

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

Université Saad Dahleb, Blida 1

Faculté des Sciences

Département de Chimie



Mémoire présenté par

LAIMOUCHE noussaiba et REZZOULA malika

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des Produits Naturels

Thème

**Etude de l'efficacité antioxydante synergique
des extraits de *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*
(Lamiaceae)**

Soutenu publiquement le 24 juillet 2019 devant le jury composé de :

M ^r	B. Kadri	MCA à Université de Blida 1	Président
M ^r	R. Zahi	MCB à Université de Blida 1	Examineur
M ^{me}	O. TOUAFEK	MCA à Université de Blida	Promotrice

Promotion 2018-2019

Remerciements

Nous tenons en premier lieu, à remercier Allah le Tout Puissant de nous avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Tout d'abord, nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice Mme O. TOUAFEK, qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, par sa grande patience, par sa disponibilité et ses conseils judicieux.

Nos remerciements vont également à Mr KADRI, professeur à l'université de Blida 1 qui a eu l'amabilité d'accepté d'être le président du jury, nous vous exprimons profonde reconnaissance.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mr ZAHY, docteur à L'université de Blida1, d'avoir accepté de juger ce travail.

Un remerciement au doctorante CHOUIE qui nous a aidés et conseillés durant ce travail.

Un remerciement chaleureux et sincère à tous membres de l'équipe de laboratoire pédagogique à l'université de Blida1, pour l'effort qui ont fourni tout au long du cycle de réalisation de notre projet de fin d'étude.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à toute personne qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.

Malika REZZOULA et Noussaiba LAIMOUCHE

Dédicaces



A l'occasion de ce mémorable travail marquant, qui se rapporte au projet de Ma Soutenance. Il m'est très agréable à dédier ce louable travail,

A Mon cher père 'REZZOULA HAMID' qui a toujours cru en moi et a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse dans mes études.

A l'âme de ma mère 'BEN ALLAL FIFI'.

A mes chères grandes mères 'AICHA et ZAHIA'

A tous oncles et tantes de la famille REZZOULA et BEN ALLAL.

A mes cousins et cousines.

A ma tante FATIMA.

Je vous remercie de votre patience vous m'avez aidé toujours à avancer, pour le soutien moral au moment difficile.

Merci d'être toujours près de moi, famille avec laquelle je souris.

A ma très chère amie 'LAIMOUCHE NOUSSAIBA AICHA', je dédie ce travail a toute notre préparation, les jours et les nuits blanches, nos larmes et nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie. A notre belle amitié.

A mes très chères copines 'Soumia, Sarah, Karima et Ilhem'.

A tous amis et amies.

A elbatbota .

En fin à toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans ma vie à un moment ou à un autre et qui ont participé à faire de moi celle que je suis aujourd'hui.

REZZOULA MALIKA AMIRA

Dédicaces



Avec ma gratitude et tous mon amour, je dédie ce travail

A mes très chers parents, qui ont toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines. C'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect, j'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

*A mes très chères sœurs : **Chérifa, Wafa, Roua et Alaa.***

*A mon très cher frère : **Mouhamed.***

A mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines.

*A mon fiancé : **Nacer** pour tes encouragements et ton aide.*

A toute ma famille et belle famille

*A ma cinquième sœur **REZZOULA Malika Amira** : pour toute ta gentillesse, ta patience, ta douceur a les jours et les nuits qu'on a passé ensemble plaine fraternité pour réaliser ce travail, Merci habibti.*

*A **Karima, Ilhem, Lamia et Ahlem.***

*A toutes mes **copines.***

*A **elbatbota.***

A tous ceux qui me sont chers et ont une place dans mon cœur.

LAIMOUCHE Noussaiba

Résumé

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante de deux plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae : « *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* ».

L'extraction par Soxhlet des différentes parties de l'espèce *Satureja calamintha* et de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva*, nous a permis de préparer huit extraits. L'analyse qualitative de ces extraits par chromatographie sur couche mince (CCM) montre leur richesse en métabolites secondaires (composés terpéniques, flavonoïdes...).

La détermination de la quantité des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a montré que, pour chaque partie de plante, l'extrait acétate d'éthyle est plus riche en polyphénols que l'extrait éthanolique.

L'étude phytochimique de l'extrait acétate d'éthyle partie feuilles de l'espèce *Satureja calamintha*, en utilisant les différentes techniques chromatographiques (CC et CCM), a permis d'isoler et purifier deux composés.

Grâce aux réactions de caractérisations des flavonoïdes, ainsi que l'analyse par spectrophotométrie UV-Vis, nous avons pu montrer que ces composés sont des flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antioxydante, par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, des extraits acétate d'éthyle et éthanolique des deux espèces étudiées ont montrés que tous ces extraits possèdent un pouvoir antioxydant important.

En fin, l'étude de l'effet de synergisme entre les différents extraits de l'espèce *Satureja calamintha*, ainsi qu'entre les extraits des deux plantes étudiées a été également démontrée.

Mots clés :

Satureja calamintha, *Ajuga iva*, Activité antioxydante, dosage des polyphenols, spectrophotométrie UV-Vis, Activité antioxydante synergique.

Abstract

This work aimed to the phytochemical study and the antioxidant activity of two medicinal plants which belong to the Lamiaceae family: "*Satureja calamintha* and *Ajuga iva*".

Extraction by Soxhlet of the different parts of the *Satureja calamintha* species and the aerial part of the *Ajuga iva* species allowed us to prepare eight extracts. The qualitative analysis of these extracts by thin layer chromatography (TLC) shows their richness in secondary metabolites (terpenes, flavonoids...). Total phenolic contents were determined using the Folin-Ciocalteu method, showed that for each plant part; the ethyl acetate extract is richer in polyphenols than the ethanolic extract.

From the flavonoids characterization reactions, as well as the UV-Vis spectrophotometry analysis, we have been able to show that these compounds are flavonoids.

The evaluation of the antioxidant activity, by the DPPH free radical scavenging method, of the ethyl acetate and ethanolic extracts of the two species studied, showed that all these extracts have an important antioxidant power. In the end, the study of the synergistic effect between the different extracts of the species *Satureja calamintha*, as well as between the extracts of the two studied plants has also demonstrated.

Keywords

Satureja calamintha, *Ajuga iva*, antioxidant activity, détermination of total phenolic content, UV-Vis spectrophotometry, Synergistic antioxidant activity.

ملخص

يتضمن هذا البحث الدراسة الكيميائية النباتية و النشاط المضاد للأكسدة لنبتتين طبيبتين تنتميان الى العائلة الشفوية هما النابطة و الشندقورة (*Satureja calamintha* و *Ajuga iva*).
أولا تم تحضير ثمانية مستخلصات من مختلف أجزاء نبتة النابطة و من الجزء الهوائي لنبتة الشندقورة باستعمال جهاز Soxhlet.

التحليل النوعي لهذه المستخلصات بواسطة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة أدى الى اظهار كم هائل من منتجات الايض الثانوية كالمركبات التربينية و الفلافونويدات.

أظهر تقدير كمية البوليفينول الكلي باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu أن كمية متعدد الفينول في مستخلص أسيتات الإيثيل اكبر منه في مستخلص الإيثانول و ذلك بالنسبة لكل جزء نباتي.

مكنت الدراسة الكيميائية النباتية لمستخلص اثيل الاسيتات المستخرج من أوراق نبتة النابطة بواسطة مختلف تقنيات الكروماتوجرافيا من عزل و تنقية مركبين حيث أظهر التحليل الطيفي بواسطة هذان المركبان بواسطة مطيافية الأشعة فوق بنفسجية أن هذان المركبان صيغة الفلافونويدات .

أظهرت نتائج دراسة النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات النبتتين المد روستين باستعمال طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH أن جميع هذه المستخلصات تملك نشاطية .

في الأخير، تم توضيح دراسة التأثير التآزري بين مختلف مستخلصات نبتة النابطة من جهة و بين مستخلصات النبتتين المد روستين .

الكلمات المفتاحية : النابطة , الشندقورة , النشاط المضاد للأكسدة , كمية متعدد الفينول , مطيافية الأشعة فوق بنفسجية , دراسة نشاط التآزر المضاد للاكسدة.

Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Partie théorique

I. Présentation de la famille des lamiacées	3
II. Aperçu bibliographique sur le genre <i>Satureja</i>	3
II.1. Description botanique du genre <i>Satureja</i>	3
II.2. Distribution du genre <i>Satureja</i>	3
II.3. Travaux antérieurs sur le genre <i>Satureja</i>	3
II.4. Propriétés biologique du genre <i>Satureja</i>	5
III. Aperçu bibliographique sur l'espèce <i>Satureja Calamintha</i>	6
III.1. Présentation de l'espèce <i>Satureja Calamintha</i>	6
III.1.1. Classification dans la systématique botanique	7
III.1.2. Description botanique	7
III.1.3. Distribution géographique.....	7
III.2. Propriétés biologiques de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	8
III.3. Travaux antérieur sur l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	8
IV. Aperçu bibliographique sur le genre <i>Ajuga</i>	11
IV.1. Description botanique sur le genre <i>Ajuga</i>	11
IV.2. Distribution du genre <i>Ajuga</i>	11
IV.3. Les propriétés biologiques du genre <i>Ajuga</i>	11
IV.4. Travaux antérieurs sur le genre <i>Ajuga</i>	12
V. Aperçu bibliographique sur l'espèce <i>Ajuga Iva</i>	14
V.1. Présentation de l'espèce <i>Ajuga Iva</i>	14
V.1.1. Classification dans la systématique botanique.....	15

V.1.2. Description botanique.....	15
V.1.3. Distribution géographique	15
V.2. Propriétés pharmacologiques de l'espèce <i>Ajuga Iva</i>	16
V.3. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Ajuga Iva</i>	16
VI. Généralité sur l'activité antioxydante	18
VI.1. Définition d'un antioxydant.....	18
VI.2. Les antioxydants endogènes	18
VI.2.1. La superoxyde dismutase (SOD).....	19
VI.2.2. Les catalases (CAT).....	19
VI.2.3. La Glutathion peroxydase (GPX).....	19
VI.2.4. Les peroxyredoxines (PRX).....	19
VI.3. Les antioxydants exogènes	19
VI.3.1. La vitamine E	19
VI.3.2. La vitamine C	20
VI.3.3. Les caroténoïdes	20
VI.3.4. Les flavonoïdes	20
VI.3.5. Les tanins	20
VI.3.6. Les coumarines.....	20
VI.4. Les radicaux libres	21
VI.4.1. Les principaux radicaux libres	21
VI.5. Le stress oxydatif.....	21

Partie expérimentale

Chapitre I : Etude phytochimique des extraits des deux plantes étudiées *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*.

I. Matériel végétal.....	22
--------------------------	----

II. Méthode d'extraction.....	22
III. Caractéristiques et rendements des différents extraits.....	23
III.1. Aspect et couleur de différents extraits.....	23
III.2. Calcul du rendement	24
IV. Analyse des extraits par CCM	24
IV.1. Principe.....	25
IV.2. Résultats de l'analyse des extraits d'acétate d'éthyle.....	25
IV.3. Résultats de l'analyse des extraits éthanoliques	26
IV.4. Discussion des résultats	28
V. Dosage des polyphénols totaux.....	29
V.1. principe	30
V.2. Protocole expérimentale.....	30
V.3. Teneur en polyphénols totaux des extraits d'acétate d'éthyles	32
V.4. Teneur en polyphénols totaux des extraits éthanolique.....	33
V.5. Comparaison des teneurs en polyphénols totaux des différents extraits.....	34
VI. Séparation par chromatographie sur colonne.....	35
VI.1. Principe.....	35
VI.2. Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle feuilles de l'espèce <i>Satureja calamintha</i> (EAFsc).....	35
VI.3. Séparation de la fraction F ₁ par CCM préparative	36
VI.4. Purification des composés séparés C ₁ et C ₂	37
VI.5. Détermination de la structure des composés C ₁ et C ₂	38
VI.5.1. Caractérisation des composés C ₁ et C ₂	38
VI.5.2. Caractérisation des composés C ₁ et C ₂	38
Chapitre II : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des espèces <i>Satureja calamintha</i> et <i>Ajuga iva</i>. Etude de l'effet de synergie.	
I. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH.....	41
I.1. Principe du test de DPPH	41

I.2. Protocole expérimentale	42
I.3. Résultat de l'activité antioxydante testé par la méthode du DPPH.....	43
I.3.1. Détermination de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de <i>Satureja calamintha</i>	43
I.3.2. Détermination de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	45
I.3.3. Détermination de l'activité antioxydante des extraits des tiges de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	47
I.3.4. Détermination de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de <i>Ajuga iva</i>	49
I.3.4. Comparaison de l'activité antioxydante des extraits Acétate d'éthyle de la partie aérienne, feuilles et tiges de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	51
I.3.6. Comparaison de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la partie aérienne, feuilles et tiges de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	53
I.3.7. Comparaison de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne des deux espèces <i>Satureja calamintha</i> et <i>Ajuga iva</i>	55
I.3.8. Comparaison de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la partie aérienne des deux espèces <i>Satureja calamintha</i> et <i>Ajuga iva</i>	57
II. Etude de l'effet de synergie.....	61
II.1. Principe.....	61
II.2. Protocole.....	61
II.3. Détermination de l'activité antioxydante des mélangés de différentes parties de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	62
II.4. Détermination de l'activité antioxydante des mélangés des extraits de la partie aérienne des deux espèces <i>Satureja calamintha</i> et <i>Ajuga iva</i>	63
II.5. Détermination de l'effet de la combinaison des extraits.....	65
Conclusion générale	67
Références bibliographique.....	69
Annexe.....	80

Liste des tableaux

Tableau 1 : Propriétés biologiques de quelques espèces du genre <i>Ajuga</i>	11
Tableau 2 : Aspect et couleur des différents extraits.....	24
Tableau 3 : Masses et rendements de différents extraits obtenus.....	24
Tableau 4 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits acétate d'éthyle de <i>Satureja calamintha</i> et <i>Ajuga iva</i>	26
Tableau 5 : Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits éthanoliques de <i>Satureja calamintha</i> et <i>Ajuga iva</i>	27
Tableau 6 : Résultats par chromatographie sur couche mince des métabolites secondaires établie par Markham.....	28
Tableau 7 : Absorbance de la gamme de concentration d'acide gallique.....	30
Tableau 8 : Teneur en polyphénols totaux existant dans les extraits acétate d'éthyle.....	32
Tableau 9 : Teneur en polyphénols totaux existant dans les extraits éthanoliques.....	33
Tableau 10 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle de la partir feuille de l'espèce <i>Satureja calamintha</i> (EAF _{sc}).....	36
Tableau 11 : Quelques caractéristiques des composés C ₁ et C ₂	38
Tableau 12 : Déplacements des maximums des bandes 1 et 2 remarqués dans le méthanol des principales classes de flavonoïdes.....	39
Tableau 13 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAA _{sc} , EEA _{sc} et du standard.....	44
Tableau 14 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{sc} , EEA _{sc} et du standard (la vitamine C).....	44
Tableau 15 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAF _{sc} , EEF _{sc} et du standard.....	45

Tableau 16 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAF _{sc} , EEF _{sc} et du standard (la vitamine C).....	46
Tableau 17: Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAT _{sc} , EET _{sc} et du standard.....	47
Tableau 18 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAF _{sc} , EEF _{sc} et du standard (la vitamine C).....	48
Tableau 19 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAA _{ai} , EEA _{ai} et du standard.....	49
Tableau 20 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{ai} , EEA _{ai} et du standard (la vitamine C).....	50
Tableau 21 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAA _{sc} , EAF _{sc} , EAT _{sc} et du standard.....	51
Tableau 22 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{sc} , EAF _{sc} , EAT _{sc} standard.....	52
Tableau 23 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EEA _{sc} , EEF _{sc} , EET _{sc}	53
Tableau 24 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EEA _{sc} , EEF _{sc} , EET _{sc}	54
Tableau 25 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAA _{sc} , EAA _{ai}	55
Tableau 26 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{sc} , EAA _{ai}	56
Tableau 27 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EEA _{sc} , EEA _{ai}	57
Tableau 28 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{sc} , EAA _{ai}	58

Tableau 29 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits (EAF _{sc} +EAT _{sc}), (EEF _{sc} +EET _{sc})	62
Tableau 30 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits (EAF _{sc} +EAT _{sc}), (EEF _{sc} +EET _{sc})	63
Tableau 31 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits (EAA _{sc} +EAA _{ai}), (EEA _{sc} +EEA _{ai}).....	64
Tableau 32 : Les valeurs de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits (EAA _{sc} +EAA _{ai}), (EEA _{sc} +EEA _{ai})	65
Tableau 33 : Les valeurs de IC et les effets de la combinaison.....	66

Table des figures

Figure 1 : Photos de <i>Satureja calamintha</i>	7
Figure 2 : Photo d' <i>Ajuga iva</i>	15
Figure 3 : Protocole adopté pour la préparation des extraits.....	23
Figure 4 : Chromatogramme des extraits acétate d'éthyle des deux plantes.....	25
Figure 5 : Chromatogramme des extraits éthanolique des deux plantes.....	27
Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	31
Figure 7 : Histogramme de la teneur en polyphénols totaux des extraits acétate d'éthyle.....	32
Figure 8 : Histogramme de la teneur en polyphénols totaux des extraits éthanoliques.....	33
Figure 9 : Histogramme des teneurs en polyphénols des extraits acétate d'éthyle et éthanoliques des différentes parties des deux plantes.....	34
Figure 10 : Les chromatogramme des fractions.....	36
Figure 11 : Les chromatogramme des composés séparés C ₁ et C ₂	37
Figure 12 : Analyse par UV du produit C ₁	39
Figure 13 : Analyse par UV du produit C ₂	40
Figure 14 : Réaction d'un antioxydant donneur d'hydrogène avec le radical DPPH●.....	41
Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAA _{sc} , EEA _{sc} et du standard	44
Figure 16 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{sc} , EEA _{sc} et de la Vit C.....	45
Figure 17 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAF _{sc} , EEF _{sc} et du standard.....	46
Figure 18 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAF _{sc} , EEF _{sc} et de la Vit C.....	47
Figure 19 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAT _{sc} , EET _{sc} et du standard.....	48

Figure 20 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAT _{sc} , EET _{sc} et de la Vit C.....	49
Figure 21 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAA _{ai} , EEA _{ai} et du standard.....	50.
Figure 22 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{ai} , EEA _{ai} et de la Vit C.....	51
Figure 23 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAA _{sc} , EAF _{sc} , EAT _{sc}	52
Figure 24 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{sc} , EAF _{sc} , EAT _{sc}	53
Figure 25 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EEA _{sc} , EEF _{sc} , EET _{sc}	54
Figure 26 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EEA _{sc} , EEF _{sc} , EET _{sc}	55
Figure 27 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAA _{sc} , EAA _{ai}	56
Figure 28 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EAA _{sc} , EAA _{ai}	56
Figure 29 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EEA _{sc} , EEA _{ai}	58
Figure 30 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits EEA _{sc} , EEA _{ai}	58
Figure 31: Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des huit extraits et du standard.....	59
Figure 32 : Les pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de extrait (EAF _{sc} +EAT _{sc}), (EEF _{sc} +EET _{sc}).....	62
Figure 33 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits (EAF _{sc} +EAT _{sc}), (EEF _{sc} +EET _{sc}).....	63
Figure 34 : Les pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits (EAA _{sc} +EAA _{ai}), (EEA _{sc} +EEA _{ai}).....	64
Figure 35 : Histogramme de l'IC ₅₀ et l'ARP des extraits (EAA _{sc} +EAA _{ai}), (EEA _{sc} +EEA _{ai}).....	65

Abréviations

- BHA** : Butylhydroxyanisole.
- BHT** : Butylhydroxytoluène .
- DPPH** : le 2,2'-Diphényle-1-picrylhydrazyl .
- HE** : Huile essentielle.
- LC/MS** : La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse.
- GC/MS** : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse .
- GC** : La chromatographie en phase gazeuse .
- SOD** : Les superoxydes dismutases.
- CAT** : Les catalases.
- GPX** : Gluthathion peroxydase.
- PRX** : Les peroxyredoxine.
- ABTS** : Acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
- EAA_{sc}** : Extrait acétate d'éthyle partie aérienne *Satureja calamintha*.
- EAF_{sc}** : Extrait acétate d'éthyle partie feuille *Satureja calamintha*.
- EAT_{sc}** : Extrait acétate d'éthyle partie tige *Satureja calamintha*.
- EAA_{ai}** : Extrait Acétate d'éthyle partie aérienne *Ajuga iva* .
- EEA_{sc}** : Extrait éthanolique partie aérienne *Satureja calamintha*.
- EEF_{sc}** : Extrait éthanolique partie feuille *Satureja calamintha*.
- EET_{sc}** : Extrait éthanolique partie tige *Satureja calamintha*.
- EEA_{ai}** : Extrait éthanolique partie aérienne *Ajuga iva* .
- MV** : Matériel végétale.
- CCM** : Chromatographie sur couche mince.
- UV** : Ultra-violet.
- R_f** : Rapport frontale.

UV-Vis : spectrophotométrie Ultra-violet Visible.

EAG: Equivalent d'acide gallique.

mg : milligramme.

gAG : gramme acide gallique.

F : Fraction .

C₁ : Composé 1.

C₂ : Composé 2.

ARP : Puissance antiradicalaire .

Abs t : Absorbance du témoin négatif.

Abs e : Absorbance de l'échantillon testé.

IC₅₀ : Concentration d'inhibitrice de 50 %.

CE₅₀ : Concentration efficace.

% Inh : Pourcentages d'inhibition.

Vit C : Vitamine C.

mL: millilitre.

nm: nanomètre.

IC : Indice de combinaison.

(+) : Saturation.

(-) : Valeur non déterminé

Introduction générale

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles (HE) et leurs extraits. Ces dernières sont des produits à forte valeur, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires [1].

Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques, tel que l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante, Cette dernière contrôlent le niveau des espèces réactives d'oxygène [2] Par utilisation des molécules antioxydantes naturelles ou synthétiques.

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause de raison des risques toxicologiques potentiels. Les antioxydants de synthèses les plus couramment utilisés sont le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT) [3].

Cependant, ces antioxydants de synthèse sont suspectés être responsables de dommages au foie et d'induire certains cancers [4]. Par conséquent, le développement et l'utilisation d'antioxydants plus efficaces d'origine naturelle sont souhaités. Pour cela, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées [5].

L'objectif de notre travail est de déterminer l'activité antioxydante des extraits de deux plantes médicinales « *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* » appartenant à la famille « Lamiaceae », l'une des familles la plus importante dans la flore Algérienne et la plus utilisée par les thérapeutes traditionnels, et l'étude de l'effet de synergie. Pour cela, deux aspects principaux sont visés dans cette étude. Le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction, la quantification des composés phénoliques, la détermination de la composition chimique des extraits par chromatographie sur couche mince et la séparation de métabolites secondaires par chromatographie sur colonne. Le second aspect concerne l'évaluation de l'activité

antioxydante des extraits par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, ainsi que l'étude de l'effet de synergisme de différentes combinaisons.

Ce mémoire est subdivisé en deux parties ;

La partie théorique est consacrée à une étude bibliographique sur les deux plantes étudiées.

La partie expérimentale contient deux chapitres ; le premier renferme l'étude phytochimique et le dosage des polyphénols totaux, tandis que le deuxième aborde l'étude de l'activité antioxydante des extraits et l'effet de synergisme.

En fin, nous terminerons par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Présentation de la famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées ou Labiées est une importante famille de plantes dicotylédones, elle est répartie sur l'ensemble de la surface de la planète, bien qu'elles soient plus présentes en climats tempérés et surtout dans le pourtour méditerranéen [6].

Les Lamiacées comprennent environ 258 genres et 6970 espèces [7]. Cette famille est caractérisée par la présence des tiges généralement quadrangulaires à leur base et très ramifiées, des feuilles pétiolées et opposées. Aussi les inflorescences, situées à l'aisselle des feuilles supérieures, elles sont fréquemment condensées en glomérules et souvent simulent autour de la tige un verticille de fleurs, celui-ci est irrégulière [8].

Les plantes de cette famille contiennent une très large gamme de composés chimiques comme les terpénoïdes, les iridoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les stérols et les diterpènes [9-13]. Les huiles essentielles et les courtes chaînes des terpénoïdes sont responsables de l'odeur et la saveur caractéristique des Lamiacées [14].

Plusieurs espèces de cette famille sont utilisées comme diurétique, anti-diarrhéique, cicatrisante, antiseptique [15], anti-inflammatoire, antibactérienne, antiviral et antioxydant [16].

