

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة امحمد بوقرة – بومرداس

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES



Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

Domaine : Science de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Evaluation de quelques activités biologiques (antioxydante, anti-inflammatoire et antispasmodique) de l'huile essentielle de la plante *Satureja calamintha* L.

Présenté par :

Melle Bellaterche Radia

Melle Maandi Ghania

Melle Saboundji Ouassila

Soutenu le / / 2022 devant le jury composé de :

Mr BENMOULOUD A.

Maître de conférences A

UMBB

Président

Mr DAHMANI M.M.

Maître de conférences B

UMBB

Examineur

Mr BOUDJEMA K.

Maître de conférences A

UMBB

Promoteur

Mme Tribèche N.

Attachée de recherche

CRD, Sidal

Co-promotrice

Année universitaire 2021-2022

Remerciement

Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous tenons à remercier infiniment notre promoteur **Mr Boudjema.K**, maître de conférences classe A à l'université de Boumerdes, de nous avoir proposé ce sujet et de diriger notre travail avec une grande rigueur scientifique, pour ces précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche et pour sa patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon Port.

Nos sincères remerciements vont aussi à notre co-promotrice **Mme Tribèche N**, pour ses orientations et ses conseils pendant notre pratique.

Nous exprimerons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre recherche :

Mr Benmouloud.A, maître de conférences classe A à l'université de Boumerdes qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

Mr Dahmani.MM, maître de conférences classe B à l'université de Boumerdes qui a accepté de faire partie du jury pour examiner ce modeste travail.

Nous adressons nos sincères remerciements au directeur **Mr Amine Bey** qui nous a aidé à réaliser notre stage au niveau de CRD de Saidal.

Nous tenons à remercier, **Dr Belkadi.A**, pour l'inlassable soutien qu'elle nous a toujours accordé, pour la facilité de travail qu'elle nous a procurée et pour ses précieux conseils.

Recevez ici l'expression de profonde reconnaissance pour vos qualités scientifiques

Nos vifs remerciements vont aussi aux **Mme Azzine.K et Mme Halli.L** pour leurs accompagnement durant notre travail.

Sans oublier de remercier **Mr Moussa** et **Mr Taher** pour leur gentillesse et leur aide qu'ils nous ont apporté durant notre stage.

Nous remercions tout le personnel du laboratoire des huiles essentielles et l'animalerie du CRD Saidal (Alger) ainsi que le laboratoire de Biochimie appliquée de département Biologie (UMBB).

Nos remerciements s'étendent également à nos enseignants durant les années d'étude.

" قم للمعلم وفه التبجيل كاد المعلم أن يكون رسولا "

En terminant, on souhaite démontrer notre plus sincère gratitude à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace



Dieu soit loué d'avoir accepté mes prières et celles de ma famille pour cette victoire « Joie de la réussite » qu'au monde ne peut atteindre ce rêve, merci Dieu.

Je dédie ce modeste travail avec les profonds remerciements, aux deux être les plus chers à mon cœur qui ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur amour, mes parents : à mon très cher père Kamel et ma très chère mère Nadira que Dieu vous bénisse pour vos aides et vos soutient durant tout mon cycle d'étude, je vous aime énormément.

A ma très chère sœur Amina et son mari

A mon très cher frère Mohammed et sa femme

A mon très cher neveu Anes

A ma très chère grand-mère l'exemple de tendresse, d'amour et de sacrifice que Dieu te bénisse et te garde pour nous.

A mes chères tantes et mes chers oncles, que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mes très chères cousines : Sabrina, Bouchera, Meriem, Nabila, Hakima et Houria.

A mes fidèles amies : Ibtissem, Rania, Aya, Feriel, Fatima, Ibtihel et Sarah.

A mon très chères binôme: Ouassila et Ghania

A toutes personnes qui m'a aidé d'un mot, une idée ou d'un encouragement

Je dis Merci infiniment



Radia

Dédicace



Tout d'abord je remercie Allah Pour m'avoir donné la santé , la volonté, le courage et de m'avoir guider pour arriver à ce stade .

Avec l'expression de ma reconnaissance , je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A mon cher père , tu as été toujours là pour moi , et tu m'a donné un magnifique modèle de labeur se de persévérance durant ces années d'études, tout les mots ne saurait exprimer pour ton dévouement et tes sacrifices,

A ma chère mère, tu n'a jamais cessé, de formuler des prière à mon égard, de me soutenir, de m'encourager, je ne serais point te remercie comme il se doit . ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour que je puisse atteindre mes objectifs,

A mes chers frères et sœurs, ma source d'amour, de joie et du bonheur, Et particulièrement ma sœur Kenza, pour ton encouragement , ton soutien et tes conseils pour que je puisse affronter les différents obstacles , merci d' être ma sœur , A toute ma famille et mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de vivacité,

Une spéciale dédicace à ma grande mère, qui je souhaite une bonne santé et que dieu lui donne une longue et jouyeuse vie,

Sans oublié mes chères binôme :Radia et Ouassila, pour votre soutien de morale, votre patience et votre encouragement tout au long de ce travail ,

A mes amies : Fatima, Feriel, Ibtihalet Amel et Asma , pour votre supports et pour toutes les moments inoubliables que nous avons partagé ensemble,

Et surtout mes deux meilleures amies : Ahleme et Soumia, pour votre indéfectibles soutien et votre accompagnement dans les péripéties de ma vie.

Avoir des amies sur qui je compte dans les moments difficiles est commes le meilleur cadeau de l'exisence.

A ma chère maîtresse de primaire Fatiha, merci de m'avoir donné l'envie d'apprendre, j'ai jamais oublié ta gentillesse, ta patience et ta confiance en moi.



Ghania

Dédicace



Après un long trajet, enfin je suis en train de présenter ce modeste travail comme un projet de fin d'étude et tout cela grâce à :

Allah le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie et de m'avoir donné la capacité, la santé, le courage et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

فا لله لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك

Je dédie humblement ce travail avec une grande fierté et comme geste de gratitude.

Aux deux bougies qui ont éclairé ma vie

A mon cher père, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années. que dieu vous bénit.

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas, la source de l'amour et de tendresse ma très chère mère "Malika".

aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Je te souhaite une longue et belle vie et que dieu te protège pour nous.

A ma très chère sœur Wahiba,

votre encouragement et votre soutien était le bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles. Merci d'être toujours à mes côtés.

A mes très chers frères et leurs femmes qui n'ont cessé d'être là pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A ma chère tante Wahiba Merci pour ta présence dans les bons et les mauvais moments, tu es une femme en Or.

A mes chères nièces Maram; Maria; Dina; Ikram et Rinad Vous êtes mes rayons de soleil et mes plus précieux trésors, Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de prospérité.

*A mes amies les plus chères : Ferial; Fatima ; Amel; Sara; Ibtihel et Asma
Merci d'avoir vous étiez toujours avec moi je vous dédie mon travail pour nos souvenirs et notre chère amitié.*

*Je n'oublie pas de remercier chaleureusement mes très chères binôme Ghania et Radia
Pour leurs encouragement et pour tous les bons moments que nous avons vécu ensemble
"La vie a une fin comme une lumière de bougie s'éteint mais les souvenirs sont toujours ancrés dans le cœur".*



Ouassila

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION..... 1

Première partie: Synthèse bibliographique

Chapitre I : Matière végétale

I.1. Plante médicinale	2
I.2. Généralités sur la famille lamiaceae	2
I.3. Plante étudiée (<i>Satureja calamintha</i>).....	2
I.3.1. Nomenclature	2
I.3.2. Description botanique	3
I.3.3. Taxonomie.....	3
I.3.4. Distribution géographique et origine de la plante.....	4
I.3.5. Propriétés et utilisation thérapeutiques.....	4
I.4. Composition de la plante en métabolites	5
I.4.1. Métabolites primaires.....	5
I.4.2. Métabolites secondaires	5

Chapitre II : Les huiles essentielles

II.1. Définition des huiles essentielle	9
II.1.1. Localisation et répartition des HES dans la plante.....	9
II.1.2. Rôle des huiles essentielles.....	9
II.1.3. Propriétés physico-chimique.....	10

II.1.4. Composition des huiles essentielles.....	10
II.1.4.1. Les terpènes	10
II.1.4.2. Les composés aromatiques	11
II.1.5. Voies de biosynthèse des HEs	11
II.1.6. Conservation des huiles essentielles	12
II.1.7. Toxicité des huiles essentielles	12
II.1.8. Procède d'obtention des huiles essentielles	13
II.1.8.1. Hydrodistillation	13
II.1.8.2. Entrainement à la vapeur d'eau	13
II.1.8.3. Expression à froid	14
II.1.8.4. Extraction par CO ₂ supercritique	14
II.1.8.5. Extraction par micro-ondes.....	14
II.1.9. Méthode d'identification des huiles essentielles.....	15
II.1.9.1.Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse /Spectrométrie de masse (CPG /SM)	15

Chapitre III : Les activités biologiques

III.1. Activité antioxydante	16
III.1.1.Stress oxydative.....	16
III.1.2.Les radicaux libres.....	17
III.1.3.Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	17
III.1.4. Les antioxydants.....	18
III.1.4.1.Mécanisme d'action des antioxydants.....	18
III.1.4.2.Les antioxydants endogènes	18
III.1.4.3. Les antioxydants exogènes	19
III.2.Activité anti-inflammatoire	20
III.2.1.L'inflammation.....	20
III.2.2. Les Anti-inflammatoires.....	20
III.2.2.1.Anti inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	21
III.2.2.2.Anti-inflammatoire stéroïdiens(AIS).....	21
III.3.L'activité antispasmodique.....	22
III.3.1.Antispasmodique neutropes.....	22

III.3.2. Antispasmodiques musculotropes	23
---	----

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes	24
I.1. Matériel	24
I.1.1. Matériel non biologique	24
I.1.2. Matériel biologique	24
I.1.2.1. Matériel animal	24
I.1.2.2. Matériel végétal.....	25
I.2. Méthodes.....	26
I.2.1. Screening phytochimique.....	27
I.2.1.1 Préparation de la plante.....	27
I.2.1.2. Recherche des métabolites secondaires	27
I.2.2. Méthode d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	29
I.2.2.1. Détermination du rendement d'extraction.....	31
I.2.3. Evaluation des activités biologiques	31
I.2.3. 1. Evaluation de l'activité antioxydante de l'HE	31
I.2.3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	33
I.2.3.3. Evaluation de l'activité antispasmodique.....	37
I.2.4. Etude statistique	40

Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et discussion	42
II.1. Screening phytochimique	42
II.2. Rendement d'extraction.....	45
II.3. L'activité antioxydante	46

II.4. Activité anti-inflammatoire.....	48
II.5.L'activité antispasmodique.....	51
Conclusion	53

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie de la plante <i>Satureja calamintha</i>	3
Tableau 2 : Classification des terpènes.....	11
Tableau 3 : Exemples des espèces réactifs de l'oxygène	17
Tableau 4 : Principaux antioxydants exogènes et leurs sources d'alimentation.....	19
Tableau 5 : Résultats du screening phytochimique de la plante <i>Satureja calamintha</i>	43
Tableau 6 : Comparaison des pourcentages d'augmentation et de réduction d'œdème.....	49
Tableau 7 : Comparaison de nombre des moyennes et pourcentages de protection.....	51

Liste des tableaux dans les annexes

Tableau 1 : Matériel non biologique (Annexe 1)
Tableau 2 : Résultats des rendements d'extraction (Annexe 3)
Tableau 3 : Résultats de l'activité antioxydante (Huile essentielle) (Annexe 4)
Tableau 4 : Résultats de l'activité antioxydante (Acide ascorbique) (Annexe 5)
Tableau 5 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire (Annexe 6)
Tableau 6 : Résultats de l'activité antispasmodique (Annexe 7)

Liste des figures

Figure 1 : Photo des Parties aériennes de la plante.....	3
Figure 2 : Carte géographique de la plante <i>Satureja calamintha</i>	4
Figure 3: Structure du noyau phénol.....	5
Figure 4: Structure de base des flavonoïdes.....	6
Figure 5: Structure chimiques d'un tannin hydroxylable (1) et d'un tannin condensé (2).....	7
Figure 6: Structure de la molécule d'isoprène.....	8
Figure 7: Principales voies de biosynthèse des composés volatils	12
Figure 8: Schéma du montage de la technique d'hydrodistillation.....	13
Figure 9: Schéma du montage de la technique d'entraînement à la vapeur.....	14
Figure 10: Schéma du montage de la technique d'extraction par micro-onde.....	15
Figure 11: Balance oxydants /antioxydants	16
Figure 12: Neutralisation d'un radicale libre par un antioxydant.....	16
Figure 13: Mécanisme d'action des antioxydants.....	18
Figure 14: Cascade arachidonique et mode d'action des anti-inflammatoires.....	21
Figure 15: Mode d'action des antispasmodiques neurotropes.....	22
Figure 16: Principaux mécanismes de l'effet antispasmodique des huiles essentielles.....	23
Figure 17: Nourriture et hébergement des souris BALB/c.....	24
Figure 18: Photo de la plante fraîche, sèche et broyée.....	25
Figure 19: Schéma récapitulatif de différentes étapes d'extraction ainsi l'évaluation de quelques activités biologiques sur l'huile essentielle de <i>Satureja calamintha</i>	26
Figure 20: Photo de disposotif de l'hydrodistillation.....	29
Figure 21: Diagramme représentant le protocole d'extraction par hydrodistillation de la plante <i>Satureja calamintha</i>	30
Figure 22: Réduction du radicale (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle).....	32
Figure 23: Photo originale des quatre lots	33

Figure 24: Gavage des souris.....	34
Figure 25: Injection de carragénine.....	35
Figure 26: Sacrifice des animaux.....	35
Figure 27: Coupage des pattes.....	35
Figure 28: Diagramme récapitulatif présentant le protocole suivi dans l'activité anti-inflammatoire.....	36
Figure 29: Gavage des souris.....	38
Figure 30: Injection de l'acide acétique.....	38
Figure 31 : Observation de spasme (crampe)	39
Figure 32 : Diagramme récapitulatif présentant le protocole suivi dans l'activité antispasmodique.....	39
Figure 33 : Photo originale de l'huile essentielle de la plante <i>Satureja calamintha</i>	45
Figure 34 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'huile essentielle.....	47
Figure 35 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	47
Figure 36 : Histogramme représentant les pourcentages d'augmentation d'œdème.....	49
Figure 37 : Histogramme représentant les pourcentages de réduction d'œdème.....	49
Figure 38 : Histogramme représentant les pourcentages de protection.....	51

Liste des abréviations

• : Radical libre.

AA : Acide arachidonique

AFNOR : Association Française de Normalisation

AINS : Anti-inflammatoire Non Stéroïdien

AIS : Anti-inflammatoire Stéroïdien

CAT: Catalase

CG/SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

COX: Cyclooxygénases

CRD : Centre de Recherche et de Développement

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

DPPH-H: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

GPx: Glutathion peroxydase

GSH: Glutathion réduit

HE : Huile essentielle

P : Probabilité

P/V: Poids / volume

R : Rendement

R^2 : Coefficient de régression

SC : *Satureja calamintha*

SOD: Superoxydes dismutases

TNF : Facteur de nécrose tumorale

UV: Ultraviolet

Introduction générale

La nature est une source d'agents médicinaux depuis des milliers d'années. Les médicaments populaires de presque toute la civilisation du monde regroupent les plantes médicinales **(Benhouda et al., 2014)**. Ces derniers sont devenus un sujet d'actualité ayant un impact sur la santé. La phytothérapie a joué un rôle crucial dans le maintien du système de santé de la vaste population à travers le monde. Ceci est largement amélioré dans les pays moins développés ou en développement où l'utilisation historique de la médecine traditionnelle a été interrompue **(Sahraoui et Siouani, 2019)**.

Par ailleurs, les plantes médicinales représentent une source inépuisable de remède traditionnel et efficace pour le traitement de diverses maladies grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, saponines et les huiles essentielles...etc **(Khalidi et al., 2012)**.

De nos jours ces dernières sont largement employées pour leurs propriétés biologiques (antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, analgésique, anti parasitaire...) et leurs applications dans des multiples et diverses industries : agro alimentation, cosmétique, parfumerie, pharmacie et aromathérapie.

L'Algérie par sa situation géographique unique et sa variabilité de climat et du sol, comporte un patrimoine naturel qui englobe environ 4000 espèces et sous espèces de plantes vasculaires, seuls 146 de ces espèces sont considérés comme médicinales **(Hamel et al., 2018)**. Nous sommes intéressés à étudier une de ces espèces « *Satureja calamintha* » qui appartient au genre *Satureja*. Notre travail consiste à la recherche des substances naturelles volatiles de la partie aérienne de *Satureja calamintha* d'une part et d'autre part d'étudier leurs activités biologiques.

La réalisation de ce travail est répartie en deux partis, la première présente une recherche bibliographique qui englobe trois chapitres :

Le premier résume les principales caractéristiques de la plante étudiée et ses métabolites secondaires, le deuxième se base sur les huiles essentielles : compositions, localisation, procédés d'extractions et le dernier chapitre qui s'agit d'évaluer les activités biologiques. La seconde partie consiste à une étude expérimentale qui comporte :

- Un screening phytochimique des métabolites secondaires ;
- Extraction de l'huile essentielle et détermination de son rendement d'extraction ;
- Evaluation de ses activités biologiques : antioxydante, anti-inflammatoire et antispasmodique.

Première partie :
Synthèse bibliographique

I.1. Plante médicinale

Une plante est dite médicinale lorsqu'un de ses organes possède des activités pharmacologiques, pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. On n'utilise généralement qu'une partie de la plante : la racine, la feuille, la fleur, la graine, la plus riche en principe actif. Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelles, produisant des substances actives biochimiques : alcaloïdes, huiles essentielles, flavonoïdes, tannins et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux (Schauenberg et Paris, 2005).

I.2. Généralités sur la famille lamiaceae

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, qui dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (Bouhaddouda, 2016).

Elle est l'une des premières familles à être distinguées par les botanistes. Les lamiacées sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales. Elle comprend environ 4000 espèces et près de 220 genres (Naghibi et al., 2005), dont le genre *Satureja* est étudié dans le présent travail.

Selon Quezel et santa (1963), elles constituent une famille très importante dans la flore Algérienne représentée par 28 genres et 146 espèces.

40% de ses espèces contiennent des composés qui possèdent des propriétés aromatiques (Verse, 2007). Elles sont caractérisées par des parties aériennes ayant un goût distinctif et peuvent être ajoutées à plusieurs préparations culinaires ou utilisées en médecine traditionnelle, pour traiter diverses affections (Gulluce et al., 2003).

I.3. Plante étudiée (*Satureja calamintha*)

Le nom *Satureja* dérive du latin « saturare » qui indique nourrir ou « satura » qui indique pot à fleur (ornemental). Il existe plusieurs espèces, toutes sont remarquables par leur odeur forte et aromatique, qui rappelle celle de la menthe (Vârban et al., 2009).

I.3.1. Nomenclature

Selon Ghourri et al (2014) ; Kerbouche et al (2013) la nomenclature est :

- **Nom commun** : Sarriette, Calaminthe.
- **Nom botanique** : *Satureja calamintha* subsp. Nepta (L). Briq.
- **Nom vernaculaire**: Nabta, Menta, Touret.

I.3.2. Description botanique

C'est une petite plante vivace pubescente, ne dépassant pas 40-80 cm de haut, de couleur mentholée et vert-grisâtre (Kerbouche et al., 2013).

Les tiges sont molles et velues avec des feuilles largement ovales, obtuses, subentières (lisses) ou légèrement à profondément crénelées-serrées, qui sont très parfumées lorsqu'elles sont écrasées (Božovic et Ringo, 2017). Les fleurs sont tubulaires, à deux lèvres, roses ou violettes visible de juillet à octobre (Bouguandoura et Bendimerad, 2013) ; présente en épis axillaires (cymes de 5 à 20 fleurs). Le calice mesure 3 à 7 × 1-2 mm de diamètre, densément pubescent (Božovic et Ringo, 2017).

Le fruit est constitué de quatre akènes ovales et lisses (Figure 1) (Baba Aissa, 2000).



Figure 1 : Photo des parties aériennes de la plante *Satureja calamintha* (Labiod, 2016).

I.3.3. Taxonomie

La Taxonomie de la plante *Satureja calamintha* est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Taxonomie de la plante *Satureja calamintha* selon Quezel et Santa (1963).

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Satureja</i>
Espèce	<i>Satureja calamintha</i>

I.3.4. Distribution géographique et origine de la plante

Satureja calamintha est répartie dans la région méditerranéenne et pousse aussi dans des régions arides, chaudes et rocheuses (Slavkovska et al., 2001). Elle est originaire d'Afrique du nord (Algérie, Maroc et Tunisie), en Asie et en Europe (figure 2). Le genre *satureja* se trouve dans les sous-bois mais aussi sur les terrains incultes, le bord des routes et dans le tell. Surtout dans les montagnes, jusqu'à 1500 mètres d'altitude (Quezel et Santa, 1963).

