans le méthanol. En effet, (**Sun et al., 2007 ; Falleh et al., 2008**) ont montré que, le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire les composés phénoliques.

Cependant, **Vuorela (2005)** a précisé que, le méthanol aqueux à 70% est deux fois plus efficace que, le méthanol pur.

En effet, **Hayder et al., (2008)**, ont signalé que, l'espèce étudiée, la localisation géographique, le climat et la période de récolte semblent avoir un impact direct sur le rendement en extrait méthanolique sec.

3.3. Résultats de l'analyse quantitative par spectrophotomètre UV- visible

3.3.1. Résultats du dosage des composés phénoliques

Une étude comparative en composés phénoliques a été réalisée par la construction d'une courbe d'étalonnage (**Figure 19**) de l'extrait d'acide gallique à différentes concentrations.

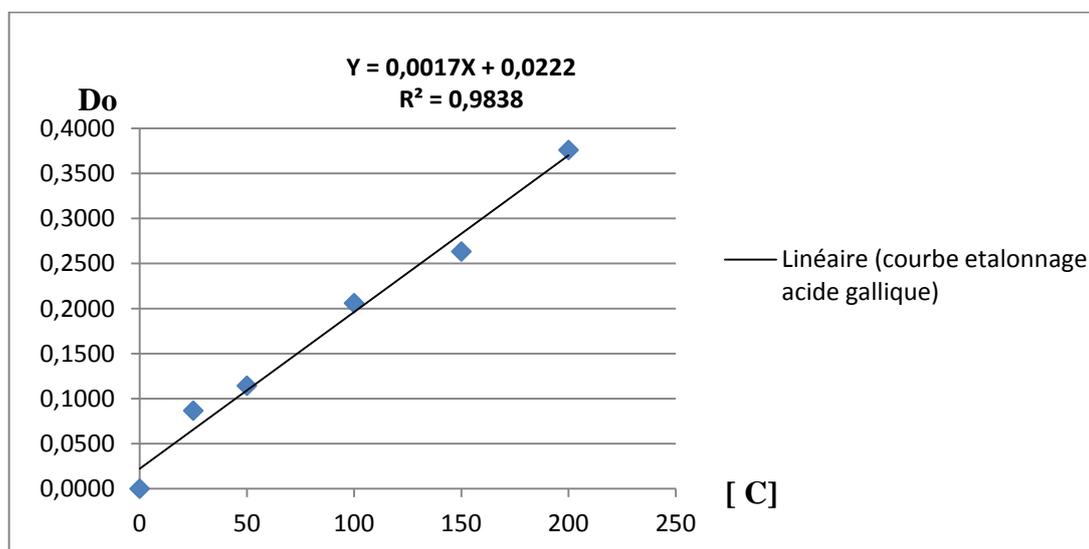


Figure 19 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique (**Original, 2014**).

[C] : Différentes concentrations d'acide gallique ($\mu\text{g} / \mu\text{l}$)

Do : Densité optique.

3. Résultats et discussion

Les résultats du dosage des composés phénoliques de l'extrait méthanolique et EA à 10% sont établis dans le **tableau 09**.

Tableau 09: Résultats du dosage des composés phénoliques de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux à 10% de *Lavandula dentata L.*

Echantillon	Teneur en $\mu\text{g}/\text{mg}$ éq acide gallique	Longueur d'onde (nm)
Extrait méthanolique 1mg /1ml	$660,82 \pm 53,33$	760
EA à 10%	$228.47 \pm 16,77$	760

Malgré la simplicité de la méthode du folin, elle n'est pas spécifique aux polyphénols. En effet, le réactif peut agir avec des protéines, des sucres réducteurs, l'acide ascorbique et des composés soufrés (**Singleton et al., 1998**).

Les teneurs en polyphénols totaux varient de $660,82 \pm 53,33 \mu\text{g}/\text{mg}$ éq acide gallique, à $228.47 \pm 16,77 \mu\text{g}/\text{mg}$ éq acide gallique pour EM et EA à 10% respectivement.

D'après ces résultats, il est bien évident que, quantitativement EM est plus riche en composés phénoliques qu'EA à 10%.

D'une part, ces résultats corroborent avec les travaux antérieurs de **Saadaoui et al., (2007)** qui ont montré que, la teneur de polyphénols de l'extrait méthanolique de quelque plante *Punicagratum*, *Rétama.raetum*, *Thymus capitatus*, *Rosmarinus officinalis*, *Ruta chalepensis*, *Ajuva iva*, *Lawsonia inermis* et *Agave americana* varie entre 100.68 et 500 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de matière sèche exprimée en équivalent d'acide gallique.

De ce fait, le contenu polyphénolique, varie quantitativement d'une plante à une autre, ceci peut être attribué à plusieurs facteurs :

- ✓ Facteurs climatiques et environnementaux, la zone géographique, la sécheresse, le sol et les maladies (**Ebrahimi et al., 2008**).
- ✓ Le patrimoine génétique, la période de récolte et le stade de développement de la plante (**Mliauskas et al., 2008**).

3. Résultats et discussion

3.3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes

Les résultats du dosage spectrophotométrique, des flavonoïdes de l'extrait méthanolique 10mg/g de *Lavandula dentata* L. par rapport à la Rutine sont établis dans le **tableau 10**.

Tableau 10: Résultats du dosage spectrophotométrique, des flavonoïdes de l'extrait méthanolique de *Lavandula dentata* L.

Echantillon	Teneurs	longueur d'onde (nm)
Extrait méthanolique 10mg/ml	6,439 ± 1,03 mg/g éq Rutine	415
Rutine	0,5 mg/ml	415

Le dosage spectrophotométrique, des flavonoïdes de l'extrait méthanolique 10mg/ml de *Lavandula dentata* L., à une longueur d'onde de 415 nm, nous a permis d'obtenir une teneur de 6,439 ± 1,03 mg/g éq Rutine.

En effet, ces résultats quantitatifs, viennent confirmer les résultats qualitatifs, trouvés lors du screening phytochimique, concernant la présence des flavonoïdes.

