

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique  
Filière : Sciences Biologiques  
Option : Biochimie et Biologie Moléculaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Activité antioxydants des huiles essentielles  
extraites de quelques plantes de la famille  
des Lamiaceae**

Présenté par :

**BAALI Khalissa & ROUHA Hassiba**

Soutenu le : **22 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme ZEMOURI S.	MAA	Président
Mlle AYOUNI K.	MAA	Encadreur
Mr TACHERFIOUT M.	MAA	Examineur

**Année universitaire : 2016 / 2017**

## *Remerciements*

*On tien tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et Miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience et le courage d'accomplir ce modeste travail.*

*On s'adresse nos remerciements les plus sincères aux personnes qui y ont apporté leur aide et qui y ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.*

*On remercie aussi Mme RAHMANI.M pour son aide précieuse.*

*Et c'est avec une immense reconnaissance qu'on s'adresse nos vifs remerciements à notre promotrice M<sup>elle</sup> AYOUNI .K, pour nos avoir permis d'effectuer notre mémoire sous sa direction et nos a offert la possibilité de travailler sur un sujet passionnant, ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordée en acceptant de diriger ce mémoire pour ses connaissances scientifiques.*

*On exprime nos sincères remerciements à Mme ZMOURRI.S, qui nous a honorées de sa présence en acceptant de présider le jury de cette soutenance.*

*Mr TACHERFIOUT M. Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez notre travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.*

*Un immense merci à tout le personnel du laboratoire génétique, surtout Mme ATEMANI.D qui a accepté de nous accueillir, et de nous a facilité notre intégration dans le milieu pratique.*

*Enfin, on tient également à remercier toute les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*C'est avec mon énorme plaisir, un cœur ouvert et une joie immense, que je dédie ce modeste travail tout d'abord à mes parents Hocine et Zakia pour leurs amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*A mon marie Ahcene merci de m'avoir accompagné jusque à la concrétisation de ce travail. Saches que je t'aime profondément, que Dieu bénisse notre union*

*A mes sœurs Nacira ,Zoulikha ,Ghanianacira ,Naima,Sabrina qui n'ont jamais cessé de ce que vous avez fait pour moi.*

*A més très chères frères Mohamed,Ghani,Hamou pour qui je Souhaitent que du bonheur et la réussite dans leur vie.*

*A tous mes collègues de la promotion avec qui j'ai partagé les jotes et les difficultés durant ces années.*

*A toute personne qui me connaisse et me considère comme une amie.*

*A toutes mes chères mima,dida,lamia,sissa,salima et a mon ami kamel.*

*A ma petite adorable amina*

*Et en fin ma binôme khalissa*

*Hassiba*

## *Dédicaces*

*C'est avec mon énorme plaisir, un cœur ouvert et une joie immense, que je dédie ce modeste travail tout d'abord à mes parents Hocine et Djamilia pour leurs amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*A mes sœurs Nadjet, Yasmina et Faridja qui n'ont jamais cessé de ce que vous avez fait pour moi.*

*A mon très cher frère Farhet et sa femme Souhila, qui je les Souhaite que du bonheur et la réussite dans leur vie.*

*A tous mes collègues de la promotion avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant ces années.*

*A toute personne qui me connaisse et me considère comme une amie.*

*A toutes mes chères copines Tinhinane, Loubna, Siham, Fairouz et a mon cher ami Djamel.*

*A ma petite adorable Lina.*

*Et en fin ma binôme Hassiba.*

*Khalissa*

# *Sommaire*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

## **I. Synthèse bibliographique**

I.1. Les huiles essentielles.....2

I.1.2. Répartition et localisation.....2

I.1.3. Méthodes d'extraction.....2

I.1.4. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....3

    I.4.1. Propriétés physiques.....3

    I.4.2. Composition chimique.....4

        I.4.2.1. Terpénoïdes.....4

        I.4.2.2. Composés aromatiques.....4

I.5. Biosynthèse des huiles essentielles.....4

I.6. Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....5

I.7. Activités biologiques des huiles essentielles.....5

    I.7.1. Activités antimicrobiennes.....5

    I.7.2. Activités anticancéreuses.....6

    I.7.3. Activités anti-insecticides.....6

    I.7.3. Activités anti-insecticides.....6

    I.7.4. Activité anti-enzymatiques.....6

    I.7.5. Activités antioxydants.....6

        I.7.5.1. Les radicaux libres et le stress oxydant.....6

        I.7.5.2. Les antioxydant.....7

            a. Les antioxydants naturels.....7

b. Les antioxydants synthétiques.....	8
I.8. Techniques d'évaluation de l'activité antioxydant.....	8
I.8.1. Activité antioxydant par le test FRAP.....	8
I.8.2. Méthode de piégeage de radical libre DPPH.....	8
I.8.3. Activité antioxydant par le test ABTS <sup>+</sup> .....	8
I.9. Toxicité des huiles essentielles.....	9
<b>II. Matériel et méthodes</b>	
II.1. Matériel.....	10
II.1.1. Produits chimiques.....	10
II.1.2. Matériel et verreries.....	10
II.2. Matériel végétal.....	10
II.3. Méthode.....	13
II.3.2. Evaluation des activités antioxydants, <i>in vitro</i> , des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et quelques molécules pures.....	14
II.3.2.1. Pouvoir réducteur par la méthode FRAP.....	14
II.3.2.2. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH.....	14
II.3.2.3. Etude l'activité anti-ABTS <sup>+</sup> .....	15
L'analyse statistique.....	16
<b>III. Résultats et discussion</b>	
III.1. Extraction des huiles essentielles.....	17
III. 2. Activité antioxydant.....	18
Conclusion.....	31

Références bibliographique

Annexes

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Schéma de l'appareil de l'hydrodistillation.....	3
<b>Figure 02 :</b> Schéma général de la biosynthèse des terpènes.....	5
<b>Figure 03 :</b> Les radicaux libres et leurs origines.....	7
<b>Figure 04 :</b> Schéma du dispositif d'extraction (Clevenger) des huiles essentielles.....	13
<b>Figure 05 :</b> Forme libre et réduit du DPPH.....	15
<b>Figure 06 :</b> Formation et piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de proton(H).....	16
<b>Figure 07 :</b> l'évolution de l'activité anti-DPPH des huiles essentielles de genre Calamintha.....	18
<b>Figure 08:</b> Résultat de l'activité anti-DPPH des huiles essentielles de <i>Teucrium polium</i> (tige), et <i>Teucrium flavum</i> (feuilles et fleurs).....	19
<b>Figure 09 :</b> Résultats de l'activité anti-ABTS <sup>•+</sup> des huiles essentielles de genre Calamintha.....	20
<b>Figure 10 :</b> Résultats de l'activité anti-ABTS <sup>•+</sup> des huiles essentielles de <i>Teucrium polium</i> [partie aérienne, tige et (feuilles et fleurs)] et <i>Teucrium flavum</i> .....	21
<b>Figure 11 :</b> Résultat de variation des IC50 des huiles des différentes espèces.....	22
<b>Figure 12 :</b> Résultats de variation des IC50 des composants chimique des huiles essentielles.....	23
<b>Figure 13 :</b> Variation des IC50 des huiles essentielles de différentes espèces étudiées avec des molécules pures.....	24
<b>Figure 14 :</b> Résultats de pourcentage d'inhibition à 50% des huiles essentielles par le cation ABTS <sup>•+</sup> .....	26
<b>Figure 15 :</b> Résultats de la variation des IC50 des différentes molécules chimiques étudiées.....	27
<b>Figure 16:</b> Variation des IC50 des huiles essentielles de différentes espèces étudiées avec des molécules pures.....	28
<b>Figure 17 :</b> Résultats de la capacité réductrice FRAP par les huiles essentielles et les molécules en équivalence de TROLOX.....	29

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Description botanique des espèces étudiées.....	11
<b>Tableau II:</b> Rendement en huiles essentielles des différentes extractions.....	17
<b>Tableau III :</b> Résultats de pouvoir réducteur des huiles essentielles et les molécules par le test FRAP.....	30

- **IPP** : Isopentenyl diphosphate
- **Acétyl-coA** : L'acetyl-coenzyme A
- **DMAPP** : Diméthylallyle diphosphate
- **GPP** : Geranyl diphosphate
- **FPP** : Farnesyl diphosphate
- **EROs** : Les espèces réactives d'oxygène
- **ERNs** : les espèces réactives d'azote
- **O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Superoxyde
- **·OH** : Le radical hydroxyle
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Le peroxyde hydrogène
- **NO·** : Le monoxyde d'azote
- **Fe<sup>3+</sup>-TPTZ** : Tripyridyl triazyl ferrique
- **Fe<sup>+2</sup>-TPTZ** : Tripyridyl triazyl ferreux
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- **ABTS** : 2,2'-azinobis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique
- **FRAP** : Ferric Reducing Antioxidant Power
- **FeCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O** : Chlorure ferrique hexahydrate
- **TPTZ** : 2, 4,6-tris -2-pyridyl-s-triazine
- **Abs** : Absorbance
- **TEAC** : Capacité réductrice équivalent Trolox
- ***C. menthifolia* (R)** : *Calamintha menthifolia* Racine
- ***C. menthifolia* (F)** : *Calamintha menthifolia* feuille
- ***T. polium* (Fet Flr )** : *Teucrium polium* Feuille et fleur
- ***T. polium*(T)** : *Teucrium polium* Tige
- **PA** : Partie aérienne
- **Trolox** : 6-hydroxy-2,5,7,8,tetraméthylchroman-2-carboxylic acid
- **Hes** : Les huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles remonte aux plus anciennes civilisations. Tout d'abord dans l'orient et le Moyen Orient et par la suite au nord de l'Afrique et en Europe. Les hydrolats (eaux aromatiques) étaient utilisés en Inde il ya plus de 7000 ans. Entre 3000 et 2000 Ans avant notre ère, les Egyptiens faisaient un usage important des plantes aromatiques et aussi des plantes pour soigner les malades. **(Baser et Buchbauer, 2010)**

Les huiles essentielles des plantes sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. Certaines sont très utilisées en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie et en cosmétique. Leur utilisation est liée à leurs différentes activités biologiques reconnues. Parmi ces activités, on trouve le pouvoir antioxydant, qui est actuellement le centre d'intérêt de plusieurs études pour la prévention des maladies. **(Hennebelle et al., 2004 ;Kankonet al., 2004),**

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro*, l'activité antioxydant par piégeage de radicaux différents, les radicaux libres DPPH ou les radicaux ABTS<sup>•+</sup>, ainsi que la méthode utilisant les ions ferriques FRAP.

Dans ce cadre, nous sommes intéressés à l'évaluation des activités antioxydants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation, de cinq plantes médicinales de la famille des Lamiaceae, récoltées en période de floraison au niveau de l'un des grand Hotspot de la biodiversité en Algérie; le Djurdjura. C'est dans cet ordre d'idées que nous avons enrichie notre problématique liée au sujet par une synthèse bibliographique, des informations théoriques et pratiques. La réalisation de ce travail est associée à des protocoles expérimentaux adéquats. Ensuite, les différents résultats recueillis dans les différents tests sont commentés et discutés. Enfin, une conclusion générale qui résume les résultats de notre travail.

### **I.1. Les huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides obtenue à partir d'une matière première végétale, leur biosynthèse pourrait être dans différents organes végétaux (les fruits, les feuilles, les tiges, les fleurs). Leur extraction nécessite en général la distillation ou elles sont entraînées par la vapeur d'eau, ce qui permet de les récupérer et de les concentrer. **(Xavier, 2012)**.

#### **I.1.2. Répartition et localisation**

Les huiles essentielles existent chez les végétaux supérieurs et uniquement chez les genres qui sont capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles, elles sont réparties donc dans un nombre limité de familles, ex : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, etc. **(Bruneton, 2008)**.

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : surtout dans les fleurs, les feuilles et les écorces mais aussi dans les racines, le bois, les rhizomes, les fruits et les graines. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées, qui sont localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellule à huiles essentielles des Lamiaceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae, **(EL Asbahni, 2014)**.

#### **I.1.3. Méthodes d'extraction**

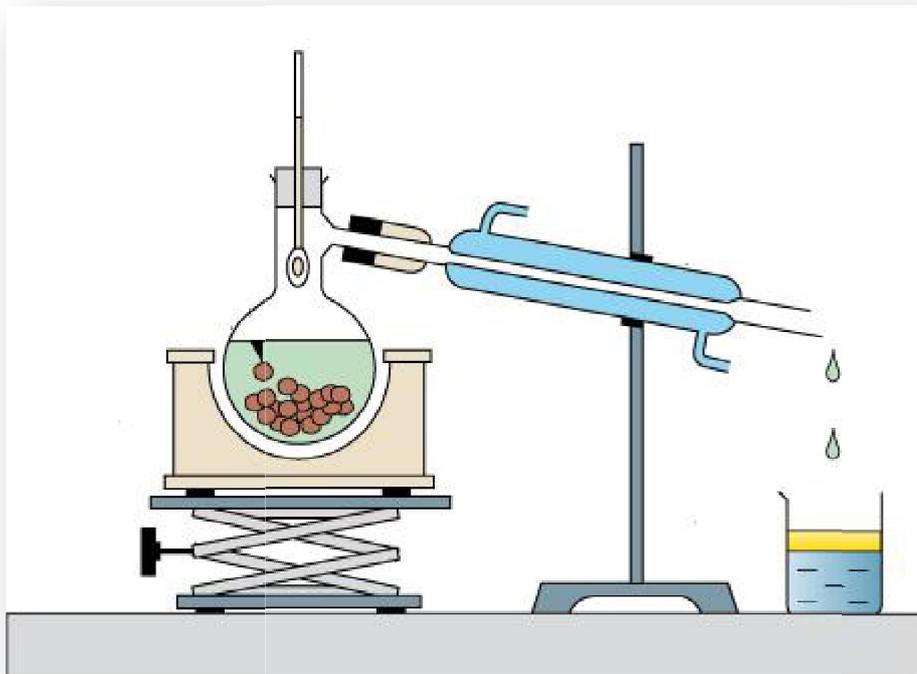
Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction d'essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles,...), de la nature des composés à extraire (les huiles essentielles, les huiles lourdes...), le rendement en huile et la fragilité de certains constituants et des huiles aux températures élevées. Parmi ces méthodes en trouvent :

- **Méthodes classiques** : il existe plusieurs méthodes parmi les plus connues, l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur d'eau, l'extraction par solvants, et l'expression à froid, **(Rassem et al., 2016)**.
- **Méthodes modernes** : l'hydrodistillation assistée par micro-ondes, l'extraction de fluides supercritiques, l'hydrodistillation assistée par ultrasons et l'hydrodiffusion assistée par micro-ondes et de gravité, **(Rassem et al., 2016)**.

