

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

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA

F.S.D.....N° D'ordre :



Faculté des Sciences
Département de Chimie

Mémoire Présenté par

BOURIAHI NABILA

En vue de l'obtention
Du diplôme de *Master en chimie*

Option : Chimie des Substances Naturelles

THEME

**Contribution à l'étude de la composition chimique
et de l'activité biologique de l'espèce
Satureja calamintha (Lamiaceae)**

Soutenu le 29 septembre 2015, devant le jury composé de :

M^{me} Y. Deghbouche
M^{me} Z. Chemat
M^{me} O. Touafek

Professeur à l'Université de Blida
MCA à l'Université de Blida
MCB à l'Université de Blida

Président
Examinatrice
Promotrice

Promotion 2015-2016

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes qui se sont sacrifiées pour que je grandisse avec un savoir faire et qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras, et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, sans lesquels je n'y serais jamais parvenue et qui je ne remercierais jamais assez, mes très chers parents.

A mes chers frères: mouhamed et bilal.

A mes soeurs: chérifa et soumia, à l'épouse de mon frère karima

A ma poupée adorable ma petite soeur samra

A mes petits cousins qui j'adore beaucoup : sofiane, méryame, batoul, ridha, djihane et riadhe.

A la mémoire de mon grand-père et ma grand-mère qui m'a toujours aimé et comblé par ses bénédictions, que dieu le tout puissant les accueille en son vaste paradis.

A mes chers oncles, tantes, cousins, cousines et leurs petits enfants. .

A mes proches amies qui ont été comme mes soeurs: yasmine, rekaya, djamila et Sali .

A mes collègues et spécialement tous les étudiants du master 2 chimie des substances naturelles, je m'oublierai jamais les moments quand a passé ensemble.

A ma grande famille et A tous ceux qui aiment Nabila.

Remerciements

Je tiens en premier lieu à remercier dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et le courage qu'il m'a donné pour suivre mes études.

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements et ma vive reconnaissance à Madame TOUAFEK Ouassila, Maitre de Conférences à l'université de Blida pour sa disponibilité, son encouragement et la confiance qu'elle m'a accordé tout au long de ce travail de recherche.

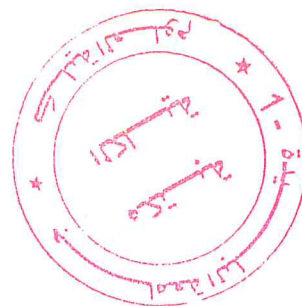
Je tiens à remercier vivement Monsieur M. EL HATTAB, Professeur à l'université de Blida, pour le grand honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance de mémoire ainsi que pour l'aide en faisant l'analyse HPLC.

Mes remerciements vont également à madame Z. CHEMAT, Maitre de Conférences à l'université de Blida, d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie sincèrement Madame SALMA, biologiste au laboratoire d'hygiène de wilaya de BLIDA, M^{elle} S. Hamiche et les techniciens du laboratoire N°2 de l'université de Blida.

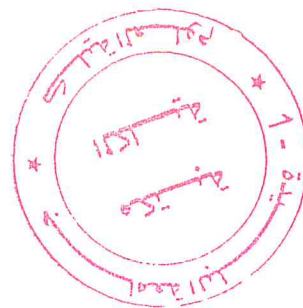
Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance pour tous les enseignants qui ont contribué à ma formation et à tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Abréviations



- Abc: Absorbance
AcOEt : acétate d'éthyle.
AcOH : acide acétique.
AFNOR: Association Française de Normalisation.
ARP : Puissance Anti-Radicalaire(ou puissance antioxydante)
BuOH: butanol
C: concentration
CCM :Chromatographie sur Couche Mince
CE50: Concentration efficace médiane
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EAc: extrait acétate d'éthyle
EB: extrait butanolique
EE: extrait éthanolique
EH: extrait hexanique
HE: Huile essentielle
HCl: Acide Chlorhydrique
IA: indice d'acide
IE: indice d'ester
IS: indice de saponification
KOH: Hydroxyde de potassium.
MH: Muller Hinton
mg: milligramme
 μg : microgramme
nm: nanomètre
Rf: Rapport Frontal
SM: solution mère
UV: Ultra-Violet

Sommaire



Introduction générale.....	1-2
----------------------------	-----

Chapitre I : Aperçu bibliographique

I-Généralités sur les Lamiacées.....	3
II-Aperçu bibliographique sur le genre <i>Satureja</i>	
1-Présentation botanique du genre <i>Satureja</i>	3
2-La répartition géographique du genre <i>Satureja</i>	3
3-La classification dans la systématique.....	3
4-Propriétés thérapeutiques.....	4
5-Travaux antérieurs sur les huiles essentielles de quelques espèces du genre <i>Satureja</i>	4
6-Travaux antérieurs sur les métabolites secondaires de quelques espèces du genre <i>Satureja</i>	7
III- Aperçu bibliographique sur l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	
1-Présentation de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	8
2-Description botanique de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	9
3-Répartition géographique.....	9
4-Propriétés thérapeutiques.....	9
5-Composition de l'huile essentielle de <i>Satureja calamintha</i>	10

Chapitre II : Etude de la composition chimique de l'espèce

Satureja calamintha

I-Extraction de métabolites secondaires de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	13
1-Matériel végétal.....	13
2-Protocole d'extraction.....	13
II-Extraction de l'huile essentielle	
1-Protocole expérimental.....	17
2-Calcul du rendement de l'huile essentielle.....	19
3-Propriétés physico-chimiques et organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Satureja calamintha</i>	19
III- Analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	23

IV- Screening phytochimique	
1- les terpènes et les triterpènes.....	25
2-Stéroïdes et stérols.....	26
3-Les saponosides.....	28
4-Les Quinones	29
5-Les phénols.....	30
6-Les flavonoïdes.....	31
7-Les Coumarines.....	32
8-Les tannins.....	33
9-Recherche des composés réducteurs.....	34
10-Les Anthocyanosides.....	35

Chapitre III: Etude de l'activité biologique de l'espèce

Satureja calamintha

I-Etude de l'activité anti-oxydante de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	
1-Définition.....	37
2-Principe du test au DPPH.....	37
3-Protocole expérimental.....	38
4- Résultats de l'activité anti-oxydante testée par la méthode du DPPH.....	39
II- Etude de l'activité antimicrobienne de <i>Satureja calamintha</i>	
1-Introduction	41
2- Protocole expérimental.....	42
3- Résultats et discussion.....	44
Conclusion générale.....	47
Références bibliographiques.....	49
Annexes.....	56

Liste des figures

Figure 1 : <i>Satureja calamintha</i> : (a) la plante fraîche, (b) la plante sèche	9
Figure 2 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	14
Figure 3: Protocole d'extraction des tiges	15
Figure 4: montage d'entraînement à la vapeur d'eau	18
Figure 5 : Schéma représentant les différentes étapes d'extraction d'HE	18
Figure 6: huile essentielle de <i>Satureja calamintha</i>	20
Figure 7: les différentes étapes de détermination de l'indice d'acide	21
Figure 8: Profil chromatographique d'huile essentielle à la longueur d'onde $\lambda = 230$ nm	23
Figure 9: structure de base des stéroïdes	27
Figure 10: structure stérolique selon l'insaturation	27
Figure 11: structure des quinones	29
Figure 12: structure de base des flavonoïdes	31
Figure 13: structure des coumarines	32
Figure 14 : structure des anthocyanosides	35
Figure 15 : Réaction d'un antioxydant donneur d'hydrogène avec le radical DPPH•	37
Figure 18 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH de l'extrait acétate d'éthyle, butanolique et du standard	40
Figure 19: Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle	42
Figure 20 : les diamètres des zones d'inhibition des extraits et d'HE relatives aux différentes souches microbiennes	45
Figure 21 : les diamètres des zones d'inhibition des extraits, HE, ATB, ATF1 et ATF 2 relatives aux différentes souches microbiennes	45

Liste des tableaux

Tableau N°1 : Travaux antérieurs sur la composition chimique des huiles essentielles de quelques espèces du genre <i>Satureja</i>	4
Tableau N°2 : La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Satureja calamintha</i> récoltée en Belgique.....	10
Tableau N°3 : La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Satureja calamintha</i> récoltée en Italie	11
Tableau N°4 : Aspect, couleur et rendement de différents extraits.....	15
Tableau N°5: Les résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de <i>Satureja calamintha</i>	16
Tableau N°6 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince des composés phénoliques établis par Markham.....	17
Tableau N°7: Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle.....	20
Tableau N°8 : les valeurs des indices physiques.....	21
Tableau N°9:propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de <i>satureja calamintha</i>	22
Tableau N°10 : Le gradient d'éluant H ₂ O/MeOH	23
Tableau N°11 : le temps de rétention d'huile essentielle à la longueur d'onde $\lambda = 230$ nm.....	24
Tableau N°12 : Résultats du test phytochimique pour les terpènes et les triterpènes.....	26
Tableau N°13 : Résultats du test phytochimique pour les stéroïdes et les stérols.....	28
Tableau N°14 : Résultats du test phytochimique pour les saponines.....	29
Tableau N°15 : Résultats du test phytochimique pour les quinones.....	30
Tableau N°16 : Résultats du test phytochimique pour les phénols.....	30
Tableau N°17 : Résultats du test phytochimique pour les flavonoides.....	32
Tableau N°18 : Résultats du test phytochimique pour les coumarines.....	33
Tableau N°19 : Résultats du test phytochimique pour les tanins.....	34
Tableau N°20 : Résultats du test phytochimique pour les composés réducteurs.....	34
Tableau N°21 : Résultats du test phytochimique pour les anthocyanosides.....	35

Tableau N°22 : Variation des absorbances et Pourcentages de réduction du radical libre DPPH● en fonction des différentes concentrations du l'extrait butanolique, acéate d'éthyle et du standard.....	39
Tableau N°23 : Valeurs CE50 et ARP des extraits de <i>satureja calamintha</i> et du standard antioxydant.....	40
Tableau N°24 : Relation entre le diamètre d'inhibition et la sensibilité des souches... ..	43
Tableau N°25 : les diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits, HE, ATB et des ATFs relatives aux différentes souches microbiennes.....	44

INTRODUCTION GENERALE

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, il est certain que ces plantes faisaient partie de l'alimentation quotidienne, mais elles peuvent être une source pour soigner de certaines maladies, sans connaître réellement les propriétés de ces plantes, ni avoir la moindre connaissance scientifique sur cette utilisation thérapeutique [1].

Les plantes sont de véritables pharmacies naturelles que la nature a établie sur cette terre afin de vaincre la souffrance, prévenir les maux, voir les guérir et d'améliorer la santé des hommes [2].

Environ 35000 espèces de plantes sont employés à travers le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains [3].

En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes (feuilles, fleurs, racines,...) et peuvent, selon des techniques chimiques (extraction, distillation,...), permettre l'isolement du principe actif pour l'utiliser en pharmacie. Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse, mais peuvent néanmoins être mortels ou toxiques pour l'organisme lorsqu'ils sont mal utilisés [4].

Dans le bagage chimique des plantes, les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant des métabolites secondaires. De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants qui sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques. Les huiles essentielles constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives [5].

La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique Algérienne et aura un impact économique certain. Dans ce cadre et pour notre part, nous avons choisi d'étudier l'espèce végétale *Satureja calamintha*. Le choix de cette plante a été justifié par le fait qu'elle est très utilisée dans la médecine traditionnelle Algérienne. En effet, cette plante est connue pour ses propriétés antispasmodique, stomachique et carminatif.

Ce travail est réparti en trois chapitres :

- Le premier renferme un aperçu bibliographique sur la famille, le genre puis l'espèce de *Satureja calamintha*.
- Le second chapitre contient l'étude de la composition chimique de l'espèce *Satureja calamintha*. Ce chapitre commence par un screening phytochimique suivi par l'extraction de métabolites secondaires puis l'extraction de l'huile essentielle de cette espèce.
- Le troisième chapitre est consacré à une étude de l'activité biologique (antioxydante et antimicrobienne) de l'espèce étudiée.

En fin, ce travail est achevé par une conclusion générale.

Chapitre I

Aperçu bibliographique

I- Généralités sur les Lamiacées

Les Lamiaceae sont des plantes herbacées ou arbustives, très rarement des arbres. Elles se caractérisent par la présence de glandes épidermiques aromatiques et contiennent ordinairement des carbohydrates tels que le stachyose [6].

Les plantes de la famille des lamiacées qui porte différents noms avec la famille des labiées et labiacées et dont les noms latins sont Lamiaceae ou Labiatae, est une assez grande famille on en dénombre plus de 6000 espèces recenser dans près de 210 genres [7].

Les Labiées ou Lamiacées constituent une importante famille de plantes angiospermes dicotylédones herbacées ou légèrement ligneuses et comprennent de 233 à 263 genres et de 6900 à 7200 espèces qui se répartissent sur tout le globe, mais principalement du bassin méditerranéen à l'Asie centrale. C'est une famille très importante en Algérie, représentée par 28 genres et 146 espèces [8].

II- Aperçu bibliographique sur le genre *Satureja*

1- Présentation botanique du genre *Satureja*

Les plantes de ce genre sont des plantes vivaces, les inflorescences sont cymes lâches et pédonculées. Le calice tubuleux à maturité, les corolles sont roses et violacées sont plus longue que le calice. Les tiges sont molles et velues tel que le feuillage est opposé à pétiole moyen légèrement denté [9].

2- La répartition géographique du genre *Satureja*

Ce genre se développe dans des régions arides, chaudes et rocheuses. Les espèces de ce genre sont très répandues autour de la région méditerranéenne [10].