De plus, nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par **Messaoud et al., (2012)** dans une étude comparative de trois espèces de la lavande et qui ont trouvé une teneur de 10,1 mg/g éq Rutine, 12,3mg/g éq Rutine et 16,3 mg/g éq Rutine chez *Lavandula stoechas*, *Lavandula multifida* et *Lavandula coronopifolia*, respectivement.

Par ailleurs, les concentrations de flavonoïdes, dépendent du stade de maturation, le sol et les conditions climatiques (**Baustista et al., 2007**).

3. Résultats et discussion

3.4. Résultats de l'étude des activités biologiques

3.4.1. Résultats de l'activité antimicrobienne

Lors de cette étude, nous nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antimicrobien de l'extrait éthanolique des feuilles et des fleurs de *Lavandula dentata* L. (1mg du résidu sec / 1ml d'éthanol) et EA à 10%. Les résultats sont regroupés dans le **tableau 11**.

Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibitions des souches microbiennes étudiées.

Souches microbiennes	Moyennes des zones d'inhibition ± écart-type (mm)	
	Extrait éthanolique	EA à 10%
<i>Escherichia coli</i> (Bactérie)	14 ± 01	09 ± 02
<i>Staphylococcus aureus</i> (Bactérie)	13 ± 0.5	10 ± 1.732
<i>Bacillus subtilus</i> (Bactérie)	11 ± 2.18	10 ± 2,17
<i>Staphylococcus épidermidis</i> (Bactérie)	11 ± 2,645	09 ± 1,732
<i>Candida albicans</i> (levure)	18 ± 1,732	11 ± 02
<i>Beauveria bassiana</i> (champignon)	23 ± 01	10 ± 1,732

3. Résultats et discussion

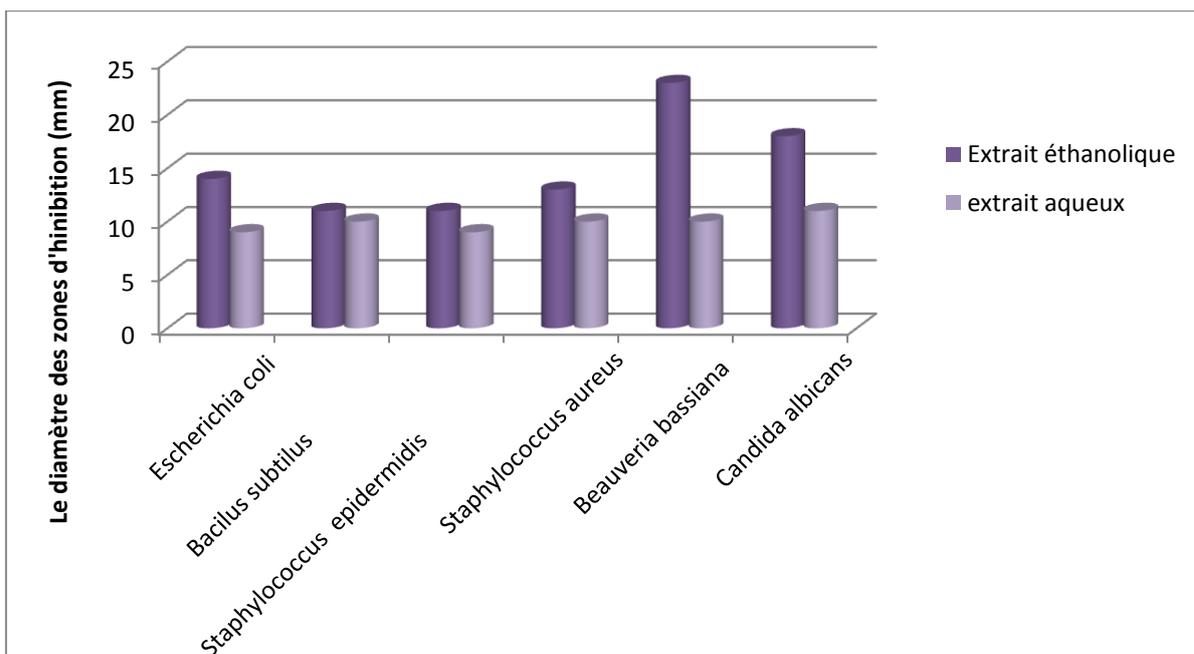


Figure 20 : Résultat de l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique sur les souches utilisées.

Suivant la (**Figure 20**), les souches *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus épidermis*, *Bacillus subtilus* et *E.coli* se sont montrées sensibles vis-à-vis extrait éthanolique des feuilles et des fleurs du *Lavandula dentata* L. avec des diamètres d'inhibition entre 14 mm et 11 mm (**Figure 21**).

Tandis que, ces mêmes souches bactériennes, se sont montrées résistantes à EA avec des zones d'inhibition de 09 mm et 10 mm (**Figure 22**) Ce qui nous laisse conclure que, pour ces souches : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilus* et *E.coli*, l'extrait éthanolique a donné un pouvoir antimicrobien supérieur à celui de l'EA.

3. Résultats et discussion



Figure 21 : Zones d'inhibition des souches microbiennes : *Escherichia coli*, *Beauveria bassiana*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* vis-à-vis l'extrait éthanolique (Original, 2014).