✓ **Hydrodistillation**

Cette méthode est la plus simple et ancienne qui est utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. Son principe, consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau distillée, qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité, (Bruneton, 2008), Comme illustré dans la figure 01.

Les étapes d'extraction des huiles essentielles d'origine végétale restent identiques quelque soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation, (Brusottiet al., 2013).



**Figure 01:** Schéma de l'appareil de l'hydrodistillation,, (Rassemet al., 2016).

#### **I.1.4. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles**

##### **I.4.1. Propriétés physiques**

Les huiles essentielles sont très peu solubles dans l'eau, très rarement colorées, elles sont caractérisées par une densité inférieure à 1, leur indice de réfraction est élevé. Elles sont solubles dans les solvants organiques usuels et elles sont liposolubles, (Bruneton, 2008).

## **I.4.2. Composition chimique**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de variables constituants qui appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane(**Bruneton, 2008**).

### **I.4.2.1. Terpénoïdes**

Les terpènes sont les composés les plus volatils, dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée tels que les mono et sesquiterpènes. Il existe plusieurs composés qui appartiennent à ces deux séries, les plus rencontrés sont les carbures, les alcools, les aldéhydes, les esters, les éthers, peroxydes et les phénols,(**Husnucan baser et Buchbauer,2010**).

### **I.4.2.2. Composés aromatiques :**

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les terpénoïdes. On trouve plus souvent les allyl-et propénylphénols, parfois des aldéhydes, (**Bruneton, 2008**).

D'autres composés d'origines diverses, sont formés par la transformation de molécules non volatils (des composés issus de la dégradation des acides gras, de terpènes etc), contribuent souvent aux arômes de fruits,(**Bruneton, 2008 ;Husnucan baser et Buchbauer,2010**).

## **I.5. Biosynthèse des huiles essentielles**

La biosynthèse des huiles essentielles se produit à travers deux voies biochimiques naturelles complexes impliquant différentes réactions enzymatiques(figure02).L'isopentenylidiphosphate (IPP)qui est synthétisé à partir de l'acétyl-coenzymeA (acétyl-coA), et son isomère diméthylallylediphosphate (DMAPP). Les deux intermédiaires réagissent l'un sur l'autre pour conduire à la formation de geranyldiphosphate (GPP),qui est un précurseur des monoterpènes (C10), l'assemblage de deux,trois ou quatre unité de C5 ou plus, donnent la formation d'autres composés,(**Bohlmannet al., 2008 ; Rehmanet al., 2016**).

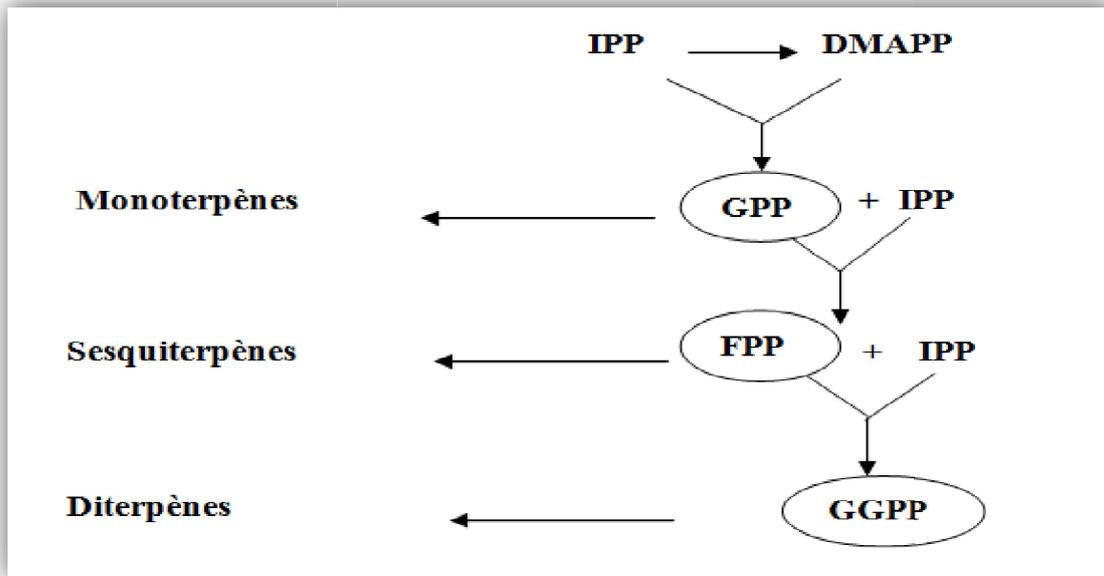


Figure 02 :Schéma général de la biosynthèse des terpènes,(Bohlmann *et al.*, 2008).

## I.6. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Les huiles volatiles sont des principes odorants trouvés dans diverses parties de plantes. Les facteurs environnementaux tels que la durée de soleil, la température, le sol, les eaux souterraines et la disponibilité des nutriments affectent la présence et/ou la concentration des principes actifs,(Afifiet *al.*,2009).

Les composants volatils qui se produisent dans les huiles essentielles peuvent être affectés par plusieurs facteurs, de leur formation dans la plante à leur isolement. La variabilité chimique et le rendement pour chaque espèce, sont très importants. Ceux-ci incluent : la variation physiologique (à savoir le type de structure de sécrétion, développement d'organe, les blessures mécaniques ou chimiques), la variation géographique ainsi que les facteurs génétiques,(Figueiredo *et al.*, 2008).

## I.7. Activités biologiques des huiles essentielles

### I.7.1. Activités antimicrobiennes

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales, et ils sont considérés comme des alternatives potentielles aux antibiotiques pour traiter diverses maladies infectieuses(Xavier, 2012).

Une étude menée par **Fertout-Mouri et ses collaborateurs (2016)**, affirme que l'huile essentielle de *Teucrium polium* présente, *in vitro*, une activité inhibitrice vis-à-vis des quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* 100%, *Pseudomonas aeruginosa* 66,67%, *Proteus mirabilis* 66,67%, *Escherichia coli* 66,67%).

### **I.7.2. Activités anticancéreuses**

Le cancer se caractérise par une croissance incontrôlée des cellules, une étude a été faite sur les huiles essentielles de *Saturedjakhuzestani* de la famille des Lamiacées. Cette dernière contient dans sa composition phénolique le linalool et le  $\beta$ -Caryophyllène. Ces derniers jouent un rôle comme des antiprolifératifs pour les cellules cancéreuses, et donne une certaine résistance aux cellules saines, (**Adorjane et al., 2010**).

### **I.7.3. Activités anti-insecticides**

La culture cotonnière est sujette, à de nombreuses attaques d'insectes ravageurs en Afrique, ces insectes sont à la base de pertes énormes de rendement. Pour résoudre ces problèmes avec moins de toxicité à la santé humaine et sur l'environnement, ils ont utilisé l'huile essentielle des plantes aromatiques (*Tribolium castaneum*) dans la lutte contre les ravageurs, (**Hamdy et al., 2015**).

### **I.7.4. Activité anti-enzymatiques**

Les constituants volatiles des huiles essentielles traversent souvent la barrière céphalique de cerveau en raison de leur faible taille moléculaire et leur lipophilie, ils ont signalé que certaines plantes médicinales présentent une activité inhibitrice de plusieurs enzymes, y compris l'acétylcholinestérase, (**Miyazawa et al., 2015**).

### **I.7.5. Activités antioxydants**

#### **I.7.5.1. Les radicaux libres et le stress oxydant**

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres (figure 03) et des espèces oxygénées activées (EOA), la production de ces derniers se fait par la réduction de l'oxygène, (**Morena et al., 2002**).

Radicaux libres :	Espèces à l'origine de radicaux libres :
- O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> : radical anion superoxyde	- <sup>1</sup> O <sub>2</sub> : oxygène singulet
- OH <sup>•</sup> : radical hydroxyle	- H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène
- HO <sub>2</sub> <sup>•</sup> : radical perhydroxyle	- ROOH : hydroperoxyde
- RO <sup>•</sup> : radical alcoxyle (carbonyle excité)	
- ROO <sup>•</sup> : radical peroxyde	

**Figure 03** : Les radicaux libres et leurs origines, (Rolland, 2004).

Un déséquilibre au sein d'un individu entre la production d'éléments oxydants et de mécanisme de défense antioxydant .ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense conduit à un état destresse oxydatif,(Favier, 1997 ;Comhair, 2002).En effet, ce qu'est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies, inflammatoires, auto-immunes, neurodégénératives, cardiaques et certaines cancers. Pour échapper a ces graves conséquences du stress oxydant, l'apport d'antioxydant s'avère nécessaire,(Amartiet al., 2011).

### **I.7.5.2. Les antioxydants**

Les antioxydants tels que les vitamines, les enzymes ou Fe<sup>2+</sup>, Ils sont capables de neutralises les radicaux libres et atténuer le processus d'oxydation, ils exercent un effet deprotection pour les cellules vivantes contre le stress oxydatif,(Adorganetal., 2010).

L'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité de résister à l'oxydation,les plus connus sont le β-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), ainsi que les composés phénoliques. En effet, 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 (OH<sup>•</sup>) et superoxydes (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), (Popovici, 2010 ;Amoratietal.,2013)

Il existe divers composés antioxydants naturels ou synthétique.

#### **a. Les antioxydants naturels**

Les antioxydants naturels incluent diverses vitamines (vitamine A, C et E), des composés pouvant êtresynthétisés par les cellules animales (glutathion, mélatonine,acide

urique, créatine, ubiquinone, acide lipoïque) ou d'origine végétale apportées par l'alimentation (flavones, resvératrol et autres polyphénols, caroténoïdes, lycopène), (Descamps et al 2006).

### b. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques présentent une très bonne efficacité dans la prévention et la thérapie, ils sont largement utilisés dans les aliments, dans le but d'enrichir l'apport nutritionnel en certains de ces agents antioxydants, on trouve les antioxydants classiques (N-acétylcystéine, l'azobiscyanovalone de synthèse, stobadine) et d'autres composés dotés d'activité catalytique de types enzymatique (glutathion peroxydase, superoxydodismutase), (Descamps et al., 2006).

## I.8. Techniques d'évaluation de l'activité antioxydant

Il existe une grande diversité de méthodes physico-chimiques pour évaluer l'activité antioxydant des extraits naturels. Celle-ci peut être évaluée soit par des méthodes directes en dosant des produits formés, soit par des méthodes indirectes à l'aide desquelles l'efficacité d'un antioxydant sera révélée en mesurant la capacité de ce dernier à piéger des radicaux libres (Xavier, 2012).

### I.8.1. Activité antioxydant par le test FRAP

Le test du pouvoir par réduction ferrique (FRAP), est basé sur la réduction de tripyridyltriazyl ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) à tripyridyltriazyl ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) de coloré bleu en présence de l'antioxydant, (Golfakrabadiet al., 2014)

### I.8.2. Méthode de piégeage de radical libre DPPH·

C'est une méthode qui utilise le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH·) comme un radical libre relativement stable (Blois, 1958). Dans ce test, le DPPH· de couleur violette se réduit en un composé jaune, le diphenylpicryl-hydrazine (DPPH, H), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu, (Amarati et al., 2011).

### I.8.3. Activité antioxydant par le test ABTS<sup>·+</sup>

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

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

### **I.9. Toxicité des huiles essentielles**

Malgré les activités bénéfiques des huiles essentielles, elles peuvent s'avérer plus ou moins toxiques, soit *in situ* (irritation, réaction allergiques et phototoxiques), soit au niveau d'un organe (neurotoxicité, hépatotoxicité, néphrotoxicité...etc). Il est nécessaire d'évaluer le danger potentiel, qu'elles sont susceptibles de représenter à un certain niveau d'exposition afin d'éviter tous risques (**Franchomme, 2015**). Plusieurs études signalent des problèmes de toxicité avec les huiles essentielles. A savoir **Carson et Riley en (1993)** ont rapporté une toxicité aigüe par voie orale de l'huile essentielle de l'arbre à thé.

Objectif de notre travail est d'évaluer l'activité biologique, de certaines plantes aromatiques locales de la famille des Lamiacées deux genres *Calamintha* et *Teucrium* extraites par l'hydrodistillation de type Clevenger, ces composés volatils ont été testés par trois méthodes différentes à savoir, le test de piégeage de radical libre DPPH $\cdot$ , le test ABTS $^{+}$  et le pouvoir réducteur de Fer (FRAP).