3- La classification dans la systématique

Embranchement	Spermaphyte
Sous Embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicot
Sous Classe	Astéridées
Ordre	Lamiale
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Satureja</i> (L.) [11]

4- Propriétés thérapeutiques

Satureja est une herbe aromatique, très utilisée dans les préparations culinaires (soupes, sauces, etc.) et entrent dans la composition de plusieurs recettes grâce à ses propriétés digestives et antitoxiques. En effet, elle facilite la digestion en stimulant la production de la bile et prévient la fermentation intestinale [12].

- Ce genre est utilisé comme antiseptique, antispasmodique, stimulante, diurétique, carminative et tonique.
- Il a été démontré que l'huile essentielle de ce genre a une activité antifongique, antibactérienne et antivirale [13].
- Cette plante est indiquée en cas de douleur gastrique d'origine nerveuse, de crampes abdominales, de parasites intestinaux et de toux [14].

5- Travaux antérieurs sur les huiles essentielles de quelques espèces du genre *Satureja*

La détermination de la composition chimique de l'huile essentielle des plantes du genre *Satureja* a fait l'objet de plusieurs travaux, dont nous résumant quelques-uns dans le tableau suivant.

Les constituants remarquables et les plus dominants des huiles essentielles du genre *Satureja* dans la plupart des plantes sont : Carvacrole, thymol, p-cymène, γ -terpinène, Pipéritone, Pulegone, Caryophyllène et Piperitène oxide

Tableau N° 1 : Travaux antérieurs sur la composition chimique des huiles essentielles de quelques espèces du genre *Satureja*.

Espèce	Localité	Composé	Pourcentage %	Référence
<i>Satureja montana</i>	Croatie	Carvacrole	63,4	[15]
		thymol	19,4	
		boréole	4,2	
	Bosnie et Herzégovine	géraniol	31,3	[16]
		carvacrol	23,6	
		terpinen-4-ol	10,3	
caryophyllène oxide		5,2		
		Bornéol	4,8	
<i>Satureja cuneifolia</i>	Croatie	Carvacrol	17,7	[15]
		spathulenol	13,2	

		Caryophyllene oxide	9,5	
		α -cadinol	7,1	
		Amorpha-4,9-dien-2-ol	4,9	
		α -murrol	4,6	
		neryl isovalerate	4,4	
	Turquie	carvacrol	59,28	[17]
		thymol	15,72	
		p-cymène	9,69	
		γ -terpinène	4,16	
	Anabolia	Carvacrole	44,99	
		p-cymène	21,6	
		Thymol	9	
		γ -terpinène	4,35	
<i>Satureja darwinii</i>	Chili	Pipéritone	57,8	[18]
		Pulegone	11,4	
		carvacrol	4,8	
<i>Satureja multiflora</i>	Chili	Neoisomenthol isomenthone	83,1	[18]
		linalol	3,7	
<i>Satureja boliviana</i>	Argentine	γ -terpinène	15,4	[19]
		germacrene D	8,9	
		bicyclogermacrene	8,3	
		1,8-cinéole	7,4	
		Linalol	4,8	
	Pérou	isomenthone	27	[19]
		pulegone	20	
		thymol	14,7	
		1,8-cinéole	9,8	
		p-cymène	5,4	
<i>Satureja parvifolia</i>	Argentine	Piperitenone oxide	69,8	[19]
		Piperiténone	5,6	
		pulegone	4,4	

<i>Satureja subspicata</i>	Bosnie et Herzégovine	carvacrole	27,9	[16]
		Thymol	28,6	
		Caryophyllene	6,8	
<i>Satureja subspicata ssp. Subspicata</i>	Croatie	α -pinène	52,9	[20]
		p-cymene	16,7	
		myrcène	5	
		limonène	4,5	
<i>Satureja subspicata ssp. Liburnica</i>	Croatie	α -terpinène	42,6	[20]
		p-cymene	8,5	
		carvacrol	7,6	
		thymol	5,8	
		limonène	5,2	
		eugénol	4,7	
<i>Satureja spicigera</i>	Iran	carvacrol	53	[21]
		Thymol	36,1	
		β -caryophyllene oxide	6,05	
<i>Satureja mutica</i>	Iran	carvacrol	30,9	[22]
		thymol	26,5	
		γ -terpinène	14,9	
		p-cymene	10,3	
<i>Satureja macrantha</i>	Iran	p-cymène	25,8	[22]
		limonène	16,3	
		thymol	8,1	
		γ -terpinène	6,4	
<i>Satureja intermedia</i>	Iran	thymol	32,3	[22]
		γ -terpinène	29,3	
		p-cymene	14,7	
<i>Satureja sahendica</i>	Iran	Thymol	41,7	[23]
		p-cymène	32,5	
		γ -terpinene	12,8	
<i>Satureja khuzistanica</i>	Iran	Carvacrol	80,6	[24]
		p-cymène	4,8	

6- Travaux antérieurs sur les métabolites secondaires de quelques espèces du genre *Satureja*

Un grand nombre d'espèces de *Satureja* ont fait, à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés les travaux phytochimiques effectués sur le genre *Satureja* ont permis l'isolement, de flavonoïdes et de terpènes.

Les travaux effectués sur deux extraits méthanolique et acétate d'éthyle obtenus par extraction de la partie aérienne de *Satureja atropatana* Bonge ont permis d'isoler quatre flavonoïdes : le 5,6,3'-trihydroxy-7,8,4'-triméthoxyflavone, le 5,6-dihydroxy-7,8,3', 4'-tetraméthoxyflavone ou desmethoxynobiletine, le 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone ou thymonine et la lutéoline [25].

Bonilla Rivera et al. [26] ont pu séparer à partir de l'extrait éthanolique de l'espèce *Satureja sericea* (Goyal) quatre flavonoïdes qui sont identifiées comme le 3', 4', 5,7-tétrahydroxy-6,8- diméthoxyflavone, le 7-hydroxy-4',5,6-triméthoxy flavone, le 7-hydroxy-4',5,6,8-tétra-méthoxy flavone et le 3',4',5,7-tétrahydroxy-8-méthoxyflavone.

L'analyse des parties aériennes de l'espèce *Satureja boliviana* a révélée la présence de composés phénoliques dont les majoritaires sont : le 3-O-glucoside kaempférol, le 3-O-xylosylglucoside kaempférol, le 7-O-rhamnoside kaempférol et le 3-O-sophoroside quercétine [27].

De Rojas et al. [28] ont pu isoler à partir de l'espèce *Satureja obovata* trois flavonoïdes : la naringénine, l'ériodictyol, et la lutéoline qui sont des composés vasodilatateurs.

Par ailleurs, l'étude de l'espèce *Satureja hortensis* L de seorgia a démontré la présence de six flavonoïdes et de deux phenylpropanoïdes, qui sont respectivement : l'apigénine, la lutéoline, la cinaroside, la 7-β-D-glucuronide lutéoline, la 7-rutinoside lutéoline, l'acide rosmarinique et l'acide chlorogénique [29].

Les travaux portés sur l'espèce *Satureja montana* cultivée en Egypte ont menée à la séparation, à partir de l'extrait acétate d'éthyle, de trois composés, qui sont identifiés comme : l'acide rosmarinique, l'acide caféique et de la lutéoline [30].

L'analyse GC/MS et HPLC/DAD des extraits obtenus par hydrolyse acide et ou basique de l'extrait aqueux de *Satureja montana* a permis d'identifier cinq acides phénoliques, l'acide 2,3-dihydroxyphenylacétique, l'acide syringique, l'acide α -hydroxydihydrocafféique et l'acide cafféique, ainsi que deux autres dérivés esters : le 3,4-dihydroxyphenyléthanoate de méthyle et le cafféate de méthyle [31].

Quatre composés, le β -sitostérol, le β -sitostérol-3-O- β -D-glucopyranoside, l'acide ursolique et le 4', 5,6-trihydroxy-3', 7-diméthoxyflavone ont été mise en évidence par l'étude effectuée sur l'extrait dichlorométhane obtenu à partir de l'extraction des parties aériennes de *Satureja khuzistanica* cultivé en Iran [32].

D'autres études portées sur la même espèce ont montré la présence de dix flavonoïdes qui sont : la xanthomicrol, l'acirsilinetol, le 6-hydroxy-7,3'-diméthoxyluteoline, la cirsimaritrine, la diosmétine, l'acacétine, l'apigénine, la naringénine, l'aromadendrine et la taxifoline [33].

Par ailleurs, l'étude de l'extrait méthanolique de *Satureja parvifolia* a permis d'isoler pour la première fois de cette espèce deux acides triterpéniques : l'acide ursolique et l'acide oléanolique et deux flavonoïdes, l'ériodictyol et la lutéoline. L'activité anti-spasmodique de ces quatre composés a également été démontrée [34].

D'autre part, un diterpène, le $1\alpha,5\alpha$ -dihydroxymanoyl oxide a été isolé de l'espèce *Satureja gilliesii* par Manriquez et al. [35].

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

1- Présentation de l'espèce *Satureja calamintha*

1-1- Classification dans la systématique

Satureja calamintha est répertoriée comme suit :

Embranchement	Spermaphyte
Sous Embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicot
Sous Classe	Astéridées
Ordre	Lamiale
Famille	Lamiacées

Genre	<i>Satureja</i>
Espèce	<i>Satureja calamintha</i> [11]

1-2- Noms vernaculaires

En Français: Sarriette [36]

En Arabe: Mentha, Nabta [37]

Noms scientifiques: *Satureja calamintha* [36]

2- Description botanique de l'espèce *Satureja calamintha*

Satureja calamintha est une plante odorante, à l'arôme suave du type menthe, qui appartient à la famille des lamiacées. C'est une plante vivace qui ne dépasse pas 40 cm de haut au parfum mentholé. Les tiges sont molles et velues, elles portent des feuilles opposées, à pétiole moyen, légèrement dentées. Les fleurs, visibles de juillet à octobre, d'un joli rose ou pourpres, sont groupées sur un pédoncule commun par deux ou trois [38].



(a)

(b)

Figure 1 : *Satureja calamintha* : (a) la plante fraîche, (b) la plante sèche

3- Répartition géographique

Satureja calamintha est une espèce très répandue autour de la région méditerranéenne, c'est également une espèce eurasiatique qui pousse spontanément en Italie et en Corse [29, 32,33].

On le rencontre dans les sous-bois mais aussi sur les terrains incultes, le bord des routes et dans le tell, surtout en montagne, jusqu'à 1500 mètres d'altitude [39].

4- Propriétés thérapeutiques

Cette plante aromatique est utilisée comme stimulante, antiseptique [40], tonique, antispasmodique [26,27], stomachique, carminatif, fébrifuge, sudorifique et expectorante [41].

L'huile essentielle de cette plante a une activité antibactérienne [42] et antifongique importante [26,42].

5- Composition de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

De nombreux travaux ont montrés que l'huile essentielle de cette plante est riche en pulégone, menthone, menthol et isomenthone [36,43].

En 1987, De Pooter et al. [44] ont confirmés que l'huile essentielle de l'espèce *Satureja calamintha* récoltée en Belgique est riche en oxyde de pipériténone, suivi de pulégone et d'oxyde de pipéritone. La composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* récoltée en Belgique est résumée dans le tableau suivant.

Tableau N° 2 : La composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* récoltée en Belgique.

Composé	(%)	Composé	(%)
α -pinène	0.2-0.6	Cis-hydrate de sabinène	0-0.1
β -pinène	0.2-0.8	Menthone	6.3-8.9
Sabinène	0.1-0.5	Isomenthone	0-6.7
Myrcène	0.3-1.1	Menthol	1.4-7.5
Limonène	0.7-4.6	Pipériténone	0.4-3.8
β -octanol	0.1-0.3	caryophyllène	1.4-6.2
α -terpinène	0-0.5	Germacrène	0.4-1.6
Terpinolène	0-0.3	Oxyde de pipéritone	8.4-17.0
Pulégone	11.5-33.2	Oxyde de pipériténone	5.9-37.8

D'autres travaux effectués sur l'huile essentielle de *Satureja calamintha* récolté en Corse (France) ont montrés que cette l'huile contient comme composés majoritaires le menthone et le pulégone, plus d'autres composés qui sont présents en quantités appréciables: le limonène, l'isomenthone, le néo-menthol et le pipéritone.

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante cultivée en Espagne a permis à Perez-Alonso et al. [37] de mettre en évidence un autre type chimique, soit: carvone /1,8-cinèole.

Par ailleurs, les travaux menés par Baldovini et al. [45] ont étudié l'évolution de la composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* au cours du cycle végétatif de la plante récolté dans différentes régions en Corse, durant la période de pleine floraison, plusieurs échantillons sont étudiés et les résultats obtenus sont divisés en 3 groupes :

- Le premier groupe est caractérisé par une prédominance en menthone (teneur moyenne: 43,4%), suivi de la pulégone (18,9%), de l'oxyde de pipéritone (8,3%) et de limonène (5,2%).
- Le 2^{ème} groupe est caractérisé par une forte teneur en oxyde de pipéritone (30,5%), suivi de l'oxyde de pipériténone (12,5%). Le limonène est également présent en forte proportion (12,4%).
- Dans le dernier groupe le pourcentage moyen de la pulégone est de l'ordre de 55,6%, suivi de menthone (20,0%) et de limonène (6,0%).

D'autre part, Fraternali et al. [46] ont étudié la composition de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* récolté en Italie, dont les résultats de l'analyse sont reportés dans le tableau 3.

Tableau N° 3 : La composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* récoltée en Italie [46].