3. Résultats et discussion

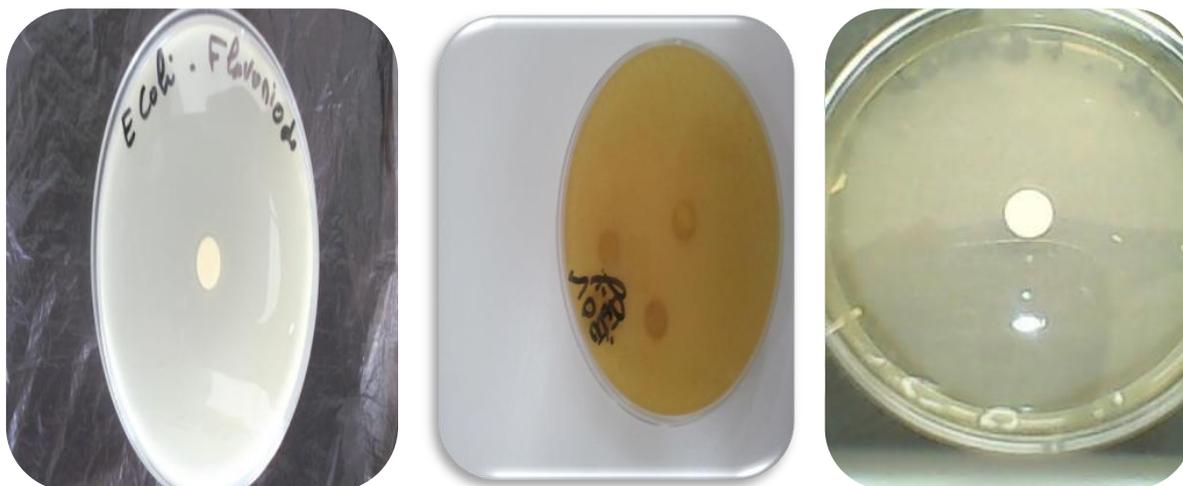


Figure 22: Absence des zones d'inhibition (9mm) pour *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* et *Beauveria bassiana* vis-à-vis l'extrait aqueux
(Original, 2014).

Nos résultats concordent avec ceux de **Imelouane et al., (2009)** pour l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L. vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* et *E.coli* qui s'est révélée modeste.

Concernant le genre *Bacillus*, les travaux de **Deans et Ritchie, (1987)** et **Lis-Balchin et al., (1998)** ont montré sa sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle de la lavande.

Pour les souches fongiques, les résultats ont montré que *Beauveria bassiana* est extrêmement sensible à l'extrait éthanolique avec un diamètre d'inhibition de 23 mm mais résistante vis-à-vis EA avec un diamètre d'inhibition de 10 mm.

Alors que *Candida albicans* s'est révélée sensible avec une zone d'inhibition de 18 mm, pour l'extrait éthanolique, et résistante à EA.

De ce fait, il est évident que, l'EA des feuilles et des fleurs du *Lavandula dentata* L. n'a aucun effet antifongique sur les deux levures : *Candida albicans* et *Beauveria bassiana*.

En somme, nous pouvons dire que, l'extrait éthanolique possède un pouvoir antifongique nettement supérieur à celui de l'EA.

Cette observation, peut être expliquée, par le fait que, les composés phénoliques des extraits des végétaux, agiraient sur les hyphes des mycéliums provoquant la sortie du

3. Résultats et discussion

contenu cytoplasmique, la perte de la rigidité et l'arrêt de croissance mycélienne (**Pritaphi et scharma, 2006**).

Bahorun (1997) a précisé que, la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques qui a été déterminée dans notre étude.

De plus, **Mori et al., (1987)**, ont mentionné que, les flavonoïdes, possèdent une activité antimicrobienne.

Cependant, **Chabot et al., (1992)**, ont rapporté que, les composés les moins polaires, comme les flavonoïdes, manquant le groupement hydroxyle « OH » sur leur cycle β sont plus actif vis-à-vis les microorganismes que , ceux portant le groupement «OH».

3.4.2. Résultats de l'activité antioxydante

L'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique est exprimée en IC 50%. Ce paramètre a été introduit par Brand-Williams et ses collaborateurs et a été ensuite utilisé par plusieurs chercheurs pour présenter leurs résultats. Il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de radicaux libres.

a) Activité antioxydante au DPPH de l'extrait méthanolique de *Lavandula dentata* L.

La courbe de la **figure 23** représente en ordonnée le pourcentage d'inhibition des radicaux libres en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique de la plante en abscisse.

La valeur correspondant au pourcentage d'inhibition à 50% est $IC_{50} = 41,34 \pm 7,56 \mu\text{g} / \text{ml}$.

Cette valeur est déterminé graphiquement dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonné l'activité antioxydante en pourcentage.

L' IC_{50} est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d la concentration de 'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %, Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

3. Résultats et discussion

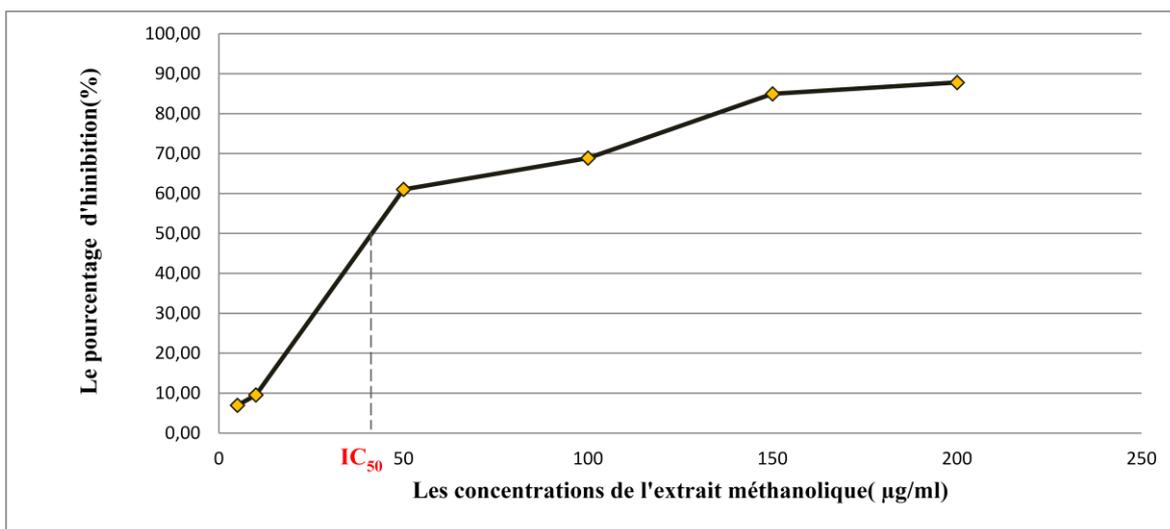


Figure 23: Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique.

