

Remerciement

Au terme de ce travail nous tenons à remercier :

Avant tout ALLAH, le tout puissant qui nous a donné le courage, la force et la volonté pour accomplir notre travail

On exprime d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à Mme AYACHI N. Promotrice de ce travail, pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses orientations, ses encouragements et pour l'effort consenti à nous faire profiter de ses connaissances.

Mm HAMMICHE d'avoir accepté de présider le jury

Mm BELGUENDOZ d'avoir bien voulu juger notre travail

Nous remercions également les techniciens des laboratoires de biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques pour leur précieuse contribution.

. Sans oublier de remercier nos familles et nos amis. Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A celle qui m'a donnée la vie, exemple de douceur et de tendresse qui a été toujours avec moi pour ces conseils et qui est toujours présente pour mes études et ces soucis de mon avenir. Merci de trimer sans relâche. Pour faire notre bonheur. Merci tout simplement ... d'être ma mère

-A mon père qui a toujours été à mes côtés, qui n'a jamais cessé de m'encourager et m'aider dans mes études, sa fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

-A vous mes chères parents, l'expression de mon amour interminable, mon immense gratitude et mon profond respect.

-A ma très chère sœur : Hadjer

-A mes très chers frères : Abed Rahmen et Mohamed

-A ma chère grand-mère qui m'a énormément soutenue moralement pour sa sagesse, tendresse et compréhension

- -A ma chère binôme Fatima avec qui j'ai passé de très bons moments

-A tous mes amis(es) et à toute la promotion 2016 /2017.

Meriem

Dédicace

A mes chers parents qui m'ont aidé à être ce que je suis, avec tant d'amour et d'affection.

A mes chers frères, Pour leur aide et leur soutien moral.

A mon binôme Meriem pour les bons moments qu'on a passé ensemble

A tout(e) mes amis (es); et tous ceux qui m'ont consacré temps, patience et conseils surtout dans les moments difficiles.

Spéciale dédicace à tous les filles et les garçons de promotion 2016/2017

A toute ma famille et à tous ceux qui ont contribué un jour à mon éducation, Je dédie ce modeste travail.

Fatima

Glossaire

Agent pathogène : un germe qui peut provoquer une maladie.

Analgésique ou Antalgique : C'est un médicament capable de diminuer la perception des sensations douloureuses sans entraîner la perte de conscience.

Antifongique : Plante qui empêche l'évolution des champignons ou les détruit.

Antiseptique : Un antiseptique est un désinfectant à usage corporel ; c'est une substance qui tue ou prévient la croissance des bactéries, champignons et des virus sur les surfaces externes du corps.

Carragénine : C'est un Mucopolysaccharide sulfaté extrait d'une algue marine.

Diclofénac : est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) dérivé de l'acide phénylacétique du groupe des acides arylcarboxyliques. Il possède les propriétés suivantes : activité antalgique, antipyrétique, anti-inflammatoire et inhibition de courte durée des fonctions plaquettaires. L'ensemble de ces propriétés est lié à une inhibition de la synthèse des prostaglandines.

Effet anti-ulcère : ces médicaments sont utilisés dans le traitement de l'ulcère gastroduodéal. Ils ont pour but de lutter contre la douleur due à une acidité gastrique trop forte ou contre les lésions de l'estomac, s'il est déjà endommagé par les sécrétions acides.

Gavage : Le gavage est une technique d'alimentation forcée pratiquée chez l'Homme et l'animal.

Œdème : Gonflement des tissus provoqué par une infiltration de liquide interne.

Pommade : préparation de consistance molle, pour l'usage externe, composée de la substance médicamenteuse associée à un corps gras qui sert d'excipient.

Laxatif : Produit accélère le transit intestinal.

Génotype : c'est l'ensemble ou une partie donnée de l'information génétique (composition génétique) d'un individu. Le **génotype** d'un individu est donc la composition allélique de tous les gènes de cet individu.

In vitro : (en latin : « dans le verre ») signifie un test en tube, ou, plus généralement, en dehors de l'organisme vivant ou de la cellule. Un exemple est la fécondation **in vitro** (FIV).

La bradycardie : La bradycardie fait partie des troubles du rythme cardiaque. Le mot bradycardie vient du grec « brady » qui signifie lent et « cardie », cœur. La bradycardie se caractérise par un ralentissement du rythme cardiaque, qui devient trop bas par rapport à la normale.

Glossaire

Le liber : ou phloème secondaire est produit par le cambium vers l'extérieur. C'est la zone où circule la élaborée. Le liber est constitué de tubes criblés, de leur cellule compagne, de parenchyme et de fibres.

Le phloème : est le tissu conducteur de la sève élaborée qui est une solution riche en glucides tels que le saccharose, le sorbitol et le mannitol chez les plantes vasculaires.

levuriformes : en biologie, désigne un microorganisme apparenté à une levure

Molécules bioactives : Molécules qui possèdent des propriétés biologiques ou des substances biologiquement actives dans un but curatif ou préventif.

mycéliennes : (Mycéliens) Le mycélium est la partie végétative des champignons ou de certaines bactéries filamenteuses comme les Actinomycètes. Il est composé d'un ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, appelés hyphes, que l'on trouve dans le sol ou le substrat de culture.

Œdème : C'est un gonflement anormal d'un tissu .

Phylogénique :Le terme phylogénétique provient de "phylogénèse" qui est l'évolution des espèces. Phylogénétique est donc employé pour décrire un phénomène relatif à l'évolution des espèces.

Sedative : Se dit d'une substance qui agit contre la douleur, l'anxiété, l'insomnie ou qui modère l'activité d'un organe.

Spasme : Contraction pathologique des muscles et spécialement des muscles lisses.

Superoxyde : L'ion **superoxyde**, noté O_2^- ou $O_2^{\cdot -}$ (la deuxième écriture ne fait pas apparaître explicitement le caractère radicalaire) est issu de la réduction monoélectronique du dioxygène (O_2)¹. L'ion superoxyde est paramagnétique.

Xylème : Le xylème ou tissu xylémique, est un constituant des tissus végétaux formé de l'association de vaisseaux, de cellules mortes ou vivantes de soutien et de cellules associées.

Herbacées :En botanique, une *herbacée* désigne toute plante vivace, annuelle ou bisannuelle qui n'a pas de tige ligneuse persistante au dessus du sol, ou dont l'aspect est de la nature de l'herbe verte par opposition à ce qui est ligneux. Ainsi, les **plantes herbacées** sont des plantes frêles non ligneuses, molles, qui ne produisent pas de bois,

Liste des tableaux

Tableau01 : Classification de l'espèce <i>Lavandula dentata</i> L.....	17
Tableau 02 : Classification de l'espèce <i>Mentha rotundifolia</i> L.....	21
Tableau 03 : Les souches microbiennes utilisées	35
Tableau 04 : Classement des zones d'inhibition.....	45
Tableau 05 : Les résultats du contrôle des paramètres organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Lavandula dentata</i> L. et <i>Mentha rotundifolia</i> L.....	72
Tableau 06 : Résultats d'identification de métabolites secondaires des plantes étudiées..	73
Tableau 07 : Concentrations inhibitrices à 50 % (IC50) des extraits testés.....	79
Tableau08 : la moyenne des crampes et le pourcentage de protection des souris traitées par les infusés des deux plantes et le produit de référence.	80

INTRODUCTION

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont toujours fait partie du savoir de base de toutes les sociétés humaines (Aquaron, 2005). Aujourd'hui, en cette ère de progrès rapide de la technologie médicale, les préparations à base de plantes appelées aussi « médecine alternative ou complémentaire » gagnent beaucoup de popularité (Qidwai et al. 2013), et l'intérêt accru pour leur utilisation a encouragé des études plus détaillées sur les ressources végétales (Vasile Bagiu et al. 2012).

La phytothérapie a une longue tradition et a déjà fait l'objet d'innombrables études. Certaines recherches et expériences ont permis d'isoler différents principes actifs végétaux, qui peuvent se trouver dans toute la plante ou se concentrer dans certaines parties, comme les bourgeons, les feuilles, les racines ou les fleurs, sous plusieurs formes: huile essentielle (HE), huile végétale, flavonoïde, tanins...etc.(Hans W, 2009)

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phylogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre à plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3 150 espèces végétales que compte notre pays (Mokkadem, 1999).

Ces plantes suscitent beaucoup d'intérêt particulièrement celles appartenant aux familles des lamiacées qui comportent de nombreuses plantes exploitées pour leurs huiles essentielles ou cultivées pour l'ornementation, mais aussi utilisé en médecine traditionnelle et en médecine moderne (Judd et al.2002).

A cet effet nous sommes intéressés aux espèces *Lavandula dentata* L. et *Mentha rotundifolia* L. dans le but d'apporter des éléments de connaissance chimique et biologiques relatives aux deux espèces.

Pour mener cette étude nous avons tracé les objectifs suivants :

- Détermination des différentes classes chimiques par le test de screening phytochimique des deux espèces étudiées.
- Etude botanique et histologique des parties aérienne des deux espèces étudiées

INTRODUCTION

- Evaluation de quelques activités biologiques : activité antimicrobienne, activité antalgique, activité anti-oxydante, activité anti-inflammatoire et hypoglycémiantes des extraits des deux espèces étudiées.
- Formulation galénique : sous forme de crème pour application locale à base des polyphénols et huiles essentielles des deux espèces étudiées

Notre manuscrit sera donc subdivisé en deux parties :

- La première partie de synthèse bibliographique sur les plantes étudiées, les activités biologiques et les techniques d'évaluation.
- La deuxième partie expérimentale divisée en deux chapitres :
Chapitre I : concerne la description du matériel et des méthodes utilisées.
Chapitre II : consacrée à l'interprétation et la discussion des résultats.

Enfin nous terminons par une conclusion générale.

I.1.Définition :

Une plante médicinale est une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**). Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. (**Elqaj et al., 2007**)

I.2.Les métabolites secondaires :**I.2.1.Définition des principes actifs :**

Le principe actif est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (**Pelt, 1980**). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou desséchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées : les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (**Benghanou, 2012**).

I.2.2.Principaux composés actifs des plantes :**➤ Les Phénols :**

Ce sont des composés chimiques qui peuvent être simples comme l'acide salicylique, ou complexes à l'instar des composés phénoliques.

Ces substances sont connues pour leurs propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires. (**Wolfgang ,2007**),

➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances généralement colorées ré pondues chez les végétaux ; on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (**Guigniard, 1996**).Ce sont des pigments polyphénoliques, principaux responsables de la coloration des plantes ainsi que de leurs fleurs et fruits. Ceux-ci présentent des actions antioxydant, antivirales, anti-inflammatoires et protectrices du foie. (**Wolfgang ,2007**).

➤ **Les tanins :**

Ces substances sont des composés chimiques responsables du goût amer de certaines plantes. Présentés en particulier dans l'écorce de certains arbres. Leurs principaux bienfaits pour l'organisme sont l'apaisement des brûlures, le renouvellement des cellules cutanées, la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma (**Wolfgang ,2007**),

➤ **Les huiles essentielles :**

Ce sont des essences obtenues par la distillation des feuilles, des sommités fleuries ou des rhizomes des plantes médicinales. Celles-ci renferment une partie importante des principes actifs de ces végétaux et possèdent de multiples propriétés comme l'huile de la lavande est antiseptique. (**Wolfgang ,2007**),

➤ **Les Alcaloïdes :**

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, à caractère alcalin, de structure complexe. Ces substances sont connues pour leurs propriétés antispasmodique, sédatif et anesthésique. (**Wolfgang ,2007**),

➤ **Les Anthocyanes :**

Des dérivés de l'acide cyanhydrique (produit de la combinaison de l'hydrogène avec le cyanogène). Ceux-ci présentent une action antiseptique. . (**Wolfgang ,2007**),

I.3.La phytothérapie :

I.3.1.définition :

Du grec **phytos**, «< plante>> la phytothérapie est une thérapeutique utilisant des parties (feuilles, fleurs, écorces, racines, graines, fruits/zeste...) des plantes médicinales aromatiques ou non aromatiques, ou leurs formes immédiatement dérivées excluant les principes actifs d'extraction pure isolés. Des nombreuses formes médicamenteuses sont proposées : tisanes, gélules, d'extrait ou de poudre, teinture mère, macérât, glycérimé, jus de plantes... elles présentent chacune des concentrations en principes actifs qui expliquent leur efficacité et leurs usages. (**Millet, 2013**)

La phytothérapie contemporaine est devenue une véritable science (**Bekhechi, et al. 2014**)

I.3.2.Types de phytothérapie

On distingue deux types de phytothérapie :

- La phytothérapie traditionnelle qui est une thérapie de substitution. Elle a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement (**Wichtl et Anton, 2009**).
- La Phytothérapie moderne est basée sur les avancées scientifiques et les recherches des extraits actifs des plantes. Une fois identifiés ces extraits actifs des plantes sont standardisés. Cette pratique conduit aux phyto-médicaments et selon la réglementation en vigueur dans les pays, la circulation de ces derniers est soumise à l'autorisation de mise sur le marché (**Monnier, 2002**).

II.1. Les huiles essentielles :

II.1.1. Définition :

Le nom « huile essentielle » a été conçu empiriquement : le terme « huile » soulignant le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances ; cependant, le terme « essentiel » se comprenant comme le caractère principal de la plante (**Bernard et Coll., 1988**).

Les huiles essentielles (HE) appelées aussi « essences » sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation (**Iserin et al., 2007**). La norme **AFNOR NF T 75-006** définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ». Les HE se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (**Guy, 1997**). Elles sont très utilisées dans l'industrie des produits cosmétiques, pharmaceutiques et agro-alimentaire (**Kaloustian et al., 2008**).

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 1 500 000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles groupent, en particulier les Lamiacées, les Myrtacées et les Lauracées (**Eckert et Knutson, 1999**).

II.1.2. Localisation des HE dans la plante :

Selon **Faye (1997)**; **Agnamey et al. (2002)** ; **Besombes (2008)**; **Bruneton (2009)**, les huiles essentielles sont retrouvées exclusivement chez les Spermaphytes, exemples: Conifères, Lamiacées, Myrtacées, Apiacées, Lauracées, Rutacées et Astéracées. Elles peuvent être localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices isolées (cas des Lauracées et Magnoliacées), mais se trouvent le plus souvent dans des organes sécréteurs spécialement différenciés et variables suivant les familles botaniques, par exemple: les poils sécréteurs des Lamiacées, les poches sécrétrices des Rutacées et les canaux sécréteurs des Conifères. La structure sécrétrice peut être externe, comme dans certaines espèces de Lamiacées, ou bien interne, comme chez différents *Eucalyptus* (Myrtacées).

II.1.3. Caractéristiques et propriétés physiques

D'après **Degryse et al., (2008)**, les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire, très inflammables et très odorantes. Elles sont liquides à température ambiante, volatiles et rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau à l'exception des huiles essentielles de girofle et de cannelle.

Les huiles essentielles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras, elles ne sont pas solubles dans l'eau, par contre, elles sont solubles dans les huiles grasses (meilleurs solvants), dans l'alcool de titre élevé, les graisses, l'éther et la plupart des solvants organiques.

II.1.4. Propriétés chimiques :

Les huiles essentielles représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces. A titre d'exemple, le menthol et le menthone pour les huiles essentielles de *Mentha piperita*. Généralement ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles (**Garnon, 1991**). La plupart des composants des huiles essentielles sont inclus dans deux groupes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées (**Calsamiglia et al., 2007**).

➤ Les terpénoïdes :

Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires des végétaux, plus de 15.000 composés différents sont décrits dans la littérature. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C_5H_8), communément appelée isoprène (**Calsamiglia et al., 2007**). Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en : monoterpénoïdes (C_{10}), sesquiterpénoïdes (C_{15}) et diterpénoïdes (C_{20}). Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (**Combrinck et al., 2007; Karray-Bouraoni et al., 2009**).

➤ **Les phénylpropanoïdes :**

Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine (Khenaka, 2011). Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (Calsamiglia *et al.*, 2007 ; Khenaka, 2011).

II.1.5. Principaux modes d'extraction :

Les méthodes d'extraction des principes odorants des matières végétales ont considérablement progressé grâce à la chimie moderne.

II.1.5.1.L'hydrodistillation « water distillation » :

Où le matériel végétal à extraire est en contact direct avec l'eau en ébullition, la vapeur d'eau produite entraîne avec elle les essences de la plante. Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat. (Baser et Buchbauer, 2010).

L'hydrodistillation est aujourd'hui la méthode d'obtention d'huiles essentielle la plus utilisée et la plus répandue ; elle est employée avec des plantes peu sensibles à l'élévation de la température (Gaucher *et al.*, 2001).

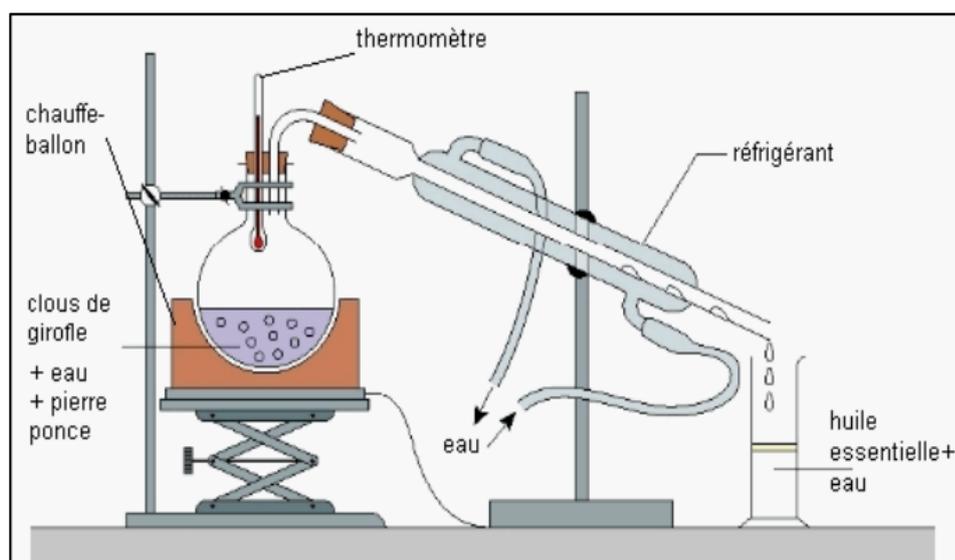


Figure 01: Montage de l'hydrodistillation simple (Willem, 2004).

II.1.5.2.L'entraînement à la vapeur « steam distillation » :

À la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (**Lucchesi, 2005**).

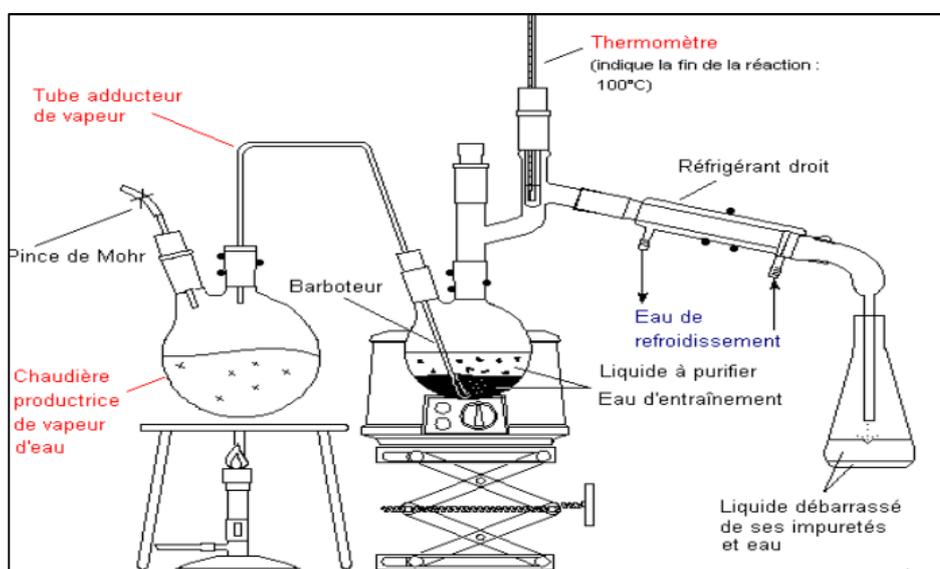


Figure 02 : Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (**Willem, 2004**).

II.1.5.3.L'enfleurage :

Procédé réservé aux huiles essentielles délicates qui ne supportent pas la chaleur. Les pétales fraîchement cueillis, sont étalés sur de la graisse sur des châssis en verre et remplacés toutes les 24 heures. Les huiles essentielles satureront progressivement la graisse. Le composé obtenu appelé pommade, est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation produit l'huile parfumée (**Bruneton, 1999**).

II.1.5.4.L'expression à froid :

C'est une extraction sans chauffage réservée aux agrumes. Le principe de ce procédé mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en huiles essentielles. Celles-ci ainsi

libérées sont entraînées par un courant d'eau. Une émulsion constituée d'eau et d'essence se forme. L'essence est alors isolée par décantation (**Willem, 2004**).

II.1.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

➤ En agroalimentaire :

Les huiles essentielles sont utilisées ici comme rehausseurs de goût et pour améliorer la saveur des produits alimentaires élaborés. Depuis peu, les industriels ont souhaité l'utilisation d'huiles essentielles comme conservateurs, au détriment des molécules de synthèse classiques couramment utilisées, telles que les parabènes..(**Kaloustian et Hadji-minaglou ,2012**)

➤ En pharmacie :

Ce sont principalement les propriétés antiseptiques et antifongiques qui sont reconnues par l'autorité sanitaire. Différentes spécialités pharmaceutiques sont sur le marché. La tendance actuelle purifie l'air atmosphérique dans les centres de soins (hôpitaux, cliniques) et aussi dans la maison individuelle par diffusion de l'huile essentielle dans l'air. Des travaux récents soulignent l'apport bénéfique des huiles essentielles aux infections nosocomiales bactériennes dont les souches sont résistantes aux antibiotiques utilisés traditionnellement. Souvent, les huiles essentielles sont rajoutées dans la formulation des spécialités pharmaceutiques, pour masquer le mauvais goût des médicaments et pour donner un caractère plus agréable à leur consommation. . (**Kaloustian et Hadji-minaglou ,2012**)

➤ En cosmétologie :

Les cosmétiques sont des produits du bien-être et non des médicaments. Ils ne nécessitent pas d'autorisation de mise sur le marché. Cependant, on peut constater des allégations excessives sur les bienfaits thérapeutiques des produits cosmétiques par la présence d'huiles essentielles incorporées. (**Kaloustian et Hadji-minaglou ,2012**).

➤ **Dans l'industrie chimique :**

L'huile essentielle est un mélange très complexe. Il est possible d'isoler des molécules d'intérêt, soit pour un usage ultérieur en tant que produit naturel présent sous une seule forme énantiomorphe, soit pour la réalisation d'hémisyntheses avec l'obtention finale de nouvelles molécules, économiquement plus rentables que la synthèse chimique classique qui présente des rendements faibles au bout de nombreuses étapes réactionnelles..(**Kaloustian et Hadjiminaglou ,2012**).

II.1.7. Toxicité des huiles essentielles :

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise. Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation (**Degryse et al., 2008**).

Les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée de la plante aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quel que soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. Paracelse a dit : "rien n'est poison, tout est poison, tout dépend de la dose "Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et/ou l'apparition d'effets secondaires indésirables (**Englebin, 2011**).

II.2. Les polyphénols :

II.2.1.Généralités sur Les Polyphénols :

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...etc. (**Bruneton, 1999; Lugasi et al, 2003**). En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (**Lugasi et al, 2003**).

Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (**King et Young, 1999; Tapiero et al, 2002**)

Une des caractéristiques des composées phénoliques est de montrer une répartition très inégale chez les différentes espèces végétales et, pour une même espèce, selon la variété et le stade d'évolution physiologique. Les variations sont également considérables selon la nature des tissus et des cellules composant le végétale (**Macheix et al, 2005**)

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (**Boizot et Charpentier., 2006**).

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques : celle de l'acide shikimique qui conduit, après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (**Knaggs, 2003**), et celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (**Bruneton, 1999 ;Nacz et Shahidi,2004**).