Composés	(%)	Composés	(%)
α -pinène	0,2	Linalol	0,4
Sabinène	0,2	Néo-menthol	0,4
β -pinène	0,3	(Z)-3-hexenyl-2-méthyl butyrate	0,1
3-octanol	2,0	Carvone	0,2
Myrcène	0,3	Oxyde de Piperitone	68,0
p-cymène	0,2	Piperitone	0,3
1,8-cinéole	0,2	Isopulégyl acétate	2,3
Limonène	2,0	Néo-menthyl acétate	0,1
γ -terpinène	0,2	Diosphénol	0,1
Trans-hydrate de sabinène	0,2	Oxyde de Caryophyllène	0,2
β -nonanol	0,2	Piperitenone	0,1
Thymol	1,2	Eugénol	0,1
4-hydroxypiperitone	0,6	Piperitenone oxide	3,6
Diosphénol	0,8	Caryophyllène	1,3

α -copaène	0.1	Germacrène	1.1
Bourbonène	0.3		

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* récoltée au Maroc a permis de déterminer la teneur la plus élevée en huile essentielle 1,60%. Cette huile est caractérisée par la présence du p-cymène (20,9 %), du γ -terpinène (18,7 %) et du thymol (34,9 %) comme principaux constituants [38].

CONCLUSION

D'après la littérature, les travaux étudiés ont montrés que la composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* peut être classée dans trois chimiotypes:

- Chimiotype à pulégone (composé majoritaire), associé à d'autres constituants: soit au menthone et/ou isomenthone [33,36], soit au menthol et ses isomères [36], soit au pipériténone, soit encore au pipéritone et oxyde de pipériténone [43].
- Chimiotype à pipéritone et/ou à l'oxyde de pipériténone [35,29].
- Le dernier est le Chimiotype à Carvone et à 1,8-cinéole [39].

Les travaux effectués sur ce genre ont montré sa richesse en métabolites secondaires en particulier les flavonoïdes tels que la thymonine, la lutéoline, la naringénine, l'ériodictyol, ainsi l'acide rosmarinique et l'acide cafféique.

Chapitre II

Etude de la composition chimique de l'espèce

Satureja calamintha

I- Extraction de métabolites secondaires de l'espèce *Satureja calamintha*

1- Matériel végétal

L'espèce étudiée a été récoltée au mois de novembre de l'année 2014 de la région de la wilaya de Jijel.

L'espèce récoltée est triée puis séchée à l'air libre, à l'ombre et à température ambiante pendant une semaine, ensuite la matière végétale est conservée en vue de procéder aux différentes manipulations.

2- Protocole d'extraction

a- Extraction des parties aériennes

La quantité du matériel végétal obtenue (100g) a subi une macération dans un mélange de solvants (MeOH / eau : 80 / 20 : V/V). Cette macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant, pendant 24 heures. Après concentration sous vide, l'extrait méthanolique a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le n-hexane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Chaque extraction est répétée trois fois. Le protocole d'extraction est présenté sur la figure 2.

D'autre part, 10 g de la poudre de la partie aérienne de la plante sont placés dans un erlenemeyer contenant 50 ml d'éthanol pendant 24 heures. Après la filtration, la solution éthanolique est évaporée à sec dans un évaporateur rotatif à 60 °C.

Une masse de 0.7 g de l'extrait éthanolique (EE) est obtenu, soit un rendement de 7 %.

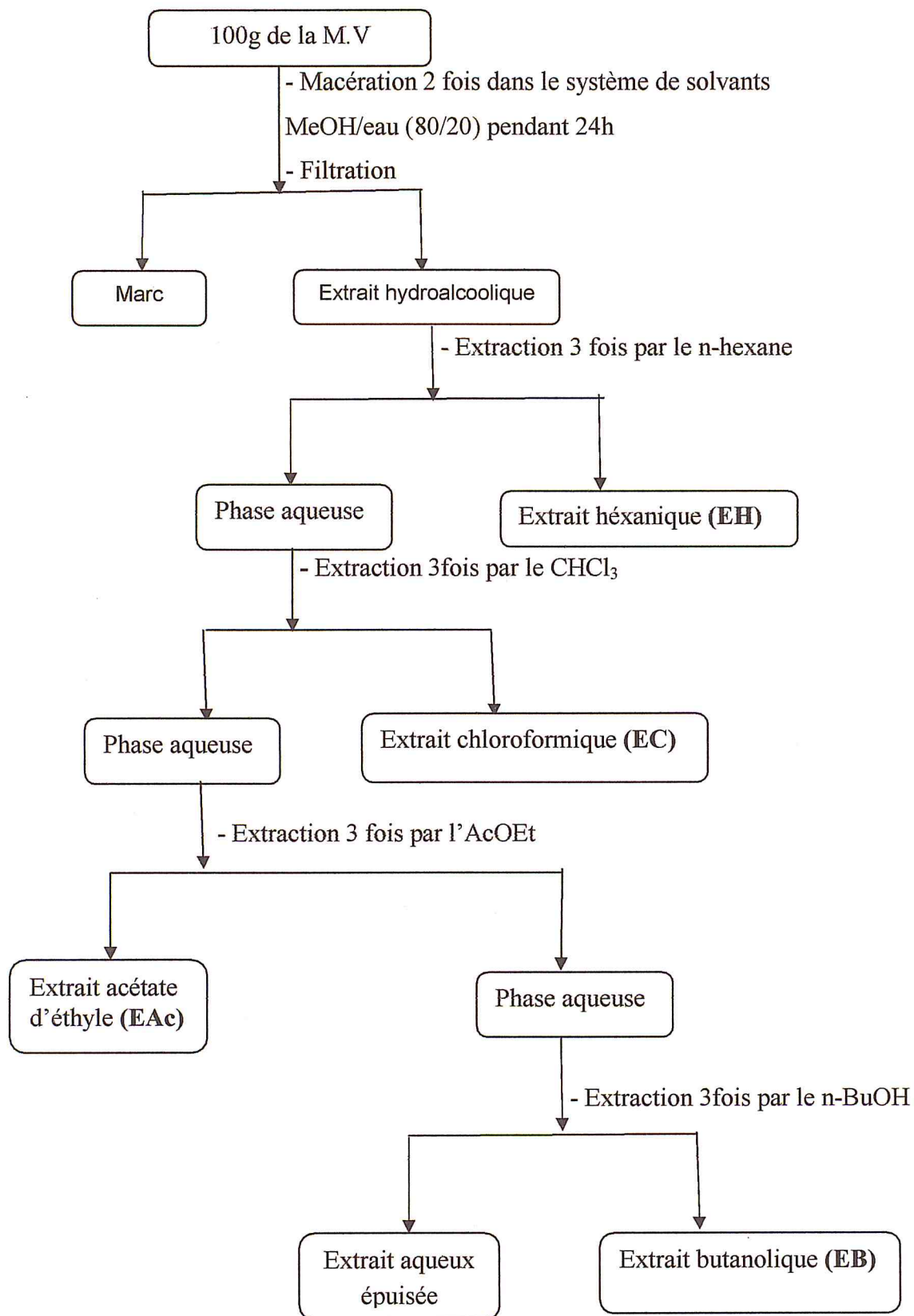


Figure 2 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires de l'espèce *Satureja calamintha*

b- Extraction des tiges

10g des tiges de l'espèce *Satureja calamintha* sont macérés dans 100 ml d'acétone, le mélange est soumis à un chauffage à reflux pendant 20 mn. Après refroidissement et filtration, le filtrat obtenu est évaporé à sec.

En fin, 0.05 g ont été récupéré, soit un rendement de 0.5 %.

Le protocole d'extraction des tiges de l'espèce *Satureja calamintha* est présenté sur la figure ci-dessous.

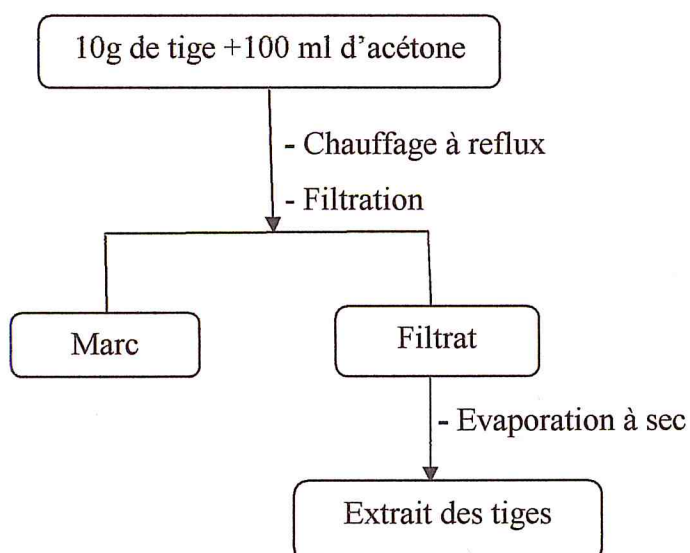


Figure 3: Protocole d'extraction des tiges

L'utilisation des solvants de polarités différentes on permit d'obtenir des extraits qui ont des caractéristiques différentes (aspect, couleur et rendement).

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau N° 4 : Aspect, couleur et rendement de différents extraits

Extrait	Aspect	Couleur	Masse (g)	Rendement %
EH	Visqueux	Verdâtre	0.633	0.63
EC	Pâteux	Jaune miel	1.023	1.02
EAc	Pâteux	Miel	1.263	1.26
EB	Pâteux	Miel	8.565	8.56
EE	Pâteux	Brun foncé	0.702	7
Extrait de tiges	Pâteux	Miel	0.05	0.5

3- Chromatographie sur couche mince CCM

Pour mieux voir la richesse de nos extraits en métabolites secondaires, nous avons réalisés, pour chaque extrait, une chromatographie sur couche mince sur des plaques de gel de silice.

Pour cela, une partie de chaque extrait a été solubilisée dans le méthanol et déposée sur plaques CCM et éluée dans un système de solvant spécifique pour chaque extrait. Ensuite, les chromatogrammes sont révélés avec les vapeurs de l'ammoniaque. Cette étape a permis de mettre en évidence la présence de flavonoïdes détectés grâce au où certains spots sous lumière UV à 365 nm sont de couleur jaune et d'autres de couleur noire-violette.

La chromatographie sur couche mince des différents extraits ont permis d'obtenir les résultats représenté dans le tableau N°5.

Tableau N°5: Les résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de *Satureja calamintha*.

Extraits étudiées	Système de solvants v/v (ml)	R _f	Couleur des spots
EH	Cyclohexane/AcOEt (70/30)	0.43	Jaune
		0.56	Rouge
		0.80	Rouge
		0.91	Rouge
EC	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (60/40)	0.61	Violet
EAc	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt/MeOH (60/40/5)	0.2	Jaune
		0.36	Jaune
		0.47	Jaune
		0.56	Jaune
EB	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt/MeOH (60/40/5)	0.79	Violet

L'étude de la coloration des spots de la chromatographie sur couche mince des composés phénoliques réalisés par Markham sont représenté dans le tableau suivant.

Tableau N°6 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince des composés phénoliques établis par Markham.

Couleurs des spots	Composés phénoliques
Rouge	Anthocyanidine 3 glucoside
Rose	Anthocyanidine 3,5 di glucoside
Orange	Anthocyanidine 3 glucoside
Jaune	Flavonols
Jaune pale	Flavonols
Vert	Rutine
Bleu sombre	Flavonols, flavonones, aures
Bleu vif	Hydroquinones
Bleu pale	Acide phenol
Bleu blanc fluo	Acide phenol
Mauve	Flavonols, flavonones, isoflavonones, flavones
Violet	Flavonols, flavonones, isoflavonones, flavone
Pourpre sombre	Chalcones

Par comparaison avec la littérature [47], La présence des spots de coloration jaune et violette dans les chromatogrammes de nos extraits, indique la présence dans l'espèce étudiée, des flavonols, des flavonones, des isoflavonones et des flavones.

II- Extraction de l'huile essentielle

Nous avons réalisé l'extraction de l'huile essentielle *Satureja calamintha* en utilisant le procédé entraînement à la vapeur d'eau.

1- Protocole expérimental

Le dispositif expérimental que nous avons utilisé comprend un ballon de 2L, ce ballon repose sur un chauffe ballon surmonté d'une ampoule contenant 30 g de matière végétale sec (partie aérienne : tiges, feuilles et fleurs), reliée à un réfrigérant servant à condenser la vapeur contenant l'huile essentielle. Des béchers sont utilisés pour récupérer le distillat.

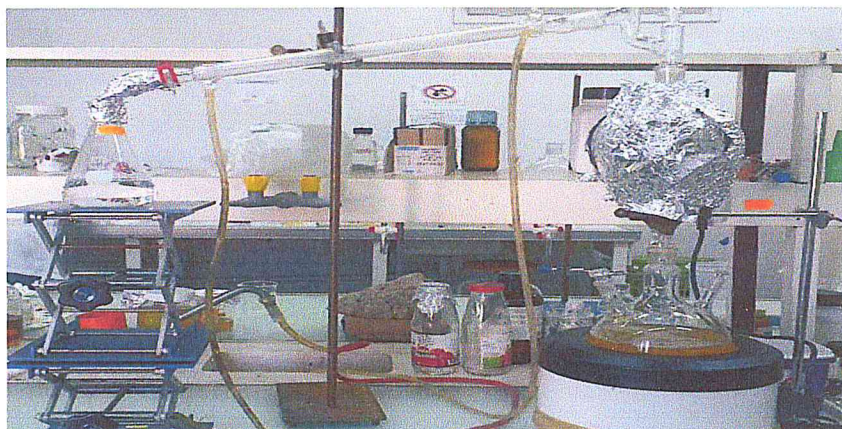


Figure 4: montage d'entraînement à la vapeur d'eau.