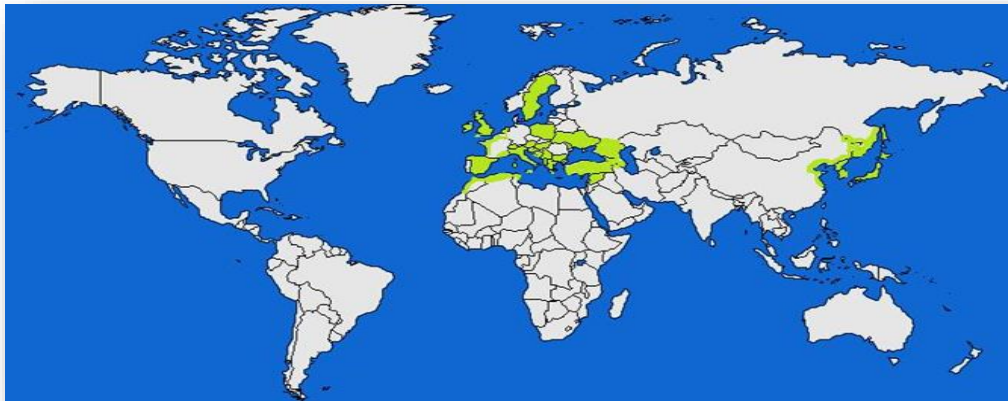


Figure 2 : Carte géographique de la plante *Satureja calamintha* (Benkhedimallah et Kismoun, 2014).

I.3.5. Propriétés et utilisation thérapeutiques

Satureja calamintha est une excellente plante médicinale, qui combat les flatulences, stimule la digestion, traite les coliques et elle est préconisée en cas d'infection des voies respiratoires (bronchites) (Iserin, 2001).

Les espèces de *Satureja* sont utilisées comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans Les parfums (Bouguandoudra et Bendimerad, 2013).

Elles ont traditionnellement utilisé comme analgésique, tonique et carminatifs pour traiter les douleurs musculaires, des troubles gastriques et intestinaux tels que : crampes, nausées et diarrhée (Kerbouche et al., 2013).

La tige feuillée de la sarriette est utilisée pour infuser le thé pour combattre la fièvre, la grippe, les douleurs gastriques et comme rafraichissant (Ech-chahad et al., 2013).

Grâce à leur agréable odeur semblable à celle de la menthe, de nombreuses espèces de *Satureja* sont utilisées comme épices dans diverses recettes culinaires (Božovic et Ringo, 2017).

I.4. Composition de la plante en métabolites

Les plantes renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**).

I.4.1. Métabolites primaires

Sont les molécules organiques qui existent dans toutes les cellules de l'organisme de la plante pour assurer sa survie et jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction incluant les acides aminés, les acides nucléiques, les oses et les protéines (**Epifano et al., 2007**).

I.4.2. Métabolites secondaires

Sont des molécules organiques complexes synthétisés indirectement par les plantes autotrophes (**Mohammedi, 2013**) et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement. Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**Epifano et al., 2007**).

Selon **Aref et Heded (2015)** il existe trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes : Les polyphénols ; les alcaloïdes et les terpènes.

I.4.2.1. Polyphénols

a. Définition et structure chimique des polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires constituent un groupe plus représenté et largement distribué dans le monde végétal. Avec plus de 8000 structures phénoliques, comprenant au moins un noyau aromatique (benzénique) (Figure 03) auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle (OH), libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétérosides) (**Bruneton, 2016**).

Ce sont des composés hydrosolubles, de poids moléculaire entre 500 et 3000 Da (**Yahfoufi et al., 2018; Kawabata et al., 2019**).

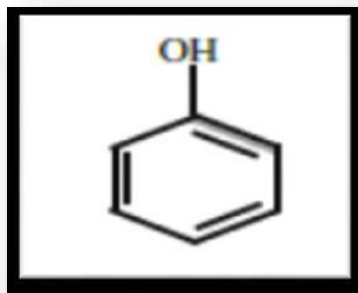


Figure 3 : Structure du noyau phénol (Collin et Crouzet, 2011).

b. Classification des polyphénols

➤ Flavonoïdes

Le terme flavonoïde est dérivé du mot « Flavus » en latin, qui signifie jaune (**Prochazkova et al., 2011**), sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils constituent un des plus vastes groupes de poly phénols naturels et présentent un large éventail d'activité biologique aussi bien chez les animaux que chez les végétaux (**Ritcher, 1993**).

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, le pollen, les fruits, les graines, le bois...etc. Ce sont des substances colorées responsables de la coloration de nombreux fruits, légumes, fleurs... etc (**Adrian et al., 1995**).

Ils assurent la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV et présentent un fort effet antioxydant et peuvent, par conséquent, prévenir des lésions produites par les espèces oxydatives (**Hadi, 2004**).

▪ Structure et classification des flavonoïdes

Sont des composés de faible poids moléculaire, représentées par 15 atomes de carbones arrangés comme suit : C6-C3-C6 composés de deux noyaux aromatiques A et B, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle C (Figure 4) (**Nagendran et al., 2006**).

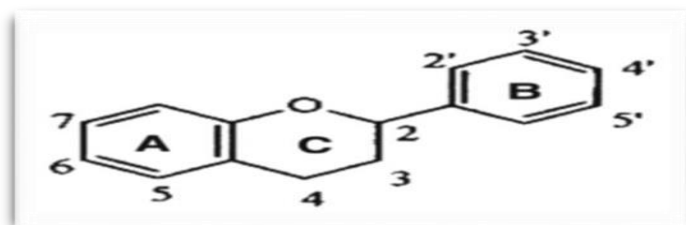


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

Ils peuvent être subdivisés en divers classes en fonction des modifications de l'hétérocycle C, dont les plus importants sont : les flavones, les isoflavanediols, les flavonols, les flavans 3-ols, les flavanones et les anthocyanidines (**Toubal, 2018**).

➤ Tannins

Le terme tannin dérivé de la capacité de tannage des peaux d'animaux en la transformant en cuir. Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al., 2006 ; Alkurd, 2008**). Ce sont des molécules hautement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et à de nombreux éléments minéraux (**Alkurd, 2008**).

Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (**Khanbabae et Ree, 2001**).

Les tannins sont classés en tannins hydroxylables et non hydroxylables ou condensés (Figure 5) (**Frutos et al., 2004**).

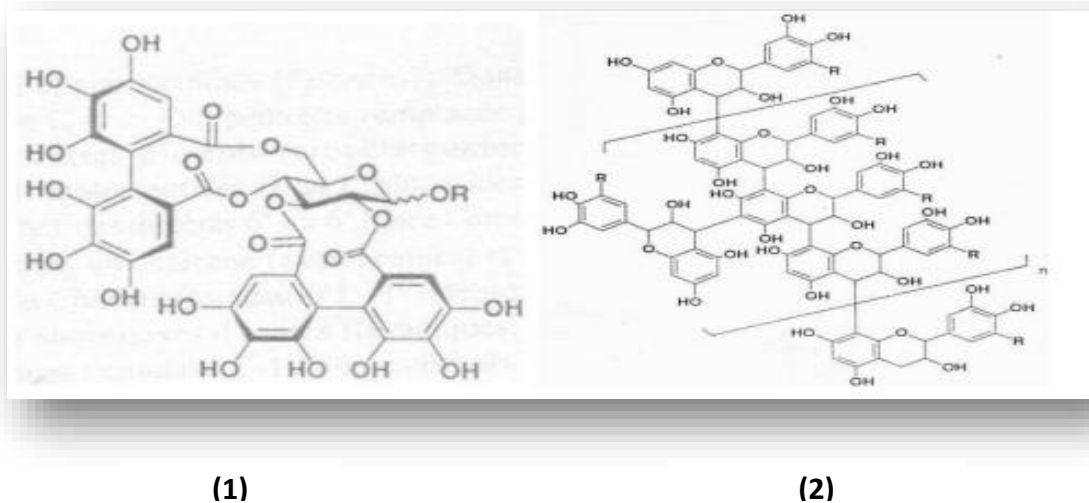


Figure 5 : Structures chimiques d'un tannin hydroxylable (1) et d'un tannin condensé (2) (**Sereme et al., 2010**).

➤ Lignine

C'est l'un des polymères biosources les plus abondants sur Terre, elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20% des tiges des plantes annuelles. C'est également le polymère aromatique naturel le plus abondant (**Privas, 2013**). Subissant les contraintes de la gravité, la lignine est apparue afin notamment de rigidifier les parois cellulaires (**Cruz et al., 2001**).

Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (Murry *et al.*, 1982).

➤ Saponine

La saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, car ces composés peuvent former une mousse persistante une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur aspect moussant en solution aqueuse.

Les saponines sont présentes dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins où ils auraient un rôle de défense contre des agents pathogènes (champignons, bactéries...) (Kone, 2008).

I.4.1.2. Alcaloïdes

Sont des substances organiques d'origine végétale et azotée à caractère alcalin, chimiquement ils sont constitués de C, H, O, N. Leur naissance est liée essentiellement aux acides aminés (Bruneton, 1999).

Ils peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, les racines, les feuilles ou les fruits (Harborne et Herbert, 1998). En général, les alcaloïdes sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires (Mamadou, 2011).

I.4.1.3. Terpénoïdes

Sont des molécules de faible poids moléculaire, volatiles, dérivés de l'isoprène (C_5H_8) (figure 6), et entrant dans la composition des huiles essentielles (Yarnell, 2007).

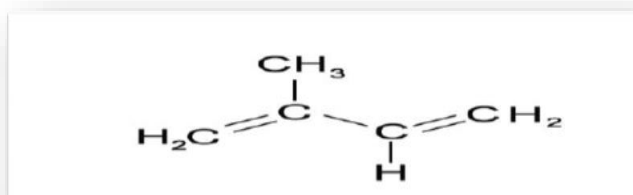
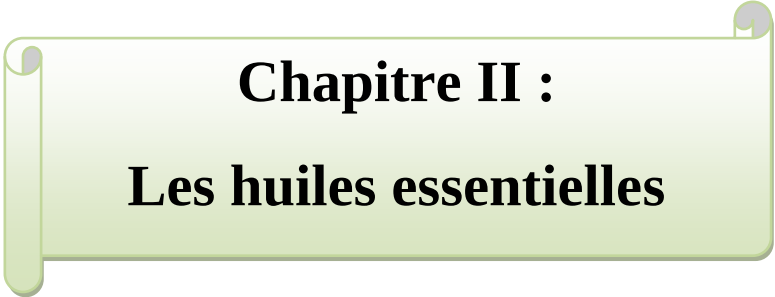


Figure 6 : Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia *et al.*, 2007).



Chapitre II :

Les huiles essentielles

II.1. Définition des huiles essentielle

Le terme huile essentielle (HE) est dérivé de « quinta essentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelse aux extraits de plantes obtenus par distillation, qui signifie le parfum et l'essence des plantes (**Hart et al., 2008**).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les HEs ne contiennent pas de corps gras (lipides) et ne sont pas "essentielle" au sens où elles sont nécessaires à la croissance ou au métabolisme. Ce sont des composés aromatiques volatils d'aspect huileux qui sont obtenus à partir de plantes aromatiques par divers procédés d'extraction. Elles sont solubles dans les lipides et les solvants organiques et possèdent une densité inférieure à celle de l'eau.

Elle peuvent être synthétisés par tout organe végétal (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines) et stockés dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires (**Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008**).

II.1.1. Localisation et répartition des HEs dans la plante

Les HEs sont largement répandue dans le règne végétal, certaines familles sont particulièrement riches (labiés).

La composition de l'essence varie d'un organe à l'autre. Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétoires isolées, mais elles se trouvent le plus souvent dans des organes sécrétoires : poches, canaux et poils (**Bruneton, 1999**).

II.1.2. Rôle des huiles essentielles

La biodiversité moléculaire des métabolites contentant dans les HEs, leur confère de différents rôles et propriétés biologiques (**Toure, 2015**).

Parmi les rôles principaux de ces huiles essentielles :

- Elles sont un moyen de défense contre les prédateurs (microorganismes, insectes, champignons etc....) (**Dudareva et Pichersky, 2008**).
- Elles pourraient être des sources d'énergie lorsque l'activité de photosynthèse n'est plus suffisante (**Figueredo, 2007**).
- Certains de ses composés jouent un rôle dans la relation des plantes avec leur environnement (**Nicholas, 1973**).
- La volatilité et l'odeur marquée de ces HEs en font des éléments de la communication chimique (**Bruneton, 1999**).
- Les constituants des HEs protégeant la plante contre les agents atmosphériques (**Lutz, 1940**).

- Elles interviennent dans les interactions végétaux-animaux en constituant un langage chimique (**Salle, 1991**).

II.1.3. Propriétés physico-chimique

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène, leurs principales caractéristiques sont :

- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (**Bernard et al., 1988 ; Bruneton, 2009**).
- Elles sont liquides à température ambiante ;
- Les huiles essentielles sont volatiles. C'est ce qui les rend entraînables à la vapeur et particulièrement odorantes ;
- Les couleurs des huiles essentielles sont très variables, mais la plupart de ces HEs ont une couleur jaune presque imperceptible ;
- La densité des huiles essentielles est très souvent inférieure à 1 « $d < 1$ » ;
- L'indice de réfraction est généralement très élevé ;
- Les essences sont lipophiles et donc très peu solubles dans l'eau en général. Leur solubilité est totale dans les alcools à titres élevés et dans les solvants organiques ;
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de Composés asymétriques (**Franchomme, 2015 ; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**).

II.1.4. Composition des huiles essentielles

Selon **Guenter (1975)**, les huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexes, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles qui appartiennent de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- Le groupe de terpénoïdes.
- Le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

II.1.4.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée : isoprène (**Lakhdar, 2015**).

Selon le nombre répétitif de cette unité (isoprène) sont classés les terpènes (tableau 2) (**McGarvey et Croteau, 1995**).

Tableau 2 : classification des terpènes (McGarvey et Croteau, 1995).

Classes	Formule brute	N° d'isoprène
Monoterpène	$C_{10}H_{16}$	2
Sesquiterpène	$C_{15}H_{24}$	3
Diterpène	$C_{20}H_{32}$	4
Sesterpène	$C_{25}H_{40}$	5
Triterpène	$C_{30}H_{48}$	6
Tétraterpène	$C_{40}H_{64}$	8
Polyterpène	$(C_5H_8)_n$	45-3000

Selon **Bruneton (1987)** seuls les terpènes les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas trop élevé (monoterpènes et sesquiterpènes) sont rencontrés dans la composition des huiles essentielles.

- **Les monoterpènes** : constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités « isopréniques » (C_5H_8) Ils peuvent être acyclique, monocyclique ou bi cyclique. Ils constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle. Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools phénols, éthers, cétones, ester.
- **Les sesquiterpènes** : ce sont des dérivées d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Cependant leur structure ainsi que leur fonction restent similaires à celles des monoterpènes.

II.1.4.2. Les composés aromatiques

Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine.

Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (**Sangwan et al., 2001**).

II.1.5. Voies de biosynthèse des HEs

Les composés des HEs peuvent être issus de trois voies métaboliques principales (figure 7).

- « La voie de l'acide mévalonique » est à l'origine de tous les terpènes ;
- « La voie de l'acide shikimique » conduit aux composés aromatiques ;
- « La voie de l'acide gras » conduit à la formation des composés aliphatiques qui sont généralement peu représentés dans les huiles essentielles (**Randrianarivelo, 2010**).

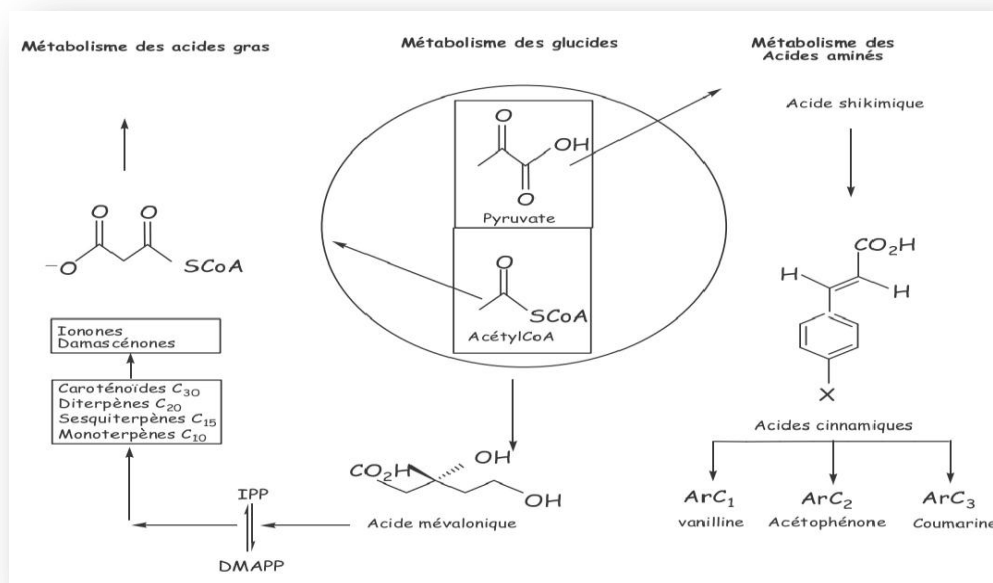


Figure 7 : Principales voies de biosynthèse des composés volatils (Bruneton, 1999).

II.1.6. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de haute qualité peuvent être conservées sous certaines conditions pendant plusieurs années, jusqu'à cinq ans. Seule l'essence d'agrumes reste plus courte (trois ans).

Les huiles essentielles sont volatiles, alors il faut bien refermer le flacon. Il est préférable de les conserver dans des flacons en aluminium ou en verre opaques (marron, vert ou bleu) et les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante allant jusqu'à 20 degrés (AFNOR, 2000).

II.1.7. Toxicité des huiles essentielles

Bien que d'origine naturelle, les huiles essentielles peuvent être nocives pour la santé. Il est ainsi important de connaître le produit, de le sélectionner selon des critères qualitatifs stricts (les produits de bonne qualité ne sont pas falsifiés, non contaminés par des pesticides), de respecter scrupuleusement les doses et de choisir le mode d'administration approprié pour éviter les effets secondaires, voire même des interactions avec d'autres médicaments. Ainsi, les huiles essentielles peuvent être sensibilisantes, photo sensibilisantes, cytotoxiques, irritantes, néphrotoxiques, hépatotoxiques, neurotoxiques...etc (Lakhdar, 2015).

II.1.8. Procède d'obtention des huiles essentielles

Il existe plusieurs façons d'extraire les huiles essentielles. Le choix de la méthode dépend de la nature de la plante, des propriétés physico-chimiques de l'huile à extraire et de l'utilisation de l'extrait. Quelle que soit la méthode utilisée, les étapes d'extraction sont similaires. Cependant, il est important d'extraire d'abord les molécules aromatiques qui forment l'huile essentielle du matériel végétal puis de séparer ces molécules du milieu par distillation (**Price et Price, 2004**).

II.1.8.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus courante pour extraire l'HE. Le procédé consiste à immerger le matériel végétal à traiter directement dans un alambic rempli d'eau puis à le faire bouillir mécaniquement à la vapeur (Figure 8). Le refroidissement par condensation conduit à la séparation du mélange eau-HE par décantation. Ainsi, par différences de densité, l'eau et les molécules volatiles sont séparées en une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique surnageante (HE) (**Bruneton, 1999**).

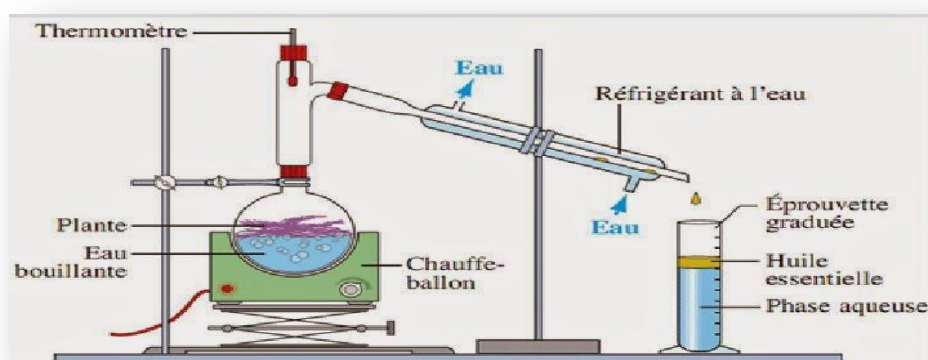


Figure 8 : Schéma du montage de la technique d'hydrodistillation (**Lucchesi, 2005**).

II.1.8.2. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur est l'une des méthodes officielles d'obtention des huiles essentielles. Contrairement à l'hydrodistillation, cette technique ne met pas l'eau en contact direct avec la matière végétale à traiter. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en phases aqueuse et organique (Figure 9). Cette approche améliore la qualité des huiles essentielles (**Boukhatem et al., 2019**).