b) Activité antioxydante au DPPH de la quercétine

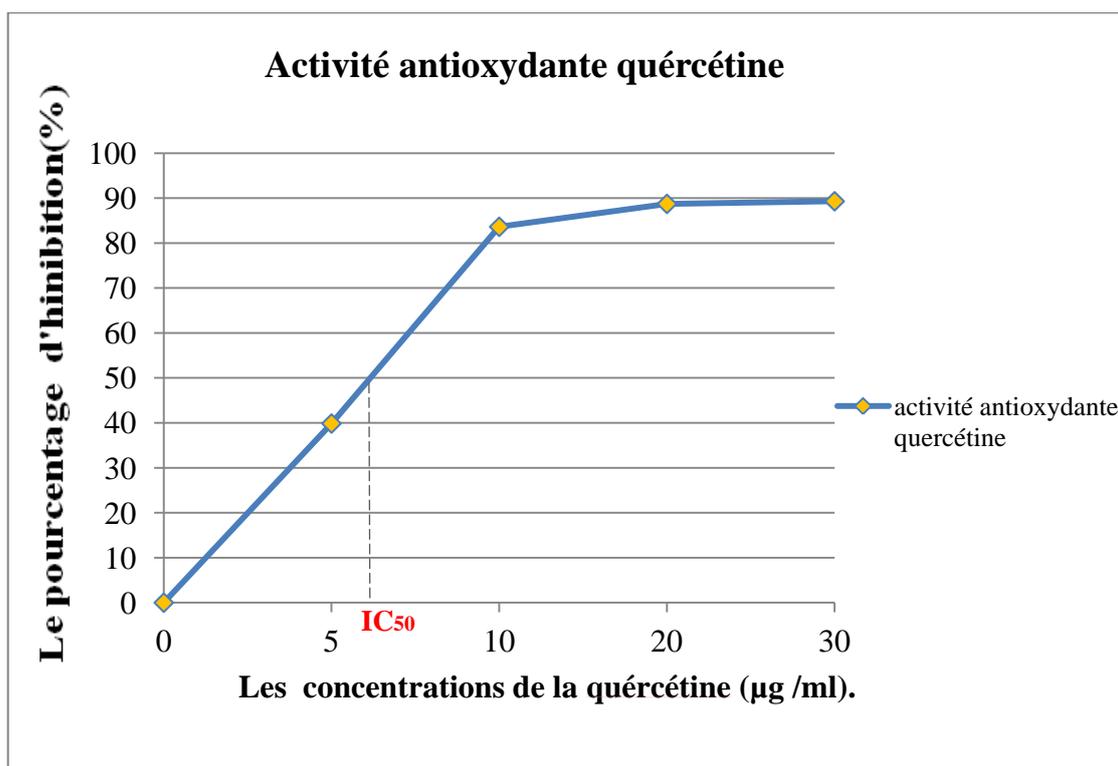


Figure 24: Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en quercétine.

À des fins comparatives un antioxydant standard est utilisé: la quercétine a montré une activité antiradicalaire très puissante avec IC₅₀ de l'ordre de $6,24 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$ (Figure 24).

3. Résultats et discussion

La valeur d'IC₅₀ de la quercétine est supérieure à celle de l'extrait méthanolique des feuilles et des fleurs de la lavande dentée (IC₅₀= 41,34 ± 7,56 µg /ml).

On remarque que notre EM a présenté un modeste pouvoir antioxydant. Le pouvoir antioxydant des parties aériennes de l'huile essentiel de *Lavandula dentata* L. avait une valeur de IC₅₀ de 32,12 par rapport à l'huile essentiel de la fleur 41, 29 µl / ml.

(Imelouane et al., 2010).

Ces résultats se rapproche avec la valeur de IC₅₀ de EM des feuilles et fleurs de *Lavandula dentata* L. qui est de IC₅₀= 41,34 ± 3,42 µg /ml.

L'activité antioxydante des polyphénols est principalement due à leur capacité d'agir comme des agents réducteurs et des piègeurs de radicaux **(Mai et al., 2009).**

Cette activité est généralement dépendante de la teneur en phénols totaux **(Lee et al., 2011).**

Selon l'étude de **Messaoud et al., (2012)** sur l'extrait méthanolique de trois espèces de la lavande, *Lavandula coronopifolia*, qui avait la plus grande teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes, a montré une activité antioxydante avec IC₅₀ = 15,8µg /ml supérieure aux deux autre espèces.

En outre, il doit être pris en compte du fait que la capacité antioxydante peut être attribué à la structure chimique des composés, ainsi que des effets synergiques ou antagonistes de composés présents dans l'extrait brut **(Cai et al., 2004)**. Par conséquent, la variation de la capacité d'antioxydant entre les espèces.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Le présent travail, a porté sur l'étude de l'extrait méthanolique et extrait aqueux des feuilles et des fleurs de *Lavandula dentata* L. .Ainsi, nous avons contribué, à la valorisation de cette plante, en établissant une relation entre sa composition chimique et ses activités biologiques.

Le taux d'humidité, de la poudre végétale des feuilles et des fleurs de la lavande dentée déterminé par le procédé de séchage à l'étuve, est de $9,6 \pm 0,02\%$, ce taux est conforme aux normes d'**ISO 662 (1996)**.

Le screening phytochimique, a permis de révéler la présence des flavonoïdes, des tannins catéchiques, des tannins galliques, des saponosides, des leuco-anthocyanes, des glycosides, des coumarines, des mucilages et des anthocyanes et absence des alcaloïdes dans les feuilles et les fleurs de la plante.

L'extraction méthanolique, de la poudre végétale des feuilles et des fleurs de *Lavandula dentata* L. nous a donné un rendement de 17 %.

Le dosage spectrophotométrique, nous a permis de quantifier les teneurs en composés phénoliques, qui sont de $660,82 \pm 53,33 \mu\text{g}/\text{mg}$ éq acide gallique et $228.47 \pm 16,77 \mu\text{g}/\text{mg}$ éq acide gallique respectivement pour l'extrait méthanolique et extrait aqueux. Ce dosage, nous a permis aussi de quantifier la teneur en flavonoïdes, qui est de $6,439 \pm 1,03 \text{ mg}/\text{g}$ éq Rutine.