II. Aperçu bibliographique sur le genre *Satureja*

II.1. Description botanique du genre *Satureja*

Le nom « *Satureja* » vient du mot latin "satura" c'est-à-dire pot à fleurs (ornemental). Il existe environ 200 espèces d'herbes et d'arbustes sont remarquables par leur odeur forte et aromatique, qui rappelle celle de la menthe [17]. Ce genre est caractérisé par des parties aériennes ayant un goût distinctif et peuvent être ajoutées à plusieurs préparations culinaires ou utilisées en médecine traditionnelle, pour traiter diverses affections.

II.2. Distribution de genre *Satureja*

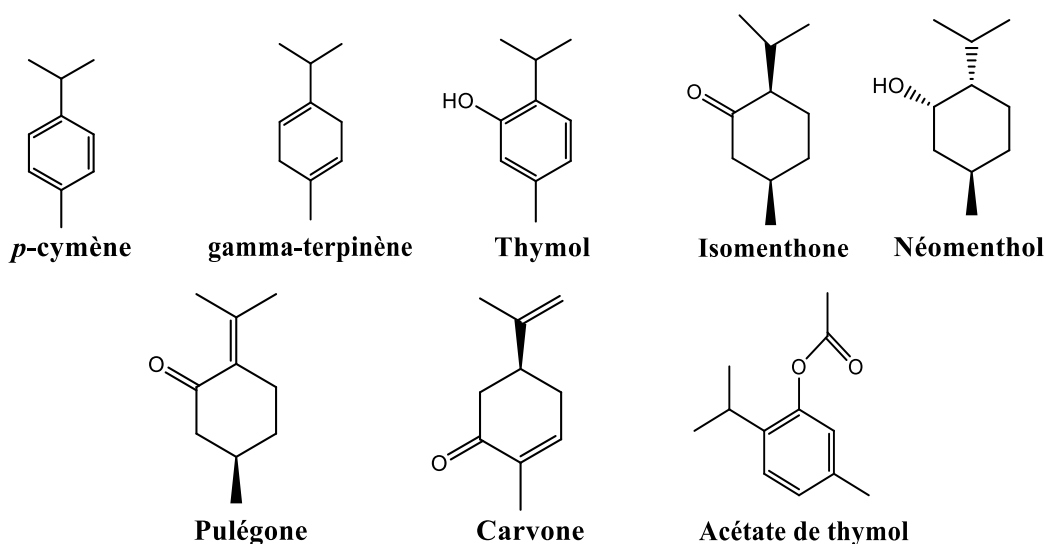
Ce genre est largement distribué dans la région de la Méditerranée, l'Asie et l'Amérique Sous des climats tempérés [18].

II.3. Travaux antérieurs sur le genre *Satureja*

Chapitre I : Synthèse bibliographique

De nombreux travaux ont été réalisés sur le genre *Satureja* dont les auteurs avancent la présence des huiles essentielles [19], des flavonoïdes [20], des tannins, des acides phénols (acide rosmarinique, acide caféique) et des saponines [21].

Le genre *Satureja* qui appartient à la famille des lamiacées est caractérisé par sa richesse en huile essentielle. L'étude de la composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* récoltés en Maroc a permis de déterminer la teneur la plus élevée en huile essentielle 1,60 % pour *Satureja calamintha* et 1,24 % pour *Satureja alpina*. Les huiles essentielles de *Satureja calamintha* sont caractérisées par la présence du *p*-cymène (20,9 %), du γ -terpinène (18,7 %) et du thymol (34,9 %) comme principaux constituants chimiques, alors que les huiles essentielles de *Satureja alpina* sont formées en majorité par le limonène (11,9 %), l'isomenthone (7,3 %), le néomenthol (6,5 %), la pulégone (25,1 %), la carvone (18%) et l'acétate de thymol (15,3 %) [22].

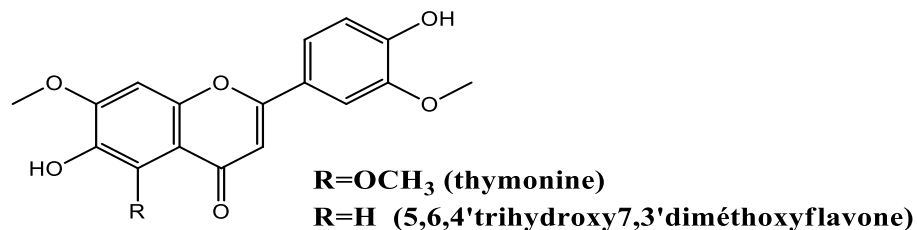


Par ailleurs, l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc, a montré que les constituants chimiques principaux de cette huile essentielle sont le bornéol (34.52%), manoyloxyde (3.78%) [23].

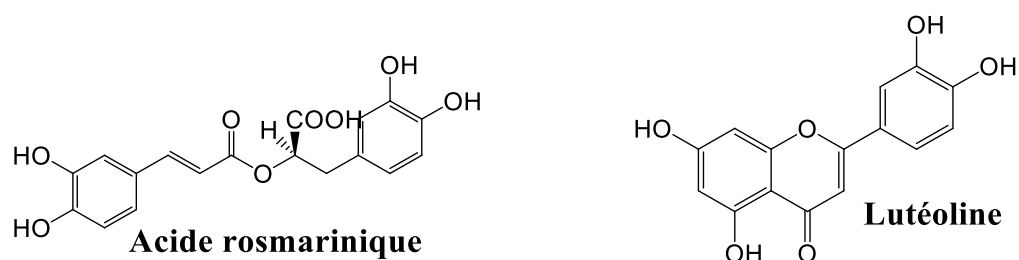


Chapitre I : Synthèse bibliographique

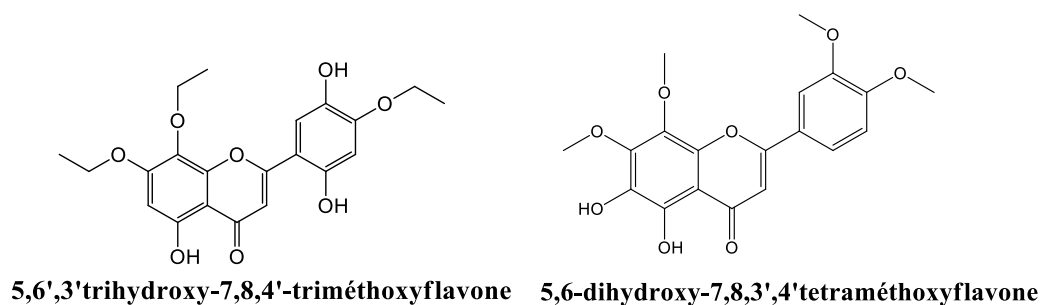
D'autre part, Fransisco et al **1988** ; [24] ont pu isolé deux flavones lipophiles, 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone (thymonine) et le 5,6,4'-trihydroxy-7,3'diméthoxyflavone, à partir des tissus superficiels des feuilles de 24 genres appartenant à la famille des Lamiaceae y compris le genre *Satureja*.



L'étude menée sur l'espèce *Satureja hortensis* récolté en Roumanie a montré qu'elle contient une quantité importante d'acide rosmarinique, ainsi que des aglycones libres comme la lutéoline [20].



En outre, **Gohari et al 2010** ; [25] ont pu isoler quatre flavonoïdes à partir de la partie aérienne de l'espèce *Satureja atropatana* Bonge : le 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone (thymonine), la lutéoline, le 5,6',3'-trihydroxy-7,8,4'-triméthoxyflavone et le 5,6-dihydroxy-7,8,3',4'-tetraméthoxyflavone.



II.4. Propriétés biologiques du genre *Satureja*

Les recherches récentes sur le genre *Satureja* est très poussées en raison de leurs effets bénéfiques dans la phytothérapie et leurs diverses propriétés biologiques permis ces propriétés biologiques on cite :

Chapitre I : Synthèse bibliographique

- L'activité antimicrobienne a été montrée dans les études biologiques effectuées sur les huiles essentielles des espèces : *Satureja calamintha*, *Satureja hortensis*, *Satureja thymbra*, Cette activité est due principalement à la présence du thymol, du carvacrol et de l'alpha-terpinéol [26,27].
- L'étude de l'activité biologique de l'huile essentielle des espèces *Satureja spinosa* L, *Satureja parnassica* subsp. *Parnassica* Boiss, *Satureja thymbra* et *Satureja montana* a montré que ces HE possèdent une activité insecticide [28].
- L'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de l'espèce *Satureja hortensis* [29] et de l'extrait hydroalcoolique de l'espèce *Satureja khuzestanica* a été démontré par Amanlou et al., [30].
- L'activité anticancéreuse de l'huile essentielle de l'espèce *Satureja intermedia* [31] et de l'extrait méthanolique de l'espèce *Satureja macrantha* a été également démontrée. Cette activité est due à la présence des terpénoïdes [32].
- Cetković et al 2007., [33] ont montré que l'extrait éther de pétrole de l'espèce *Satureja montana* L.subsp. *Kitaibelii* présente une bonne activité antimicrobienne.
- Par ailleurs, Mchedlishvili et al 2005., [34] ont montré que les flavonoïdes isolés à partir de *Satureja hortensis* ont des propriétés hypolipidémiques.
- En fin l'étude de l'extrait méthanolique de l'espèce *Satureja bachtiarica*, a une activité antioxydante déterminée par la méthode de piégeage du radical libre de DPPH [35].

III. Aperçu bibliographique sur l'espèce *Satureja calamintha*

III.1. Présentation de l'espèce *Satureja calamintha* :

L'espèce *Satureja calamintha* appartient à la famille Labiatea, est très répandue dans la région méditerranéenne. Cette plante est connue pour ses utilisations médicinales comme stimulante, tonique, antiseptique et antispasmodique [36]. Elle est aussi utilisée dans diverses recettes culinaires et comme infusion [37].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

III.1.1. Classification dans la systématique botanique :

Règne	Plantea
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales
Famille	Labiées
Genre	Satureja
Espèce	<i>S. calamintha</i>

Nom vernaculaire : Nabta, Sarriette, tourete.

III.1.2. Description botanique

Satureja calamintha est une plante vivace et annuelle atteint une taille de 30-40 cm au parfum mentholé, très ramifiée depuis la base. Elle a des feuilles lancéolées et pointues à leur extrémité. Les tiges sont plus ou moins velues. Les fleurs, de couleur blanche à mauve, insérées à l'aisselle des feuilles, fleurissent de juillet à septembre [38].



Figure 01 : Photos de *Satureja calamintha*.

III.1.3. Distribution géographique :

Satureja calamintha est une espèce de plantes vivaces à fleurs. Originaires d'Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie), Asie tempérée : (Turquie, Russie, Arménie) et en Europe (Italie, France, Espagne).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

III.2. Propriétés biologiques de l'espèce *Satureja calamintha* :

Satureja calamintha a une grande faveur populaire en Algérie et au Maroc comme remède contre la toux, l'indigestion et les infections respiratoires bénignes. Cette plante expectorante, stomachique, tonique possède des propriétés antiseptiques, antispasmodiques et carminatives.

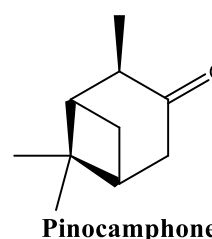
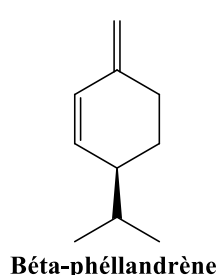
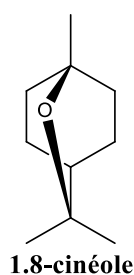
Les espèces de *Satureja* sont utilisées également comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les parfums [39].

En outre, certains auteurs déclarent que *Satureja calamintha* est une plante aromatique, utilisée comme stimulante, fébrifuge, sudorifique [40], rafraichissante [41].

III.3. Travaux antérieurs sur l'espèce *Satureja calamintha* :

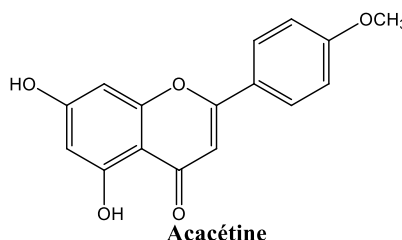
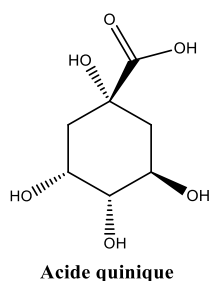
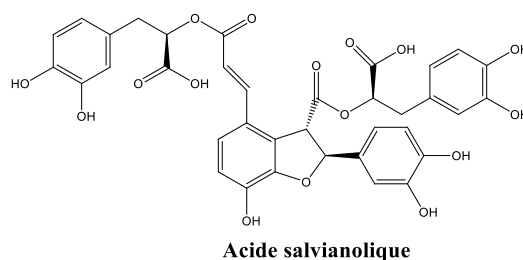
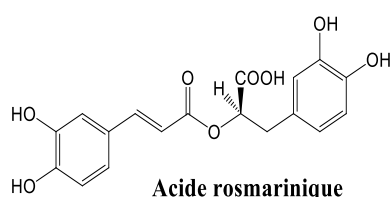
De nombreux travaux qui ont été réalisés sur l'espèce *satureja calamintha* ont montré la richesse de cet espèce en métabolites secondaires tels que les terpènes et les huiles essentielles [42], les triterpènes [43] et les flavonoïdes[44].

Une étude de la composition chimique de l'HE de *satureja calamintha* provenant du Maroc, montre que cette plante est riche en 1,8-cinéole (42,94%), le β -phellandrène (11,39%) et le pinocamphone (9,88%) avec une forte proportion de monoterpènes (76,09%) par rapport au sesquiterpènes (7,29%) [42].

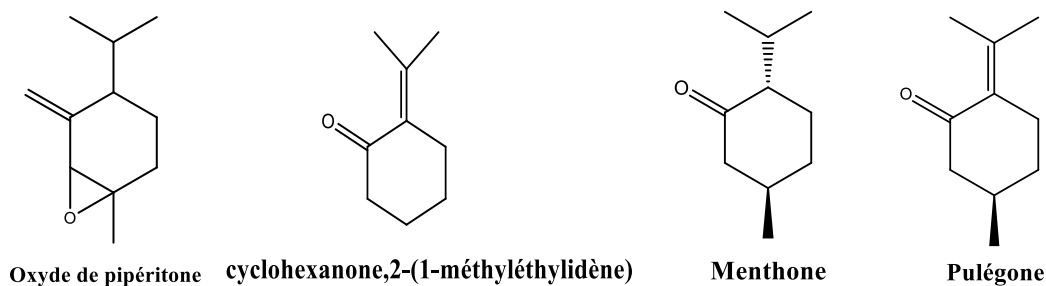


D'autres travaux effectués sur l'extrait hydroalcoolique de l'espèce *Satureja calamintha* récolté en Italie, ont permis d'isoler et d'identifier par la chromatographie liquide couplée à la spectroscopie de masse LC/SM, 20 composés dont les composés majoritaires sont : l'acide rosmarinique, l'acide salvianolique, l'acide quinique et l'acacétine [45].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

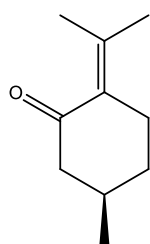


L'analyse chimique des l'huiles essentiels de l'espèce *satureja calamintha* récolté en Annaba et Jijel Algérie a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS, les principaux composants identifiés pour ces deux huiles essentielles sont respectivement: l'oxyde de pipéritone (54,71 et 22,26%), le cyclohexanone,2-(1-méthyléthylidène) (20,32 et 9,37%) et la Menthone (5,97 et 26,46%) ; la pulégone (14.04%) a été identifiée seulement pour l'huile essentielle *Satureja calamintha* de Jijel [46].

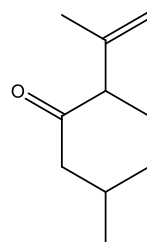


L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Satureja calamintha* ssp.sylvatica, récoltée à Jijel a montré la présence de la pulégone (11,6%),et de l'isopulégone (66,5%) comme composants majoritaires [47].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

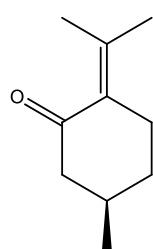


Pulégone

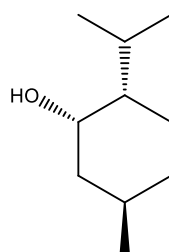


Isopulégone

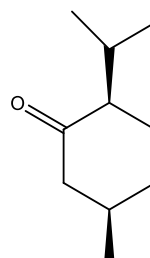
D'autre part, l'analyse GC et GC-MS de huile essentielle de l'espèce *Satureja calamintha* récolté El-Affroun (Blida) a permis d'identifier 26 composés dont la pulégone (39.5%), le neo-menthol (33%) et l'isomenthone (19.6%) représentent les composants majoritaire [48].



Pulégone

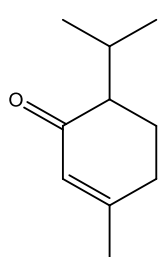


Néomenthol

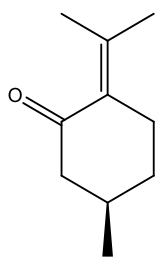


Isomenthone

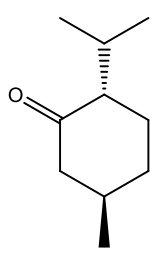
Une autre étude effectuée sur l'huile essentielle de l'espèce *Satureja calamintha* récolté à Jijel en avril 2017 a montré la présence des composés majoritaires : l'isopiperitone (26,34 %), la Pulégone (22,03 %), la Menthone (20,60 %), la Piperitenone (10,44 %), le Germacrene (7,21 %) [49].



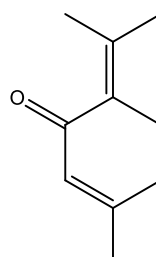
Isopipéritone



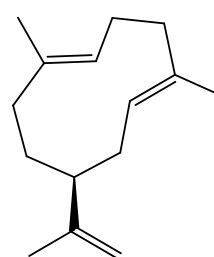
Pulégone



Menthone



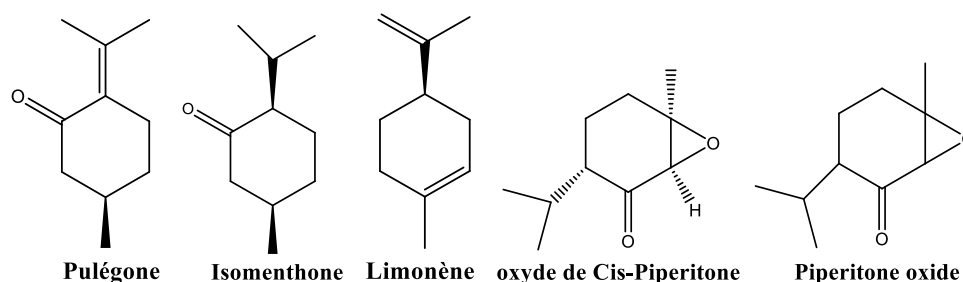
Piperitenone



Germacrene

En fin l'analyse GC et GC-MS de l'espèce *Satureja calamintha* collecté au mois d'aout 2016 dans la région de Constantine, a conduit à l'identification de 38 composants, dont : l'isomenthone (10.43%), la Pulegone (35.66%), la Limonène (6.25%), l'oxyde de Cis-Piperitone (9.96%) et la Piperitone oxide (21.60%) [50].

Chapitre I : Synthèse bibliographique



IV. Aperçu bibliographique sur le genre *Ajuga*

VI.1. Description botanique du genre *Ajuga*

Le genre *Ajuga* appartient à la famille des labiées avec plus de 300 espèces différentes [51].

Le nom *Ajuga* vient du mot latin "Jugum" : joug. Avec le suffixe "a", du fait que la corolle est dépourvue de lèvre supérieure. *Iva*, est un ancien nom féminin latin qui est utilisé pour la première fois pour cette plante [52]. Le genre *Ajuga* comprend environ 40-50 espèces herbacées annuelles et vivaces [53].

VI.2. Distribution du genre *Ajuga*

Le genre *Ajuga* est très répandu dans les régions tempérées des deux hémisphères [54] et il est largement distribué dans les Territoires les plus froides d'Europe, d'Asie, d'Australie et d'Afrique [55]. Ce genre est commun dans la région Méditerranéenne et très répandue dans les forêts de Tell algérien ou on trouve *Ajuga iva*.

VI.3. Propriétés biologiques du genre *Ajuga*

Les plantes du genre *Ajuga* ont un large spectre d'activités biologiques et pharmacologiques, qui fournir un soutien expérimental à l'utilisation empirique ethnopharmacologique de cette plante en médecine traditionnelle, ces activités sont liées à la présence de différents composés actifs des néo-clérodanes-diterpènes et diterpénoïdes, des triterpènes, des stérols, des glycosides iridoïdes, des flavonoïdes et des triglycérides [56].

Tableau 01 : Propriétés biologiques de quelques espèces du genre *Ajuga*.

Espèce	Activité	Référence
<i>Ajuga bracteosa</i>	Anti-inflammatoire	[57]
<i>Ajuga remota</i>	Antidiabétique	[58]
<i>Ajuga iva</i>	Antivirale	[59]

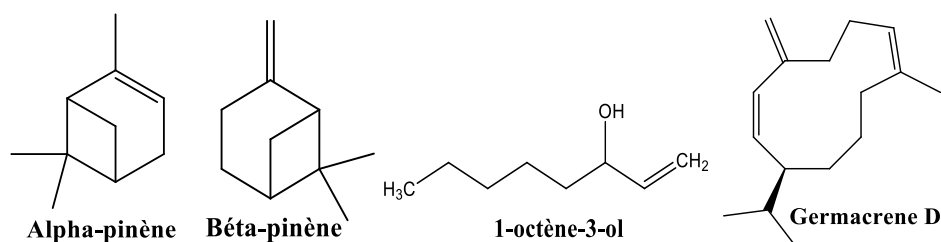
Chapitre I : Synthèse bibliographique

<i>Ajuga reptans</i>	Vasoconstrictrice	[60]
<i>Ajuga parviflora</i>	Antivirale	[61]
<i>Ajuga decumbens</i>	Cytotoxique	[62]
<i>Ajuga nipponensis</i>	Antioxydante	[63]

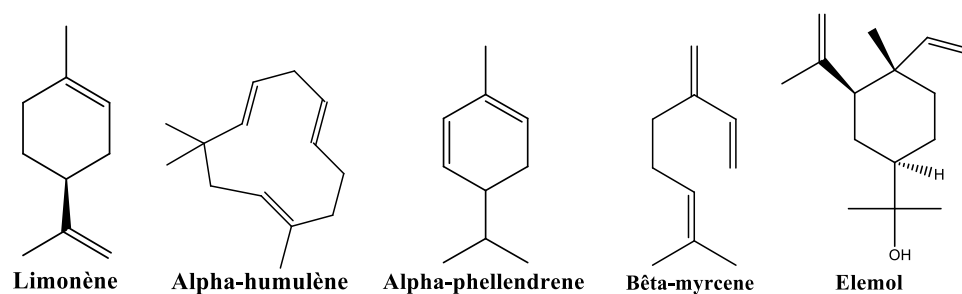
VI.4. Travaux antérieurs sur le genre *Ajuga*

Les études phytochimiques ont révélé que les espèces du genre *Ajuga* contiennent plusieurs composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les diterpènes de type neoclérothane, les huiles essentielles, les anthocyanes-glucosides, les stérols, les terpénoïde [51].

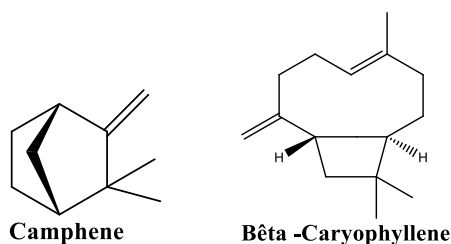
Une étude menée sur la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Ajuga chamaepitys* récolté à Iran en mai 2008 a conduit à l'identification de : l' α -pinène, le β - pinène (9,33%), le 1-octène-3-ol (9,72%) et le germacrene D (7,92%) comme composants majoritaires [64].