Le distillat est ensuite mis dans une ampoule à décanter où l'huile essentielle est séparée de l'eau par une extraction liquide-liquide au moyen de diéthyloéther. On agite l'ampoule à décanter en tenant bien le bouchon, on ouvre le robinet pour dégazer, on place l'ampoule sur un support puis on enlève le bouchon et on laisse décanter et après on récupère la phase organique.

Pour éliminer toute trace d'eau dans la phase organique, on lui ajoute du sulfate de magnésium anhydre et on filtre. Ensuite, on élimine le solvant de la phase organique grâce à une distillation dans un évaporateur rotatif. L'huile essentielle ainsi récupérée est conservée à basse température et à l'abri de la lumière dans un flacon en verre.

Les étapes de l'extraction de l'huile essentielle sont résumées dans l'organigramme suivant :

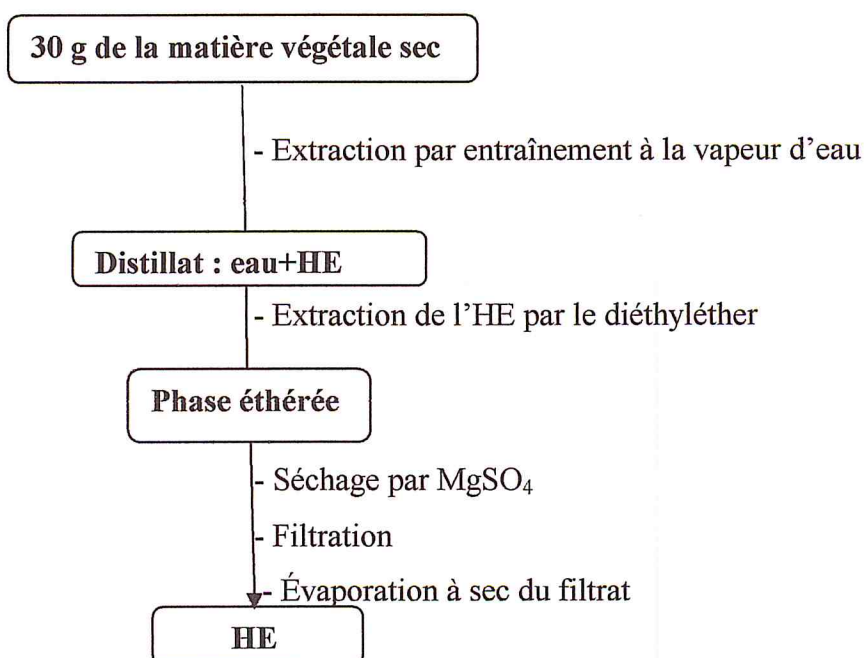


Figure 5 : Schéma représentant les différentes étapes d'extraction d'HE

2- Calcul du rendement de l'huile essentielle:

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'huile extraite (M_{HE}) en (g) et le poids de la plante à traiter (M_{MV}) en (g) [48].

Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R\% = (M_{HE}/M_{MV}) \times 100$$

Calcul du rendement:

$$R\% = (0.348/30) \times 100$$

$$R\% = 1.16$$

Nous avons réalisé l'extraction de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* par entraînement à la vapeur d'eau, le rendement en huile essentielle est de l'ordre de 1.16 %. Cette valeur est comparativement forte à celle citée déjà dans la littérature (0,17%) [25].

Donc on peut noter que notre espèce végétale révèle une richesse en huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.

3- Propriétés physico-chimiques et organoleptiques de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*

La qualité d'une huile essentielle est établie par des normes internationales.

Pour cette partie, nous avons déterminé les différentes propriétés physico-chimiques et organoleptiques de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, suivant la norme A.F.N.O.R.

3-1- Caractérisation de l'huile essentielle *Satureja calamintha*

Dans cette partie, nous avons déterminé les propriétés organoleptiques et physico-chimiques. Ces propriétés constituent un moyen de vérification et de contrôle de qualité de l'huile essentielle.

3-1-1- Propriétés organoleptiques

Dans cette étude, trois critères sont considérés pour évaluer la qualité organoleptique : l'odeur, la couleur, l'aspect.



Figure 6: huile essentielle de *Satureja calamintha*

a-Caractéristiques organoleptiques

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur et odeur) de l'huile essentielle ont été notées à l'issue de sa récupération selon les normes.

Tableau N °7: Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle

	Aspect	Couleur	Odeur
Norme A.F.N.O.R	Liquide mobile, Limpid	incolore à jaune pale	Caractéristique fraîche, plus ou moins mentholée
Huile essentielle	Liquide	jaune pale	Fraîche Agréable Menthée

L'huile essentielle de la plante étudiée est très aromatique. Elle est caractérisée par un aspect liquide, une couleur jaune pale et une odeur menthée agréable.

3-1-2- Mesure des indices physiques

✓ Détermination de la densité

La densité d'huile essentielle est le rapport de la masse d'un certains volume de l'huile à 20 °C et la masse d'un égal volume de l'eau distillée à 20 °C [49]. Elle est mesurée à l'aide d'un pycnomètre.

✓ Détermination de l'indice de réfraction

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

L'appareil employé pour mesurer l'indice de réfraction est le réfractomètre [50].

L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à ceux de l'eau à 20°C = 1.3356, Ceci montre leur richesse en composants qui dévient la lumière polarisée.

a- Caractéristiques physiques

Tableau N° 8 : les valeurs des indices physiques.

	Densité	Indice de réfraction à 20°C
HE de <i>satureja calamintha</i>	0.72	1.386

3-1-3- Mesure des indices chimiques

✓ Détermination de l'indice d'acide

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huiles essentielles. Les acides libres sont neutralisés par une solution d'Ethanol titrée de KOH, c'est-à-dire la mesure d'indice acide est réalisée par titrage.

$$I_A = \frac{V \cdot C \cdot 56.11}{m}$$

V: le volume, en ml de la solution KOH utilisée pour le titrage.

C: la concentration exacte en moles par litres de la solution KOH.

m: la masse en grammes de l'huile essentielle.

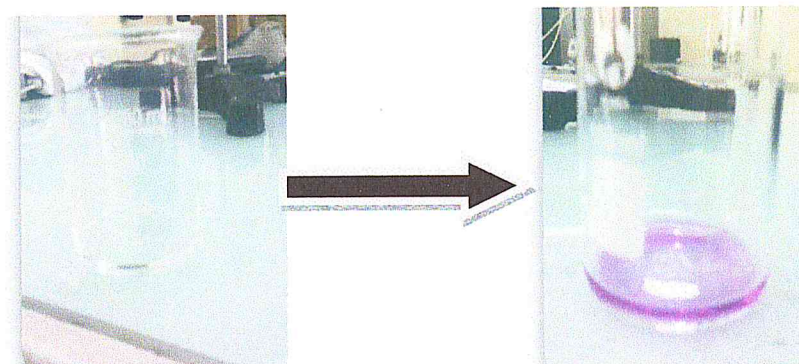


Figure 7: les différentes étapes de détermination de l'indice d'acide

✓ Détermination de l'indice d'ester

C'est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme d'huile essentielle.

$$I_E = 28.05/m (V_0 - V_1) - IA$$

V_0 : le volume en ml, de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc.

V_1 : le volume en ml de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'échantillon de l'huile essentielle.

m: la masse en grammes de l'huile essentielle.

a-Caractéristiques chimiques de l'huile essentielle de *satureja calamintha*

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau N° 9 : propriétés chimiques de l'huile essentielle de *satureja calamintha*

	Indice d'acide (IA)	Indice d'ester (IE)	Indice de saponification (IS)
HE de <i>satureja calamintha</i>	4.8	51.64	62.33

✓ La valeur d'indice de réfraction mesurée est légèrement supérieure à l'indice de réfraction de l'eau à 20°C (1,333). Le faible indice de réfraction de l'HE indique leur faible réfraction de la lumière.

L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. IL est: supérieur à ceux de l'eau à 20°C = 1.3356, Ceci montre leur richesse en composants qui dévient la lumière polarisée [50].

- ✓ Une valeur élevée d'IA indique une dégradation d'huile essentielle (hydrolyse des esters) durant sa conservation. Inversement, un IA inférieur à 2 est un indice de bonne conservation de l'huile [48]. La valeur d'IA obtenue montre que notre huile essentielle n'est pas stable et provoque une oxydation (mauvaise conservation d'huile essentielle extraite).
- ✓ L'huile extraite est caractérisée par un indice d'ester élevé ce qui ne permet pas un long temps de conservation.
- ✓ La détermination des propriétés physico-chimiques est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser l'huile essentielle.

III- Analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC)

Afin de connaître la composition de l'huile essentielle de *Satureja calamintha*, une chromatographie liquide à haute performance a été réalisée dans les conditions suivantes :

Appareil de type Agilent 1100/1200,

- pompe quaternaire équipée d'un système de programmation de débit,
- four pour colonne
- détecteur UV/Visible à barrettes de diodes.
- volume d'injection est de 5 μ l
- Les séparations sont réalisées à une température de 35 °C,
- type de la colonne Zorbax Eclipse XDB-C8 (RP 8 =5 μ m, Φ = 4,6mm, l = 250 mm).
- Les fractions ont été analysées en mode gradient à l'aide du mélange éluant H₂O/MeOH, à un débit de 1 ml.min⁻¹.

Le gradient d'éluant H₂O/MeOH est représenté dans le tableau suivant :

Tableau N° 10 : Le gradient d'éluant H₂O/MeOH

t(mn)	0	2	15	25	60
H ₂ O	60	50	35	20	20
MeOH	40	50	65	80	80

Le profil chromatographique obtenu à $\lambda=230$ nm est le suivant:

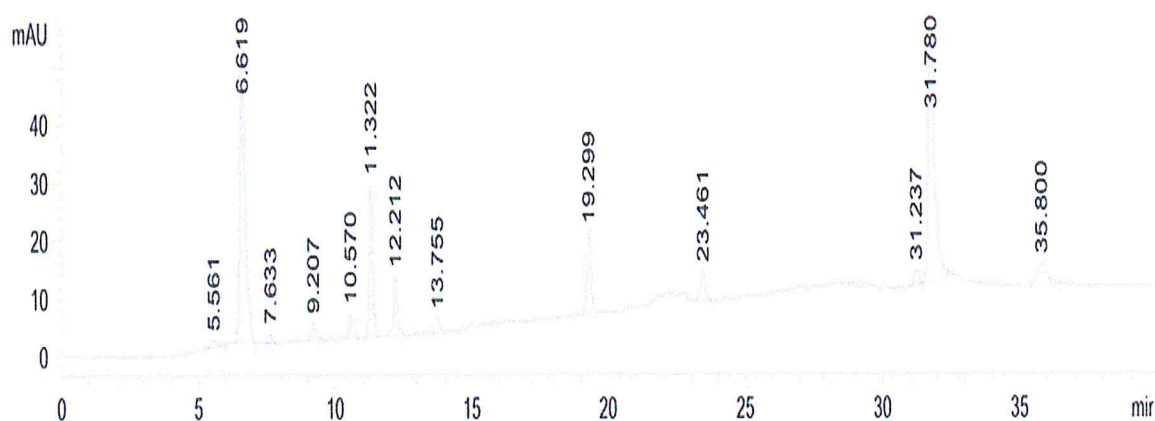


Figure 8: Profil chromatographique d'huile essentielle à la longueur d'onde $\lambda = 230$ nm

Les résultats de cette analyse sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau N° 11 : le temps de rétention d'huile essentielle à la longueur d'onde $\lambda = 230$ nm

N° de pic	T _r (min)	Eluant	
		H ₂ O	MeOH
01	07.633	50	50
02	09.207	50	50
03	10.570	50	50
04	11.322	50	50
05	12.212	50	50
06	13.755	50	50
07	19.299	35	65
08	23.461	35	65
09	31.237	20	80
10	31.780	20	80
11	35.800	20	80

L'analyse de l'huile essentielle de l'espèce *Satureja calamintha* par HPLC, nous a permis de déterminer la présence de 11 composés dont leur identification nécessite l'utilisation d'autres techniques tel que la GC-MS ou LC-MS.

IV- Screening phytochimique

L'espèce sélectionnée est soumise à un screening phytochimique dans le quel nous avons voulu caractériser un certain nombre de familles de substances naturelles.

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les Composés terpéniques, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques [25].

Ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques, ils conviennent d'explorer ces produits naturels pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses [8].

Dans cette partie de ce chapitre, nous présenterons l'aspect structural et le rôle pharmacologique des différents groupes de substances naturelles, ainsi que leurs réactions de caractérisation. Ces réactions portent sur la recherche des principaux groupes chimique de la plante. Elles permettent d'avoir des informations préliminaires sur la composition chimique du végétal.

1- les terpènes et les triterpènes

1-1- Les terpènes

a- Définition

Dans le règne végétal, les terpènes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (à 5 atomes de carbone). A ce jour, avec plus de 30 000 molécules identifiées, les terpènes constituent l'une des plus polymorphes et des plus grandes familles de composés naturels: hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tetraterpènes, (C₄₀) et polyterpènes [51].

b- Propriétés pharmacologiques des terpènes

Les terpènes sont surtout reconnus pour leurs actions drainantes lymphatiques, stimulantes, et anti-infectieuses. [52].

c- Recherche des terpènes

On prend 0.5g de l'extrait méthanolique de la plante et on lui ajoute 3ml de chloroforme puis on filtre. Ensuite, on ajoute au filtrat 10 gouttes d'anhydride acétique et 2 gouttes de l'acide sulfurique (H₂SO₄). Le virage de la couleur du bleu au vert indique la présence des terpènes.