Par ailleurs, l'étude du pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion de disque de l'extrait méthanolique et extrait aqueux de la plante montrent que toutes les souches bactériennes testées sont plus sensibles à l'extrait méthanolique qu'à l'extrait aqueux.

En ce qui concerne le pouvoir antifongique de l'extrait méthanolique e l'extrait aqueux de la plantes vis-à-vis les deux souches a permis de visualiser une action inhibitrice plus intéressante de l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage de radical libre DPPH de l'extrait méthanolique des feuilles et des fleurs de la lavande dentée a montré qu'il possède un modeste pouvoir antioxydant dont la valeur est de $\text{IC}_{50} = 41,34 \pm 7,56 \mu\text{g}/\text{ml}$.

Les résultats, aux quels nous avons abouti, sont très encourageants et promoteurs. Ils auraient été meilleurs, si tous les moyens nécessaires étaient disponibles.

Notre espèce *Lavandula dentata* L. est riche en métabolites secondaires, une exploitation de leurs propriétés antioxydante et antimicrobienne implique une recherche plus poussée de ses principes actifs.

Un travail complémentaire s'impose en vue d'identifier les différentes molécules en

Conclusion et perspectives

particulier, les composés phénoliques et les flavonoïdes présents dans les extraits et les purifier en utilisant diverses techniques chromatographiques notamment la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et des méthodes spectrales pour l'élucidation structurale.

Il serait intéressant d'augmenter l'effectif des souches bactériennes et fongiques, pour mieux évaluer l'activité antimicrobienne.

Annexes

Annexes

Annexe 1 Matériel non biologique

Appareillages	Verreries et autres	Réactifs et solutions
<ul style="list-style-type: none">- Balance analytique- Balance de précision- Hotte- Bain marie- Bec bunzen- Etuve d'incubation- Plaque chauffante- Spectrophotomètre UV-visible- Rotavapor de type (BUCHI rotavapor R-200)	<ul style="list-style-type: none">- Entonnoir- Béchers- Pipettes- Poire- Flacon ombré- Fioles jaugées- Epprouvette- Tubes à essai stériles- Pipettes graduées- Boîtes de Pétri- Disques absorbants- Pince de laboratoire- Moulin	<ul style="list-style-type: none">- Eau distillée- Ethanol- Méthanol- Eau de javel- Eau physiologique- Réactif de Drangendroff- Propanol- Acétat de plomb- Ammoniaque 1/2- FeCl₃, I₂, H₂SO₄, AlCl₃, NaCl à 9% et Na₂CO₃- Folin ciocalteau- Méthanol aqueux 70%- Hcl concentré- Hcl à 2 N- chloroforme- Acétat de sodium- KOH à 10%- Coupeau de magnésium- Alcool isoamylique- Acide sulfurique- Acide acétique- DPPH- Vortex

Annexe 2



**Figure 25 : Balance analytique
(Original, 2014)**



**Figure 26 : Plaque chauffante
(Original, 2014)**

Préparation du milieu de culture utilisé: Sabouraud

❖ Composition

- Peptone: 10g.
- Dextrose: 40g.
- Gélose: 15g.
- pH final: $6,5 \pm 0,2$.

❖ Préparation

Mettre 65 g de poudre en suspension dans un litre d'eau distillée et mélanger bien, puis chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète. Procéder ensuite, à la stérilisation en utilisant l'autoclave à 121°C pendant 15 à 20 min.

Préparation du réactif de Drangendroff : (iodobismuthate de potassium) dissolvez 8 g d'iodure de potassium R dans 20 ml d'eau, et ajouter cette solution à 0.85g d'oxynitrate de bismth R dissous dans 40 ml d'eau et 10 ml d'acide acétique glacial R.

Méthanol aqueux à 70% : 52ml de méthanol pur+ 48 ml d'eau distillée.

Références bibliographiques

Annexe 3

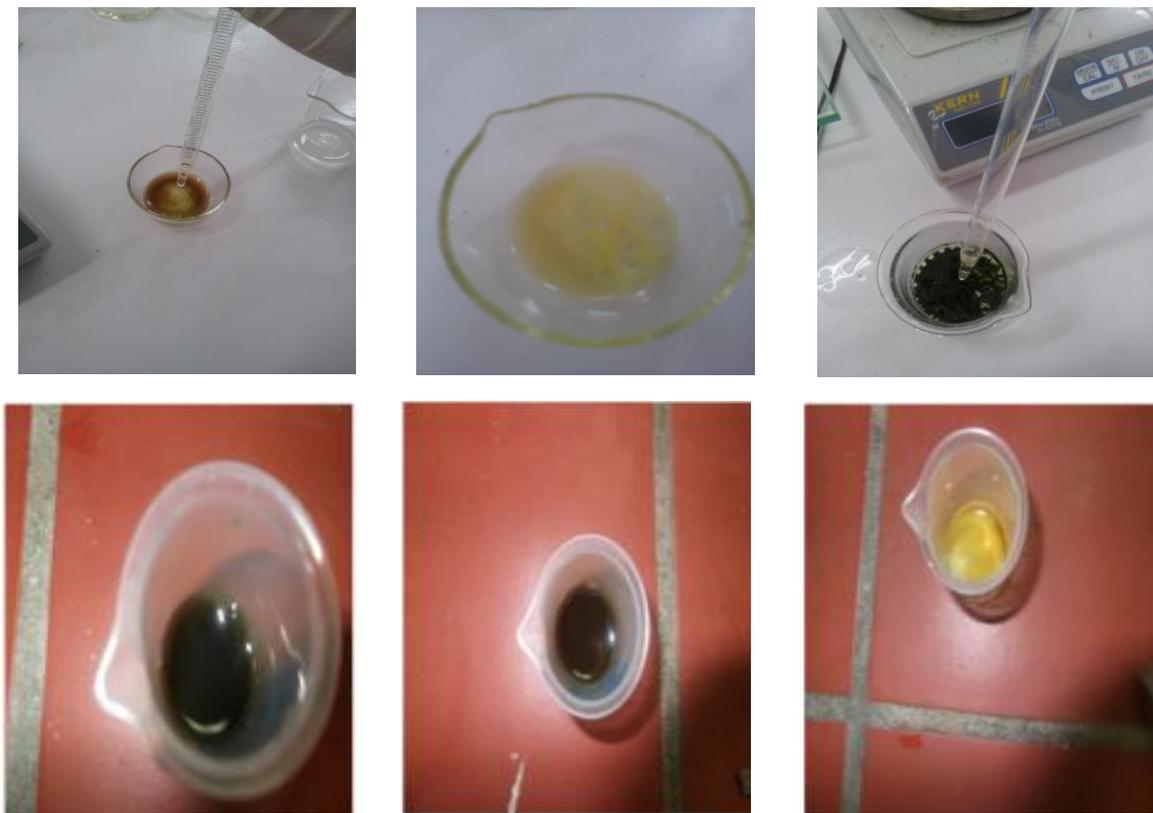


Figure 27 : Tests du screening phytochimique (Original, 2014).