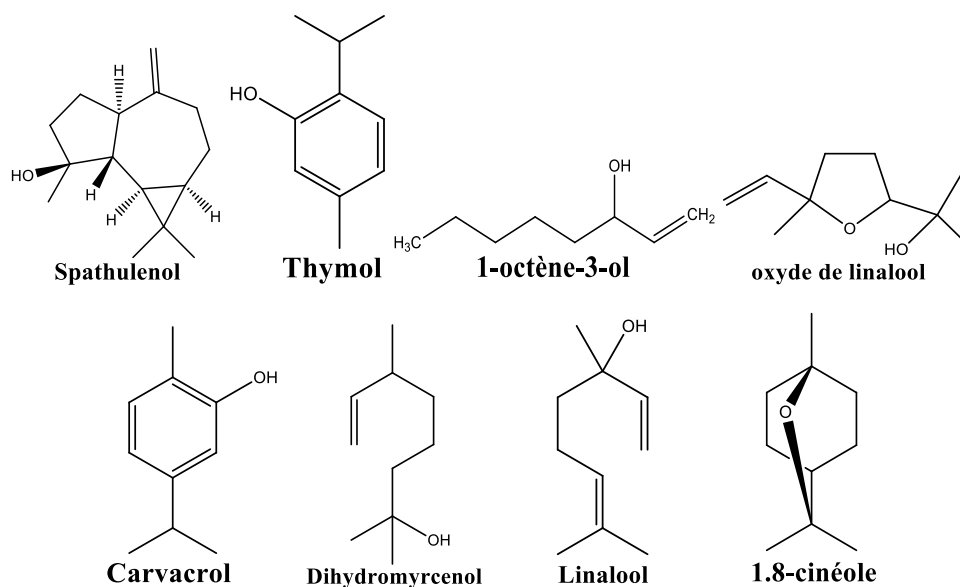
Par ailleurs, l'étude de la chimie de l'huile essentielle de l'espèce *Ajuga bracteosa* récolté en Inde a permis d'identifier 7 composés qui sont : le limonène (18.40%), l' α -humulène (15.54%), l' α -phellendrene (15.54%), le β -myrcene (14.60%), l'elemol (12.96%), la camphène (12.86%) et le β -Caryophyllène (8.16%) [65].



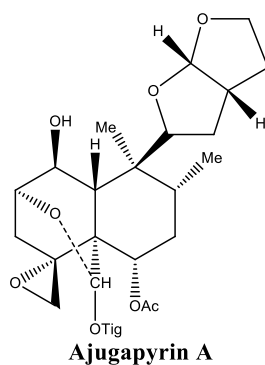
Chapitre I : Synthèse bibliographique



D'autre part, l'analyse chimique par GC/MS de l'huile essentielle de l'espèce *Ajuga chamaecistus* récolté en Iran a permis d'identifier 8 composants majoritaires qui sont : le Spathulenol (18.0%), le thymol (15.1%), l'octen-3-ol (14.3%), l'oxyde de linalool (11.2%), le Carvacrol (10.8 %), le Dihydromyrcenol (9.5 %), le Linalool (8.8 %) et le 1,8-Cineol (6.9%) [66].

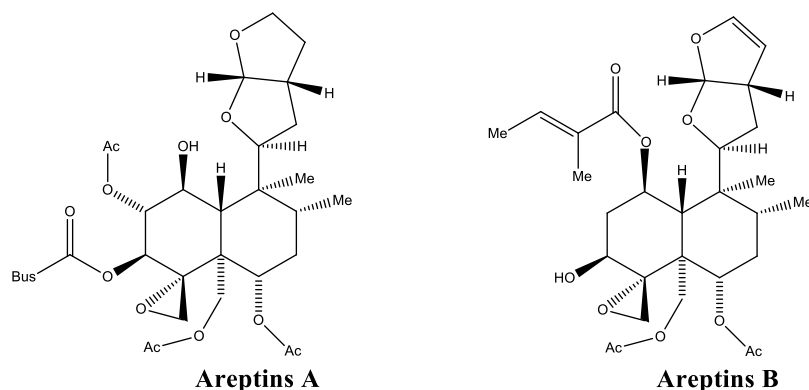


L'étude menée sur l'espèce *Ajuga pyramidalis* récolté en Espagne a permis d'isoler de l'extrait éthanolique un diterpène de type néoclérothane : l'ajugapyrin A [67].

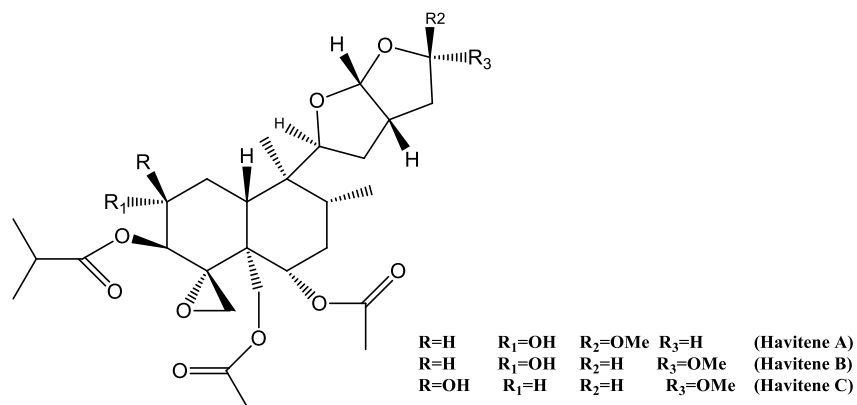


Chapitre I : Synthèse bibliographique

En outre, Malakov et al 1998., [68] ont pu isolé deux diterpènes de type néoclérodane de l'espèce *Ajuga reptans* qui sont : l' Areptins A et l'Areptins B.



En fin une autre étude chimique a permis d'isoler trois des diterpènes de type neoclerodane de l'espèce *Ajuga pseudoiva* : Havitene A, Havitene B, Havitene C [69].



V. Aperçu bibliographique sur l'espèce *Ajuga iva*

V.1. Présentation de l'espèce *Ajuga iva*

L'espèce *Ajuga iva* pousse à une altitude de 0 à 1600 mètres, dans les régions arides où elle croit dans les champs. Elle est commune dans la région méditerranéenne, très répandue dans les pelouses et les forêts du Tell algérien. La floraison de la plante est d'avril à octobre [70].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

V.1.1. Classification dans la systématique botanique :

Règne	Plantea
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales
Famille	Labiées
Genre	Ajuga
Espèce	Ajuga iva

Noms vernaculaires : ivette musquée, Chendgoura.

V.1.2. Description botanique

Ajuga iva est une petite plante vivace de 5 à 20 cm de long, à tiges vertes rampantes et velues, à feuilles vertes de 14 à 25 mm de longueur, linéaires, denses et couvertes de duvets. Les fleurs sont violettes, roses, ou jaunes, de 20 mm de longueur ; la lèvre supérieure de la corolle est réduite ou absente et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus. Les lobes latéraux sont petits, alors que le lobe central est relativement plus large décoré dans sa base par un axe central jaunâtre [71].



Figure 02 : Photo d'*Ajuga iva*.

V.1.3. Distribution géographique

L'espèce *Ajuga iva* est présente dans toute l'aire méditerranéenne ; dans l'ensemble des pays du Maghreb, dans certains pays du Moyen-Orient, et dans certains pays d'Europe du sud. Elle pousse surtout sur les pelouses sèches ou sur les vieux murs [72]. En Algérie l'espèce est très commune dans tout le Tell et très rare dans le reste du pays ; elle pousse surtout dans les herbages et pelouses montagnardes [73].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

V.2. Propriétés pharmacologiques de l'espèce *Ajuga iva*

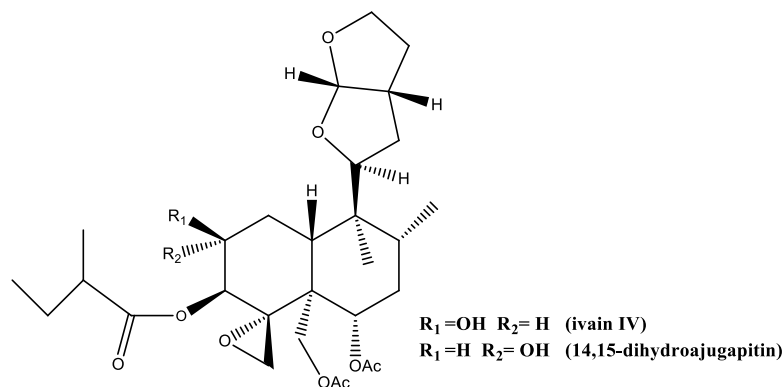
Ajuga iva est bien connue dans les pays du Maghreb pour leurs usages en phytothérapies, plusieurs maladies infectieuses ou autres, peuvent être soignées grâce à leurs utilisations. Parmi ces pathologies, on note les infections et les désordres intestinaux, les maladies cardiovasculaires, les troubles hépatique...etc [73].

Le screening pharmacologique réalisé *in vivo* et *in vitro* démontre que *Ajuga iva* est douée d'un large spectre d'activités pharmacologiques ; elle est antihypertensive, vasodilatatrice [74], diurétique et hypoglycémique [75]. Elle possède également une activité anti-inflammatoire, antifongique, antimicrobienne [76], antioxydante [77] et antiparasitaire [78].

V.3. Travaux antérieurs sur l'espèce *Ajuga iva*

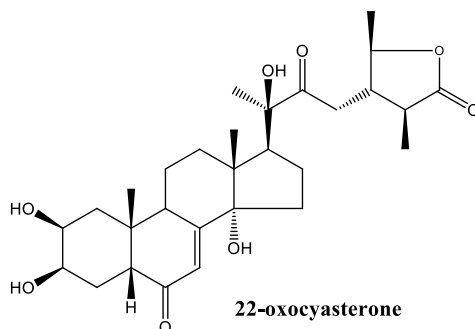
Le genre *Ajuga* est riche en composés terpéniques notamment les diterpènes du type clérodane et néoclérodane.

Les travaux effectués sur l'extrait éthanolique de l'espèce *Ajuga iva* récoltée dans la région de Ain Mila, ont conduit à l'isolement de deux épimères diterpénoides, ivain IV et 14,15-dihydroajugapitin [79].

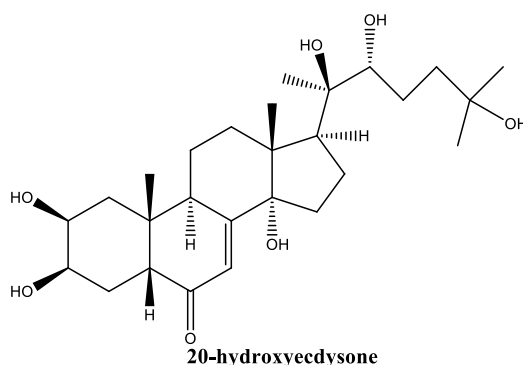


D'autres travaux ont montré la présence de deux phytoecdystéroïdes dans l'extrait éthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva* récolté à Tiaret. Ces deux composés ont été identifiés comme étant : le 22-oxocysterone et 24,25-dehydroprecysterone [80].

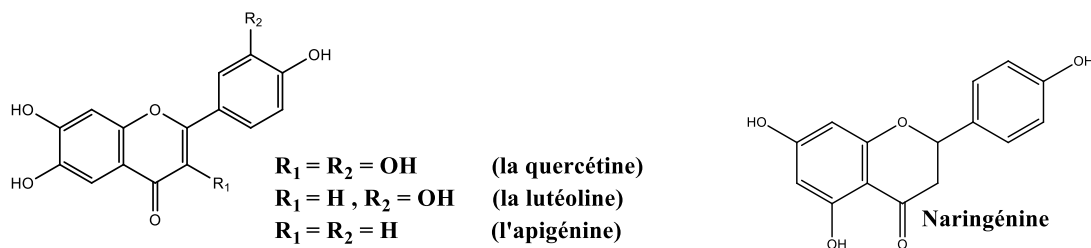
Chapitre I : Synthèse bibliographique



Par ailleurs, un nouveau composé : le 20-hydroxyecdysone, a été isolé à partir des feuilles de la même espèce récoltée dans la région de Murcie en Espagne [81].

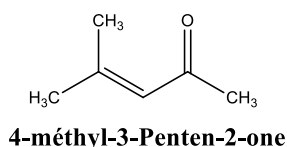
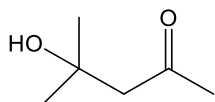
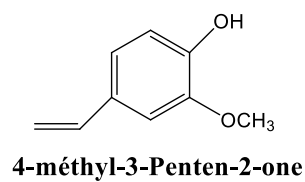
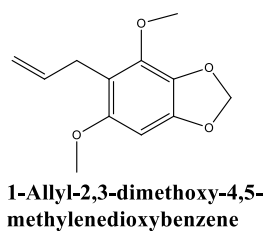
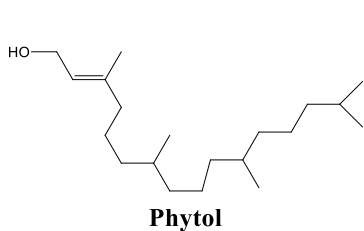


Une étude phytochimique concernant les flavonoïdes existant dans l'espèce *Ajuga iva* a permis d'isoler, à partir de l'extrait étheré, quatre flavonoïdes aglycones ; la quercétine, la lutéoline, l'apigénine et la naringénine [82].



L'étude de la composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *Ajuga iva* récolté à Tipaza [83] et à Blida [84], a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse. Les principaux composants identifiés pour ces deux huiles essentielles avec leurs pourcentages sont respectivement : le 2-Methoxy-4-vinylphénol (9.96% et 41.6%), le 4-méthyl-3-Penten-2-one (6.52% et 5.6%), le 1-octen-3-ol (1.88% et 2.7%), le 4-hydroxy-4-méthyl-2-pentanone (1.22% et 5.6%). Le phytol a été présent seulement dans l'huile essentielle de l'espèce *Ajuga iva* de Tipaza.

Chapitre I : Synthèse bibliographique



VI. Généralités sur l'activité antioxydante

Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de la longévité et nos alliés pour lutter contre les maladies modernes. Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs des radicaux libres, ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme ; ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux [85] mais ils deviennent nocifs quand ils sont en excès, en induisant certains dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides [86], des acides nucléiques [87] en entraînant un stress oxydant qui contribue au processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers.

VI.1. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat [88].

Ces antioxydants peuvent être d'origine endogènes ou exogènes qui peuvent être des composés naturels ou synthétiques.

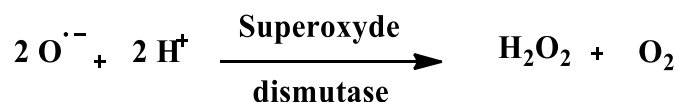
VI.2. Les antioxydants endogènes

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme, mais leur quantité diminue avec l'âge [111].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

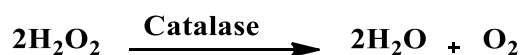
VIII.2.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Cette enzyme constitue la première ligne de défense contre les radicaux libres de l'oxygène, elle catalyse la dismutation de l'anion super oxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène.



VI.2.2. Les catalases (CAT)

Sont des enzymes majoritairement peroxysomales catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène.



VI.2.3. Gluthathion peroxydase (GPX)

Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est accéléré la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 .

VI.2.4. Les peroxyredoxine (PRX)

Sont des éléments essentiels du système de détoxication des espèces réactives de l'oxygène [90].

VI.3. Les antioxydants exogènes

Ils sont présents dans l'alimentation tels que les vitamines A, C, E et les polyphénols en particulier les flavonoïdes.

Ces antioxydants nutritionnels sont indispensables mais leur action est limitée jusqu'à ce qu'ils soient régénérés.

VI.3.1. La vitamine E

Le principal anti-oxydant nutritionnel est la vitamine E (l' γ -tocophérol), puissant anti-oxydant mais qui peut avoir des effets délétères à très forte dose. Elle agit principalement par le transfert direct d'atomes d'hydrogène et permet d'inhiber la lipoperoxydation dans les cellules [91].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

VI.3.2. La vitamine C

C'est un antioxydant majeur, réagit rapidement avec l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, ou encore avec le peroxyde d'hydrogène. Elle est indispensable par sa capacité à réduire d'autres antioxydants oxydés comme la vitamine E ou les caroténoïdes [86].

VI.3.3. Les caroténoïdes

Sont des pigments végétaux lipophiles produites par les organismes photoautotrophes et qui doivent être acquis par l'alimentation chez les animaux. Leur potentiel antioxydant pour lutter contre la peroxydation lipidique a été démontré très tôt [92], ils sont capables de réagir avec les radicaux libres de trois manières : par le transfert d'électron, d'hydrogène ou la liaison avec le radical. Ils sont également capables de régénérer la vitamine E et sont eux-mêmes régénérés par la vitamine C [93].

VI.3.4. Les flavonoïdes

Ce sont des substances naturelles présentes dans tout le règne végétal. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation de stress oxydant : par capteur directe des espèces réactives de l'oxygène, par inhibition de l'activité de certains enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène comme la xanthine oxydase [94].

VI.3.5. Les tanins

Les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides.

VI.3.6. Les coumarines

Ils sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes, importants dans la prévention de la peroxydation des lipides membranaires et ils ont une activité antiperoxydante [88].

VI.4. Les radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui avant

Chapitre I : Synthèse bibliographique

d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en faible quantité dans les mitochondries. Il s'agit des ions oxygène, hydroxyde et de l'eau oxygénée qui sont libérés lors des réactions biochimiques. Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient.

L'organisme sait cependant se défendre contre eux, grâce aux enzymes antioxydantes dans nos cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action antiradicalaire par la vitamine E, la vitamine C et la provitamine A. Si ces systèmes de défense sont débordés ou insuffisants, les radicaux libres deviennent nuisibles : ils s'attaquent alors aux membranes cellulaires dont les acides gras insaturés sont dénaturés ;ils agressent également les protéines.

VI.4.1. Les principaux radicaux libres :

- **L'anion superoxyde** : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde O_2^- . Cet anion agit comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.
- **Le radical hydroxyle** : ($\cdot OH$) il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue en rôle initiateur dans l'auto oxydation lipidique.
- **Le peroxyde d'hydrogène** : est également peu réactif mais, il a la capacité de traverser les membranes cellulaires et, en présence de métaux de transition tel que le Fe^{2+} , il se transforme en un puissant oxydant [95].

VI.5. Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses antioxydantes, donc c'est un déséquilibre de la balance antioxydants/oxydant [96].

Il existe plusieurs méthodes pour la détermination de l'activité antioxydante dans les extraits tels que : Test DPPH, ABTS, Blanchissement de β -carotène

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

I. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de deux espèces appartenant à la famille Lamiaceae *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*, la plante *Satureja calamintha* a été cueillie en mois d'août 2018 dans la région de Constantine (les feuilles ont été séparées des tiges pour une partie de la cueillette), tandis que la plante *Ajuga iva* a été récoltée en mois de mars 2018.

Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules pendant 12 jours, le matériel végétal (la partie aérienne, les feuilles et les tiges de l'espèce *Satureja calamintha* et la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva*) est broyé grossièrement dans un moulin électrique, pesé et conservé jusqu'à l'utilisation.

II. Méthode d'extraction :

Le matériel végétal sec est soumis à des extractions par trois solvants de polarité différente à l'aide d'un soxhlet.

Les extraits obtenus, Sujet de cette étude selon le protocole suivant, sont :

- L'extrait acétate d'éthyle de la partie aérienne de l'espèce *Saturja calamintha* (EAA_{sc}).
- L'extrait acétate d'éthyle des feuilles de l'espèce *Saturja calamintha* (EAF_{sc}).
- L'extrait acétate d'éthyle des tiges de l'espèce *Saturja calamintha* (EAT_{sc}).
- L'extrait éthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Saturja calamintha* (EEA_{sc}).
- L'extrait éthanolique des feuilles de l'espèce *Saturja calamintha* (EEF_{sc}).
- L'extrait éthanolique des tiges de l'espèce *Saturja calamintha* (EET_{sc}).
- L'extrait acétate d'éthyle de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva* (EAA_{ai}).
- L'extrait éthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva* (EEA_{ai}).

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

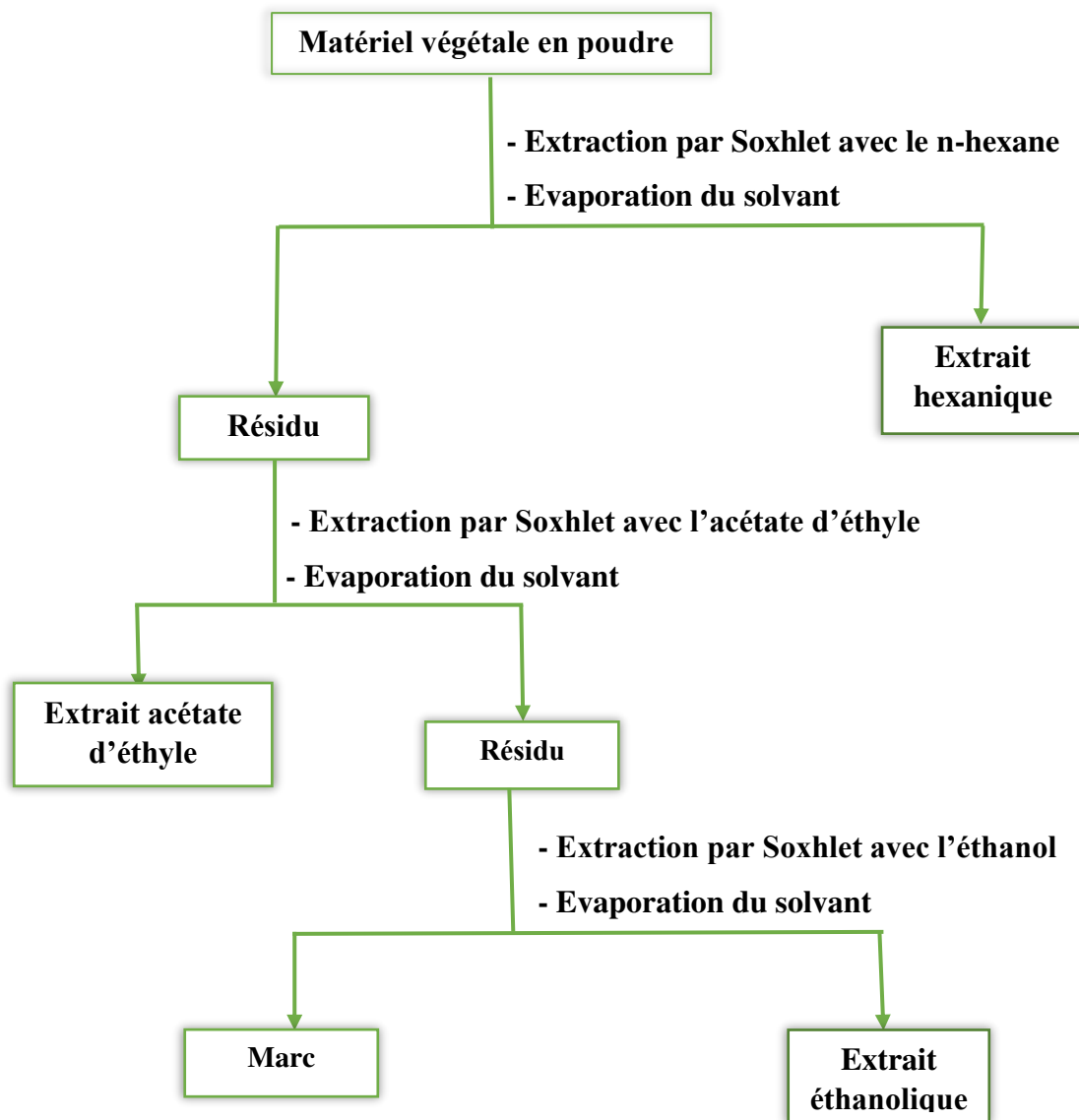


Figure 03 : Protocole adopté pour la préparation des extraits.

III. Caractéristiques et rendements des différents extraits :

III.1. Aspect et couleurs des différents extraits :

L'opération d'extraction par soxhlet des différentes parties des deux espèces étudiées a permis d'obtenir 8 extraits qui ont des caractéristiques différentes. L'aspect et la couleur de ces extraits sont représentés dans le tableau suivant :

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Tableau 02 : Aspect et couleur des différents extraits

Extrait	EAA _{sc}	EEA _{sc}	EAF _{sc}	EEF _{sc}	EAT _{sc}	EET _{sc}	EAA _{ai}	EEA _{ai}
Aspect	Pâteux	Pâteux	Pâteux	Pâteux	Pâteux	Pâteux	Visqueux	Visqueux
Couleur	Vert olive	Verdâtre	Vert olive	Vert olive	Vert	Vert	Verdâtre	Verdâtre

III.2. Calcul du rendement :

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le pourcentage en extraits de la plante est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (P/P_0) \times 100$$

R% : Rendement exprimé en %.

P : Poids en gramme de l'extrait sec résultant.

P₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

Le rendement calculé pour les extraits obtenus des deux plantes représentées dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Masses et rendements de différents extraits obtenus

Extraits	Masse MV sec (g)	Masse de l'extrait (g)	Rendement %
EAA _{sc}	28	0.57	2.03
EEA _{sc}		0.97	3.45
EAF _{sc}	67.5	1.77	2.62
EEF _{sc}		2.18	3.22
EAT _{sc}	25	0.26	1.04
EET _{sc}		0.5	2
EAA _{aj}	103	0.9	0.87
EEA _{aj}		2.12	2.05

IV. Analyse des extraits par CCM :

Afin d'avoir une idée sur la composition chimique de nos extraits, nous avons effectué une analyse par chromatographie sur couche mince des extraits éthanolique et acétate d'éthyle obtenus à partir de l'extraction de des trois parties de l'espèce *Satureja calamintha* (partie aérienne, feuilles et tiges) et de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva*.