### **II.1. Matériel**

#### **II.1.1. Produits chimiques**

- DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma)
- ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique(sigma)
- $K_2S_2O_8$  :Persulfate de potassium (biochem)
- $C_2H_3NaO_2$  : Sodium acétate
- $CH_3COOH$  : Acide acétique
- Chlorure ferrique hexahydrate  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  (Biochem)
- TPTZ : 2, 4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine
- , Ethanol, méthanol, HCl, NaOH. Biochem
- Trolox 6-hydroxy-2,5,7,8,tetramethylchroman-2-carboxylic acid
- Eau distillée obtenue par un distillateur GFL 2104

#### **II.1.2. Matériel et verreries**

- La balance électronique AS 220/C/2 (Précision
- L'agitateur magnétique VELP (Scientifica)
- L'incubateur Boeco.
- Lecteur microplaque BIOTEK
- pH mètre HANNA INSTRUMENTS
- Micropipette G lasseo
- Becher, éprouvette, erlenmeyer, flacon, baguette de verre, Bar magnétiques, tubes en plastique de 2 ml et les microplaques.

### **II.2. Matériel végétal**

#### **II.2.1. Description botanique**

Les espèces végétales objet de cette étude sont décrites dans le tableau ci dessous.

**Tableau I:** Description botanique des espèces étudiées.

Espèce	Description botanique
 <p data-bbox="268 815 624 853"><i>Calamintha clinopodium</i> L.</p>	<p data-bbox="730 376 1402 752">Cette plante est commune dans les haies et en lisière des bois. Les fleurs, à court pédoncule, sont rassemblées en petites grappes, formant elles-mêmes des verticilles denses à l'aisselle des feuilles. Les bractées sont étroites et velues. Toute la plante est plus ou moins recouverte de poils mous. Appelée autrefois <i>Clinopodium vulgare</i>(syn.<i>Saturejavulgaris</i>) <b>(Quezelet Santa, 1963).</b></p>
 <p data-bbox="188 1402 580 1440"><i>Calamintha menthifolia</i> Host.</p>	<p data-bbox="730 853 1402 1440">C'est une plante, à odeur agréable de menthe, qui pousse dans les bois ou en lisière. Elle est assez commune en France, sauf dans l'Ouest et dans la région méditerranéenne. Les fleurs sont rassemblées en petites grappes groupées à l'aisselle des feuilles. Les deux lèvres du calice sont très inégales et bordées de longs cils. Le tube de la corolle, très long, est presque droit. Les feuilles sont bordées de dents peu profondes. Une confusion est possible, en montagne, avec <i>Clinopodium grandiflorum</i> (Linné) Stace dont les fleurs roses sont plus grandes, à corolle légèrement arquée, et dont les feuilles sont profondément dentées <b>(Quezel et Santa, 1963).</b></p>
 <p data-bbox="320 1935 576 1973"><i>Calamintha nepeta</i></p>	<p data-bbox="730 1559 1402 1850">Elle croît dans les lieux secs et pierreux. La tige est robuste. Les petites feuilles (un centimètre), presque aussi larges que longues, sont brièvement pétiolées. Les fleurs, petites elles aussi, sont d'un lilas violacé souvent assez pâle. Elles sont rassemblées en petites grappes serrées à l'aisselle des feuilles <b>(Quezel et Santa, 1963).</b></p>

 <p><i>Teucrium polium</i> L</p>	<p>C'est un petite plante banchâtre, cotonneuse, assez commune dans le Midi. Elle croît dans les lieux rocaillieux et secs. Les tiges sont ligneuses à la base. Les feuilles ovales-allongées sont crénelées et enroulées sur les bords. Les fleurs sont groupées en tête terminale ovale-arrondie(Quezelet Santa, 1963) .</p>
 <p><i>Teucrium flavum</i></p>	<p>On peut rencontrer cette plante sur les coteaux pierreux de la région méditerranéenne. La tige, un peu ligneuse à la base, porte des petites feuilles crénelées, velues-cendrées sur le deux faces, <b>subsp. flavum</b>, ou glabres en dessus et glauques en dessous, <b>subsp. glaucum</b> (Jordan et Fourr.). Les fleurs sont d'un jaune pâle ou verdâtre, parfois tachées de rouge. Les deux lobes supérieurs de la corolle sont bien développés et redressés, mais ils sont néanmoins sous le faisceau formé par les étamines et le style, comme chez les autres espèces du genre.(Quezelet Santa, 1963) .</p>

### II.2.2. Récolte et séchage

Les plantes expérimentées dans ce présent travail ont été récoltées en période de floraison, entre avril et juin 2016, dans différentes stations au niveau du Parc National du Djurdjura.

Le matériel végétal, fraîchement récolté, a été débarrassé des mauvaises herbes, séché à l'ombre dans un milieu aéré loin de toute pollution, sec et à l'abri de la lumière. Broyé et conserver dans des sacs en papier pour d'éventuelles extractions d'huiles essentielles.

### **II.3. Méthode**

#### **Extraction par Hydrodistillation**

Dans un ballon de 1l on introduit une quantité de matière végétal, sèche est bien broyée, de masse connue (50-100g). On ajoute de l'eau distillée et on porte par la suite à l'ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon. La chaleur ainsi générée réchauffe la masse végétale dans l'eau. L'effet conjugué de la température et de la pression fait éclater les cellules sécrétrices qui libèrent ainsi les huiles essentielles. La vapeur d'eau et les composés de l'essence se forment en haut de la colonne et passe dans le condenseur où ils se liquéfient. Le liquide coule alors dans la burette où il se sépare en deux phases. La phase aqueuse, plus lourde, reste en bas et l'autre plus légère, constituée principalement d'huile essentielle, surnage (figure 04). On fait la lecture de volume des huiles essentielles pour faire par la suite le calcul de rendement. On soutire la phase aqueuse et par la suite l'huile essentielle est récupérée dans un flacon en verre enfumé (protection contre la lumière). Enfin, ce flacon est bien bouché et conservé dans un réfrigérateur à 4 °C pour effectuer les tests de l'activité biologique.



**Figure04:** Appareil dispositif d'extraction (Clevenger) des huiles essentielles.

### II.3.2. Evaluation des activités antioxydants, *in vitro*, des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et quelques molécules pures

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydant par piégeage de radicaux différents; les ions ferriques par la méthode FRAP (FerricReducingAntioxidantPower ) ou les radicaux ABTS<sup>•+</sup> (Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2diphenyl-picrylhydrazyl ), (Popoviciet al., 2009).

#### II.3.2.1. Pouvoir réducteur par la méthode FRAP

L'activité antioxydant des huiles essentielles et des molécules déterminé par la méthode FRAP. Une courbe d'étalonnage a été établie par la préparation d'une gamme de solution TROLOX à des concentrations variant de 0.1 à de 1 mg/ml. Toutes les huiles essentielles sont capable de réduire le fer, en comparant leurs capacité réduit à celle de TROLOX.

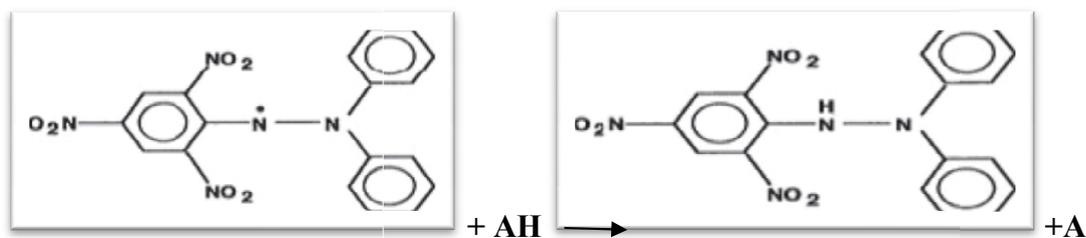
Dans cette méthode la capacité antioxydant est déterminée par la mesure de pouvoir réducteur de fer ferrique Fe<sup>3+</sup> dans les extraits selon le protocole décrit par (Oyaizu., 1986) avec quelques modifications. L'activité a été étudiée sur microplaque à 96 puits. Une solution FRAP a été préparé en mélangeant ,Un Tampon acétate qu'est préparé après la dilution de sodium acétate 300 (mM) dans l'eau distillée ajusté à pH=3,6 par l'acide acétique, après le FeCl<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O (20 mM) est dissoudre dans l'eau distillée et en fin, le TPTZ (10 mM) dissoudre dans HCl (40 mM).

Un volume de 180 µl de la solution FRAP à été ajouté a 20 µl de l'huile essentielle.

Une lecture a été effectuée suite a une incubation de 10 min à l'obscurité (37°) avec une mesure d'absorbance (630 nm). Contre un blanc contenue les mêmes quantités de réactif en remplaçant l'extrait par le méthanol. Une augmentation de cette absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des huiles essentielles étudiées.

#### II.3.2.2. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>

En présence, d'un radical libre DPPH<sup>•</sup>, un proton du composé antioxydant contenu dans l'extrait est transféré sur un radical libre pour le transformer en une molécule stable DPPH (figure 05). Ceci provoque une diminution de concentration de radical libre ce qui traduit la diminution de l'absorbance de ce dernier,(MellouketDigua 2014).



**Figure 05** : Forme libre et réduit du DPPH, (Amaratiet *al.*, 2011).

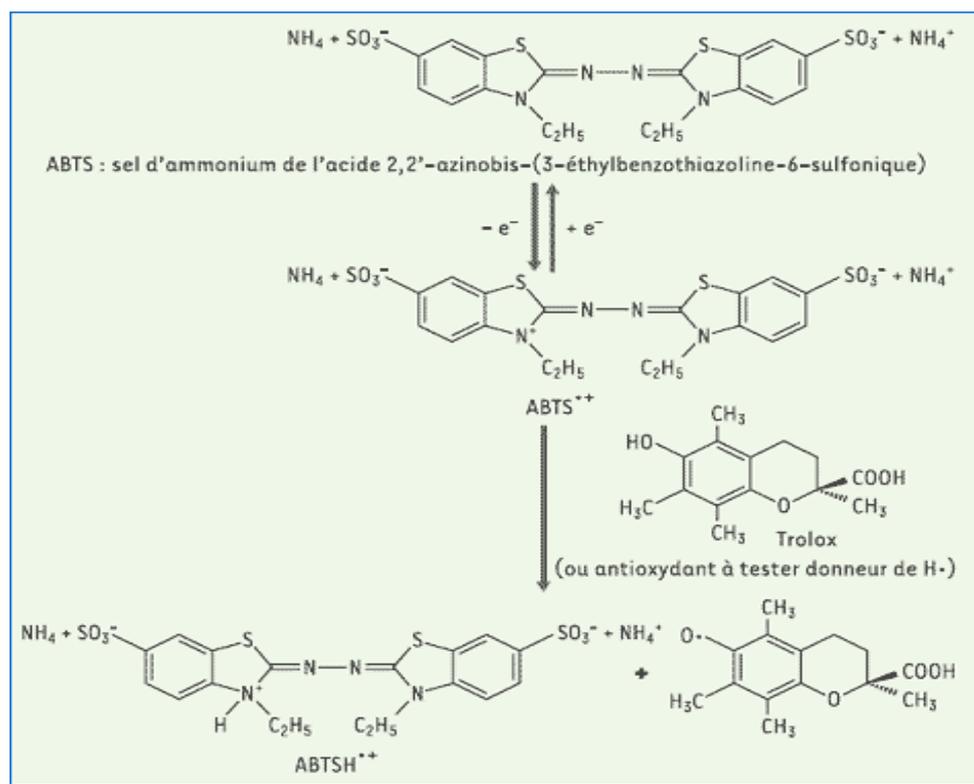
L'activité a été étudiée sur microplaque à 96 puits, suivant la méthode de **Soare et *al.*,1997**, avec quelques modifications. Un volume de 180  $\mu\text{l}$  d'une solution méthanolique de DPPH (0.1mM) a été ajouté à 20 $\mu\text{l}$  des huiles essentielles étudié Après incubation pendant 30 minutes à l'obscurité, l'absorbance a été mesuré à 515 nm. Un contrôle a été préparé en mélangeant 20 $\mu\text{l}$  de méthanol avec 180  $\mu\text{l}$  de la solution de DPPH. On réalise également un blanc par méthanol absolu seul. Pour chaque concentration le test a été répété trois fois. L'activité anti-radicalaire des huiles essentielles étudiée sa été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH suivant l'équation ci dessous :

$$\% \text{ d'inhibition} = ((\text{abs contrôle} - \text{abs test}) / \text{abs de contrôle}) * 100$$

### II.3.2.3. Etude l'activité anti-ABTS

Le radical cation de l'acide ABTS<sup>+</sup> est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation, en présence du persulfate de potassium.

L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraine sa réduction et une diminution de l'absorbance(figure 06). Cette diminution dépend de l'activité antioxydant du composé testé,(**Hammoudietal.**, 2015).



**Figure 06** : Formation et piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de proton(H), (Lien et al.,1999).

L'activité a été étudiée sur microplaque à 96 puits, suivant la méthode de **Soare et al.,1997** avec quelques modifications. La solution ABTS est préparée en mélangeant de sel ABTS (7mM) avec persulfate de potassium (2,45mM) dans 10 ml d'eau distillée, puis conservé à température ambiante dans l'obscurité pendant 16 h avant son utilisation. Cette solution est ensuite diluée avec l'éthanol, à fin d'obtenir une absorbance de 0.7 à 630 nm.

20 µl des huiles essentielles étudiées sont ajoutés à 180 µl de la solution radicalaire d'ABTS<sup>•+</sup>. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 6 min. Un contrôle de 20 µl de méthanol et de 180 µl de la solution d'ABTS est effectué avec chaque série d'extraits à 630 nm.

### Analyse statistique

Analyse statistique retenue est l'analyse de la variance à un critère de classification pour les différents tests de l'activité biologique. Lorsque cette analyse révélant des différences significatives, il était complété par le test de Newman et Keuls (logiciel XI stat 15 4.01).