Annexe 4

Définitions des paramètres statistiques utilisés

Moyenne d'un ensemble de valeurs : Considérons un échantillon de n mesures d'un paramètre donné (x_1, x_2, \dots, x_n) .

La moyenne est définie par :
$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Ecart type : C'est la racine carrée de la variance :

$$\sigma = \sqrt{\sigma^2} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i^2 - \bar{x}^2}$$

Références bibliographiques

- **Abdel Hammeed, ES., 2009:** Total phenolic contents and radical scavenging activity of certain Egyptian “Ficus species leaf samples”, *Food chemistry*, N°4, Vol:114, pp: 1271-1277.
- **Allemand C.J., Fleuriet A., Macheix J.J., 2005:** les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique . Ed: Presses polytechniques, p.560.
- **Al-Reza, Ahman S.M., Lee A., ChulKang J., 2010:** Potentiel roles of essential oil and organic extracts of *Zizyphusjuzuba*”, *Food Chemistry*, 119, pp: 981-986.
- **Amar Z, 1995:** Ibn al-baytar and the study of the plants of Al-Sham. *Journal: Qatedrah le tôldôt Eres yisra’l el we-yîsûbah*, N° 76. pp: 49-76.
- **Anonyme, 2003:** Scientific correspondence «Broad spectrum anti-mycotic drug for the treatment of ring worn infection in humain beings». *J. pharmacology*. Vol 85.pp: 30-34.
- **Aït Youssef M., 2006 :** Plantes médicinales de Kabylie. Edit : Ibis presse. Paris, 349p. , pp: 141-145.
- **Babar Ali M., Hahn E.J., Paek K.Y., 2007:** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. 12, pp: 607-621.
- **Bahorun T. ,1997:** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius. pp: 83-94.
- **Bartels A., 1997:** Guide des plantes du bassin méditerranéen, Ed : Eugen Ulmer, 400p.
- **Bautista O., Fernandez F., Lopez R., Gomez P. 2007:** The effects of oenological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis*, N° 20, pp: 546–552.
- **Bhat S.V., Nagasampiki B.A. et Sivakumar M., 2005:** Chemistry of Natural Products; Ed 1: Narosa, Springer ; pp: 115-252
- **Bonnier G., Douin R., 1990:** Labiée in La Grande Flore en couleur. Ed. Belin Paris, 4, pp: 892-951.
- **Bouakaz I., 2006:** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.
- **Bouayed, J., Piri, K., Rammal, H., Dicko, A., Desor, F., Younos, C., et Soulimani, R., 2007:** Comparative evaluation of the antioxidant potential of some Iranian medicinal plants. *Food Chemistry*, 104, pp: 364–368.
- **Boudiaf, K., 2006:** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister. Setif.
- **Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., et Gontier E., 2001:** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; *Plant Science* 161, pp: 839-851.
- **Bouyer J., 1996:** Méthodes statistiques, médecine biologie, pp: 139.
- **Bruneton, J., 1999:** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec &Doc (Ed). Paris, 575p.
- **Buchbauer G., Jirovetz L., 1991:** Aromatherapy: evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation. *Z. Naturforsch. C.* 46, pp: 1067-1072.
- **Cai Y., Luo Q., Sun M., Corke H. 2004:** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Science*, 74, pp: 2157–2184.
- **Cancer. Pharmacol Rev.** 52, pp: 673-751.

Références bibliographiques

- **Chabot S., Bel-Rhlid R., Chênevert R., Piché Y., 1992:** Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO₂-enriched conditions. *New Phytol.*, N°122, pp: 461-467.
- **Chaouche-Mazouni S., 2008 :** « Glossaire de biologie ».Ed: office des publications universitaires(OPU), Ben- aknoun Alger.OPU, 127p.
- **Chaytor D. A., 1937 :** A taxonomic study of the genus *Lavandula*. *J. Linn. Soc. Lond. Bot.* 51, pp: 153- 204. In Lis-balchin, M. (2002). *Lavender, the genus Lavadula*. London &New York: Taylor and Francis.
- **Chen G.N, Wang M.S., Wu C.L., Lin J.K., 2004:** Composition of radical scavenging activity. Cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanoma cells by taiwanespropolis from different sources, *CAM*, 1(2), pp:175-185.
- **Daayf F., Lattenzid V., 2008:** Recent Advances in Poly phenol Research 1; Ed: Wiley-Blackweel, pp: 1- 24.
- **Dacosta E. ,2003:** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317p.
- **Deans SG., and Ritchie G., 1987:** Antibacterial properties of plant essential oils.*Inter J Food Microbiol*, 5, pp: 165-80
- **Dupont F., Guignard J-L, 2012:** Abrégés de pharmacie. Botanique, les familles de plantes.Ed. Elsevier Masson, 336.
- **Ebrahimi N.S., Hdians J., Mirjalili M.H., Somboli A., Zodi Y.M., 2008:** « Essential oil composition and bacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages, *journal of food chemistry* », pp: 110, 927-931
- **Emma C., 1998 :** Le grand livre des herbes, Edition: ullman, 88p.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdely C., 2008:** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. pp: 331-372-379
- **Ferreres F., Barberan F. A. T.,Tomas F., 1986:** Flavonoids From *Lavandula dentata*. *Fitoterapia*. 57, pp: 199-200.
- **Gamet-Payraastre L., Manenti S., Gratacap M.P.,Tulliez J., Chap H., Payraastre B., 1999:** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology*. 32, pp: 279-286.
- **Gámez M. J., Jimenez J., 1990:** Study of the essential oil of *Lavandula dentata* L. *Pharmazie*. 45, pp: 69-70.
- **Gazengel J.M et Orecchoni A.M, 1999:** Le préparateur en pharmacie, guide théorique et pratique. Edit : Tech & Doc. Paris, 693p, pp: 155.
- **Gilly G., 1997 :** Les plantes à parfum et huiles essentielles de Grasse. Botanique, culture, chimie, production et marché. Ed. L'Harmattan , 428 pp.
- **Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez A., 2006:** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41, pp: 1220-1234.
- **González-Coloma A., Martín-Benito D., 2006:** Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochem. Syst. Ecol.* 34,pp : 609-616.
- **Grieve M., 1971:** *A Modern Herbal*, ol. II (New York: Dover Publications)