1-2- Les triterpènes

a- Définition

Ce sont des composés en C-30 issus de la cyclisation du 3S-2,3-époxy-squalène, ou plus rarement du squalène lui-même [51]. Ils sont presque toujours hydroxylés en position C-3 du fait de l'ouverture de l'époxyde. Les triterpènes présentent une très forte unité structurale, les différences majeures sont d'ordre stéréochimiques ayant trait à la conformation adoptée par l'époxy-squalène avant la cyclisation initiale. Le cation formé lors de cette cyclisation peut ensuite subir une série de déplacement 1, 2 de protons et de

méthyles conduisant aux différents squelettes tétra- et pentacycliques qui caractérisent ce groupe de substances naturelles [52].

b- Propriétés pharmacologiques des triterpènes

Des potentialités thérapeutiques dans les différents domaines: cytostatiques, anti-inflammatoires, analgésiques, insecticides, molluscicides... etc.

-Un intérêt considérable dans le secteur de l'industrie pharmaceutique particulièrement la production de médicaments stéroïdiques ayant des propriétés : contraceptifs, anabolisants, anti-inflammatoires,... etc [46].

-Un intérêt thérapeutique concernant l'extraction des molécules bioactives, pour l'obtention des formes galéniques simples ou pour celle de préparation phytothérapeutique [51].

c- Recherche des triterpènes

Il consiste à évaporer à sec l'extrait alcoolique correspondant à 10 ml. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans un mélange d'anhydre acétique/ chloroforme (5/5 : V/V) ; puis on filtre et on traite le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique alors la présence des composés triterpéniques.

Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous

Tableau N° 12 : Résultats du test phytochimique pour les terpènes et les triterpènes.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
Terpènes	+	Traces	+	+	+		+
Triterpènes	+	Traces	+	+	+	+	+

Généralement tous les extraits possèdent une teneur plus importante en terpènes et triterpènes par rapport aux tiges. Une coloration verte-violette apparait indique leurs présence.

2- Stéroïdes et stérols

a- Définition

Le terme stéroïde est désignant toutes les molécules comportant un squelette tétracyclique correspondant à un perhydrocyclopentanophénanthrène (Gonane). Les stéroïdes

représentent un ensemble de molécules dérivées du cholestérol ou de ses homologues particulièrement abondants dans les végétaux et les animaux. Cette classe de substances naturelles présente une sous-classe de triterpènes. Les quatre cycles sont désignés par les lettres A, B, C et D [53].

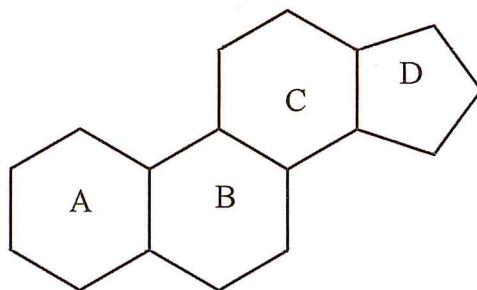


Figure 9: structure de base des stéroïdes

La majorité des stéroïdes sont des alcools, on les appelle stérols [54]. Les stérols sont des stéroïdes dérivant des triterpènes et formant ainsi tout un groupe d'alcools solides [53]. Ils sont des composés tétracycliques comportant le plus souvent 27, 28 ou 29 atomes de carbone. Le noyau perhydrocyclopentanophénanthrène possède le plus souvent une double liaison fréquemment en 5(6), mais que l'on peut rencontrer en 7(8), beaucoup plus rarement en C-8(9), en C-8(14) ou en C-9(11). Les groupes méthyles en 18 et 19, la fonction alcool en 3 et la chaîne latérale en 17 sont en configuration β . La chaîne latérale qui peut être saturée où comporter une ou deux doubles liaisons possède 8, 9 ou 10 atomes de carbones [54].

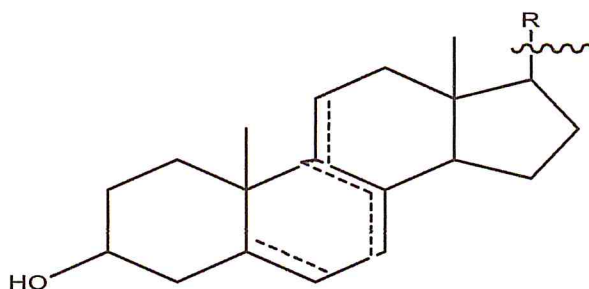


Figure 10: structure stéroïdique selon l'insaturation

b- Propriétés pharmacologiques des stéroïdes et des stérols

Les stéroïdes ont un potentiel thérapeutique dans domaines les plus divers : cytostatiques, antiviraux, insecticides et analgésiques [53].

c- Recherche des stéroïdes et des stérols

Un volume de l'extrait est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml du chloroforme. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on agite et on laisse la solution se reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus.

Tableau N° 13 : Résultats du test phytochimique pour les stéroïdes et les stérols.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
Stéroïdes et Stérols	+	-	++	+	traces	+	++

Il est à signaler que les stérols et stéroïdes sont présentés en faible quantité dans les extraits des tiges et chloroformique alors que d'autres extraits ont une teneur importante en stérols et stéroïdes pour cette plante.

3- Les saponosides

a- Définition

On entend par saponosides (mot latin « sapon », savon ; saponaire », l'herbe à savon), des hétérosides à aglycones de structure stéroïde ou triterpénique qui tiennent une grande place parmi les substances d'origine végétale [10].

b- Propriétés pharmacologiques des saponosides

Les saponosides sont des substances naturelles à large spectre d'activité biologique : ils ont une action protectrice sur le système veineux d'où leur effet veinotrope. Ils sont utilisés en thérapeutique comme : anti-tumoraux, antimicrobiens, hémolytiques, anti-inflammatoires et cicatrisants notamment au niveau des plaies cutanées [55].

c- Recherche des saponines

Dans un Erlen Meyer de 250ml, on dissout 5g de la poudre végétale à analyser dans 50ml d'eau distillée puis on fait décocter la solution pendant 30 minutes. Après refroidissement

on prélève 5ml du décocté et on les introduit dans un tube à essai et on agite vigoureusement. L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponines.

Tableau N° 14 : Résultats du test phytochimique pour les saponines.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
saponines	+	-	-	-	+	-	-

Dans la partie aérienne et l'extrait chloroformique de la plante, la recherche des saponines s'est montrée positive mais celle pour les autres extraits a été négative.

En effet, la hauteur de la mousse était de 2 cm pour le resultat (+) et de 0.5 cm pour les resultats (-).

4- Les Quinones

a- Définition

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisés par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diénique (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diénique (ortho-quinones) [57].



Figure 11: structure des quinones

b- Propriétés pharmacologiques des quinones

Les quinones sont des composés irritants qui ont des propriétés laxatives, phytotoxiques et allergiques. Certaines d'entre elles ont des propriétés tinctoriales comme par exemple la lawsone localisée dans les feuilles de l'arbuste tropical Henne. elle sert à teindre en orange la soie et les cheveux [57].

c- Recherche des quinones

On mélange une petite quantité de l'extrait avec quelques gouttes de l'HCl concentré puis on ajoute 1ml de NaOH à 10%. L'apparition de la coloration rouge virant au violet indique la présence des quinones.

Tableau N° 15 : Résultats du test phytochimique pour les quinones.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
quinones	-	-	-	-	-	-	-

Les extraits de la plante sont dépourvus de ce type de métabolites.

5- Les phénols**a- Définition**

Les phénols 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 [58].

b- Recherche des phénols

L'extrait brut a été mélangé avec 2ml de la solution de FeCl₃ à 2%.le changement de couleur noir ou bleu-vert suggère la présence des phénols.

Tableau N° 16 : Résultats du test phytochimique pour les phénols.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
phénols	+	-	++	+	trace	+	++

Les composés phénoliques ont montrés leur présence avec une teneur importante dans les différents extraits étudiés sauf les tiges.

6- Les flavonoïdes

a- définition

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [59]. Ce sont des polyphénols ayant une structure de base en C₆-C₃-C₆, constituée de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C.

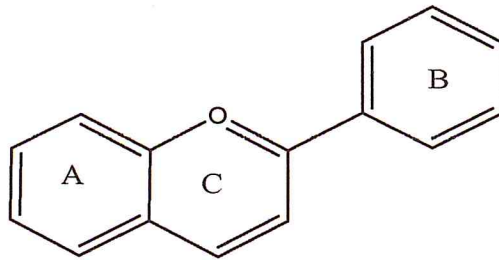


Figure 12: structure de base des flavonoïdes

Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2 ou 3 :

- ✓ Dans la position 2: le flavonoïde est appelé flavane.
- ✓ Dans la position 3: le flavonoïde est désigné par le terme isoflavane.
- ✓ Si la position 4 du flavane porte un groupement carbonyle, la molécule est appelée flavanone.
- ✓ Si la liaison C₂-C₃ dans le squelette de la flavanone est en plus insaturée, le composé est nommé flavone.
- ✓ Si le squelette précédent est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle, il est désigné par le nom de flavonol [60].

b- Propriétés pharmacologiques des flavonoïdes

La principale propriété biologique reconnue des flavonoïdes est d'être

« veino-actifs » (veinotrope, vitaminique « P ») c'est-à-dire qu'ils permettent de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance [61].

Par ailleurs, on attribue aux flavonoïdes de potentielles activités biologiques telles qu'anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anti-oxydantes et anti-cancérogènes [60].

c- Recherche des flavonoïdes

Une fraction de l'extrait est traité avec de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré, et l'observation de la formation de la couleur jaune orange indique la présence des flavonoïdes.

Tableau N° 17 : Résultats du test phytochimique pour les flavonoïdes.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
Flavonoïdes	++	+	+++	-	traces	+	+++

Les flavonoïdes sont détectés dans la plante avec une présence très importante caractérisée par la coloration jaune orange.

7- Les Coumarines

a- Définition

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres [62].

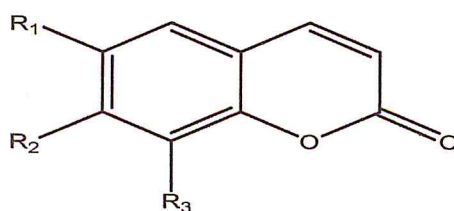


Figure 13: structure des coumarines

b- propriétés pharmacologiques des coumarines

Les coumarines ont indiquées dans le cas de lymphoedème du membre supérieure après traitement radiochirurgical du cancer du sein .concernant les dérivés coumariniques, certains d'entre-eux possèdent des activités pharmacologiques, principalement anticoagulantes.les plus connus sont le dicoumarol et l'esculoside, tout deux veinotoniques et vasculoprotecteurs [63].

c- Recherche des coumarines

Dans un tube à essai, on introduit 0.5g de l'extrait et on le couvre avec du papier filtre traité avec une solution de NaOH (1N). Ensuite, le tube est placé dans l'eau chaude durant quelques minutes. Enfin, le papier filtre est examiné sous UV. La fluorescence jaune indique la présence des coumarines.

Tableau N° 18 : Résultats du test phytochimique pour les coumarines.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
Coumarines	+	-	+	+	+	-	+

Les coumarines sont des classes de familles chimiques faiblement caractérisées dans la partie aérienne et les extraits EE, EH, EC et EB mais totalement absentes dans les tiges et l'extrait acétate

8- Les tannins**a- définition**

Leur structure chimique est particulièrement variable, mais comporte toujours une partie polyphénolique, il existe deux catégories de tanins, d'origine biosynthétiques différentes : les tanins hydrolysables (Ce sont des esters d'oses et d'acides phénols) et les tanins condensés (Ce sont des polymères flavanoliques, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone- carbone le plus souvent C4 -C8 ou C4 -C6) [64].

b- Propriétés pharmacologiques des tannins:

Les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien [65], antiviral [66], anti-inflammatoire et une activité antimutagène [67]. Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les cas de rhume, de maux de gorge, les problèmes de sécrétions trop importantes, les infections internes ou externes, les blessures, les coupures et les brûlures [58].

c- Recherche des tanins

1ml de chlorure ferrique FeCl₃ (1%) est ajouté à 5ml de l'extrait hydroalcoolique solubilisé dans l'eau distillée. Cette réaction permet de détecter la présence ou non des tannins. Le

virage vers la couleur bleue noirâtre indique la présence des tanins galliques, et vers la couleur brune verdâtre indique la présence des tanins catéchiques.

Tableau N° 19 : Résultats du test phytochimique pour les tanins.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
tanins	+	-	+	+	+	traces	+

D'après la coloration obtenue avec FeCl_3 , les différentes parties de cette espèce contiendraient des tanins catéchiques à l'exception des tiges.

9- Recherche des composés réducteurs

1ml de la solution de Fehling est ajouté à l'extrait alcoolique puis le mélange est chauffé. La formation d'un précipité rouge brique dénote la présence des composés réducteurs.

Tableau N° 20 : Résultats du test phytochimique pour les composés réducteurs.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
Composés réducteurs	+	-	-	-	Traces	-	Traces

Pour la recherche des composés réducteurs, les réactions ont été négatives avec la plupart des extraits et un résultat positif avec les parties aériennes.

10- Les Anthocyanosides

a- définition

Les anthocyanosides sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique. Leur génines (les anthocyanidols) est des dérivés du cation 2-phényl benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum [68].