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

IV.1. Principe :

A l'aide d'une pipette pasteur, On dépose une goutte de chaque extrait à 1 cm du bord inférieur de la plaque d'aluminium recouverte de gel de silice, ensuite la plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans une cuve préalablement saturée par les vapeurs du système de solvant approprié.

L'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque.

Après le développement du chromatogramme, et lorsque le front du solvant d'éluion atteint 0.5 de la ligne supérieure, la plaque est retirée, séchée et examinée sous la lampe UV à 365 nm. La révélation a été réalisée par une pulvérisation de la plaque par une solution sulfurique de l'anis aldéhyde. Chaque constituant migre d'une certaine distance caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (R_f).

$$R_f = \text{Distance de la tache} / \text{Distance de front du solvant}$$

Plusieurs essais ont été effectués afin de déterminer l'éluant qui donne une bonne séparation des constituants des extraits.

IV.2. Résultats de l'analyse des extraits d'acétate d'éthyle :

Après plusieurs essais, l'éluant qui donne une bonne séparation pour les différents extraits d'acétate d'éthyle est le système de solvants le n-hexane/Acétone à une proportion de (8 : 2) ;(v/v).

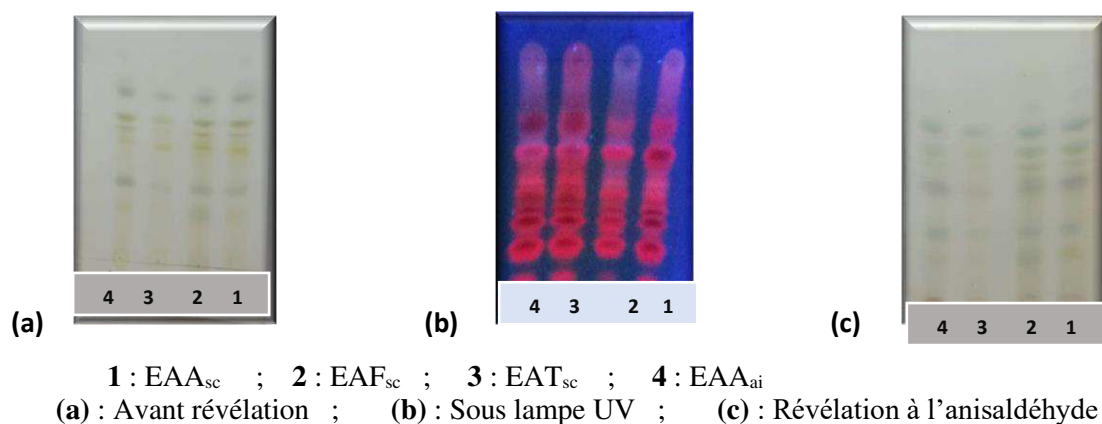


Figure 04 : Chromatogramme des extraits acétate d'éthyle des deux plantes.

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Les résultats obtenus de la chromatographie sur couche mince des 04 extraits d'acétate d'éthyle sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits acétate d'éthyle de *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*.

Extrait	Rf	Couleur avant révélation	Couleur après révélation	
			Sous UV	Avec anisaldéhyde
EAA _{Sc}	0.15	Vert claire	Violet	Jaunâtre
	0.26	Verdâtre	Rose foncé	Bleu
	0.32	Vert claire	Rose claire	Bleu vert
	0.38	Jaune	Rouge	Violet
	0.45	Maron claire	Rouge	Vert claire
	0.53	Maron	Rouge	
	0.59	Vert foncé	Rouge	Bleu vert
	0.69	Verdâtre	Rose	Bleu
EAF _{Sc}	0.15	Vert	Violet	Vert
	0.26	Verdâtre	Rose foncé	Bleu
	0.32	Vert claire	Rose claire	-
	0.38	Jaune	Rose claire	Violet
	0.45	Maron claire	Rouge	Vert
	0.53	Vert foncé	Rouge	Bleu Vert
	0.59	Verdâtre	Rouge	Bleu
	0.69	-	Rose	Jaune
EAT _{Sc}	0.21	Jaune pale	Rose claire	-
	0.26	Verdâtre	Rose foncé	Bleu claire
	0.38	Jaune	Rose	Violet
	0.53	Maron	Rouge	Vert claire
	0.59	Verdâtre	Rose foncé	Bleu
EAA _{Aj}	0.16	Vert claire	Rose	Maron claire
	0.26	Verdâtre	Rouge	Vert claire
	0.32	-	Rose claire	Bleu
	0.36	Jaune	Orange claire	Jaunâtre
	0.42	Maron claire	Rouge	Violet
	0.53	Maron foncé	Rouge	Vert
	0.58	Verdâtre	Rouge	Jaunâtre
	0.69	-	Rose	Bleu

IV.3. Résultats de l'analyse des extraits éthanolique :

Le meilleur éluant choisit pour l'étude de la composition des extraits éthanoliques est le système de solvants : n-hexane/Acétone, (7 : 3) ;(v/v).

La figure 3 représente les chromatogrammes des 4 extraits avant et après révélation.

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

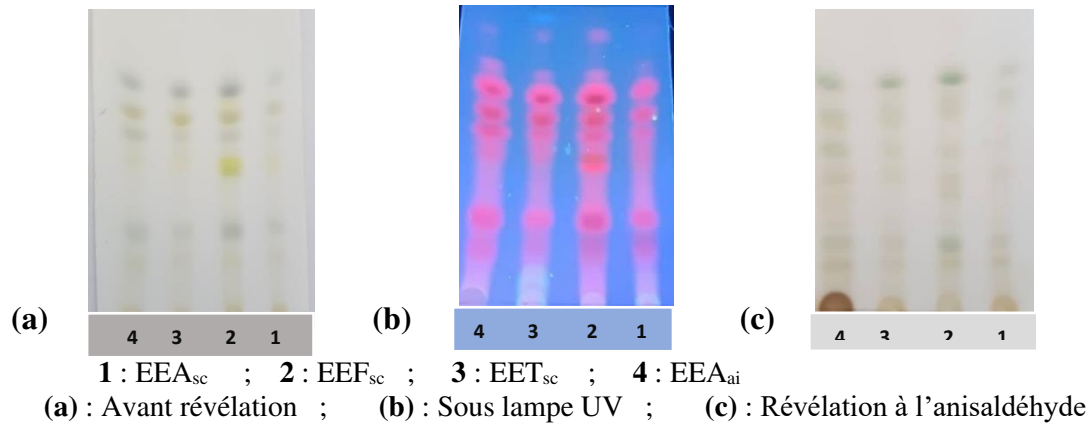


Figure 05 : Chromatogramme des extraits éthanolique des deux plantes.

Les résultats obtenus de la chromatographie sur couche mince des 04 extraits éthanoliques sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits éthanoliques de *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*.

Extrait	Rf	Couleur avant révélation	Couleur après révélation	
			Sous UV	Avec anisaldéhyde
EEA _{sc}	0.12	Maron claire	Violet	Maron claire
	0.20	Noir claire	Rose	Maron claire
	0.36	Jaune pale	Rose	Orange
	0.47	Maron claire	Rose	
	0.58	Maron	Rose	
	0.70	Noir claire	Rose	Maron claire
	0.72	-	Rose	Vert claire
EEF _{sc}	0.12	Maron claire	Violet	Vert claire
	0.20	Noir claire	Rose foncé	Vert
	0.34	Vert	Rose claire	Maron claire
	0.36	Jaune	Rouge	Maron claire
	0.47	Verdâtre	Rose	Maron claire
	0.58	Maron foncé	Rouge	Vert claire
	0.70	Noire foncé	Rouge	Vert claire
	0.72	-	Rose	Vert claire
	0.80	-	Rose	Vert
EET _{sc}	0.12	Maron claire	Violet	Maron claire
	0.20	Noire claire	Rose foncé	Vert claire
	0.36	Vert claire	Rose	Maron claire
	0.47	Jaune pale	Rose	Maron claire
	0.58	Verdâtre	Rose	Maron claire
	0.70	Maron foncé	Rouge	Maron claire
	0.72	Noir	Rouge foncé	Maron claire
	0.80	-	Rose	Maron claire
	0.92	-	Rose	Vert

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

EEA _{ai}	0.12	Maron claire	Rose	Maron
	0.20	Noir claire	Rose	Vert claire
	0.36	Jaune pale	Rose	Maron claire
	0.47	Verdâtre	Rouge	Maron claire
	0.58	Maron foncé	Rouge	Maron claire
	0.70	Noir	Rouge foncé	Vert claire
	0.72	-	Rose	Vert claire
	0.80	-	Bleu blanc	-

IV.4. Discussion des résultats :

Par comparaison avec l'étude de la coloration des spots observés par chromatographie sur couche mince CCM des métabolites secondaires réalisée par Markham [97].

Tableau 06 : Résultats par chromatographie sur couche mince des métabolites secondaires établie par Markham.

Spots coloré	Révélation sous lampe UV [97]	Révélation par anisaldéhyde [98]
Noir	Flavanols 5.6.7, tri OH libres Flavanols 5.7.8, tri OH libres	-
Brun noir	3-OH absent ou 3-OH substitué	-
Violet	Flavones 5-OH et 4' OH Flavones 3-OR et 5OH,4'-OH Flavones 6 ou 8 OH Chalcones Dihydroflavonols Isoflavones Flavanones	-
Bleu claire (fluorescent)	Flavones sans 5-OH libre Flavanols sans 5-OH libre avec 3 OH substit	-
Jaune terne Jaune Fluorescence Orange	Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre	-
Jaune vert brillant	5 OH libre ou 5 OH substitue	-
Jaune Fluorescent	Flavonols avec 3OH libres Aurones Chalcone Flavanones	-

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Jaune pale	Dihydroflavonols	-
Rose	Anthocyanidine 3,5- di Glucoside	-
Rouge	Anthocyanidine 3- Glucoside	-
Jaune	-	Saponines stéroïdes
Violet Bleu violet	-	Saponines triterpénoïdes

De cette comparaison, nous pouvons déduire que la présence des spots de coloration rouge, rose, jaune et violette dans les chromatogrammes est attribuée à la présence des flavonoïdes, des anthocyanidines, des saponosides stéroïdiques et saponosides triterpéniques pour les extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne des deux espèces et la partie feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* (EAAAsc, EAAai, EAFsc). Par ailleurs l'extrait acétate d'éthyle de la partie tige de l'espèce *Satureja calamintha* (EATsc) contient seulement des anthocyanidines et des saponosides triterpéniques. En outre les extraits éthanoliques des différentes parties de la plantes *Satureja calamintha* (EEAsc, EEFsc, EETsc) sont riches en flavonoïdes tel que les anthocyanidines, les flavone et les flavonols. Concernant les saponosides on remarque leurs absences dans les différents extraits éthanoliques. La présence des spots de coloration rose et rouge pour l'extrait éthanolique de l'espèce *Ajuga iva* (EEAai) montre la présence des anthocyanidines.

Cette étude nous permis de mettre en évidence la richesse des deux plantes étudiées en métabolites secondaires, notamment en composés phénoliques.

V. Dosage des polyphénols totaux

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside. Ils sont largement répandus dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus, ils ont caractérisé par leur effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certain cancer [99].

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [100], Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

V.1. Principe

L'ensemble des composés phénoliques de l'extrait est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{40}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite de l'oxydation possède une absorption maximale à 765 nm. Les phénols sont estimés par une spectroscopie UV dont l'acide gallique est utilisé comme un standard à une longueur d'onde $\lambda = 765$ nm.

V.2. Protocole expérimentale

✚ Préparation des solutions d'acide gallique :

Les solutions d'acide gallique à différentes concentrations (allant de 0.125 jusqu'à 0.0156 mg/ml) ont été préparé à partir d'une solution mère de concentration 0.5 mg/ml solubilisé dans le méthanol.

On introduit 1 ml de chaque dilution dans des tubes à essais secs ; on lui ajoute 5 ml d'eau distillé et 0.5 ml de réactif de Folin-ciocalteu dans chaque tube ; on agite vigoureusement puis on laisse agir 5 min avant d'ajouter 4 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 7.5%.

Après 1 heure d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, on lit les absorbances à partir de spectrophotomètre UV-visible à 765 nm.

Le blanc est représenté par l'eau distillée additionné du Folin-ciocalteu, et de carbonate de sodium.

✚ Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

Les absorbances de différentes concentrations de l'acide gallique à 765 nm sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre UV. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Absorbance de la gamme de concentration d'acide gallique

Concentration (mg/ml)	0	0.0156	0.0313	0.0625	0.125
Absorbance	0.027	0.065	0.09	0.19	0.35

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée comme étant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration.

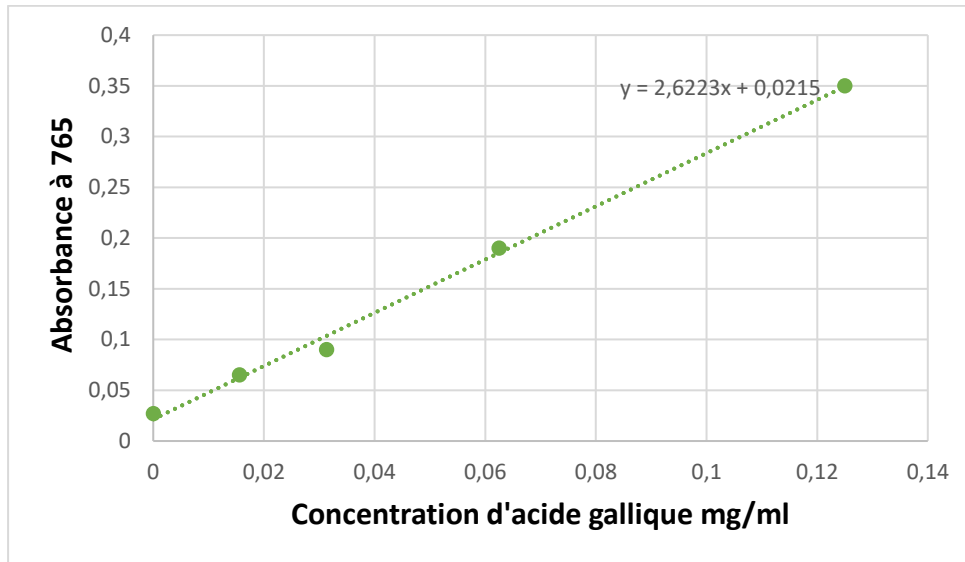


Figure 06 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

🔧 Préparation des solutions des extraits :

Dans un premier temps, nous avons préparé une solution d'extrait de plante par dissolution de 2 mg de l'extrait dans 1 ml de méthanol et 6.5 ml d'eau distillé.

Ensuite, 1 ml de la solution mère est prélevé et introduit dans un tube sec, Puis 0.5ml de réactif de Folin-Ciocaltu et 5 ml d'eau distillée sont ajoutés. Après 05 minutes 4 ml de carbonate de Na sont ajoutés également.

Enfin, après incubation pendant une 1 heure, l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis.

Ce dosage a été réalisé pour les extraits éthanoliques et les extraits acétate d'éthyles pour les différentes parties des deux plantes *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*.

La teneur en polyphénols de ces extraits a été calculée on se référant à la courbe d'étalonnage obtenu en utilisant l'acide gallique comme standard.

Les résultats obtenus ont été exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g d'extrait) en appliquant la formule suivante:

$$C = (c * V) / m$$

C: La teneur en phénols totaux (mg EAG/g d'extrait).

c: La concentration de l'extrait équivalent à l'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

V: Volume de l'extrait (ml).

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

m: Le poids sec d'extrait (g).

V.3.Teneur en polyphénols totaux des extraits d'acétate d'éthyle

Les résultats obtenus du dosage des polyphénols totaux des 4 extraits acétate d'éthyle (EAA_{sc} , EAF_{sc} , EAT_{sc} , EAA_{ai}) sont regroupés dans le tableau 07 et représentés sur l'histogramme ci-dessous :

Tableau 08 : Teneur en polyphénols totaux existant dans les extraits acétate d'éthyle

Extrait	Teneurs en polyphénols (mg/g)
EAA_{sc}	11.5
EAF_{sc}	15
EAT_{sc}	11.5
EAA_{ai}	12

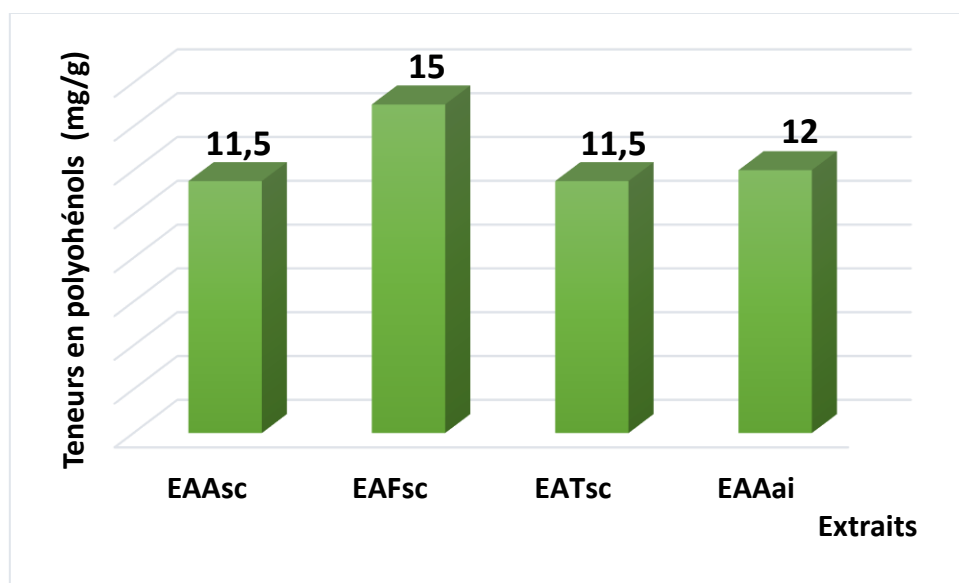


Figure 07 : Histogramme de la teneur en polyphénols totaux des extraits acétate d'éthyle.

D'après les résultats obtenus nous pouvons constater que l'extrait acétate d'éthyle de partie feuille de la plante *Satureja calamintha* (EAF_{sc}) est plus riche en polyphénols totaux que les extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne (EAA_{sc}) et des tiges (EAT_{sc}) de la même plante.

Les extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne et des tiges de l'espèce *Satureja calamintha* contient la même quantité des composés phénoliques.

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

En outre l'extrait de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva* (EAA_{ai}) montre la présence d'une quantité légèrement plus élevée en polyphénols que celle présente dans la partie aérienne de l'espèce *Satureja calamintha* (EAA_{sc}).

V.4. Teneur en polyphénols totaux des extraits éthanoliques

Les résultats obtenus du dosage des polyphénols totaux des 4 extraits éthanoliques (EEA_{sc}, EEF_{sc}, EET_{sc}, EEA_{ai}) sont regroupés dans le tableau 08 et représentés sur l'histogramme ci-dessous :

Tableau 09 : Teneur en polyphénols totaux existant dans les extraits éthanoliques

Extrait	Teneurs en polyphénols (mg/g)
EEA _{sc}	11
EEF _{sc}	9.5
EET _{sc}	8
EEA _{ai}	7.5

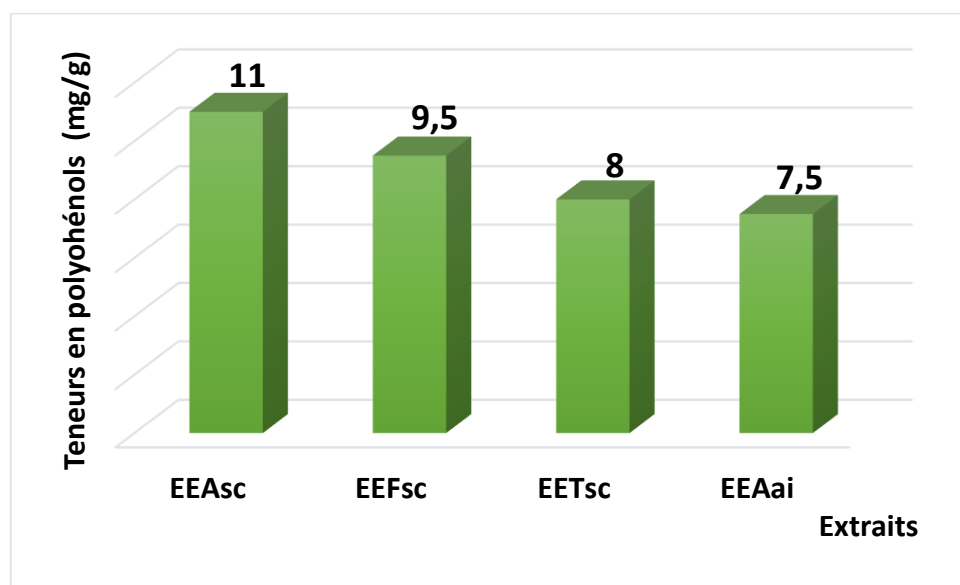


Figure 08 : Histogramme de la teneur en polyphénols totaux des extraits éthanoliques.

D'après les résultats obtenus nous pouvons déduire que l'extrait éthanolique de partie aérienne de la plante *Satureja calamintha* (EEA_{sc}) contient la teneur la plus élevée (11 mg/gAG) en polyphénols totaux et que l'extrait éthanolique de *Ajuga iva* renferme la teneur la plus faible (7.5 mg/gAG).

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Cependant l'extrait feuilles (EEF_{sc}) est plus riche en polyphénols que l'extrait tiges (EET_{sc}) de l'espèce *Satureja calamintha*.

V.5. Comparaison des teneurs en polyphénols totaux des différents extraits

Pour une étude comparative entre les extraits acétate d'éthyles et les extraits éthanoliques obtenus à partir de l'extraction de différentes parties des deux plantes étudiées nous avons représenté les teneurs en polyphénols totaux de ces extraits sur l'histogramme ci-dessus.

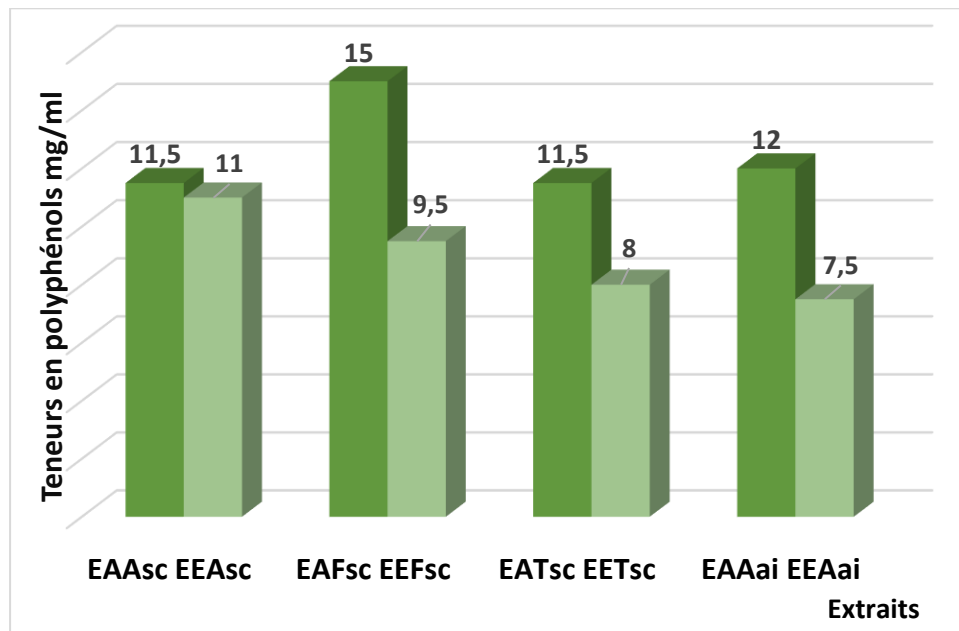


Figure 09 : Histogramme des teneurs en polyphénols des extraits acétate d'éthyle et éthanoliques des différentes parties des deux plantes.

L'analyse quantitative de la teneur en polyphénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteu montre la présence de quantités importantes de substances phénoliques pour les extraits acétate d'éthyles par rapport aux extraits éthanoliques et cela pour tous les extraits étudiés.