Références bibliographiques

- **Grünwald J et Janick C, 2004:** Guide de la phytothérapie. Edit : Marabout, 24p.
- **Guignard J-L., 1998:** Abrégé botanique. 2ème Edition Masson. Paris, 199p.
- **Guitton Y., 2010:** Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula*: aspects évolutifs et physiologiques. Thèse doctorat, Université de Saint Etienne, France. 253p.
- **Guyot-Declerck C., Renson S., Bouseta A. and Collin S., 2002:** Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia x latifolia* honeys. *Food Chemistry*. 79, pp: 453-459.
- **Hayder N., 2008:** Antimutagenic activity of *Myrtus communis*L. Using the salmonella microsome assay.
South African journal of botany.N°74, 121p.
- **Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M., 2002:** Flavonoids-potent and versatile biologically active compound interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*. 139, pp: 1-21.
- **Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., Katanc, M.B.,1996:** Analysis and health effects of flavonoids. *Food chem*. 51, pp: 43-46.
- **Imelouane B, El Bachiri A, Ankit M, Benzeid H, Khedid K , 2009 :** Physico-chemical compositions and Antimicrobial activity of essential oil of Eastern Moroccan *Lavandula dentata* . *Int J Agric Biol* 11, pp:113–118
- **Imelouane B., El Bachiri A., Wathelet J.P., Dubois J., Amhamdi H., 2010 :** Chemical composition, cytotoxic and antioxidant activity of the essential oil of *Lavandula dentata* . *World J Chem* 5(2):03–110
- **Iserin P ; 2001 :** Larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins.
Edit :
Larousse, Paris, pp: 212.
- **Iserin P ; Masson M ; Restellini J.P ; Ybert E ; de la roque R et Vican P, 2007 :** larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edit : Larousse, Paris, pp: 9-16.
- **ISO 662., 1996:** (International Organisation of Standardisation). Corps gras d'origine animal et végétale :
Détermination du taux d'humidité.
- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P., 2002:** Botanique systématique, une perspective phylogénétique. Ed : De Boeck Université, Paris, pp: 84-336.
- **Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L., Vergnes M.-F, 2008 :** Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne *Phytothérapie*, 6, pp: 160–164.
- **Kamoun P., 1997 :** Application et méthodes en biochimie et biologie moléculaire, médecine-science, Ed, Flammarion, Paris, pp: 96-417.
- **Kar A., 2007 :** Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: New age international publishers, pp: 1-30.
- **Kassel D, 1996 :** Des hommes et des plantes. 02p.
- **Kernbaum S., 2008 :** Dictionnaire de médecine. 2^{ème}Ed, Flammarion Medecine- Sciences, Paris, 1133p
- **Kim N. S., Lee D. S., 2002:** Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 982, 31-47.

Références bibliographiques

- **Lahoual M., Fillastre J.-P., 2004 :** “Role of flavonoids in the prevention of haematotoxicity due to chemotherapeutic agents”, pp: 313-320.
- **Lambert RJW., Skandamis PN., Coote P., Nychas GJE, 2001 :** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol , pp: 453-62.
- **Larousse, 2004:** «dictionnaire le petit Larousse illustré », 350p.

- **Lauranson J., 1989:** Exploitation de la diversité biochimique chez les conifères: Contribution à l'étude de l'hybridation *Pinus uncinata Ram. Pinus sylvestris L.* et à la croissance du complexe spécifique *Pinus nigra* Am. Thèse de doctorat d'état, université Claude Bernard- Lyon, pp: 207.
- **Laurier D. et Lepage F., 1992 :** « Essais sur le langage et l'intentionnalité », Ed, Massons, Paris, 369p.

- **Lawrence B.M., 1996:** Progress in essential oils. Perfumer & Flavorist 21, 55-68.
- **Leclerc, H., 1975 :** Précis de phytothérapie, Masson, 170p.
- **Lee C.J., Chen L.G., Chang T.L., Ke W.M., Lo Y.F., Wang C.C., 2011:** The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. Food Chemistry, 124, 833–841.
- **Lesueur D., Serra D.de Rocca, Bighelli A., Hoi T.M., Ban N.K., Thai T.H., Casanova J., 2007 :** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Meryll Flavour and Fragrance Journal, 22, 317-321.
- **Lhuillier A., 2007:** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.
- **Lim T.K., 2014:** Edible Medicinal and Non Medicinal Plants: Volume 8, Flowers, Springer Science.
- **Lis-balchin M., Deans S.G., Eaglesham E., 1998:** Relation ship between bioactivity and chemical Composition of commercial essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 13, pp: 98-104.
- **Lis-balchin M., 2002:** *Lavender, the genus Lavadula*. London & New York: Taylor and Francis, 268p.
- **Mahjenic L., kergat M.S., Knez Z., 2007:** “Antioxidant and antimicrobial activity of *guarana* seed extracts”. Food Chemistry, N°104, pp: 1258–1268.
- **Mai T.T., Fumie N., Chuyen N.V., 2009:** Antioxidant activities and hypolipidemic effects of an aqueous extract from flower buds of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) merr. and perry. Journal of Food Biochemistry,33, pp:790–807.
- **Marfak A., 2003:** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges.
- **Martin S., Andriantsitohaina R., 2002:** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51, pp: 304-315.
- **Mastelic J.M., Kustrak D., 1997:** Essential oil and glycosidically bound volatiles in aromatic plants: I. *Lavandin (Lavandula hybrida reverchon)*. Acta Pharmaceutica. 47, pp:133- 138.
- **Mensor L.L., Menezes F.S., Leitão G.G., Reis A.S., Santos T.C., Coube C.S., Leitão S.G., 2001:** Screening of Brazilian plant extracts for antioydan activity by the use of DPPH free radical method”. Phy.Tother.Res 15, pp: 127-130.
- **Merken H.M., Beecher G.R., 2000:**Liquid chromatographic method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones. *J Chromatography A*. 897, pp: 177-184.