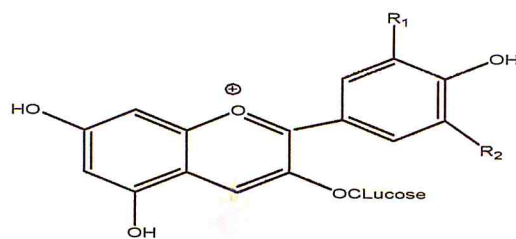


Figure 14 : structure des anthocyanosides

b- Propriétés pharmacologiques des Anthocyanosides

L'action pharmacologique des anthocyanes est en général, limitée au domaine vasculaire. Elles augmentent la solidité des capillaires. Elles inhibent les enzymes protéolytiques de dégradation. Elles sont proposées en ophtalmologie en cas de troubles oculaires et pour l'amélioration de la vision crépusculaire [58].

c- Recherche des anthocyanosides

L'extrait alcoolique a été acidifié. La solution acide devient rouge à pH = 7 et n'a pas changé au vert ou le violet au milieu alcalin indique la présence d'anthocyanes.

Tableau N° 21 : Résultats du test phytochimique pour les anthocyanosides.

	PA	Tiges	EE	EH	EC	EAc	EB
Anthocyanosides	-	-	-	-	traces	-	Traces

Dans la plante, la recherche des anthocyanosides s'est montrée négative et quelque traces dans l'extrait chloroformique et butanolique.

En conclusion, le screening phytochimique réalisé sur les différents extraits de l'espèce *satureja calamintha* révèle la présence de plusieurs familles de composés chimique plus particulièrement les flavonoïdes, les stérols et les phénols.

Chapitre III

Etude de l'activité biologique de l'espèce

Satureja calamintha

I-Etude de l'activité anti-oxydante de l'espèce *Satureja calamintha*

1-Définition

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le Pignogénol. La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) [69].

2- Principe du test au DPPH

Le DPPH \cdot (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm [70].

Le test consiste à mettre le radical DPPH \cdot (de couleur violette) en présence des molécules dites « antioxydantes ». La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde [71].

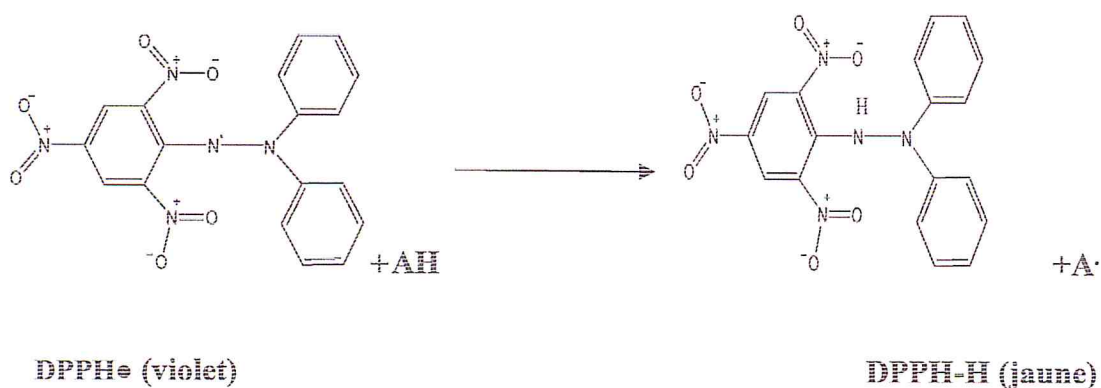


Figure15 : Réaction d'un antioxydant donneur d'hydrogène avec le radical DPPH \cdot

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[\frac{\text{Abs c} - \text{Abs e}}{\text{Abs c}} \right] \times 100$$

Abs c : Absorbance du contrôle négatif

Abs e : Absorbance de l'échantillon testé

Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur CE_{50} qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH [72].

Calcul de l'activité antiradicalaire :

Nous pouvons déduire l'activité anti-radicalaire de nos extraits en calculant l'inverse des valeurs des CE_{50} trouvées [73].

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

ARP : Puissance anti-radicalaire

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

3- Protocole expérimental

3-1- Préparation de la solution DPPH

La solution de DPPH a été préparée avec 4mg de DPPH dissout dans 100 ml de méthanol absolu, a une concentration de 0.004%.

3-2- Préparation de la solution de vitamine C

Préparées par dissolution de 1.5 mg de la vitamine C dans 10ml de méthanol et on fait des dilutions. L'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon testé.

3-3-Protocole réalisé

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 1ml du méthanol et les différentes concentrations de la solution à tester, on ajoute 1 ml de la solution DPPH. Les tubes sont placés à l'obscurité, à une température ambiante (25°C) pendant 30 min. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

3-4- Préparation des échantillons

Pour le test les échantillons ont été préparés par dissolution dans le méthanol absolu. Pour les deux extraits (butanoliques et acétate d'éthyle), on prépare des solutions dans du méthanol absolu à raison de 150 µg/ml pour les deux extraits. Ces solutions dites solutions mères, subiront ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations de l'ordre de microgramme.

4- Résultats de l'activité anti-oxydante testée par la méthode du DPPH :

L'activité antioxydante de deux extraits (acétate d'éthyle et butanolique) de *Satureja calamintha* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie UV-Visible, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm.

L'évaluation du pouvoir antiradicalaire de ces deux extraits ont été fait en comparaison avec celle d'antioxydant : Vitamine C (on a préparé une gamme de dilutions pour l'acide ascorbique). Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 22, et illustrés par la figure 18.

En faisant varier la concentration des extraits et en calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant.

Le tableau 22 correspondant aux différentes concentrations, absorbance et le pourcentage d'inhibition des extraits étudiés et du standard.

Tableau N°22 : Variation des absorbances et Pourcentages de réduction du radical libre DPPH[•] en fonction des différentes concentrations du l'extrait butanolique ,acétate d'éthyle et du standard.

	C(µg/ml)	5	10	25	50	100	150
EAc	Absorbance	0.540	0.337	0.234	0.167	0.058	0.052
	% d'inhibition	17.4	37.59	60.71	70.65	74.99	78.56
EB	Absorbance	0.428	0.315	0.208	0.160	0.106	0.068
	% d'inhibition	28.9	62.82	80.79	84.06	88.78	90.73
Vit C	Absorbance	0.370	0.248	0.179	0.112	0.078	0.062
	% d'inhibition	59.5	73.11	86.45	90.23	95.04	95.8

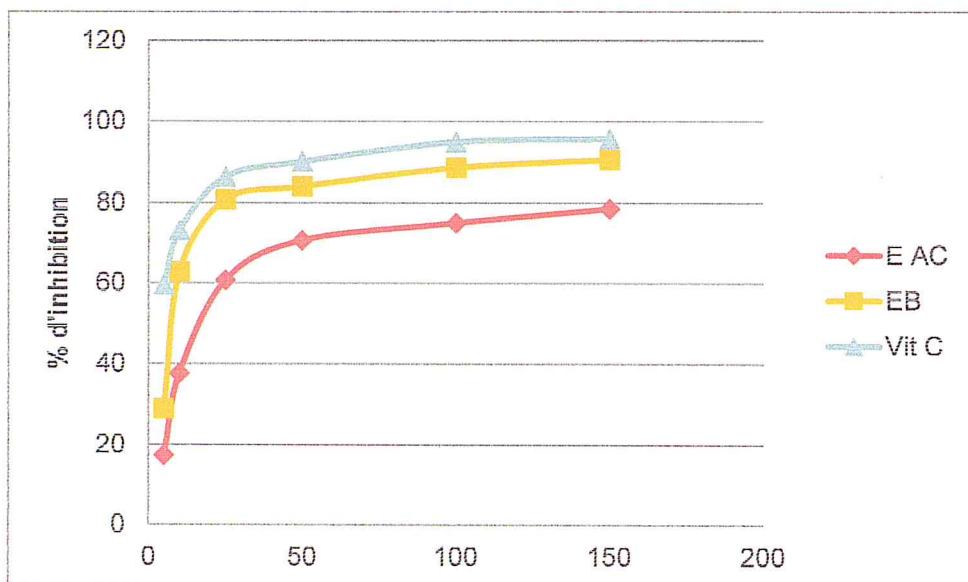


Figure 18 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH de l'extrait acétate d'éthyle, butanolique et du standard.

L'interprétation des résultats de l'activité antioxydante de nos extraits par la méthode de DPPH• est exprimée en « concentration efficace » ou CE50 (Tableau 23). Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant qui provoque une perte de 50% de l'activité de DPPH•.

Les concentrations efficaces des extraits et des témoins sont déterminées graphiquement à partir des courbes présentées par la figure 18.

Un autre paramètre exprime la puissance anti-radicalaire a été calculée à partir du premier est noté : "ARP" (pouvoir anti-radicalaire, égale à 1/CE50) [72,74].

Tableau N°23 : Valeurs CE50 et ARP des extraits de *satureja calamintha* et du standard antioxydant.

Composés	Vit C	Ext acétate	Ext BuOH
CE50 ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	4.9	12.30	7.95
ARP	0.2	0.081	0.125

D'une manière générale, les deux extraits testés acétate d'éthyle et butanolique ont provoqué une diminution plus ou moins importante de l'absorbance à 517nm selon leurs concentrations.

Les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique de la plante ont montrés un pouvoir de piégeage du radical DPPH important avec un pourcentage d'inhibition élevé pour toutes les concentrations.

Comme figurant dans le tableau précédant l'antioxydant standard « Vit C » a montré une activité antioxydante puissante avec une CE 50 de l'ordre de 4.9µg/ml.

Parmi les deux extraits de *satureja calamintha*, l'extrait butanolique représente l'extrait le plus actif avec une CE 50 de l'ordre de 7.95µg/ml, par contre l'extrait acétate d'éthyl montre une faible activité anti-radicalaire avec 12.30µg/ml.

Les études faites par par Ćetković et al. [75] ont montrés que l'extrait n-butanol de l'espèce *Satureja montana* est plus actif que l'extrait acétates d'éthyle, ce qui est en accord avec nos résultats.

La purification des composés actifs responsables des effets antioxydants, permet d'avoir une activité plus importante que celle des antioxydants standards.

II- Etude de l'activité antimicrobienne de *Satureja calamintha*

1-Introduction

L'aromathérapie est l'utilisation des huiles essentielles à des fins thérapeutiques, qui repose sur la relation existant entre les composants chimiques des huiles essentielles et les activités thérapeutiques qui en découlent [76].

Les plantes aromatique ont été signalées comme présentant des effets antimicrobiens contre plusieurs agents pathogènes [73]. Ces plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpenoïde.

Le pouvoir antimicrobien des extraits des plantes est attribué de leurs compositions chimiques [77].

L'antibiogramme a pour but de prédire la sensibilité d'un microorganisme vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Cette sensibilité est exprimée par l'apparition de zones d'inhibition autour de ces disques.

L'aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de cellulose imprégné d'huile essentielle.

L'activité antimicrobienne varie selon le type d'extrait et le Gram des bactéries. Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux effets des extraits alcooliques. La résistance chez les bactéries à Gram négatif est attribuée à la présence d'une membrane

externe imperméable aux composés lipophiles. L'absence de cette barrière chez les bactéries à Gram positif permet le contact direct des constituants hydrophobes des extraits avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne [78].

2- Protocol expérimental

L'activité antimicrobienne biologique de l'huile essentielle et des extraits de *Satureja calamintha* a été réalisée au niveau de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

Pour évaluer l'activité antimicrobienne d'HE et des extraits, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose.

Les tests biologiques sont effectués sur 6 souches microbiennes pathogènes.

Une suspension de chaque germe est préparée en eau distillée stérile et ajustée à 10^8 bactéries/ml. Chaque suspension est étalée sur une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre. Des disques stériles de 9mm de diamètre sont ensuite déposés sur la gélose, ils sont imprégnés d'extraits ou d'huile essentielle.

Pendant l'incubation l'extrait ou l'huile essentielle va diffuser à partir du centre du disque. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre en (mm) de la zone claire autour du disque, appelée : zone d'inhibition (diamètre d'inhibition), cette dernière est le critère qui détermine la résistance ou la sensibilité de la bactérie vis-à-vis de la substance antibiotique [79].

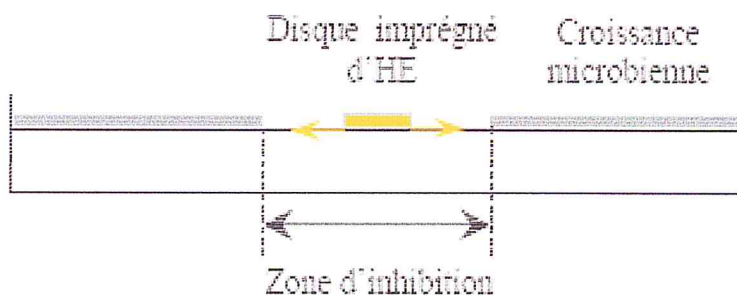


Figure 19: Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle.

La sensibilité des souches aux différents agents antimicrobiens a été classifiée par le diamètre de la zone d'inhibition représenté dans le tableau suivant :

Tableau N°24 : Relation entre le diamètre d'inhibition et la sensibilité des souches [76].

Diamètre	Sensibilité
D > 20mm	Extrêmement sensible
15mm < D < 19mm	Sensible
9 mm < D < 14mm	Intermédiairement
D < 8mm	Non sensible (résistante)

La sensibilité des souches microbiennes a été testée vis-à-vis d'un antibiotique [Ciprofloxacine (ATB) ; 0.1mg/disque] et deux antifongiques [Métronidazol (ATF 1) ; 0.25mg/disque, Amphotéricine B (ATF 2) ; 0.5mg/disque] selon la méthode de diffusion en milieu solide.

La ciprofloxacine est une fluoroquinolone, qui possède un vaste spectre d'activités contre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif.

a- Les souches microbiennes

Quatre souches bactériennes ont été testés : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785 (Bactéries gram négatif), *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Bactéries gram positive). Et deux souches fongiques : une levure ; *Candida albicans* ATCC 10231 et un champignon ; *Aspergillus Braziliensis*.

b- Préparation des milieux de culture

Dans un bain Marie infuser les milieux gélosée : Mueller Hinton (MH) pour les bactéries et Sabouraud (SAB) pour les levures et les champignons.