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans notre alimentation, ils sont à l'origine de l'astringence de certains aliments et de l'amertume que d'autres laissent sur la langue. Ils sont aussi en partie, responsables de la couleur mi-jaune mi-brune de certains fruits et légumes (**Anonyme, 2002**).

II.2.2. Les principales classes de polyphénols :

II.2.2.1. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al, 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Bruneton, 1999; Ghestem et al, 2001**).

Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (**Harborne et Williams.,2000**).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyrane (Skerget *et al*, 2005). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (Dacosta, 2003).

II.2.2.2. Les acides phénoliques :

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués :

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acidegallique.
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique. (Macheix *et al.*, 2006).

II.2.3. Rôle des polyphénols :

II.2.3.1. Chez la plante :

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Maillard, 1996).

De plus, Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la qualité Organoleptique des fruits et légumes, utilisés frais ou après transformation industrielle (Fukai *et al*, 1991).

II.2.3.2. Propriétés biologiques

D'après Bracke *et al.* (1991); Di Carlo *et al.* (1999) ; Halliwell (1994) ; Landolfi *et al.*(1984) ; Maillard (1996) et Ward (1994), les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-cancer. Ils ont également des actions positives sur l'obésité, le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson.

- ✓ **Effet antiallergique** : ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles
- ✓ **Effet anti-inflammatoire** : sous l'action de la cycloxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires.
- ✓ **Effet anti-ulcère** : Dans des expériences réalisées, il a été démontré que la Quercitine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques.
- ✓ **Effet anti-cancer** : la catéchine a montré une activité anti-tumorale. La croissance cellulaire peut être inhibée par des mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes et la réduction des radicaux libres.
- ✓ Les polyphénols comme antioxydants dont les principaux mécanismes sont: le piégeage direct des ERO; l'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR et la protection des systèmes de défense antioxydants.

III.1. Généralités sur les Lamiacées :

Selon (**Lazarin et Couplan 2010**), la famille des Lamiacées (Labiées, qui signifie "labié" en référence à la forme des lèvres des fleurs). Les Lamiacées constituent une large famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 7200 espèces et près de 236 genres répartis en 7 ou 8 sous-familles. Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et très rarement des arbres ou des lianes, largement répandus autour du monde mais particulièrement dans les régions tempérées et méditerranéennes.

Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige, les feuilles opposées, et décussées, et les fleurs hermaphrodites avec calices persistants entourant, à maturité, un tétrakène sont une combinaison de caractères différenciant par rapport aux autres Angiospermes. De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes aromatiques source d'huiles essentielles très utiles pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques. Parmi les nombreux genres de Lamiaceae on peut citer : *Origanum*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Melissa*, *Ocimum*, *Teucrium*, *Stachys*, *Thymus* (**Lazarin et Couplan, 2010**).

III.2. Généralités sur le Genre *Lavandula* :

D'après **Upson et Andrews (2004)** (in **Benabdelkader (2012)**) les lavandes font partie de la famille des Lamiacées. Le genre *Lavandula* se compose d'environ de 32 espèces qui sont dans la plupart d'origine méditerranéenne.

Les espèces appartenant au genre *Lavandula*, sont des sous arbrisseaux aromatiques vivaces à tiges ligneuses formant des touffes, à feuilles généralement étroites, linéaires grisâtres, à épis floraux plus ou moins denses, suivant l'espèce. Les fleurs sont bractéoles, avec un calice tubuleux à 5 dents inégales, la corolle est petite, de couleur bleue ou violacée, tubuleuse et bilabée. les 4 étamines et carpelles incluses. les fruits sont sous forme d'akènes (**Baba aissa, 2011**).

III.3.Espèce *Lavandula dentata* L. :

Figure 03 : Espèce de *Lavandula dentata* L.

a) Description botanique :**➤ Appareil végétatif :**

D'après **Lazarin et Couplan (2010)**, la lavande dentée est un sous arbrisseau vivace formant des touffes à tiges quadrangulaires ligneuses, feuillées à la base et longuement dénudées sous les épis floraux. Elle mesure entre 50 et 90 cm de hauteur. Ces feuilles finement dentées sur les bords vert clair et très aromatiques.

➤ Appareil reproducteur

Les fleurs de *Lavandula dentata* L. sont bleuâtres en épi court, dense, surmonté de bractées de même couleur (**Baba Aissa, 2011**).

Cette lavande fleurit deux fois dans l'année, une première fois au printemps (entre février et juin) puis une seconde fois au l'automne (entre septembre et novembre) (**Lazarin et Couplan,2010**).

b) Systématique :

- Noms communs

Lavandula dentata L. est connue en France par la lavande dentée (**Chevalier, 2013**). En Algérie elle est connue sous le nom de **Djaida** (جعيدة) et en Arabe L'helhal, Lekhzama (**BabaAissa, 2011**).

c) Classification :

D'après **APG III (2009)** *Lavandula dentata* L. est classée comme suit :

Tableau01 : Classification de l'espèce *Lavandula dentata* (**APGIII 2009**)

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Gamopétales</i>
SérieSuperovariées	<i>Tétracycliques</i>
Super ordre	<i>Tubiflorales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula dentata</i>

d) Répartition géographique et habitat :

D'après **Baba Aissa (2011)**, *Lavandula dentata* L. est une espèce méditerranéenne commune dans l'Atlas tellien occidental, originaire de sud-ouest de la méditerranée (Portugal, Espagne, Maroc). Elle se rencontre au niveau du littoral et les basses montagnes. La lavande dentée habite les garrigues, les lieux secs et les sols siliceux (silicicole, calcifuge) contrairement à la lavande vraie qui ne pousse qu'en terrain calcaire (**Mourre, 1923**). A l'état sauvage, cette labiée borde la Méditerranée à climat tempéré et doux, dans le sol est pauvre et rocheux (**Ait Fella, 2010**)



Figure 04: Lieu d'habitat de *Lavandula dentata* L.

e) Propriétés et utilisation :

L'infusé de la partie aérienne est utilisé contre les troubles digestifs, la lithiase rénale, les règles abondantes. C'est aussi une boisson tonifiante. Le décocte des feuilles est un réchauffant pour la femme après accouchement. Le décocté de la partie aérienne est utilisé pour traiter les maux d'estomac, hépatite, infection microbienne. Les tisanes des sommités fleuries sont utilisées contre la toux, l'asthme, la cystite, le ballonnement. (Anonyme 2005).

III.4. Généralité sur les menthes :

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

L'huile essentielle des espèces du genre *Mentha* présentes des activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antioxydants (**Zarir, 2012**).

III.5. Espèce *Mentha rotundifolia* L.



Figure 05: L'espèce de *Mentha rotundifolia* L.

Mentha rotundifolia L Hudson est synonyme de *Mentha suaveolens* ssp *suaveolens* Hudson, c'est une plante vivace appartient a la famille des lamiacées fréquemment retrouvée dans les bords des chemins et les endroits humides (**kokkini et papa georgiou,1988**).

Des travaux effectués sur 58 échantillons isolés d'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* L.poussant à l'état sauvage en corse suivis par une analyse statistique des données permet une identification claire des deux sous espèces (**Handriks et Vans os ,1976**).

Mentha rotundifolia L. dont le nom vernaculaire est <<timrssat>>, présente des feuilles aussi longues que larges, sessiles et des fleurs violette, elle peut être comme hybride de *Mentha longifolia* L. et *Mentha suaveolens* L.(**kokkini et Papa georgiou,1988**),(**Sutour ,2010**) et (**Loranzo et al.,2002**), alors que pour d'autre auteur *Mentha rotundifolia* L. et *Mentha suaveolens* L. correspondant à la même espèce (**Handrisk et Vans OS,1976**).

Le problème d'hybridation interspécifique et intraspécifique chez les menthes rende l'identification très complexe et plusieurs auteurs publié des rectification concernant cette espèce (**Sutour ,2010**).

Cependant cette plante a fait l'objet d'étude approfondie impliquant leur composition chimique et son utilisation thérapeutique (**Kokkini, Papa Georgiou, 1988**), (**Benchabane, 1991**).

a) Description botanique :

➤ **L'appareil végétatif :**

Mentha rotundifolia L. est une plante vivace à tige typique de *Labiées*, dressées dont les plus âgées sont légèrement lignifiées, son auteur est de 25 à 80 centimètre, l'ensemble de plante est recouvert de poils dense et blanchâtres la rend douce au toucher. Comme toutes les menthes elle dégage une odeur caractéristique rappelant celle de la pomme, les feuilles de couleur vert vif, sessile, ovales et presque ronde de 4.5 cm de long et 3cm de largeur (**Bouquesne et al., 1980**), (**Ounissi, 2003**).

➤ **L'appareil reproductif :**

Concernant les fleurs elles sont de couleur blanches à mauves claires de 5mm de long et elles se rassemblent en épis terminant les rameaux ; elles s'épanouissent de juillet à septembre, la fleur est de 5 mm de long. (**Bounihi A., 2016**).

b) Systématique :

Nom commun :

➤ **En Algérie :**

Différentes appellations lui sont attribuées telle que : timersitt , timesad , sa prononciation diffère légèrement d'une région à une autre :

- Cette plante est signalée sous le nom de timersudt (**Ounissi, 2003**).
- Dans les Aurès on attribue au nom scientifique *Mentha rotundifolia L.* le nom chawi de tamersout.
- Dans la région berbère on lui attribue le nom Morsot (**Doutte et Gauttier, 1913**)

➤ **Dans autre pays :**

Mentha rotundifolia L. possède plusieurs autres appellations à travers l'Europe tels que (**Benchabane, 1991**)

-France : menthe, menthe à feuille rondes ,menthe crèques, menthe du Nil

- allemand** : apfelminze, Bastard drossminze, Bwoles apfelminze, runde Minze
- Anglais** : appel mint, Roundes-leaves mint
- Italien** : Mentastro , Menthone
- Espagnole** : herba buena de burro
- Portugais** : Hortela' comun, hertala' de –cavalo, mentraastro
- Néerlandais** : Aakruid, Bosmunt, wittemunt, wollige munt
- Maroc** : Timidja, l'mersita

c) Classification :

Tableau 02 : Classification de l'espèce *Mentha rotundifolia* L. (APG III 2009)

Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Gamopétales</i>
SérieSuperovariées	<i>Tétracycliques</i>
Super ordre	<i>Tubiflorales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha rotundifolia</i>

d) Répartition géographique et Habitat :

Mentha rotundifolia L. se trouve particulièrement dans les milieux humides, les bords des eaux, des plaines et des montagnes à 2100 mètre, elle existe en Europe ,et l' Afrique du nord , dans tout la méditerranée sauf en chypre , en grande Bretagne et en artiche (**Page et Stearn ,1990**),(**Bouquesne et al.,1980**).



Figure 06 : Lieu d'habitat de *Mentha rotundifolia* L.

e) Propriétés et utilisation :

Comme toutes les plantes médicinales, *Mentha rotundifolia* L. possède des propriétés très marquantes (M'hamsadja, 1956) ;(EL Rhafarri et al.) ; (PAGE et Stearn ,1990), (Foskal 1775 in Tail).

-effets cardiovasculaires, activité hypotensives, vasodilatateurs, et bradycardies.

-propriétés antibactériennes et antifongiques.

-agit comme agent retardant la reproduction de vecteur de malaria *Anophéle septensis*

-agit comme bactéricides pour purifier l'eau, contre la nausée, les maux de tête, et les piqûres d'insectes.

-en Algérie les feuilles et les tiges sont consommés généralement en décoction par voie orale pour les troubles et les coliques digestives, contre les vertiges et le refroidissement, les feuilles séchées sont employé comme laxatif;(El rhafarri et al.)

-elle est utilisé également en culinaire, dans les boissons (alcools, liqueur, sirop, vinaigre), dans les condimentaires (grillade, salades, accompagnant des viandes, les dessert (accompagnant les glaces, des fruits et aromatisé les confitures),les sauces(Page et Streaan ,1990) .

-dans plusieurs régions de l'Aurès de l'Algérie, la plante est associée à la pâte afin de rehausser le goût de pain et de l'aromatiser. Ce dernier porte le nom berbère de Timrsitin , en arabe le pain de dumghan (M'hamsadja,1956) .

III.5. Rappel sur les activités étudiées :

III.5.1. L'activité antimicrobienne :

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec les micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux. Pour résister à ces microorganismes, nombreux moyens sont mis en jeu (Kaufmann, 1997).

III.5.1.1. Les principales substances antimicrobiennes :

❖ Les antibiotiques :

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs.

Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne-Berezin et Dellamonica,1995).

La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'obtenir les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments (Billing et Sherman, 1998).

❖ Les extraits des plantes aromatiques :

Produites comme métabolites secondaires par les plantes aromatiques, les extraits sont toujours utilisés comme substances aromatisants et parfumâtes en parfumerie, industries alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire, en aromathérapie et en industrie alimentaire (**Baudoux, 2000**). L'effet antimicrobien des différentes espèces d'herbes et d'épices est connu depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ceci a été confirmé par un certain nombre de travaux (**Ramdani, 1994 ; Oussala et al., 2006 ; Dimitrijevic et al., 2007 ; Mata et al., 2007**).

II.5.2. L'activité anti-oxydante :

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres (**Singh et al., 2005**).

II.5.2.1. Les antioxydants d'origine végétale :

Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés antioxydantes remarquables. Les fruits et les légumes contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

❖ Vitamine E :

La vitamine E est le nom commun utilisé pour les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité anti-oxydante variable (**Singh et al., 2005**).

❖ Vitamine C :

La vitamine C (acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique. La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase) (**Singh et al., 2005**).

❖ Les caroténoïdes :

Sont des pigments végétaux lipophiles, précurseurs de la vitamine A (**Singh et al.,2005**).

❖ **Les flavonoïdes :**

Peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant

(**Lahouel et al., 2006**)

II.5.3. L'activité anti-inflammatoire :

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé. Une régulation défectueuse peut engendrer des dommages irréversibles. Une réponse insuffisante conduit à une immunodéficience pouvant entraîner une infection secondaire ou même un cancer (**Nathan, 2002**).

III.5.3.1. Les principaux anti-inflammatoire :

❖ **Les anti-inflammatoire non stéroïdiens :**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoire, antipyrétique et antalgique. Actuellement Il ya plus de 50 différentes AINS sur le marché mondial

(**Nicolas et al., 2001**).

- Mode d'action et effets :

Toutes les molécules de cette classe ont, à peu de choses près, le même mode d'action.

Ce sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX) c'est-à-dire qu'ils bloquent son action.

La COX est une protéine, une enzyme qui intervient au sommet d'une cascade de réactions aboutissant à la formation de substances impliquées dans :

- L'inflammation (rougeur, douleur, etc.) ;
- La fièvre ;
- L'agrégation des plaquettes sanguines (à faible dose seulement) ;

- La protection de la muqueuse de l'estomac.

Cette COX existe sous plusieurs formes dont chacune a ses spécificités :

- **COX-1** est plutôt impliquée dans les phénomènes plaquettaires et stomacaux ;
- **COX-2** est spécifique de l'inflammation et de la fièvre. (**Doctissimomédicaments,2015**).
- **Les anti-inflammatoire stéroïdiens** :Les anti-inflammatoire stéroïdiens (ANS) constituent une vaste famille de médicament dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien (**Barnes, 1998**).
- **Les anti-inflammatoires d'origine végétale** :Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires. (**Barnes, 1998**).

III.5.4.L'activité hypoglycémiant :

III.5.4.1. Généralités sur le diabète :

Le diabète sucré Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang.L'hyperglycémie, ou concentration sanguine élevée de sucre, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins (**Kambouche et al., 2009**).

III.5.4.2. Classification du diabète sucré :

Depuis 1997, une nouvelle classification du diabète sucré a été proposée par un groupe d'experts sous la responsabilité de l'Association Américaine du Diabète (ADA) remplace celle élaborée en 1979 par le "National Diabètes Data group" et entérinée en 1980 par l'OMS (**Rodier, 2001**).

➤ Le diabète de type 1 :

L'hyperglycémie est due à une carence absolue en insuline, Cette forme de diabète comprend les cas attribuables à un processus auto-immun conduisant à la destruction auto-immune des cellules β des îlots de Langerhans (**Boumaza, 2009**).

➤ **Le diabète de type 2 :**

La carence en insuline est relative et l'hyperglycémie est liée à l'association, à des degrés divers, d'une insulino-résistance hépatique et périphérique et d'une insulino-pénie (Boumaza,2009).

➤ **Les diabètes dits "spécifiques" :**

Ou secondaires à une maladie pancréatique, à une endocrinopathie, iatrogène ou encore liés à des anomalies génétiques (Boumaza,2009).

➤ **Le diabète gestationnel :**

Correspond à un trouble ou à une intolérance au glucose apparaissant entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement (Boumaza,2009).

III.5.4.3. Définition d'un hypoglycémiant :

Les hypoglycémians sont des produits diminuant la glycémie (concentration de sucre sanguin). Il existe des hypoglycémians naturels comme le nopal (plante médicinale) ou encore le thé vert. Il existe également des médicaments hypoglycémians, utilisés principalement pour traiter le diabète (pathologie caractérisée par une concentration trop élevée de sucre, ou hyperglycémie). L'insuline, administrée en injections pour soigner le diabète insulino-dépendant, est par exemple un médicament hypoglycémiant. Les sulfamides, à prendre par voie orale, sont également des médicaments hypoglycémians. (Santé-Médecine, 2014)

III.5.5. L'activité antalgique :

III.5.5.1. Définition de la douleur :

La douleur est un processus physiologique dont le but est d'avertir la personne d'une menace de son intégrité physique d'où le terme nociception (Le Bars et al., 2001). Mais à cette simple transmission du message nociceptif de la périphérie vers les centres corticaux somatosensibles s'ajoute une composante émotionnelle et comportementale. D'où le caractère complexe et multifactoriel de la douleur. La définition actuelle de la notion de la douleur a été rendue officielle par l'I.A.S.P. (International Association for the Study of Pain): « la douleur est l'expression d'une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable liée à une lésion

tissulaire existante ou potentielle ou décrite en terme d'une telle lésion » (**IASP 2003**). Elle constitue un symptôme, le premier signal d'un phénomène pathologique. Par son intensité et sa durée, elle peut devenir, un véritable syndrome, retentissant sur les grandes fonctions organiques et capable à lui seul d'aggraver de l'état du malade (**Wright., 1973; Benoist et Misset., 1979**). Selon les physiologistes, la douleur est un phénomène pathologique résultant de l'activation des récepteurs nociceptifs par une variété de stimuli douloureux. Elle possède des récepteurs appelés nocicepteurs, des voies de conduction du message nociceptifs et des centres supérieurs (**Besson., 1990**).

Les systèmes nocicepteurs permettent aux organismes pluricellulaires de percevoir des événements extérieurs, mécaniques ou thermiques susceptibles de les endommager, la perception douloureuse joue le rôle d'alarme. Cependant, la manière dont une sensation douloureuse est ressentie en qualité et en intensité demeure subjective, sa perception et son intégration sont complexes et segmentées entre de nombreux étage du système nerveux, de plus c'est un phénomène sensoriel qui intègre une expérience personnelle complexe influencée par un certains nombres de paramètres psychologiques (**Melzack, 1997**).

III.5.5.2.. Types de douleur :

Plusieurs types de douleur peuvent être distingués selon le mécanisme sous-jacent (**Guirmand et Le Bars, 1996**). Sur le plan clinique, en fonction de l'origine de la douleur, on parle de:

- ✓ La douleur psychogène d'origine somatique sans cause identifiable pouvant inclure des facteurs neuropsychologiques ;
- ✓ La douleur nociceptive due à l'excitation par des facteurs potentiellement dangereux pour l'organisme des nerfs cutanés ou viscéraux ;
- ✓ La douleur neuropathique due à une lésion primaire, un dysfonctionnement ou une perturbation du tissu nerveux, périphérique ou central.

Sur le plan neurophysiologique, on distingue :

- La douleur aiguë : symptôme d'un traumatisme ou d'une pathologie, elle joue un rôle de signal d'alarme ou de protection ;
- La douleur chronique : dure au-delà de 6 mois, altère la personnalité, n'a pas de fonction biologique, c'est une maladie en elle-même.

Cette classification simple des douleurs fait l'objet d'adaptations constantes tenant compte des mécanismes physiopathologiques impliqués.

III.5.5.3. Physiologie de la douleur :

La douleur trouve son origine dans la stimulation de différents nocicepteurs correspondant aux extrémités des neurones sensoriels afférents dont le corps cellulaire est localisé dans les ganglions de la racine dorsale. Il est également nécessaire de rappeler que la douleur représente une modalité sensorielle complexe accompagnée de plusieurs aspects : affectifs et cognitifs et aussi associée à des réponses neurovégétatives (Almeida et al., 2004) ; d'où la complexité des différentes voies impliquées dans la transmission du message nociceptif. Nous avons décrit les différents systèmes neuroanatomiques impliqués dans la réception, le traitement et la transmission du message nociceptif afférent ; ce qui constitue des éléments fondamentaux pour la perception de la douleur.(Bounihi A.,2016)

III.5.5.4. Antalgiques :

Les antalgiques ou analgésiques sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent les sensations douloureuses sans provoquer une perte de conscience ou une dépression des autres sensations contrairement aux anesthésiques. Ils sont généralement répartis en eux :

- Les analgésiques morphiniques ou centraux atténuent ou suppriment la douleur d'une façon globale et leur point d'impact est central (thalamique et cortical).
- Les analgésiques non morphiniques. .(Bounihi A.,2016)

➤ Analgésiques morphiniques :

L'analgésie morphinique est sélective. Elle supprime les sensations douloureuses, sans altérer les autres sensations en préservant l'état de conscience. Autrement dit elle augmente le seuil de perception de tous les stimuli douloureux. La durée et l'intensité de l'analgésie sont en rapport direct avec la voie d'administration, la sensibilité individuelle et la dose (au delà d'un seuil les effets toxiques sont majorés). (Bounihi A.,2016)

La morphine soulage bien les douleurs sourdes, les douleurs viscérales et les douleurs aiguës (Touitou, 1993).

Pour expliquer le mécanisme d'action morphinique, il est admis qu'il y aurait une action directe au niveau médullaire sur la transmission de l'influx douloureux et une action indirecte au niveau du tronc cérébral par renforcement des contrôles inhibiteurs sur la conscience et la

sensation de la douleur, les régions les plus sensibles sont les structures du cerveau moyen (régions aqueducule et péri-ventriculaire ainsi que le noyau médullaire du raphé).**(Bounihi A.,2016)**

➤ **Antalgiques traditionnels :**

Dans le domaine des analgésiques, les plantes et leurs extraits continueront d'être la source de nouveaux médicaments. Elles sont composées de plusieurs molécules actives agissant souvent en synergie. Chaque famille chimique de principes actifs (flavonoïdes, alcaloïdes, etc.) peut avoir un effet pharmacologique différent. La classification par propriété médicinale n'est pas exclusive. Les plantes médicinales qui ont la propriété d'être antalgique ont pour fonction de soulager la douleur. La morphine fait partie des médicaments antalgiques, qui ont été isolée depuis des sources naturelles.) **(Bounihi A.,2016)**

Objectifs et lieu de stage :

Notre expérimentation s'est étalée sur la période allant du mois de février au mois de juillet, 2017. Notre travail consiste à l'étude phytochimique et botanique de la partie aérienne de deux plantes de la famille des Lamiacées (*Lavandula dentata* L. et *Mentha rotundifolia* L.) et l'évaluation de quelques activités biologiques.

La récolte des deux plantes ; la lavande denté et la menthe à feuilles rondes a été réalisée dans la région de Larhat de wilaya de Tipaza où nous avons récolté des plantes poussant à l'état spontané.

L'identification des deux espèces a été confirmée au niveau de département botanique de l'Institut Nationale des Sciences Agronomiques (INSA).

L'extraction des huiles essentielles, l'extraction des polyphénols totaux, le screening phytochimique et l'étude botanique ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques du Département de Biotechnologies, Faculté SNV, de l'université de Blida1.