Références bibliographiques

- **Messaoud C., Chograni H., Boussaid M., 2012:** Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula L.* species, *Natural Product Research*, Taylor & Francis Vol. 26, N°. 21.
- **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, pp: 673-751.
- **Milane, H., 2004:** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- **Miliauskas G., Venskutonis P.R., & Van Beek T., 2004:** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, pp: 231–237.
- **Mohammedi Z., 2006:** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister en Biologie. Université Abou Bakr Belkaïd. Tlemcen, 105p.
- **Molyneux P., 2004:** The use of the stable free radical diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity”, *Songklanakarinn. J. Sci. Technol.* 26 (2), pp: 211-219.
- **Moreira M.R., Ponce A.G., Delvalle C.E., Roura S.I., 2005:** « Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen », pp: 565-570.
- **Mori A., Nishino C., Enoki N., Tawata S ; 1987:** Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, N°26, pp: 2231-2234.
- **Naghbi F., Mosaddegh M., Motamed S-M, Ghorbani A., 2005 :** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, pp : 63-79.
- **Novoes-Panda A., 2001:** Preliminary of the hypoglycemic of some Brazilian medicinal plants”, *Therapy* 56, pp: 427- 430.
- **Ollier C., 2011 :** Conseils en phytothérapie. Edit : Pro-officina, Paris, 2^{ème} édition, pp: 1-47.
- **Paris R.R., Moyse H., 1976 :** « Précis de matière médicale », Tome I. Ed : Masson, Paris (France), 339p.
- **Pharmacopée européenne, 2002 :** 3^{ème} édition. Conseil de l'Europe, Strasbourg , pp: 681-683.
- **Pillet J., 2011 :** « Thèse de doctorat : Impact du microclimat sur le métabolisme de la bûche de raisin. l'université bord eaux .France, 200p.
- **Plummer D.T., 1989 :** Introduction aux techniques de biochimie, Ed, Mc Graw-Hill, Paris, 331p.
- **Pousset J. I., 1989 :** Plantes médicinales Africaines : utilisation pratique. Paris.
- **Ryley C., 1998:** Roman gardens and their plants. Sussex Archaeological Society, Lewes England. 56p.
- **Saadaoui B., Bekir J., Akrouf J., Ammar S., Mahjoub A., Mars M., 2007 :** Etude de la composition et du pouvoir antioxydant des composés phénoliques de quelques espèces végétales de l'aride tunisien. *Revue des régions arides*, N°1, pp: 87-92.
- **Schawenberg P et Paris F, 1977 :** Guide des plantes médicinales. Edit : Delachaux et Nestlé, Paris, 1^{ère} édition, pp: 396.

Références bibliographiques

- **Schulz H., Özkan G., 2005** : Characterisation of essential oil plants from Turkey by IR and Raman spectroscopy. *Vib. Spectrosc.* 39, pp: 249-256.
- **Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., 2005** : Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *J Ethnopharmacol*, 96, pp:151-8.
- **Stora D., 2010**: « Pharmacologie P », pp: 138-318
- **Singleton V.L., Othier R., et Lamuela R.M., Raventos R., 1998** : "Analysis of total phenols and other oxidation substances and antioxidants by means of folin cioalteu reagent, *Methods in Enzymologie*. Vol.: 229, pp: 152-178.
- **Singleton V.L., Rossi J. A., 1965**: « colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents", *American Journal of endogy and viticulture*, Vol 320, pp: 144-158.
- **Teucher E., Anton R., Lobstein A., 2005** : Plantes aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edit : TEC & DOC, 522 p, pp : 236-240.
- **Tieppo J., Vercelino R., Dias A.S., Silva Vaz M.F., Silveira T.R., Marroni C.A., Marroni N.P., Henriques J.A.P., Picada J.N., 2007** : Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology*. 45, pp: 1140-1146.
- **Tripathi A., et Sharma N., 2006**: fungitoxicity of the essential oil of *Cinensis* citrus on postharvest pathogens. *Word journal of microbiology and biotechnology*. Vol (587), N°3, pp: 226-59.
- **Ultee A., Kets EPW., Smid E ,1999**: Mechanisms of action of carvacrol on the Food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, 65, pp: 4606-4610.
- **Upton T., Andrews S., 2004**: *The genus Lavandula*. Portland and Oregon, USA: Timber Press. p 442.
- **Verpoorter et Alfermaan A.W., 2000**: *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*; Ed: Kluwer Academic; p: 1- 23.
- **Vuorela S., 2005**: Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics, Helsinki. Vol(53), N°3, pp: 40-45.
- **Walton N.J., Brown D.E.; 1999**: *Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products*; Ed: World scientific; pp: 1-14.
- **Wang G., Mazza G., 2002**: Effet of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds on the Production Of Tumor Necrosis Factor α LPS/IFN- γ -Activated RAW 264.7 Macrophage", *J. Agric. Food Chem.*50, pp: 4381-4383.
- **Wink M., 2010**: *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*; Annual Plant Reviews 40; Ed: Wiley-Blackweel, pp: 1-23.
- **Xu Y.C., Leung S.W.S., Yeung D.K.Y., Hu L.H., Chen G.H., Che C.M., Man R.Y.K., 2007**: Structure- activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytochemistry*. 68, pp: 1179-1188.