La teneur la plus faible est enregistré pour l'extrait éthanolique de la partie aérienne de la plante *Ajuga iva*, Alors que la teneur la plus élevée est enregistré pour l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de l'espèces *Satureja calamintha*.

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

D'une manière générale, les teneurs en polyphénols totaux des extraits varient non seulement d'une plante à une autre mais également d'une partie de plante à une autre, Cette variation dépend des paramètres de l'extraction solide-liquide, la température, ainsi que du solvant d'extraction utilisé

Pour une étude plus poussée de la composition chimique de l'extrait contenant la teneur la plus élevée en composés phénoliques (EAF_{sc}), nous avons soumis cet extrait à une séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice.

VI. Séparation par chromatographie sur colonne

VI.1. Principe

La chromatographie sur colonne est une méthode de séparation des constituants d'un mélange par migration dans un dispositif basé sur le phénomène d'adsorption, dont les molécules sont entraînées vers le bas de la colonne à des vitesses variables, selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant, ce dispositif est constitué de deux phases : La phase stationnaire polaire (gel de silice) ayant des groupements silanols (Si-OH) en surface avec une phase mobile liquide apolaire. Les substances sont alors éluées en sens inverse de leur polarité propre. Les composants peu polaires ont une plus grande affinité pour la phase mobile et sont donc élués rapidement. Inversement les solutés polaires ont une plus grande affinité pour la phase stationnaire et sont élués lentement [101].

VI.2. Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* (EAF_{sc}) :

Afin de mieux connaître la composition chimique de l'extrait le plus riche en composés phénoliques (EAF_{sc}), nous avons procédé au fractionnement de cet extrait sur une colonne de gel de silice (marque de gel silice).

L'extrait qui pèse 1g est déposé sur une colonne de gel de silice et éluée en gradient de polarité par le système de solvant (n-hexane/Acétone). Des fractions de 50 ml sont recueillies et analysées par chromatographie sur couche mince CCM en utilisant divers systèmes d'éluion.

Les plaques CCM sont examinées sous UV, puis révélés par une solution sulfurique d'anisaldéhyde. Les fractions similaires sont réunies et évaporées. En fin, ce fractionnement a conduit à l'obtention de 10 fractions.

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle de la partie feuille de l'espèce *Satureja calamintha* (EAF_{sc}).

Fraction	Système d'éluant	Observations
F ₁	(n-Hexane/Acétone) (95/5)	2 composés séparables
F ₂	(n-Hexane/Acétone) (95/5)	3 composés séparables, mais faible quantité
F ₃	(n-Hexane/Acétone) (95/5)	5 composés inséparables
F ₄	(n-Hexane/Acétone) (95/5)	6 composés inséparables
F ₅	(n-Hexane/Acétone) (80/20)	6 composés inséparables
F ₆	(n-Hexane/Acétone) (80/20)	Trainée
F ₇	(n-Hexane/Acétone) (60/40)	Mélange non traité, faible quantité
F ₈	(n-Hexane/Acétone) (60/40)	5 composés inséparables
F ₉	(n-Hexane/Acétone) (60/40)	Mélange complexe
F ₁₀	Méthanol	-

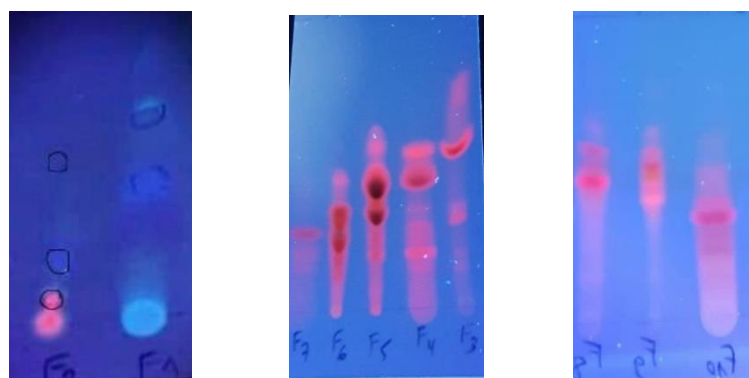


Figure 10 : Les chromatogramme des fractions.

VI.3. Séparation de la fraction F₁ par CCM préparative :

La plaque CCM analytique de la fraction F₁, issue de fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle de la partie feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* sur colonne de gel de silice, montre la présence de deux taches de coloration noir violacé et bleu fluorescent, facile à séparer.

Les conditions de la séparation sont :

- Support Chromatographique : Plaque en aluminium de Gel de silice, 20 X 20 cm.
- Phase mobile : n-Hexane /Acétone (95/5).
- Révélateur : UV 365 nm.

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Nous avons procédé à la séparation comme suit :

On dépose l'extrait le long de la plaque CCM à l'aide d'un capillaire et on le laisse sécher, Ensuite on plonge les plaques dans la cuve contenant l'éluant.

Après développement on retire les plaques CCM, on les sèche puis on les expose au UV pour limiter les zones de différents produits.

Ensuite, chaque produit est gratté séparément à l'aide d'une spatule puis dissout dans le méthanol. Enfin, la filtration de chaque produit suivi d'une évaporation de solvant, nous a permis de séparer deux produits C₁ et C₂.

VI.4. Purification des composés séparés C₁ et C₂

Afin de vérifier la pureté des deux composés séparés, nous avons effectué une analyse par chromatographie sur couche mince.

Cette dernière montre la présence des impuretés dans l'origine, ce qui nous a conduit à purifier ces composés par chromatographie sur colonne comme suit :

Le produit est déposé sur une petite colonne de gel de silice et élué par le système de solvant (n-hexane/Acétone) (9.5/0.5). Après analyse par CCM et révélation sous lampe UV, nous observons la présence d'une seule tache correspond au produit pur (figure 12).

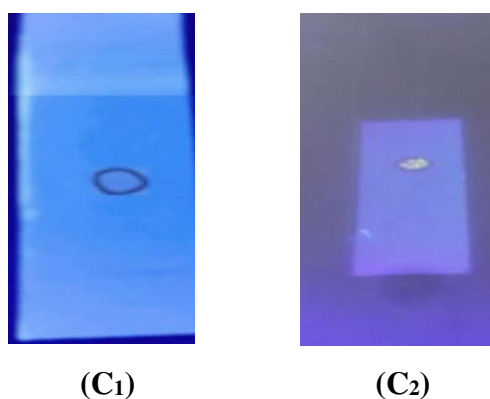


Figure 11 : Les chromatogramme des composés séparés C₁ et C₂.

Pour l'identification des deux produits purs, on réalise une analyse par spectrophotométrie UV-Vis.

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

VI.5. Détermination de la structure des composés C₁ et C₂

VI.5.1. Caractérisation des composés C₁ et C₂

En premier lieu, nous avons mesuré les R_f et noté la coloration des composés isolés sous la lampe UV, ainsi que les résultats de la réaction avec le KOH.

Nous rappelons que les solutions contenant des flavonoïdes donnent avec le réactif de potasse alcoolique (KOH) la couleur jaune.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 11: Quelques caractéristiques des composés C₁ et C₂.

Composé	R _f	Couleur sous UV	Réaction de coloration par KOH
C ₁	0.47	Violet	+
C ₂	0.81	Jaune	+

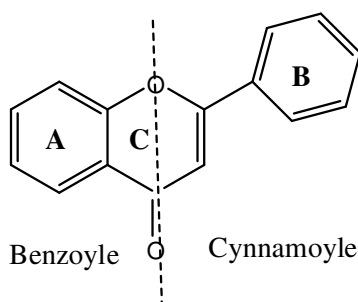
D'après ces résultats nous pouvons déduire que ces deux composés sont des flavonoïdes.

VI.5.2. Analyse par spectrophotométrie UV-Vis :

La spectroscopie UV-Vis constitue une technique très importante utilisée pour déterminer la structure chimique des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont capables d'absorber sélectivement une partie de la lumière, les fonctions chimiques responsables de cette absorption sont dites chromophores. Les groupements chimiques comme l'hydroxyle et le méthoxyle sont susceptibles de modifier la couleur de base donnée par le chromophore.

Chaque composant flavonique a un spectre d'absorption spécifique au milieu alcoolique (méthanol). Il donne deux bandes d'absorption principale bande I et bande II.



Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Bande I : apparaissant entre 320 et 380 nm est attribuée à la forme résonance cynamoyle.

Bande II : apparaissant entre 240 et 280 nm est attribuée à la forme résonance benzoyle.

Tableau 12 : Déplacements des maximums des bandes 1 et 2 remarquables dans le méthanol des principales classes de flavonoïdes [102].

Bande 2 (nm)	Bande 1 (nm)	Type de flavonoïdes
250-280	310-350	Flavone
250-280	330-360	Flavonol "3-OR"
250-280	350-385	Flavonol "3-OH"
245-275	310-330	Isoflavone
275-295	330-300	Flavanone ou dihydroflavonol
230-270	340-390	Chalcone
230-270	380-430	Aurone
270-280	465-560	Anthocyanidine ou anthocyanine

🚦 Données spectrales du composé C₁

Le spectre du produit C₁ enregistré dans le méthanol montre deux bandes maximales à 330 nm et 250 nm caractéristiques aux flavones ou flavonol substitué en position 3.

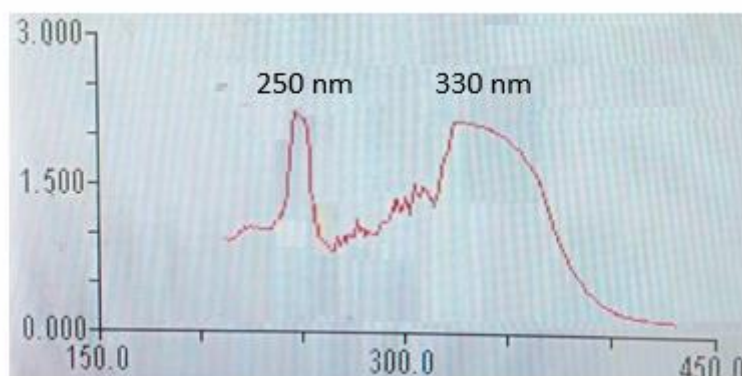


Figure 12 : Spectre UV du produit C₁

Chapitre II : Etude phytochimique des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*

Données spectrales du composé C₂

Le spectre du produit C₂ enregistré dans le méthanol présente deux bandes maximales à 340 nm et 250 nm caractéristiques aux flavonol avec OH libre.

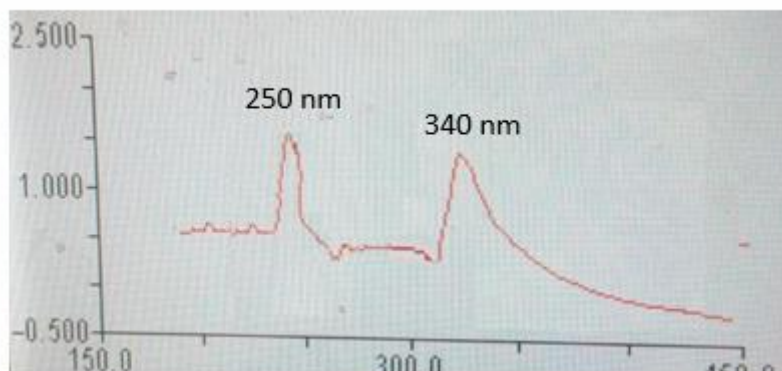


Figure 13 : Spectre UV du produit C₂

En conclusion, bien que la spectrophotométrie UV-Visible nous a donné des informations sur la nature des produits isolés, d'autres analyses spectrales RMN¹H, RMN¹³C, spectroscopie de masse... sont indispensables pour établir les structures chimiques de ces deux composés.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

I. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH :

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants naturels les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C) et la vitamine E.

La plupart des antioxydants de synthèse (BHT, BHA) ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) [103].

I.1. Principe du test de DPPH

La méthode de piégeage du radical libre DPPH (le 2,2'-Diphényle-1-picrylhydrazyl) est basée sur la réduction de ce radical en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène ou d'électron, la forme non radicalaire est formée (le 2,2'-Diphényle-1-picrylhydrazine) DPPH-H.

La réduction du radical libre (DPPH) par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm [104].

Dans ce test les antioxydants réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune (figure), Le DPPH se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques.

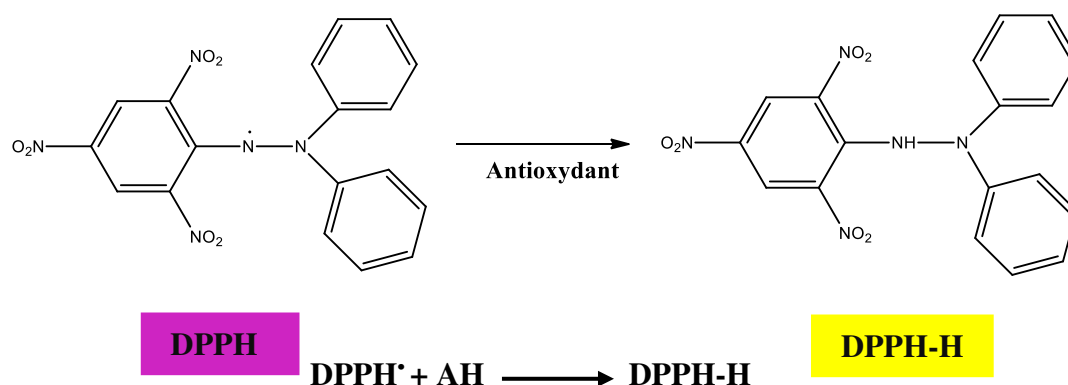


Figure 14 : Réaction d'un antioxydant donneur d'hydrogène avec le radical DPPH•.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode de DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs \ t - Abs \ e) / Abs \ t] \times 100$$

Abs t : Absorbance du témoin négatif.

Abs e : Absorbance de l'échantillon testé.

Les pourcentages d'inhibition ainsi déterminés, nous permettent de calculer la valeur du paramètre IC₅₀ (concentration d'inhibitrice de 50 %) ou CE₅₀ (concentration efficace) qui représente la concentration de la substance nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel.

Nous pouvons déduire l'activité antiradicalaire (ARP) de nos extraits en calculant l'inverse des valeurs des IC₅₀ trouvées.

$$ARP = 1 / IC_{50}$$

ARP : Puissance antiradicalaire.

IC₅₀ : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH.

I.2. Protocole expérimental

Préparation de la solution de DPPH :

Une solution méthanolique de 0.004% de DPPH a été préparé fraîchement avec 4 mg de DPPH dissout dans 100 ml de méthanol.

Préparation des échantillons :

Au premier lieu, on prépare une solution à partir de la dissolution de 5 mg de l'extrait dans 1 ml de méthanol. Cette solution dite solution mère, subit par la suite des dilutions pour en avoir différentes concentrations allant de 0.1 à 5 mg/ml.

Préparation de la solution d'acide ascorbique :

Cette solution est Préparée par dissolution de 50 mg de l'acide ascorbique (vitamine C) dans 10 ml de méthanol. Ensuite des dilutions sont réalisés, à partir de la solution mère, pour en avoir différentes concentrations de l'ordre de milligramme par ml. L'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon testé.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

Mise en œuvre du test de DPPH :

On introduit 1 ml de chaque solution de l'extrait à étudié dans un tube à essai sec, et on lui ajoute 2 ml de la solution méthanolique de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30 minutes. Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Pour chaque dilution : le blanc est représenté par le méthanol et le témoin négatif est composé d'un mélange de 2 ml de la solution de DPPH avec 1 ml de méthanol.

Le témoin positif est représenté par une solution méthanolique de l'acide ascorbique (la vitamine C).

I.3. Résultats de l'activité antioxydante testée par la méthode du DPPH :

L'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et éthanoliques des deux espèce *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* vis-à-vis du radical libre DPPH a été évaluée par spectrophotométrie UV-Vis, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à couleur jaune pâle mesurable à 517 nm. Le virage vers cette coloration et l'intensité de cette coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire.

Les différentes concentrations, les absorbances et les pourcentages d'inhibitions des extraits acétate d'éthyle, éthanoliques et du standard pour chaque partie des plantes étudiées (partie aérienne, feuilles et tiges pour *Satureja calamintha* et la partie aérienne pour *Ajuga iva*) sont regroupés dans des tableaux et représentés par histogrammes.

I.3.1. Détermination de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Satureja calamintha* :

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et éthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Satureja calamintha* sont regroupés dans le tableau suivant :

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

Tableau 13 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAA_{sc}, EEA_{sc} et du standard.

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EAA _{sc}	Abs	0.522	0.483	0.352	0.243	0.122	0.032	0.003	+	+
	% Inh	18.44	24.53	45	62.03	80.93	95	99.53	+	+
EEA _{sc}	Abs	0.604	0.589	0.493	0.350	0.332	0.120	0.026	0.016	0.011
	% Inh	5.62	7.97	22.97	45.31	48.13	81.26	95.93	97.50	98.28
Vit. C	Abs	0.314	0.286	0.175	0.127	0.084	0.062	0.056	0.042	0.032
	% Inh	46.24	51.19	70.13	80.16	85.66	89.41	90.44	92.83	94.53

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH avec les différentes concentrations pour les extraits acétate d'éthyle et éthanolique de la partie aérienne de *Satureja calamintha* est illustrée par la figure ci-dessous :

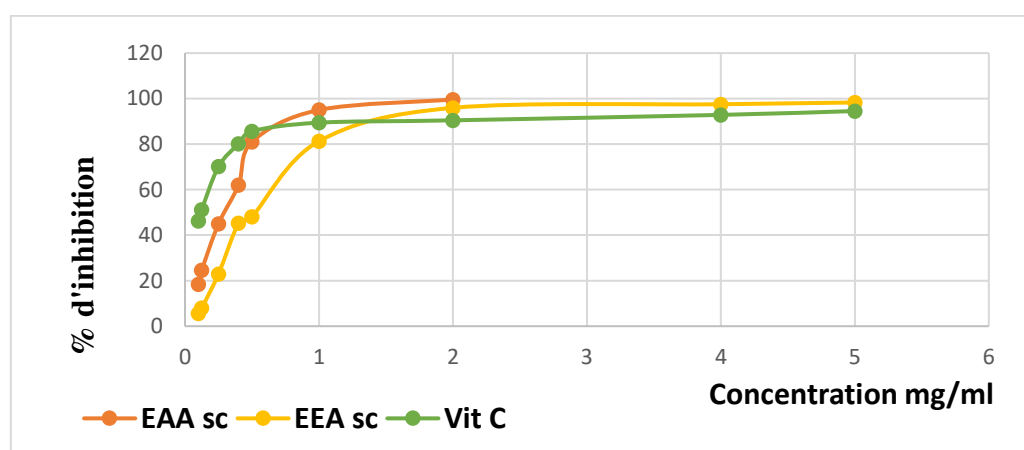


Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAA_{sc}, EEA_{sc} et du standard.

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 14 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 16.

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EAA _{sc}	0.35	2.86
EEA _{sc}	0.61	1.64
Vit C	0.12	8.33

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

Tableau 14 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAA_{sc} , EEAsc et du standard (la vitamine C).

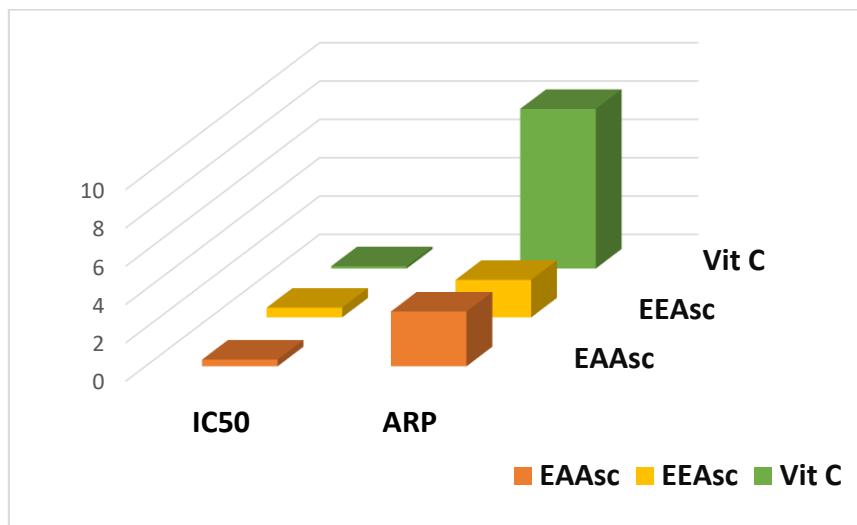


Figure 16 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAA_{sc} , EEAsc et de la Vit C. Les résultats obtenus montrent que les extraits acétate d'éthyle et éthanolique de la partie aérienne de *Satureja calamintha* (EAA_{sc} , EEAsc) possèdent un pouvoir antioxydant et antiradicalaire nettement inférieur à celle de la Vitamine C et que l'extrait acétate d'éthyle présente une activité antioxydante plus élevée que celle de l'extrait éthanolique de cette plante.

I.3.2. Détermination de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* :

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et éthanolique des feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 15 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAF_{sc} , EEF_{sc} et du standard.

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EAF _{sc}	Abs	0.466	0.43	0.289	0.118	0.079	0.013	0.004	+	+
	% Inh	27.18	32.28	54.84	81.56	87.96	97.96	99.37	+	+
EEF _{sc}	Abs	0.387	0.367	0.255	0.211	0.055	0.051	0.027	0.021	0.018
	% Inh	39.53	42.65	60.16	67.03	91.41	92.03	95.78	96.72	97.19
Vit C	Abs	0.314	0.286	0.175	0.127	0.084	0.062	0.056	0.042	0.032
	% Inh	46.24	51.19	70.13	80.16	85.66	89.41	90.44	92.83	94.53

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH avec les différentes concentrations pour les extraits acétate d'éthyle et éthanolique des feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* est schématisée ci-dessous :

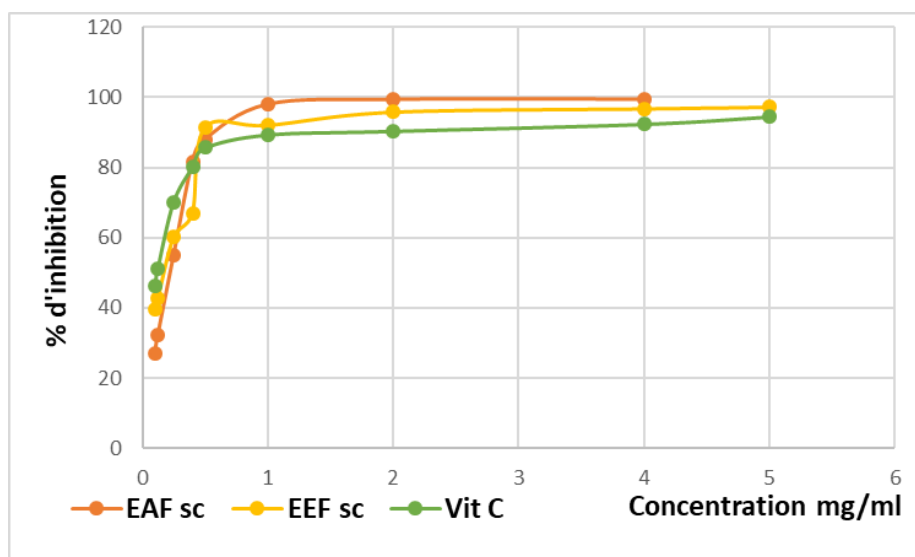


Figure 17 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAF_{sc}, EEF_{sc} et du standard.

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 16 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 18.

Tableau 16 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAF_{sc}, EEF_{sc} et du standard (la vitamine C).

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EAF _{sc}	0.22	4.55
EEF _{sc}	0.17	5.88
Vit C	0.12	8.33

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

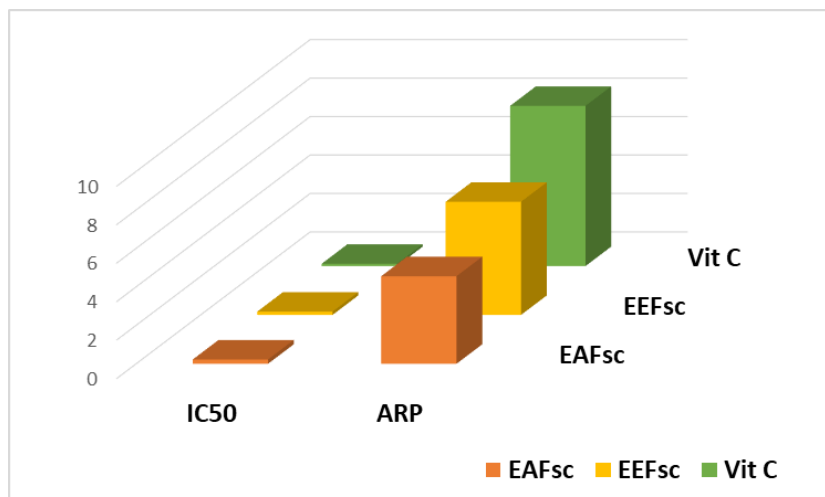


Figure 18 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAF_{sc}, EEF_{sc} et de la Vit C.