#### III.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles étudiées a été réalisée à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger, durant quatre heures de temps. Les rendements d'extraction en l'huile essentielle sont exprimés en pourcentages représentés sur le tableau ci-dessus :

**Tableau II:** Rendement en huiles essentielles des différentes extractions.

Espèce	La partie de la plante	Rendement
<i>Calamintha menthifolia</i>	Racine	0,54%
	Feuille	0,8%
<i>Calamintha nepeta</i>	Partie aérienne	0,84%
<i>Calamintha clinopodium</i>	Partie aérienne	0,76%
<i>Teucrium polium</i>	Feuille et fleur	0,5%
	Tige	0,28%
	Partie aérienne	0,69%
<i>Teucrium flavum</i>	Partie aérienne	0,32%

Le travail a été réalisé sur cinq plantes de la famille des Lamiaceae, trois du genre *Calamintha* à savoir *Calamintha menthifolia* (racine, feuille), *Calamintha nepeta* et *Calamintha clinopodium*, et deux autres du genre *Teucrium* (*Teucrium polium* et *Teucrium flavum*).

Les rendements enregistrés varient entre 0,28 et 0,84 %. Le genre *Calamintha* est le plus riche en huiles essentielles. Les rendements calculés oscillent entre 0,54 et 0,84%. La partie aérienne de *Calamintha nepeta* exhibe le rendement le plus élevé parmi les huiles étudiées, suivi des feuilles de *Calamintha menthifolia* (0,8%) et de la partie aérienne de *Calamintha clinopodium* (0,76%). En ce qui concerne le genre *Teucrium*, les essences volatiles extraites de *Teucrium polium* et de *Teucrium flavum*, révèlent des taux d'extraction nettement inférieur à ceux enregistrés chez le genre *Calamintha*, à l'exception de la partie aérienne de *Teucrium polium* (0,69%). Les rendements en huiles essentielles obtenus varient en fonction de la plante considérée mais aussi de la partie ou de l'organe utilisé.

Les études menées par **Chahed et ses collaborateurs en 2013**, sur les huiles essentielles de *Calamintha saturja*, ont révélé un rendement de l'ordre de 0,082%, inférieur à ceux enregistrés pour les trois espèces de *Calamintha* de la présente étude.

Par contre, **Bougandouraet Ben dimrad, (2013)**, ont obtenu un rendement dix fois plus élevé en huiles essentielles de *Calamintha nepeta* (8,5%), par rapport à celui enregistré lors de la présente étude.

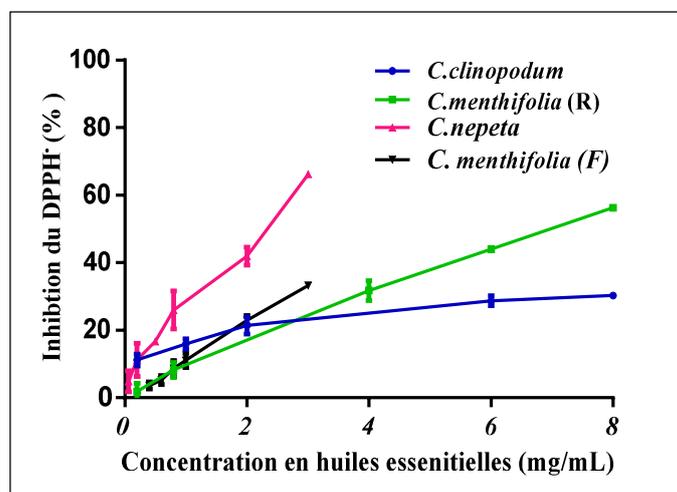
D'une autre part, *Teucrium poliuma* fournit un taux faible en huile essentielle par rapport à celui obtenu par **Hamoudi et Hadj mohammed en 2010**, qui est de l'ordre de (0,1%), contrairement à celui calculé par **Fartout-mouri et al., (2016)**, environnant 1,66%. Ces variations en teneur des huiles essentielles pourraient être expliquées par plusieurs facteurs notamment, les facteurs génétique, la position géographique, la nature du sol, les conditions climatiques et le temps et l'appareillage d'extraction (**Merghacheet al., 2009**).

## III.2. Activité antioxydant

### III.2.1. Evaluation de l'activité antiradiacalaire (DPPH)

L'efficacité des huiles essentielles et leurs molécules à piéger le radical DPPH<sup>•</sup> est exprimée en pourcentage d'inhibition.

L'évolution de l'activité antiradicalaire des essences étudiées est représentée sur les figures ci-dessus.

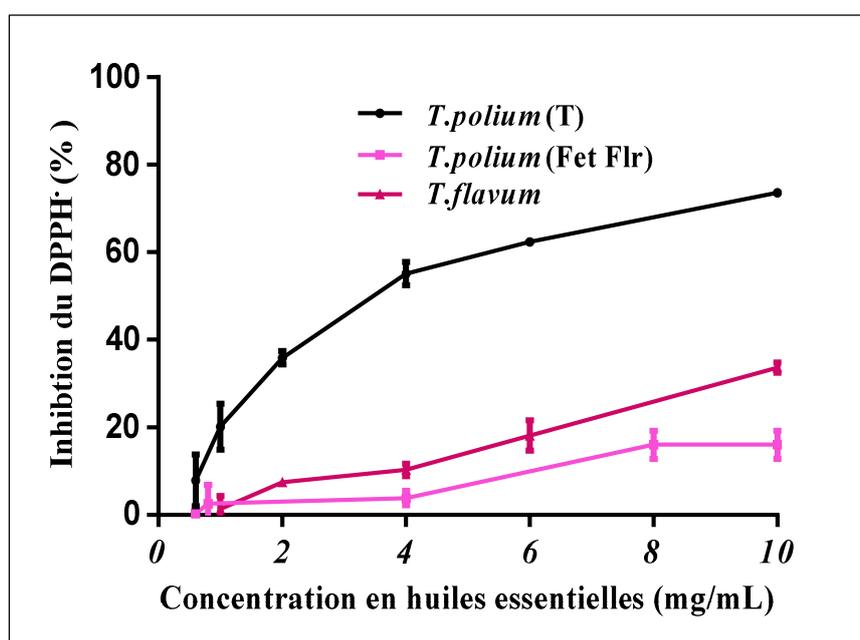


**Figure 07 :** l'évolution de l'activité anti-DPPH des huiles essentielles de genre *Calamintha* en fonction de la concentration.

L'analyse de la figure 07, indique que toutes les huiles essentielles du genre *Calamintha* (*Calamintha menthifolia*, *Calamintha nepeta* et *Calamintha clinopodium*) ont montré un effet scavenger proportionnel à la concentration expérimentée.

L'activité exhibé par les trois espèces de *Calamintha* est moins efficace notamment, aux faibles concentrations (de 0,05 à 1 mg/ml), elles ne dépassent pas 30% pour les feuilles de *Calamintha menthifolia* et *Calamintha nepeta*. Ni au moins, cette activité a augmenté en fonction de la concentration (3 mg/ml) pour atteindre un taux maximal de 32% et de 66%, respectivement.

D'autre part, à la plus forte concentration (8 mg/ml), *Calamintha menthifolia* (racine) et *Calamintha clinopodium*, montrent le maximum d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> avec des taux allant de 30 à 55%, respectivement.



**Figure 08:** Résultat de l'activité anti-DPPH des huiles essentielles de *Teucrium polium* (tige), et *Teucrium flavum* (feuilles et fleurs).

La Figure 08 représente les résultats de l'activité du piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> par des huiles essentielles de genre *Teucrium* en fonction de la concentration. On remarque que toutes les huiles essentielles testées étaient capables d'inhiber le radical libre DPPH<sup>•</sup>, mais à des proportions différentes. Cette capacité d'inhibition est proportionnelle à la concentration en huile essentielle. Un effet d'inhibition très faible est observé pour les essences de feuille et fleurs de *Teucrium polium* et la partie aérienne de *Teucrium flavum* de 15% et de 33%, respectivement, par contre, cet effet est plus fort (73%) chez les essences de tige de *Teucrium polium* à une concentration maximale de 10 mg/ml.

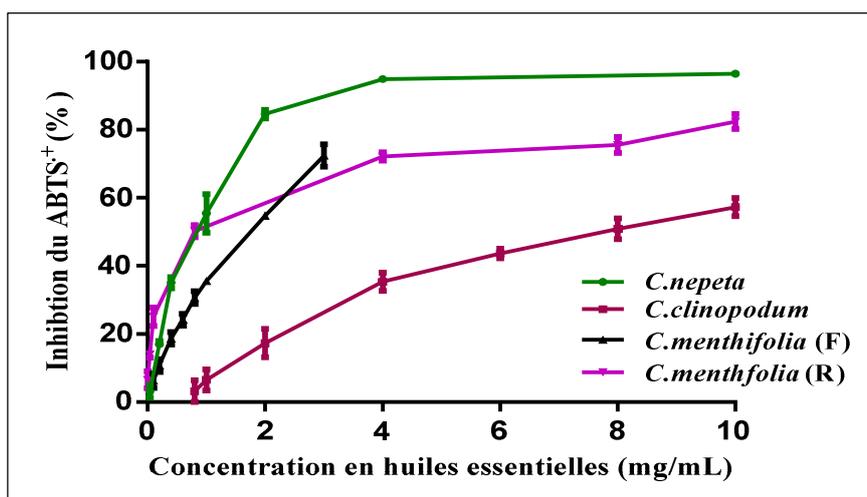
**Mahmoudi en (2013)** a rapporté une activité inhibitrice d'ordre 61% des essences de *Teucrium polium*, testé à une concentration de 2 mg/ml, obtenus par hydrodistillation et évalué par le test antioxydant  $\beta$ -carotène.

Augmentation de taux d'inhibition des huiles essentielles par le radical DPPH $\cdot$  qui est proportionnelle à la concentration. Cette inhibition peut être due à l'existence des molécules dans leur composition qui peut participer en donnant des électrons et des protons qui seront captés par les radicaux libres.

#### III.2.2. Résultats des test anti-ABTS $\cdot^+$

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles et leurs molécules a été testé par le cation ABTS $\cdot^+$  et traduit par un taux d'inhibition. Ceci est variable en fonction de la concentration étudiée.

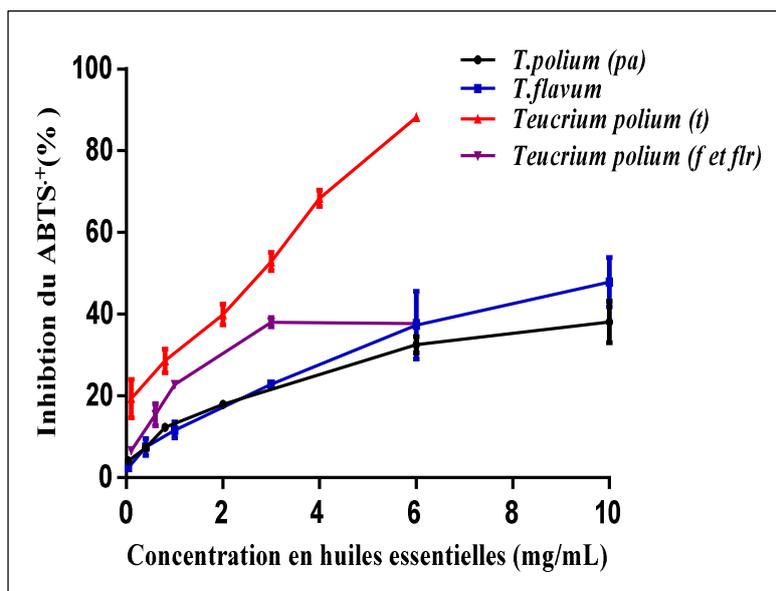
L'évolution de l'activité anti-ABTS $\cdot^+$  des essences étudiées est représentée sur les figures ci-dessus:



**Figure 09** : Résultats de l'activité anti-ABTS $\cdot^+$  des huiles essentielles de genre *Calamintha* : *Calamintha nepeta*, *Calamintha menthifolia* (feuille), *Calamintha menthifolia* (racine) et *Calamintha clinopodium*.

Les résultats obtenus (figure 09) montrent que les huiles essentielles du genre *Calamintha* ont un effet fort sur le cation ABTS $\cdot^+$ . L'activité de ce dernier augmente en fonction de la concentration de l'huile essentielle testée. Les essences de *Calamintha clinopodium* possèdent un pourcentage d'inhibition le plus faible (57 %) par contre celles des feuilles et des racines de *Calamintha menthifolia* enregistrent des taux allant de 72 à 82%, à des concentrations de 3 et de 10 mg/ml, respectivement. En fin, un pourcentage très élevé (96%), à 10 mg/ml pour *Calamintha nepeta* a été observé.

L'activité anti-ABTS $\cdot^+$  des huiles de *Teucrium* a été présentée dans la figure 11.



**Figure 10 :** Résultats de l'activité anti-ABTS des huiles essentielles de *Teucrium polium* [partie aérienne, tige et (feuilles et fleurs)] et *Teucrium flavum*.

La concentration des huiles essentielles de *Teucrium* augmente en parallèle avec l'augmentation des taux d'inhibition de l'activité des cations  $ABTS^{\cdot+}$ .

Dans la figure (10), on note que huiles de la partie aérienne de *Teucrium polium* (38%) et de *Teucrium flavum* (48%), ont une activité inhibitrice faible à des concentrations élevées (10 mg/ml). Par contre, pour des concentrations faiblement élevées (6 mg/ml), une activité inhibitrice importante est signalée par les essences de *Teucrium polium* tige (88%) et par les feuilles et les fleurs (37%).

L'activité antioxydante des huiles dépend de plusieurs caractéristiques structurales des molécules en relation avec leurs propriétés d'oxydo-réduction, et est attribuée essentiellement à la forte réactivité des substituants de groupes hydroxyles. Les composés phénoliques, comme le thymol, le carvacrol font partie des molécules des huiles essentielles présentant les plus fortes activités antioxydantes. (Gabriel *et al.*, 2013).