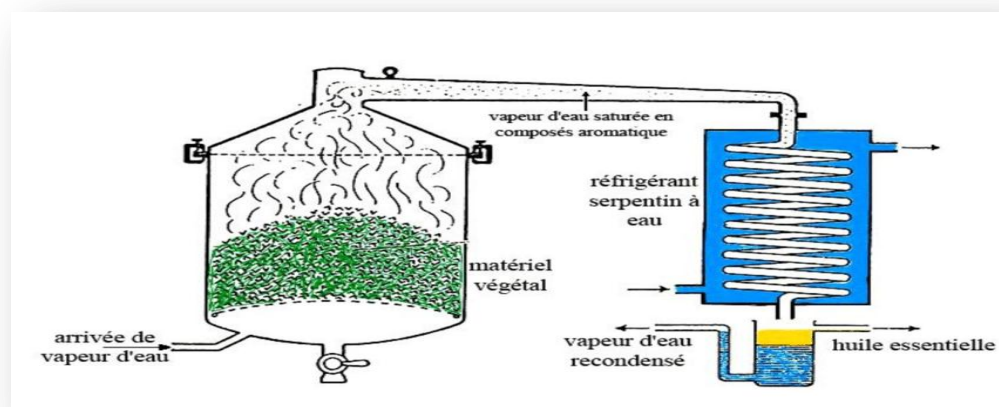


Figure 9 : Schéma du montage de la technique d'entraînement à la vapeur d'eau (El Haib, 2011).

II.1.8.3. Expression à froid

Cette méthode s'applique particulièrement pour les HE des agrumes (orange, mandarine, citron, pamplemousse..etc). Elle consiste à exercer sur les fruits une pression pour extraire les HEs présentes dans leur écorce. De nos jours, cette opération se fait au moyen des centrifugeuses (Aboughe et al., 2015).

Le produit final obtenu est appelé essence car il n'a subi aucune modification chimique lors de son procédé d'extraction (Baudoux et al., 2012).

II.1.8.4. Extraction par CO₂ supercritique

Le terme « Supercritique » signifie que le CO₂ se situe entre l'état liquide et gazeux sous pression et à une température de 31°C. Dans cet état, il est capable de dissoudre les huiles essentielles. Le matériel végétal est chargé dans l'extracteur, où est ensuite introduit le CO₂ supercritique sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite collecté dans un vase d'expansion à pression considérablement réduite. Le dioxyde de carbone s'évapore, ne laissant que l'huile essentielle, presque naturelle, sans trace de solvant. De plus, le CO₂ est non toxique, incolore, inodore et ininflammable, et présente donc d'excellentes conditions de sécurité (Baysal et Starmans, 1999).

II.1.8.5. Extraction par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes est une technique récente très rapide, peu consommatrice d'énergie, elle donne un produit supérieur au produit d'hydrodistillation ainsi que dans la plupart des cas des rendements élevés (Zlotorzynski, 1995). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes, ces derniers vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent

dans le solvant (non chauffé). Par filtrage l'extract et ensuite récupéré (Figure 10) (Ferhat et al., 2010).

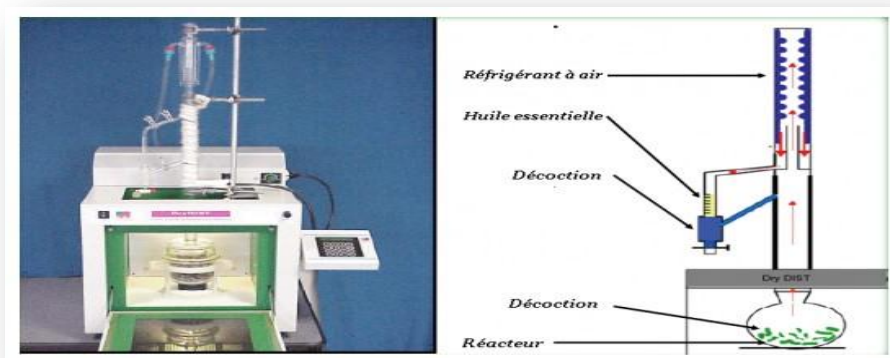


Figure 10 : Schéma du montage de la technique d'extraction par micro-onde (Boutamani, 2013).

II.1.9. Méthode d'identification des huiles essentielles

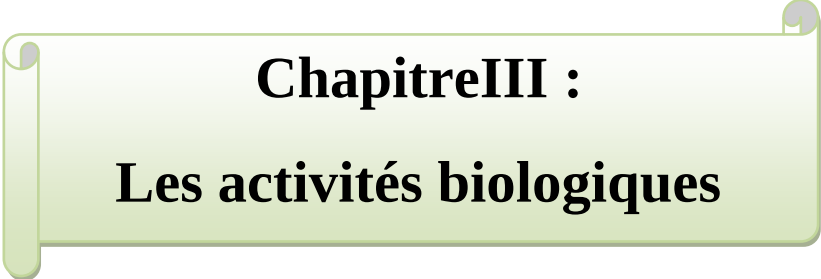
II.1.9.1. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse /Spectrométrie de masse (CPG /SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est la technique conventionnelle la plus couramment utilisée pour l'analyse des huiles essentielles.

Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons une molécule qui sera fragmentée, les différents fragments obtenus, chargés positivement constituent le spectre de masse de cette molécule. Très souvent, le spectre de masse est caractéristique d'une molécule donnée et, en théorie, il est donc possible d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux de composés de référence, contenu dans des bibliothèques de spectres informatisées commerciales (Adams, 2001).

Dans la pratique, l'utilisation conjointe de la spectrométrie de masse et des indices de rétention calculés sur deux colonnes de polarité différente en CPG, permet en général l'identification d'un grand nombre de constituants dans les mélanges complexes tels que les huiles essentielles (Lianga et al., 2004; Senatore et al., 2004).

Ce couplage permet dans la grande majorité des cas, de connaître la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (Carvalli, 2002).



ChapitreIII :

Les activités biologiques

III.1. Activité antioxydante

III.1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et la capacité de l'organisme à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003). Le stress oxydatif est une cause majeure de plusieurs maladies : le cancer, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les maladies rhumatismales et les maladies cardiovasculaires (Figure 11) (Favier, 2003).

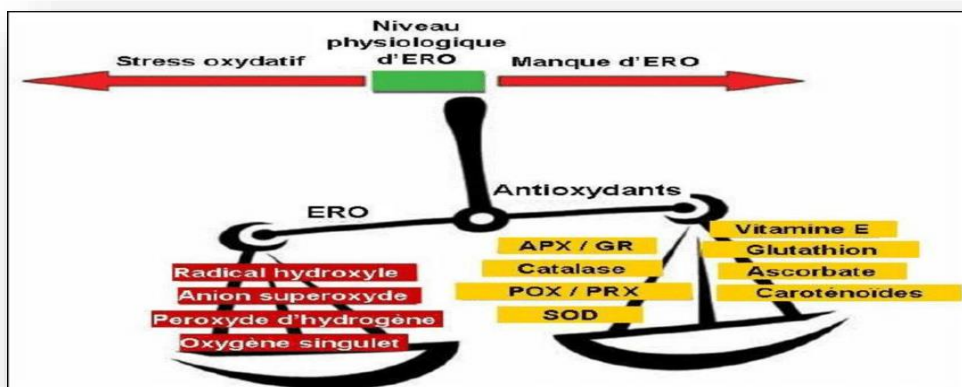


Figure 11: Balance oxydants /antioxydants (Ait Yahia, 2014).

III.1.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, contenant un ou plusieurs électron(s) libre(s) non appariés sur leurs couches externes. Cet état leur confère une instabilité, donc très réactifs et par conséquent, leur durée de vie est courte pour appairer leur électron (Figure 12) (Beckman et Ames, 1998).

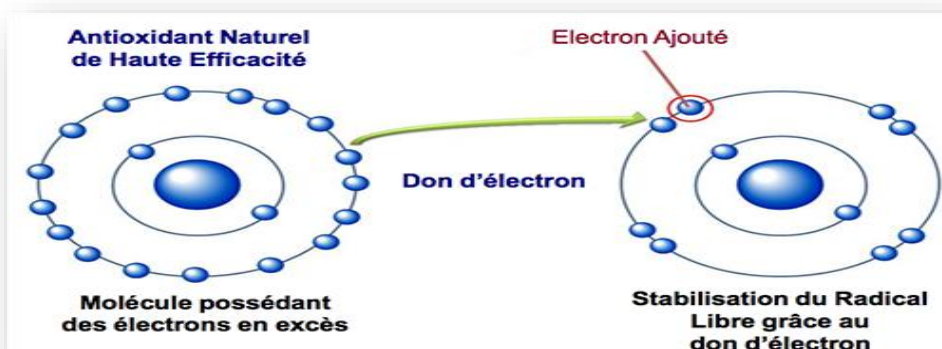


Figure 12 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Carange, 2010).

II.1.3. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs sont souvent appelés : espèces réactives de l'oxygène (**Merouane et al., 2014**). Les ERO peuvent être radicalaires ou non radicalaires qui signifie les dérivés oxygénés réactifs ne possédant pas d'électron célibataires (tableau 3) (**Migdal et Mireille, 2011**).

Tableau 3 : Exemples des principaux ERO (Migdal et Mireille, 2011).

Les ERO radicalaires	Les ERO non radicalaires
Anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$	Péroxyde d'hydrogène H_2O_2
Radical hydroxyle $OH^{\cdot}$	Acide hypochloreux $HOCl$

Les ERO sont une conséquence inévitable de la consommation d'oxygène moléculaire de l'organisme (**Kœchlin Ramonatxo, 2006**).

III.1.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont définis comme toute substance capable d'empêcher la formation de radicaux libres et d'inhiber ou de retarder leur oxydation à des concentrations relativement faibles (**Poljsak et al., 2013 ; Manisha et al., 2017**).

III.1.4.1. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent inactiver les ERO par deux réactions principales, le transfert d'électrons et le transfert d'hydrogène (figure 13). Il est à noter que ces deux réponses peuvent se produire simultanément et sont parfois difficiles à distinguer (**Prior et al., 2005**). Certains antioxydants, tels que la vitamine E, la vitamine C ou les caroténoïdes et les polyphénols fournis par les aliments, agissent en piégeant les radicaux libres et en capturant leurs électrons uniques et en les convertissant en molécules ou en ions stables. Les antioxydants de ce type connus sous le nom piégeur ou éboueur (**Favier, 2003**).

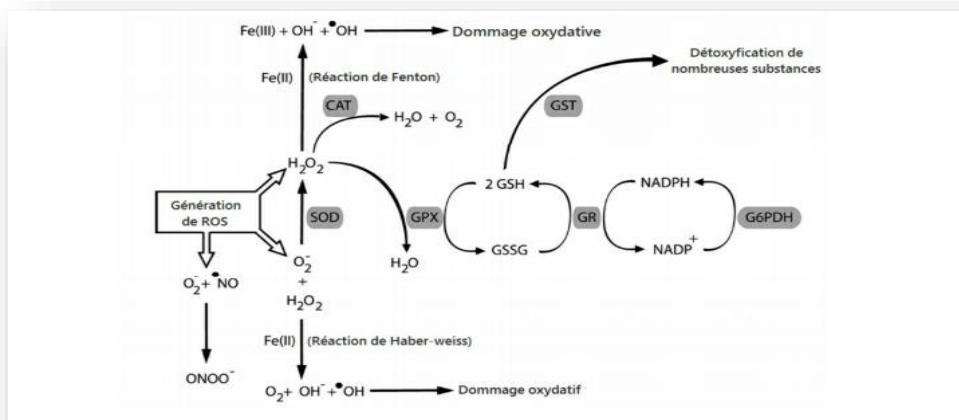


Figure 13 : Mécanisme d'action des antioxydants (Hermes-Lima, 2004).

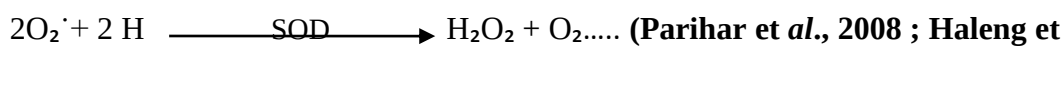
❖ Classification des antioxydants

III.1.4.2. Les antioxydants endogènes

➤ Superoxyde dismutase (SOD)

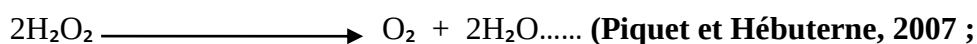
Ce sont des antioxydants endogènes de nature enzymatique (acide urique et bilirubine) et enzymatiques (superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx) (Birben *et al.*, 2012 ; Pisoschi et Pop, 2015). Ces enzymes sont présentes en permanence dans l'organisme, mais leur nombre diminue avec l'âge (Mika *et al.*, 2004).

Il convertit l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire par une réaction de dismutation, assurant ainsi l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$.



➤ Catalase

Particulièrement présent dans les globules rouges et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD car il agit pour accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène dans l'eau et l'oxygène moléculaire.



Parihar *et al.*, 2008).

➤ Glutathions peroxydases

C'est une enzyme située dans le cytosol mitochondrial. Son rôle est de réduire le peroxyde d'hydrogène en molécules d'eau d'une part et les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools d'autre part. Au cours de cette réaction, qui nécessite l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), il est transformé en disulfure de glutathion (GSSG).

$2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O} \dots\dots\dots$ (Marfak, 2003 ; Poston et Raijmakers, 2004).

$2\text{GSH} + \text{ROOH} \longrightarrow \text{GSSG} + \text{ROH} + \text{H}_2\text{O} \dots\dots\dots$ (Marfak, 2003 ; Parihar et al., 2008).

III.1.4.3. Les antioxydants exogènes

Proviennent de l'alimentation notamment des fruits et des légumes. Les plus importants sont les vitamines, les caroténoïdes, et les polyphénols (Poljsak et al., 2013 ; Manisha et al., 2017).

En raison de leur efficacité, de leur faible coût et de leur disponibilité, ils sont largement utilisés comme additifs dans les aliments pour prévenir le rancissement (tableau 4) (Wang et al., 2008).

Tableau 4 : Les principaux antioxydants exogènes et leurs sources alimentaires (Kœchlin-Ramonatxo, 2006).

Principaux antioxydants exogènes	Sources alimentaires
Vitamine C (Acide ascorbique)	Agrumes, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E (Alpha tocophérol)	Huile : de tournesol, de soja, de maïs. Beurre, œufs, noix
Carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poissons, œufs, viande, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tannins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, lactalbumine (petit-lait), produits laitiers, brocoli, chou, œufs, poisson, viande

III.2. Activité anti-inflammatoire

III.2.1. L'inflammation

Est un processus fondamental de défense de l'organisme dont le but est de neutraliser, de combattre ou d'éliminer l'agent pathogène (endogène ou exogène) et de préparer des tissus. Les signes de ce processus sont : chaleur, rougeur, douleur, gonflement (**Kumar et al., 2007**). L'inflammation peut être aigue ou chronique. La première est une réponse immédiate de courte durée, habituellement, elle disparaît spontanément ou avec un traitement. Toutefois, elle peut évoluer vers une inflammation chronique à laquelle plusieurs maladies peuvent être liées (**Roifman et al., 2011 ; Noack et al., 2018**).

III.2.2. Les Anti-inflammatoires

Un anti-inflammatoire est un médicament destiné à lutter contre l'inflammation. Il s'agit d'un groupe de médicaments destinés à traiter les réactions inflammatoires et les maladies qu'elles provoquent, telles que les manifestations rhumatismales, les fractures...etc (**Kindt et al., 2008**).

❖ Classification

Il existe deux types des anti-inflammatoires : anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) (figure14).

III.2.2.1. Anti inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Ont été utilisés avec succès pour soulager la douleur, la fièvre et l'inflammation, ce sont des médicaments avec leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Les AINS forment un groupe hétérogène de médicaments, mais ils ont en commun l'inhibition de la cyclooxygénase (**Bacchi et al., 2012**).

➤ Mode d'action

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont largement utilisés pour traiter la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrose et les douleurs (mal de dents, douleurs postopératoires). Le mécanisme d'action des AINS est l'inhibition de la cyclooxygénase (COX), une enzyme clé dans la biosynthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (Figure 14) (**Hameed et al., 2007**).

III.2.2.2. Anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS)

Il constitue une grande famille de médicaments dont le cortisol est le principal glucocorticoïde surrénalien (**Barnes, 1998**). Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol (**Han et al., 2007**). L'AIS représente le traitement le plus efficace pour les maladies

inflammatoires chroniques telles que la polyarthrite rhumatoïde et les maladies auto-immunes (Kessel et al., 2014).

➤ Mode d'action

Ils augmentent la production de la lipocortine, inhibant ainsi la phospholipase A2, donc la libération de l'acide arachidonique. Par contre ils diminuent fortement la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines, les ions superoxydes (Figure 14). Ils présentent plusieurs effets secondaires tels que : troubles gastro-intestinales (dyspepsie, ulcère), troubles rénaux (calcul)... etc (Diallo, 2005).

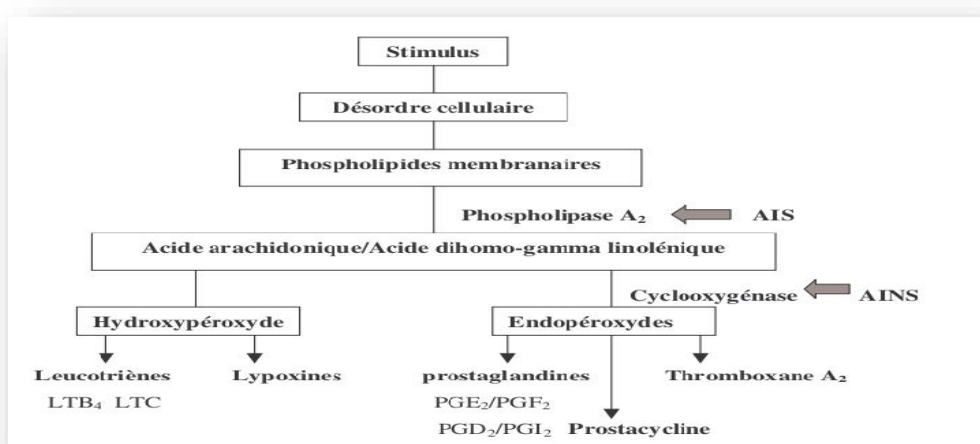


Figure 14 : Cascade arachidonique et mode d'action des anti-inflammatoires (Timbo, 2003).

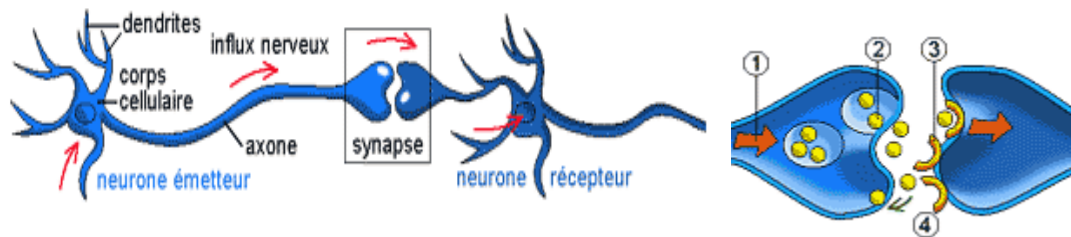
III.3.L'activité antispasmodique

Les antispasmodiques ou spasmolytiques sont des médicaments qui suppriment les spasmes. Le spasme est un ensemble de phénomène où coexiste une contraction intense et durable des fibres musculaires lisses des organes creux associée à la douleur. Les antispasmodiques vont donc relâcher les fibres musculaire lisse et une disparition de la douleur. Les organes concernés sont les fibres musculaires lisses génitales, urinaires, bronchiques et digestives (Tiendrebeogo, 2012).

III.3.1.Antispasmodique neutropes

Ce sont des antagonistes de l'acétylcholine au niveau des récepteurs muscariniques, le chef de file est l'atropine. Ils agissent au niveau nerveux en bloquant les récepteurs de l'acétylcholine, un neurotransmetteur du système nerveux parasympathique.

En bloquant l'action de l'acétylcholine au niveau de la synapse, on bloque la transmission de l'influx nerveux d'un neurone à l'autre et donc l'action du système nerveux parasympathique (Figure15) (Tiendrebeogo, 2012).



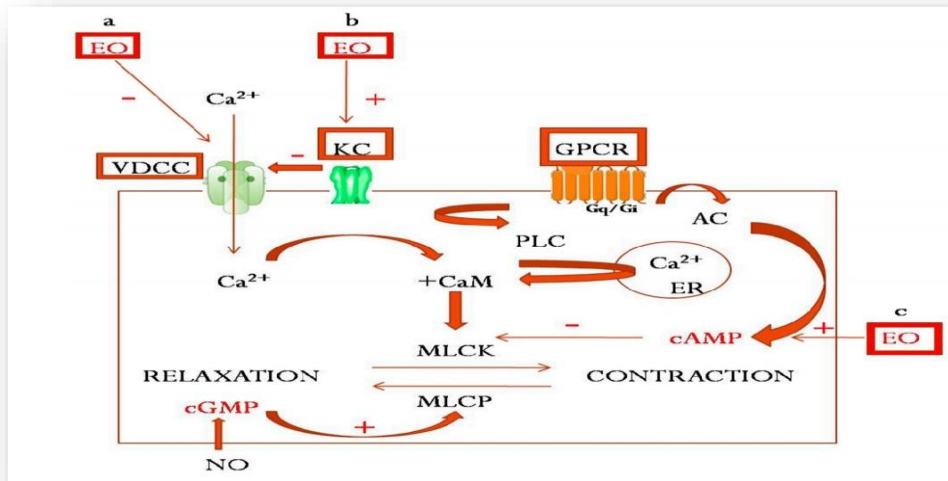
- 1- arrivée de l'influx nerveux ; 2- libération d'acétylcholine dans la synapse
3- récepteur cholinergique activé = influx ; 4- recapture et/ou destruction de l'acétylcholine.

Figure 15 : Mode d'action des antispasmodiques neurotropes (www.doctissimo.fr).

III.3.2. Antispasmodiques musculotropes

Les antispasmodiques musculotropes agissent directement au niveau du muscle lisse, élément clé présent dans les structures internes de plusieurs organes abdominaux, y compris l'estomac, les intestins, la vessie ou l'utérus, recevant l'innervation du système nerveux autonome, ainsi que des stimuli autocrines ou paracrines. Récemment, d'énormes progrès ont été réalisés dans la compréhension détaillée de la physiologie complexe de la contraction des muscles lisses.

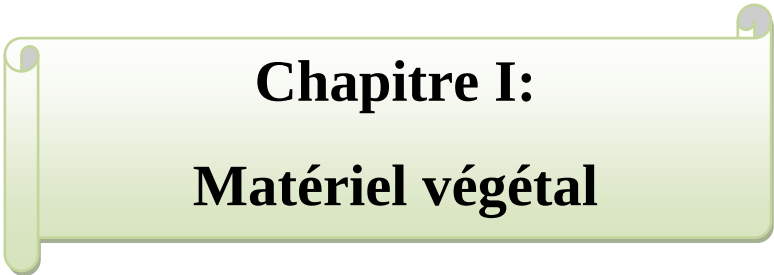
Le couplage excitation-contraction se produit lorsque les ions Ca^{2+} pénètrent du côté extracellulaire dans le muscle lisse. Les cellules musculaires via les canaux calciques voltage-dépendants du sarcolemme, étant également libérés des réserves intracellulaires via le récepteur de l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3R) situé sur le réticulum endoplasmique (ER) (figure16). La libération de calcium de l'ER est déclenchée par la liaison d'agonistes comme l'acétylcholine ou l'histamine sur des récepteurs spécifiques couplés aux protéines G (GPCR) de la membrane des cellules musculaires lisses, qui activent la phospholipase-C (PLC) pour générer IP3. Après l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium, les ions Ca^{2+} se lient à la calmoduline (CaM) et phosphorylent la kinase de la chaîne légère de la myosine (MLCK) avec l'activation subséquente de l'appareil contractile (Heghes et al., 2019).



a-Inhibition des canaux calciques voltage dépendants(VDCC) ; **b-**Modulation des canaux potassiques ; **c-**Modulation du cAMP (Adénosine monophosphate cyclique) intracellulaire.

Figure 16 : Principaux mécanismes de l'effet antispasmodique des huiles essentielles (Heghes et al., 2019).

Deuxième partie :
Partie expérimentale



Chapitre I:

Matériel végétal

Notre étude a été effectuée au laboratoire de Biochimie appliquée de l'université de M'hamed Bougara Boumerdes ainsi qu'au niveau de laboratoire des substances naturelles et celui de pharmacologie du Centre de Recherche et de Développement (CRD) Saidal, Gué de Canstantine, Alger.

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel non biologique

Ce travail a nécessité un ensemble d'appareils, des réactifs chimiques et des verreries qui sont illustrés dans l'annexe 1.

I.1.2. Matériel biologique

I.1.2.1. Matériel animal

On a réalisé la partie expérimentale sur des souris BALB /c mâles et femelles pesant en moyenne 20 ± 2 g obtenus de l'Institut Pasteur d'Algérie.

➤ **Condition d'hébergement**

Les souris sont placées dans des cages en plastiques recouvertes d'une grille en acier inoxydable, munis de biberons avec une couche de sciure déposé au fond quelques jours avant le début de l'étude pour leur permettre de s'acclimatent aux conditions du laboratoire (température ambiante de 25°C à 30°C, disposé à un cycle de 12 heures de lumière et de 12 heures à l'obscurité) (figure 17).

➤ **Régime alimentaire**

Les souris sont nourries avec une alimentation des granulés (Mais, Son, Remoulage et Soja). Ils reçoivent de l'eau du robinet.



Figure 17 : Nourriture et hébergement des souris BALB/c

I.1.2.2. Matériel végétal

Le matériel utilisé dans la partie expérimentale est les parties aériennes de la plante *Satureja calamintha* (Figure 18).



Plante fraîche



Plante sèche



Plante broyée

Figure 18 : Photo de la plante fraîche, sèche et broyée

- **Récolte**

Notre plante a été récoltée dans la région de Jijel durant le mois de mars 2022.

- **Séchage**

Le séchage de la plante *Satureja calamintha* a été réalisé à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité, pendant 10 jours dont le but est de diminuer la teneur en eau.

- **Broyage**

Après que la plante est devenue sèche, elle est broyée dans un broyeur électrique jusqu'à l'obtention presque d'une poudre végétale.

- **Conservation**

La poudre a été conservée dans des flacons en verre hermétiquement fermés jusqu'à le temps de son utilisation.

I.2. Méthodes

Les étapes de présent travail sont illustrées dans le diagramme suivant (figure 19).

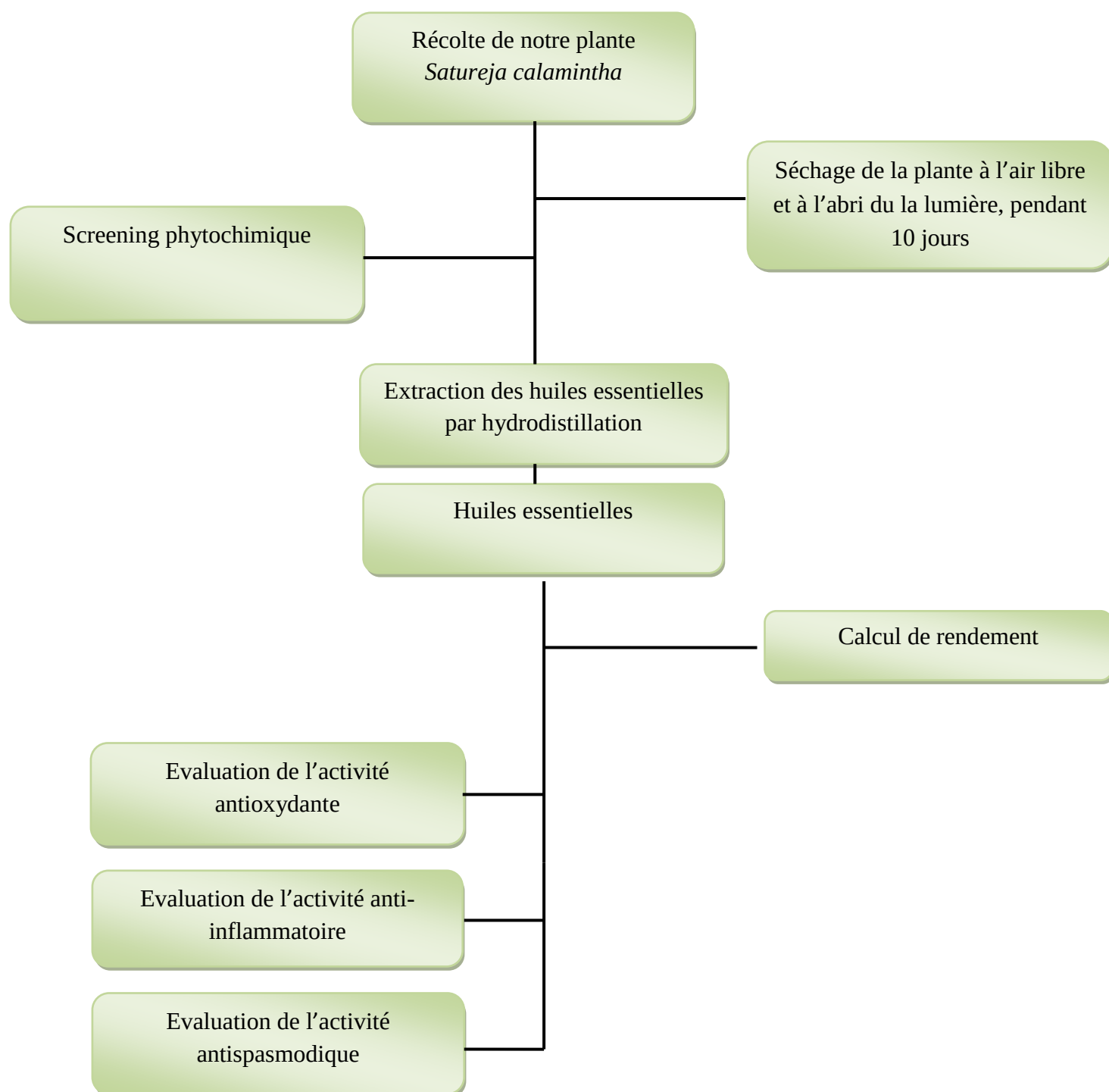


Figure 19 : Schéma récapitulatif de différentes étapes d'extraction ainsi l'évaluation de quelques activités biologiques sur l'huile essentielle de *Satureja calamintha*.

I.2.1. Screening phytochimique

C'est un ensemble des tests biochimiques qui permet de détecter des différentes familles de métabolites secondaires des plantes par des réactions qualitatives.

Ces réactions basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (**Bouterafas et al., 2014**).

I.2.1.1 Préparation de la plante

La préparation de l'infusé, décoctât et l'extrait éthanolique a été réalisée selon le protocole de **Brunetton (1999)**.

- **Préparation de l'infusé**

On met 10 g de la poudre végétale dans un bécher avec 100 ml d'eau bouillante pendant 3 min le mélange obtenu a été filtré pour obtenir un infusé à 10 %.

- **Préparation de décoctât**

On met 10 g de la poudre végétale dans un bécher avec 100 ml d'eau distillée, puis le mélange est porté à ébullition pendant 15min, après refroidissement le mélange est filtrer pour obtenir un décoctât.

- **Préparation de l'extrait éthanolique (macérât)**

Dans un erlenmeyer, 20 g de la poudre végétale a été mis avec 200 ml d'éthanol, puis on couvre l'erlenmeyer par un papier d'aluminium, on le laisse en repos pendant 24 h, ensuite on filtre pour obtenir in extrait éthanolique.

I.2.1.2. Recherche des métabolites secondaires

- **Recherche des flavonoïdes**

On ajoute quelques coupons de magnésium et quelque gouttes d'HCl concentré à 1 ml de l'infusé à 10 %. La coloration rose-rouge indique la présence des flavonoïdes (**Hadouchi et al., 2016**).

- **Stérols et terpènes**

5ml de l'infusé à 10 % est mélangé avec 2ml de chloroforme, puis 2 ml de H₂SO₄ concentré a été ajouté. L'apparition d'une interphase entre deux phases en présence des terpènes et stérols (**Edeoga et al., 2005**).

L'ensemble des métabolites secondaires mentionnés ci-dessous ont été caractérisés selon les protocoles décrits par **Brunetton (1999)** :

- **Les anthocyanes**

On ajoute 10 gouttes d'ammoniaque à 5 ml de l'infusé à 10 %. La couleur bleu-verdâtre indique la présence des anthocyanes.

- **Les leuco-anthocyanes**

On introduit 2 g de la poudre végétale dans 20 ml d'un mélange propanol /acide chlorhydrique (V /V), puis on le place dans un bain marie à 100°C pendant quelques minutes. L'apparition de la couleur rouge indique la présence des leuco-anthocyanes.

- **Recherche des tannins totaux**

On ajoute quelques gouttes de FeCl_3 (5%) à 5 ml de l'infusé à 10 %. La réaction donne une coloration bleu noir ou verdâtre en présence des tannins.

- **Recherche des tannins catéchiques**

1 ml de HCl sont ajoutés à 5 ml de l'infusé à 10 %, puis on place le mélange dans un bain-marie à 80 °C pendant 30 min. L'apparition d'un précipité rouge indique la présence des tannins catéchiques.

- **Recherche des tannins galliques**

Dans une fiole, on introduit 5 ml de l'infusé avec 2 g d'acétate de sodium, puis 3 g de FeCl_3 à 1% ; après agitation une couleur bleu-noirâtre s'apparaître en présence des tannins galliques.

- **Recherche des quinones libres**

2 g de la poudre sont mélangés avec 2 ml d'acide chlorhydrique (1N) et 20 ml de chloroforme. La solution est laissée en repos environ 3 h, puis on filtre le mélange et on l'agite avec 5 ml d'ammoniaque à 50 %. L'apparition d'une coloration rouge en présence des quinones.

- **Recherche des composés réducteurs**

1 ml de l'infusé à 10 % est traité avec 2 gouttes de réactif de Fehling (Annexe 2) puis on ajoute 2 ml d'eau distillée (avec chauffage). Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique.

- **Oses et holosides**

On mélange 1 ml du décoctât avec 5 ml de l'éthanol. Cette réaction donne un aspect floconneux en présence des oses et holosides.

- **Recherche des alcaloïdes**

2 ml d'acide chlorhydrique sont ajoutés à 5 ml de l'infusé à 10 % ensuite on rajoute 1 ml de réactif de Drangendroff (Annexe 2).

L'observation d'un précipité rouge ou orange indique la présence des alcaloïdes.

- **Recherche des coumarines**

On ajoute 0,5 ml de l'ammoniaque à 25 % à 5 ml de l'infusé à 10 %. L'apparition d'une fluorescence sur une lampe UV à 365 nm indique la présence des coumarines.

- **Recherche des saponines**

On introduit un peu d'eau distillée à l'infusé à 10 %, après une forte agitation et repos pendant 15 min, on observe une mousse qui indique la présence de saponines.

- **Recherche des glycosides cardiaques**

On ajoute 0,5 ml d'extrait éthanoïque avec 5 ml d'eau distillée, puis 2 ml d'acide acétique contenant quelques gouttes de chlorure ferrique et 1ml de H₂SO₄ concentrés sont ajoutés. La formation d'un anneau à l'interface indique la présence des glycosides cardiaques.

I.2.2. Méthode d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

L'extraction a été réalisée en utilisant la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (figure 20).



Figure 20 : Photo dispositif d'hydrodistillation

Dans un ballon de 2 L, on introduit une quantité de 100 g de la poudre de notre plante *Satureja Calamintha*, puis on remplit le ballon avec un volume de deux tiers (2/3) d'eau, le ballon est ensuite porté à l'ébullition environ 3 heures, on réglant tout d'abord la température de chauffe ballon au maximum jusqu'à le contenant du ballon bouille puis on diminue la température au moitié ce qui provoque l'éclatement des cellules végétales et le dégagement de la vapeur qui passe et se condense par le réfrigérant, le liquide résultant a été recueilli dans

une ampoule à décanter où s'effectue deux phases hétérogènes dont l'hydrolat (l'eau) et l'huile essentielle, cette dernière a été récupérée dans un flacon opaque.

Le diagramme suivant (figure 21) résume le protocole expérimental d'extraction de l'HE de *Satureja calamintha* :

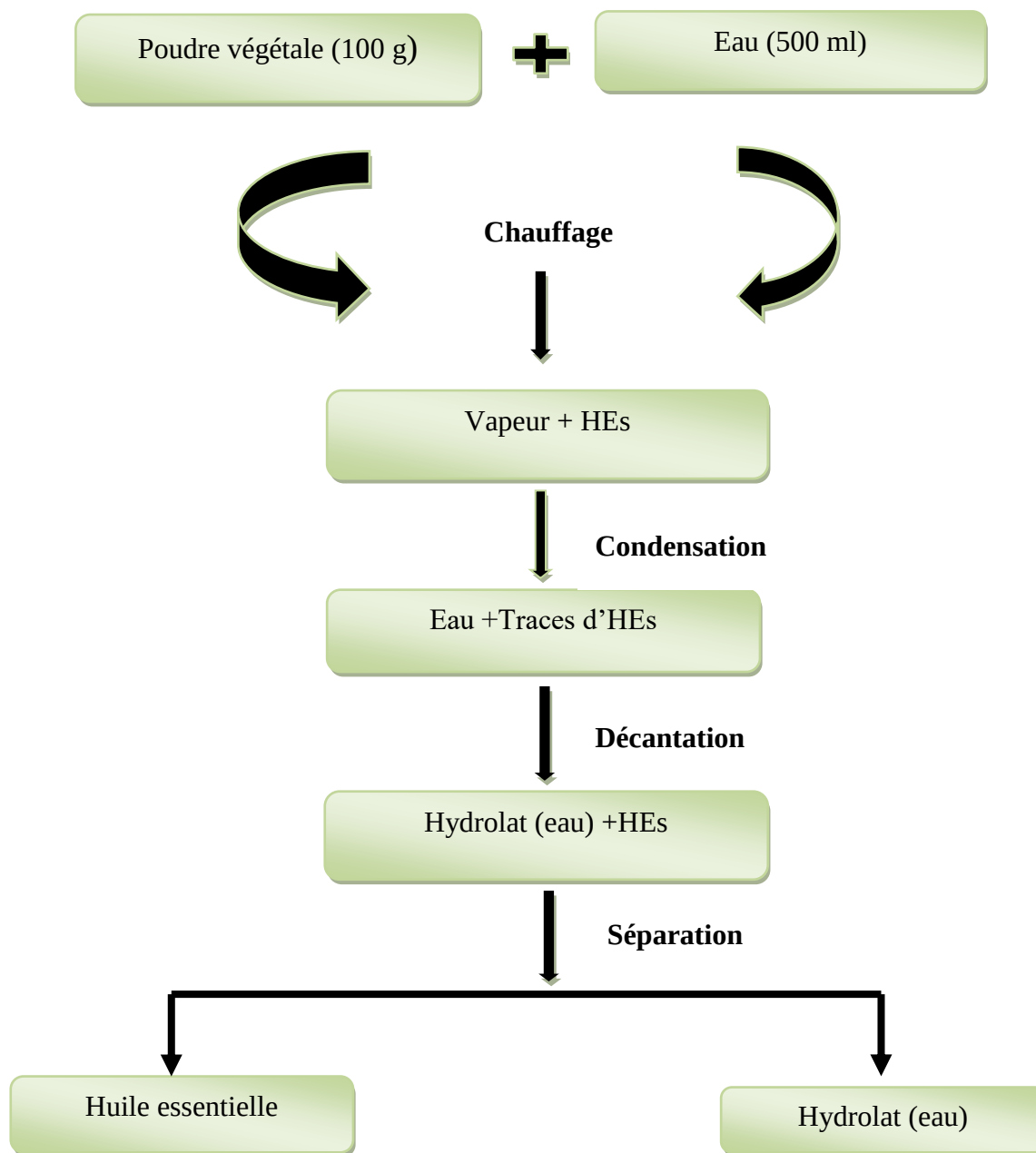


Figure 21 : Diagramme représentant le protocole d'extraction par hydrodistillation de la plante *Satureja calamintha*.

I.2.2.3. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport en pourcentage entre la masse de l'huile essentielle récupérée (g) et la masse de la matière végétale sèche (g) (AFNOR, 1986).

- **Mode de calcul**

Le rendement en HE est donné par la relation suivante :

$$R = (Me/Ms) \times 100$$

- R : Rendement en HE (%).
- Me : Masse de l'HE (g).
- Ms : Masse de la matière sèche (g).

➤ **Conservation**

L'huile essentielle a été récupérée dans des flacons opaques, puis conservée au réfrigérant à 4°C.

I.2.3. Evaluation des activités biologiques

I.2.3. 1. Evaluation de l'activité antioxydante de l'HE

➤ **Le piégeage du radical libre DPPH**

L'étude de l'activité antioxydante des HEs des parties aériennes de *Satureja calamintha* porte sur le piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

- **Principe**

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorbance spectral à 517 nm. En présence d'antioxydants, l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit la décoloration de DPPH du violet foncé (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduite DPPH-H). Cette décoloration est due à la capacité d'échantillon de piéger ce radical (figure 22) (Ramadan, 2010).

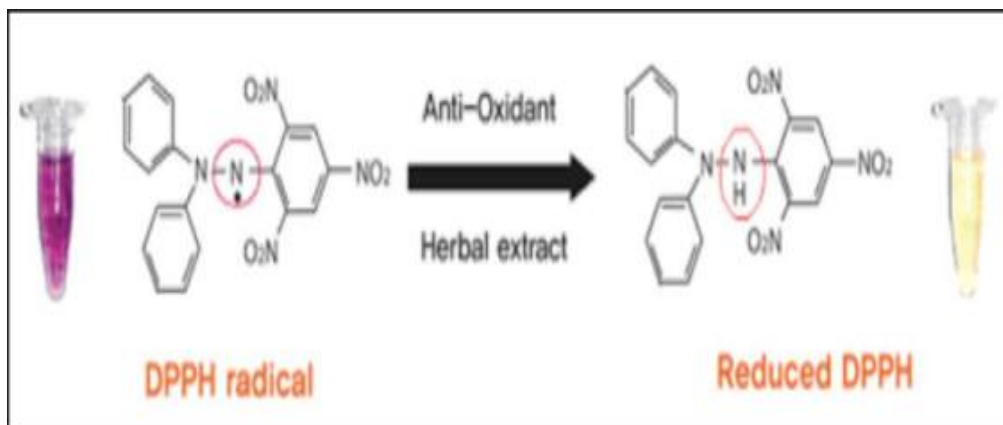


Figure 22 : Réduction du radical (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) (Boubaker, 2012).

- **Mode opératoire**

- **Préparation de la solution de DPPH et les dilutions de l'huile essentielle**

La solution de DPPH a été préparée dans une fiole jaugée de 50 ml par dissolution de 1,2 mg de DPPH par 50 ml d'éthanol, le mélange ainsi obtenu est agité pendant 2 h puis incubé à une température ambiante et à l'obscurité.

On prépare une gamme de différentes concentrations de l'huile essentielle :

- **Mode opératoire**

Dans chaque tube de dilution déjà préparée, 50 µl de l'HE sont ajoutés à 1950 µl de solution éthanolique de DPPH. Après agitation, le mélange réactionnel est incubé dans l'obscurité pendant 30 min à la température ambiante. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre contre le blanc qui est constitué de 2 ml de méthanol.

Le control positif est présenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique (vitamine C) dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon test.

- **Expression de résultats**

Le pourcentage de réduction de radicaux libres de DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition} = \frac{(\text{Abs de control} - \text{Abs d'échantillon})}{\text{Abs de control}}$$

- Abs de control : Absorbance du control (solution de DPPH sans HE).
- Abs d'échantillon : absorbance du DPPH en présence d'HE.

➤ **Détermination de concentration inhibitrice de 50 % des radicaux (IC₅₀)**

Elle est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50 % des radicaux. Elle obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant (**Kerbouche, 2016**).

I.2.3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

➤ **Principe**

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

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

➤ **Mode opératoire**

• **Dilution de l'HE**

1 ml de l'HE de *Satureja calamintha* est introduit dans une éprouvette de 10 ml et on complète jusqu'à 10 ml par l'eau physiologique.

• **Préparation des lots**

Durant cette activité, on a travaillé avec quatre lots de 5 souris chacun (figure 23) qui ont maintenu à jeun pendant 18 h avant le début de l'expérience.

- ❖ Un lot témoin.
- ❖ Un lot de référence : Diclofénac (2,5 mg /kg).
- ❖ Un lot essai 1 : dilution 1/20 (277,7 mg /kg) de l'HE.
- ❖ Un lot essai 2 : dilution 1 /30 (27,7 mg/kg) de l'HE.



Figure 23 : photo originale de quatre lots.

➤ **Administration de l'HE et l'injection de carragénine**

○ **Au temps T₀**

On a administré aux 4 lots les suspensions suivantes (figure 24).

- ❖ Lot témoin : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'eau physiologique (0.9 % P/V).
- ❖ Lot essai de référence : chaque souris reçoit 0,5 ml du produit de référence (Diclofénac) à la dose de 2,5 mg/kg.
- ❖ Lot essai 1 : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'HE de *Satureja calamintha* à la dose 277,7 mg/kg (1/20).
- ❖ Lot essai 1 : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'HE de *Satureja calamintha* à la dose 27,7 mg/kg (1/30).



Figure 24 : Gavage des souris

○ **Au temps T₀ +30 min**

On a injecté la solution de carragénine à 1 % sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0,025 ml à tous les animaux mis en expérience (figure 25).



Figure 25 : Injection de carragénine.

○ **Au temps $T_0 + 4$ h**

Les souris de chaque lot ont été sacrifiées par rupture de la nuque (figure 26). Puis, On a coupé les pattes postérieures à hauteur d'articulation et on les pesé sur une balance analytique (figure 27).



Figure 26 : Sacrifice des animaux.



Figure 27 : Coupage des pattes.

Le diagramme suivant résume le protocole expérimental suivi pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire (figure 28).

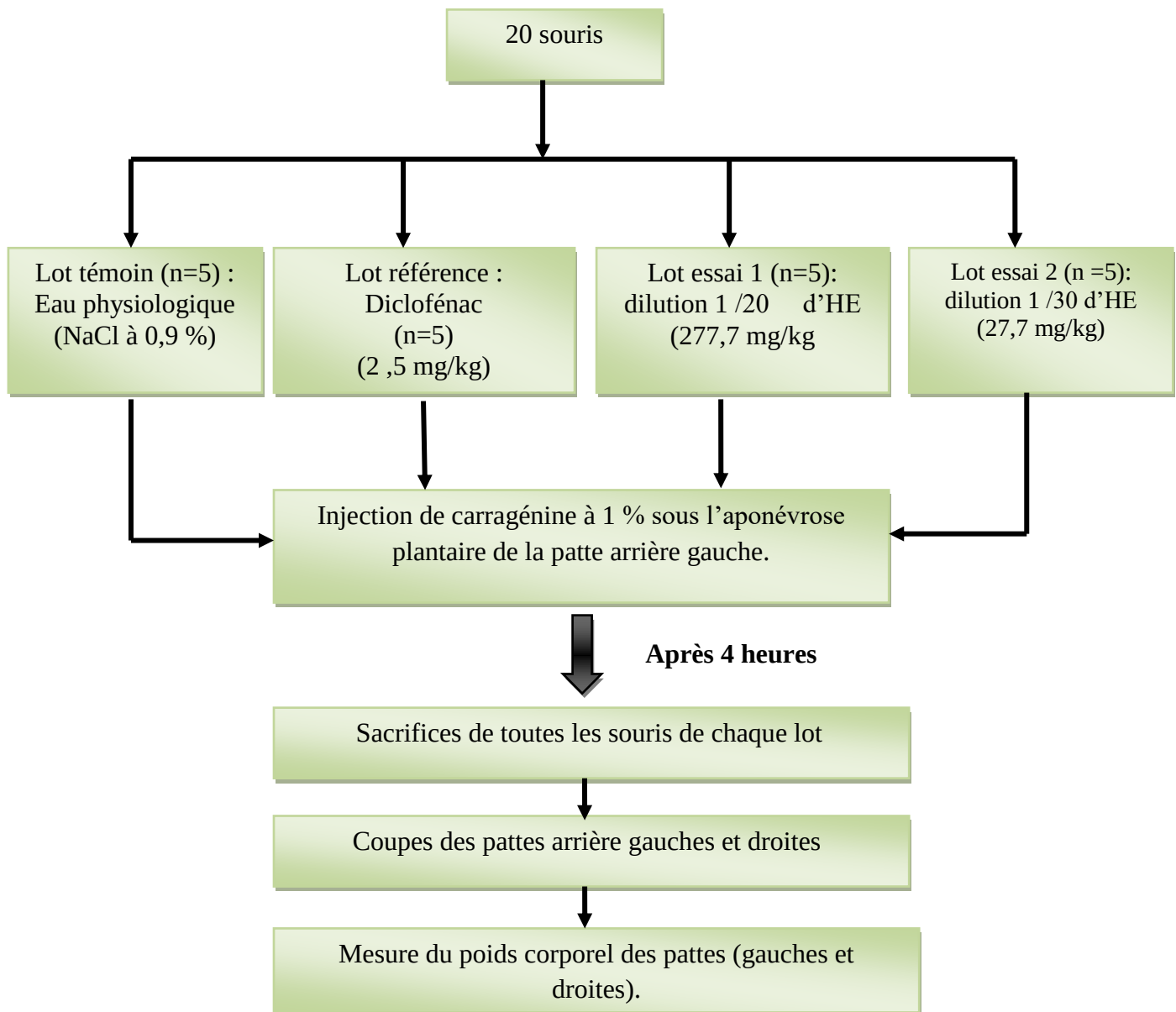


Figure 28 : Diagramme récapitulatif présentant le protocole suivi dans l'activité anti-inflammatoire

➤ **Expression de résultats**

○ **Calcul du pourcentage d'augmentation d'œdème**

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination du pourcentage d'œdème. Le calcul a été effectué comme suit :

$$\% \text{ d'augmentation d'œdème} = \frac{(PG - PD)}{PD} * 100$$

- PG : Le poids des pattes postérieurs gauches.
- PD : le poids des pattes postérieurs droites.
- **Calcul du pourcentage d'augmentation d'œdème**

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée grâce au calcul du pourcentage d'inhibition ou de réduction de l'œdème selon la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction} = \frac{\% \text{ d'augmentation d'œdème T} - \% \text{ d'augmentation d'œdème E}}{\% \text{ d'augmentation d'œdème T}} \times 100$$

- T: Témoin
- E : Essai

I.2.3.3. Evaluation de l'activité antispasmodique

➤ Principe

L'injection de l'acide acétique par voie intra péritonéale chez la souris provoque une réaction douloureuse.

Cette douleur se manifeste par des mouvements de torsion de l'abdomen, avec étirement des pattes postérieures (crampes), qui peut être réduite par un produit antispasmodique.

Cette étude permet de comparer la réduction du nombre de crampes après administration de doses égales de produit antispasmodique et du produit de référence correspondant (**Vogel et Vogel, 1997**).

➤ Mode opératoire

• Dilution de l'HE

1 ml de l'HE de *Satureja calamintha* est introduit dans une éprouvette de 10 ml et on complète jusqu'à 10 ml par l'eau physiologique.

• Préparation des lots

Durant cette activité, on a travaillé avec quatre lots de 5 souris chacun, qui ont maintenu à jeun pendant 18 h avant le début de l'expérience.

- ❖ Un lot témoin.
- ❖ Un lot de référence : 500 mg /kg de Paralgon.
- ❖ Un lot essai 1 : dilution 1/20 (277,7 mg /kg) de l'HE.
- ❖ Un lot essai 2 : dilution 1 /30 (27,7 mg/kg) de l'HE.

➤ **Administration de l'HE et injection de l'acide acétique**

○ **Au temps T_0**

On a administré aux 4 lots les suspensions suivantes (figure 29).

- ❖ Lot témoin : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'eau physiologique (0,9 % P/V).
- ❖ Lot essai de référence : chaque souris reçoit 0,5ml du produit de référence (Paralgon) à la dose de 500 mg/kg.
- ❖ Lot essai 1 : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'HE de *Satureja calamintha* à la dose 277,7 mg/kg (1/20).
- ❖ Lot essai 1 : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'HE de *Satureja calamintha* à la dose 27,7 mg/kg (1/30).



Figure 29 : Gavage des souris

○ **Au temps $T_0 + 30$ min**

Toutes les souris reçoivent 0,2 ml de la solution d'acide acétique à 1 % par voie intra-péritonéale (figure 30).



Figure 30 : Injection de l'acide acétique.

- **Au temps $T_0 + 35$ min**

On fait le comptage de crampes par observations directe des souris séparées

Chacune dans une cage. La durée d'observation est de 10min (figure 31).



Figure 31 : Observation de spasme.

Le diagramme suivant résume le protocole expérimental suivi dans l'activité antispasmodique (figure 32) :

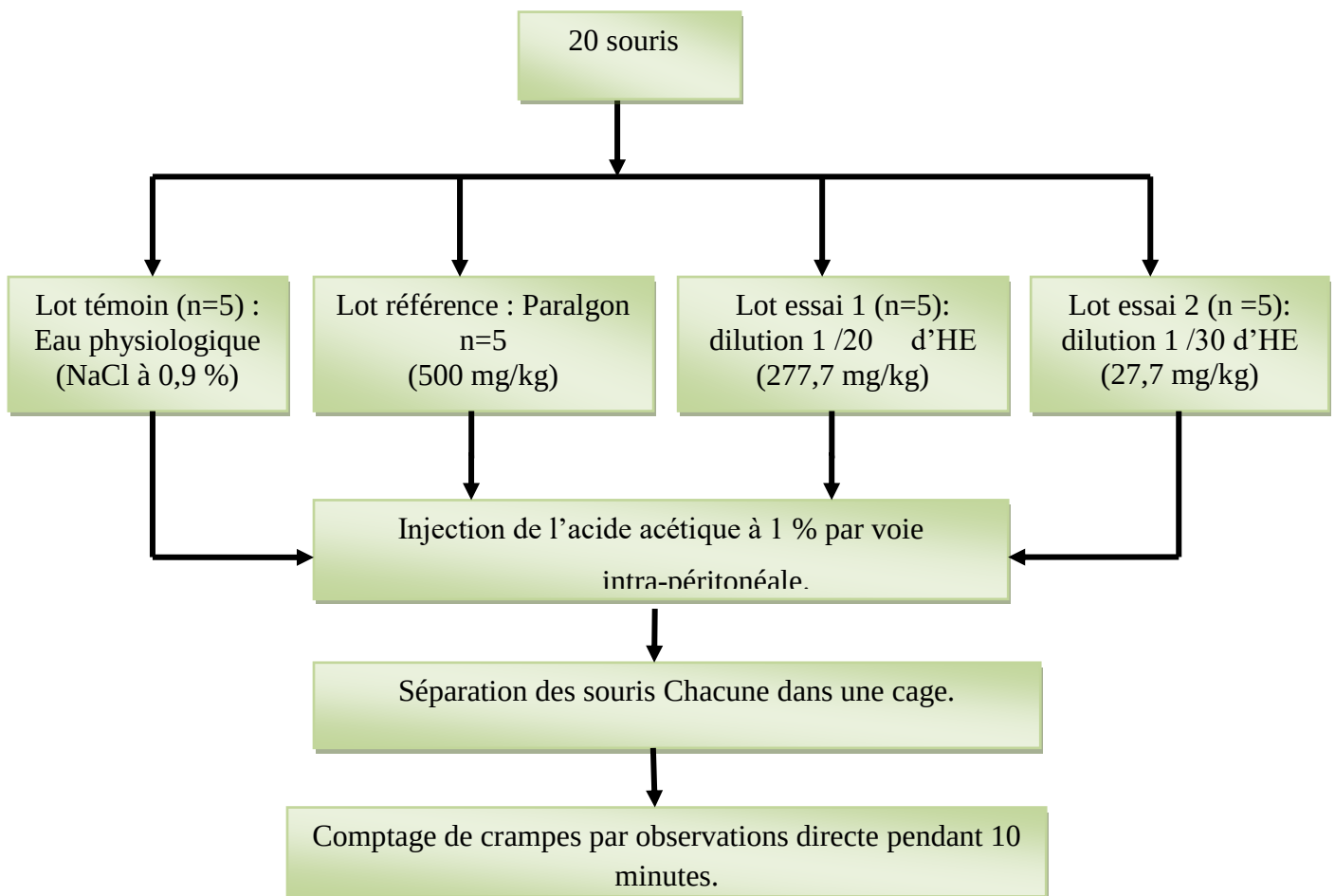


Figure 32 : Diagramme récapitulatif présentant le protocole suivi dans l'activité antispasmodique

➤ **Expression des résultats**

○ **Calcul du pourcentage de réduction des spasmes**

Le pourcentage de réduction des spasmes (pourcentage de protection), est calculé selon la formule suivante (Rouibi et *al.*, 2013).

$$\% \text{ de protection} = \frac{(mT - mE)}{mT} * 100$$

- m T : la moyenne des crampes du lot témoin.
- m E : la moyenne des crampes du lot essai.
- m R : la moyenne des crampes du lot référence

I.2.4. Etude statistique

1. Moyennes arithmétiques

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=0}^n x_i}{n}$$

- $\bar{x}$: moyenne
- n : Effectif du lot.
- Xi : Valeurs individuelles de chaque paramètre.

2. Variance

$$S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2$$

- S^2 : variance de la variable

3. L'écart type

$$Sx = \sqrt{S^2}$$

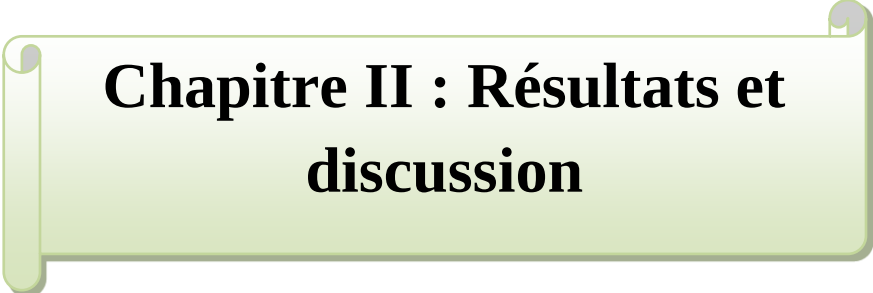
- Sx: L'écart type

4. Test de Student

Les résultats sont calculés à l'aide d'un logiciel Excel. « T » calculé est comparé au « T » théorique lue sur la table de Student, Si T_c est inférieure à la valeur lue dans la table « t » pour un degré de liberté $ddl = N_1 + N_2 - 2$ et le risque 5 %, la différence n'est pas significative.

Dans le cas contraire elle est significative. Student par Excel si :

- $P > 0,05$, le résultat est non significatif.
- $P < 0,05$, le résultat est peu significatif.
- $P < 0,01$, le résultat est significatif.
- $P < 0,001$, le résultat est très significatif.
- $P < 0,0001$, le résultat est hautement significatif.



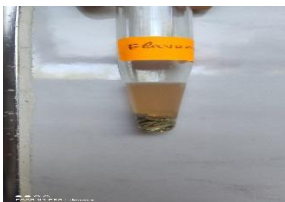
Chapitre II : Résultats et discussion

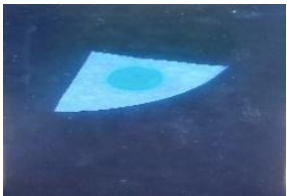
II. Résultats et discussion

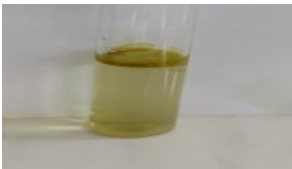
II.1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques permettent d'avoir une idée globale sur la composition chimique présente dans la partie aérienne de la plante *Satureja calamintha*. Les résultats de ces tests réalisés sur l'extrait méthanolique, l'infusé et le décoctât de notre plante sont mentionnées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultats du screening phytochimique de la plante *Satureja calamintha*.

Métabolites à rechercher	Résultats		
Flavonoïdes libres		Rose rouge	++
Anthocyanes		Bleu -verdâtre	+
Leuco-anthocyanes		Rouge	-
Tannins totaux		Bleu-noire	+++
Tannins galliques		Bleu -noire	+++

Tannins catéchiques		Formation d' un précipité rouge	-
Quinones libres		Rouge	-
Composés réducteurs		Formation d' un précipité rouge brique	++
Oses et holosides		Formation d' un aspect floconneux	+
Stérols et terpènes		L' apparition d' une interphase entre deux phases	+++
Alcaloïdes		Formation d' un précipité orange	++
Coumarines		L' apparition d' une fluorescence à 365 nm.	++

Saponines		Formation d' une mousse	++
Glycosides cardiaques		Formation d' un anneau à l' interface	+

(-) : Absence ; (+) : Présence en faible quantité ; (++) : Présence en quantité moyenne ;
(+++): Présence en quantité importante.

D' après les résultats illustrés dans le tableau 5, on remarque que les principaux composés présents en grande quantité dans la plante *Satureja calamintha* sont : les tannins totaux, les tannins galliques, les stérols et les triterpènes, tandis que les flavonoïdes, les composés réducteurs, les alcaloïdes, les coumarines et les saponines, sont moyennement présents. De plus, les anthocyanes, les oses et les holosides et les glycosides cardiaques sont présents en faibles quantités, cependant, notre plante est dépourvue des leuco-anthocyanes, des tannins catéchiques, et des quinones libres.

Les résultats obtenus sont approximativement compatibles à ceux mentionnés par **Benfares et al (2020)** qui ont testé la même espèce provenant de la même région où ils ont démontré d' une part la présence des flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins totaux, les tannins galliques, les stérols et les triterpènes, les alcaloïdes, les coumarines, et les saponines et d' autre part l' absence des leuco-anthocyanes, des quinones libres et des glycosides cardiaques.

Par contre, nos résultats sont en désaccord avec ceux de **Hayani et al (2020)** qui ont travaillé sur la même plante récoltée de la région Ouzzane (Maroc), où ils ont détecté la présence des flavonoïdes libres, des tannins catéchiques, des tannins galliques, des stérols et des triterpènes, et l' absence totale des anthocyanes, des leuco-anthocyanes, des alcaloïdes, des coumarines et des saponines.

En effet, on constate que notre plante est riche en tannins et elle possède une quantité plus au moins importante en flavonoïdes ce qui est confirmé par **Benhamou et al (2008)** ;

Bouguandoura (2011) ; Tamert (2015) et Labiod (2016) qui ont révélé les mêmes résultats.

Les tannins ont la propriété de tanner la peau par création de liaison entre les molécules des tannins et les fibres de collagènes (**Smythies, 1998**). Ils permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (**Iserin, 2001**). Les flavonoïdes ont de nombreuses activités biologiques telles que antioxydante, anti-inflammatoire et antispasmodique (**Cao et al., 2015**).

Cette variabilité en métabolites secondaires pourrait être due à plusieurs facteurs tels que : le type du sol, le climat, la saison de récolte, la région géographique et l'altitude.

I.2. Rendement d' extraction

L' huile essentielle obtenu après plusieurs extractions, est caractérisé par une coloration jaune pâle et d' une odeur aromatique mentholé (figure 33).



Figure 33 : Photo originale de l' huile essentielle de la plante *Satureja*

Le rendement moyen de notre plante récoltée de la région de Jijel est estimé à $0,58 \pm 0,049$ (P/V) (Annexe 3).

Il est approximativement proche à celui cité par **Boudjema et al (2018)**, qui ont trouvé un rendement de $0,54 \pm 0,11$ (P/V) pour l' espèce *Satureja calamintha* provenant de la même région et il est légèrement supérieur à celui signalé par **Attou (2018)**, qui a obtenu un rendement de $0,43 \pm 0,030$ (P/V) pour la même espèce d' origine d' Ain Timouchent.

Nos résultats apparaissent différents par rapport à ceux mentionné par d' autres chercheurs, qui ont enregistré un rendement plus élevé. En Algérie, **Medjdoub et al (2022)** ainsi **kerbouche et al (2013)** ont détecté des rendements de 1,39 % et de 1,4 % pour la même espèce d'origine de Skikda et de Blida respectivement.

Par ailleurs, **Bouzidi et Kemieg (2021)** ont trouvé un rendement de 1,3 % pour l'espèce provenant de Mascara. **Bensouici et al (2013)** ont obtenu un rendement de 2,1 % chez la sarriette d'origine de Jijel.

Au Maroc, **Satrani et al (2007)** ont enregistré un rendement de 1,6 % pour la même espèce récoltée de la zone de Chefchaouen. De plus, **Radi et al (2020)** ont enregistré le meilleur rendement pour cette plante égal à 2,6 % pour la même espèce d'origine d'Azrou.

Comparativement à nos résultats, les travaux menés par **Čopra-Janićijević et al (2020)** sur la même plante provenant de Bosnie-Herzégovine ont signalé un rendement faible de 0,3 %. De même, des études réalisées par **Ech-Chahad et ses collaborateurs (2013)**, ont démontré un rendement plus faible de l'ordre de 0,082 % pour la même espèce d'origine de Maroc.

Cette différence du rendement pourrait être due à plusieurs paramètres tels que : la période de la récolte ; les conditions climatiques (température ; l'humidité), la partie de la plante (feuille, graine, tige..) et aussi le procédé d'extraction (**Colombo et al., 2013 ; Gende et al., 2014**).

I.3. L'activité antioxydante

L'activité antiradicalaire de l'HE de *Satureja calamintha* est évaluée par la méthode de piégeage du radical DPPH.

Les résultats de l'évaluation de cette activité sont illustrés dans la figure 34 pour l'HE et dans la figure 35 pour l'acide ascorbique ainsi que dans les Annexes 4 et 5.

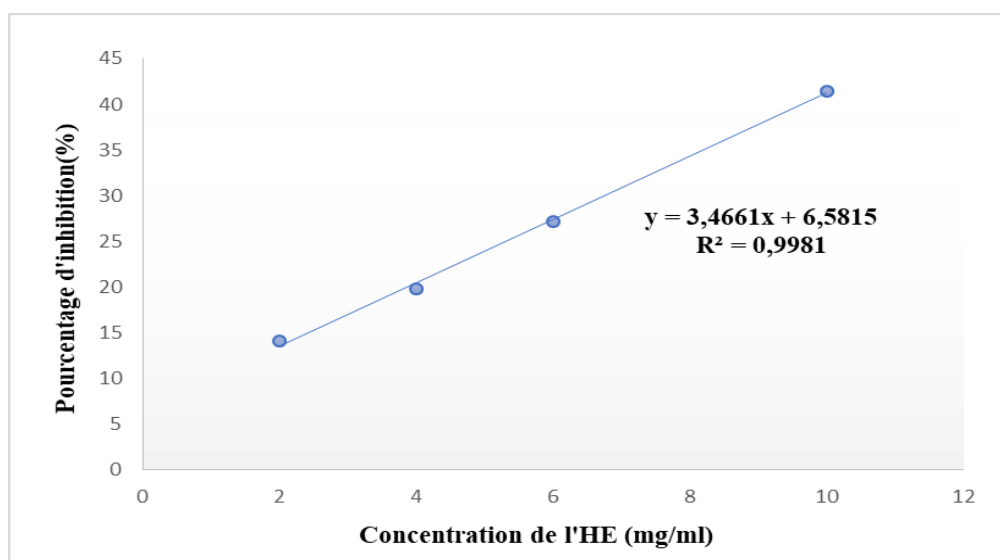


Figure 34: Variation du pourcentage d' inhibition en fonction de différentes concentrations de l' huile essentielle.

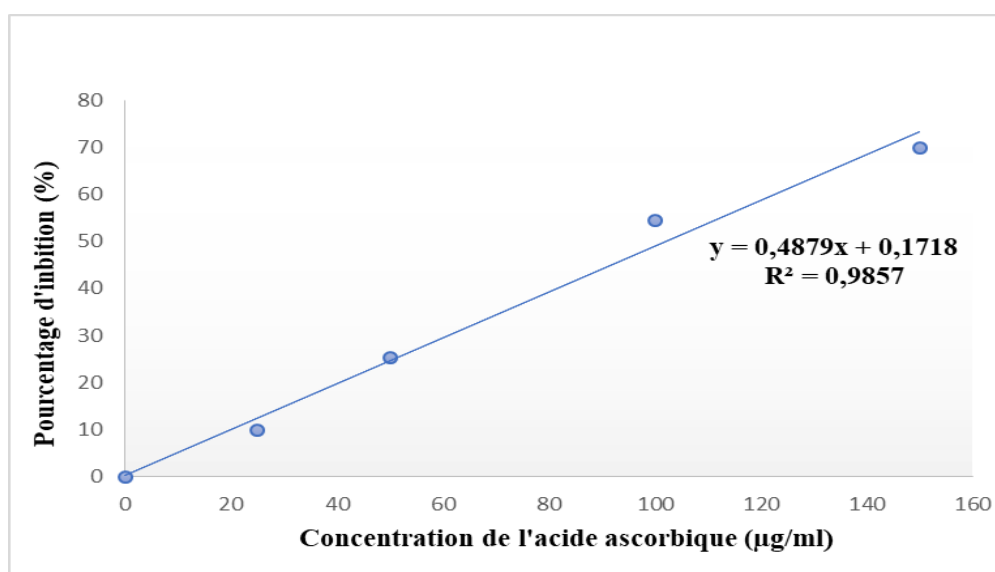


Figure 35 : Variation du pourcentage d' inhibition en fonction de différentes concentrations de l' acide ascorbique.

D' après les résultats enregistrés, l' HE est doté d' un pouvoir antioxydant moyen, leur IC_{50} est 12,026 mg/ml qui est relativement faible. Elle est inférieure presque 117 fois à celui de l' acide ascorbique (102,127 µg/ml).

Selon **Sharififar et al (2007)**, la concentration efficace d' IC_{50} est inversement liée à la capacité antioxydante d' un composé, car elle exprime la quantité d' antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus les valeurs d' IC_{50} sont basses plus l' activité antioxydante d' un composé est grande.

Plusieurs auteurs ont rapporté une valeur d' IC_{50} plus élevée par rapport à celle de notre plante. **Labiod (2016)** a travaillé sur la même espèce provenant de deux régions différentes (Jijel et Annaba) où elle a enregistré des valeurs d' IC_{50} de l' ordre de $2724,51 \pm 282$ µg/ml et de $881,488 \pm 4,95$ µg/ml respectivement. Une autre étude menée par **Attou (2018)** a révélé une valeur d' IC_{50} égale à $244,175 \pm 4,205$ µg/ml pour les HE de la même espèce d' origine d' Ain timouchent. De plus, **Bouzidi et Kemieg (2021)** ont signalé une valeur d' IC_{50} de 31,25 µg/ml pour *Satureja calamintha* de Mascara. Alors que, **Demirci et al (2011)** ont signalé un meilleur pouvoir antioxydant pour la même plante récoltée en Turquie où la valeur d' IC_{50} est de 69 ± 9 µg/ml.

Selon **Moleyear et Narasimham (1992)**, l'activité antioxydante d'une huile essentielle est en forte relation avec sa composition chimique (effet des groupements fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre eux).

En effet, **Ceker et al (2013)** ont mené une étude sur HE de *Satureja calamintha* d'origine de Turquie où ils ont attribué son pouvoir antioxydant à l'effet synergique de certains composés majoritaires à savoir limonène, linalool, carvacrol et bêta-caryophyllène. Par contre, **Kerbouche et al (2013)** ont travaillé sur l'HE de la sarriette de Blida et ils ont démontré une relation forte entre l'activité antioxydante et l'effet synergique des autres composés majoritaires tels que les monoterpènes oxygénés, le pulégone et le néo-menthol. De plus, **Rossi et al (2007)** ont signalé une forte activité antioxydante due probablement à l'abondance d'un seul composé majoritaire qui est le pulégone dans l'HE de cette plante provenant de Corse.

D'une manière générale, le faible pouvoir antioxydant de notre plante pourrait être expliqué par sa pauvreté en ces composés majoritaires.

II.4. Activité anti-inflammatoire

Notre étude avait pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire par l'injection de 0,025 ml de carragénine dans les souris BALB/c sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche qui induit le gonflement des pattes.

Les résultats de cette étude sont mentionnés dans le tableau 6 et ainsi dans les figures 36 et 37.

Tableau 6 : Comparaison des pourcentages d'augmentation et de réduction d'œdème.

Lots	pourcentage d'augmentation d'œdème (%)	Pourcentage de réduction d'œdème(%)
Témoin : Eau physiologique (NaCl à 0,9 %).	43,79	0
Référence : Diclofénac (2,5 mg /kg).	7,78 ± 3,29	82,23
Essai 1 : dilution 1/20 d' HE (277,7mg /kg).	28,05 ± 11,26	35,94**
Essai 2: dilution 1/30 d' HE (27,7mg/kg).	30,82 ± 16,64	29,61*

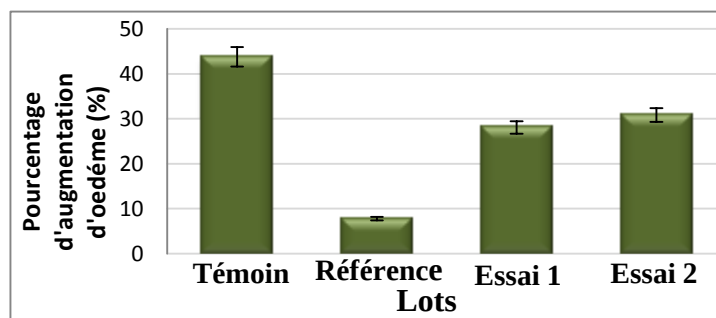


Figure 36: Histogramme représentant les pourcentages d'augmentation d'œdème.

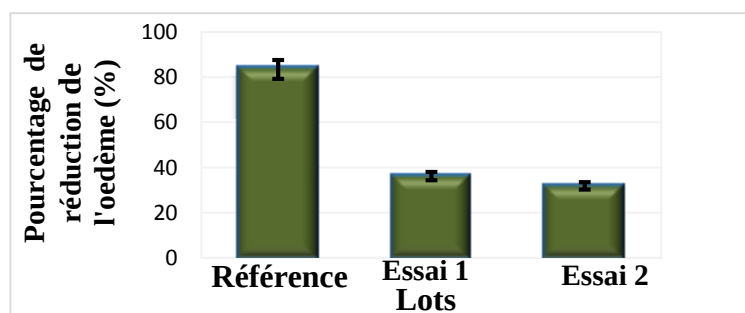


Figure 37 : Histogramme représentant les pourcentages de réduction d'œdème.

D'après ces résultats, on constate d'une part, une augmentation des poids moyens des pattes gauches dans les quatre lots par rapport au poids des pattes droites.

D'autre part, le pourcentage d'augmentation d'œdème des deux essais 1 et 2 (28,05 % ; 30,82 %) respectivement est inférieur à celui de témoin (43,79 %).

De plus, il y avait une relation inverse entre la concentration et le pourcentage d'augmentation de l'œdème : plus la concentration était élevée, plus le pourcentage d'œdème était important.

Par ailleurs, à la dose de 277,7 mg /kg, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'HE a montré un pourcentage d'inhibition maximale d'œdème à une valeur de 35,94 % après 4h de l'injection de la carragénine. Cependant, l'effet anti-inflammatoire de l'HE se diffère significativement ($p \leq 0,05$) de celui de Diclofénac correspondant un pourcentage d'inhibition d'œdème égal à $82,23 \pm 7,73$ %. Cela signifie que l'administration orale de l'HE de *Satureja calamintha* produit un effet anti-inflammatoire significatif face à une inflammation induite par l'agent phlogogène (carragénine).

En effet, le développement de l'œdème de la patte provoquée par cet agent est décrit comme un évènement biphasé. Une phase initiale qui fait intervenir la libération de

l'histamine et de la sérotonine et une deuxième phase qui est dû à la libération des prostaglandines (**Sene et al., 2016**), cette dernière phase est sensible aux agents stéroïdiens et non stéroïdiens (**El Hachimi et al., 2017**).

Par ailleurs, le Diclofénac (médicament anti-inflammatoire non stéroïdien) a exercé un effet anti-inflammatoire essentiellement par l'inhibition de l'activité enzymatique des cyclo-oxygénases. De plus, elle permet de diminuer la production des médiateurs pro-inflammatoires tels que l'histamine, sérotonine et la prostaglandine (**Rahmani et al., 2016**).

Une étude récente menée par **Charlet et al (2021)** a démontré qu'il y a une relation entre la composition chimique de l'HE et l'activité anti-inflammatoire. En effet, **Tajmirali et al (2018)** ont attribué l'effet anti-inflammatoire à la présence de pulégone, considéré comme un candidat plus puissant pour les douleurs inflammatoires aiguë, en activant les cellules immunitaires conduisant à l'inhibition de la libération de TNF- α tandis que l'activation du macrophage provoque la libération de cytokines pro-inflammatoires.

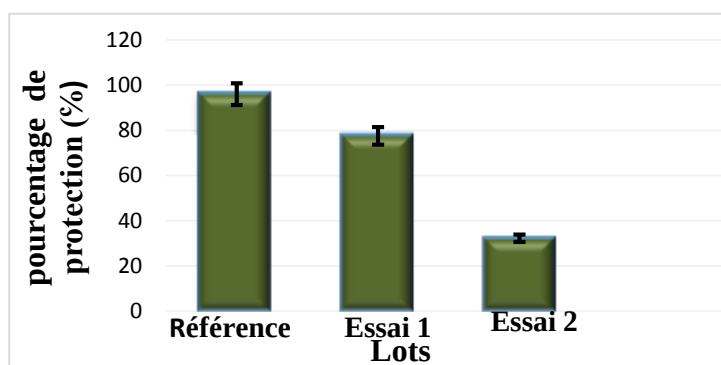
Selon la littérature, aucune étude n'a été faite de cette activité sur la plante *Satureja calamintha*, mais plusieurs auteurs ont travaillé sur le même genre de *Satureja*. **Jennan et al (2018)** ont traité trois espèces d'origine du Maroc appartenant au même genre où ils ont rapporté des pourcentages d'inhibition plus élevés par rapport à celui de notre plante ; *Satureja alpina* (91,1 %) et *Satureja atlantica* (80 %) et *Satureja briquetti* (50 %).

II.5.L'activité antispasmodique

Les résultats obtenus de l'activité antispasmodique sont illustrés dans le tableau 7 ainsi dans la figure 38, en observant la moyenne des crampes (spasmes) et le pourcentage de protection après l'administration de l'eau physiologique, Paralgon et l'HE et l'injection de l'acide acétique par voie intrapéritonéale aux quatre lots (Témoin, référence et les 2 essais).

Tableau 7 : Comparaison de nombre des crampes moyennes et le pourcentage de protection

Lots	Moyennes des crampes	Pourcentage de protection (%)
Témoin : Eau physiologique (NaCl à 0,9%)	$26 \pm 7,79$	0
Référence : Paralgon (500mg/kg)	$1 \pm 0,63$	96,15
Essai 1 : dilution 1/20 d'HE (277,7mg /kg)	$5,8 \pm 9,30$	77,69
Essai 2 : dilution 1/30 d'HE (27,7mg/kg)	$17,6 \pm 9,78$	32,30**

**Figure 38 :** Histogramme représentant les pourcentages de protection.

Sur la base de ces résultats, on remarque que l' HE de *Satureja calamintha* a la capacité de réduire les spasmes de $26 \pm 7,79$ à $5,8 \pm 9,30$ crampes à la dose de 277,7 mg/kg avec un pourcentage de protection de 77,69 %. A la dose de 27,7 mg/kg, le nombre de crampes moyen passe d' une valeur de $26 \pm 7,79$ à $17,6 \pm 9,78$ correspondant à un pourcentage de protection qui diminue de 77,69 à 32,30 %.

En effet, l' HE à la dose de 277,7 mg/kg a fourni un meilleur pourcentage de protection ($77,69 \pm 9,30\%$) qui n'est pas différent à celui du produit de référence (Paralgon) à la dose de 500 mg/kg. Cela indique que l'administration orale de l'HE a un effet antispasmodique significatif sur le soulagement de la douleur causée par l' acide acétique.

De plus, il y a une relation inversement proportionnelle entre la concentration et le nombre de spasmes : la plus grande concentration donne le plus faible nombre de spasme.

Selon **Koudou et al (2001)**, l' acide acétique (spasmogène) provoque l' activation des canaux ioniques et favorise le développement d' un courant dépolarisant, ceci a pour

conséquence l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire et celle de la contraction. Les ions de Ca^{2+} sont indispensables pour la manifestation de l'action contracturant. Donc l'HE pourrait contribuer en empêchant l'entrée des ions calciques dans le cytosol et agir comme un agent antispasmodique.

En outre, **Ouédrago et al (2012)** ont suggéré que l'effet antispasmodique est lié à l'inhibition de la libération des médiateurs chimiques : sérotonine, l'histamine et prostaglandine. Ces médiateurs stimulent les neurones nociceptifs péritonique et induisent l'augmentation des perméabilités vasculaires (**Frederico et al., 2009 ; Wantana et al., 2009**).

Plusieurs molécules ayant une structure étroitement liée à l'effet antispasmodique. Selon la littérature recensée, ils sont classés en alcools mentholés, phénols (**Leal-Cardoso et al., 2002**), esters (acétate de linalyle, acétate de néryle...), éthers (tran-anéthole, méthylogénol...), oxydes (1,8-cinéole, oxyde de pipériténone) (**Bowles, 2003 ; Price et Price, 2007 ; Sousa et al., 2009**). En effet, **Li et al (2017)** ont signalé que l'HE de *Satureja calamintha* à une forte activité antispasmodique expliquée par l'effet synergique de pulégone et de monoterpènes comme des constituants majeurs. Etant donné que les pulégones entrent dans la composition des médicaments antispasmodiques pour soulager les douleurs, et ainsi il potentialise les récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA-A) responsable de l'inhibition de l'activité neuronales (**Charlet et al., 2021**).

En générale, on peut déduire que le fort effet antispasmodique de notre plante est probablement attribué à l'effet synergique de pulégone et de monoterpènes.

Selon la littérature, aucune étude n'a été faite de cette activité sur la plante *Satureja calamintha*, mais plusieurs études ont été faites sur le même genre de *Satureja*. Selon **Tajmirali et al (2018)** qui ont traité les HEs de la plante *Satureja bachtiarica* où ils ont démontré une activité antispasmodique significatif. De plus, **Hajhashemi et al (2000)** ont enregistré un effet antispasmodique puissant d'HE de la plante *Satureja hortensis* en travaillant avec une méthode différente à celle utilisée dans notre étude.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs, et restent toujours la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale.

Ce travail a été mené dans le cadre de l'étude de quelques activités biologiques (antioxydante, anti-inflammatoire et antispasmodique) de l'huile essentielles extraite à partir des parties aériennes de la plante *Satureja calamintha* provenant de la région de Jijel.

La réalisation d'un criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la richesse de notre huile essentielle en métabolites secondaires tels que les tannins ; les flavonoïdes, les coumarines, les saponines et les alcaloïdes.

L'extraction de notre échantillon par hydrodistillation a fourni un taux important en huile essentielle de l'ordre de $0,58 \pm 0,049$ (P/v).

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical libre DPPH de l'huile essentielle a montré que cette dernière possède un pouvoir antioxydant moyen, avec une valeur d'IC₅₀ égale à 12,026 mg/ml.

Les résultats obtenus ont clairement démontré que l'huile essentielle de *Satureja calamintha* a donné un effet anti-inflammatoire significatif à la dose de 277,7 mg/kg correspondant à un pourcentage d'inhibition d'œdème de 35,94 % après quatre heures de l'injection de carragénine.

En ce qui concerne l'activité antispasmodique traité par le test Writing, les résultats révèlent que notre huile essentielle présente un fort effet antispasmodique avec un pourcentage de protection de 77,69% à la dose de 277,7 mg/kg.

Des recherches complémentaires sont nécessaires en vue :

- D'identifier la composition chimique de l'huile essentielle par la chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse (CPG/SM) ;
- D'étudier *in vivo* la toxicité de l'huile essentielle de cette plante ;
- D'évaluer d'autres activités biologiques telles que l'activité antidiabétique, l'activité expectorante, l'activité antimicrobienne...etc.

Référence
Bibliograpgique

-A-

- **Aboughe Angone S, Awore Samsenny R.R.R et Eyele Mve Mba C, 2015.** Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon, *phytothérapie*, 13(5); 283-287.
- **Adams R, 2001.** Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole. Mass spectroscopy. Ed. Allured Pub Corp, 804 p.
- **Adrian J, Potus J et Frangne R, 1995.** La science alimentaire de A à Z. 2ème Edition Lavoisier, Paris, 578 p.
- **AFNOR, 1986.** Recueil des Normes Francaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris, 57 p.
- **AFNOR, 2000.** Association Française de Normalisation. Norme Française : les huiles essentielles, monographie relatives aux huiles essentielles, Ed. AFNOR, Paris, 663 p.
- **Ait Yahia L, 2014.** Etude de l'effet d'un stress oxydatif et le système défensif enzymatique chez le blé dur (*Triticum durum désf*), thèse de doctorat, université de Constantine1, Algérie, 65 p.
- **Alkurd A, Hamed T.R and Al-Sayyed H, 2008.** Tannin contents of selected plants used in Jordan, *Journal of Agricultural Sciences*, 4; 265-274.
- **Aref M et Heded M, 2015 .** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologique (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médecinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf), mémoire de master, université d'El-Oued, Algérie, 59 p.
- **Attou L, 2018.** Détermination de la composition chimique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent), Etude de leurs activités antioxydante et antimicrobienne, thèse de doctorat, université de Tlemcen, Algérie, 93 p.

-B-

- **Baba Aissa F, 2000.** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed Librairie moderne-Rouïba, Algérie, 46 p.

- **Bacchi S, Palumbo P, Sponta A and Coppolino M.F, 2012.** Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Anti-inflammatory anti-allergy, Agents Medecine Chemistry*, (11); 52-64.
- **Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D and Idaomar M, 2008.** Biological effects of essential oils- A review, *Food and Chemical Toxicology*, 46 (2); 446-475.
- **Barnes P. J, 1998.** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms, *Clinical science*, 94(6); 557-572.
- **Baudoux D, Breda M et Zhiri A, 2012.** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Ed Aromathérapie scientifique, 88 p.
- **Baysal T and Starmans D.A, 1999.** Supercritical carbon dioxide extraction of carvone and lionene from *Caraway seeds*, *Journal of Supercritical Fluids* 14; 225 -23.
- **Beckman K.B and Ames B.N, 1998.** The free radical theory of aging matures, *Physiological reviews*, 78; 547-581.
- **Benfares R, Boudjema K, Behlali H, Imedjdouben I, kennas A, Fazouane F and Jaroslava Š.G, 2020.** Evalution of some biological activities of phénolic compounds obtained from two Algerian medicinal plants: *Mentha rotundifolia* and *Satureja Calamintha*, *Acta Periodica Technologica*, 51; 87-102.
- **Benhamou N, Bekkara A.F and Panovska T.K, 2008.** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2 (2); 22-28.
- **Benhouda A, Yahia M, Benhouda D, Bousnane N. E, Benbia S, Hannachi N. E and Ghecham A, 2014.** Antimicrobial and Antioxidant activities of various extracts of *Hyoscyamus albus* L. and *Umbilicus rupestris* L. leaves, *Algerian Journal of Natural Products*, 2; 14-17.
- **Benkhedimallah R et Kismoun S, 2014.** Etude phytochimique et biologique de la plante *Satureja calamintha*, mémoire de master, université de Constantite 1, Algérie, 88 p.
- **Bensouici C.B.A, Chibani S, Kabouche A, Abuhamdah S, Semra Z and Kabouche Z, 2013.** Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Satureja calamintha* ssp. *sylvatica* from Jijel, Algeria, *Journal for Medecinal chemistry and Pharmaceutical*, 5 (2); 224-227.

- **Bernard T, Perineau F, Bravo R, Delmas M et Gaset A, 1988.** Extraction des huiles essentielles : chimie et thechnologie, *In : Inforamation chimie*, 298; 179-184.
- **Birben E, Sahiner U.M, Sackesen C, Erzum et Kalayci O, 2012.** Stress oxydatif et défense antioxydante, *Journal de l'organisation mondiale des allergies*, 5 (1) ; 9-19.
- **Boubaker J, 2012.** Isorhamnetin 3-O-robinobioside from *Nitraria retusa* leaves enhance antioxidant and antigenotoxic activity in human chronic myelogenous leukemia cell line K562, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12-13.
- **Boudjema K, Bouanane A, Gamgani A, Djeziri M, Mustapha M .A and Fazouane F, 2018.** Phytochemical profile and antimicrobial properties of volatile compounds of *Satureja calamintha* L. *Scheel* from northern Algeria, *Tropical Journal Pharmaceutical Research*, 17(5); 857-864.
- **Bouguandoura N et Bendimerad N, 2013.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calaminthassp. Nepeta* L. *Briq, Nature et Technology*, (9); 14-19.
- **Bouguandoura N, 2011.** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha ssp nepta* (nabta) et *Ajugaiva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie, thèse de Magister, université de Tlemcen, Algérie, 85 p.
- **Bouhaddouda N, 2016.** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanuim vulgaire* et *Mentha pulegium*, thèse de doctorat, université d'Annaba, Algérie, 24 p.
- **Boukhatem M.N, Ferhat A et Kameli A, 2019.** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles, *Revue Agrobiologia* , 9(2) ; 1653-1659.
- **Boutamani M, 2013.** Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisé, université d'Houari Boumediene, Algérie, 109 p.
- **Bouterfas K, Chenafa A, Achori M et Aoued L, 2014.** Activite antioxydante et antibacterienne des feuilles de *vitis vinifera* L, *Phytothérapie*, 14(6); 363–369.
- **Bouzidi N et Kemieg M, 2021.** Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Satureja calamintha ssp. nepeta* L. *Briq*, du Nord-Ouest de l'Algérie, *Agriculture and Conspectus Scientificus*, 86 (4); 349-356.

- **Bowles E.J, 2003.** The chemistry of aromatherapeutic oils, 3rd ed. Allen and Unwin: Crows Nest, London, 256 p.
- **Boyd B, Ford C, Koepke M.C, GaryK, Horn E, McAnalley S et McAnalley B, 2003.** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'ambrotose sur des personnes en bonne santé, *Glycoscience et Nutrition*, 4 (6); 7.
- **Božovic M and Ragno R, 2017.** *Calamintha nepeta* L. Savi and its main essential Oil constituent pulegone: Biological Activities and Chemistry, *Molecules* 22(2); 290.
- **Bruneton J, 1987.** Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Techniques et documentation, Lavoisier, Paris, France, 585 p.
- **Bruneton J, 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition. Technique et documentation, Lavoisier et édition médicales internationales, Paris, France, 1120 p.
- **Bruneton J, 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Revue et augmentée, Paris. Technique et documentation, édition médicales internationales, Paris, France, 1288 p.
- **Bruneton J, 2016.** Pharmacognosie: 5ème édition. Éditions Lavoisier. 1487 p.
- **Burt S, 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, a review, *International Journal of Food Microbiology*, 94; 223–253.

-C-

- **Calsamiglia S, Busquet M, Bardozap W, Castillejos I and Ferret A, 2007.** Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation, *Journal of dairy science*, 90(6); 2580–2595.
- **Cao H, Chen X and Jassbi A.R, 2015.** Microbial biotransformation of bioactive flavonoides, *Biotechnology*; 33; 2014-223.
- **Carange J, 2010.** Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassins stéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection, thèse de doctorat, université du Québec Trois-Rivières, Canada, 104 p.
- **Carvalli J.F, 2002.** Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN de carbone -13 d'huile essentielle de Madagascar, thèse de doctorat, université de Corse Pascal Paoli, France, 231 p.

- **Ceker S, Agar G, Alpsoy L, Nardemir G and Kizil H.E, 2013.** Protective role of essential oils of *Calamintha nepeta* L. on oxidative and genotoxic damage caused by Aflatoxin B-1 *in vitro*, *Bulletin*, 22; 3258-3263.
- **Charlet A, Petitjean H, Hilfiger L, Triaux Z, Marcic C, Emhammed F, Darbon P and Marchioni E, 2021 .** Anti-inflammatory and analgesic properties of pulegone, a major component in *calamintha nepta*, 12; 753-873.
- **Collin S et Crouzet J, 2011.** Polyphénols et procédés: transformation des polyphenols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire. Edition technologie et documentation. Lavoisier, France, 336 p.
- **Colombo R.P, Martinez A.E, Di Pardo A.F, Bidondo L.F, Van Baren C, Di Leo Lira P and Godeas A.N, 2013.** Differential effects of two strains of *Rhizophagus intraradices* on dry biomass and essential oil yield and composition in *Calamintha nepta*, *Revista Argentina de Microbiologica*, 45; 114-118.
- **Čopra-Janićijević A, Vidic D and Maksimović M, 2020.** Characterisation of *Satureja montana* L. essential oil and headspace volatiles, *Natural Volatiles and Essential Oil*, 7(2); 22-34 .
- **Costa P, Goncalves S, Valentao P, Andrade P.B, Coelho N and Anabela R, 2012.** Thymus lotocephalus wild plants and in vitro culture produce different profiles of phenolic compounds with antioxidant activity, *Food Chemistry*, 135; 1253-1260.
- **Cruz J.M, Dominguez J.M, Dominguez H and Parajo J.C, 2001.** Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of 06 lignocellulosic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5); 2459-2464.

-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); 290-295.
- **Diallo A, 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense willd* (Myrtaceae), thèse de doctorat, université de Bamako, Mali, 99 p.
- **Dudareva N and Pichersky E, 2008.** Metabolic engineering of plant volatiles, *Current Opinion in Biotechnology*, 19; 181-189.

-E-

- **Ech-Chahad A, Farah H et Bouyaza 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.
- **Edeoga H.O, Okwu D.E and Mbaebie B.O, 2005.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants, *African Journal of Biotechnology*, 4 (7); 685-688.
- **El Hachimi F, Alfaiz C, Bendriss A, Cherrah Y et Alaoui K, 2017.** Activité anti-inflammatoire de l'huile des grains de *Zizyphus lotus* L. Desf, *Phytothérapie* 15; 147-154.
- **El Haib A, 2011.** Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, thèse de doctorat, université de Toulouse, France, 157 p.
- **Epifano F, Genovese S, Menghini L and Curini M, 2007.** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68; 939-953.

-F-

- **Farnsworth N.R, Akerele O, Bingel A.S, Soejarto D.D et Guo Z, 1986.** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique, *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 64 (2); 159-175.
- **Favier A, 2003.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *L'Actualité Chimique*, 108-115.
- **Ferhat M.A, Meklate B.Y et Chemat F, 2010.** Citrus d'Algérie, les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions. Ed. O.P.U, Alger, 157 p.
- **Figueredo G, 2007.** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'organes (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne, thèse de doctorat, université de Blaise Pascal- Clermont Ferrand II, France, 212 p.
- **Franchomme P, 2015.** La science des huiles essentielles médicinales. Edition Guy Trédaniel, 630 p.
- **Frederico A.V, Higor F.L and Elson A.C, 2009.** Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. *Journal Pharmaceutique Science*, 45; 437-42.

- **Frutos P, Hervás G, Giráldez F and Mantecón A, 2004.** Review: Tannins and ruminant nutrition, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2); 191-202.

-G-

- **Gende L.B, Mendiara S, Fernandez N.J, Van Baren C, Di Leo Lira A, Bandoni A, Fritz R, Floris I and Eguaras M, 2014.** Essentials oils of some *mentha spp.* And their relations with antimicrobial activity against *Paenibacillus Larvae*, the causative agent of American foulbrood in honey bees, by using the bioautography technique, *Bulletin of Insectology*, 67(1); 13-20.
- **Ghourri M, Zidane L et Douira A, 2014.** La phytothérapie et les infections urinaires (La pyélonéphrite et la cystite) au sahara Marocain (Tan-Tan), *Journal of Animal and Plant Sciences*, 20(3) ; 3171-3193.
- **Guenter E, 1975.** The essential Oil of *Baronia megastigma* (Bronia flower oil), *Journal of the American pharmaceutical*, 41(6); 339-340.
- **Gulluce M, Sokmen M, Daferera D, Agar G, Ozkan H and Kartal N, 2003.** In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil, methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51; 3958-3965.

-H-

- **Hadi M, 2004.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres : Etudes et applications thérapeutiques, thèse de doctorat, université de Louis Pasteur, 152 p.
- **Hadouchi F, Chaouche T.M and Halla N, 2016.** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie, *Phytothérapie*, 1-9.
- **Hajhashemi V, Sadraei H, Ghannadi A.R et Mohseni M, 2000.** Effet antispasmodique et anti-diarrhéique de l'huile essentielle de *Satureja hortensis* L, *Journal d'ethnopharmacologie*, 71 (1-2); 187-192.
- **Haleng J, Pincemail J, Defraigne J.O, Charlier C et Chapelle J.P, 2007.** Le stress oxydant, *Revue médicale de Liège*, 62(10) ; 628-638.

- **Hameed B.H, Ahmad A.A and Aziz N, 2007.** Isotherms, kinetics and thermodynamique of acid dye adsorption on activated palm ash, *Chemical Engineering*; 133; 195-203.
 - **Hamel T, Sadou S, Seridi R, Boukhdir S et Boulemtafes A, 2018.** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (Nord-Est Algerien), *Enthopharmacologia*, 59; 65-75.
 - **Han T, Li H.L, Zhang Q.Y, Hanp , Zheng H.C, Rahaman K and Qin L.P, 2007.** Bioactivity guided fractionation for anti-inflammatory and analgesic properties and constituents of xanthium strumarium L, *phytomedecine*, 14; 825-829.
 - **Harborne J B, and Herbert B, 1998.** Phytochemical dictionary: A hand book of bioactive compounds from plants. 2^{ème} edition, London, 976 p.
 - **Hart K.J, Yáñez-Ruiz D.R, Duval S.M, McEwan N.R and Newbold C.J, 2008.** Plant extracts to manipulate rumen fermentation, *Animal Feed Science and Technology*, 147; 8-35.
 - **Hartmann T, 2007.** From wasteproducts to Ecochemicals, Fifty Years Research of Plant Secondary Metabolism, *Phytochemistry*, 68; 2831–2846.
 - **Hayani M, Benhlila N, Bouzoubaa A, Ailli A, Gourich. A, Mouradi A, Oulhaj H and Zair T, 2020.** Phytochemical study, polyphenols determination and evaluation of antioxidant activity of *Origanum compactum* and *Satureja calamintha nepeta* from the region of Ouazzane (Morocco), *Revue méditerranéenne de chimie*, 10 (4); 396-405.
 - **Heghes S.C, Vostinaru O, Rus M.L, Mogosan C, Luga C.A and Filip L, 2019.** Antispasmodic effects of essential oil and their constituents' review, *Molécule*, 24(9); 1675-1704.
 - **Hermes-Lima M, 2004.** Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals, *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*, 1; 319-366.
- I-
- **Iserin P, 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparation, soin. Ed Larousse, 267 p.

-J-

- **Jennan S, Fouad R, FarahA, Boustia D and Mahjoubi F, 2018.** Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oils of three *Satureja* Species (*Satureja briquetii*, *Satureja atlantica* and *Satureja alpina*) Growing Wild in the Middle Atlas Mountains of Morocco, *Journal for Medicinal chemistry and Pharmaceutical*, 10 (6); 75-80.

-K-

- **Kaloustian J et Hadji-Minaglou F, 2012.** La connaissance des huiles essentielles. qualilogie et aromathérapie. Springer, France 210 p.
- **Kamra D.N, Agarwal N and Chaudhary L.C, 2006.** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds, *International Congress Series*, 1293; 156-163.
- **Kawabata K, Yoshioka Y et Terao J, 2019.** Rôle du microbiote intestinal dans la biodisponibilité et les fonctions physiologiques des polyphénols alimentaires, *Molécules*, 24(2) ; 370.
- **Kerbouche L, Hazzit M and Baaliouamer A, 2013.** Essential oil of *Satureja calamintha subsp. nepeta* L. Briq, from Algeria: Analysis, antimicrobial and antioxidant activities, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(4); 266-272.
- **Kerbouche L, 2016.** Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles et d'extraits non volatils de sarriette (*Satureja calamintha Scheele*), d'origan (*Origanum floribundum Munby*), de germandrée (*Teucrium polium Briq.*) et de khella (*Ammi visnaga Lamk*), Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach, Alger, Algérie, 137 p.
- **Kessel L, Tendal B, Jorgensen K.J, Erngaard D, Flesner P, Andresen J.L et Hjortdal J, 2014.** Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and non steroidal anti-inflammatory eye drops, *Ophthalmology*, 121(10); 1915-1924.
- **Khanbabae K and Ree T.R, 2001.** Tannins: Classification and definition, *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18; 641-649.
- **Kindt T.J, Goldsby R.A, Osborne B.A et Fridman C, 2008.** Immunologie: Le cours de Janis Kuby. 6e édition, Paris, 704 p.

- **Kœchlin-Ramonatxo C, 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires, *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 ; 165–177.
- **Kone D, 2008.** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant, thèse de doctorat, France, université de Paul Verlaine de Metz-UPVM, France, 22 p.
- **Koudou J, Aklikoküll K, Gbeassor M and Bessiere M.J, 2001.** Composition chimique activité anti-contraindant de l'huile essentielle de *Mondora myristica* (Gaertn) de la République Centrafricaine, *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 1; 59-67.
- **Kumar V, Abul K.A, Nelso F and Richard N, 2007.** Robbins Basic Pathology, 8th Edition, Elsevier, Philadelphia, 960 p.

-L-

- **Labiod R, 2016.** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide, thèse de doctorat, université d'Annaba, Algérie, 115 p.
- **Lakhdar L, 2015.** Évaluation de l'activité anti microbienne d'huile essentielle marocaine sur Aggrega Bacter Actinomycetemcomitans, thèse de doctorat, Maroc, 164 p.
- **Leal-Cardoso J.H, Lahlou S, Coelho-de-Souza A.N, Criddle D.N, Pinto Duarte G.I.B, Santos M.A.V and Magalhães P.J.C, 2002.** Inhibitory actions of eugenol on rat isolated ileum, *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 80; 901-906.
- **Li Y.X, Liu Y, Ma A, Bao Y, Wang H and De Zhen Liang S, 2017.** In vitro antiviral, anti-inflammatory, and antioxidant activities of the ethanol extract of *Mentha piperita* L. *Food Science Biotechnology*, 26 (6); 1675-1683.
- **Liang Y.Z, Xie P and Chan K, 2004.** Quality control of herbal medicines, *Journal of chromatography B*, 812(1); 53-70.
- **Lucchesi M.E, 2005.** Extraction sans solvant assisté par micro-onde conception et application à l'extraction des huiles essentielles, thèse de doctorat, université de la Réunion, Saint-Denis, France, 143 p.

- **Lutz L, 1940.** Le rôle biologique des essences dans les plantes, *Bulletin society of Chimistry Biology*, 22; 497-505.

-M-

- **Mamadou B, 2011.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea la tifoliasmith* une plante médicinales africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako, Mali, 27 p.
- **Manisha N, Whidul H, Richa R and Deepali J, 2017.** Oxidative stress and antioxidants: An overview, *International Journal of Advanced Research and Review*, 2(9); 110-119.
- **McGarvey D.J and Croteau R, 1995.** Terpenoid metabolism. *Plant Cells*, 7; 1015-1026.
- **Medjdoub A.M, Moussaoui A, Benmehdi H and Oukali Z, 2022.** Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Satureja Calamintha Spp. Nepeta L Briq.* Against some toxinogenous mold, *national volatiles and essential oils*, 9(1); 1981-2000.
- **Marfak A, 2003.** Radiolyse gamma des flavonoïdes, étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides, thèse de doctorat, université de Limoges, France, 187 p.
- **Merouane A, Noui A, Ali K.N et Saadi A, 2014.** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(4) ; 1865-1870.
- **Migdal C and Mireille S, 2011.** Réactive oxygen species and of oxydative stress, *Medecine Science*, 405-412.
- **Mika A, Minibayeva F, Beckett R and Luthje S, 2004.** Possible functions of extracellular peroxydase in stress-induces generation and detoxification of active oxygen species, *Phytochemistry reviews*, 3(1-2); 173-193.
- **Mohammedi Z, 2013.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud Ouest de l'Algérie, thèse de doctorat, université de Tlemcen, Algérie, 160 p.
- **Moleyear V and Narasimham P, 1992.** Antibacterial activity of essential oil components, *International Journal of Food Microbiology*, 16(4); 337-342.

- **Murry R.D, Mendez J and Brown S.A, 1982.** The natural coumarins occurrence chemistry and biochemistry, Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York, England, 702 p.

-N-

- **Nagendran B, Kalyana S and Samir S, 2006.** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99 ; 191-203.
- **Naghibi F, Mosaddegh M, Motamed S-M and Ghorbani A, 2005.** Labialae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2; 63-79.
- **Nicholas H.J, 1973.** Phytochemistry organic metabolites, Yonkers, New York, 121 p.
- **Noack M et Kolopp-Sarda M.N, 2018.** Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 499 (3) ; 28- 37.
- **Noipa T, Supalax S, Thawatchai T and Wittaya N, 2011.** New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems, *Food search International*, 44; 798-806.

-O-

- **Ouédraogo N, Lompo M .R.W, Sawadogo A et Tibiri, 2012.** Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus Poir.* (Fabaceae), *Pharmacognosie et phytothérapie*, 10(5) ; 286-292.

-P-

- **Parihar A, Parihar M.S, Milner S and Bhat S, 2008.** Oxidative stress and antioxidative mobilization in burn injury, *Burns*, 34; 6-17.
- **Piquet M.A et Hébuterne X, 2007.** Nutrition en pathologie digestive. Ed Doin, 253 p.
- **Pisoschi A.M and Pop A, 2015.** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97; 55-74.

- **Poljsak B, Šuput D and Milisav I, 2013.** Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013; 11-18.
- **Popovici C, Saykova I et Tylkowski B, 2009.** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de Génie industriel*, 4 ; 25-39.
- **Poston L et Raijmakers M, 2004.** Trophoblast oxidative stress, *Antioxidants and Pregnancy Outcome*, 18; 72-78.
- **Price I and Price S, 2004.** Understanding hydrolats: The specific hydrosols for aromatherapy, Ed. Churchill Livingstone.londres, Royaume-Uni. 312 p.
- **Price S and Price L, 2007.** Aromatherapy for health professionals, 3rd ed. Churchill Livingstone: London, 576 p.
- **Prior R.L, Wu X and Schaich K, 2005.** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10); 4290-4302.
- **Privas E. 2013.** Matériaux lignons-cellulosiques « Elaboration et caractérisation », thèse de doctorat, l'école national supérieur des mines, Paris, France, 166 p.
- **Prochazkova D, Bousova I and Wilhelmova N, 2011.** Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids, *Fitoterapia*, 82; 513-523.

-Q-

- **Quezel P et Santa S, 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, France, 1170 p.

-R-

- **Radi F.Z, El Hamzaoui N , Regragui M, Kholtei A and Oulhaj H, 2020.** The Antibacterial Effect of Essential Oils of *Satureja calamintha subsp.nepeta* L. *Briq*, *Lavandula multifida* L. and *Mentha pulegium* L. Tested against some multiresistant strains that are involved in nosocomial infections, *Phytothérapie*, 18; 375-385.

- **Rahmani S, Belboukhari N, Sekkoum K et Cheriti A, 2016.** Evaluation de L'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum Feei* (plumbaginacea), *Algerian journal of Environement*, 6(1) ; 80-86.
- **Ramadan M.F, 2010.** Rapid antiradical method for screening deep fried oils, *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 55(1); 47-50.
- **Randrianarivelo R, 2010.** Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar *Cinnamosma fragrans*, alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Antananarivo, université d'Antananarivo, thèse de doctorat, université d'Antananarivo, Madagascar, 179 p.
- **Ritcher G, 1993.** Metabolisme de végétales physiologies et biochimie. Press Polytechnique et Universitaire Romandes ,544 p.
- **Roifman I, Beck P.L, Anderson T.J, Eisenberg M.J and Genest J, 2011.** Chronic inflammatory diseases and cardiovascular risk: a systematic review, *Canadien Journal Cardiologie*, 27; 174-182.
- **Rossi P.G, Berti L, Panighi J, Luciani A, Maury J, Muselli A, De Rocca, Serra D, Gonny M and Bolla J.M, 2007.** Antibacterial action of essential oils from Corsica, *Journal of Essential Oil Research*, 19(2); 176-182.
- **Rouibi A, Chabane D, Saidi F et Azine K, 2013.** Étude comparative de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. et de l'ibuprofène chez les souris, *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 8(2); 131-137.

-S-

- **Sahraoui I et Siouani I, 2019.** Diversité des activités biologiques de quelques plantes médicinales *Globularia alypum* L. et *Mentha rotundifolia* L, Mémoire fin d'étude, Université d'Oum El Bouaghi, Algérie, 64 p.
- **Salle J.L, 1991.** Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathothérapie. Ed. Frison-Roche, Paris, 167 p.
- **Sangwan N.S, Farooqi A.H, Shabih F and Sangwan R.S, 2001.** Regulation of essential oil production in plants, *plant growth regulation*, 34; 3-21.
- **Satrani B, Ghanmi M, Farah A, Aafi A, Fougrach H, Bourkhiss B and Talbi M, 2007.** Chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*, *Bulletin de la Société de pharmacie Bordeaux*, 146 ; 85-96.

- **Schauenburg P and Paris, 2005.** Guide des plantes médicinales:Analyse, description et utilisation de 400 plantres. Paris, Delachaux et Niestlé, 396 p.
- **Senatore F, Arnold N.A and Piozzi F, 2004.** Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. Var. *simplicifolia* Boiss. Growing wild in Lebanon, *Journal of chromatography A*, 1052(1); 237-240.
- **Sene M, Ndiaye M, Barboza F.S, Diatta W, Sarr A, Ndiaye-Sy A, Dieye A.M and Yoro-SY G, 2016.** Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq. (ARECACEAE) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine, *International Journal of Biological Chemistry Science*, 10(6) ; 2568-2574.
- **Sereme A, Millogo-Rasolodimby J, Guinko S et Nacro M, 2010.** Anatomie et concentration des tannins des plantes tannifères du Burkina Faso, *Journal des Sciences*, 10 (2) ; 55-61.
- **Sharififar F, Moshafi M.H, Mansouri S.H, Khodashenas M and Khoshnoodi M, 2007.** In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss, *Food Control*, 18; 800-805.
- **Slavkovska , Jancic R, Bojovic S, Milosavljevic S and Djokovic D, 2001.** Variability of essential oils of *Satureja montana* L. and *Satureja kitaibelii* Wierzb, from the central part of the Balkan Peninsula, *Phytochemistry*, 57(1); 71-76.
- **Smythies J.R, 1998.** Every person's guide to antioxidants. Rutgers University Press, 180 p.
- **Sousa P.J.C, Linard C.F.B.M, Azevedo-Batista D, Oliveira A.C, Coelho-de-Souza A.N and Leal-Cardoso J.H, 2009.** Antinociceptive effects of the essential oil of *Mentha x villosa* leaf and its major constituent piperitenone oxide in mice, *Brazilian Journal of Medical and Biology Research*, 42; 655-659.

-T-

- **Tajmirali S, Setorki M and Hooshmandi Z, 2018.** Antinociceptive (acetic acid test) and anti-inflammatory effects of *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil in male mice, *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3(89); 527-534.
- **Tamert A.L, 2015.** Activité antioxydante des extraits de six Lamiaceae aromatiques de l'Algérie occidentale, *Phytothérapie* : 1-8 p.

- **Tiendrebeogo R.Y, 2012.** Screening pharmacologique de substance d'origine naturelle de synthèse, thèse de doctorat, université de Mohhamed V, Rabat, Maroc, 162 p.
- **Timbo B, 2003.** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica* Vahl (MELIACEAE), thèse de pharmacie, Bamako, Mali, 108 p.
- **Toubal S, 2018.** Caractérisation de la relation chémotypes de l'ortie-bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur *Culex sp*, thèse de doctorat, université M'hamed Bougara, Boumerdes, Algérie, 166 p.
- **Toure D, 2015.** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire, thèse de doctorat en biochimie, université d'Houphouët- Boigny, Cote D'Ivoire, 94 p.

-V-

- **Vârban D, Duda M, Varban R and Muntean S, 2009.** Research concerning the organic technology for *Satureja Hortensis L. Culture*. *Bulletin UASVM Agriculture*, 66 (2); 225-229.
- **Veres, 2007.** Variability and biologically active components of some Lamiaceae species, thesis., university of Szeged, Hunngary, 48 p.
- **Vogel H and Vogel W, 1997.** Drug discovery and evaluation, pharmacological assays, 3^{ème} edition. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2068 p.

-W-

- **Wang W, Wu N, Zu Y.G and Fu Y.J, 2008.** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components, *Food chemistry*, 108(3); 1019-1022.
- **Wantana R, Tassanee N and Subhadhirasakul S, 2009.** Antinociceptive, antipyretic activities of *Putranjiva roxburghii* Wall extract in experimental animals, *Journal of National Medecine*, 63(3); 290-6.

-Y-

- **Yahfoufi N, Alsadi N and Matar C, 2018.** The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenol, *nutrients*, 10(11); 1618-1625.
- **Yarnell E, 2007.** Plant chemistry in veterinary medicine: Medicinal constituents and their mechanisms of action, *Veterinary herbal medicine*, 159-182.

-Z-

- **Zlotorzynski A.L, 1995.** Microwaves assisted extraction of essentials oils from vegetal material, *Analytic Chemistry*, 25(1); 43-76.
- **Site internet :**
https://www.doctissimo.fr/html/medicaments/articles/sa_4087_antispasmodiques.htm



Annexes

Annexe 1 : Matériels non biologiques

Réactifs	Verreries	Appareils et équipements
Acide chlorhydrique	Bécher	Agitateur
Acide acétique à 1%	Eprouvettes	Bain marie
Acide ascorbique (vitamine C)	Erlenmeyer	Balance analytique
Acétate de sodium	Entonnoirs	Lampe UV
Ammoniaque concentré 50%	Flacon opaque	Spectrophotométrie
Propanol	Tubes à essai stériles	Réfrigérant
Chlorure ferrique	Spatules	Etuve
Coupons de Magnésium (Mg^{2+})	Pipettes graduées	Plaque chauffante
Ethanol	Fiole	Cage transparente pour les observations
	Pipette pasteur	Seringue
Réactif de Dragendroff		Bistouri
DPPH		
Acide sulfurique		
Carragénine		
Diclofénac®75mg		
Paralgon		
Eau physiologique		

Annexe 2 : Préparation des réactifs et des solutions

- **Réactif de dragendroff** : il s'agit d'un mélange (v/v) de deux solutions A et B.

Solution A

-Nitrite de bismuth.....0,85 g
 -Eau distillée40 ml
 -Acide acétique.....10 ml

Solution B

-Iode de potassium.....8 g
 -Eau distillée.....2 ml

On mélange les deux solutions (A et B) ; ensuite on ajoute 20ml de l'acide acétique et on complète à 100ml avec de l'eau distillée.

- **Réactif de Fehling** : il s'agit d'un mélange (v/v) de deux solutions A et B

Solution A

- $CuSO_4$35 g
 -Eau distillée.....500 ml

-H₂SO₄..... 5 ml

Laisser refroidir et compléter à 1 litre de l'eau distillée.

Solution B

-Sel de seignette.....150 g

-Eau distillée.....500 ml

Laisser refroidir et ajouter 300ml de lessive de non carbonatée puis ajuster jusqu'au 1L avec de l'eau distillée.

➤ **Acide ascorbique**

Il consiste à mélanger dans un bécher 10 mg de l'acide ascorbique avec 10 ml de l'eau distillée.

➤ **Solution de la carragénine**

Nous avons mélangé graduellement une quantité de 0,5 g de la carragénine avec 25 ml de l'eau distillée puis nous avons complété le volume jusqu'à 50 ml.

Annexe 3 : Résultats des rendements de l'extraction.

Essais	Rendements
Essai 1	0,61
Essai 2	0,62
Essai 3	0,51
Moyenne	0,58 ± 0,049

Annexe 4 : Résultats de l'activité antioxydante (Huile essentielle).

Concentrations de l'HE (mg/ml)	10	6	4	2	DPPH
DO à 517 nm	0,316	0,393	0,433	0,464	0,540
% d'inhibition	41,48	27,22	19,81	14,07	

Annexe 5 : Résultats de l'activité antioxydante (Acide Ascorbique).

Concentration de l'AA (µg/ml)	150	100	50	25
DO à 517nm	0,188	0,284	0,466	0,563
% d'inhibition	69,87	54,48	25,32	9,77

Annexe 6 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire.

Lots	Les souris	Poids des pattes gauches	Poids de pattes droites	% d'œdème
Référence : Diclofénac (2,5 mg/kg)	1	0,138	0,13	6,15384615
	2	0,137	0,12	14,16666667
	3	0,131	0,125	4,8
	4	0,161	0,15	7,33333333
	5	0,181	0,17	6,47058824
	moyenne			7,78 ± 3,29
Témoin : Eau physiologique (Nacl à 0,9 %)	1	0,112	0,079	62,3188406
	2	0,105	0,069	62,3188406
	3	0,106	0,088	20,4545455
	4	0,124	0,089	39,3258427
	5	0,128	0,095	34,7368421
	moyenne			43,83 ± 16,32
Essai 1 : dilution 1/20 d'HE (277,7 mg /kg).	1	0,17	0,116	46,5517241
	2	0,174	0,144	20,8333333
	3	0,132	0,115	14,7826087
	4	0,142	0,115	23,4782609
	5	0,175	0,13	34,6153846
	moyenne			28,05 ± 11,26
Essai : dilution 1/30 d'HE (27,7 mg/kg).	1	0,184	0,124	48,3870968
	2	0,191	0,143	33,5664336
	3	0,165	0,131	25,9541985
	4	0,128	0,126	1,58730159
	5	0,162	0,112	44,6428571
	moyenne			30,82 ± 16,64

Annexe 7 : Résultats de l'activité antispasmodique

Lots Souris	Témoin : Eau physiologique (NaCl à 0,9 %)	Référence : Paralgon (500 mg/kg)	Essai 1 d'HE : dilution 1/20 d'HE (277,7 mg /kg)	Essai 2 d'HE : dilution 1/30 d'HE (27,7 mg/kg)
1	18	1	5	0
2	28	1	0	18
3	36	0	24	17
4	16	2	0	28
5	32	1	0	25
Moyenne et écart type	26 ± 7,79	1 ± 0,63	5,8 ± 9,30	17,6 ± 9,72

ملخص

Satureja calamintha L. المعروفة باسم "napta"، هو نبات طبي من عائلة Lamiaceae. يهدف هذا العمل إلى إجراء فحص كيميائي نباتي للمستقلبات الثانوية وكذلك استخراج الزيت العطري من أجل تقييم أنشطته البيولوجية: مضادات الأكسدة، مضادات الالتهابات ومضادات التشنج. أظهر تحقيق الفحص الكيميائي النباتي للمستقلبات الثانوية على الجزء العلوي من هذه النبتة التي تم قطفها من جيجل، وجود مركبات الفلافونويد والأنثوسيانين والعفص الكلي والعفص الغاليك والصابونين والمركبات المرجعة والسكريات والغلوسيدات والستيرولات والتربينات والكومارين وجليكوسيدات القلب؛ والغيا ب التام لأنثوسيانين الليوكو والتانينات الكاتيكونية والكينون الحر. أما المردود الناتج عن التقطير المائي فقد قدر ب $0,58 \pm 0,049$ وزن / حجم. بالإضافة إلى ذلك، أشار تقييم القوة المضادة للجنور التي تم إجراؤها باستخدام طريقة محاصرة الجنور الحرة DPPH، أن الزيت العطري يحتوي على قوة مضادة للأكسدة IC_{50} تبلغ قيمتها 12,026 مغ / مل. من جهة أخرى، أظهرت نتائج دراسة النشاط المضاد للالتهابات باستخدام اختبار تثبيط الودمة (ليفي) أن الزيت العطري له تأثير مضاد للالتهابات بنسبة 35,94%. كما تم تقييم النشاط المضاد للتشنج باستعمال اختبار التقلصات (Wrinting) حيث وفر الزيت العطري من *Satureja calamintha* نسبة حماية بلغت 77,69%. تبين هذه النتائج أن هذا النبات يتمتع بالعديد من القوى العلاجية.

الكلمات المفتاحية: *Satureja calamintha*، الفحص الكيميائي النباتي، الزيت العطري، الفاعلية المضادة للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، النشاط المضاد للتشنج.

Résumé

Satureja calamintha L. connue sous le nom vernaculaire « napta », est une plante médicinale de la famille des Lamiaceae. Ce travail a pour but de réaliser un screening phytochimique des métabolites secondaires ainsi l'extraction de l'huile essentielle afin d'évaluer ses activités biologiques : antioxydante, anti-inflammatoire et antispasmodique. La réalisation d'un screening phytochimique des métabolites secondaires sur la partie aérienne de cette plante provenant de Jijel, a montré la présence des flavonoïdes, des anthocyanes, des tannins totaux, des tannins galliques, des saponines, des composés réducteurs, des oses et holosides, des stérols et terpènes, des coumarines et des glycosides cardiaques ; et l'absence totale des leuco anthocyanes, des tannins catéchiques et des quinones libres. Le rendement obtenu par l'hydrodistillation est de $0,58 \pm 0,049$ (p/v). Par ailleurs, l'évaluation du pouvoir antiradicalaire réalisé en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH, a indiqué que l'huile essentielle possède un pouvoir antioxydant avec une valeur d' IC_{50} de 12,026 mg/ml. De plus, les résultats de l'étude de l'activité anti-inflammatoire par test d'inhibition d'œdème (Levy) montrent que l'huile essentielle présente un effet anti-inflammatoire à 35,94 %. En outre l'activité antispasmodique a été évaluée par le test de crampes (Wrinting) où l'huile essentielle de *Satureja calamintha* fourni un pourcentage de protection de 77,69 %. Ces résultats montrent que cette plante est douée de nombreux pouvoir thérapeutique.

Mots clés : *Satureja calamintha*, screening phytochimique, huile essentielle, pouvoir antioxydant, activité anti-inflammatoire, activité antispasmodique.

Abstract

Satureja calamintha L. known by the vernacular name "napta", is a medicinal plant of the Lamiaceae family. This work aims to carry out a phytochemical screening of the secondary metabolites as well as the extraction of the essential oil in order to evaluate its biological activities: antioxidant, anti-inflammatory and antispasmodic. The realization of a phytochemical screening of secondary metabolites on the aerial part of this plant from Jijel, showed the presence of flavonoids, anthocyanins, total tannins, gallic tannins, saponins, reducing compounds, oses and holosides, sterols and terpenes, coumarins and cardiac glycosides; and the total absence of leuco anthocyanins, catechic tannins and free quinones. The yield obtained by the hydrodistillation is 0.58 ± 0.049 (w/v). In addition, the evaluation of the antiradical power carried out using the method of trapping the free radical DPPH, indicated that the essential oil has an antioxidant power with an IC_{50} value of 12.026 mg/ml. In addition, the results of the study of anti-inflammatory activity by edema inhibition test (Levy) show that the essential oil has an anti-inflammatory effect of 35.94%. In addition, the antispasmodic activity was evaluated by the cramp test (Wrinting) where the essential oil of *Satureja calamintha* provided a percentage of protection of 77.69%. These results show that this plant is endowed with many therapeutic powers.

Keywords: *Satureja calamintha*, phytochemical screening, essential oil, antioxidant power, anti-inflammatory activity, antispasmodic activity.