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que les extraits EAF_{sc} et EEF_{sc} présentent une activité antioxydante très importante et que l'extrait EEF_{sc} possède une activité antiradicalaire plus élevée par rapport à l'extrait EAF_{sc}.

I.3.3. Détermination de l'activité antioxydante des extraits des tiges de l'espèce *Satureja calamintha* :

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et éthanolique des tiges de l'espèce *Satureja calamintha* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAT_{sc}, EET_{sc} et du standard.

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EAT _{sc}	Abs	0.599	0.558	0.530	0.453	0.373	0.300	0.085	0.0525	0.031
	% Inh	8.75	12.81	17.18	29.21	41.71	53.12	86.71	91.79	95.15
EET _{sc}	Abs	0.59	0.551	0.473	0.352	0.309	0.151	0.022	0.006	+
	% Inh	12.66	12.81	26.09	45	51.72	76.41	96.56	99.06	+
Vit C	Abs	0.314	0.286	0.175	0.127	0.084	0.062	0.056	0.042	0.032
	% Inh	46.24	51.19	70.13	80.16	85.66	89.41	90.44	92.83	94.53

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH avec la concentration pour les extraits acétate d'éthyle et éthanolique des feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* est illustrée par la figure ci-dessous :

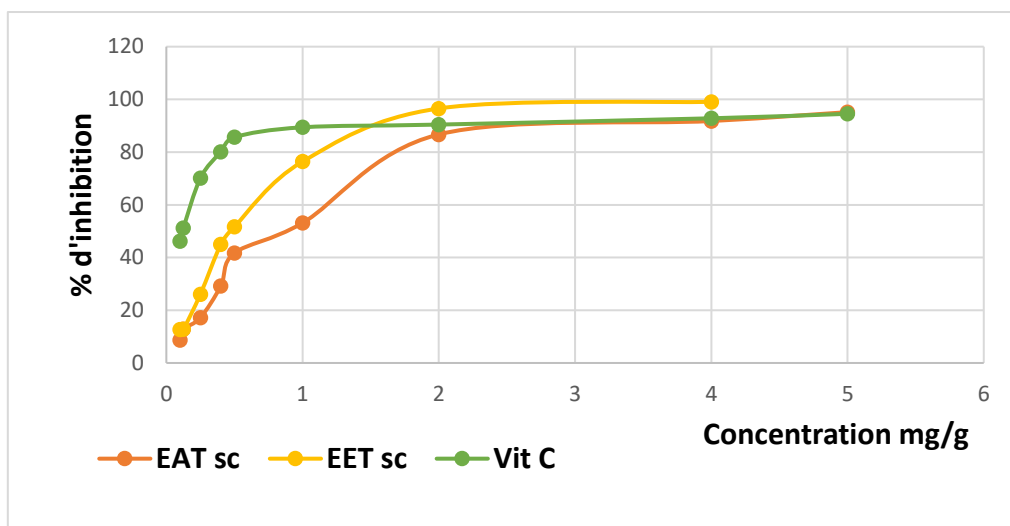


Figure 19 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAT_{sc}, EET_{sc} et du standard.

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 18 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 20.

Tableau 18 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAF_{sc}, EEF_{sc} et du standard (la vitamine C).

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EAT _{sc}	0.82	1.22
EET _{sc}	0.47	2.13
Vit C	0.12	8.33

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

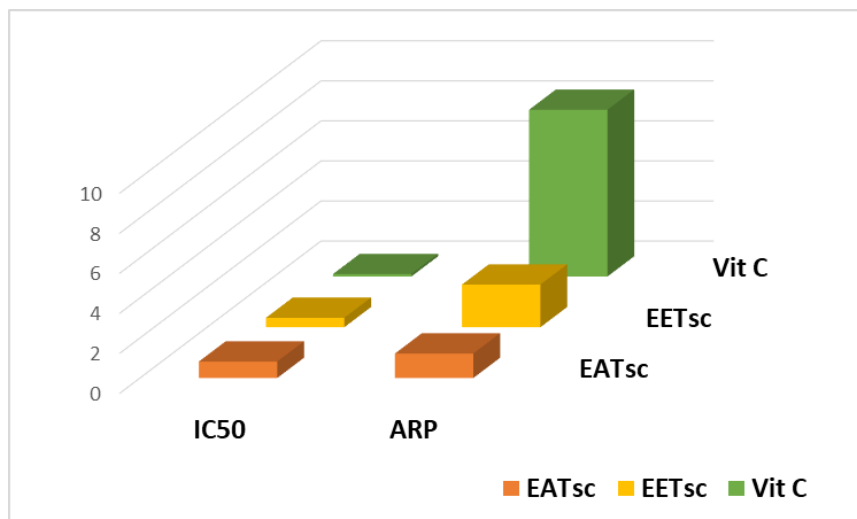


Figure 20 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAT_{sc}, EET_{sc} et de la Vit C.

Les deux extraits EAT_{sc}, EET_{sc} testés par la méthode de piégeage de radical libre DPPH présentent une faible activité antiradicalaire par rapport à la vitamine C.

L'extraits EET_{sc} présente une activité antioxydante plus élevée que celle de l'extrait EAT_{sc}.

I.3.4. Détermination de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Ajuga iva*.

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et éthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 19 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAA_{ai}, EEA_{ai} et du standard.

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EAA _{ai}	Abs	0.584	0.545	0.543	0.531	0.453	0.3	0.085	0.052	0.031
	% Inh	8.75	14.84	15.15	17.03	29.21	53.12	86.71	91.87	95.15
EEA _{ai}	Abs	-	-	-	-	-	0.543	0.423	0.249	0.190
	% Inh	-	-	-	-	-	15.15	33.91	61.09	70.31
Vit C	Abs	0.314	0.286	0.175	0.127	0.084	0.062	0.056	0.042	0.032
	% Inh	46.24	51.19	70.13	80.16	85.66	89.41	90.44	92.83	94.53

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH avec la concentration pour les extraits acétate d'éthyle et éthanolique de la partie aérienne de *Ajuga iva* est schématisée ci-dessous :

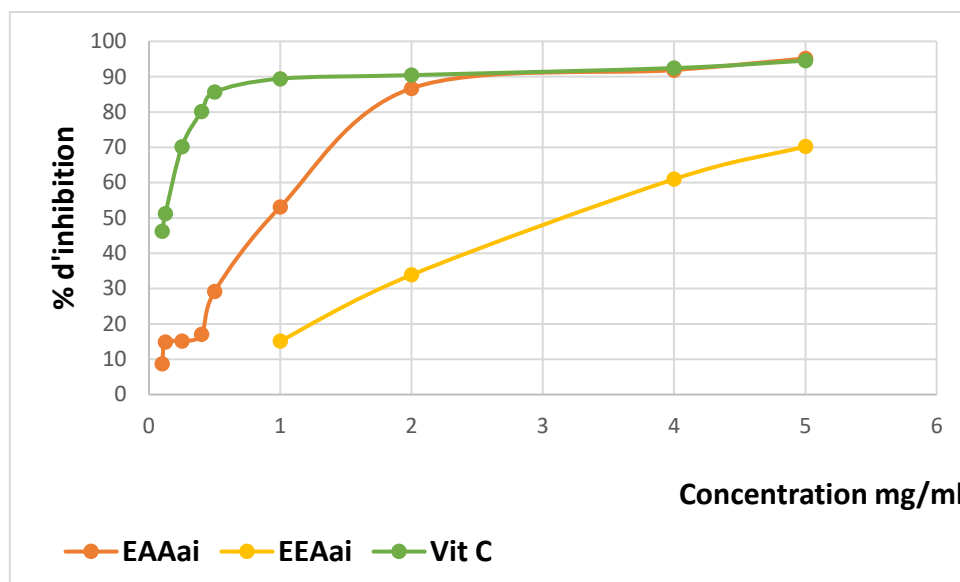


Figure 21 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAA_{ai}, EEA_{ai} et du standard .

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 20 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 22.

Tableau 20 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAA_{ai}, EEA_{ai} et du standard (la vitamine C).

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EAA _{ai}	0.84	1.19
EEA _{ai}	3.05	0.32
Vit C	0.12	8.33

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

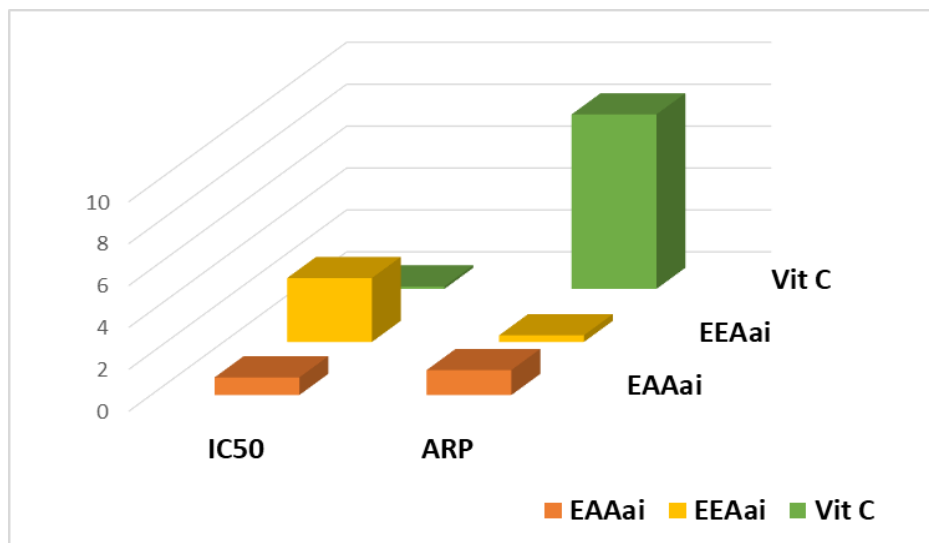


Figure 22 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAA_{ai}, EEA_{ai} et de la Vit C.

Les résultats obtenus de l'étude de l'activité antioxydante des extraits de l'espèce *Ajuga iva* (EAA_{ai}, EEA_{ai}) par rapport à la vitamine C, montre que ces extraits ont un pouvoir antiradicalaire faible, en plus particulièrement, l'extrait éthanolique (EEA_{ai}).

I.3.5. Comparaison de l'activité antioxydante des extraits Acétate d'éthyle de la partie aérienne, feuilles et tiges de l'espèce *Satureja calamintha*.

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne, feuilles et tiges de l'espèce *Satureja calamintha* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 21 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAA_{sc}, EAF_{sc}, EAT_s.

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EAA _{sc}	Abs	0.522	0.483	0.352	0.243	0.122	0.032	0.003	+	+
	% Inh	18.44	24.53	45	62.03	80.93	95	99.53	+	+
EAF _{sc}	Abs	0.466	0.43	0.289	0.118	0.079	0.013	0.004	+	+
	% Inh	27.18	32.28	54.84	81.56	87.96	97.96	99.37	99.4	+
EAT _s	Abs	0.599	0.558	0.530	0.453	0.373	0.300	0.085	0.0525	0.031
	% Inh	8.75	12.81	17.18	29.21	41.71	53.12	86.71	91.79	95.15

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH avec la concentration pour les extraits acétate d'éthyle de différentes parties de l'espèce *Satureja calamintha* est représentée sur la figure ci-dessous :

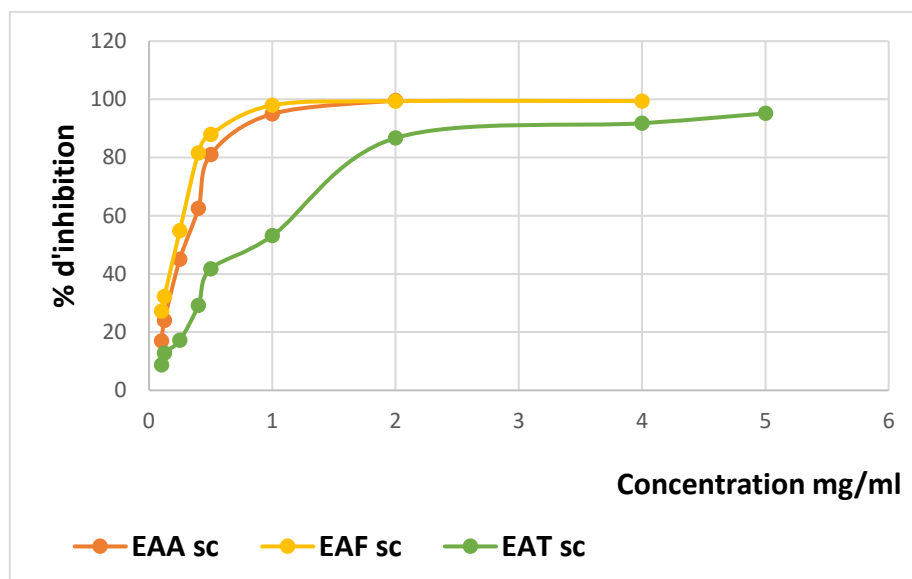


Figure 23 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAA_{sc}, EAF_{sc}, EAT_{sc}.

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 22 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 24.

Tableau 22 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAA_{sc}, EAF_{sc}, EAT_{sc}.

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EAA _{sc}	0.35	2.86
EAF _{sc}	0.22	4.55
EAT _{sc}	0.82	1.22

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

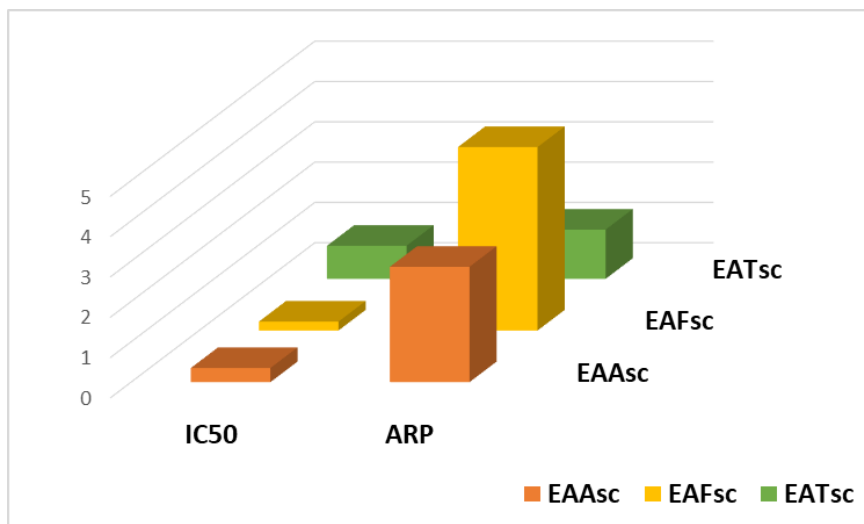


Figure 24 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAA_{sc}, EAF_{sc}, EAT_{sc}

D'après ces résultats, nous pouvons constater que l'extrait des feuilles (EAF_{sc}) possède l'activité antiradicalaire la plus élevée, suivi de l'extrait de la partie aérienne (EAA_{sc}) et que l'extrait des tiges présente l'activité la plus faible.

I.3.6. Comparaison de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la partie aérienne, feuilles et tiges de l'espèce *Satureja calamintha*.

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la partie aérienne, feuilles et tiges de l'espèce *Satureja calamintha* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 23 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EEA_{sc}, EEF_{sc}, EET_{sc}.

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EEA _{sc}	Abs	0.604	0.589	0.493	0.350	0.332	0.120	0.026	0.016	0.011
	% Inh	5.62	7.97	22.97	45.31	48.13	81.25	95.93	98.28	+
EEF _{sc}	Abs	0.387	0.367	0.255	0.211	0.055	0.051	0.027	0.021	0.018
	% Inh	39.53	42.65	60.16	67.03	91.41	92.03	95.78	96.72	97.19
EET _{sc}	Abs	0.59	0.551	0.473	0.352	0.309	0.151	0.022	0.006	+
	% Inh	12.66	12.81	26.09	45	51.72	76.41	96.56	99.06	+

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH avec la concentration pour les extraits éthanoliques de la partie aérienne, feuilles et tiges de l'espèce *Satureja calamintha* est illustré par la figure ci-dessous :

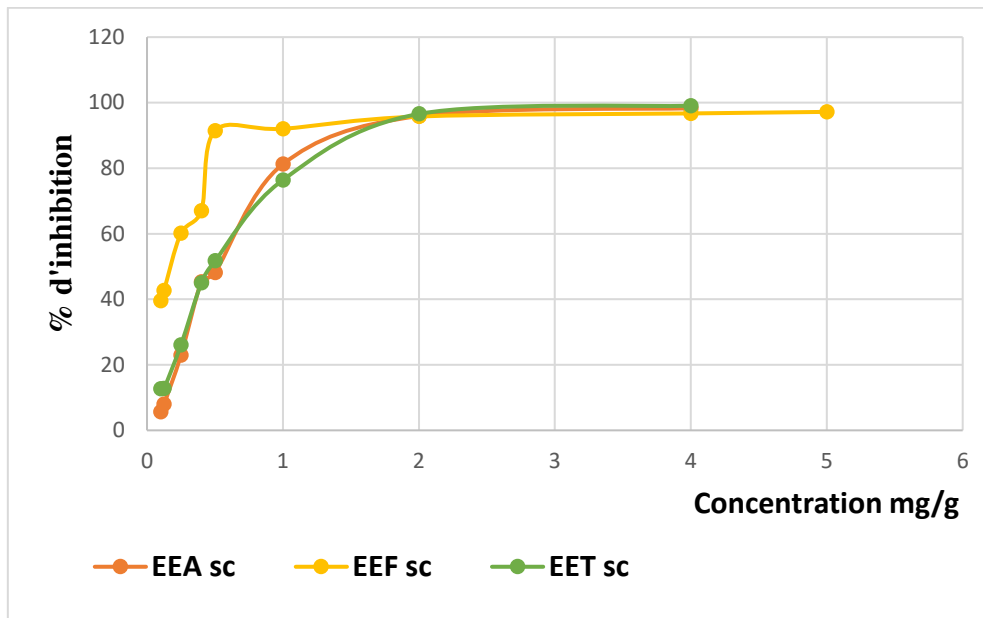


Figure 25 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EEA_{sc}, EEF_{sc}, EET_{sc}.

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 24 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 26.

Tableau 24 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EEA_{sc}, EEF_{sc}, EET_{sc}.

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EEA _{sc}	0.61	1.64
EEF _{sc}	0.17	5.88
EET _{sc}	0.47	2.13

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

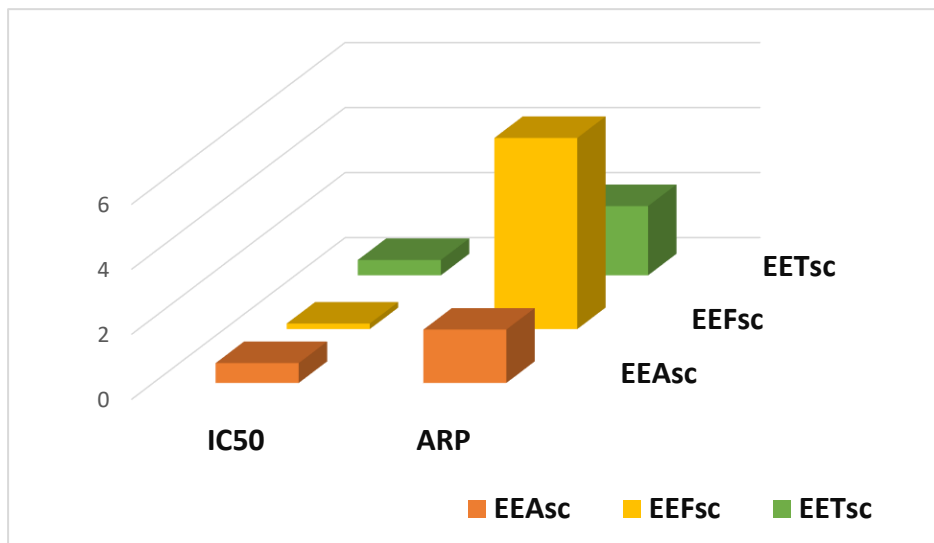


Figure 26 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EEA_{sc}, EEF_{sc}, EET_{sc}

Les résultats obtenus de la comparaison de l'activité antioxydante entre les extraits éthanoliques de différentes parties de l'espèce *Satureja calamintha*, nous ont permis de déduire que l'extrait des feuilles (EEF_{sc}) présente l'activité la plus puissante par rapport aux autres extraits.

I.3.7. Comparaison de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*.

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 25 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAA_{sc}, EAA_{ai}.

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EAA _{sc}	Abs	0.522	0.483	0.352	0.243	0.122	0.032	0.003	+	+
	% Inh	18.44	24.53	45	62.03	80.93	95	99.53	+	+
EAA _{ai}	Abs	0.584	0.545	0.543	0.531	0.453	0.3	0.085	0.052	0.031
	% Inh	8.75	14.84	15.15	17.03	29.21	53.12	86.71	91.79	95.15

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH avec la concentration pour les extraits d'acétate d'éthyle de la partie aérienne des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*, est représentée sur la figure ci-dessous :

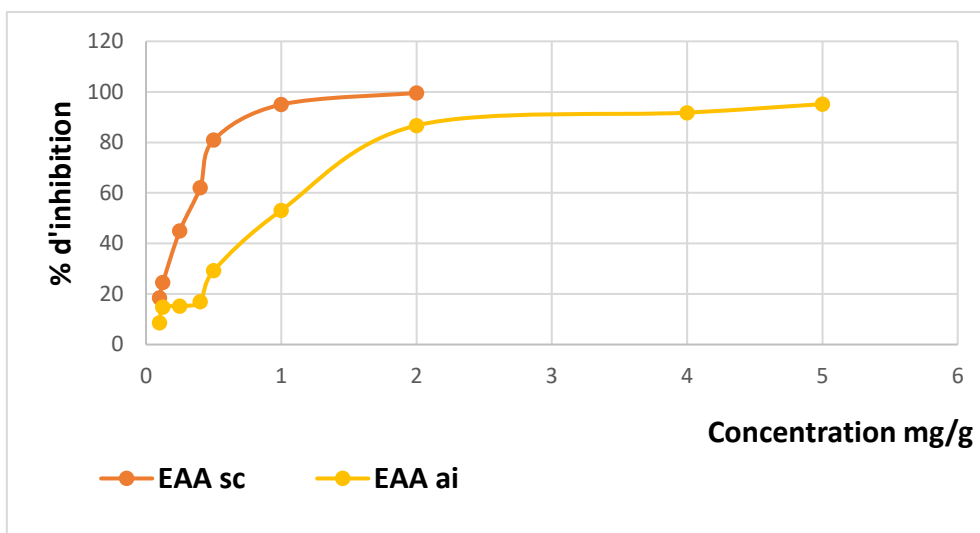


Figure 27 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EAA_{sc}, EAA_{ai}.

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 26 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 28.

Tableau 26 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAA_{sc}, EAA_{ai}.

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EAA _{sc}	0.35	2.86
EAA _{ai}	0.84	1.19

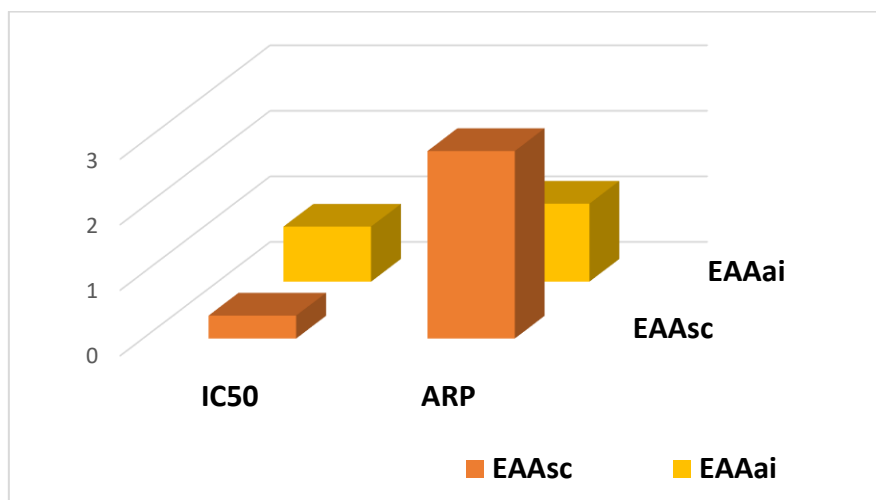


Figure 28 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EAA_{sc}, EAA_{ai}.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

La comparaison entre les extraits d'acétate d'éthyles des deux espèces étudiées montre que la partie aérienne de l'espèce *Satureja calamintha* (EAA_{sc}) présente une activité antiradicalaire assez grande par rapport à l'extrait de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva* (EAA_{ai}).