### III. 2.2. Effet de scavenger du radical DPPH

Le pouvoir de piégeage du radical libre DPPH par les huiles essentielles et molécules de références sont généralement présentés par la valeur  $IC_{50}$ . Elle est définie comme étant la concentration de l'antioxydant nécessaire pour piéger 50% du DPPH présent dans la solution d'essai. Les résultats de l'activité réductrice des huiles et des molécules étudiées sont présentés dans les figures qui suivent.

a. les huiles essentielles

L'analyse statistique de donnée de la variance a un critère de classification a révélé une différence hautement significative ( $F= 37,459$ ,  $p< 0,0001$ ) en différents traitements. (Annexe 03).

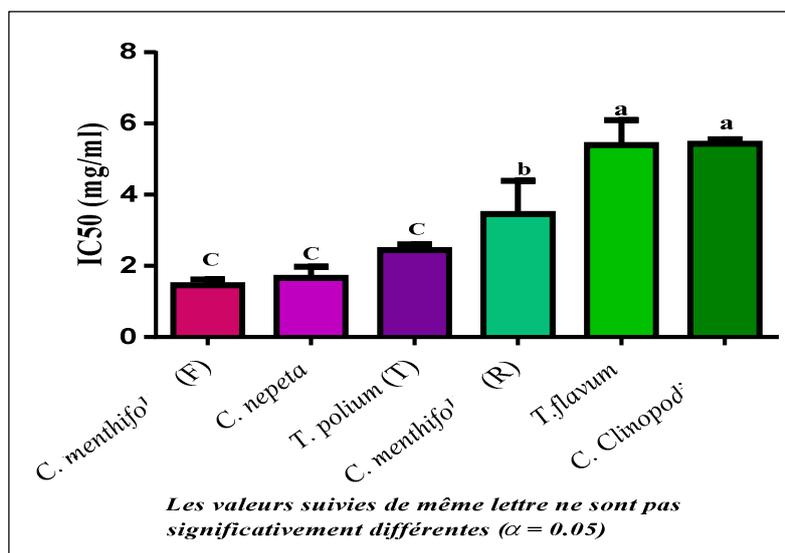


Figure 11 : Résultat de variation des IC50 des huiles des différentes espèces.

Parmi les huiles essentielles testées, *Calamintha menthifolia*(feuille) arrive en tête des résultats avec un IC50 égale à  $1,46 \pm 0,16$  mg/ml, *Calamintha nepeta* avec un IC50 de  $1,79 \pm 0,38$  mg/ml, suivie de *Calamintha menthifolia* (racine) et *Teucrium polium* (tige) avec des valeurs de  $2,78 \pm 0,74$  mg/ml et de  $3,46 \pm 0,92$  mg/ml, respectivement. C'est, *Calamintha clinopodium* et *Teucrium flavum* qui semblent être les moins performantes avec des IC50 de  $5,02 \pm 0,71$  mg/ml et de  $5,39 \pm 0,69$  mg/ml.

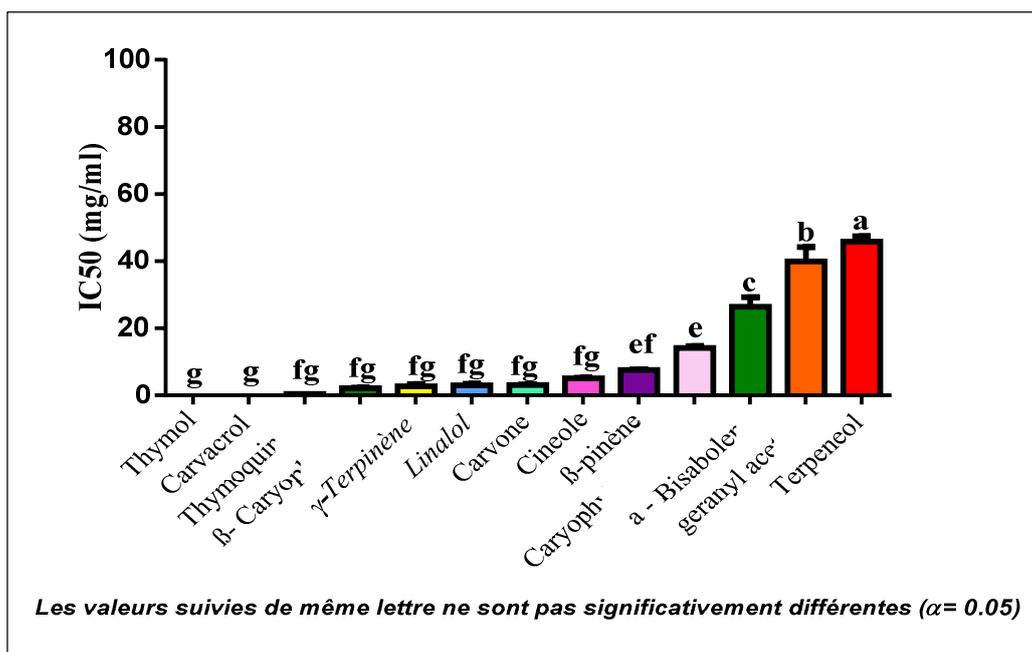
Une forte activité de *Calamintha nepeta* a été également signalée par **Demirsiet al., (2009)** . Ces derniers ont précisé que l'huile essentielle récoltée en Turquie, possède un pouvoir antioxydant important( $IC50 = 0,069 \pm 0,009$  mg/ml).

Cependant, **Mahmoudiet al.,2013**ont signalé que les huiles essentielles de *Teucrium polium* obtenus par hydrodistillation, sont capable de réduire le radical DPPH<sup>•</sup>, ou l'IC50 enregistré est d'ordre  $9,2$  mg/ml, ce taux inhibition est notamment inférieur par rapport à ce qui obtenu les différentes espèces de *Teucrium* dans la présente étude. D'autre part,**Hammamiet al., 2015**, ont montré que l'huile volatile de *Teucrium flavum* présente une activité antioxydant avec un IC50 égale à  $1,23$  mg/ml, supérieur par rapport à celui observé dans la présente étude.

## Les composés chimiques des huiles essentielles

L'analyse de la variance a un critère de classification a révélé une différence hautement significative ( $F=312,951$ ,  $p < 0,0001$ ) en les différents traitements. (Annexe 04).

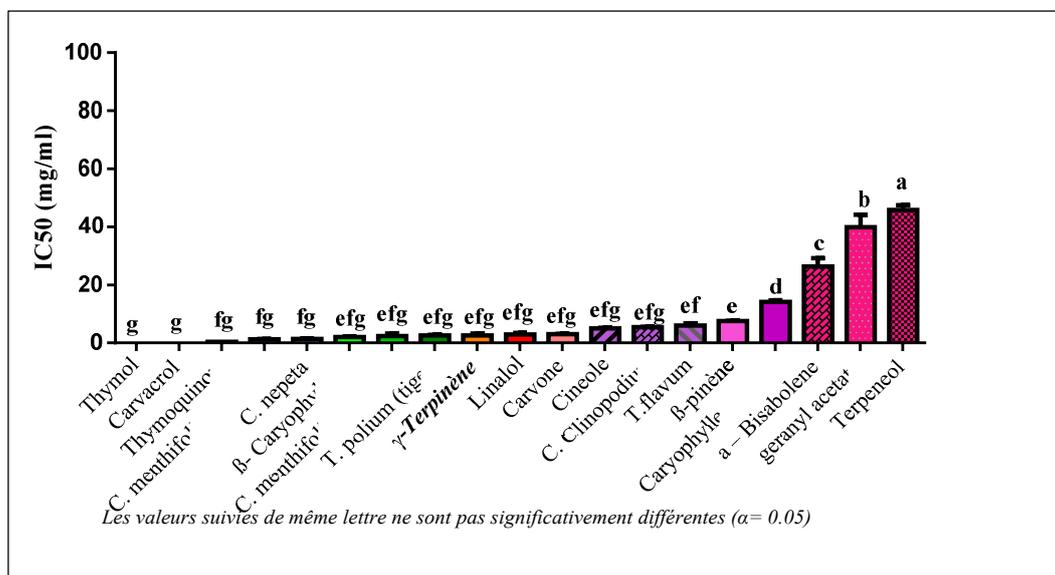
L'efficacité des molécules majoritaires a piégé le radical DPPH a été traduit par un taux d'inhibition  $IC_{50}$  (%). l'évolution de cette activité en fonction de déférente molécules.



**Figure 12** : Résultats de variation des  $IC_{50}$  des composants chimique des huiles essentielles.

Les résultats de potentiel anti-radicalaire global des différentes molécules chimiques des huiles essentielles illustrés dans la figure 12 montrent que le groupe des phénols (*Thymol*, *Carvacrol* et *Thymoquinone*) présente une forte activité antioxydante avec des  $IC_{50}$  de l'ordre de  $0,02 \pm 0,00$  mg/ml ;  $0,02 \pm 0,00$  mg/ml et de  $0,39 \pm 0,02$  mg/ml, respectivement, suivie par le groupe des monoterpènes (*β-Caryophyllène*, *γ-Terpinène*, *Linalool*, *Carvone*, *Cineole*, *β-pinène*), à l'exception de *β-Caryophyllène*, qui est classé parmi les sesquiterpènes, dont les  $IC_{50}$  oscillent entre  $2,15 \pm 0,16$  mg/ml et  $7,52 \pm 0,21$  mg/ml. Et en dernier, le pouvoir antioxydant des deux molécules de classe sesquiterpène (*Caryophyllène oxide*, *α-Bisabolol*), et des deux autres molécules de classe monoterpène, (*Geranyl acétate* et *Terpineol*) reste inférieure avec des  $IC_{50}$   $14,14 \pm 0,57$  mg/ml ;  $26,37 \pm 2,86$  mg/ml ;  $39,91 \pm 4,32$  mg/ml et de  $45,81 \pm 1,66$  respectivement.

L'analyse statistique de la variance à un critère de classification révèle une différence hautement significative ( $F=217,611$ ,  $p < 0,0001$ ) entre les différents traitements. (Annexe 05).



**Figure 13 :** Variation des IC50 des huiles essentielles de différentes espèces étudiées avec des molécules pures.

Les différentes huiles essentielles et les composés chimiques testés peuvent être classés en 9 groupes, selon la figure 13. Le premier groupe phénolique (*Thymol*, *Carvacrol*) présente un fort pouvoir antioxydant suivi par (*Thymoquinone* et les essences de feuille *Calamintha menthifolia* et *Calamintha nepeta*), ( $\beta$ -*Caryophyllène*, les huiles essentielles de racine *C. menthifolia*,  $\gamma$ -*Terpinène*, *Linalool*, *Carvone*, *Cineole* et les essences de *C. clinopodium*), (*T. polium*), et un faible pouvoir antioxydant remarqués chez les trois derniers groupes,  $\beta$ -*Pinène*, *Caryophyllèneoxide*,  $\alpha$ -*Bisabolol*, *Geranyl acétate* et enfin *Terpénol*.

D'après les résultats obtenus, l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Calamintha menthifolia* et *Calamintha nepeta* est plus importante par rapport aux autres essences et aux autres molécules chimiques, cette activité est peut-être liée à leur composition en molécules de classe monoterpéniques à l'exception de *Thymoquinone* avec un fort pouvoir antioxydant, tels que *Thymoquinone*,  $\beta$ -*Caryophyllène*,  $\gamma$ -*Terpinène*, *Linalool*, *Carvone* et *Cineole*.

En effet, **Ceker et al, (2013)**, ont étudié la composition chimique des huiles essentielles de *Calamintha nepeta* en Turquie, obtenue par un spectrophotomètre. Ils ont trouvé comme molécules majoritaires : *Limonène*, *Linalool*, *Carvacrol* et  $\beta$ -*Caryophyllène*.

Dans la présente étude, la forte activité antioxydant des huiles essentielles des tiges de *Teucrium polium* est probablement liée à sa composition chimique qui est riche en  $\beta$ -Crayophyllène,  $\beta$ -Pinene, Linalool, Cineole,  $\gamma$ -Terpenène, Thymoquinone, Carvacrol et Thymol. Comparativement une étude de la composition chimique de cette essence a été faite par **Hammoudi et ses collaborateurs, (2010)**, qui ont trouvé, la présence des molécules chimique à un pourcentage très élevé en  $\beta$ -Crayophyllène (9,15%) suivie par Carvone (0,75%),  $\beta$ -Pinene (0,25%),  $\gamma$ -Terpenène (0,15%) et Carvacrol (0,04%). Une autre étude a été réalisé par **Fertout et ses Collaborateurs en 2016**, ont trouvé les pourcentages en molécules tels que :  $\beta$ -pinène (9,03%), Carvacrole (7,02%), Linalool (4.02%), Cineole (2.41%),  $\beta$ -Crayophyllène (1%), thymol 0,98%. et  $\gamma$ -Tepenène (0,58%).

Les résultats montrent que les huiles essentielles de *Calaminthamenthifolia*, *Calamintha nepeta* et *Teucrium polium* (tige), témoignent d'un pouvoir antioxydant, *in vitro*, très intéressent, alors que celles de *Calamintha clinopodium* et *Teucrium flavum* possèdent un faible effet antioxydant. Cette forte capacité de réduction de radical libre pourrait être liée à leurs profils chimiques riches en phénols tels que le Thymol et le Carvacrol. Par contre la faible activité antioxydant des essences citées précédemment, pourrait être expliquée par la faible teneur en ces composés.

Les effets antioxydants des huiles essentielles et de leurs molécules sont dus principalement à la présence des groupes hydroxyle dans leurs structures chimique. (**Hussain, 2009**).

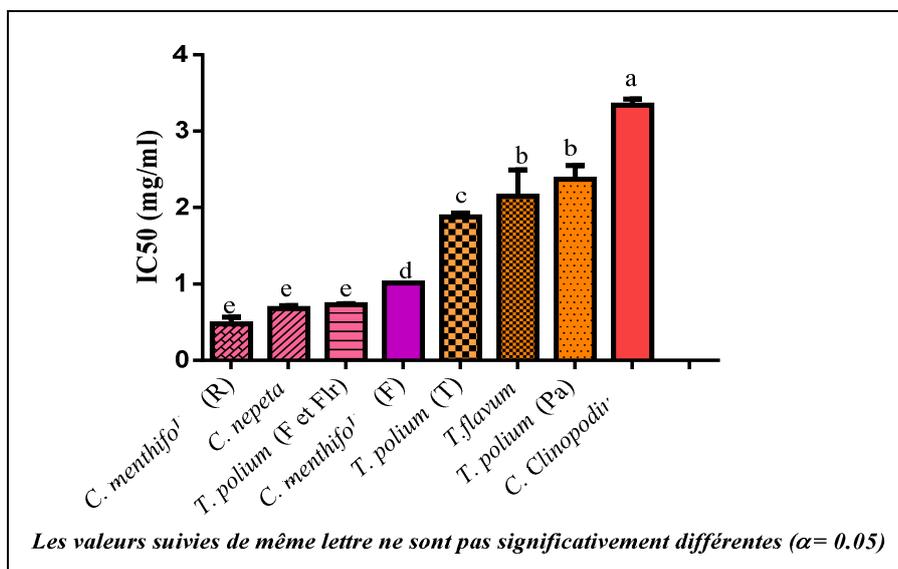
Cette étude de pouvoir réducteur par la méthode de DPPH a confirmé les puissantes propriétés que possèdent les huiles essentielles de la famille des Lamiacées, en particulier celles issues du genre *Calamintha* et *Teucrium*, à piéger les radicaux libres.

#### **Effet du radical ABTS<sup>+</sup>**

##### **a. sur les huiles essentielles**

L'analyse statistique de la variance à un critère de classification révèle une différence hautement significative ( $F=324,334$ ,  $p < 0,0001$ ) entre les différents traitements (Annexe 06).

La concentration en huile essentielle étudiée nécessaire pour piéger 50% du radical  $ABTS^+$  est présentée dans la figure 14.



**Figure 14** : Résultats de pourcentage d'inhibition à 50% des huiles essentielles par le cation  $ABTS^+$

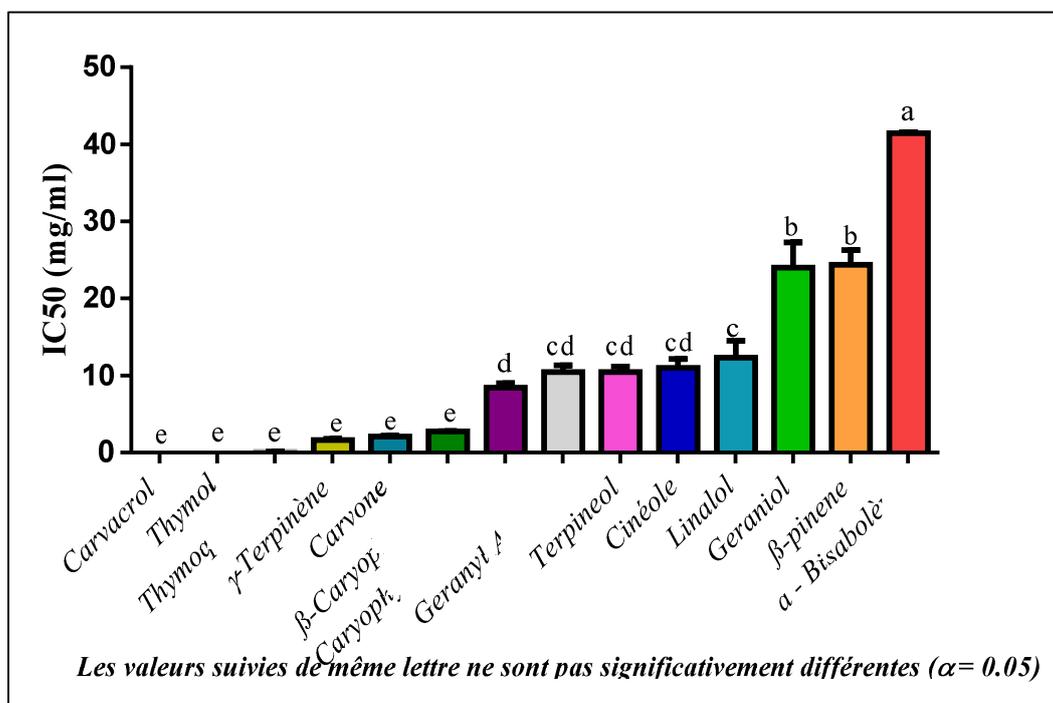
Parmi les huiles essentielles étudiées, les racines de *Calamintha menthifolia* sont les plus actives ( $IC_{50} = 0,47 \pm 0,08$  mg/ml), suivi de la partie aérienne de *Calamintha nepeta*, les feuilles et fleurs de *Teucrium polium*, les feuilles de *Calamintha menthifolia*, les tiges de *Teucrium polium*, la partie aérienne de *Teucrium flavum* et celle de *Teucrium polium* avec des  $IC_{50}$  de l'ordre de  $0,67 \pm 0,04$  mg/ml ;  $0,73 \pm 0,01$  mg/ml ;  $1,03 \pm 0,03$  mg/ml ;  $1,87 \pm 0,04$  mg/ml ;  $2,15 \pm 0,33$  mg/ml et  $2,37 \pm 0,18$  mg/ml, respectivement. Enfin, la partie aérienne de *Calamintha clinopodium* est la moins performante avec une  $IC_{50}$  de  $3,34 \pm 0,07$  mg/ml.

Selon la littérature disponible, ils existent peu de travaux déjà réalisés sur l'activité antiradicalaire des huiles essentielles utilisant le test  $ABTS^+$ , du moins pour celles expérimentées dans la présente contribution.

En effet, **Fantassi et ses collaborateurs en 2013**, ont signalé un effet modéré du pouvoir réducteur des huiles essentielles de *Thymus capitatus* (Lamiaceae), extraite par l'hydrodistillation avec un  $IC_{50} = 0,27$  mg/ml, Comparativement supérieur aux huiles essentielles étudiées ( $IC_{50}$  varie de 0,47 à 3,34 mg/ml).

**b. sur les composants chimiques des huiles essentielles**

L'analyse statistique de la variance à un critère de classification révèle une différence hautement significative ( $F=273,610$ ,  $p < 0,0001$ ) pour les différents traitements (Annexe 07).



**Figure 15 :** Résultats de la variation des IC50 des différentes molécules chimiques étudiées.

D'après les résultats obtenus dans la figure 15, on remarque aucune différence significative dans la capacité à piéger les cations  $ABTS^{+}$  par les molécules suivantes : Carvacrol, Thymol, Thymoquinone,  $\gamma$ -Terpinène, Carvone,  $\beta$ -Caryophyllène, ainsi que Caryophyllène oxide, Geranylacetate, Terpeneol, Cineole et Linalool. Ces dernières, ont un fort taux d'inhibition, contrairement aux Geraniol,  $\beta$ -pinène et  $\alpha$ -Bisabolol, manifestant une faible capacité à piéger les cations  $ABTS^{+}$  où les  $IC_{50}$  calculées varient entre  $24 \pm 3.25$ /ml et  $41.46 \pm 0.15$  mg/ml.

L'analyse statistique de la variance à un critère de classification révèle une différence hautement significative ( $F=324,334$ ,  $p < 0,0001$ ) pour les différents traitements. (Annexe 08).

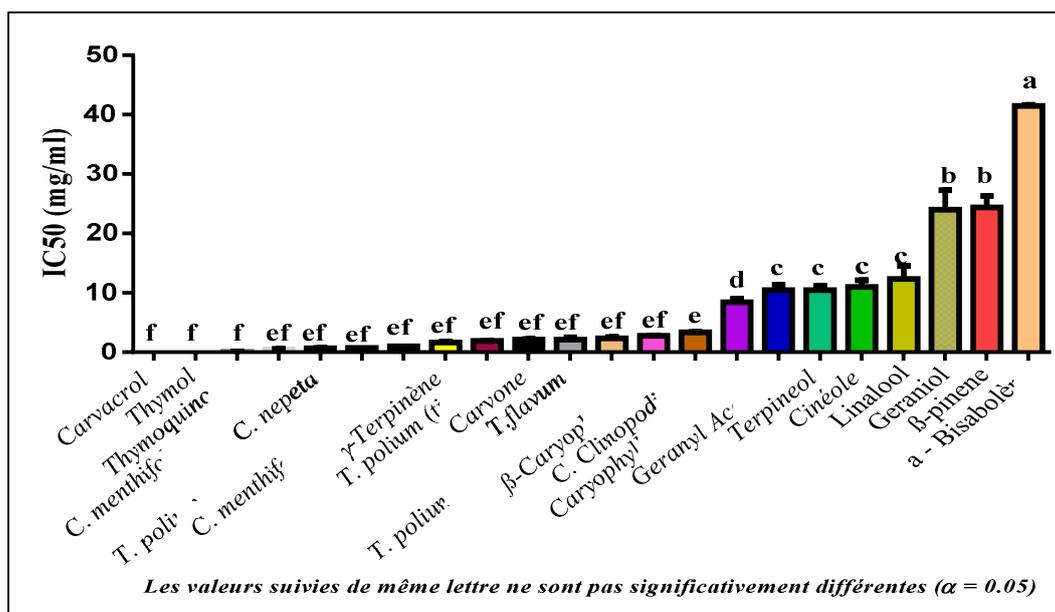


Figure 16 : Variation des IC50 des huiles essentielles de différentes espèces étudiées avec des molécules pures.

La capacité antiraiculaire totale des essences testées a été supérieure à celle de *Carvacrol*, *Thymol* et *Thymoquinone* et inférieure pour *Caryophyllène oxide*, *geranyl acétate*, *Terpineol*, *Cineole*, *linalool*, *géraniol*, *β-pinène*, *α-bisabolol*. À l'exception *γ-terpinène*, *carvone* et *β-caryophyllène*.

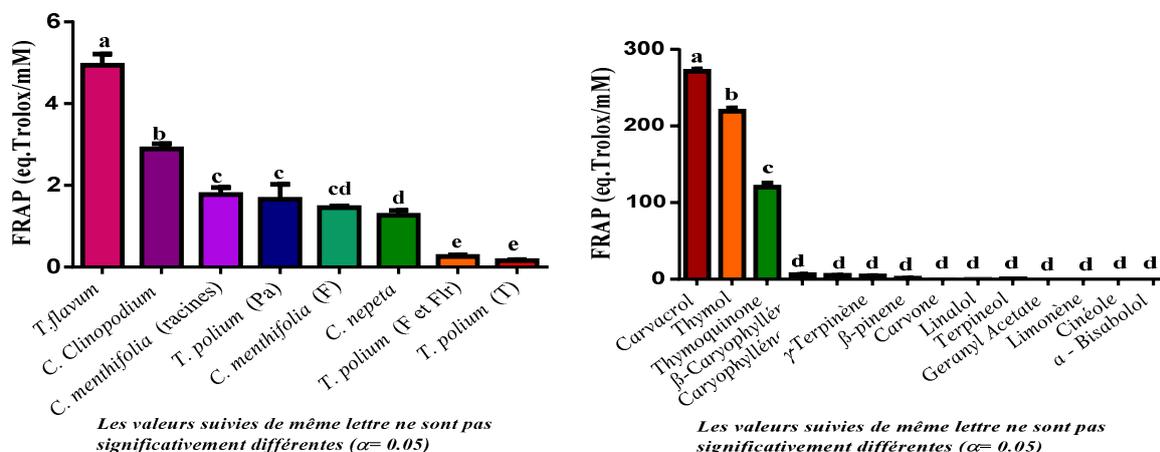
D'après les résultats obtenus, l'activité antioxydante de *Teucrium polium* est probablement liée à sa composition chimique en phénols notamment, *γ Terpinene*, *Carvone*, *β-Caryophyllène*, *Terpineol*, *Cinéol*, *Linalool*, *β-Pinène* et *Carvacrol*. En effet, la littérature a rapporté la présence de *β-Pinène* (16,6%), *carvacrol* (1,1%), *Linalool* (0,6%), *Terpineol* (0,5%) dans les huiles essentielles de *Teucrium polium* de Telemcen, (Lograda et al, 2014). Dans la même recherche, pour la même espèce trouvée en Iran, la composition des huiles essentielles de *Teucrium polium* en composants volatils est différente pour les deux régions.

Ces différences sont dues à plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique, les facteurs climatiques, l'espèce végétale elle-même, l'organe végétal, le stade de la croissance, la période de cueillette, la conservation de matériel végétal et la méthode d'extraction.

### II.1.3. Evaluation du pouvoir réducteur (FRAP)

La présence des réducteurs dans les essences ou même dans les molécules chimiques provoque la réduction de  $Fe^{+3}$  en  $Fe^{+2}$ . Les résultats obtenus (figure 17) représentent la

capacité réductrice en équivalence de Trolox. En effet, un fort équivalent Trolox signifie que l'huile essentielle possède un fort pouvoir antioxydant.



**Figure 17 :** Résultats de la capacité réductrice FRAP par les huiles essentielles et les molécules en équivalence de Trolox.

La capacité réductrice la plus élevée est observée chez les parties aériennes de *Teucrium flavum* [4,94 mM.éq Trolox/mg), et de *Calamintha clinopodium* (2,98 mM.éq Trolox/mg) suivie de celle des racines de *Calamintha menthifolia* (1,77 mM.éq Trolox/mg) par la suite viennent la partie aérienne de *Teucrium polium* (1,68 mM.éq Trolox/mg), les feuilles de *Calamintha menthifolia* (1,45 mM.éq Trolox/mg) et la partie aérienne de *Calamintha nepeta* (1,26 mM.éq Trolox/mg). Enfin, une faible capacité réductrice est remarquée chez les différents organes (feuilles, fleurs et tiges) de *Teucrium polium* avec des taux de 0,26 mM.éq Trolox/mg); et de 0,16 mM.éq Trolox/mg), respectivement.

D'autre part, le pouvoir réducteur du fer par les molécules étudiées est plus fort pour le *Thymol*, le *Carvacrol* et le *Thymoquinone* et moins faible pour  *$\beta$ -caryophyllène*, *Caryophyllèneoxide*,  *$\gamma$ -Terpinène*,  *$\beta$ -pinène*, *Carvone*, *Linalool*, *Terpénol*, *Geranyl acétate*, *Limonène*, *Cineole* et  *$\alpha$ -Bisabolol*.

Des résultats similaires ont été rapportés par **Miri et ses collaborateurs** en 2012, avec les huiles essentielles du genre *Teucrium* de la région d'Iran, ils ont signalé un faible pouvoir réducteur avec 0,22 mM.éq Trolox/mg par rapport à la présente étude.

### III. Résultats et discussion

L'activité antioxydant des huiles essentielles et leur molécules chimique ont été testé par la méthode pouvoir réducteur ferrique (FRAP) et les résultats sont illustrés dans le (Tableau).

**Tableau III** : Résultats de pouvoir réducteur des huiles essentielles et les molécules par le test FRAP.

Huile/Molécule	Moyenne $\pm$ erreur	Huile/Molécule	Moyenne $\pm$ erreur
<i>Carvacrol</i>	271,38 $\pm$ 2,9 <sup>a</sup>	<i>C.nepeta</i>	1,266 $\pm$ 0,12 <sup>e</sup>
<i>Thymol</i>	219,298 $\pm$ 4,39 <sup>b</sup>	<i>B-pinène</i>	1,179 $\pm$ 0,10 <sup>e</sup>
<i>Thymoquinone</i>	119,792 $\pm$ 5,5 <sup>c</sup>	<i>Carvone</i>	0,611 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>
<i><math>\beta</math>-Caryophyllène</i>	5,740 $\pm$ 0,67 <sup>d</sup>	<i>Linalool</i>	0,304 $\pm$ 0,05 <sup>e</sup>
<i>T.flavum</i>	4,943 $\pm$ 0,27 <sup>de</sup>	<i>Terpeniol</i>	0,271 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>
<i>Caryophyllénoxyde</i>	4,751 $\pm$ 0,08 <sup>de</sup>	<i>T.polium</i> (F et Flr)	0,261 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>
<i><math>\gamma</math>-Terpinène</i>	4,077 $\pm$ 0,39 <sup>de</sup>	<i>T.polium</i> (T)	0,162 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>
<i>C.clinopodium</i>	2,891 $\pm$ 0,13 <sup>de</sup>	<i>Geranylacetate</i>	0,118 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>
<i>C.mentifolia</i> (R)	1,777 $\pm$ 0,17 <sup>de</sup>	<i>Limonène</i>	0,109 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>
<i>T.polium</i> (Pa)	1,658 $\pm$ 0,37 <sup>de</sup>	<i>Cineole</i>	0,053 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>
<i>C.mentifolia</i> (F)	1,458 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>	<i><math>\alpha</math>-Bisabolol</i>	0,048 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>

D'après le tableau, on peut déduire que l'activité antioxydant des huiles essentielles obtenue par le test de pouvoir réducteur FRAP a leur composants volatils, et cela confirme les deux tests précédents.

L'activité biologique des huiles essentielles est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre les composants. Ainsi les composés chimiques les plus efficaces et qui possèdent un large spectre d'action anti-radicalaires sont les phénols (thymol, carvacrol...etc), les alcools (geraniol, linalool...etc) et les cétones (carvones, camphor...etc), (**Moleyar et Narassimhm,1992**).

La présente étude a mis en valeur les propriétés antioxydants des plantes du genre *Calamintha* et *Teucrium* de la famille des *Lamiaceae*. Elle consiste principalement à extraire les huiles essentielles contenues dans les différents organes de ces plantes par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger.

L'extraction des huiles essentielles a donné des rendements intéressants. Les valeurs enregistrées oscillent entre 0,28% et 0,84%.

L'activité biologique de ces huiles a révélé des propriétés antioxydant variables selon l'espèce, l'organe étudié et le test utilisé. L'activité antiraicalaire du DPPH a montré un fort pouvoir antioxydant avec les huiles essentielles des feuilles de *Calamintha menthifolia* et de la partie aérienne de *Calamintha nepeta*, avec une IC50 de  $1,46 \pm 0,16$  mg/ml et de  $1,75 \pm 0,28$ , respectivement.

Cependant, le test anti-ABTS<sup>+</sup>, a révélé des IC50 de l'ordre de  $0,47 \pm 0,08$  mg/ml, de  $0,67 \pm 0,4$  mg /ml et de  $0,73 \pm 0,01$  mg /ml, pour les huiles essentielles des racines de *Calamintha menthifolia*, de la partie aérienne de *Calamintha nepeta* et des feuilles et fleurs de *Teucrium polium*, respectivement. La plus faible activité a été observée chez l'essence extraite de la partie aérienne de *Calamintha clinopodium* où une IC50 de l'ordre de  $3,34 \pm 0,07$ mg/ml est enregistrée.

En ce qui concerne l'activité réductrice des ions Fe<sup>3+</sup>, les huiles essentielles de *Teucrium flavum* ont montré la plus forte activité avec  $4,94 \pm 0,27$  équivalent mM de TROLOX /mg de l'huile essentielle, par contre les tiges de *Teucrium polium* présentent la plus faible valeur réductrice avec  $0,162 \pm 0,02$  équivalent mM de TROLOX /mg de l'huile essentielle.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus, *in vitro*, ne consiste qu'à une première étape dans la recherche de substances de sources naturelles biologiquement actives. Il serait intéressant d'approfondir cette étude à fin de caractériser et d'évaluer ces substances, et mieux évaluer leurs propriétés biologiques, en utilisant d'autres méthodes, à savoir la technique  $\beta$ -carotène, pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium...etc. Et même par des méthodes, *in vivo*, pour une éventuelle utilisation thérapeutique.

**-A-**

**Abou-Taleb H., Mohamed M., Shawir S and Abdelgaleil S. (2016).** Insecticidal properties of essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Natural product research*, 30(6), 710-714.

**Adorjan B and Buchbauer G.(2010).** Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(6), 407-426.

**Afif F., Abu-Irmaileh B and Al-Noubani R. (2010).** Comparative analysis of the essential oils of *Teucrium polium* L. grown in different arid & semi arid habitats in Jordan. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1).

**Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Aarab L. and Chaouch A. (2011).** Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 158(4), 513-523.

**Amorati R., Foti M and Valgimigli L. (2013).** Antioxidant activity of essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10835-10847.

**-B-**

**Blois M.(1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181(4617), 1199-1200.

**Bohlmann J and Keeling C. (2008).** Terpenoid biomaterials. *The Plant Journal*, 54(4), 656-669.

**Bruneton J.(2008).** Pharmacognosie :photochimie ,plantes médicinales 3<sup>ème</sup> édition, vol-1092 :483-621.

**Bougandoura N and Ben dimerad N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.

**Brusotti G., Tosi S., Tava A., Picco A., Grisoli P., Cesari I and Caccialanza, G. (2013).** Antimicrobial and phytochemical properties of stem bark extracts from *Piptadeniastrum africanum* (Hook f.) Brenan. *Industrial Crops and Products*, 43, 612-616.

**-C-**

**Carson C and Riley T. (1993).** Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Letters in Applied Microbiology*, 16(2), 49-55.

**Ceker S., Agar G., Alpso L., Nardemir G and Kizil H. (2013).** Protective role of essential oils of *Calamintha nepeta* L. on oxidative and genotoxic damage caused by Alfatoxin B1 in vitro. *Fresenius Environ. Bull*, 22, 3258-3263.

**Comhair S and Erzurum S. (2002).** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 283(2), L246-L255.

**-D-**

**Demirci B., Temel H., Portakal T., Kırmızıbekmez H., Demirci F and Başer K. (2011).** Inhibitory effect of *Calamintha nepeta* subsp. glandulosa essential oil on lipoxygenase. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 36(4).

**Descamps, E., Gelé, P., Bordet, R and Vamecq, J. (2006).** Modulation pharmacologique du stress oxydatif. *La Lettre du pharmacologue*, 20(4), 107-118.

**-E-**

**Ech-Chahad A., Farah H and Bouyazza L. (2013).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 77-81.

**Asbahani A., Miladi K., Badri W., Sala M., Aït Addi E., Casabianca, H., El Mousadik A., Hartmann D., Jilale A., Renaud R., A. Elaissari., Renaud F and Elaissari S. (2015).** Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, 483, 220-243.

**-F-**

**Favier A. (1997).** Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 55, No. 1, pp. 9-16).

**Fertout-Mouri N., Latrèche A., Mehdadi Z., Toumi-Bénali F and Khaled M. (2016).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 1-8.

**Figueiredo A., Barroso J., Pedro L and Scheffer J.(2008).** Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213-226.

**Franchomme P. (2015).** la science des huiles essentielles médicinales, vol-628 p:426-431.

**-G-**

**Gabriel I., Alleman F., Dufourcq, V., Perrin F and Gabarrou J. (2013).** Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles. 2. Hypothèses sur les modes d'action impliqués dans les effets observés. *INRA Prod. Anim*, 26(1), 13-24.

**Golfakhrabadi F., Yousefbeyk F., Mirnezami T., Laghaei P., Hajimahmoodi M and Khanavi M. (2015).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activity of *Teucrium hyrcanicum*. *Pharmacognosy research*, 7(Suppl 1), S15.

**-H-**

**Haddoudi M., Mellouk., Bejjany B., Dani A and Digua K. (2014).** Valorisation du marc du café: extraction de l'huile et évaluation de son activité antioxydante. *Technologies de Laboratoire*, 8(36).

**Haleng J., Pincemail J., Defraigne J., Charlier C and Chapelle J.(2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liege*, 62(10), 628-38.

**Hammami S., El Mokni R., Faidi K., Falconieri D., Piras A., Procedda S and El Aouni M. (2015).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from aerial parts of *Teucrium flavum L. subsp. flavum* growing spontaneously in Tunisia. *Natural product research*, 29(24), 2336-2340.

**Hammoudi R and Hadj Mahammed M. (2010).** Contribution à l'Etude de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de la Plante *Teucrium polium ssp. geyrii* (Lamiaceae). *Annales des Sciences et Technologie*, 2(1), 01-05.

**Hammoudi R., Dehak K., Mahammed H and Didi M. (2015).** Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de *deverra scopararia coss.*Dur (apiaceae). *Lebanese Science Journal*, 16(2), 27.

**Husnu S and Crisp R. (2010).** Imagined intergroup contact: A new technique for encouraging greater inter-ethnic contact in Cyprus. *Peace and Conflict*, 16(1), 97-108.

**Hussain, A-I.(2009).** Characterization and biological activities of essential oils of *some species* of Lamiaceae (Doctoral dissertation, University of Agriculture, Faisalabad).

**Hennebelle T., Sahpaz S and Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.

**Kanko C., Sawaliho B., Kone S., Koukoua G and 'Guessan Y. (2004).** Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Comptes rendus chimie*, 7(10), 1039-1042.

**-L-**

**Lien E., Ren S., Bui H and Wang R. (1999).** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3), 285-294.

**Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figueredo G and Deghar A. (2014).** Chemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Teucrium polium L.* Essential Oil from Eastern Algeria. *American Journal of Advanced Drug Delivery*, 2(6), 697-710.

**-M-**

**Mahmoudi R and Nosratpour S. (2013).** *Teucrium polium L.* essential oil: phytochemical component and antioxidant properties. *International Food Research Journal*, 20(4).

**Merghache S., Hamza M and Tabti B. (2009).** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis L.* De Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1).

**Miri A., Monsef-Esfahani H., Amini M., Amanzadeh Y., Hadjiakhoondi A., Hajiaghaei R and Ebrahimi, A. (2012).** Comparative chemical composition and antioxidant properties of the essential oils and aromatic water from *Teucrium persicum Boiss.* *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(2), 573-581.

**Miyazawa M., Nakahashi H., Usami A and Matsuda N. (2016).** Chemical composition, aroma evaluation, and inhibitory activity towards acetylcholinesterase of essential oils from *Gynura bicolor DC.* *Journal of natural medicines*, 70(2), 282-289.

**Moleyar V and Narasimham P.(1992).** Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*, 16(4), 337-342.

**Morena M., Martin-MateoM., Cristol J and Canaud B. (2002).** Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23(5), 201-208.

**-O-**

**Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.

**-P-**

**Popovici C., Saykova I and Tylkowski B. (2010).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.

**-Q-**

**Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, 599P.

**-R-**

**Rassem H., Nour H and Yunus M.(2016).** Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16), 117-127.

**Rehman R., Hanif M., Mushtaq Z and Al-Sadi A (2016).** Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. *Food Reviews International*, 32(2), 117-160.

**Rolland Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 11(6), 419-424.

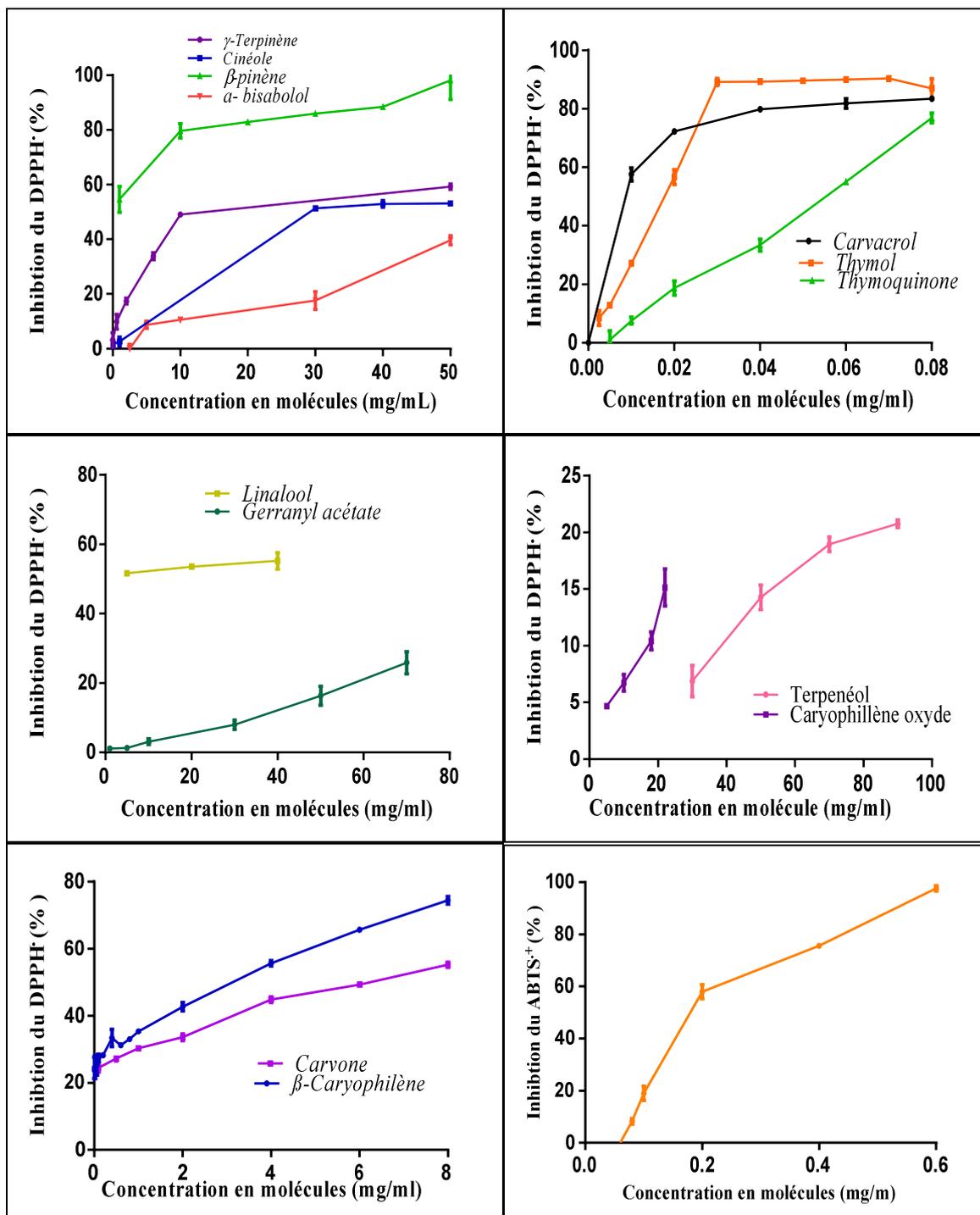
**-S-**

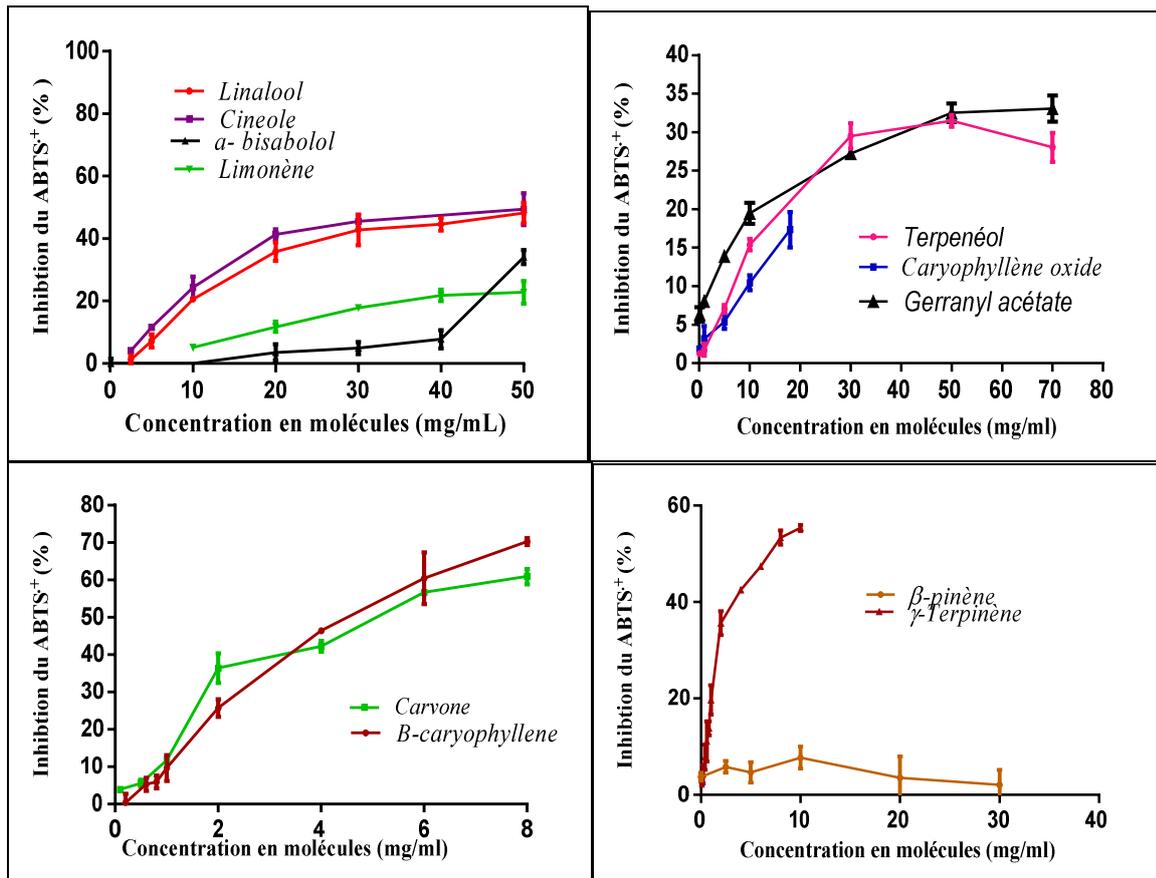
**Soare J., Dinis T., Cunha A and Almeida L. (1997).** Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. *Free radical research*, 26(5), 469-478.

**-X-**

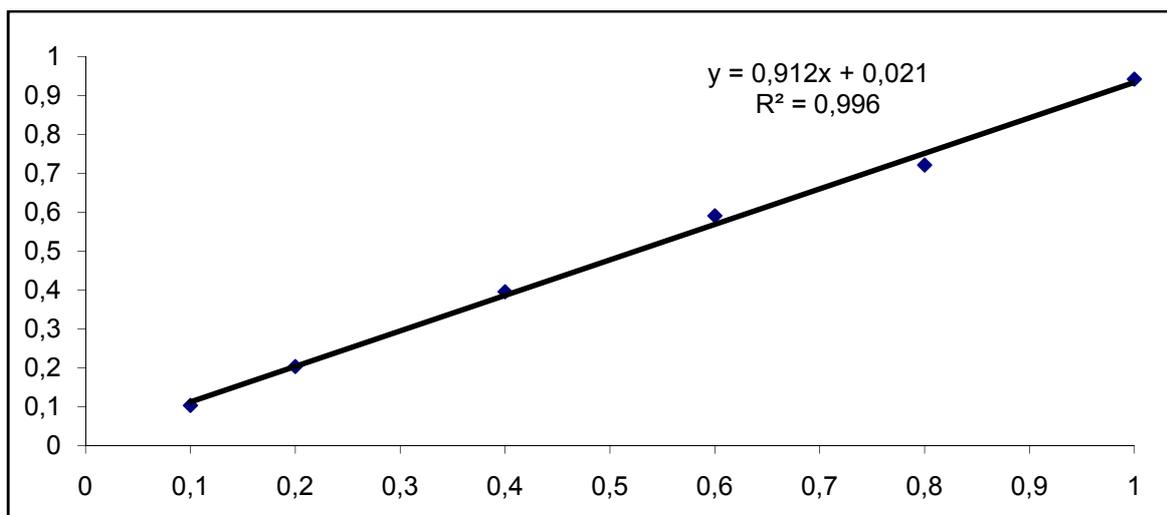
**Xavier F and chemat F.(2012).**La chimie des huiles essentielles,tradition et innovation,vol-274 p :215-216.

## Annexe 01 : la variation de l'activité antioxydant des molécules pures





Annexe 02 : la courbe d'étalonnage de Trolox



**Annexe 03 :** L'analyse de la variance des huiles essentielles par le test DPPH

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	5	47,092	9,418	37,459	< 0,0001
<b>Erreur</b>	12	3,017	0,251		
<b>Total corrigé</b>	17	50,110			

**Annexe 04 :** l'analyse de la variance des composés des huiles chimique des huiles essentielles.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	12	8903,653	741,971	312,951	< 0,0001
<b>Erreur</b>	26	61,643	2,371		
<b>Total corrigé</b>	38	8965,296			

**Annexe 05 :** l'analyse de la variance des huiles essentielles et les molécules chimique par le test DPPH.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	18	9286,785	515,933	217,611	< 0,0001
<b>Erreur</b>	26	61,643	2,371		
<b>Total corrigé</b>	44	9348,428			

**Annexe 06 :** l'analyse de la variance des huiles essentielles par test ABTS<sup>+</sup>

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	21	6916,364	329,351	324,334	< 0,0001
<b>Erreur</b>	44	44,681	1,015		
<b>Total corrigé</b>	65	6961,045			

**Annexe 07 :** l'analyse de la variance des composants chimiques des huiles essentielles par le test ABTS<sup>+</sup>.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	13	5634,647	433,434	273,610	< 0,0001
<b>Erreur</b>	28	44,356	1,584		
<b>Total corrigé</b>	41	5679,003			

**Annexe 08** :l'analyse de la variance des huiles essentielles et les molécules chimique par le test ABTS<sup>+</sup>.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	21	6916,364	329,351	324,334	< 0,0001
Erreur	44	44,681	1,015		
Total corrigé	65	6961,045			

**Annexe 09** :L'analyse de la variance des huiles essentielles et les molécules chimiques par le test FRAP

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	21	352388,294	16780,395	6275,804	< 0,0001
Erreur	44	117,648	2,674		
Total corrigé	65	352505,942			

## Résumé :

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydant des huiles essentielles de cinq plantes de la famille Lamiacée ; Calamintha et Teucrium, notamment, *Calamintha menthifolia*, *Calamintha nepeta*, *Calamintha clinopodium*, *Teucrium polium*, *Teucrium flavum*, qui sont extraites par hydrodistillation. Leurs propriétés antioxydants sont testées par trois méthodes différentes (FRAP, DPPH<sup>•</sup> et ABTS<sup>•+</sup>). Les résultats ont montré un rendement d'extraction en huiles essentielles allant de 0,28% à 0,84%. Les trois tests de l'activité antioxydant ont montré que toutes les huiles essentielles étudiées présentent des pouvoirs antioxydants à différents niveaux. Les huiles essentielles de *Calamintha menthifolia* (feuilles) et *Calamintha nepeta*, sont douées d'une meilleure activité anti-radicalaire par rapport aux autres plantes testées ; les IC50 sont de : 1,46mg/ml et 1,79mg/ml, respectivement pour le test DPPH<sup>•</sup>. Une forte capacité réductrice de fer est attribuée pour *Teucrium flavum*, avec une activité équivalente de TROLOX = 4,94. *Calamintha menthifolia* (racine) à un effet anti-ABTS<sup>•+</sup> le plus élevé avec IC50=0,47 mg/ml.

Ces résultats suggèrent que ces plantes peuvent être considérées comme sources d'antioxydants naturels.

**Mots clés :** Huiles essentielles, plantes aromatiques, Lamiacée, *Calamintha*, *Teucrium*, activité antioxydant.

## Summary:

The objective of this work is to evaluate the antioxidant activity of the essential oils of five plants of the Lamiaceae family; Calamintha and Teucrium, including *Calamintha menthifolia*, *Calamintha nepeta*, *Calamintha clinopodium*, *Teucrium polium*, *Teucrium flavum*, which are extracted by hydrodistillation. Their antioxidant properties are tested by three different methods (FRAP, DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup>). The results showed an extraction yield of essential oils ranging from 0.28% to 0.84%. The three tests of antioxidant activity showed that all the studied essential oils have antioxidant powers at different levels. The essential oils of *Calamintha menthifolia* (leaves) and *Calamintha nepeta*, are endowed with a better anti-free radical activity compared to the other plants tested; The IC50 is 1.46 mg / ml and 1.79 mg/ml, respectively, for the DPPH<sup>•</sup> test. A high iron reducing capacity is attributed to *Teucrium flavum* with equivalent activity of TROLOX = 4.94. *Calamintha menthifolia* (root) With the highest anti-ABTS<sup>•+</sup> effects with IC50 = 0.47 mg / ml.

Obtained results suggest that studied plants could be considered as natural sources of antioxidants.

**Keywords:** Essential oils, aromatic plants, Lamiaceae, Calamintha, Teucrium, antioxidant activity.