Couler les milieux dans des boites de pétri de 90mm avec une profondeur de 3 à 4mm.

Sécher les boites avant utilisation pendant 30mn à 32°C.

c- Préparation de l'inoculum

Les suspensions bactériennes ont été réalisées par prélèvements de 3 à 4 colonies isolées d'une culture pure de 18h pour les bactéries et 48h pour les levures.

L'isolement se fait à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, en raclant 2 à 3 colonies bien isolés et identiques à partir d'une culture pure de 24 heures d'incubation sur milieu d'isolement.

- Déchargé les suspensions bactériennes dans 05 ml d'eau physiologique stérile.
- Il faut noter que l'inoculum bactérie peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort, et il doit êtreensemencé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

d- Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans une suspension bactérienne déjà préparée.
- L'essorer en le passant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosé, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. A la fin de l'ensemencement on passe l'écouvillon sur le périphérique de la boîte de Pétri.
- Il faut recharger l'écouvillon à chaque fois, dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes.

3- Résultats et discussion

Les extraits et l'huile essentielle ont été solubilisés dans le MeOH pour obtenir des concentrations de 40 mg/ml.

Après 24 heures d'incubation à 37°C pour les souches bactériennes et 48 heures à 30°C pour les souches fongiques, les zones d'inhibition des différents extraits et d'HE ont été mesurées. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau N°25 : les diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits, HE, ATB et des ATF's relatives aux différentes souches microbiennes.

	Cp	Mr	ApB	HE	EC	EAc	EE
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44	-	-	0	0	0	0
<i>Bacillus cereus</i>	37	-	-	12	10	23	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	36	-	-	16	12	12	14
<i>Escherichia coli</i>	31	-	-	22	12	30	17
<i>Candida albicans</i>	-	0	16	12	14	16	15
<i>Aspergillus Braziliensis</i>	-	13	17	35	0	0	0

[Ciprofloxacine =Cp, Métronidazol=Mr, Amphotéricine B =Ap B]

A l'aide des résultats mentionnés dans le tableau 25, on a pu tracer les histogrammes
Suivant:

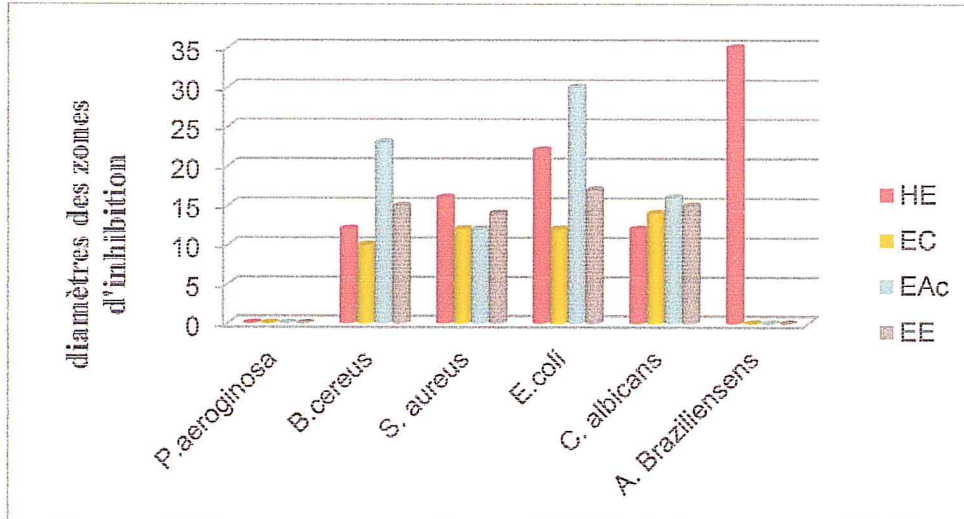


Figure 20 : les diamètres des zones d'inhibition des extraits et d'HE relatives aux différentes souches microbiennes.

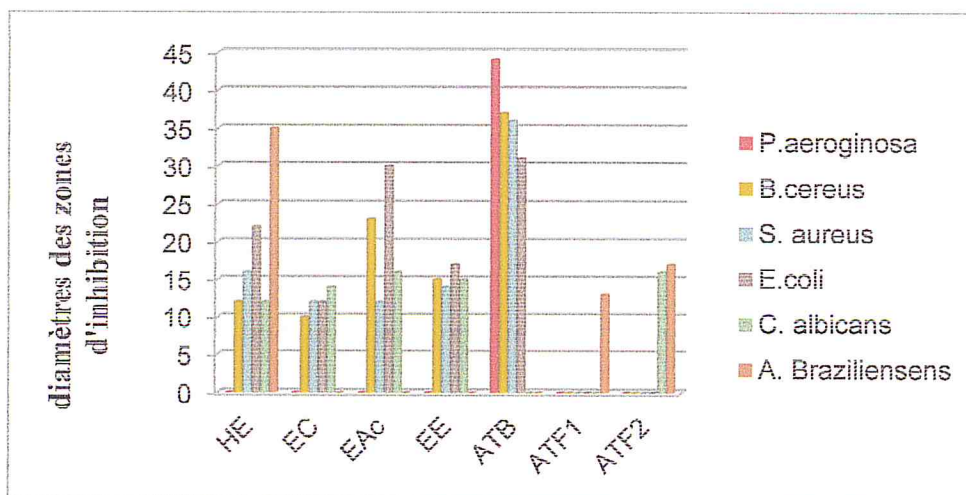


Figure 21 : les diamètres des zones d'inhibition des extraits, IIE, ATB, ATF1 et ATF 2 relatives aux différentes souches microbiennes.

D'après la figure 21, la ciprofloxacine a une action inhibitrice sur la croissance de toutes les souches testées et on constate que la souche *E. coli* est moins sensible à l'antibiotique par rapport aux autres souches.

Les résultats obtenus montrent que la souche bactérienne *Escherichia coli* a donné des zones d'inhibition importantes pour l'extrait acétate d'éthyle et l'huile essentielle (30mm et 22 mm de diamètre).

Par contre, une résistance est observée avec la souche bactérienne : *Pseudomonas aeruginas* qui n'a aucune sensibilité vis-à-vis tous les extraits et l'HE et aucune zone d'inhibition n'est observée.

D'après la littérature [80], la souche *Pseudomonas aeruginosa* est toujours présentée une résistance vis-à-vis des huiles essentielles.

Les autres souches bactériennes ont démontrés une activité antibactérienne moyenne avec une zone d'inhibition de 12 à 16 mm.

L'huile essentielle ainsi que les extraits de *Satureja calamintha* agissent de façon active sur la majorité des bactéries testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui est particulièrement très résistantes.

Les résultats obtenus pour les souches antifongiques testées ont montré que la souche *Candida albicans* est intermédiairement sensible pour les extraits et l'HE de *Satureja Calamintha*. par contre, la deuxième souche *Aspergillus Braziliensis* révèle une sensibilité très puissante et importante pour l'HE et une grande résistance vis-à-vis les autres extraits (absence totale de zone d'inhibition).

En conclusion, Selon les résultats représentés dans le tableau N°25, tous les extraits et l'HE ont présentés une activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries à Gram positif, à savoir : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, tandis que la bactérie à Grams négatif *Escherichia coli* a une activité antibactérienne très importante mais la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* n'a présenté aucune activité antibactérienne.

Par ailleurs, l'huile essentielle de *Satureja calamintha* a montré une activité antifongique intéressante, notamment vis-à-vis la souche *Aspergillus Braziliensis*.

Conclusion générale

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

La présente étude a porté sur l'espèce *Satureja calamintha* qui appartient à la famille de Lamiacées, une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels. De différents aspects ont été étudiés.

- Le screening phytochimique a montré la présence de nombreuses familles de substances chimiques : les flavonoides, les stérols, les terpènes, les triterpènes et les phénols.
- L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage de radical libre DPPH des extraits acétate d'éthyle et butanolique de l'espèce étudiée a montré que ces deux extraits possèdent un pouvoir antioxydant.
- L'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau a permis d'obtenir un rendement acceptable et peut être rentable à l'échelle industrielle (1.16%).
- Une étude analytique a permis de caractériser l'huile essentielle par ses indices physico-chimique qui sont proches aux normes (AFNOR).
- L'analyse de l'huile essentielle par chromatographie liquide à haute performance HPLC, a permis de déterminer la présence de 11 composés.
- Les résultats des tests de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle avec les souches *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* ont montré que l'huile essentielle de *Satureja calamintha* agit de façon active sur toutes les bactéries testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui est très résistante. L'HE révèle une sensibilité très puissante et importante vis-à-vis la souche *Aspergillus Braziliensis* avec une zone d'inhibition supérieure à 35 mm.

- De façon général, les autres extraits étudiés (chloroformique, acétate d'éthyle et éthanolique) ont révélé une activité antibactérienne considérablement importante vis-à-vis les souches testés à l'exception de la souche *Pseudomonas aeruginosa*.
- Concernant l'activité antifongique, les résultats obtenus ont montré que la souche *Candida albicans* a une sensibilité moyenne pour les différents extraits testés. Par contre, la souche *Aspergillus braziliensens* ne présentent aucune sensibilité vis-à-vis les extraits.

Pour conclure, cette étude a montré que l'espèce *Satureja calamintha* est riche en métabolites secondaires spécialement les composés phénoliques, une exploitation de leurs propriétés antioxydante et antimicrobienne implique une recherché plus poussée de ses principes actifs.

Références bibliographiques

- [1] G. Gérardine, 2010, les propriétés des huiles essentielles dans les soins buccodentaires d'hier à aujourd'hui, en pharmacie, université Henri Poincaré-Nancy 1.
- [2] F. Naghibi, M. Mosaddegh, M.S. Mohammadi et A. Ghorbani, 2005, Labiatae family in folk medicine in Iran, Ethnobotany to pharmacology-iranian, journal of pharmaceutical research, 2, 63-79.
- [3] H. Khireddine, 2012, Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie, université M'hamed Bougara-Boumerdes.
- [4] C. Duraffour, J-C. Lapraz, R. Chemli, 1997, La plante médicinale de la tradition à la science, 1er congrès Intercontinental, Tunis. Ed. Granche. Paris, 222.
- [5] A. Pauli, 2001, Antimicrobial properties of essential oil constituents, Int. J. Aromather, 11, 126-133.
- [6] R. Harley and A. Paton, 1992, *Lamiales* news letter, royal botanic gardens kew, 1, 1-9.
- [7] www.complémentaires-alimentaires.com/les plantes de la famille des lamiacées.
- [8] N. Benayad, 2008, Utilisation des huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines comme insecticides pour lutter contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées (blé, maïs, riz), Rabat-Maroc.
- [9] C. Bekhechi, 2008, analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par CPG-IR, CC, CPG-SM et RMN ¹³C et étude de leur pouvoir antibactérien, université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- [10] N. Bougandoura, 2011, Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calmintha ssp nepta (nepta)* et *Ajugaiva L. (chendgoura)* de l'ouest d'Algérie, université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- [11] M.A. Boukhris, 2009, activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires, Faculté des sciences et techniques Fès, Maroc.
- [12] F. Padrini, M.T. Lucheroni, 1996, Le grand livre des huiles essentielles: Guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et l'aromassage énergétique avec plus de 100 photographies. Ed. De Vecchi, 15.
- [13] D. Lucienne, Les plantes médicinales d'Algérie, contribution de Lucienne, Edition Berti, 232.

- [14] N. Baldovini, F. Tomi, J. Casanova, 2001, Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by ^{13}C -NMR, *Phytochem Anal*, **12**, 58-63.
- [15] C. Sanja, E.S. Mrija and M. Maksimovic, 2013, Chemical composition and antioxidant activity of two *Satureja* species from Mt. Biokovo, *Botanica Serbica, Original Scientific Paper*, **37(2)**, 159-165.
- [16] C. Sanja, M. Maksimovic, M. Editasolic, A. Jerkovic, R. Besta, 2008, Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils, *Food Chemistry*, **111**, 4-33.
- [17] K. Yuksel, S.U. Uckun, M. Kartal, M.L. Altun, S. Aslan, E. Sayar, Timurhan Ceyhan « GC-MS Analysis and antibacterial activity of cultivated *Satureja cuneifolia* Ten. essential oil », *Turk J Chem*, **30**, 253-259.
- [18] H.M. Niemeyer, 2010, Composition of essential oils from *Satureja darwinii* (Benth.) Briq. and *S. multiflora* (R. et P.) Briq. (*Lamiaceae*). Relationship between chemotype and oil yield in *Satureja* spp., *Journal of Essential Oil Research*, **22**, 477-481.
- [19] I. C. Viturro, A. Molina, I. Guy, C. Brigitte, H. Guinaudeau and A. Fournet, 2000, Essential oils of *Satureja boliviana* *S. parvifolia* growing in the region of Jujuy, Argentina, *Flavour and Fragrance Journal*, **15**, 377-382.
- [20] V. Dunkic, N. Bezik, N. Ljubescic and I. Bcina, 2007, Glandular hair structure and essential oils in *Satureja subspicata* var. *ssp. subspicata* and *ssp. Liburnica silic*, *Acta Biologica Cracoviensica Series Botanica* **49(2)**, 45-51.
- [21] F. Eftekhari, F. Haei, M. Yasefzadi, E. Samad Nejad and J. Hadian, 2008, Antibacterial activity and essential oil composition of *Satureja spicigera* from Iran, *Z Naturforsch C*, **64**, 20-24.
- [22] F. Sefidkom, Z. Jamzad, 2004, Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species [*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*], *Food Chemistry*, **27**, 1-4.
- [23] F. Sefidkom, Z. Jamzad, M. Mirza, 2004, Chemical variation in the essential oil of *Satureja sahendica* from Iran, *Food Chemistry*, **44**, 235-328.
- [24] H. Farsam, M. Amanlou, M.R. Radpour, A.N. Salehinia, A. Shafiee, 2004, Composition of essential oils of wild and cultivated *Satureja khuzistanica* Jamzad from Iran, *Flavor and Fragrance*, **19**, 308-310.
- [25] A.R. Gohari, S. Saeidnia, M.R. Gohari, F. Moradi-Afrapoli, M. Malmir, A. Hadjiakhoondi, 2006, Bioactive flavonoids from *Satureja atropatana* Bunge, *Flav. Fragr. J.*, **6**, 510-512.