I.3.8. Comparaison de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la partie aérienne des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* :

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la partie aérienne des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 27 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EEA_{sc}, EEA_{ai}.

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EEA _{sc}	Abs	0.604	0.589	0.493	0.350	0.332	0.120	0.026	0.016	0.011
	% Inh	5.62	7.97	22.97	45.31	48.13	81.25	95.93	98.28	-
EEA _{ai}	Abs	-	-	-	-	-	0.543	0.423	0.249	0.190
	% Inh	-	-	-	-	-	15.15	33.91	61.09	70.31

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH avec les différentes concentrations pour les extraits éthanoliques de la partie aérienne des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*, est représentée ci-dessous :

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

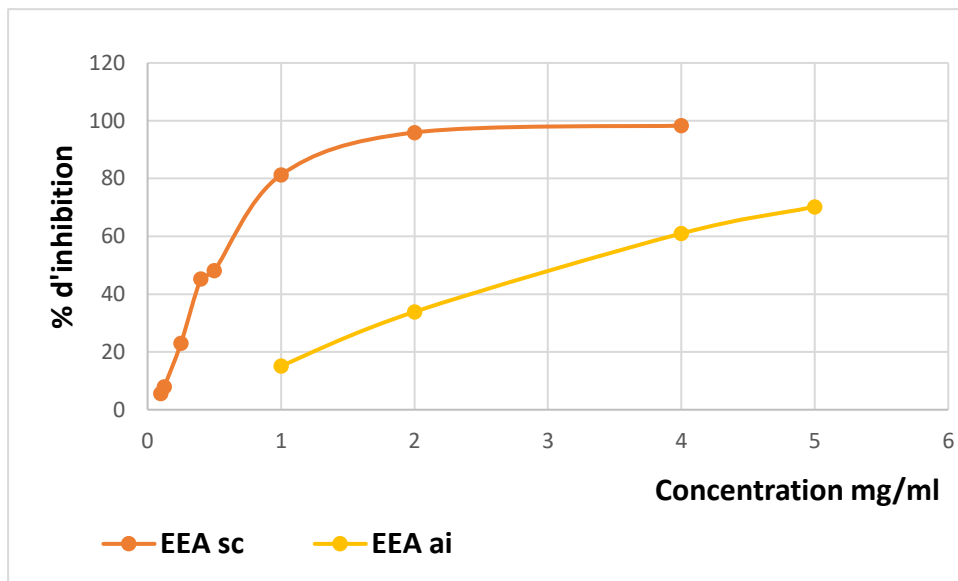


Figure 29 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de différentes concentrations des extraits EEA_{sc}, EEA_{ai}.

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 28 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 30.

Tableau 28 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EEA_{sc}, EEA_{ai}.

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EEA _{sc}	0.61	1.64
EEA _{ai}	3.05	0.32

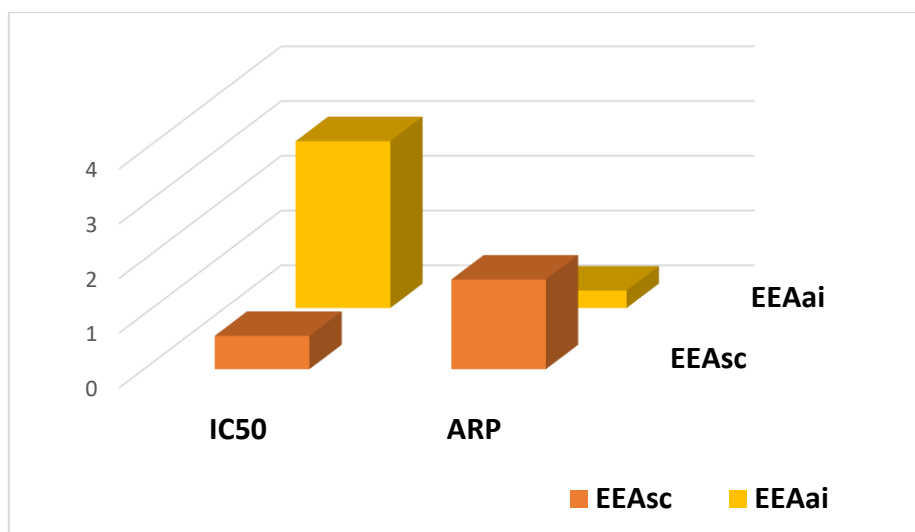


Figure 30 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits EEA_{sc}, EEA_{ai}.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

Le profil de l'activité antiradicalaire de ces deux extraits (EEAsc et EEAai), révèle que l'extrait éthanolique de *Ajuga iva* possède une activité antioxydante plus faible (avec une valeur de IC₅₀ de l'ordre de 3.05 mg/ml), que celle présentée par l'extrait éthanolique de *Satureja calamintha*.

En fin, l'ensemble des résultats obtenus de l'étude de l'activité antioxydante des huit extraits préparés à partir des deux plantes, sujet de cette étude, est représenté sur l'histogramme suivant :

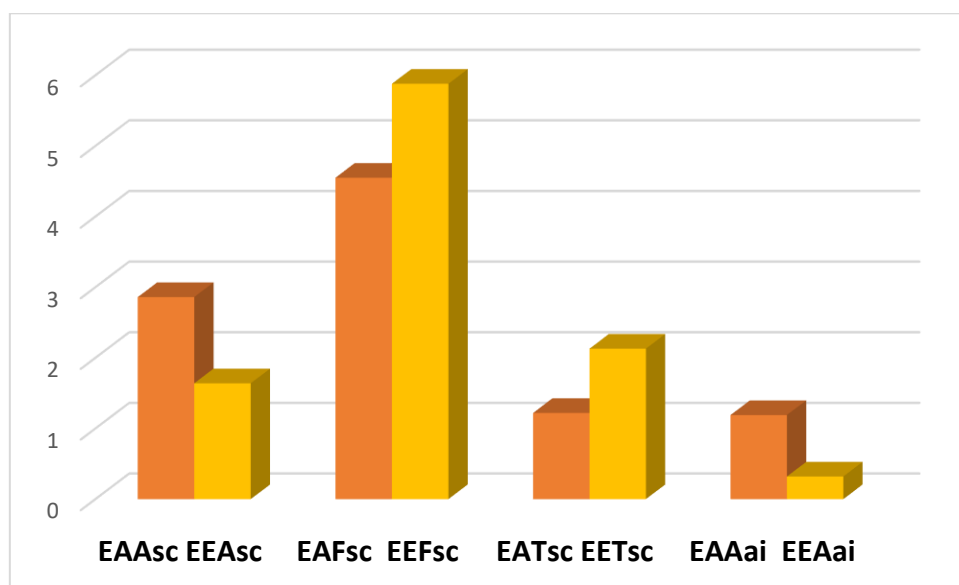


Figure 31: Histogramme de l'ARP des huit extraits.

En effet, au vu des résultats rassemblés dans l'histogramme ci-dessus, les extraits acétate d'éthyle et éthanolique de la partie feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* présentent le pouvoir antiradicalaire la plus élevée suivie de l'extrait acétate d'éthyle de la partie aérienne puis de l'extrait éthanolique des tiges de la même plante. L'activité antioxydante la plus faible est celle enregistrée pour l'extrait éthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva*.

Il est important de noter que la différence de l'activité antiradicalaire entre les extraits est peut-être dû à l'utilisation des solvants à polarité différentes. Car la polarité des

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

solvants permet d'extraire des molécules polaires tel que les polyphénols glycosylés ou hautement hydroxylés qui ont un bon pouvoir réducteur vis-à-vis le radical libre DPPH. Bien que les extraits éthanoliques ont une quantité assez faible des polyphénols totaux que les extraits acétate d'éthyles, mais son pouvoir antiradicalaire est bien meilleur, cela est remarqué pour la majorité des extraits étudiés. Ce comportement peut être expliqué par la nature et les caractéristiques structurales des composés phénoliques présents dans chaque extrait.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que l'activité antioxydante et la quantité des phénols d'un extrait sont des paramètres qui dépendent fortement du procédé d'extraction, de la nature du solvant et de sa polarité.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

II. Etude de l'effet de synergie

De nombreuses plantes utilisées traditionnellement démontrent des effets pharmacologiques significativement meilleurs lorsqu'elles sont combinées que sont utilisées seuls. Cependant, le mécanisme de cette synergie est encore mal connu.

Dans cette étude, nous nous intéressons à étudier l'activité antioxydante synergique de la combinaison entre les extraits des feuilles et les extraits des tiges de l'espèce *Satureja calamintha* d'un côté et entre les extraits de la partie aérienne des deux plantes *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* d'un autre côté.

II.1. Principe

Afin de déterminer s'il existe une éventuelle synergie de l'activité antioxydante dans ces combinaisons, les mélanges sont testés par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et les résultats obtenus sont exprimés en IC pour les différentes combinaisons des extraits vis-à-vis la dose des extraits testés isolément.

Les effets antioxydants des associations de ces extraits, sont définis par la relation suivante :

$$IC = (D)_1 / (D_x)_1 + (D)_1 / (D_x)_2$$

IC : indice de combinaison.

(D)₁, (D)₂ : la dose des extraits en combinaison.

(D_x)₁, (D_x)₂ : la dose des extraits.

- **Addition** : l'effet de l'association des extraits est égal à la somme des effets de chaque extrait IC = 1.
- **Synergie** : l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque extrait étudié isolément IC < 1.
- **Antagonisme** : l'association diminue l'activité. Elle est inférieure à la somme des effets de chaque extrait pris séparément IC > 1 [105].

II.2. Protocol expérimental

Nous avons adopté le même protocole expérimental utilisé dans la détermination de l'activité antioxydante des extraits seuls.

Les solutions mères des mélanges des extraits suivants : (EAA_{Sc} + EAA_{ai}) ; (EEA_{Sc} + EEA_{ai}) ; (EAFSc + EATSc) et (EEFSc + EETSc) sont préparés dans le méthanol à un ratio (1 : 1). Des dilutions sont préparées pour obtenir des concentrations allant de 0.1 à 4 mg/ml.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

II.3. Détermination de l'activité antioxydante des mélangés de différentes parties de l'espèce *Satureja calamintha*

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des mélanges des extraits des feuilles et des extraits des tiges de l'espèce *Satureja calamintha*, pour les extraits d'acétate d'éthyles d'un côté et les extraits éthanoliques d'un autre côté, sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 29 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits (EAF_{sc}+EAT_{sc}), (EEF_{sc}+EET_{sc}).

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
EAF _{sc} +EAT _{sc}	Abs	0.827	0.776	0.637	0.532	0.476	0.201	0.041	0.022	+
	% Inh	7.80	13.49	28.99	40.69	46.93	77.59	95.43	97.55	+
EEF _{sc} +EET _{sc}	Abs	0.782	0.689	0.619	0.499	0.402	0.115	0.052	0.005	+
	% Inh	12.8	23.18	30.99	44.37	55.18	87.18	94.20	99.44	+

La variation du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH pour les combinaisons (EAF_{sc} + EAT_{sc}) et (EEF_{sc} + EET_{sc}) de l'espèce *Satureja calamintha*, est représentée dans la figure ci-dessous :

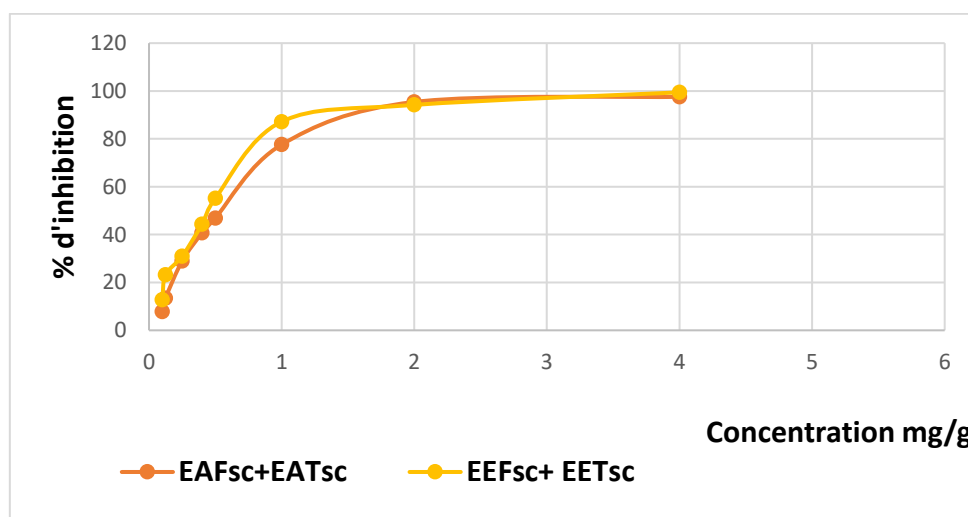


Figure 32 : Les pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait (EAF_{sc}+EAT_{sc}), (EEF_{sc}+EET_{sc}).

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

Les valeurs de IC₅₀ et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 30 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 33.

Tableau 30 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits (EAF_{sc}+EAT_{sc}), (EEF_{sc}+EET_{sc}).

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EAF _{sc} +EAT _{sc}	0.55	1.82
EEF _{sc} +EET _{sc}	0.45	2.22

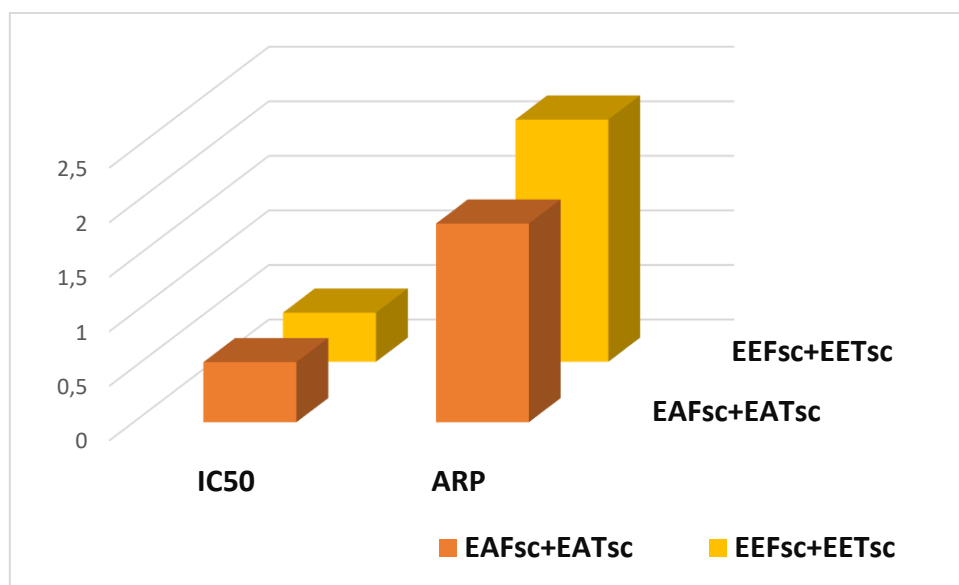


Figure 33 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits (EAF_{sc}+EAT_{sc}), (EEF_{sc}+EET_{sc}).

D'après les résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'activité antiradicalaire de la combinaison des extraits éthanoliques de la partie feuilles avec la partie tiges de l'espèce *Satureja calamintha* est plus grande que celle des extraits d'acétate d'éthyles des mêmes parties.

II.4. Détermination de l'activité antioxydante des mélangés des extraits de la partie aérienne des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante des extraits acétate d'éthyle et éthanolique des mélanges des parties aériennes des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* sont regroupés dans le tableau suivant :

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

Tableau 31 : Variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits ($EAA_{sc}+EAA_{ai}$), ($EEA_{sc}+EEA_{ai}$).

Concentration (mg/ml)		0.1	0.125	0.25	0.4	0.5	1	2	4	5
$EAA_{sc}+EAA_{ai}$	Abs	0.726	0.714	0.674	0.626	0.563	0.431	0.290	0.07	+
	% Inh	19.06	20.40	24.86	30.21	37.24	51.95	67.67	92.20	+
$EEA_{sc}+EEA_{ai}$	Abs	0.804	0.786	0.666	0.626	0.354	0.291	0.178	0.071	+
	% Inh	10.36	12.37	25.75	30.21	60.53	67.55	80.17	92.10	+

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par les extraits acétate d'éthyle et éthanolique des mélanges des parties aériennes de deux espèce *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*, est illustré par la figure ci-dessous :

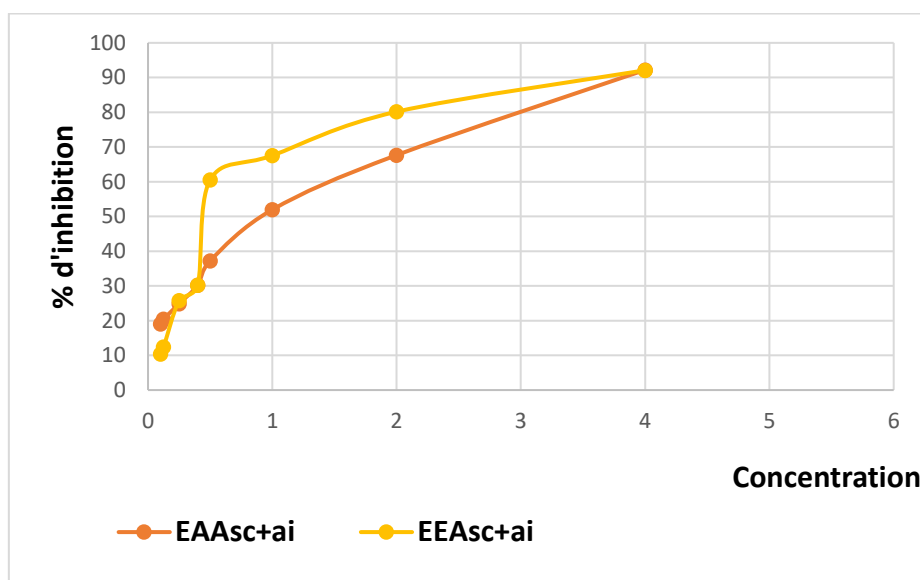


Figure 34 : Les pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits ($EAA_{sc}+EAA_{ai}$), ($EEA_{sc}+EEA_{ai}$).

Les valeurs de IC_{50} et de l'activité antiradicalaire ARP de ces extraits, sont indiquées dans le tableau 32 et représentés sous forme d'histogramme dans la figure 35.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

Tableau 32 : Les valeurs de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits (EAA_{sc}+EAA_{ai}), (EEA_{sc}+EEA_{ai}).

Composés	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
EAA _{sc} + EAA _{ai}	0.60	1.67
EEA _{sc} + EEA _{ai}	0.44	2.27

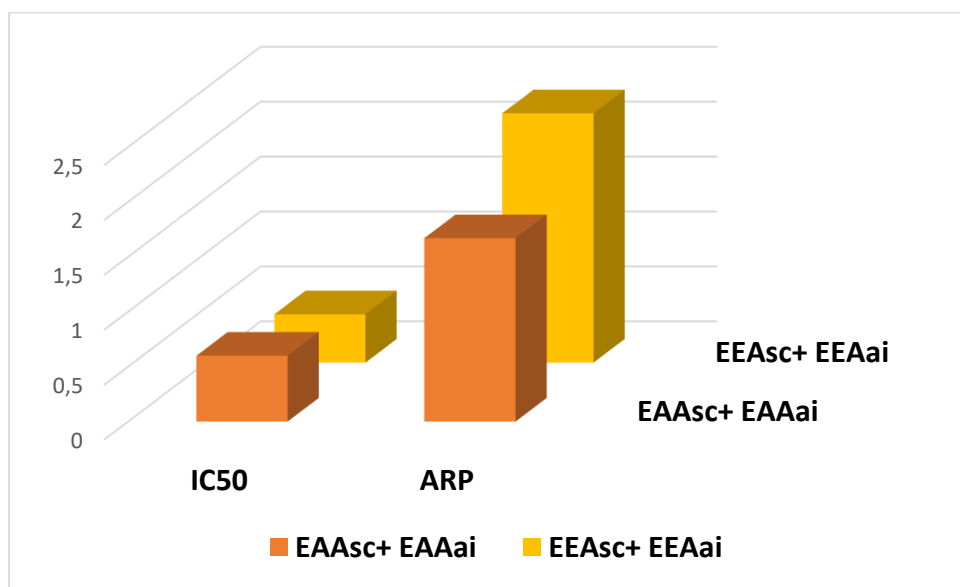


Figure 35 : Histogramme de l'IC₅₀ et l'ARP des extraits (EAA_{sc}+EAA_{ai}), (EEA_{sc}+EEA_{ai}).

L'étude de la combinaison des extraits de la partie aérienne des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva*, a montré que l'activité antiradicalaire de l'association des extraits éthanoliques est plus importante que celle enregistrée pour la combinaison des extraits d'acétates d'éthyles.

II.5. Détermination de l'effet de la combinaison des extraits :

Les résultats de l'association des différents extraits des deux plantes étudiées ; (EAF_{sc} + EAT_{sc}), (EEF_{sc} + EET_{sc}), (EAA_{sc} + EAA_{ai}) et (EEA_{sc} + EEAA_{ai}) sont présentés dans le tableau suivant.

Chapitre III : Détermination de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes *Satureja Calamintha* et *Ajuga Iva*. Etude de l'effet de synergie

Tableau 33 : Les valeurs de IC et les effets de la combinaison.

Mélange	IC	Effet
EAF _{sc} +EAT _{sc}	3.17	Antagonisme
EEF _{sc} +EET _{sc}	3.60	Antagonisme
EAA _{sc} +EAA _{ai}	2.43	Antagonisme
EEA _{sc} +EEA _{ai}	0.86	Synergie

D'après les résultats obtenus, nous concluons que l'association des extraits (EAF_{sc} + EAT_{sc}), (EEF_{sc} + EET_{sc}) et (EAA_{sc} + EAA_{ai}) a donné un effet antagonisme avec des valeurs de l'IC supérieurs à 1, tandis que la combinaison des extraits (EEA_{sc} + EEA_{ai}) a donné un effet synergique par une valeur de l'IC inférieur à 1.

En conclusion, l'effet de l'association des extraits des différentes parties de la même plante, ainsi que l'effet de l'association des extraits d'acétate d'éthyles des deux plantes est antagonisme, par contre, un effet de synergie est observé pour la combinaison des extraits éthanoliques des deux plantes *Satureja calamintha* et *Ajuga Iva*.

Conclusion générale

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps comme remèdes des maladies humaines puisqu'elles contiennent des composants chimiques de valeur thérapeutique. Selon l'OMS, plus de 80% de la population mondiale dépendent encore de la médecine traditionnelle pour prendre soin de leur santé.

Comme nous avons mentionné au début de cette recherche, notre objectif principal était l'étude phytochimique et l'évaluation biologique de deux plantes de la flore Algérienne, *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* poussant à l'état spontané dans la région de Constantine.

Le dégraissage par le n-hexane suivi par l'extraction par Soxhlet des différentes parties (aérienne, feuilles et tiges) de l'espèce *Satureja calamintha* et la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva*, en utilisant les solvants acétate d'éthyle et l'éthanol, nous ont permis d'obtenir des extraits avec des rendements qui diffèrent en fonction du solvant utilisé.

L'analyse par chromatographie sur couche mince a montré la présence d'un grand nombre de métabolites secondaires, tel que les flavonoïdes et les terpènes, dans nos extraits.

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a montré la présence de quantité importante de substances phénoliques dans tous les extraits, notamment dans les extraits d'acétate d'éthyle dont le taux le plus élevé est enregistré pour l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de *Satureja calamintha* (EAF_{sc}).

Le fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de *Satureja calamintha* (EAF_{sc}) par chromatographie sur colonne de gel de silice, nous a mené à recueillir 10 fractions. La chromatographie sur couche mince préparative de la fraction F₁, nous a permis d'isoler deux composés purs, qui ont été purifiés par chromatographie sur colonne.

Grâce aux réactions de caractérisations des flavonoïdes, ainsi que l'analyse par spectrophotométrie UV-Vis, nous avons pu montrer que ces deux composés possèdent la structure des flavonoïdes.

Les résultats de l'activité antioxydante réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, ont montré que les extraits acétate d'éthyle et éthanolique de la partie feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* présentent le pouvoir antiradicalaire le plus élevé suivi de l'extrait acétate d'éthyle de la partie aérienne puis de l'extrait éthanolique

des tiges de la même plante. Cependant, l'extrait éthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Ajuga iva* présente l'activité antioxydante la plus faible.

En ce qui concerne l'étude de l'effet de synergisme, nous avons constaté que la seule combinaison qui a donné un effet synergique, est celle préparée à partir du mélange des deux extraits éthanoliques de la partie aérienne des deux espèces étudiées.