L'étude des différentes activités biologiques faites durant ce travail a été réalisée dans les structures suivantes :

- ✓ Etude de l'effet antibactérien au niveau du laboratoire d'hygiène de Tipaza
- ✓ les activités anti-inflammatoire, hypoglycémiant et antalgique au niveau du laboratoire pharmacotoxicologie à SAIDAL, MEDEA
- ✓ Etude de l'effet anti-oxydant et la formulation galénique au niveau du laboratoire galénique du département de pharmacie, Université de Blida 1

I.1. Matériel :**I.1.1 Matériel non biologiques :****I.1.1.1. Appareillage :**

Les appareils utilisés sont présentés en Annexe 01.

I.1.1.2 Verrerie et accessoires :

La verrerie et les accessoires utilisés sont présentés en Annexe 02

I.1.2. Matériel biologique :

I.1.2.1.matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne des deux espèces *Lavandula dentata* et *Mentha rotundifolia* .L



Figure 07 :*Lavandula dentata* L
(Originale 2017)



Figure 08 : *Mentha rotundifolia* L.
(Originale 2017)

A. Récolte :

Les échantillons de la plante menthe à feuille rondes ont été prélevés au stade de feuillaison et les échantillons de la lavande denté ont été prélevées au stade de fleuraison ,(janvier ; février 2017) au niveau de la région de Larhat plus exactement dans station de Mejtita dans la wilaya de Tipaza.

🚩 La région de récolte :

La ville de LARHAT (الارهاط) Daira de Damous wilaya de Tipaza .compte 7359 habitants , située à une Latitude de 36.5587 ° et Longitude : 1.80411 et une Altitude de : 226 mètres .le climat est ±.méditerranéen , avec un été chaud (classification de KÖPPER).et un hiver humide et pluvieux .Les villes voisines : Damous : 8.7 km , Gouraya : 9.3 km , Aghbal : 8.2 km , Beni Melleuk : 16.4 km , Messelmoun :18 km .

La lavande dentée a été récoltée au niveau des hauteurs de Larhat dans la station de Mejtita située à une altitude de 129 m. En ce qui concerne la menthe à feuille ronde elle a été récoltée au niveau du Oued de la même station (voir les fig n° 10 et 11)



Figure 09: Carte géographique indique le lieu de récolte (Google mappe)

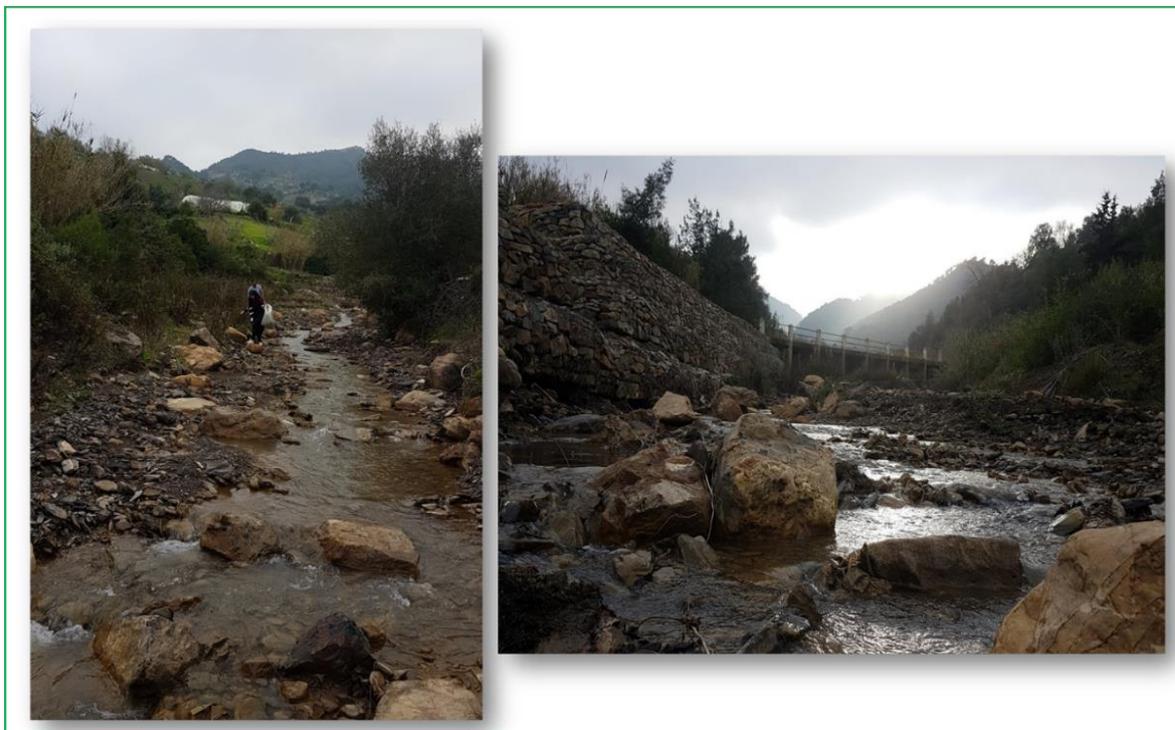


Figure10 : Station de récolte de *Mentha rotundifolia* L. (Originale 2017)

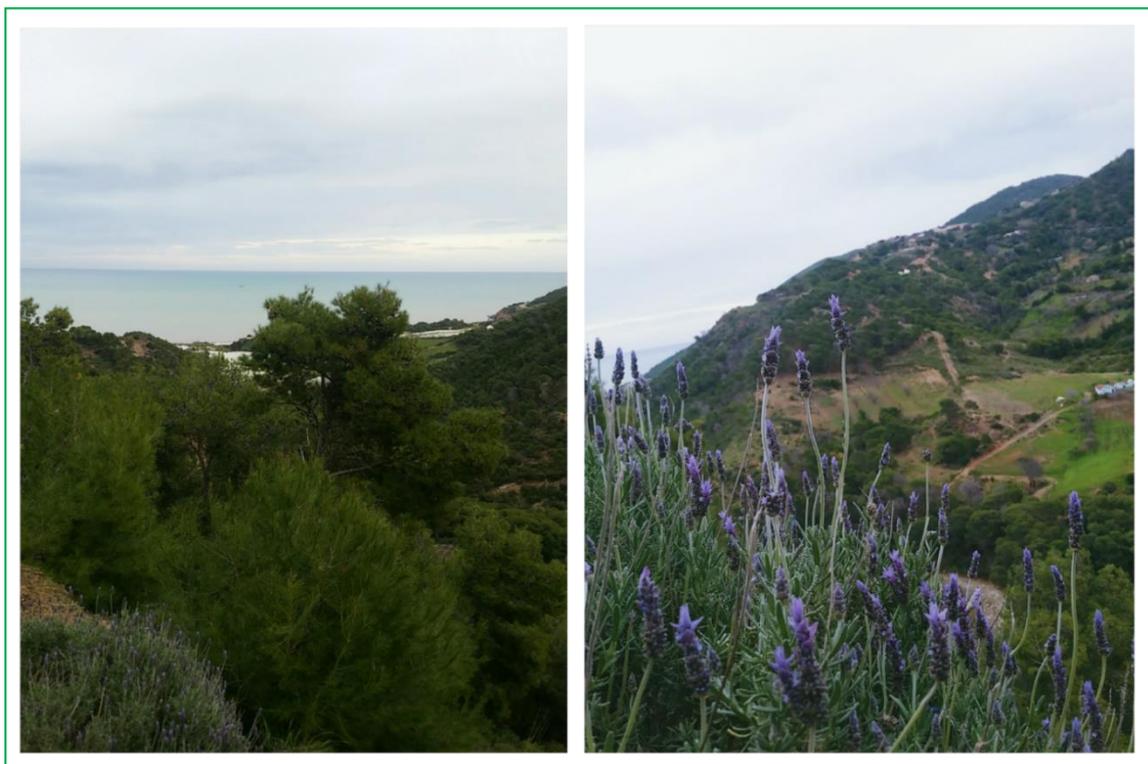


Figure 11: Station de récolte de *Lavandula dentata* L. (originale 2017)

B. Séchage et stockage :

Après la récolte, les échantillons ont été nettoyés et étalés sur du papier, pour séchage à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité. Ils sont étendus, sans superposition, et retournés de temps en temps afin d'éviter tout risque de fermentation, sous température ambiante, pendant 20 jours, afin de garder intactes les substances actives des feuilles et éviter la pourriture. Les échantillons ainsi séchés ont été misés dans des sachets en papier jusqu'au jour de l'extraction.



Figure 12 : Séchage des plantes récoltées (Originale 2017)

I.1.2.2.Souches microbiennes utilisées :

Le support Microbien utilisé est composé de quatre bactéries, trois champignons et une levure. fournis par le Laboratoire de microbiologie SAIDAL Médéa présentées dans le tableau ci-après :

Tableau 03 : Les souches microbiennes utilisées

Souche	Type	Référence
<i>Escherichia. Coli</i>	Bactérie à Gram négative	ATCC 8739
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie à Gram positif	ATCC6538
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie à Gram négative	ATCC9027
<i>Bacillus subtilis</i>	Bactérie à Gram positif	ATCC6633
<i>Aspergillus niger</i>	Champignon	Prélèvement biologique
<i>Aspergillus terreus</i>	Champignon	Prélèvement biologique
<i>Fusarium sp</i>	Champignon	Prélèvement biologique
<i>Candida albicans</i>	Levure	ATCC 10231

I.1.2.3.Matériel animal : le matériel animal est constitués de souris et de lapins de souche Albinos issus de l'élevage de l'animalerie de Saidal Médea présenté comme suit :

Souris Albinos : pour les activités anti-inflammatoire et antalgique

- Nombre : 40
- Poids : 18g à 24g.
- Sexe : mâle et femelle.

Lapins Albinos : pour l'activité hypoglycémiant

- Nombre : 6
- Poids : 4Kg
- Sexe : mâle et femelle.

Condition d'élevage des animaux de laboratoire :

Température : 25°C

Humidité : 60%

Alimentation : Granulé de l'O.N.A.B(Office Nationale de l'Alimentation du Bétail)

Eau : eau de robinet ad libitum .

I.2. Méthodes :

I.2.1. Identification des espèces étudiées :

L'identification botanique des deux espèces a été confirmée par la comparaison avec l'herbier du département de botanique à l'INSA (*Lavandula dentata* L. en 17 juin 1991 à wilaya de Mostaganem ; et *Mentha rotundifolia* L. de 29 juin 1988 dans la wilaya d'Alger)



Figure 13: L'herbier des plantes étudiées de l'INSA (Originale 2017)

I.2.2. Etude botanique :

❖ Technique de double coloration :

Coloration des parois : Pour la différenciation des tissus, nous avons utilisé la technique classique de double coloration (Langeron.1949), qui comporte les étapes suivantes :

1. Un traitement des coupes à l'hypochlorite de sodium pendant 15 minutes, afin de vider le contenu cellulaire, à l'exception des parois qui persistent.
2. Un rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 min.
3. Un traitement à l'acide acétique à 0.1% pendant 1 min, afin de neutraliser le pH et assurer la fixation des colorants sur les parois.
4. Un traitement au vert de méthyle pendant 10min, pour colorer les parois lignifiées et subérifiées.
5. Un rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 min.
6. Un dernier traitement avec le rouge congo pendant 10 min, pour colorer les parois pécto-cellulosiques.
7. Un dernier rinçage des coupes à l'eau de robinet.

Les coupes ont été placées entre lame et lamelle pour l'observation au microscope optique.

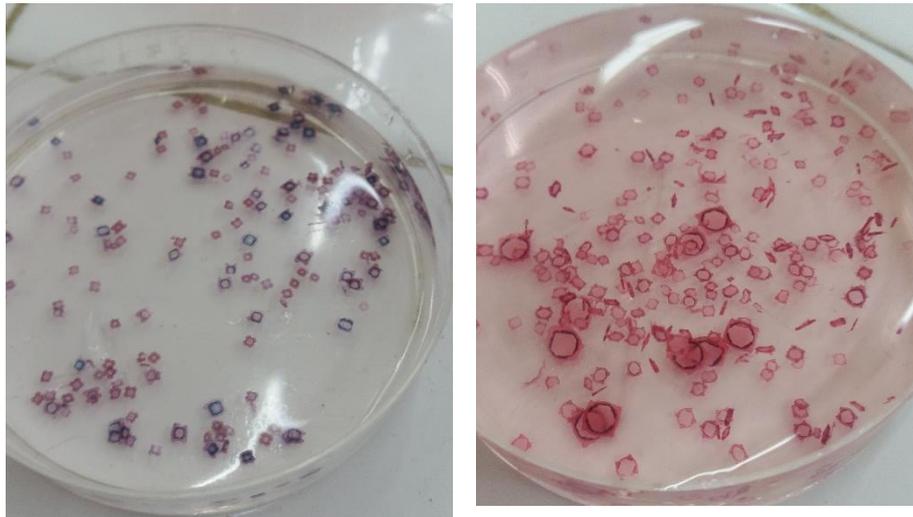


Figure14 : Les coupes colorées des tiges des deux plantes *Lavandula dentata* L. (à gauche) et *Mentha rotundifolia* L. (à droite). (Originale 2017)

❖ **Observation microscopique :**

Les coupes sont met entre lame et lamelle et vue sous le microscope optique

I.2.3- Détermination de la teneur en eau :

le protocole adopté et celui de (Zerrad, 2006). les parties aériennes de la plante fraîche sont pesées (PF) puis séchées à l'étuve à 75°C. Elles sont ensuite pesées toutes les 24h jusqu'à l'obtention d'un poids constant (PS).

La teneur en eau (T) est calculée comme suit :

$$T = (PF-PS)/PF \times 100$$

T : taux d'humidité en pourcent

PF : masse de l'échantillon avant séchage

PS : masse de l'échantillon après séchage dans l'étuve

I.2.4- L'extraction de l'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation.

I.2.4-1- Principe de la méthode :

La plante contenant l'huile essentielle recherchée est immergée dans un volume d'eau. Le tout, contenu dans un ballon, est porté à ébullition. En s'évaporant, l'eau entraîne les composés volatils de l'huile essentielle recherchée, les vapeurs se condensent ensuite dans le réfrigérant et s'écoulent à l'état liquide dans un récipient où elles forment le distillat. En général, le distillat fait apparaître deux phases non miscibles : les huiles essentielles et l'eau (Brunton, 1993)

I.2.4.2- Mode opératoire de l'hydrodistillation :

Nous avons pris 50 g de matière végétale sèche pour la lavande, et 30g pour la menthe que nous avons ciselée afin de faciliter son introduction dans un ballon de 1000 ml, rempli de 700ml d'eau distillée. Le ballon est chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon, pendant 2 heures, ceci engendre la formation de vapeurs. Ces vapeurs s'élèvent et passent dans un réfrigérant qui est constamment refroidi. Au contact des parois refroidies du réfrigérant, les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent à l'état liquide, goutte à goutte, dans le tube gradué de Clevenger, où elles forment le

distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles qui sont séparées l'une de l'autre par le robinet de Clevenger. Le volume du distillat obtenu est placé au réfrigérant.

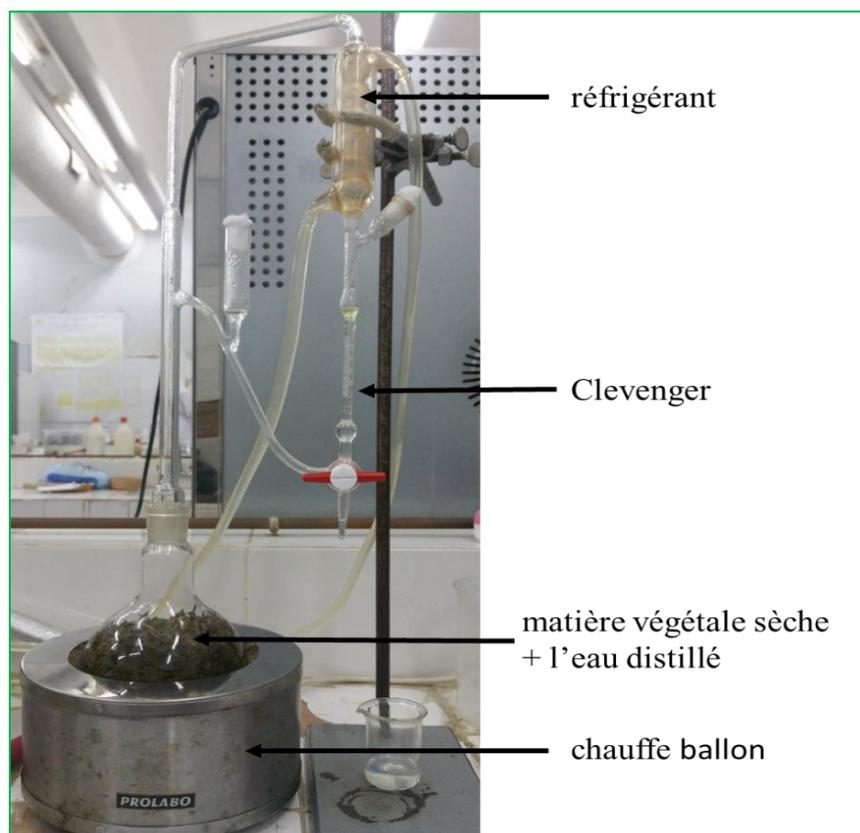


Figure 15 : Dispositif de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (Clevenger) (Originale 2017)

I.2.4.3-Le rendement en huile essentielle :

En se référant aux normes **AFNOR (2000)**, le rendement en huile essentielle est défini par le rapport entre la masse de l'huile essentielle (M_{HE}) et la matière végétale sèche (M_{VS}). Il est exprimé en % et donné par la relation ci-dessous :

$$R_{HE} = M_{HE} / M_{VS} \times 100$$

Dont :

R_{HE} : Rendement des huiles essentielles en %

M_{HE} : Masse de l'huile essentielle (g).

M_{VS} : Masse de la matière végétale sèche (g)

I.2.5. Préparation de l'infusé :

A 10 g de poudre végétale, sont ajoutés 100 ml d'eau distillée bouillante, laisser infuser pendant 10 min. Puis filtrer. Le filtrat est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée (**Bouyer,1996**). (figure 16)

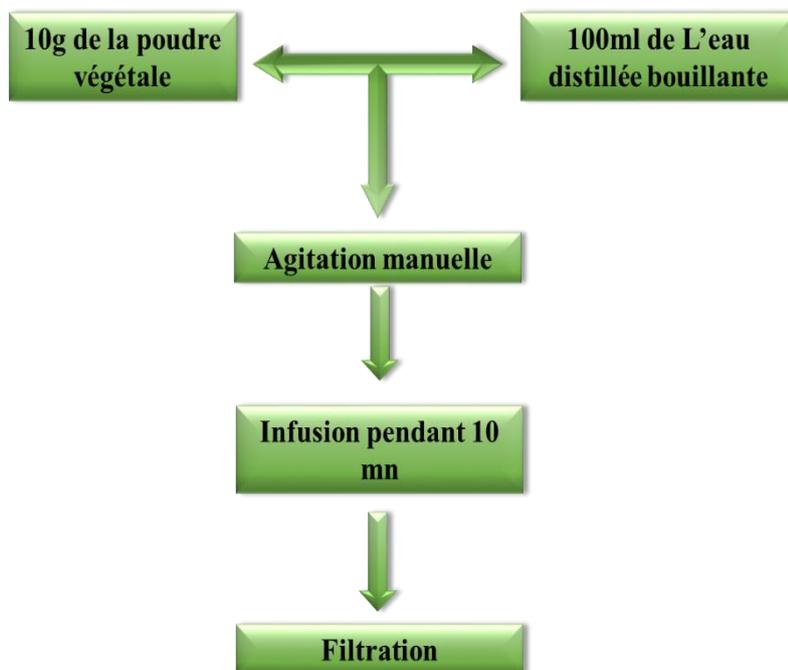


Figure 16: Schéma du protocole de préparation de l'infusée

I.2.6- l'extraction des polyphénols :

L'extraction a été effectuée selon la méthode établie par **Boumaza, (2009)**, dont le volume du solvant et la quantité de la poudre ont été choisis selon nos besoins. Faire macérer pendant 15 jours 20g de poudres végétales dans 200ml de MeOH absolu (96°) avec une agitation de temps en temps. Ces extraits sont filtrés sur mousseline et deux fois sur papier filtre, puis concentrés au Rotavapor à 40° C jusqu'à l'obtention d'une poudre collée sur les parois internes du ballon.

Les extraits secs obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement de l'extraction, puis récupérés avec 30 ml d'eau distillée bouillante et conservés par la suite dans des bouteilles stériles à 4°C.

I.2.6.1-Détermination du rendement de l'extraction

Le rendement a été déterminé par la formule décrite par **Mahmoudi et al., (2013)** dans la page suivante :

$$R (\%) = M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}} 100$$

Avec : R : le rendement en %

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation en mg

$M_{\text{éch}}$: la masse sèche de l'échantillon végétal en mg

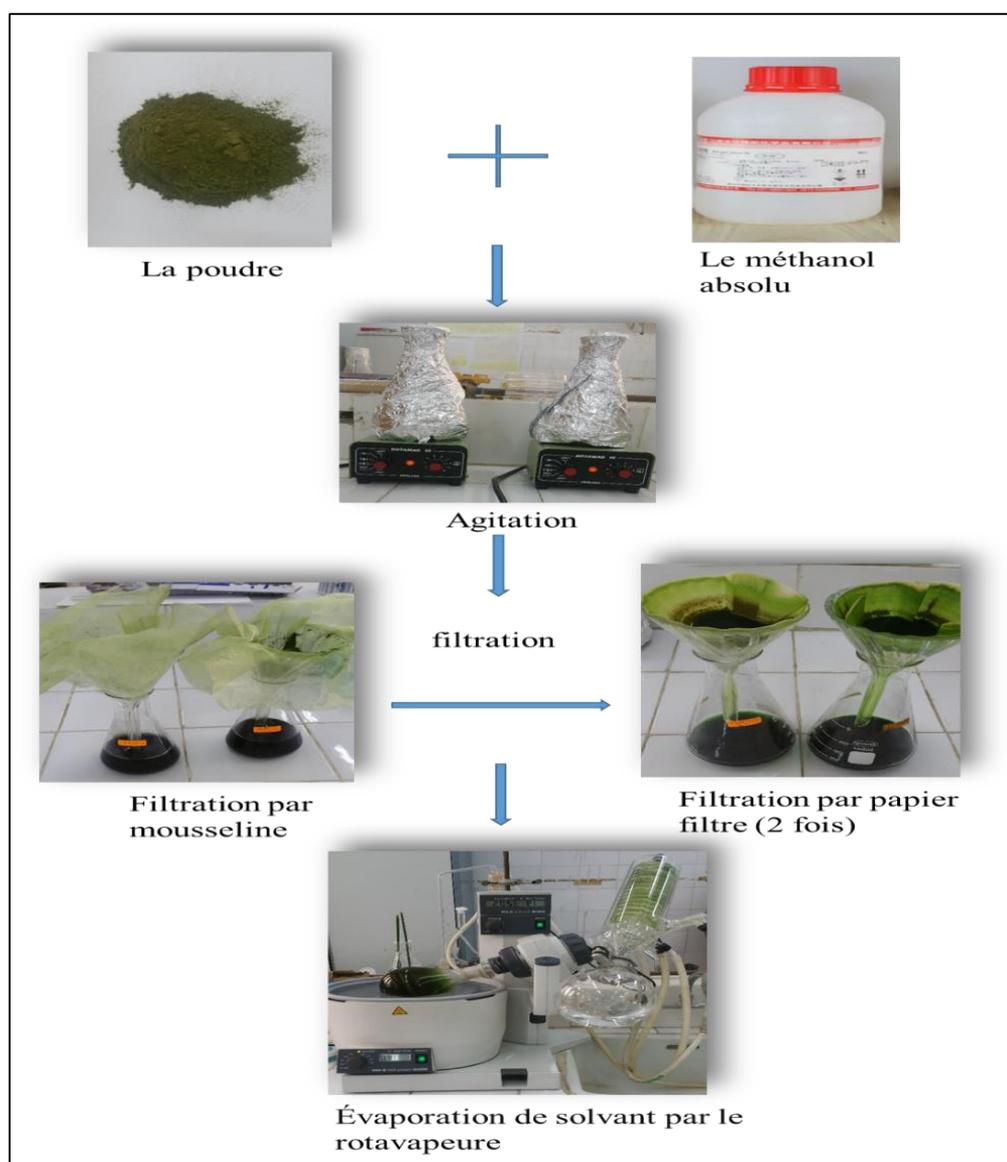


Figure 17: Schéma du protocole expérimental d'extraction de polyphénols

I.2.7. Sèsècreening chimique :

Le but de ces tests, est de connaitre la composition en métabolites secondaires. Ils sont effectués, soit sur la poudre du broyat, soit sur l'infusé. Le screening phytochimique, consiste soit des réactions de colorations ou de précipitations (**Paris et Moyse, 1976**).

Les réactions du screening phytochimique que nous avons effectué ont été décrites par (**Bouyer, 1996**)

A. Identification des Flavonoïdes :

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

B. Identification des tannins :

- **Tannins catéchiques**

A 5 ml de l'infusé, sont ajoutées quelques gouttes de la solution FeCL₃ à 5%.L'apparition d'une couleur bleu noire indique la présence des tannins catéchiques.

- **Tannins galliques :**

A 5 ml de l'infusé, sont ajoutés 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCL₃. L'apparition d'une couleur bleu noire indique la présence des tannins galliques.

C. Identification des Saponosides

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

D. Identification des Anthocyanes

Quelques gouttes d'HCL concentré, sont ajoutées à 5 ml de l'infusé. L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des anthocyanes.

E. Identification des Leuco-anthocyanes

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

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

F. Identification des Alcaloïdes :

5 g de poudre végétale, sont humectés avec 20 ml d'ammoniaque $\frac{1}{2}$, puis laisser macérés pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3v /v). Ensuite, le filtrat est épuisé par HCL à 2N. Après, quelques gouttes du réactif de Drangendroff sont ajoutées à la solution chlorhydrique. L'apparition d'un précipité rouge indique la présence des alcaloïdes.

G. Identification des Glycosides

A 2 g de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique. Une coloration rouge brique apparait. Après agitation, une coloration violette se forme en présence de glucosides.

H. Identification des Coumarines

2 g de poudre végétale, sont mis à l'ébullition dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 min dans un bain-marie puis filtrer. Ensuite, 3 à 5 ml de filtrat, sont ajoutés à 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide avec formation de troubles.

I. Identification des Mucilages

Dans un tube à essai, 1ml d'infusé est ajouté à 5 ml d'alcool absolu. La formation d'un précipité floconneux blanc montre la présence des mucilages

J. Identification des quinones

2 g de poudre végétale humectée par HCL à 1N, sont mis en contact pendant 3 heures dans 20 ml de chloroforme, puis filtrer. Le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque $\frac{1}{2}$. La formation d'une coloration rouge indique la présence des quinones libre.

I.2.8. Les activités biologiques :**I.2.8.1. Activité antimicrobienne :**

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé, appelée « aromatoigramme ».

I.2.8.1.1- L'aromatoigramme :

C'est une technique microbiologique qui permet d'étudier comme un antibiogramme la sensibilité des germes à différentes huiles essentielles, c'est-à-dire, leur pouvoir antibactérien

et antifongique (Salle, 1991).

I.2.8.1.2- Principe :

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Benjeleli et al., 1986).

I.2.8.1.3- Mode opératoire :

➤ **Repiquage des souches :**

En vue d'obtenir des cultures jeunes, les souches conservées ont été repiquées par la méthode des stries dans le gélose nutritive, puis incubées, (24h-37°C /Bactéries, 48h-25°C /Levures et 3 à 5 jours-25°C /champignons) afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

➤ **Coulage des boîtes de pétri :**

Après la fonte de gélose par autoclave à 120°C pendant 15 à 20 min, nous avons coulé aseptiquement une couche de 04 mm d'épaisseur dans des boîtes de pétri en plastique stérile et rondes, de 90 mm de diamètre, ces dernières doivent être séchées durant 30 minutes à une température ambiante, au laboratoire, avant leur emploi. (Mueller Hinton pour les bactéries ;et le milieu Sabourraud pour les champignons et les levures).

➤ **Préparation de l'inoculum :**

- A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Détacher l'anse dans 5 ml d'eau physiologie stérile 0.9%,
- Bien homogénéiser la suspension (agitation manuelle)
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

➤ **L'ensemencement :**

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée sèche,

de haut en bas, en stries serrées. Cette opération a été répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

➤ **Imprégnation des disques :**

A l'aide d'une pince stérile déposer et presser le disque vierge de 9 mm de diamètre sur la surface gélosée dans la boîte de pétri, une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé. Après, ces disques sont imbibés avec 10µl de l'huile essentielle à tester on utilisant une micropipette pour homogénéiser les concentrations des huiles testées dans chaque disque.

Trois répétitions ont été réalisées pour chaque souche. et chaque répétition se fait dans une boîte de pétrie à part .

➤ **Incubation :**

Incubation des souches dans l'étuve est à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, à 25°C pendant 48 heures pour les levures et 25°C pendant 4 jours pour les champignons.

➤ **Lecture des résultats**

L'extrait et l'infusé à 10%, possèdent une activité antimicrobienne, si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu après incubation, dépasse le diamètre du disque absorbant. Les diamètres des zones d'inhibition, sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse.

Ils sont classés en 4 classes (Tableau V) (Moreira et al., 2005).

- A noter que le diamètre du disque (9 mm) a été inclus dans le calcul du Diamètre de la Zone d'Inhibition (DZI, mm).

Tableau 04: Classement des zones d'inhibition

La sensibilité	Diamètre
Souche résistante	D= 9
Souche sensible	10≤D≤14
Très sensible	15≤D≤19
Extrêmement sensible	D>20

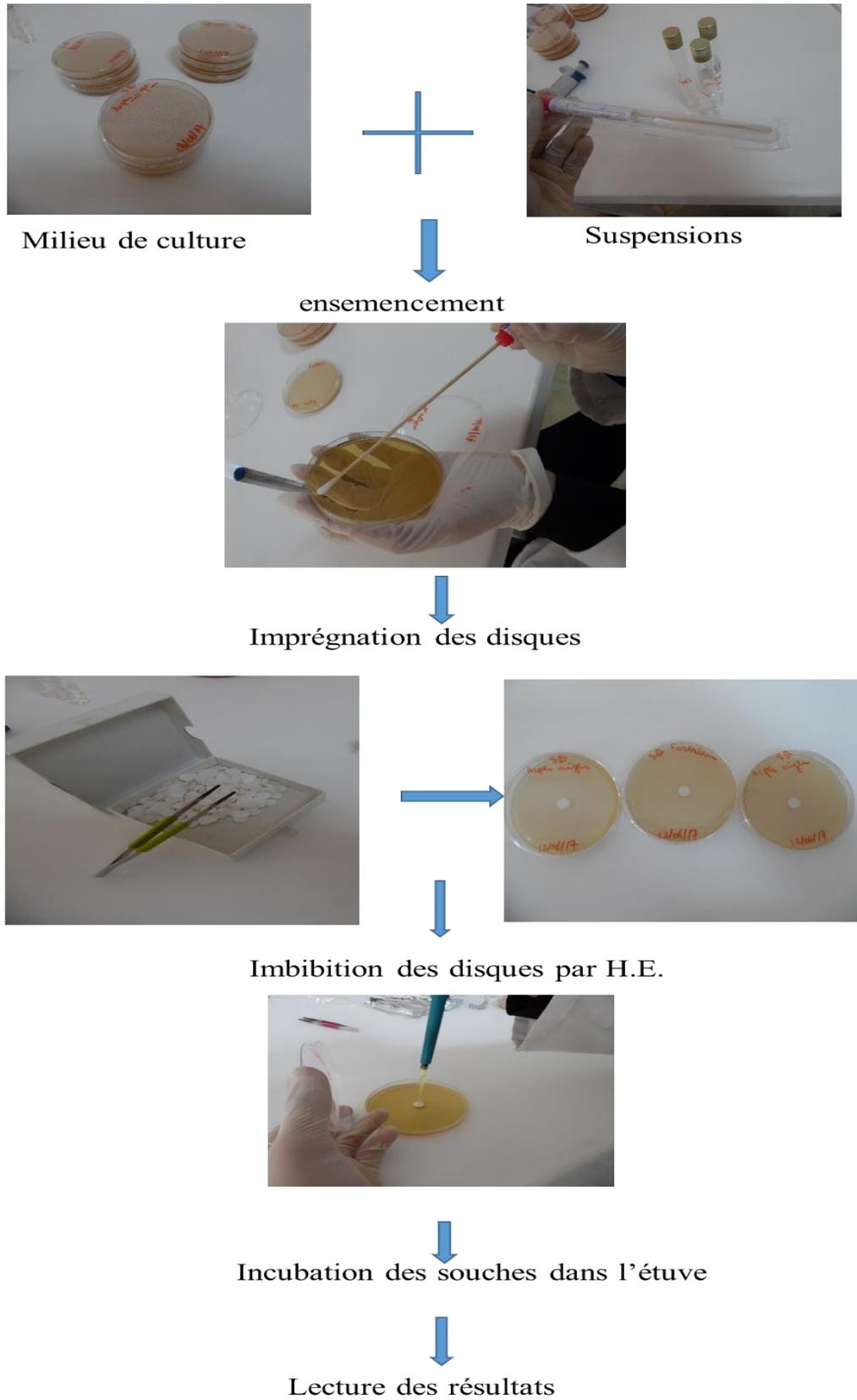


Figure 18 : Schéma du Protocole expérimental de l'activité antimicrobienne

I.2.8.2.L'évaluation de l'activité antioxydant :

Dans ce test, les extraits de deux plantes (*Lavandula dentata L.* ; *Mentha rotundifolia L.*) ont fait l'objet d'une évaluation *in vitro* de leur capacité antioxydant à travers le Test du piégeage du radical libre DPPH.

Le test de piégeage du radical DPPH

I.2.8.2.1. Principe :

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant .En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Molyneux 2004)(Fig.19).

Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm , et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminé (Molyneux. P. 2004) ;(Popovicie et , . al.2009)

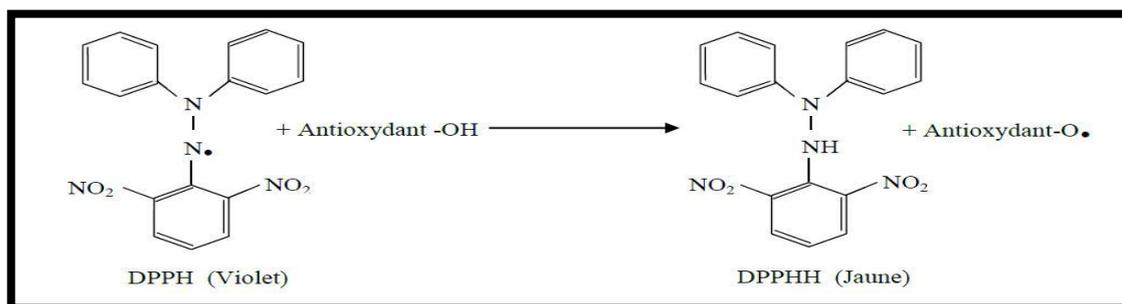


Fig.19 : Equation du radical DPPH transformé en DPPH (Talbi et ., al.2015.).

I.2.8.2. Méthode de dosage :

Dans notre étude, ce test a été évalué par le protocole suivant :

- Préparation d'une solution mère : 5 ml d'extrait + 5ml de méthanol. Nous avons testée comme extraits l'infusé et les polyphénols totaux des deux plantes étudiées.
- Préparation de 5 dilutions à partir de la solution mère à 1/10 (1ml du 1^{ère} solution + 9ml du méthanol 97%) ainsi jusqu' à la cinquième dilution.

Brièvement, 2ml d'une solution méthanolique de DPPH 4% (4mg du DPPH dans 100ml du méthanol) a été mélangé avec 0.5ml des dilutions dans des tubes secs. Le mélange obtenu est

ensuite gardé à l'abri de la lumière, à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de la solution méthanolique de DPPH. (Fig.20).

Les échantillons, le témoin : la solution méthanolique de DPPH ; et le blanc : le méthanol ainsi qu'une solution de 3mg de vit c dans 10 ml de méthanol (qui servira de référence) sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 517nm et le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé selon la formule ci-dessous :

$$PI = \left(\frac{DO \text{ du blanc} - DO \text{ de l'échantillon}}{DO \text{ du blanc}} \right) \times 100.$$

D'où : **PI** : pourcentage d'inhibition.

DO : La décroissance de l'absorbance

NB ; La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (**IC50**); la valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC50 est exprimée en mg/ml.

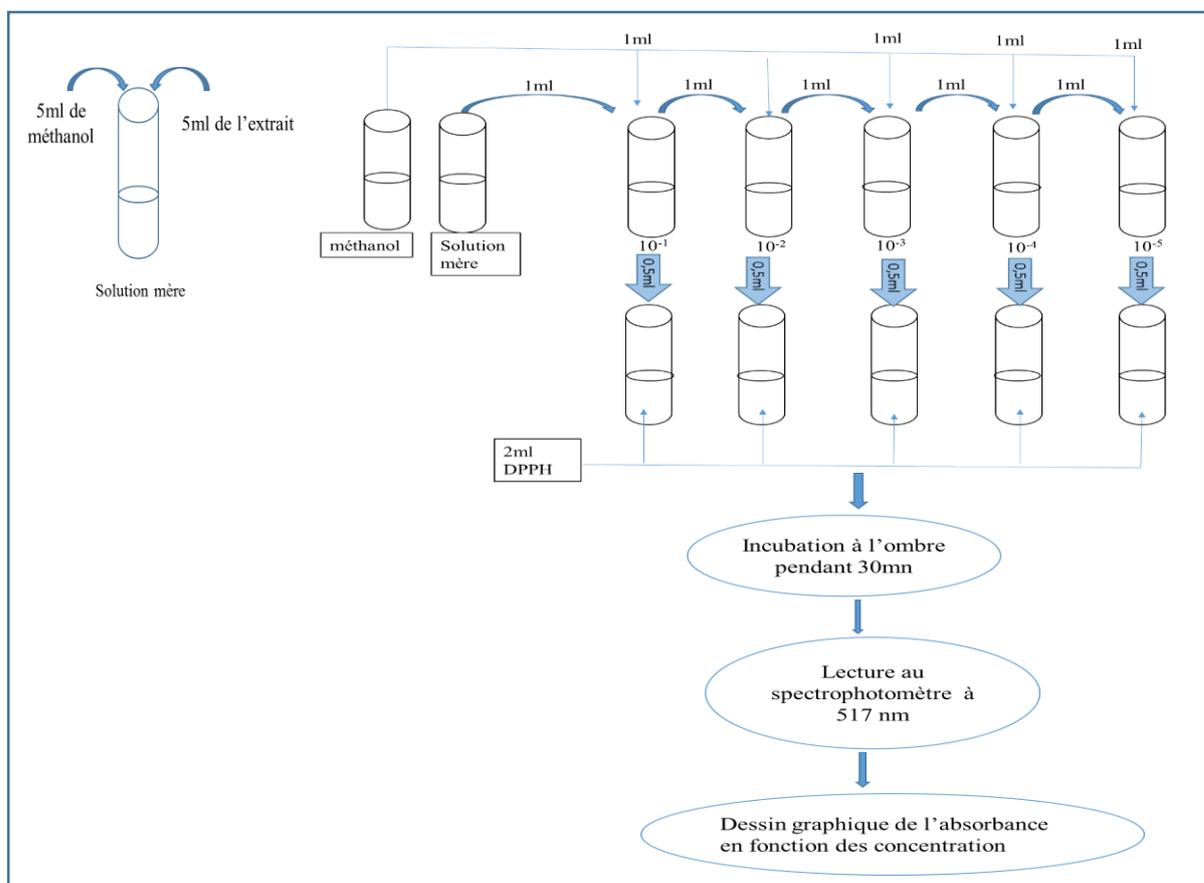


Figure .20: Schéma de protocole expérimental de l'activité antioxydant (Originale 2017)

I.2.8.3. Mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait des plantes :

L'objet de ce test est de déterminer l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes étudiées selon le test de Levy. (Culot ., 1972).

➤ Principe :

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant.

➤ Protocole expérimentale :**1. Préparation de l'infusé :**

Ajouter 100 ml d'eau bouillante à 20 g de poudre de la partie aérienne. Laisser infuser pendant 15 minutes et filtrer. (Bardeau, 2009) Le filtrat est ajusté à 100 ml avec d'eau distillée.

2. Préparation de la solution de carragénine :

Pour la préparation : nous mettons 25 ml d'eau distillée dans un petit bécher, nous lui ajoutons progressivement de la carragénine (0.5 g), puis nous ajustons le volume à 50 ml avec de l'eau distillée.

3. Préparation de la solution du produit de référence (Antalfen 200mg) : Pour la préparation de cette solution, on utilise (Ibuprofène) comprimé de 200mg : La dose active est de 1200mg/60kg (Vidal, 2008). Sachant que le poids moyen des souris est de 20g. Ainsi, la dose à administrer à chaque souris serait de 0,4 mg et chaque souris doit recevoir 0,5ml de médicament. Donc on dissout 1cp (200mg) dans 100ml d'eau distillée puis on ajuste le volume à 250ml.

➤ Mode opératoire :

Constituer 4 lots de 5 souris chacun :

- Un lot témoin,
- Un lot d'espèce (L.D)
- Un lot d'espèce (M.R.)
- Un lot de référence.

✓ **Au temps T0 :**

Administrer aux quatre lots les suspensions suivantes :

- Lot témoin : chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau distillée
- Lot d'espèce (L. D.) : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'infusé de *Lavandula dentata* L. ;
- Lot d'espèce (M. R.): chaque souris reçoit 0,5 ml de l'infusé de *Mentha rotundifolia* L. ;
- Lot de référence : chaque souris reçoit 0,5 ml du produit de référence Ibuprofène® 200 mg.

✓ **Au temps T0 + 30 mn :**

Injecter la solution de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche à un volume de 0,025 ml aux souris.

N.B. : La patte arrière droite de chaque souris sert de contrôle.

✓ **Au temps T0 + 4 h :**

- Sacrifier les animaux par rupture de la nuque ;
- Couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique.

➤ **Méthode de calcul du pourcentage de réduction des œdèmes :**

Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% œdème) est calculé par la formule suivante : (Culot, 1972)

$$\% \text{ de l'œdème} = \{(mg - ma) / ma\} \times 100.$$

D'ou : **mg** : la moyenne du poids de la patte gauche.

ma : la moyenne des poids de la patte droite.

Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante : (Culot, 1972)

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \{ (\% \text{ de l'œdème du Témoin} - \% \text{ de l'œdème de l'essai}) / \% \text{ de l'œdème du témoin} \} \times 100.$$

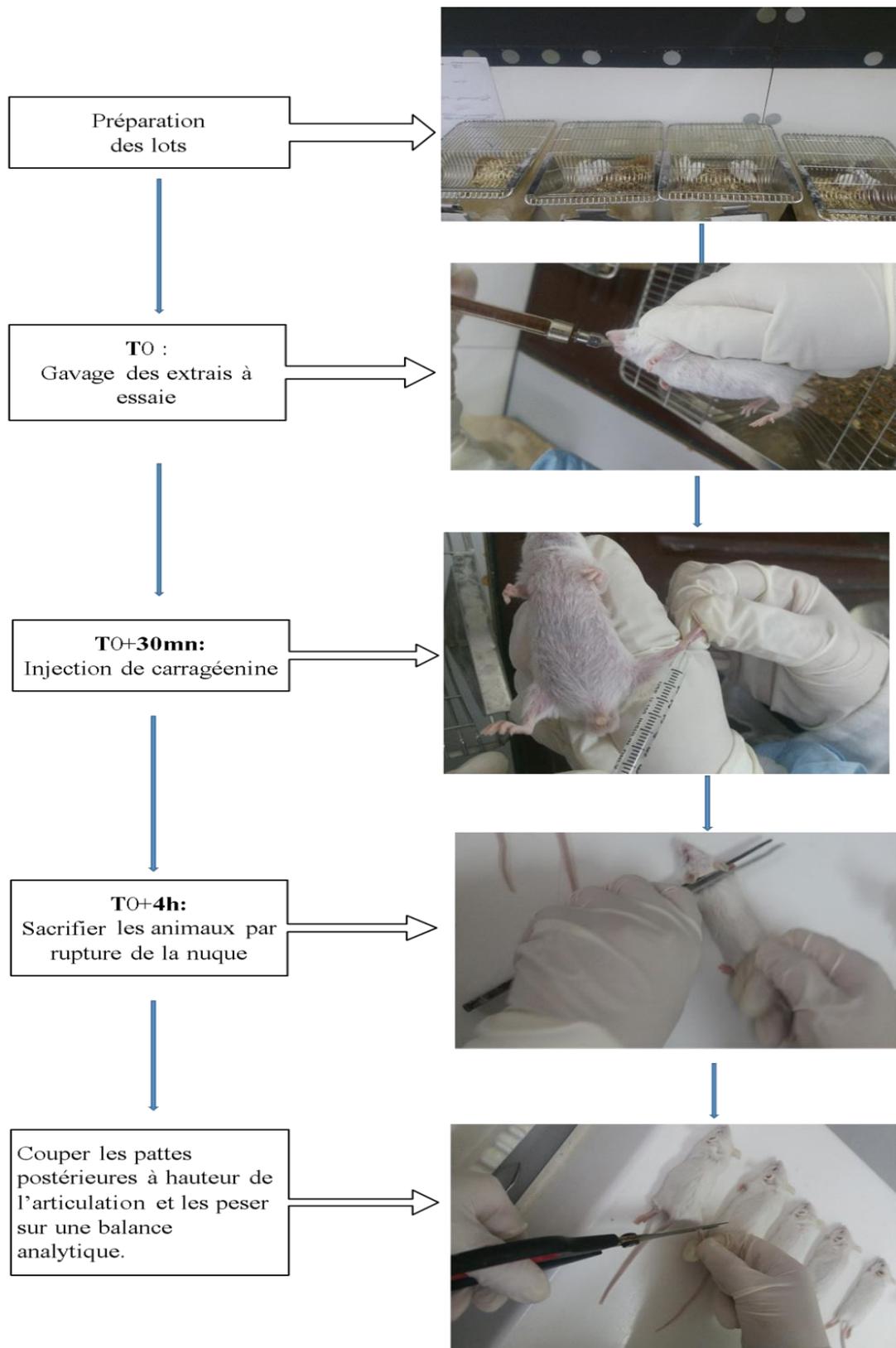


Figure21 : Les étapes expérimentale de l'activité anti inflammatoire

I.2.8.4. Détermination de l'activité antalgique :

L'activité antalgique a été recherchée chez la souris par la méthode de l'acide acétique (**Vogel et Vogel, 1997**)

➤ **principe :**

L'injection de l'acide acétique par voie intrapéritonéale chez la souris provoque une réaction douloureuse. Cette douleur se manifeste par des mouvements de torsion de l'abdomen, avec étirement des pattes postérieures (crampes), qui peuvent être réduite par un produit antalgique. Cette étude permet de comparer la réduction du nombre de crampes après administration du produit antalgique (infuses des plantes étudiées), et du produit pris comme référence .

➤ **Mode opératoire :**

Les souris ont été réparties en 4 lots, chaque lot se compose de 5 souris de poids moyen de 20g :

- ❖ Lot témoin T : qui reçoit l'eau distillée.
- ❖ Lot essai 1: qui reçoit l'infusé de la plante *Lavandula dentata L.*
- ❖ Lot essai 2: qui reçoit l'infusé de la plante *Mentha rotundifolia L.*
- ❖ Lot essai3 : qui reçoit le produit de référence .

• **Au temps T₀ :**

On administre aux trois lots les suspensions suivantes :

- ❖ Lot T: chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillée.
- ❖ Lot essai 1 : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester (l'infusé).
- ❖ Lot essai 2 : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester (l'infusé).
- ❖ Lot essai 3 : chaque souris reçoit 4mg du produit de référence **Ibuprofène** diluée dans l'eau physiologique à 0,9% à raison de 200mg/kg (0.5ml de solution).



Figure 22: le gavage de l'extrait à tester (Originale 2017)

- **Après 30 mn :** toutes les souris reçoivent 0,2ml de la solution d'acide acétique à 1% par voie intra péritonéale.



Figure23 : injection de l'acide acétique par voie intra péritonéale.(Originale 2017)

- **Après 5 min :** le comptage du nombre des crampes est observé directement sur les souris pendant 10min.



Figure24 : Comptage des crampes par souris (Originale 2017)

➤ **Expression des résultats :**

- Calculer les moyennes arithmétiques des crampes pour chaque lot.
- Calculer le pourcentage de réduction de crampes (pourcentage de protection) chez les souris traitées par rapport aux témoins.

$$\% \text{de protection} = \frac{\text{moyennes des crampes } Tém \text{ négatif} - \text{moyennes des crampes du lot témoin négatif}}{\text{moyenne des crampes du lot témoin négatif}} \times 100$$

I.2.8.5. Evaluation de l'activité hypoglycémiant des extraits aqueux :

Le protocole expérimental est inspiré à partir des travaux de **Lawson-Evi et al. (1997)** et **Keita et al. (1998)**.

➤ **Préparation de la surcharge de glucose :**

L'épreuve hyperglycémiant est réalisée par l'utilisation d'une solution aqueuse de D⁺-glucose monohydrate pure (C₆H₁₂O₆·H₂O) à 50%. La dose active est à raison de 4 g de solution glucosé /kg de poids de l'animal (**Lawson-Evi et al. ,1997.**)

➤ **Répartition des lots de lapins :**

Les lapins sont répartis de manière aléatoire en cinq lots à raison d'un seul lapin par lot (dont le poids moyen est de 4kg), tous les lapins ont été soumis à jeun 18h avant l'expérimentation.

➤ **Les lots :**

- **Lot 1 :** Lapin sain non traité (**témoin sain**)
- **Lot 2 :** Lapin en état d'hyperglycémie et non traité (**témoin -**)
- **Lot 3 :** deux Lapins en état d'hyperglycémie traités par un médicament hypoglycémiant (DCI : Glimépiride de la spécialité Amarel®) à une dose de 4 mg/Kg (**témoin +**)
- **Lot 4 :** 2 Lapins en état d'hyperglycémie traité par l'infusé du *Lavandula dentata L.*
- **Lot 5 :** 2 Lapins en état d'hyperglycémie traité par l'infusé de *Mentha rotundifolia L.*

➤ **Administration des traitements :**

Les 2 extraits des deux plantes ont été administrés aux lapins à raison de 32ml par gavage 30 minutes après le gavage de surcharge glucosé (**Keita et al. (1998)**). Le produit de référence (Glimépiridecp4mg) à la dose active de 0.21mg/lapin dans un volume de 32ml, administré aux

lapins 30mn après le gavage de glucose, pour faire coïncider la concentration maximale C_{max} d'absorption du médicament avec la concentration maximale de glucose provoqué par la surcharge glycémique (Lawson-Evi et al. ,1997.).

Le gavage des lapins, est réalisé à l'aide d'une seringue en plastique.



Figure25 : Le gavage des lapins par une seringue (Originale 2017)

➤ **La détermination de la glycémie :**

La détermination de la glycémie est faite à l'aide d'un glucomètre (appareil de mesure de glycémie) Une goutte de sang est prélevée par ponction au niveau de la veine marginale de l'oreille avant le gavage pour déterminer la glycémie à jeun à T0 de chaque lapin puis à 30, 60, 90,120 et180 minutes après le gavage de la surcharge de glucose.

La goutte de sang ponctionnée est déposée sur la zone active de bandelette, la lecture de la glycémie se fait automatiquement 10 secondes après le résultat est exprimé en g /l.



Fig26 : Prélèvement du sang et la mesure de la glycémie (Original).

I.2.9. Formulation galénique :

Nous avons préparé une formulation galénique à base des extraits polyphénoliques des deux plantes, il s'agit d'une émulsion de type huile dans l'eau. Une émulsion est un système bi-phasique constitué de deux phases ; une phase huileuse et une phase aqueuse. L'émulsification est assurée par des agents tensio-actifs.

1. Matériels utilisés

- Balance de précision.
- Plaque chauffante.
- Mélangeur à hélice.
- Microscope optique.
- Spatules.

➤ Les excipients

- Vaseline blanche.
- Huile de vaseline.
- Tween 60 : tensio-actif.
- HPMC : viscosifiant hydrophile (polymère : Hydroxy-Propyl-Méthyl-Cellulose).
- Alcool stéarylique

➤ **Les extraits utilisés** : les polyphénols totaux et les huiles essentielles des deux plantes *Lavandula dentata L.* et *Mentha rotundifolia L.*

➤ **Mode opératoire** : la préparation de l'émulsion à base d'un extrait des polyphénols totaux de deux espèces de la famille Lamiacées se déroule principalement en deux étapes :

- ❖ **Préparation de la phase huileuse** : dans un bécher on mélange 0.5g du PPT ; 20g du vaseline blanche et 10 gramme de l'alcool stéarylique ; puis on complète avec l'huile de vaseline jusqu'à 40 g. On chauffe le mélange jusqu'à la dispersion totale et l'homogénéité de la phase (**Fig.27**).
- ❖ **Préparation de la phase aqueuse**: dans un autre bécher on met 2 g du HPMC, 1,5g du Tween, et 60ml d'eau distillée, on les mélange à l'aide d'un agitateur magnétique à 1000 t/mn jusqu'à la dissolution totale .
- ❖ **Emulsification** ; Après le refroidissement de la phase huileuse ; on la mélange avec la phase aqueuse en utilisant le mélangeur à hélice à une vitesse de 1000t/mn pour ; jusqu'à l'obtention d'une émulsion homogène.(**Fig.30**).

➤ **La lecture au microscope optique :**

Après l'obtention d'une émulsion homogène et stable ; on met d'une goutte de celle ci avec une goutte d'eau distillée entre lame et lamelle, pour effectuer l'observation au microscope optique au Grossissement : 10X10.



Figure 27 : Préparation de la phase huileuse .

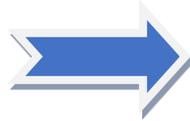


Figure 28:Phase huileuse homogénéisée.

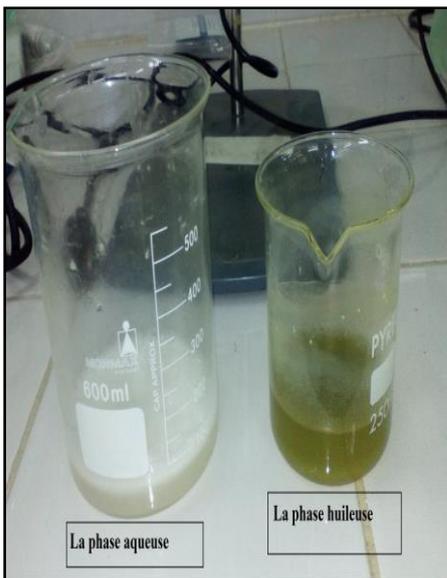


Figure 29: les phases à mélanger (original2017).

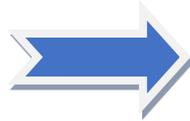


Figure 30 :l'étape d'émulsification (original 2017)

Dans ce chapitre nous allons exposer les résultats et discussions se rapportant à l'étude botanique et histologique des deux plantes étudiées *Lavandula dentata* et *Mentha rotundifolia* ; à les rendements des extraits des deux plantes ; à l'étude phytochimique ,et aux différentes activités biologiques : activité microbiennes de H. ; activité antioxydant ;activité antalgique ;activité anti-inflammatoire et l'activité hypoglycémiant des extraits des mêmes plantes .

II.1.Résultats de l'étude botanique des deux plantes :

Après comparaison des caractéristiques morphologiques et macroscopiques de nos plantes récoltées au niveau de Larhat avec ceux des plantes répertoriées de l'herbier de l'INSA, nous avons identifié l'appartenance botanique de nos plantes choisies, confirmant leurs genres et leurs espèces : *Mentha rotundifolia* L. et *Lavandula dentata* L.

II.1.1. Etude macroscopique :

A. *Mentha rotundifolia* L.

- **La feuille** :Elle est d'une couleur verte vive, ovale presque ronde de 4,5 cm de long et 3 cm d'épaisseur (figure 31 ;figure 32)



Figure31 : Feuille de *Mentha rotundifolia* L. (Originale 2017)



Figure 32 : Vue à la loupe binoculaire des poils épidermiques de la face supérieure de la feuille *Mentha rotundifolia* L (Gx 4.5) (Originale 2017)

➤ **La fleur :**

Elles sont de couleur blanche à mauve claire de 5mm de long et se rassemblant en grappes ou en épis terminant le rameau (figure 33).



Figure 33 : Fleure de *Mentha rotundifolia* L. A : vue a loeil nu ;B :vue au loupe binoculaire (Gx2,5) (Originale 2017)

➤ **La tige :**

Elle est typique des Labiées , dressée, dont les plus âgées sont légèrement lignifiées, couvertes d'un duvet épais (figure 34 dans la page suivante) .

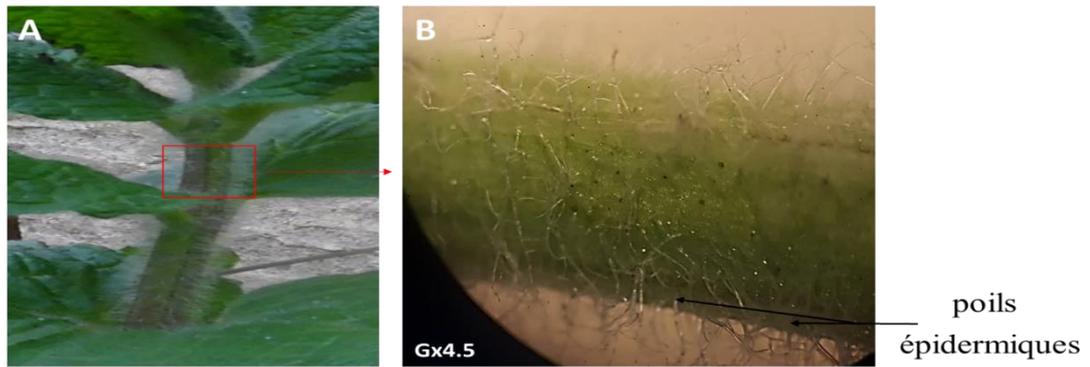


Figure 34 : Vue de la tige de *Mentha rotundifolia* L. à l'œil nu (A) et sous la loupe binoculaire (B) G x4.5 (**Originale 2017**)

B. *Lavandula dentata* L :

- **La feuille :**Elles sont dentées et arrondies de couleur verte claire, (figure 35 ;figure 36)



Figure 35 : Feuilles de *Lavandula dentata* L. (**Originale 2017**)

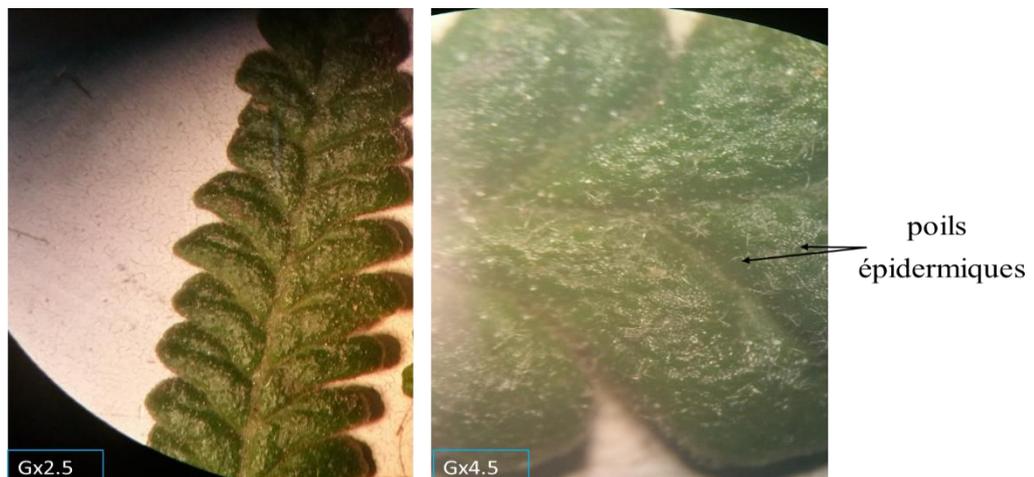


Figure 36: Vue d'une feuille de *Lavandula dentata* L. sous une loupe binoculaire (G x2.5 et G x4.5) (**Originale 2017**)

b. La fleur :

Les fleurs de *Lavandula dentata* L. sont bleuâtres en épi court, dense, surmontées de bractées de même couleur (figure 37) dans la page suivante.



Figure37 : Fleure de *Lavandula dentata* (Originale 2017)

c. La tige :

La tige est quadrangulaires, feuillée à la base et longuement dénudées sous les épis floraux. (figure 38)

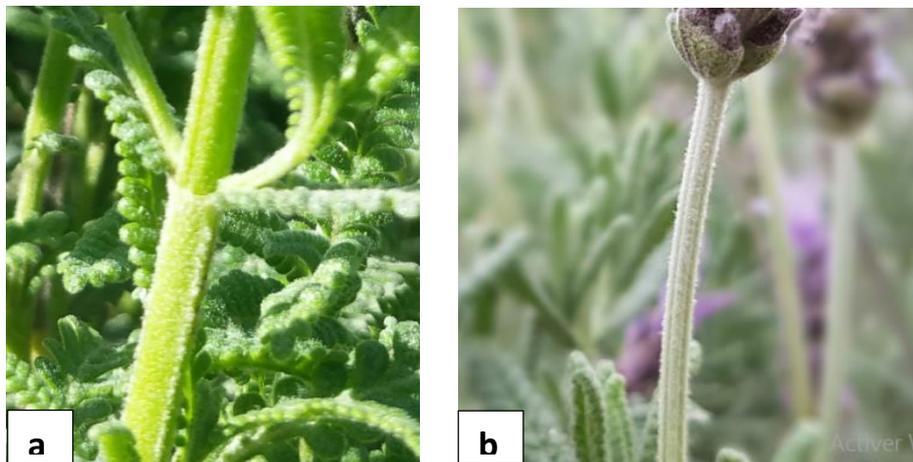


Figure 38 : Tige de *lavandula dentata* L. a : la partie feuillée, b : la partie sous les fleurs (Originale 2017)

II.1.2. Etude microscopique :

Afin de reconnaître l'histologie végétale des deux plantes étudiées et localiser les structures sécrétrices nous avons réalisé des coupes transversales colorées au niveau de la feuille et la tige des deux espèces *Mentha rotundifolia* L. et *Lavandula dentata* L.

A. *Mentha rotundifolia* L :

➤ Structure de la feuille :

La coupe transversale montre que la feuille se compose des structures suivantes :

- La cuticule qui enveloppe vers l'extérieures les cellules épidermiques.
- L'épiderme inférieure et l'épiderme supérieur constitué par une assise de cellules dont certains s'allongent pour donner des poils épidermique. On peut observer des poils épidermiques tecteurs et des glandes sécrétrices.
- Un parenchyme lacuneux.
- Une nervure principale qui renferme les éléments conducteurs.

(figures 39 ;figure 40 ; figure 341 ;figure 42)

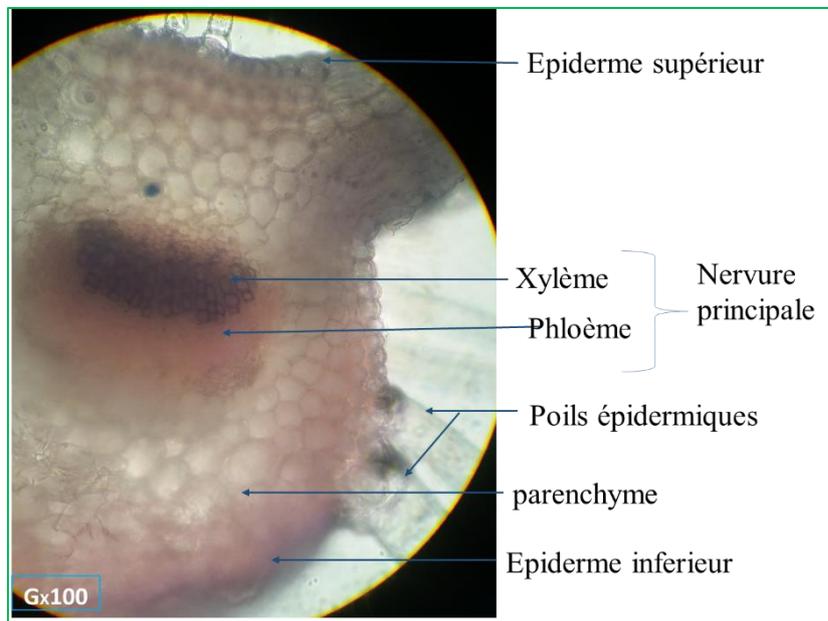


Figure39 : Coupe transversale d'une feuille de *Mentha rotundifolia* L. vu au microscope optique après double coloration Gx100) . (Originale 2017)

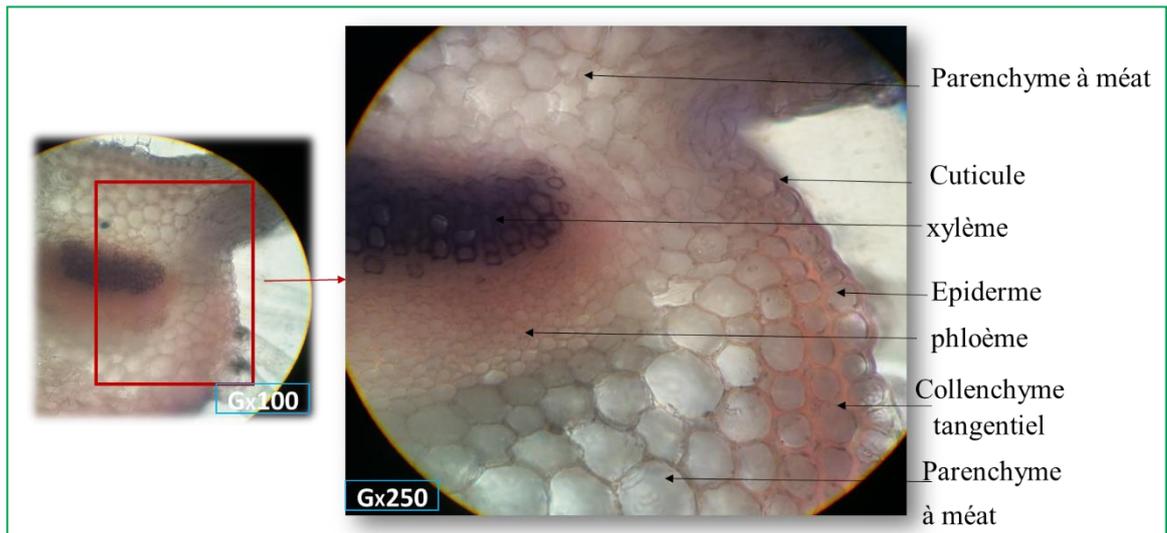


Figure40 : Coupe transversale d’une feuille de *Mentha rotundifolia* L. vu au microscope optique après double coloration (GX250). (Originale 2017)

✚ on remarque une présence très importante de parenchyme qui a une paroi primaire semi-rigides, cette dernière est constituée de 90% de l’eau et donc ça confirme que cette espèce est charnue et l’habitat exclusif de cette plante dans les milieux humides.

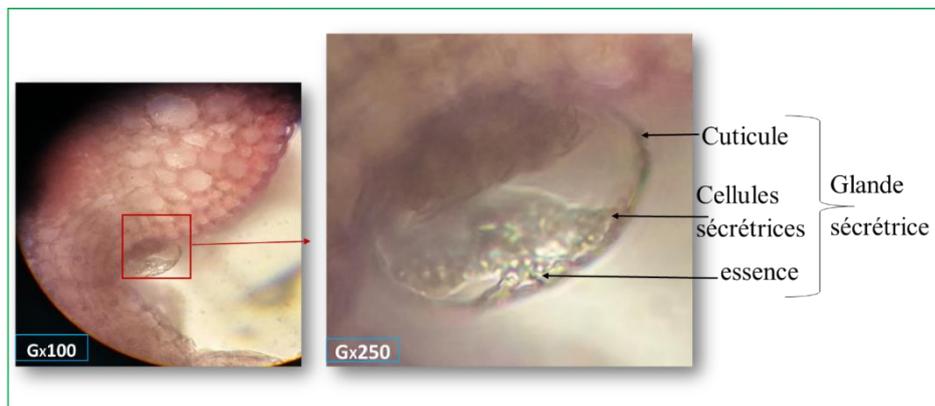


Figure 41 : Glande sécrétrice d’une feuille de *Mentha rotundifolia* L. vu au microscope optique (Gx100 et Gx200) après double coloration (Originale 2017)

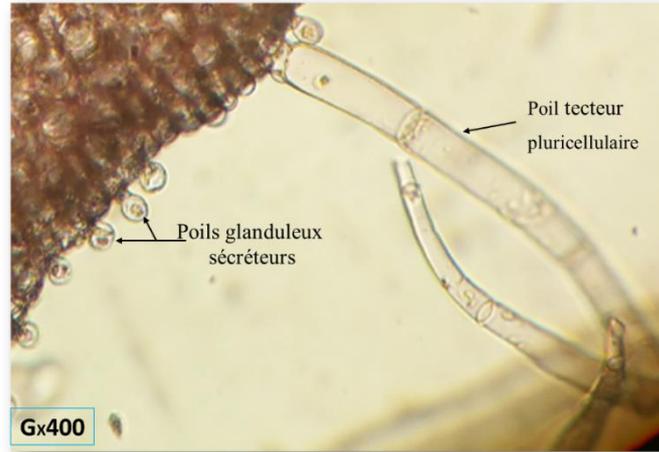


Figure 42 : Poil tecteur et poils sécréteurs de la feuille de *Mentha rotundifolia* L. vu au microscope optique (Gx400) après double coloration (**Originale 2017**)

- ✚ La surface de la feuille est riche en poils glanduleux sécréteurs ce qui confère la forte odeur de la feuille de la menthe
- ✚ La glande sécrétrice est grande et remplis en essence. Elle est située dans la périphérie de la feuille, ce qui facilite l'expulsion de l'huile essentielle qui donne une forte odeur caractéristique à cette espèce de menthe.

➤ **Structure de la tige :**

Les coupes transversales réalisées au niveau de la tige de *Mentha rotundifolia* L. ont montré des différents tissus ; de l'extérieur vers l'intérieur on observe :

- Une cuticule légèrement striée.
- Un épiderme constitué par une seule assise des cellules
- Un Collenchyme angulaire ; c'est un tissu de soutiens caractérisé par l'épaississement de la paroi primaire au niveau des angles des cellules
- Des fibres de sclérenchymes : ce sont des cellules très longues à paroi très épaisse lignifiée donc c'est un tissu mort.
- Bois et liber
- Parenchyme médullaire

La structure est présentée dans les figure : figure 43 ; figure 44

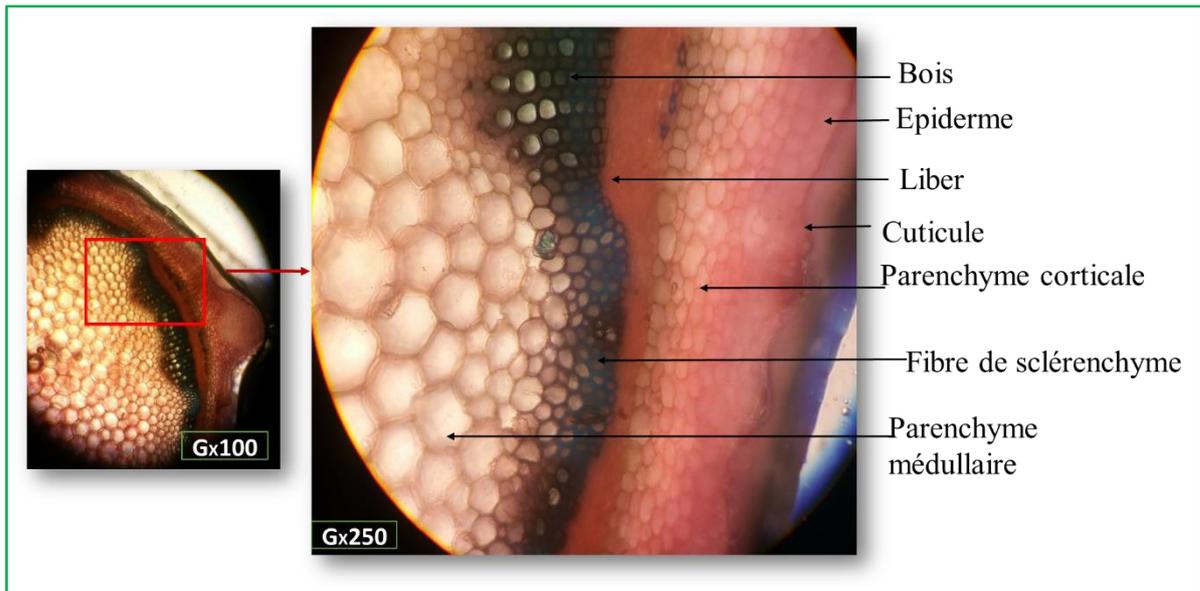


Figure 43: Coupe transversale au niveau de tige de *Mentha rotundifolia* L. vu au microscope optique (Gx100 et Gx250) après double coloration . (Originale 2017)

- ✚ On remarque que le parenchyme médullaire occupe une surface importante dans la tige ce qui démontre le caractère aérien de la tige.
- ✚ C'est une tige de dicotylédones, le développement est essentiellement fasciculaire de xylème secondaire et absence de liège avec une légère lignification sont autant d'argument qui justifient le caractère herbacé de cette plante

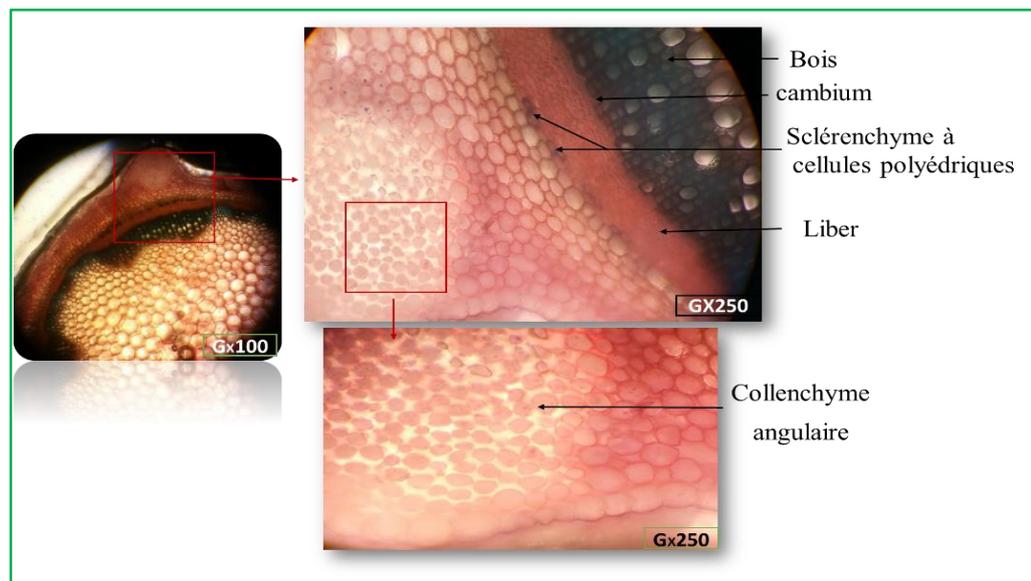


Figure 44: Vu d'ensemble des coupe transversale au niveau de la zone angulaire de tige de *Mentha rotundifolia* L. vu au microscope optique (Gx100 et Gx250) après double coloration . (Originale 2017)

- La tige aussi comme la feuille renferme des poils tecteurs et des glandes sécrétrices (figure 45)

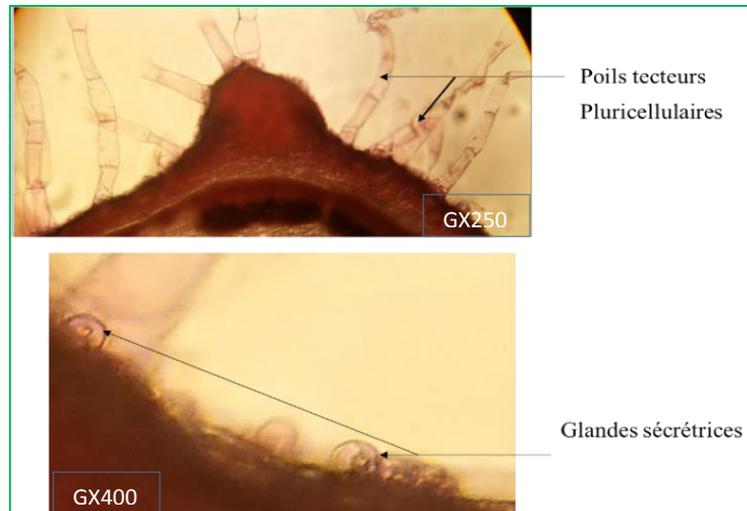


Figure 45 : Vu des poils tecteurs et glandes sécrétrices au niveau de tige de *Mentha rotundifolia* L. au microscope photonique (Gx250) Gx400 après doubles coloration (**Originale 2017**)

B. *Lavandula dentata* L. :

➤ **Structure de la feuille :**

Les coupes transversales colorées de *Lavandula dentata* L. montre la structure suivante :

- L'épiderme présente par une seule assise des cellules
- La cuticule qui enveloppe les cellules épidermiques
- Des poils tecteurs ramifiés, des poils sécréteurs et des glandes sécrétrices
- Les éléments de conducteur phloème et xylème
- Un parenchyme à méats

Ces structures sont représenté dans les (Figure 46 et figure 47) dans la page suivante

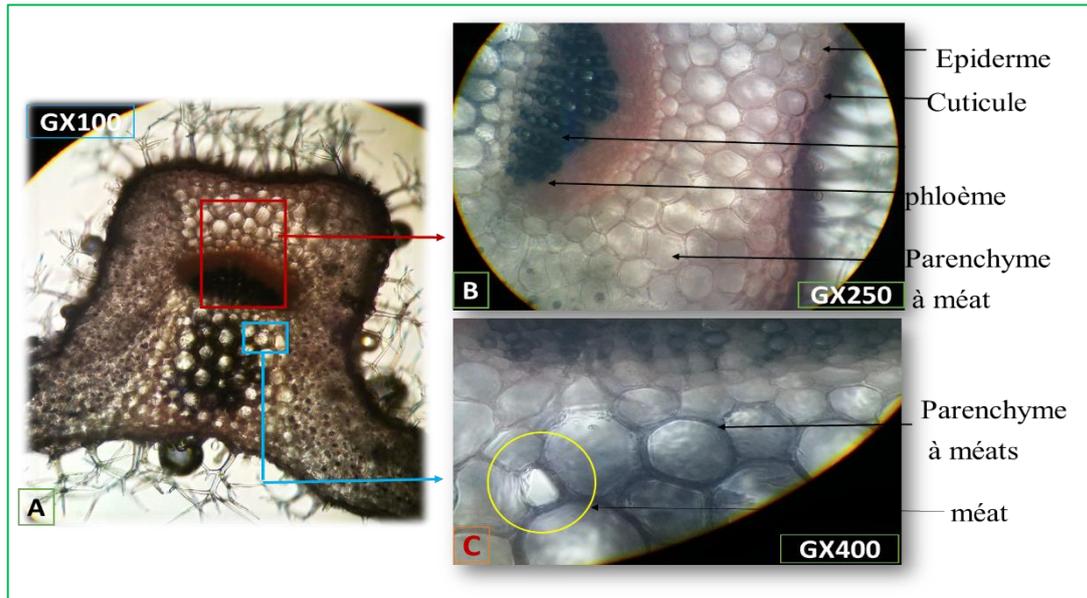


Figure 46 : Vue d'ensemble d'une coupe transversale au niveau de feuille de *Lavandula dentata* L. vue au microscope photonique après double coloration. **A :Gx100** la coupe complet .**B(Gx250** au niveau de nervure centrale) .**C:Gx400** au niveau de parenchyme.(Originale 2017)

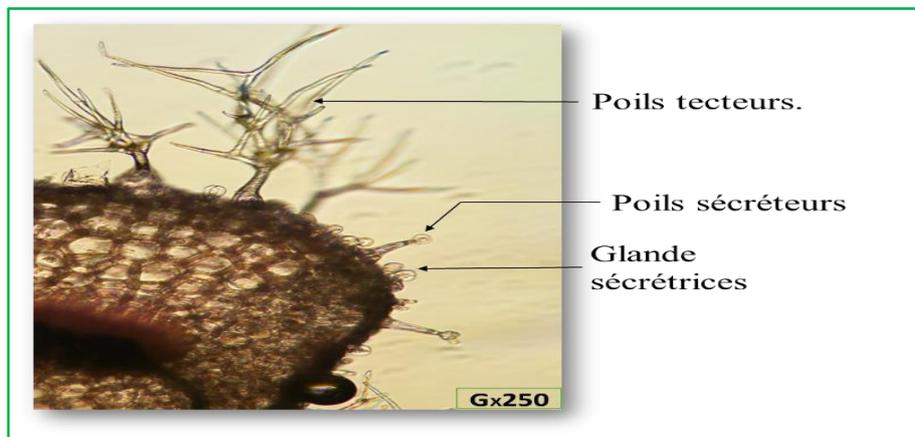


Figure 47 : Poils épidermiques et glandes sécrétrices de la tige de *Lavandula dentata* vue au microscope optique Gx250 après une double coloration (Originale 2017)

➤ **Structure de la tige :**

Les coupes transversales au niveau de la tige de *Lavandula dentata* L. montre après une double coloration les structures suivantes :

- Une cuticule
- Un épiderme constitué par une seule assise des cellules
- Des poils épidermiques ramifiés

- Un collenchyme annulaire situé au niveau des zones angulaires de la tige
- Un parenchyme à méats situé dans le cortex et au milieu de la tige
- Un sclérenchyme discontinue formé surtout au niveau des angles de la tige
- Du phloème
- Une assise libéro ligneuse appelé cambium forme le liber vers la périphérie de l'organe et de bois ver l'intérieur.
- Du bois

Ces structures sont représentées dans les figures : figure 48 et figure 49

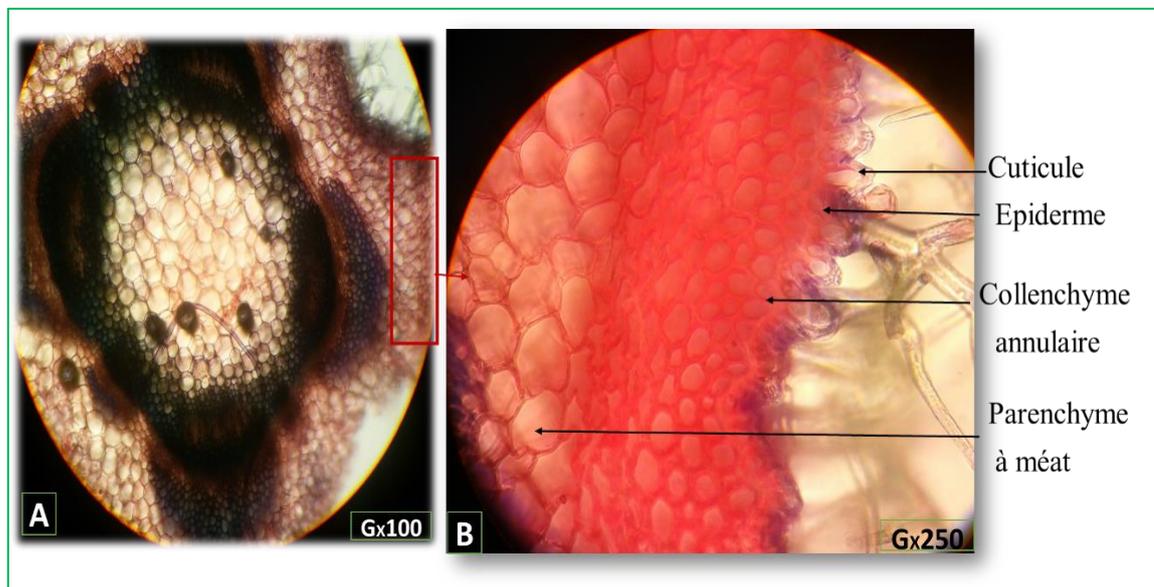


Figure 48 : Vue de deux coupes transversales de la tige de *Lavandula dentata* L. vue au microscope photonique après une double coloration : **A (Gx100): coupe de la tige complet ; B : Gx250) coupe au niveau d'angle de la tige .(Originale 2017)**

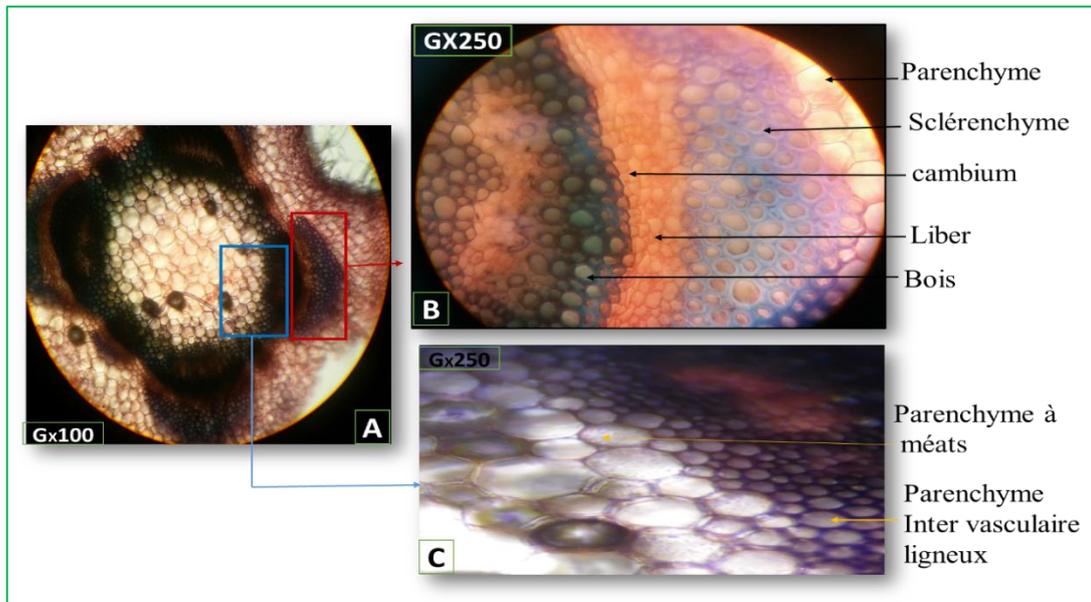
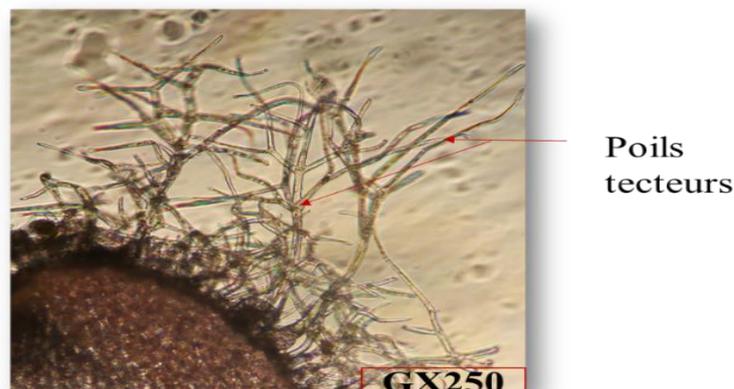


Figure 49: Vue d’ensembles des coupes au niveau de la tige de *Lavandula dentata* L. au microscope photonique après une doubles coloration : **A (Gx100) : la coupe de la tige complet ; B(Gx250) : les tissus secondaires ; C (Gx250) : les parenchymes.**(Originale 2017)

- ✚ Selon les coupes colorées on voit que la tige de *Lavandula dentata* est constituée par différents tissus secondaires ; le sclérenchyme ,le liber et le bois et même un parenchyme ligneux donc c’est une tige lignifiée caractéristique des arbustes
- ✚ Le sclérenchyme ; c’est un tissu mort a une paroi très épaisse entièrement lignifié, il occupe une surface importante dans la tige de *Lavandula dentata* et lui donne une rigidité et une résistance .ça justifie la persistance de cette plante aux conditions climatiques.

Enfin, la tige de *Lavandula dentata* renferme un nombre important de poils épidermiques (figure 50)



Figures 50 : Poils épidermique tecteurs de la tige de *Lavandula dentata* L. vue au microscope optique après une double coloration (Gx250) (Originale 2017)

II.2. Résultats de l'étude phytochimique :

II.2.1. Détermination de la teneur en eau :

Les résultats obtenus dans l'évaluation de la proportion d'eau contenue dans la partie aérienne de *Lavandula dentata L.* et *Mentha rotundifolia L.*, sont représentés dans les figure 51.

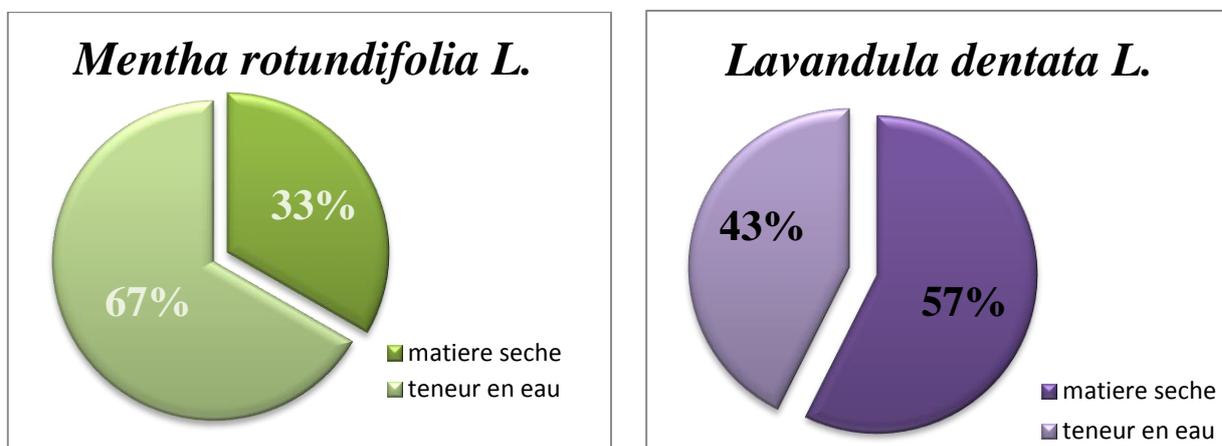


Figure 51 : Teneur en eau des parties aériennes des plantes étudiées

Mentha rotundifolia L. s'est montrée riche en eau, les analyses de la partie aérienne de cette espèce ont révélé un taux d'humidité important de **66.63%**, c'est-à-dire que deux tiers de la plante fraîche sont constitués par l'eau.

Le teneur en eau correspond à environ **42.66 %** pour *Lavandula dentata L.*, donc presque la moitié du poids complet de la partie aérienne de cette plante est constitué par l'eau. Ce résultat diffère de celui de **Bachiri et al.,(2016)** qui ont trouvé un taux de **62.6 %**.

Plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes comme la nature des fibres, l'âge des plantes, l'état du sol et la durée de conservation du végétal après récolte. (**Bachiri et al.,2016**).

II.2.2. Détermination Du rendement de l'huile essentielle :

Le rendement d'huile essentielle extraite des plantes étudiées (*Lavandula dentata L.* et *Mentha rotundifolia L.*) Par la méthode de l'hydrodistillation est présentée dans la figure n° 52

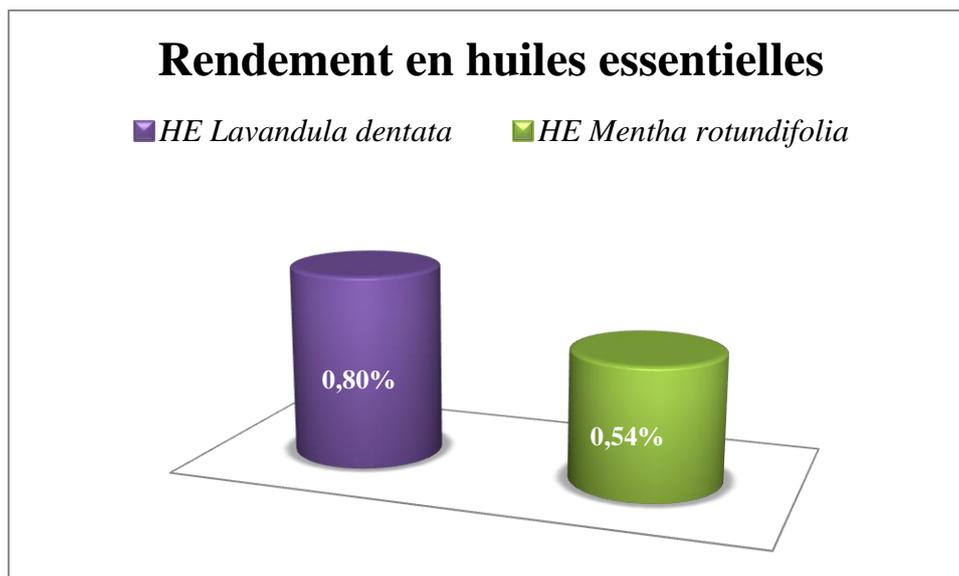


Figure 52 : Rendement des huiles essentielle de plantes étudiées.

Dans notre expérimentation, Le rendement en huile essentielle, extraite de la partie aérienne de *Lavandula dentata L.* est de **0.80 %**, ce rendement est le même trouvé par **Gamez et al. (1990)**, mais il est inférieur à celui qui a été trouvé par **Bachiri et al.,(2016)** dans la partie aérienne de la lavande dentée marocaine **2.9 %**.

Pour *Mentha rotundifolia L.*, Le rendement d'extraction d'huile essentielle est de **0.54%**, ce rendement est proche de celui trouvé par **Brahmi F. et al.(2016)** qui est de **0.49%**. Selon **Zhao et al. (2012)**, cette variation du rendement peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante, mais aussi pourrait être attribuée aux origines génétiques ayant évolué en raison des différences géographiques, environnementales, et également à la période de la cueillette de la matière végétale.

Les différences des rendements en huiles essentielles entre les espèces, peuvent être dues à diverses conditions, notamment, l'environnement, le génotype et l'origine géographique de la plante (**Smallfield, 2001**).

II.2.3. Caractère organoleptiques de l'huile essentielle :

L'hydrodistillation des parties aériennes déjà séchées de deux espèces étudiées nous a permis d'extraire des huiles essentielles dont les caractéristiques organoleptiques observées figurent dans le tableau n°5

Tableau 05: Les résultats du contrôle des paramètres organoleptiques de l'huile essentielle de *Lavandula dentata L.* et *Mentha rotundifolia L.*

Caracteristiques organoleptique	aspect	couleur	Odeur
<i>Lavandula dentata L.</i>	Liquide mobile huileux	jaune	Caractéristique, agréable, très camphrée
<i>Mentha rotundifolia L.</i>	Liquide mobile Légèrement huileux	Jaune pâle	Dégage une forte odeur caractéristique de menthe.

II.2.4. Détermination du rendement des polyphenols :

Après avoir calculé le rendement, les résultats sont présentés dans le graphe n°53

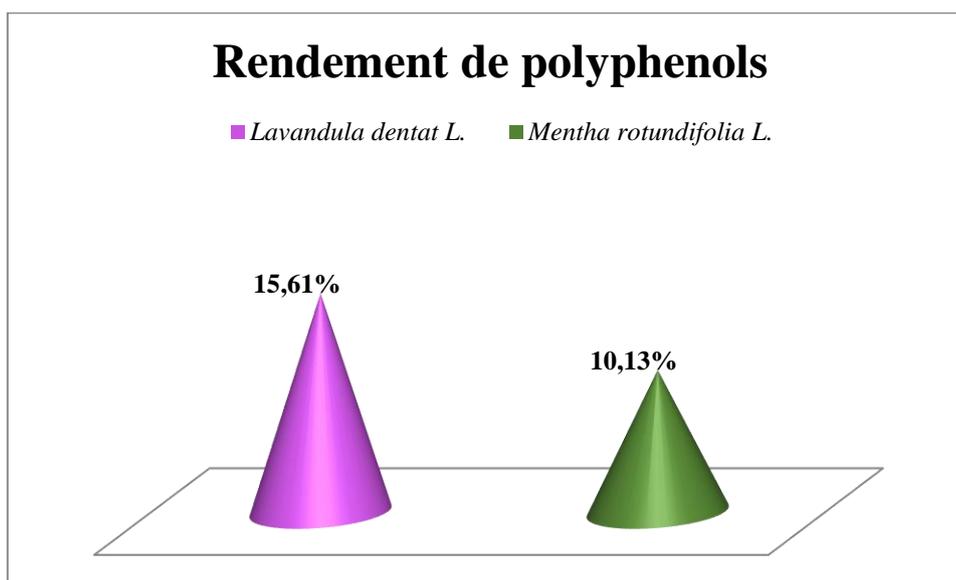


Figure 53 : Rendement de l'extraction par méthanol 100% pour les deux espèces étudiées

Nous constatons que le rendement en polyphenols totaux de extraire de la partie aérienne de *Mentha rotundifolia L.* est plus faible rendement (**10.13%**) que celui extraire de la partie aérienne de *Lavandula dentata L.* (**15.61%**).

II.2.5. Screening chimique :

Le screening phytochimique, effectué soit sur la poudre, soit sur l'infusé à 10% de la partie aérienne de *Lavandula dentata L.* et *Mentha rotundifolia L.*, nous a permis d'obtenir les résultats dans le tableau n° 06

Tableau 06: Résultats d'identification de métabolites secondaires des plantes étudiées.

Métabolite	<i>Lavandula dentata L.</i>	<i>Mentha rotundifolia L.</i>
Tanin catechique	+	+
Tanin galique	+	+
anthocyanes	-	-
Leuco-anthocyanes	-	-
Saponosides	+	+
Alcaloïdes	-	-
Flavonoïdes	-	-
Coumarines	+	+
Mucilage	-	+
glycosides	+	+

Le screening chimique de la partie aérienne de *Mentha rotundifolia.L.* et *Lavandula dentata L.* a révélé une richesse des composés chimiques tels que les Anthocyanes, Leuco-anthocyanes, des substances poly-phénoliques (Tanins cathéchiques et galliques), des Saponosides, des coumarines et des Glucosides, et l'absence totale des Quinones libres et combinés. Nous avons noté aussi l'absence des alcaloïdes et flavonoïdes dans les deux espèces. Concernant l'espèce *Lavandula dentata L.* Nos résultats concordent à ceux de **Haroune et Williams (2002)**, que le genre *Lavandula* est relativement riche en constituants phénoliques, et les anthocyanes.

Donc On peut dire que le nombre des molécules bioactives présentes chez *Lavandula dentata L.* et *Menntha rotundifolia L.* prouve leurs richesses et leurs potentialité en activités biologiques tel que Les tanins qui possèdent une forte activité antioxydante, ce sont de très bons piègeurs des radicaux libres et inhibent la formation du radical superoxyde. Et sont tenus comme bons remèdes dans le traitement des maladies respiratoires et contre la toux (**Bouchet et al., 2000**).

II.3. Activités biologiques :

II.3.1. Activité microbiennes des huiles essentielles des deux espèces étudiées :

La méthode de diffusion des disques (aromatogramme), nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de deux huiles essentielles des parties aériennes de *Lavandula dentata L.* et *Mentha rotundifolia L.* vis-à-vis des huit souches pathogènes testées. Les résultats sont présentés comme ceci :

II.3.1.1. Etude de l'effet antimicrobien d'huile essentielle de *Lavandula dentata L.* :

➤ Activité antibactérienne de *Lavandula dentata L.* :

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula dentata L.* sont présentés dans la figure 54

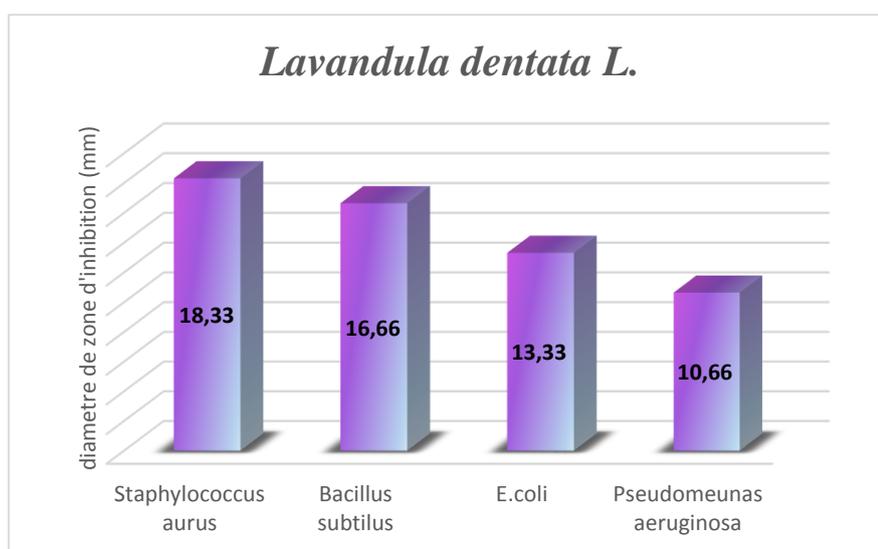


Figure 54 : Sensibilité observées chez les souches bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle de *Lavandula dentata L.*

D'après les résultats mentionnés dans la figure , nous remarquons que toutes les souches bactériennes testées sont sensibles au contact des huiles essentielles et les diamètres d'inhibition varient d'une souche à une autre. On constate que la sensibilité de l' E.H. de *Lavandula dentata L.* est plus remarquable chez *Staphylococcus aureus* (**18.33 mm**) et *Bacillus subtilis*(**16.66mm**) par rapport au *E. Coli* (**13.33mm**) et un faible effet inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa* (**10.66 mm**).

A partir de ces résultats on constate que les bactéries gram+ (*Staphelococcus a. et Bacillus subtilus*) sont plus sensible vis-à-vis l'huile essentielle de *Lavandula dentata L.* par rapport au bactéries gram- . ce qui est confirmé par les travaux de (Marino et al., 1999), (Inouye et al., 2002) et (Billerebeck et al., 2002) qui ont montré que les bactéries à Gram positif sont généralement plus sensible aux huile essentielles que les bactéries à Gram négatif.

Selon les travaux d'Imelouane et al. (2009) et N'Dédianhoua K. et al. (2014) qui ont trouvé une résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à huile essentielle de *Lavandula dentata* marocaine , ces résultats se rapprochent des notre ou on a enregistré une très faible activité antimicrobienne de l'ordre de **10.66mm** .

➤ **activité anti fongique de *Lavandula dentata L.* :**

L'activité antifongique des essences aromatiques du *Lavandula dentata L.* effectuée par la méthode d'aromatogramme, ont été testées sur des souches levuriformes et mycéliennes les résultats de ce test sont consignés dans la figure suivante.

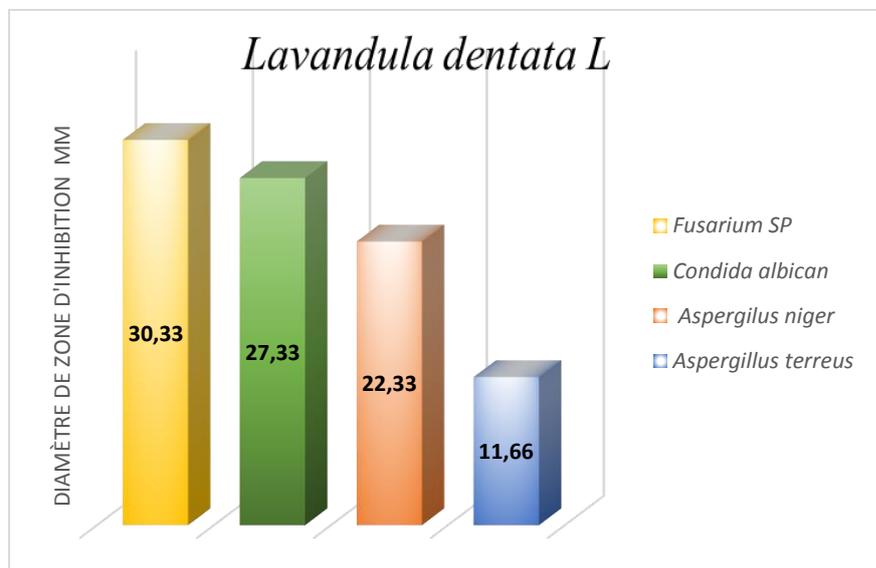


Figure 55: Activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Lavandula dentata L.*

En Observant les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Lavandula dentata*, on constate que cette dernière a une forte action inhibitrice contre les souches fongiques suivante : *Fusarium sp* , *Candida albicans*, *Aspergillus niger* avec un diamètre de zone d'inhibition présentées respectivement comme suit : **30.33 mm(Extrêmement sensible)** ,

27.33mm(Extrêmement sensible) et **22.33mm(Extrêmement sensible)**, d'autre part la souche fongique de *Aspergillus terreus* a montré une faible sensibilité contre l'huile essentielle de *Lavandula D.* qui manifeste une certaine résistance (**13mm**) en comparaison avec les autres moisissures testés .

Les résultats des études de **Mohhamedi et al. (2011)** sur la *Lavande stoechas* ont révélé une activité comparable sur les souches *fasarium sp.*

II.3.1.2. Etude de l'effet antimicrobien d'huile essentielle de *Mentha rotundifolia L.*

- **Activité antibactérienne de *Mentha rotundifolia L.*** : figure 56

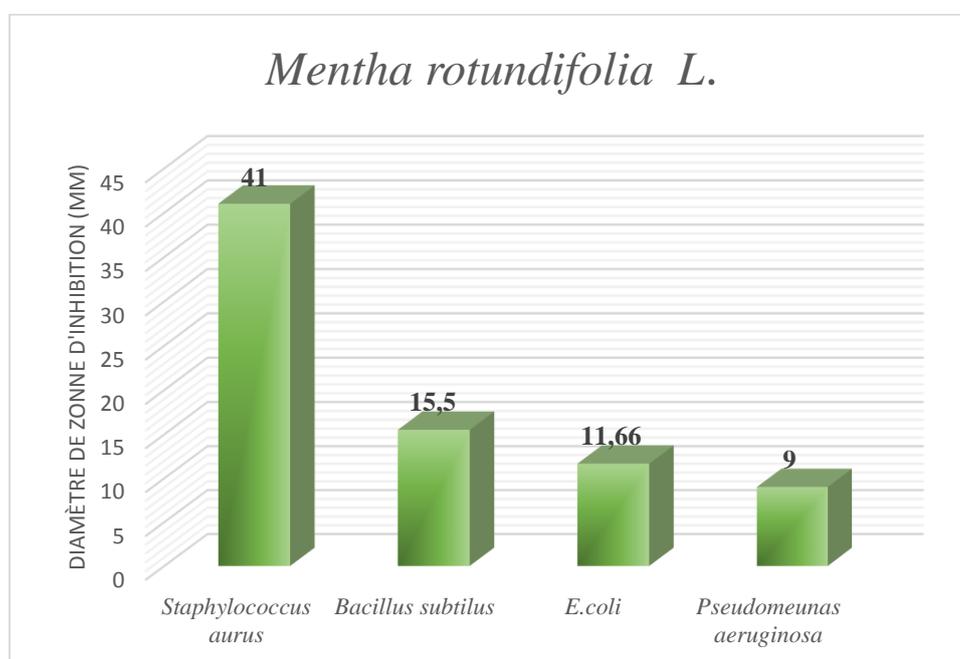


Figure56 : Sensibilité observées chez les souches bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia L.*

D'après les résultats mentionnés dans la figure précédente, nous remarquons que les l'huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* présentent une activité inhibitrice très forte vis-à-vis de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de **41mm)** de diamètre(**Extrêmement sensible**) ; et une inhibition moyenne pour *Bacillus subtilis* et *E. coli* avec une zone d'inhibition respectivement **(15mm)(très sensible)** et **(11.5mm)** (sensible); et enfin une résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* (**9mm**) contre l'huile testée.

Nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par (**Brhmi et al.,2016**) qui ont présentés une inhibition remarquable des deux souches *Staphylococcus aureus* (**21mm**) et *Bacillus subtilis* (**30mm**) Et une certaine résistance de la souches de *E. coli* (**11mm**) et *Pseudomonas aeruginosa* (**7mm**).

D'autres travaux cités par la bibliographie tel que (**Riahi L. et al.,2013**) qui ont révélé des résultats différents des nôtres avec une sensibilité de la souche *E. coli* à l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia L.* (**34 mm**) , et des résultats similaires pour *Staphylococcus aureus* (**24 mm**).

Les travaux de **Derwich H. et al. (2010)** indiquent que les souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont sensibles à l'HE de *Mentha rotundifolia L.* avec des zones d'inhibition de **45, 34 mm** respectivement.

Alors que, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* ont enregistré des zones d'inhibitions moins importantes de l'ordre de **17** et **14 mm** respectivement.

➤ **L'activité anti fongique de *Mentha rotundifolia L.* :**

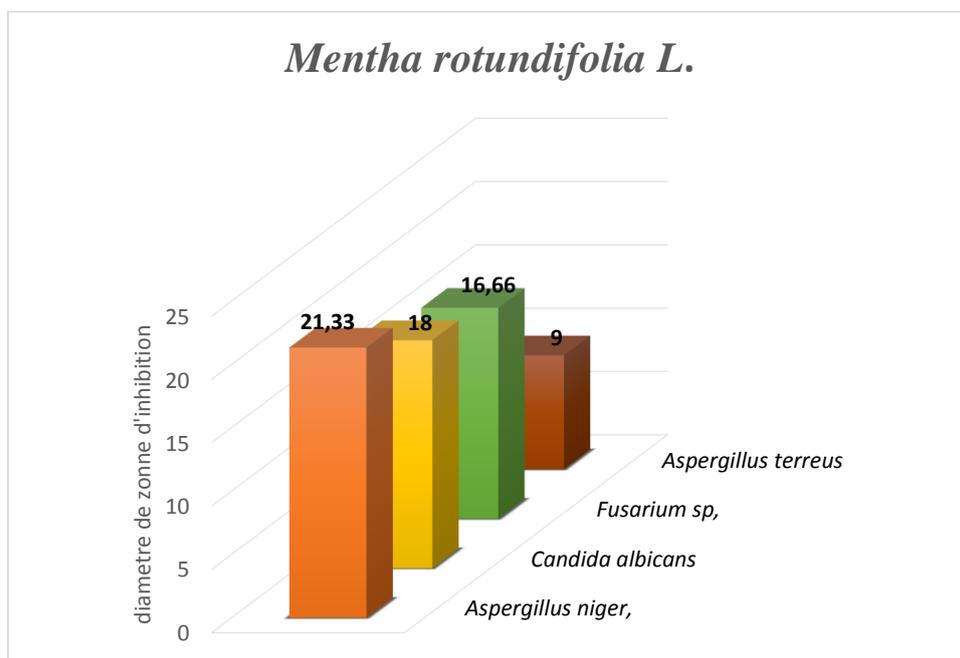


Figure 57: Sensibilité o souches fongiques vis-à-vis de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia L.*

Nous remarquons que l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia L.* a un pouvoir antifongique remarquable contre les trois espèces suivante : *Aspergillus niger*, *Candida albicans* et *Fusarium*

sp, contrairement pour l'espèce *Aspergillus terreus* qui a montré une résistance contre l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* L.

En ce qui concerne les souches fongiques les travaux de **Riahi L. et al.,2013** ont révélé des résultats semblables avec des zones d'inhibition pour *Candida albicans* (**21 mm**) et (**23 mm**) pour *Aspergillus niger*.

II.3.2. Activité antioxydante :

Les résultats du pouvoir antioxydant des extraits aqueux et les polyphénols des deux plantes étudiées (*Lavandula dentata* et *Mentha rotundifolia*) par la méthode de piégeage du radical.

libre DPPH sont illustrés dans les figure 58

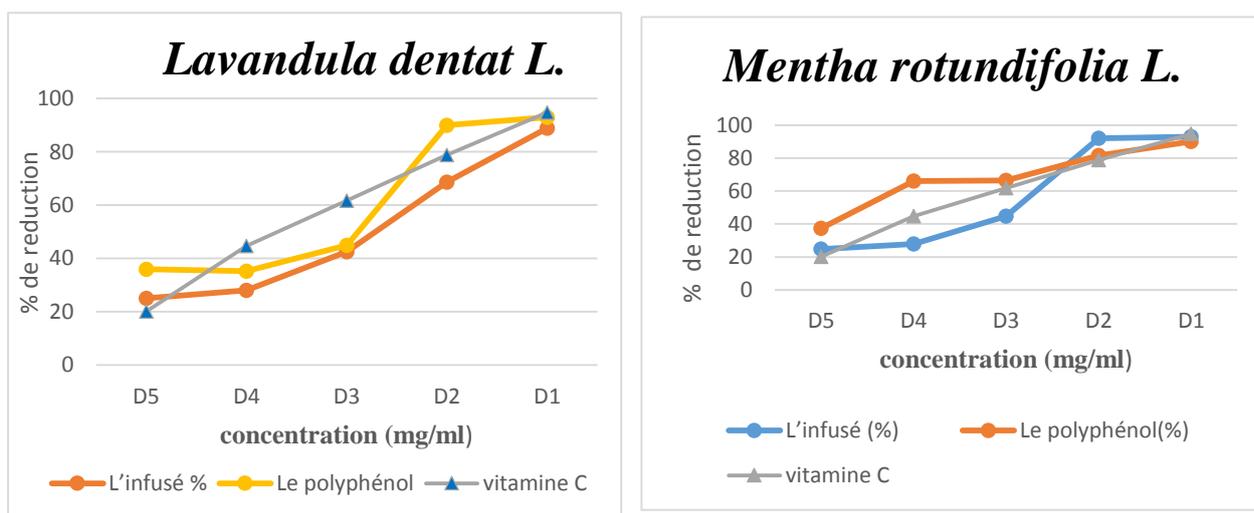


Figure 58: Pourcentage de réduction du radical libre de DPPH

D'après ces figures, nous constatons que les polyphénols de *Lavandula dentata* L. et ceux de *Mentha rotundifolia* L. possèdent un pouvoir d'inhibition très important de l'ordre de **90.2%**, **93.2%** respectivement, pour la solution la plus concentrée (Dilution 1/10^{ème}).

Ces valeurs sont très proches à celles du produit de référence (l'acide ascorbique) qui donne un pourcentage de réduction de **94.99%**.

De Même, les extraits aqueux des deux plantes étudiées ont montré une activité antiradiculaire remarquable comparée à la solution de référence (**vit C**) qui est de **88.9%** pour la menthe à feuille rondes et un taux d'inhibition de l'ordre de **93.1 %** pour la lavande dentée.

❖ Détermination de IC 50 :

Le calcul des concentrations inhibitrices à 50 % (IC50) est déterminé graphiquement, les résultats sont renseignés dans le tableau suivant :

Tableau 07: Concentrations inhibitrices à 50 % (IC50) des extraits testés.

L'espèce	infusé	Extrait des polyphénols
<i>Mentha rotundifolia L.</i>	1,175 mg/ml	0,7mg/ml
<i>Lavandula dentata L</i>	0,95 mg/ml	0,0115mg/ml
Vitamine C	0.608mg/ml	

La capacité antioxydante des deux extraits (polyphénols et extrait aqueux) de deux plantes (*Mentha rotundifolia L.* et *Lavandula dentata L.*) a été déterminée à partir de l'IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Hobi & Eddouks, 2016).

Nous avons déterminé graphiquement l'IC50 pour chaque extrait, pour l'extrait poly-phénolique du *M. rotundifolia L.* a présenté une IC50 de l'ordre de **0,7mg/ml** inférieur à celui de l'infusé aqueux qui est d'ordre de **1,175 mg/ml**. En ce qui concerne *Lavandula dentata L.* l'extrait des polyphénols a présenté un IC 50 de l'ordre de **0.0115mg/ml** alors que celui de l'extrait aqueux est de **0.95mg/ml**.

Egalement, le IC50 de l'extrait des polyphénols de *Lavandula dentata L.* (**0.0115mg/ml**) a été meilleur que celui obtenu pour le produit de référence **Vit C (0.608mg/ml)**.

En ce qui concerne l'espèce de *Lavandula dentata L.* Les travaux de **Bettayeb rebey et al.; (2017)** ont démontré un effet anti-radicalaire de cette espèce avec des variations statistiquement significatives en fonction de l'organe étudié. En effet, les extraits des racines sont par excellence les plus intéressants avec des IC50 ne dépassant pas **50.36 µg/ml** puis en deuxième position les extraits de tiges (**IC 50 : 178.7 µg/ml**) et enfin les extraits des feuilles en dernier (**IC50 :200.8µg/l**). Egalement, notre résultat est plus importante que celui obtenu par **Bettayeb rebey et al. (2017)**, car les polyphénols de *Lavandula dentata L.* ont donné un résultat de IC50 de

l'ordre (**0.0115 mg/ml=11.5 µg/ml**) ce dernier est plus réduit de celui de **Bettayeb rebey et al. (2016)** qui est de l'ordre de **50.36 µg/ml**.

D'autre part, **Brahmi et al. ;2016** ont utilisé la méthode la capacité de piégeage des radicaux de (ABTS+) sur l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia L.* et ils ont eu un résultat de IC50 de l'ordre de **138.2 ug/ml**. Ce résultat est meilleur par rapport le IC50 présenté par les polyphénols de notre *Mentha rutandifolia L.* (IC : 0.7mg/ml=700ug/ml).

II.3.3.Activité antalgique :

Les résultats de l'activité antalgique de l'extrait aqueux de *Lavandula dentata L.* et *Mentha rotundifolia L.* par le test de LEVY basé sur la douleur provoquée par l'acide acétique (Test de crampes), sont présentés dans le Tableau n°08

Tableau08: la moyenne des crampes et le pourcentage du protection des souris traitées par les infusés des deux plantes el le produit de référence

	<i>Lavandula dentata L.</i>	<i>Mentha rotundifolia L.</i>	Témoin(+)	Temoin (-)
Moyenne des crampes	6,8	11,4	5,8	19,4
% de réduction	65%	41%	70%	—

A partir du tableau, nous constatons que l'infusé du *Lavandula dentata L* s'avère plus efficace avec un pourcentage de protection de crampe de **65%**. Ce résultat est proche de celui obtenu par le produit de Ibuprofène qui a enregistré un pourcentage de protection des crampes de **70 %**. Alors que le pourcentage de protection pour le lot de souris traité par l'infusé de *Mentha rotundifolia L.* s'avère plus réduit de l'ordre de **41%**.

Des résultats similaires ont été rapportés dans plusieurs travaux ,qui indiquent la présence d'une activité antalgique importante chez d'autres espèces du même genre tel que :

Les travaux de **Hajhashemi V. et al.,2003**, l'effet analgésique des différents extraits obtenus à partir de feuilles de *Lavandula angustifolia* (fraction poly phénolique, huile essentielle, extrait hydro alcoolique) ont été évalué par le Writhing test et ont démontré un effet positif de réduction des spasmes abdominaux chez des souris de laboratoire. Un effet anti-œdème aussi a été démontré sur le même extraits

Aussi **Husseini Y. et al.; 2016**, démontre que l'extrait hydro alcoolique de *Lavandula officinalis* produit un effet analgésique significatif par modulation de la sécrétion de COX2.

D'autre part **Yousef A. Taher (2002)** ont démontré un effet analgésique significatif de l'extrait aqueux de *Mentha piperita* avec des pourcentages de protection de 51,79 % qui est proche du résultat obtenue par *Mentha rotundifolia L.* dans notre expérimentation avec un pourcentage de protection de l'ordre de **41 %**.

D'autres espèce de menthe ont fait l'objet d'étude de l'activité antalgique tel que *Mentha arvensis* (**VijayKumar,et al.;2012**) et *Menthas picata* (**Md Hajjaj Yousuf et al.,2013**) qui ont révélé un effet analgésique sur des souris de laboratoire comparable au principe actif ketorolacun AINS de référence.

II.3.4.Activité anti-inflammatoire :

Le but de ce test est la mesure de l'activité anti-inflammatoire des infusés des espèces étudiés. Pour cela nous avons déterminé le pourcentage de réduction d'œdème provoqué par une inflammation des pattes de souris suite à l'application d'un produit irritant à base de carragénine.

Les résultats obtenus pour cette activité sont représentés dans la figure suivante :

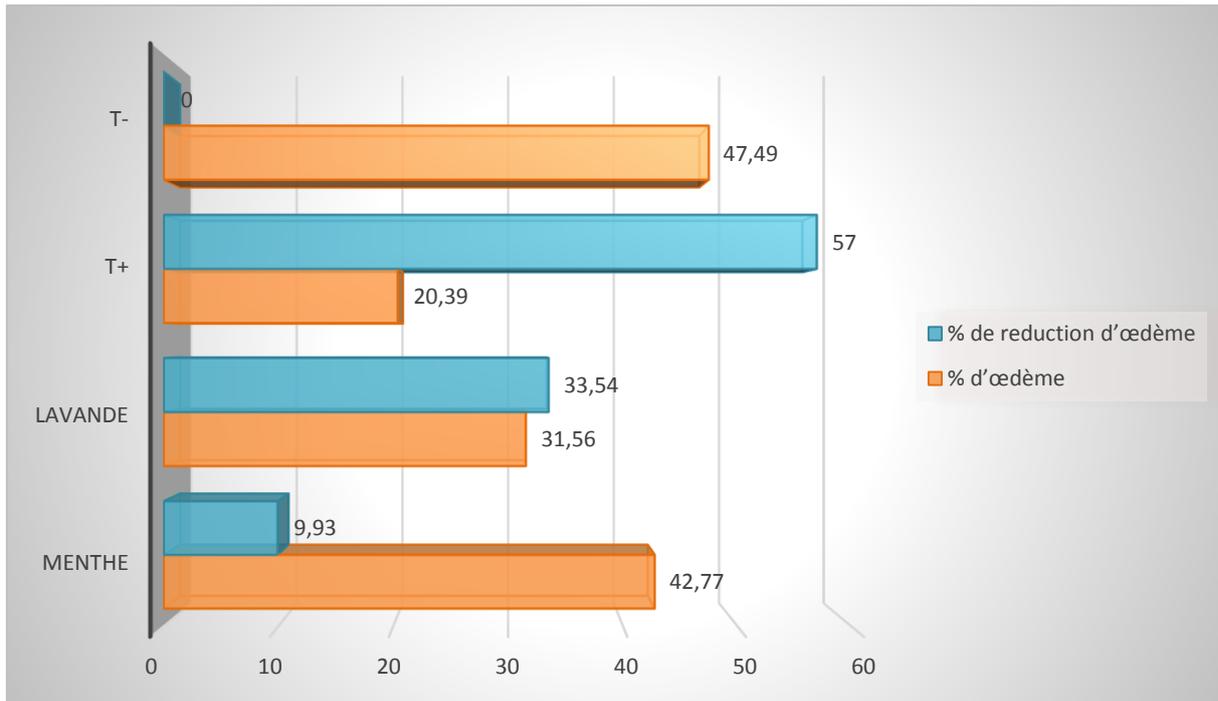


Figure59 : Pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les 4 lots testés.

D'après la figure précédente, nous remarquons que les pourcentages d'œdème enregistrés sont de **20,39%** pour Diclofénac[®], **31,56%** pour l'infusé de *Lavandula dentata* L. et **42,77%** pour l'infusé de *Mentha rotandifolia* L. comparé au lot traité par l'eau physiologique qui a enregistré un pourcentage de **47,49%**.

Egalement, nous remarquons que l'infusé de *Lavandula dentata* L. administrés par voie orale, marquent une réduction appréciable de l'œdème des pattes gauches postérieures avec un taux de **33,54 %**, comparé au lot traité par le produit de référence Diclofenac qui a enregistré un taux de 57%. En ce qui concerne le lot traité par *Mentha rotandifolia* L. le taux de réduction d'œdème est très faible de l'ordre de **9,93 %**.

Selon les travaux de (Algieri F. et al., 2016) sur *Lavandula dentata* L., un effet anti-inflammatoire par la méthode d'œdème induit par la carragénine chez des souris de laboratoire a été mis en évidence, qui serait dû à l'inhibition de la sécrétion des enzymes impliquées dans l'inflammation tel que MMP-9 et COX -2 et Cytokines pro-inflammatoires.

Ainsi que d'autre travaux réalisés sur *Lavandula officinalis* qui appartient au même genre de *Lavandula dentata* L., démontre que l'extrait hydro alcoolique de *Lavandula officinalis* produit anti-inflammatoire significatif (Husseini y. et al.; 2016).

Selon les travaux de (Zhenliang Sun et al.;2014) sur *Mentha piperita* poussant en Chine une activité anti-inflammatoire a été démontrée en comparaison avec un AINS de référence l'indométacine sur un modèle animal par la méthode de l'œdème induit .

Ainsi qu'une activité anti-inflammatoire de *Mentha spicata et Mentha piperita* a été mise en évidence par (Patwary Md Hajjaj Yousuf et al.,2013) et (Atta et Lkofahib ,1998) par la méthode de l'œdème induit .

II.3.5. Activité hypoglycémisante :

Les résultats de l'effet hypoglycémiant post- prandial des infusés de deux espèces étudiées : *Lavandula dentata L. et Mentha rotundifolia L.* sur des lapins en état d'hyperglycémie par une solution glucosée à 50% à une dose active de 4g/kg sont rassemblés dans La figure n°60

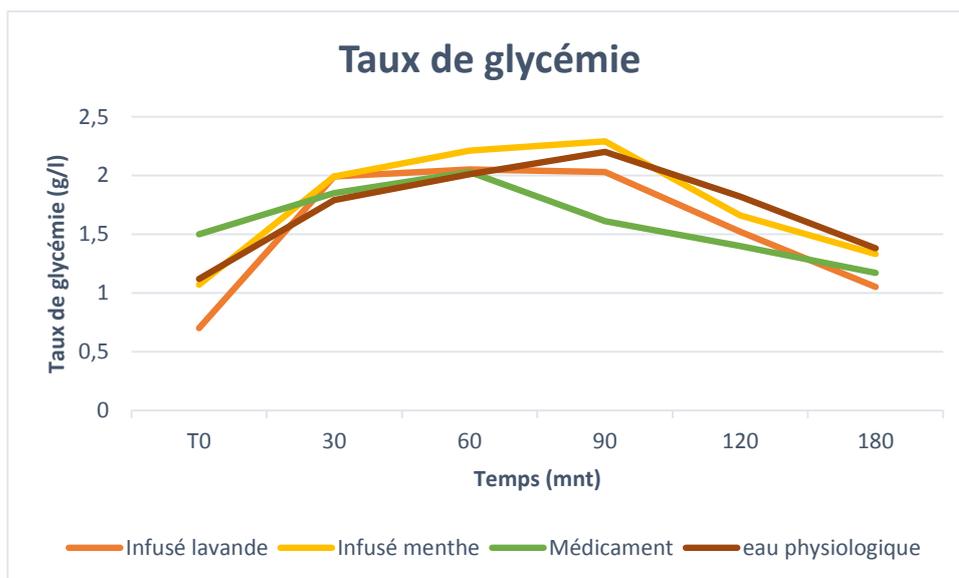


Figure60 : variation de la glycémie dans les différents lots des lapins en fonction du temps.

A **T₀** et après le gavage de la solution glucosée à 50% nous avons constatés une augmentation significative de la glycémie pour tout les lots.

A **T₁** '30min on a appliqué les différents traitements aux différents lots étudiés :lot traité par le produit de références Glibenclamide® les deux lots traités par l'infusés des espèces étudiées (*Lavandula dentata L. et Mentha rotundifolia L.*)

Concernant le témoin positif , le lot traité par Glibenclamide®, nous avons constatés que la glycémie augmente à un maximum de 2.03 g/l atteint au bout de 1 heure à partir de la quelle la glycémie va diminuer progressivement jusqu'au retour à la glycémie initiale au bout de 2 heures.

Pour les lots traités par les infusés des plantes nous avons constaté que la glycémie maximale ne dépasse pas 2.05 g/l pour le lot traité par la lavande et ne dépasse pas 2.29 pour le lot traité par l'infusé de *Mentha rotundifolia L.* , ceci démontre que les infusé des deux plantes ont un effet anti-hyper glycémiant empêchant ainsi la glycémie d'atteindre des valeurs plus élevées.

La diminution de la glycémie commence à partir de 1h pour le lot traité par la lavande comparable à celui du médicament hypoglycémiant qui est aussi de 1 heure, alors que celui de la menthe ne commence qu'à partir de 1heure30 min .Ceci explique que l'effet hypoglycémiant de l'infusé de la lavande est plus prononcé que celui de l'infusé de la menthe

le retour à la glycémie physiologique est d'allure plus rapide au bout de 120 mn , le lot témoin traité par glymépiride qui enregistre une valeur de (1.53 g/l) et le lot traité par l'infusé de la lavande un taux de 1.44g/l. alors que pour la menthe l'allure est plus lente et ne commence à enregistrer des valeurs physiologiques qu'à partir de 180 mn pour une glycémie de 1.33g/l.

Enfin les glycémies physiologiques de 1.05g/l pour la lavande et 1.17 g/l pour le médicament sont enregistrées à 180 mn.

(Bnouham M. et al ,2002) ont cité que *Lavandula dentata L.* présente une activité hypoglycémiant. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Orch et al., (2015), qui a souligné que *Lavandula dentata L.* intervient dans l'équilibre glycémique.

(Sebai h.et al., 2013) démontre que HE de *lavandula stoechas* un effet protecteur contre le diabète et le stress oxydatif produit par l'Alloxane.

Les travaux de (Hernandez-Galicia E. et al. ;2002)ont mis en évidence que l'extrait de *Mentha piperita L.* possède une activité hypoglycémiant.

II.4.La formulation galénique :

Les crèmes formulées ont été vues au microscope optique grossissement X 100

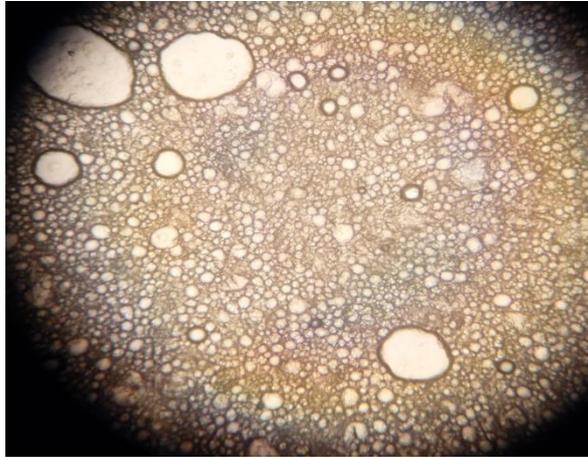


Figure 61 :Vue de la crème de *Lavandula dentata L.* sous le microscope optique GX100(Original 2017)

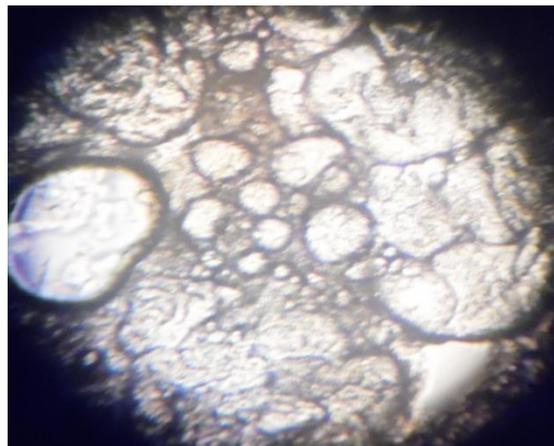


Figure 62 : Vue de la crème de *Mentha rotundifolia* sous le microscope optique GX100(Original 2017)

La photo microscopique montre une dispersion homogène de la phase dispersée dans la phase dispersante par de petits globules homogènes et monodispersés ce qui témoigne de la stabilité de la crème dans le temps .

INTRODUCTION

Partie

bibliographique

Chapitre I :
Les plantes aromatiques et médicinales

Chapitre II :
Huile essentielle et polyphénols

Chapitre III :
Les plantes étudiées

Partie expérimentale

Chapitre I :

Matériels et méthodes

Chapitre II :

Résultats et discussion

Conclusion et perspectives

Annexes



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB. BLIDA**



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

MEMOIRE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master II en Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques et des produits naturels

THEME

Etude phytochimique et évaluation de quelques activités biologiques
de deux plantes de la famille des lamiacées : *Lavandula dentata* L. et
Mentha rotundifolia L.

Date de soutenance :
Le 20/09/2017

Présenté par :

ABDOUNI Fatima

MAHIEDDINE Meriem

Devant le jury composé de :

Mme HAMICHE A.	MCA	USDB	Présidente.
Mme. BELGUENDOZ R.	MCA	USDB	Examinatrice.
Mme AYACHI N.	MAA	USDB	Promotrice

Promotion : 2016-2017

Abstract

The aim of our work is to study two well-known and replicated species in Algeria: *Lavandula dentata L.* and *Mentha rotundifolia L.* in order to provide botanical, chemical and biological knowledge about the two species. The preliminary phytochemical analysis has confirmed the presence of a series of secondary metabolites. The extraction of the essential oil by hydrodistillation from the aerial part of the two plants studied gave a yield of **0.80%** for *Lavandula dentata L.* and **0.54%** for *Mentha rotundifolia L.* the polyphenolic extract from the areal part of *Lavandula dentata L.* and *Mentha rotundifolia L.* gived yield of **15.61 %** and **10.13 %** respectively. Concerning The pharmacological tests showed The study of the qualitative antimicrobial activity of essential oils on bacterial and fungal strains is demonstrated by the aromatogram method revealed that a the major strains tested showed sensitivity for the essential oils of the two species except that, *Aspergillus niger* and *pseudomonas aeruginosa* have shown resistance against the essential oil of *Mentha rotundifolia L.*, that the infused tested had an anti-inflammatory effect of **33.54%** for *Lavandula dentata L.* an effect of **9.93%** for *Mentha rotundifolia L.*; For the antioxidant activity of the two extracts (polyphenols and infused), very good results were obtained with an advantage for polyphenols with an **IC 50** of the order of **0.7 mg/ml** for *Mentha rotundifolia L.* and **0.0115 mg/ml** for *Lavandula dentata L.*; Concerning the analgesic effect, the tested infused showed a percentage reduction of about **65%** for toothed lavender and **41%** for round-leaved mint. Concerning the evaluation of the hypoglycemic effect in rabbits made diabetic by induction of 50% glucose overload showed that oral administration of the *Lavandula dentata L.* infused caused a significant decrease in glucose (**1.05g/l**) comparable to that of the reference medicinal product.

Keywords: *Lavandula dentata L.* , *Mentha rotundifolia L.*, essential oil, polyphenolic extract, infused, pharmacological tests .

Résumé

Le but de notre travail est d'étudier deux espèces très connues et répandues en Algérie ; il s'agit de la lavande dentée (*Lavandula dentata* L.) et la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia* L.) .En vue d'apporter des éléments de connaissance botaniques, chimiques et biologiques relatives aux deux espèces .L'analyse phytochimique préliminaire a permis d'affirmer la présence d'une série de métabolites secondaires. L'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne des deux plantes étudiées par hydrodistillation a donné un rendement de **0,80%** pour *Lavandula dentata* L. et de **0,54%** pour *Mentha rotundifolia* L. Les essais pharmacologiques ont montré que les infusés testés possèdent un effet anti-inflammatoire de **33,54%** pour *Lavandula dentata* L. et un effet de **9,93%** .pour *Mentha rotundifolia* L. L'étude de l'activité antimicrobienne qualitative des huiles essentielles sur des souches bactériennes et fongique est mise en évidence par la méthode des aromatogrammes et, a révélé que toutes les souches testées ont présentées une sensibilité envers les huiles essentielles des deux espèces ; sauf pour *Aspergillus niger* et *pseudomonas aeruginosa* qui ont montrés une résistance totale à l'huile essentielles de *Mentha rotundifolia* L. Pour l'activité antioxydante des deux extraits (polyphénols et infusé), ont révélé de très bon résultats avec un avantage pour les polyphenols qui ont donné un **IC50** de l'ordre de **0,7mg/ml** pour *Mentha rotundifolia* L. et **0,0115mg/ml** pour *Lavandula dentata* L. ; En Ce qui concerne l'effet antalgique les infusées testées ont montré un pourcentage de réduction de l'ordre de **65%** pour la lavande dentée et **41%** pour la menthe à feuilles rondes. L'évaluation de l'effet hypoglycémiant chez des lapins rendus en état d'hyperglycémie par une surcharge de glucose à 50%, a montré que l'administration orale de l'infusé de *Lavandula dentata* L. provoque une diminution importante du taux de glucose (**1.05 g/l**) dans le sang comparable à celui du médicament de référence.

Mots clés : *Mentha rotundifolia*, *Lavandula dentata* L, Polyphénols, Infusé, Huile essentielle, Activité biologique.

Sommaire

Résumé.

Liste des abréviations.

Listes des figures.

Liste des tableaux.

Glossaire

Introduction1

Partie bibliographique

Chapitre I : Les plantes médicinales et aromatiques

I.1. Définition.3

I.2. Métabolites secondaires.3

I.2.1. Définition des principes actifs.3

I.2.2. Principaux composants actifs des plantes.3

I.3. Phytothérapie.4

I.3.1. Définition.4

I.3.2. types des phytothérapies5

Chapitre II : Huiles essentielles et polyphénols :

II.1 HUILES ESSENTIELLE.6

II.1.1. Définition.6

II.1.2. Localisation des HE dans la plante.6

II.1.3. Caractères et propriétés physiques7

II.1.4. Propriétés chimiques.7

II.1.5. Principaux modes d'extraction.8

II.1.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.10

II.1.7. Toxicité des huiles essentielles.	11
II.2. polyphenols	
II.2.1.Généralités.....	11
II.2.2.Principaux classes des polyphenols.....	12
II.2.2.1. flavonoïdes.....	12
II.2.2.2. Acides phénoliques.....	12
II.2.3. Rôle des polyphenols.....	13
CHAPITRE III. les plantes étudiées	
III.1.Généralités sur les lamiacées.	15
III.2.Generalités sur le Genre <i>Lavandula</i>	15
III.3.Espèce <i>Lavandula dentata L.</i>	16
a. Description Botanique.....	16
b. Systématique.....	17
c. Classification.....	17
d. Répartition géographique.....	17
e. Propriétés et utilisation.....	18
III.4.Generalités sur les Menthes	18
III.4.1. Menthe à feuilles rondes <i>Mentha rotundifolia L.</i>	19
a. Description botanique.....	20
b. Systématique.....	21
c. Classification	21
d. Répartition géographique.....	21
e. propriétés et utilisation.....	22
III.5. Rappel sur les activités étudiées	
III.5.1.activité antimicrobienne	23
III.5.2.activité anti-oxydante.....	24
III.5.3.activité anti-inflammatoire	25

III.5.4. activité hypoglycémiant	26
III.5.5. activité antalgique	27

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthode

I.1. Matériel :

I.1.1 Matériel non biologiques :	31
I.1.2. Matériel biologique	32
I.1.2.1. Matériel végétal	32
I.1.2.2. Souches microbiennes utilisées	35
I.1.2.3. Matériel animal	35
I.2. Méthodes	36
I.2.1.1. Identification des espèces étudiées	36
I.2.2. Etude botanique	36
I.2.3. Détermination de teneur en eau	38
I.2.4. Extraction des huiles essentielles	38
I.2.4.1. Principe de méthode d'extraction	38
I.2.4.2. Mode opératoire	38
I.2.4.3. Rendement d'huile essentielle	39
I.2.5. Préparation de l'infusé	40
I.2.6. Extraction des polyphénols	40
I.2.5.1. Rendement de l'extrait	41
I.2.7. Screening chimique	42
I.2.8. Activités biologiques	43
I.2.8.1. Activité microbiennes de H.E.	43
I.2.8.2. Activité antioxydant	47
I.2.8.3. Activité anti-inflammatoire	49

I.2.8.4. Activité antalgique	52
I.2.8.5. Activité hypoglycémiant.....	54
1.2.9. formulation galénique.	56

Chapitre II : Résultats et Discussion

II. 1. Résultat de l'étude botanique des deux plantes.....	58
II.1.1. Etude macroscopique.	58
II.1.2. Etude microscopique.	59
II.2. Résultats de l'étude phytochimique. .	70
II.2.1. Détermination de la teneur en eau .	70
II.2.2. Détermination de rendement de l'huile essentielle.	70
II.2.3. Caractère organoleptiques de l' huile essentielle.	71
II.2.4 Détermination de rendement des polyphénols.	72
II.2.5. Screening chimique.	73
II.3. Activités biologiques.	73
III.3.1. Activité antimicrobienne.	74
III.3.2. Activité anti-oxydante.	78
II.3.3 .Activité. antalgique.	80
II.3.4. Activité anti-inflammatoire	81
II.3.5. Activité hypoglycémiant.	83
II.3.6. Résultat de la formulation galénique	85
-Conclusion.	86
- Références bibliographiques.	
-Annexe.	

الملخص

الهدف من عملنا هذا هو دراسة نوعين نباتيين بريان ينموان في الجزائر يستعملان في الطب التقليدي ويتعلق الأمر بالنوعين النباتيين *Mentha rotundifolia L.* و *Lavandula dentata L.*

و هذا من أجل توفير عناصر المعرفة النباتية والكيميائية والبيولوجية المتعلقة بهذا النوعين. وقد أكد التحليل الكيميائي النباتي الأولي وجود سلسلة من الفئات الكيميائية المختلفة في النوعين المدروسين.

وقد أعطى استخراج الزيوت الأساسية من الجزء العلوي للنوعين المدروسين عن طريق تقنية التقطير ببخار الماء مردودا قدره **0.80%** فيما يخص *Lavandula dentata L.* ومردودا قدره **0.54%** بالنسبة لـ *Mentha rotundifolia L.*

وبعد القيام بعدة تجارب صيدلانية تحصلنا على النتائج التالية: كشف تقييم نشاط المضاد الميكروبات من خلال طريقة *aromatogramme*, إن الزيت الأساسي لـ *Mentha rotundifolia L.* و *Lavandula dentata L.* له وجه مثبط لجل السلالات البكتيرية و الفطرية المجربة ما عدا النوعين *Aspergillus niger* و *Pseudomonas aeruginosa* اللذان أظهرتا مقاومة ضد الزيت الأساسي لـ *Mentha rotundifolia L.*

كما أن النتائج المحصل عليها تبين أن للنبتتين تأثير مضاد للالتهاب بنسبة **33.54%** بالنسبة لـ *Lavandula dentata L.* و بنسبة **9.93%** بالنسبة لـ *Mentha rotundifolia L.* وقد اكتشفنا أن للنبتتين مفعول مسكن ملحوظ حيث سجلت نسبة تسكين تقدر بـ **65%** للنوع *Lavandula dentata L.* ونسبة **41%** للنوع *Mentha rotundifolia L.*

و قد تم الحصول على نتائج جيدة جدا بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة للمستخلصين (المستخلص المائي و البوليفينول) مع أفضلية للبوليفينول بنسبة **IC 50** تقدر بـ **0.0115 مغ/مل** للنوع *Lavandula dentata L.* ونسبة **0.7 مغ/مل** للنوع

Mentha rotundifolia L.

فيما يخص نتائج فحص نسبة السكر في الدم لاحظنا أن الأرانب المعالجة بالمستخلص المائي *Lavandula dentata L.* أبدت انخفاضا كبيرا في مستوى السكر في الدم بنسبة **1.05 غ/ل** و هذه النسبة أفضل من النتيجة المسجلة من طرف المنتج الطبي المرجعي بنسبة **1.17 غ/ل**.

الكلمات المفتاحية

Lavandula dentata L. , *Mentha rotundifolia L.* , التجارب الصيدلانية. , البوليفينول, الزيت الأساسي

المستخلص المائي.