- [26] E. Pablo, R. Bonilla, A. Jorge, M.L. Nancy, H. Beltrán, A. Alba, J. Aguedo, L. Tinco, F. Ríos, 2011, Chemical composition and pharmacological activity of ethanol extract of *Satureja sericea* (goyal), *Recherches en sciences*, **14** (1), 14-20.
- [27] E. Lizarraga et L. R. Abdala, 2004, Compuestos Fenólicos Mayoritarios en *Satureja boliviana* (Benth.) Briq. (Lamiaceae), *Loi sur l'agriculture*, Buenos Aires, **23** (2), 198-200.
- [28] S. Rojas, B. Somoza, T. Ortega T, A.M. Villar, 2006, Isolation of vasodilatory active flavonoids from the traditional remedy *Satureja obovata*, *Planta Med*, **61**(3-4), 189-92.
- [29] E. P.K. emertelidze, T.G. Sagareishvili, V.N. Syrov, and Z.A. Khushbaktova, 2003, Chemical composition and pharmacological activity of garden savory (*satureja hortensis* L.) occurring in Georgia, *pharmaceutical chemistry journal*, **38**(6), 33-35.
- [30] HD. Hassanein, S.A. Al Had, MM. Abdelmohsen, 2014, antioxidant polyphenolic constituents of *satureja montana* L. Growing in Egypt, *International Journal of pharmacie*, **6** (4), 578.
- [31] J. Rzepa, M. Sajewicz, T. Baj, P. Gorczyca, M. Wlodarek, S. Kwiatkowski, T. Kowalska, M. Waksmundzka-Hajnos, 2011, The GC/MS and HPLC/DAD, analysis of phenolic acids from Winter Savory (*Satureja montana*), **114**(4), 49-58.
- [32] F.M. Moghaddam, M.M. Farimani, S. Salahvarzi, and A. Gholamreza, 2007, Chemical Constituents of Dichloromethane Extract of Cultivated *Satureja khuzistanica*, *Evid Based Complement Alternat Med*, **4**(1), 95-98.
- [33] M. Malmir, AR. Gohari, S. Saeidnia, 2000, *Flavonoids* from the aerial parts of *Satureja khuzestanica*, *Medicinal Plants*, **12**, 1649-019.
- [34] V. Baren, I. Anao, L. Di Lira, S. Debenedetti, P. Houghton, S. Croft, V. Martino, 2009, Triterpenic acids and *flavonoids* from *Satureja parvifolia*, Evaluation of their antiprotozoal activity, *Nat Prod Res*, **23**(17), 1609-14.
- [35] V. Manriquez, C. Labee, M. Castillo et O. Wrrtke, 1997, $1\alpha,5\alpha$ Dihydroxymanoyl Oxide, a Novel Diterpene from *Satureja gilliesii*, *Acta Cryst.* **C53**, 624-626.
- [36] T. Adzet et J. Passet, 1972, Chemotaxonomie du genre *Satureja-Calamintha* *Rivista Italiana ERROS*, **54**, 482-486.
- [37] A. Pérez, V. Negueruela, L. Saez, 1993, The volatiles of two *Calamintha* species growing in Spain, *Calamintha sylvatica* Bromf. and *Calamintha nepeta* (L.) Savi, *Acta Horticulturae*, **333**, 255-260.
- [38] B. Satrani, A. Arah, M. Fechtal, T. Blaghen, A. Chaouch, 2001, Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja*

alpina du Maroc, Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, **94(956)**, 241-250.

[39] P. Quezel, S. Santa, 1963, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris ,788-789.

[40] S. Perrucci, F. Mancianti , P.L. Cioni , G. Flamini , I. Morelli , G. Macchioni, 1994, In vitro antifungal activity of essential oils against some isolated of *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum*, *Planta Medica*, **60**,184-187.

[41] F. Baba Aïssa, 1999, Encyclopédie des plantes utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb, Ed.Librairie Moderne-Rouiba, 46-47-194-195-231.

[42] L. Panizzi, G. Flamini, P.L. Cioni, I. Mordu,1993, Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediterranean *lamiaceae* , *Journal of Ethnopharmacology*, **39**,167-170.

[43] H. L. De Pooter, N. Schamp, 1986, Comparaison of the volatile composition of some *Calamintha / Satureja species*. In: Progress in essential oil Research, Ed. E-J Brunke, Walter De Gruyter, 139- 150.

[44] H. L. De Pooter, P. Goetghebeur, N. Schamp, 1987, Variability in composition of the essential oil of *Calamintha nepeta* , *Journal of Phytochemistry*, **26**, 3355-3356.

[45] N. Baldovini , D. Ristorcelli , F. Tomi , J. Casanova ,2000, Intraspecific variability of the essential oil of *Calamintha nepeta* from Corsica (France). *Flavour and Fragrance Journal*, **15**, 50 - 54.

[46] D. Fraternali , L. Giamperi , D. Ricci , A. Manuta ,1998, Composition of essential oil as taxonomic Marker for *Calamintha nepeta (L.) Savi ssp. Nepeta*, *journal of Essential Oil Research*, **10**,568-570.

[47] M. Ferhat, 2009, Recherche des substances bio-actives de *centaurea microcarpa coss et dur.*, Université de M'sila.,

[48] A. Francisco, N. Tomas-Barber, Z.H. Syed , I.G. Maria ,1988, The Distribution of Methylated Flavones in the *Lamiaceae*, *Biochemical Systematics and Ecology*, **16**,43-46.

[49] P. Caree, 1953, précis de technologie et de chimie industrielle, T3.Ed.Ballière JB et fils, 46-48.

[50] AFNOR (1992) Recueil des norms française sur les huiles essentielles.Paris.

[51] J. kabera Nzeyumwami, 2004, caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : *Hptis spicigera pluchea ovalis* et *laggera aurit*, mémoire en biologie et médecine ,université de Lome-togo.

- [66] X.Y. Hong, M. Wan, H. Dong, P.P.H. But, L. Foo .Y.cap , 2000, Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease,Biological and Pharmaceutical Bulletin, **23(9)**, 1072-1076.
- [67] S.J. Kaur, I.S. Grover, S. Kumar , 2000, Modulatory effects of tannin fraction isolated from *Terminalia arjuna* on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*, Food and Chemical Toxicology,**38(12)**,1113-1119.
- [68] J. Bruneton, 1993, Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 2 ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris, 405-406.
- [69] M. Antolovich, P.D. Prenzler , E. Patsalides , M.C. Donald, S.K. Robards, 2002, Methods for testing antioxidant activity, J.Analyst, **127**, 183-198.
- [70] T. Crus Garcia, J. Jimenez, C. Navarro, J. Cabo , M.M. Cabo ,1988, Sur l'huile essentielle de *Thymus longiflorus* Boiss, Plantes Med, Phytother Tome XXII,**22 (4)**, 225-230.
- [71] W. Brand-Williams , M.E. Cuvelier , C. Berset ,1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel- Wissenschaft and Technology, **28**, 25-30.
- [72] R.M. Samarth , M. Panwar , A. Soni , M. Kumar , A. Kumar, 2008 , Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract ,Food Chemistry,**106**,868-873.
- [73] B. Bozin , N. Mimica-Dukic, I. Samojlik , A. Goran , R. Ijic , 2008, Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., *Alliaceae*), Food Chemistry,**111**, 925–929.
- [74] B. Tepe , D. Daferera , A.S. Tepe , M. Polissiou , A. Sokmen, 2009, Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. From Turkey, Food Chemistry,**103**,1358–1364.
- [75] G.S. Ćetković , J. Ćanadanović-Brunet , S.M. Djilas , V.T. Tumbas , S.L. Markov , D.D. Cetković , 2007, Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts, Int. J. Mol. Sci., **8(10)**,1013-1027.
- [76] E.Emst, M.H. Pittler, 2005, Médecines alternatives: le guide critique, Ed. Elsevier Masson, 36.
- [77] R. Piccaglia, M. Marotti et E. Giovanelli, 1993, Antibacterial and antioxidant properties of Mediterranean aromatic plants, Industrial crops and Products,**1**,47-50.
- [78] C.N. Wendakoon, M. Sakaguchi, 1995, Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices, Journal of Food Products, **58**, 280-283.

[79] M. Viuda-Martos , R.N. Yolanda , Z. Sánchez , F. Fernández-López , A. José ,2010,Antibacterial activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet,Flavour Fragrance Journal, **25**, 13–19.

[80] A.Sivropoulou , S. Kokkini , T. Lanaras ,M. Arsenakis , 1995,Antimicrobial activity of mint essential oils,J Agric. Food Chem., **43**, 2384 - 2388.

Résumé

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique et biologique de l'espèce *Satureja calamintha* qui appartient à la famille des Lamiaceae.

Le screening phytochimique visant à caractériser les différentes familles de composés chimiques contenus dans la partie aérienne, montre la richesse de cette plante en métabolites secondaires.

L'extraction d'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau a permis d'obtenir un rendement de 1.16%.

L'analyse de l'huile essentielle par chromatographie liquide à haute performance HPLC, a permis de déterminer la présence de 11 composés.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage de radical libre DPPH des extraits acétate d'éthyle et butanolique a montré que ces deux extraits possèdent un pouvoir antioxydant important.

L'effet antibactérien et antifongique des extraits et d'huile essentielle de cette plante ont également été démontré.

Mots clés : *Satureja calamintha*, huile essentielle, screening phytochimique, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité antifongique.

المخلص

يندرج هذا البحث ضمن دراسة نبتة النابطة التي تنتمي الى عائلة الشفوية التي تركز على استخراج الزيت العطرية عن طريق بخار الماء الذي اعطى المردود 1.16%. كما تما القيام بدراسة فيتوكيميائية لتحديد مختلف المركبات الكيميائية الموجودة في جميع اجزاء النبات و تحضير العديد من المستخلصات الجافة من هذا النبات.

اثبتت دراسة النشاط المضاد للاكسدة المستعملة على كل من مستخلص البيوتانول و خلات الاثيل من خلال طريقة تثبيط الجذر الحر DPPH ان كلا المستخلصين اظهرا نشاطا مضادا للاكسدة. بالنسبة للتجارب المضادة للفطريات و الجراثيم فقد بينت ان المستخلصات و الزيت العطري لها تاثير هام , كما وجدنا ان هذه الاخيرة هي فعالة ضد معظم البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: استخراج, الزيت العطرية, بدراسة فيتوكيميائية, اكسدة, /لفطريات

Abstract

This work aimed to investigate phytochemical and biological activity of aerial parts of *Satureja Calamintha* which belongs to the family Lamiaceae.

The phytochemical screening shows that the aerial parts of this plant are rich in secondary metabolites.

The steam distillation of dry aerial parts of *Satureja calamintha* yielded 1.16% of a yellow good smell essential oil.

The analysis of the essential oil by high performance liquid chromatography HPLC, allowed to determine the presence of 11 compounds.

The antioxidant activity of two extracts (ethyl acetate and butanol) were evaluated using the DPPH• method.

The antibacterial and antifungal effects of the essential oil and extracts of this plant have been also reported.

Key words: *Satureja calamintha*, essential oil, phytochemical screening, antioxydant, antibacterial, antifungal activity.

Annexe

Les résultats de l'activité antibactérienne tel que : HE =SM, EC=SM1, EAc =SM2 et EE=SM3.

1- la souche *Pseudomonas aeruginosa*



2- la souche *Bacillus cereus*



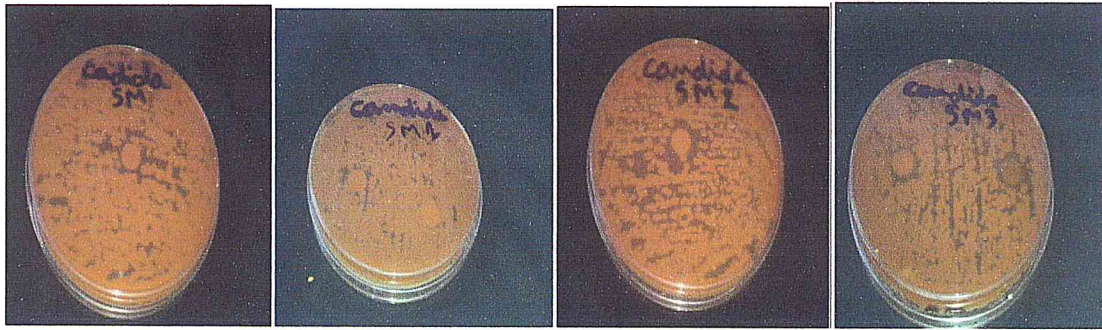
3- la souche *Staphylococcus aureus*



4- la souche *Escherichia Coli*



5- la souche *Candida albicans*



6- la souche *Aspergillus Braziliensis*