Pour conclure, cette étude a montré que les espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* sont riches en métabolites secondaires, notamment en composés phénoliques. Une exploitation de leurs propriétés antioxydante et effet synergique implique une recherche plus poussée de ses principes actifs.

En fin, les résultats de cette étude sont considérés comme contribution à l'étude phytochimique et biologique des deux espèces *Satureja calamintha* et *Ajuga iva* d'une part, et une mise au point du Protocole expérimental de l'étude de l'activité antioxydante synergique d'autre part.

Références bibliographiques

- [1] Amarti F., El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A., Khia A., Guedira A., Rahouti M., Chaouch A., **2011**. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc, *Springer Link*, 9, 49-157.
- [2] Moreno S., Scheyer T., Romano C-S., Vojnov A-A., **2006**. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res*, 40, 223–231.
- [3] Sherwin E-R., **1990**. In Food Additives, Ed. by L. Branen. Marcel Dekker New York, 139-193.
- [4] Wichi H-P., **1988**. Enhanced tumor development by butylated hydroxyanisole (BHA) from the prospective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium, *Food Chem Toxicol*, 26, 717-723.
- [5] Bougandoura N., Bendimerad N., **2012**. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq, *Nature & Technologie*, 14-19.
- [6] Judd., Campbell C-S., Kellogg E-A., Steven P. **2000**. Botanique systématique : Une perspective phylogénétique, 1ère Ed Paris et Bruxelles, 467.
- [7] Botineau M., **2010**. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Ed TEC&DOC, Lavoisier Paris, 1021-1043.
- [8] Guignard J-L., **1998**. Abrégé botanique, 2ème Edition Masson Paris, 199.
- [9] Hanson J-R., **1997**. in Terpenoids and Steroids Specialist Periodical Reports, The chemical Society, London, and Nat. Prod. Reports, 1984-1995, 1-12.
- [10] Al-hazimi H-M-G., Mianam G-A., **1986**. *Chem. J. Soc. Pak*, 8, 549.
- [11] Lu Y., Foo L-Y., **2002**. Polyphenolics of salvia, *Phytochemistry*, 59, 117-40.
- [12] Esquivel B., Calderon J-S., Sanchez A-A., Ramamoorthy T-P., Flores E-A., Dominguez R-M., **1996**. Progrès récents en phytochimie et activité biologique des Labiatae mexicains, *Rev. Latinoamer. Quim*, 24, 44-64.

- [13] Ulubelen A., Topcu G., **1998**. Etude sur la chimie, la structure et la chimie des produits naturels, *Elsevier science*, 20, 659.
- [14] Joachim W., Kadereit F., **2004**. Flowering plants dicotyledons, Springer verlag , Ed Berlin Heidelberg ,478.
- [15] Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi M-S., Ghorbani A., **2005**. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, *Iran J. Pharm. Res.* 2, 63-79.
- [16] Zegorka G., Glowniak K., **2001**. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the lamiaceae family. *J.Pharm.Biomed.Anal*, 26, 176-189.
- [17] Vârban D-I., Duda M., Vârban R., Muntean S., **2009**. Research Concerning the Organic Technology for Satureja Hortensis L. Culture. *Bulletin UASVM Agriculture*, 66(2), 225-229.
- [18] Cantino P-D., Harley R-M., Wagstaff S-J., **1992**. Genera of Labiatae: Status and Classification. In R.M. Harley & T. Reynolds (Eds.), *Avances in Labiatae Science*. Kew: *Royal Botanical Gardens*, 511–522.
- [19] De Pooter H-L., Schamp N., **1986**. Comparaison of the volatils composition of some Calamintha satureja species. In : *Progress in essential oil research*. Ed. EJ. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. 139-150.
- [20] Ildiko B., Maria-Loredana S., Dominca R., Simona ., Codruta C., **2009**. HPTLC quantification of some flavonoids in extracts of Satureja hortensis L. obtained by use of different techniques. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 22(1), 25-28.
- [21] Vârban D-I., Duda M., Vârban R., Muntean S., **2009**. Research Concerning the Organic Technology for Satureja Hortensis L. *Culture.Bulletin UASVM Agriculture*. 66(2), 225- 229.
- [22] Satrani B., Arah A., Fechtal M., Talbi B., Chaouch A., **2001**. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Satureja calamintha et Satureja alpina du Maroc, *Annales des falsificationsde l'expertise chimique et toxicologique*, 94(956), 241-250.

- [23] Ech-chahad A., Farah H., Bouyazza L., **2013**. Composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc, *Afrique SCIENCE*, 09(3),77-81.
- [24] Francisco A., Tomas-Barber N., Syed Z-H., Maria I-G., **1988**. The Distribution of Methylated Flavones in the Lamiaceae, *Biochemical Systematics and Ecology*, 16, 43-46.
- [25] Gohari A-R., Saeidnia S., Gohari M-R., Moradi-Afrapoli F., Malmir M., Hadjiakhoondi A., **2010**. Bioactive flavonoids from *Satureja atropatana* Bonge. *Natural Product Research*,23, 609-14.
- [26] Gören A-C., Topçu G., Bilsel G., Bilsel M., Wilkinson J-M., Cavanagh-Heather M-A. **2004**. Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation thermal desorber and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity. *Natural Product Research*,18, 189-195.
- [27] Mihajilov K., Radnović D., Kitić D., Zlatković B., Ristić M., Branković S., **2009**. Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil. *Cent. Eur. J. Biol.*, 4, 411-416.
- [28] Michaelakis A., Spiridon A-T., Georgios K-G., Nikos G-C, **2007**. Essential Oils of *Satureja* Species : Insecticidal Effect on *Culex pipiens* Larvae (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 12, 2567-2578.
- [29] Hajhashemi, V., Zolfaghari B., Yousefi A.,**2012**. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Satureja hortensis* seed essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. *Med Princ Pract*, 21, 178-182.
- [30] Amanlou M., Dadkhah F., Salehnia A., Farsam H., Dehpour A-R., An anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Satureja khuzistanica* Jamzad extract. *J Pharm Pharm Sci*, 8, 102-106.
- [31] Sadeghi I., Yousefzadi M., Behmanesh M., Sharifi M., Moradi A., **2013**. In vitro cytotoxic and antimicrobial activity of essential oil from *Satureja intermedia*. *Iran Red Crescent Med J*, 15, 70-74.

- [32] Gohari A-R., Hadjiakhoondi A., Sadat-Ebrahimi E., Saeidnia S., Shafiee A., **2005**. Cytotoxic terpenoids from *Satureja macrantha* CA Mey. *DARU J Pharm Sci*, 13, 177-181.
- [33] Cetković D-D., **2007**. Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts. *Int. J. Mol. Sci*, 8(10), 1013- 1027.
- [34] Mchedlishvili D., Kuchukashvili Z., Tabatadze T., Davitaia G., **2005**. Influence of flavonoids isolated from *Satureja hortensis* L. on hypercholesterolemic rabbits. *Indian Journal Pharmacol.*, 37 (9), 259-260.
- [35] Salehi.Arjmand H., Mazaheri D., Hadian J., Majnoon H-N., Ghorbanpour M., **2014**. Essential oils composition, antioxidant activities and phenolics content of wild and cultivated *Satureja bachtiarica* Bunge plants of Yazd origin. *J Medicinal Plants*, 13, 6-14.
- [36] Simonpoli P., **1993**. Arburi, arbe, arbigliule : Savoirs populaires sur les plantes de Corse. Ajaccio, Parc naturel régional de la Corse.
- [37] Ordóñez A., Baldoncini S., Berioli G., Chaves G., Bled L., Massuh Y., Liébana C., Torres L., Ojeda M., **2006**. Domestication of native aromatic plants. *Mol. Med. Chem.* 11, 58-9.
- [38] Speck B., Ursula., Fotsch C., **2008**. Connaissance des herbes sarriette. EGK Caisse de Santé, série de brigitte speck, 5.
- [39] Bougandoura N., **2011**. Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha* ssp *nepta* (nabta) et *Ajuga iva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie, Thèse de doctorat université ABOU BEKR BELKAID TELEMEN.
- [40] Baba.aissa F., **1999**. Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie, Ed. Librairie modern Ruiba .p 46-47
- [41] Ech.chahaid A., Farah H., Bouyazza L., **2013**. Composition chimique de l'huile essentielle de *satureja calamintha* (L) Scheele du Maroc, *Afrique Science*, 9, 77-81.
- [42] Cherrat L., Espina L ., Bakkali M., Pagán R., Laglaoui A., **2014**. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula*

stoechas and Satureja calamintha Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 221–229.

[43] Escudero J., López J-C., Rabanal R-M., Valverde S., **1985**. Métabolites secondaires des espèces de Satureja Nouveau triterpénoïde de Satureja acinos, *Journal of Natural Products*, 48 (1), 128-131.

[44] Bougandoura N., Bendimerad N., **2012**. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp.Nepeta (L.) Briq, *Nature & Technologie*, 09 , 14-19.

[45] Severina P., Silvia G., Simona P., Nadine K., San-Po P., Sabina M., Rudolf B., Pietro M., **2015**. Seasonal variation in phenolic composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of Calamintha nepeta (L.) Savi, *Food Research International*, 69, 121-132.

[46] Labiod R., **2016**. valorisation des huiles essentielles et des extraits de satureja calamintha : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de doctorat université BADJI MOKHTAR-ANNABA.

[47] Bensouici C., Benmerache A., Chibani S., Kabouche A., Abuhamdah S., Semra Z., Kabouche Z., **2013**. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of Satureja calamintha ssp. Sylvatica from Jijel, Algeria. *Der Pharmacia Lettre*, 5 (2), 224-227.

[48] Kerbouche L., Hazzit M., Baaliouamer A., **2013**. Essential Oil of Satureja calamintha subsp. nepeta (L.) Briq. from Algeria: Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activities, *J Har Krishan Bhalla & Sons*, 3(4), 266-272.

[49] Bouanane N., Gamgani S., **2017**. Evaluation de quelques activités biologiques des huiles essentielles d'une plante médicinale, Mémoire de fin d'études, Université M'hamed Bougara de Boumerdes.

[50] Bouslami Kh., **2017**. Etude de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle et des extraits de l'espèce Satureja calamintha (lamiaceae), Mémoire de fin d'études, université SAAD DAHLEB-Blida 1.

- [51] Israili Z-H., Youssi B., **2009**. Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*, *Pak J PharmSci*, 22, P 425-462.
- [52] Ghedira K., Chemli R., Richard B., Zeches M., Le-Men-Olivier L., **1991**. Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle de Tunisie : étude des parties aériennes d'*Ajuga iva* (L. Scherb, *Plantes médicinales et phytothérapie*, 25, P 100-111.
- [53] El-Hilaly J., Lyoussi B., Wiblo M., Morel N., **2004**. Vaso relaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta, *journal of ethnopharmacology*, 93, P 69-74.
- [54] Cheng D-M., Yousef G-G., Grace M-H., Rogers R-B., Gorelick-Feldman J., Raskin I., Lila M-A., **2008**. Production in vitro de phytoecdystéroïdes améliorant le métabolisme à partir de *Ajuga turkestanica*, *Culture de cellules, de tissus et d'organes végétaux*, 93 (1), 73-83.
- [55] Khomdram S-D., Singh P.K., **2011**. Composés polyphénoliques et piégeage de radicaux libres dans huit herbes Lamiacées du Manipur, *journal of korean nature*, 3, 108 – 113.
- [56] Zafar H-I., Badiâa L., **2009**. Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(4), 425-462.
- [57] Kayani W-K., Dilshad E., Ahmed T., Ismail H., Mirza E., **2016**. Évaluation de *Ajuga bracteosa* pour ses activités antioxydantes, anti-inflammatoires, analgésiques, antidépressives et anticoagulantes, *BMC médecine complémentaire et alternative*, 16 (1), 852-693.
- [58] Tafesse T-B., Hymete A., Mekonnen Y., Tadesse M., **2017**. Activité antidiabétique et criblage phytochimique d'extraits de feuilles de *Ajuga remota* Benth sur des souris diabétiques induites par l'alloxane, *BMC médecine complémentaire et alternative*, 17(1), 106-118.
- [59] Saida M., Lamjed B., Amina B., Rim S., Soumaya H., Salem E., **2018**. Activités biologiques et phytocomposés du nord-ouest algérien extraits d' *Ajuga iva* (L): identification partielle de la fraction antibactérienne, *Microbial Pathogenesis*, 121, 173-178.

- [60] Breschi M-C., Martinotti E., Catalano S., Flamini G., Morelli I., Pagni A-M, **1992**. Activité vasoconstrictrice du 8-O-acétylharpagide de *Ajuga reptans*, *journal of naturel product*, 55(8), 1145 – 1148.
- [61] Yousaf T., Rafique S., Wahid F., Rehman S., Nazir A., Rafique J., Shah S-M., **2018**. Profil phytochimique et activité antivirale de *Ajuga bracteosa*, *Ajuga parviflora*, *Berberis lycium* et *Citrus citron* contre le virus de l'hépatite C, *Pathogenèse microbienne*, **118**, 154-158.
- [62] Chen H., Tang B-Q., Chen L., Liang J-Y., Sun J-B, **2018**. Les diterpènes et phytoecdystéroïdes néo-clérodanes d'*Ajuga decumbens* Thunb et l'évaluation de leurs effets sur la cytotoxique, la génération d'anions superoxydes et la libération d'élastase in vitro, *Fitoterapia*, 129, 7-12.
- [63] Hsieh C-W., Ko W-C., Ho W-J., Chang C-K., Chen G-J, Tsai J-C., **2016**. Effets antioxydants et hépatoprotecteurs de l'extrait d'*Ajuga nipponensis* par extraction assistée par ultrasons, *Asian Pacific Journal de médecine tropicale*, 9 (5), 420–425.
- [64] Delazar A., Delnavazi M-R., Yassa N., Shiva P., Delazar N., Lutfun, N., Satyajit D., Sarker., **2012**. Essential oil composition and isolation of free- radical-scavenging phenolic glycosides from the aerial parts of *Ajuga chamaepitys* growing in Iran, *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 22(2), 299-305.
- [65] Abhishek V., Harpreet K., **2011**. Chemical investigation of medicinal plant *Ajuga bracteosa*, *J Nat Prod Plant Resour*, 1 (1), 37-45.
- [66] Movahhedina N., Zenginb G., Bahadori M., Sarikurkcud C., Bahadori S., Dinparast L., **2016**. *Ajuga chamaecistus* subsp. *scoparia* (Boiss.) Rech.f.: A new source of phytochemicals for antidiabetic, skin-care, and neuroprotective uses, *Industrial Crops and Products*, 94, P 89-96.
- [67] Camps F., Coll J., Dargallo O., **1984a**. neo-Clerodane dit-erpenoids from *Ajuga pseudoiva*, *Phytochemistry*, 23, 387–389.

- [68] Malakov P., Papanov G-Y., **1998**. Areptins A and Areptins B : Two neoclerodane diterpenoids from Ajuga, *Phytochemistry*, 49(8), 2443-2447.
- [69] Ben-Jannet H., Chaari A., Mighri Z., Martin M-T., Loukaci, A., **1999**. Neoclerodane diterpenoids from Ajuga pseudoiva leaves, *Phytochemistry*, 52, P 1541-1545.
- [70] Baba-Aissa F., **2000**. Encyclopedie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba, 46.
- [71] Halimi A-K., **2004**. Les plantes médicinales en Algérie, Editions BERTI, Alger. 156-157.
- [72] Zafar H-I., Lyoussi B., **2009**. Ethnopharmacology of the plants of genus Ajuga. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22 : 425-462.
- [73] Ait-Youssef M., **2006**. Plantes médicinales de Kabylie. Edition IbisPress, Paris. 18
- [74] El-hilaly J., Tahraoui T., Israili Z., Lyoussi B., **2006**. Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of Ajuga iva L. whole plant in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* , 105, 441–448.
- [75] Taleb-Senouci D., Krouf H., Ghomari M., Lacaille-Dubois M., Bouchenak M., **2008**. Effect of an aqueous extract of Ajuga iva on glycaemia, reverse cholesterol transport and atherogenic ratios in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Proceedings of the Nutrition Society*, 67-194.
- [76] Chenni A., Yahia D., BourKott F., Prost J., Lacaille-Dubois M., BouchaK M., **2007**. Effect of aqueous extract of Ajuga iva supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet . *journal of Ethnopharmacology*, 109, 207-213.
- [77] Hamden K., Carreau S., Jamoussi K., Ayadi F., Garmazi F., Mezgenni N., Elfeki A., **2008**. Inhibitory effects of 1alpha, 25dihydroxyvitamin D3 and Ajuga iva extract on oxidative stress, toxicity and hypo-fertility in diabetic rat testes. *J. Physiol. Biochem.* 64(3), 231-239.
- [78] Bondm M-R., Al-Hillo Y., Lamara K., Ladjel S., Bruno M., Piozzi F., Simmonds M-S-J., **2000**. Occurrence of the antifeedant 14, 15-dihydroajugapitin in the

aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 1023-1025.

[79] Bondm M-R., Al-Hillo Y., Lamara K., Ladjel S., Bruno M., Piozzi F., Simmonds M-S-J.; **2000**. Occurrence of the antifeedant 14,15-dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 1023-1025.

[80] Wessner M., Champion B., Girault J., Kaouadji N., Saidi B., Lafont R., **1992**. Ecdystéroïdes de *Ajuga iva*, *Phytochemistry*, 31(11), 3785-3788.

[81] Coll J., **2007**. New minor ecdysteroids from *Ajuga iva* (Labiatae) and complete ¹H-NMR assignment of cyasterone. *Asociacion de Quimicos del Instituto Quimico de Sarria, Barcelona, Espagne*, 64(528), 242-250.

[82] Ghedira K., Chemli R., Richard B., Zeches M., Le-Men-Olivier, L., **1991**. Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle de Tunisie: étude des parties aériennes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*. 25, 100-111.

[83] Zahi M-R., **2011**. Contribution à l'étude chimique de l'huile essentielle d'*Ajuga Iva* subsp pseudoiva tests d'activités biologique, Mémoire de fin d'étude, Université SAAD DAHLEB de Blida.

[84] Boufridi A., **2011**. Etude chimique de l'huile essentielle d'*ajuga iva* détermination de l'activité antioxydante et tests d'activités biologiques, Mémoire de fin d'étude, Université SAAD DAHLEB de Blida.

[85] Bartosz G., **2003**. generation of reactive oxygen species in biological systems, *comments on toxicology*, 9, 5-21.

[86] Pourrut B., **2008**. implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat à l'institut national polytechnique de l'université de Toulouse spécialité : Ecotoxicologie. France.

[87] Favier A., **2003**. le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *L'actualité chimique*, 11, 108-115.

[88] Diallo A., **2005**. étude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* willd, (MYRTACEAE), Thèse de doctorat, Mali.

- [89] Mika A., Minibeyva F., Beckett R., Luthje S., **2004**. Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species, *Phytochemistry reviews*, 3, 173-193.
- [90] Arora A., Sairam R., Srivastava G., **2002**. Oxidative stress and antioxidative system in plants, *Current science*, 82, 173-193.
- [91] Njus D., Kelly P-M., **1991**. vitamins C and E donate single hydrogen atoms in vivo. *FEBS. Letters*, 284(2), 147-151.
- [92] Monaghan B-R., Schmitt F-O., **1932**. The effects of carotene and of vitamin A on the oxidation of linoleic acid, *J Biol Chem* 96, 387-395.
- [93] Hermes-Lima M., **2005**. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals, In K. B. Storey (Ed.), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. Hoboken, *J: Wiley-Liss*, 319-368.
- [94] Lahoul M., Amebah S., Zellaguin, A., Touil A., Rhouati S., Benayache F., Leghouchi E., Bousseboua H., **2006**. the interaction of plant flavonoids with rat liver mitochondria : relation between the anti and pro oxydant effect and flavonoids concentration, *thérapie*, 4, 347-355.
- [95] Chaabi M., **2008**. Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines, diplôme de doctorat en Pharmacognosie, 168-169.
- [96] Klibet F., **2016**. Impact du sélénium sur la cytotoxicité induite par l'arsenic chez le rat de la souche Wistar, diplôme de doctorat en Sciences en Biochimie. 10 .
- [97] Markham K-R., **1982**. Techniques of flavonoids identification , *Academic press London*, 144.
- [98] Bouakaz R., **2018**. Dosage et révélation des saponines totaux dans trois extraits de Clematis flammula, mémoire de fin d'étude, Université A.MIRA-Bejaïa.
- [99] German J-B., Walzem R-L ., **2000**. The health benefits of wine Annu ; *Rev. Nutr*; 20,561- 593.
- [100] McDonald S., Prenzler P-D., Antolovich M., Robards K., **2001**. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Olive Extracts , *Food Chemistry*, 73, 73-84.

[101] MAHDJAR S., **2013**. Contribution à l'Etude de la composition chimique de la plante *Matricaria pubescens* et à l'évaluation de son activité antioxydant, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA.

[102] Boutiti A., **2004**. Etude phytochimique de l'espece *Globularia Alypum l'* , Mémoire magister. Université Mentouri de Constantine. 11, 12,15.

[103] Antolovich M., Prenzler P-D., Patsalides E., McDonald S., Robards K., **2002**. Methods for testing antioxidant activity, *Analyst*;127,183-198.

[104] Burits, M., Bucar, F., **2000**. Antioxydant activity of *Neigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 14, 323-328.

[105] Xiaoyan Xu., Feng L., Xin Z., Pengcheng, L., Xin Z., Zhaoxi W., Dapeng L., **2014**. In Vitro Synergistic Antioxidant Activity and Identification of Antioxidant Components from *Astragalus membranaceus* and *Paeonia lactiflora*, *PLOS ONE*, 9, 1-9.

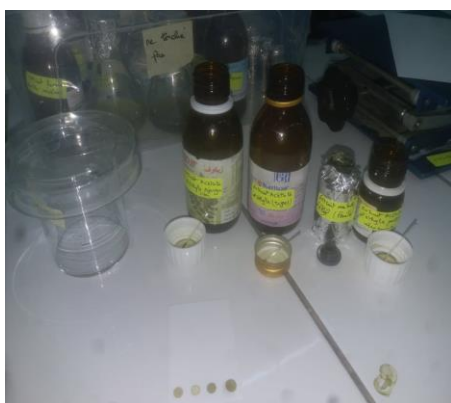
Annexes



Pesé de la matière végétale



Extraction par soxhlet



Extraits obtenus



Analyse des extraits par CCM

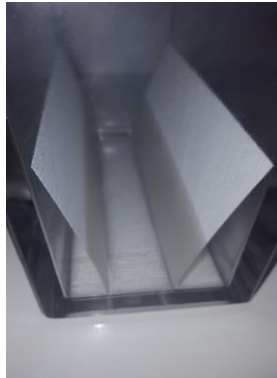
Résultats du dosage des polyphénols totaux



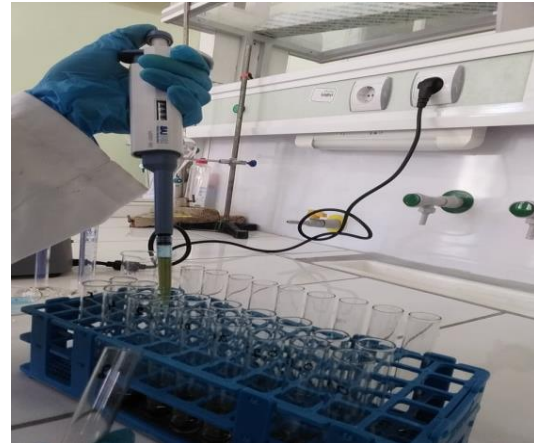
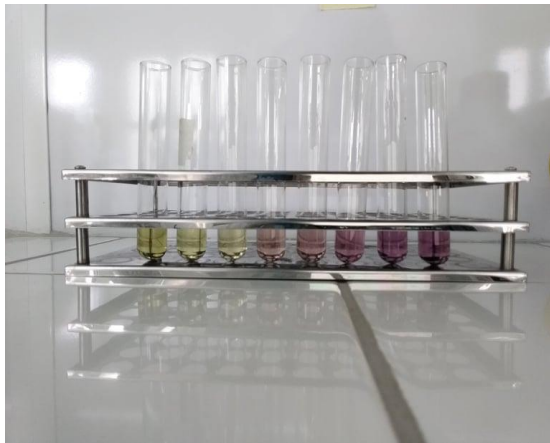
Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle feuilles de l'espèce *Satureja calamintha* (EAF_{sc}) par chromatographie sur colonne.

Fractions récoltées de la colonne chromatographique





Séparation de la fraction F₁ par CCM préparative



Détermination de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH