



UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA

N° d'ordre.....  
N° de série.....

FACULTE DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGÉNIEUR

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de

**MAGISTER**

Spécialité : Biochimie

*Option* : Biochimie et Analyse des Bio-produits

Par : HAMMOUDI Roukia

### THÈME

**Contribution à la mise en évidence de principes actifs  
de plante *Teucrium polium geyrii* provenant de la  
région Tamanrasset**

Soutenu publiquement le : 18/ 02 /2009

**Devant le jury :**

OULD EL HADJ M. Didi	Pr	Univ. Ouargla	<b>Président</b>
HADJ MAHAMMED M.	Pr	Univ. Ouargla	<b>Encadreur</b>
BISSATI Samia	MC <sub>a</sub>	Univ. Ouargla	<b>Examineur</b>
DENDOUGUI Hocine	MC <sub>a</sub>	Univ. Ouargla	<b>Examineur</b>

## **REMERCIEMENTS**

*Tout d'abord, je remercie sincèrement Monsieur HADJ MAHAMMED M., Professeur à la faculté des sciences et sciences de l'ingénieur de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla pour l'honneurs qu'il m'a fait en acceptant d'encadrer ce travail et pour la confiance qu'il m'a accordée en m'accueillant au sein de son équipe au laboratoire de Biogéochimie des milieux désertiques de l'université KASDI MERBAH, Ouargla.*

*Je tiens à remercier Messieurs OULD EL HADJ M. Professeur à la faculté des sciences et sciences de l'ingénieur de l'Université KASDI MERBAH- Ouargla, d'avoir assuré la présidence du jury de ma soutenance et pour ces nombreux conseils et suggestions tant scientifiques que techniques.*

*Je remercie Madame BISSATI S. Maître de conférences à la faculté des sciences et sciences de l'ingénieur de l'université KASDI MERBAH-Ouargla, d'avoir acceptée de juger ce mémoire. Ses critiques constructives ont beaucoup contribué à l'amélioration du manuscrit.*

*J'aimerais également exprimer ma gratitude à Monsieur DENDOUGUI H. Maître de conférences à la faculté des sciences et sciences de l'ingénieur de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla, pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse J'ai beaucoup appris avec lui sur les différentes méthodes de chromatographie.*

*Ce travail de mémoire a été réalisé dans le cadre des activités de recherche du laboratoire de Biogéochimie des milieux désertiques de l'université KASDI MERBAH-Ouargla, que tous ses membres trouvent ici l'expression de ma gratitude.*

*Que tous mes collègues du laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides trouvent ici l'expression de ma reconnaissance et de ma sympathie pour leurs encouragements et leur aide.*

*J'aimerais également citer ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour plusieurs aspects de ce travail. Je remercie en particulier Monsieur KHODIR A, chef département de microbiologie au laboratoire régional de contrôle de qualité (CAQE) ainsi tous les personnels du laboratoire de l'Hôpital M<sup>ed</sup> BOUDIAF à Ouargla pour les analyses biologiques.*

*À Monsieur FERFAD B. et tous les personnels du laboratoire CRAPC à l'USTHB (Alger), pour leurs aides précieuses concernant les analyses de nos extraits*

*J'adresse mes remerciements et ma reconnaissance à tous les enseignants de post-graduation de l'université Ouargla, qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect et grande considération. Je n'oublie pas les étudiants de Post-Graduation de Biochimie et Analyse des Bioproduits, de plus en plus nombreux et tant mieux, que chacun d'eux trouve ici un remerciement particulier.*

*Mes remerciements vont également à mes proches et amis (es) qui m'ont, de près ou de loin, soutenu durant ces années afin de mener à bien ce travail*

*Toute ma gratitude va enfin à mes parents pour leur soutien tout au long des mes études. Merci de vos encouragements et votre présence tout au long de mon cursus. Merci de croire en moi. Trouvez dans ce travail accompli, tous le respect et l'amour que je vous porte.*

# Sommaire

Paragraphe	Titre	Page
	<b>Introduction</b>	1
<b>I</b>	<b>Etude bibliographique</b>	
I.1	Composés phénoliques des plantes	3
I.1.1.	Généralités sur les flavonoïdes	4
I.1.2	Chimie des flavonoïdes	4
I.1.3	Distribution dans les plantes et le règne végétal	6
I.1.4	Propriété et activité biologiques des flavonoïdes	7
I.1.4.1	Rôle dans les plantes	7
I.1.4.2	Importance dans l'alimentation	8
I.1.4.3	Importances biologiques des flavonoïdes	8
I.1.5	Biosynthèse des flavonoïdes.	11
I.1.6	Propriétés physicochimiques et extraction	13
I.2	Huiles essentielles	15
I.2.1	Définition	15
I.2.2	Répartition et rôle écologique	15
I.2.3	Activités biologiques des huiles essentielles	18
I.2.4	Caractéristiques économiques	21
I.2.5	Caractéristiques physiques et organoleptiques	21
I.2.6	Composition chimique des huiles essentielles	22
I.2.7	Les techniques d'extraction des huiles essentielles	25
I.3	Présentation de la plante <i>Teucrium polium geyrii</i> (Lamiaceae)	28
I.3.1.	Famille des Lamiaceae	28
I.3.1.1.	Présentation	28
I.3.1.2.	Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique	28
I.3.1.3.	Chimie des labiées	31
I.3.2.	Genre <i>Teucrium</i>	33
I.3.2.1.	Présentation	33
I.3.2.2	Propriétés pharmacologiques des <i>Teucrium</i>	34
I.3.2.3	Toxicité du <i>Teucrium</i>	35
I.3.2.4	Quelques métabolites secondaires d'intérêt isolés du genre	36
I.3.3.	Espèce <i>Teucrium polium geyrii</i>	38
I.3.3.1	Classification	38
I.3.3.2.	Reconnaissance botanique	39
I.3.3.3.	Description botanique	39
I.3.3.4.	Situation	40
I.3.3.5.	Utilisation dans la médecine traditionnelle	40
I.3.3.6.	Travaux antérieurs sur <i>Teucrium polium</i>	42
I.4.	Activité antibactérienne	44
I.4.1	Méthodes de détermination de l'activité	44
I.4.2	Facteurs impliqués dans la détermination de l'activité	47
I.4.3	Quelques microorganismes incriminés	47
<b>II</b>	<b>Matériels et méthodes</b>	50
II.1.	Récolte du matériel végétal	51
II.2.	Tests chimiques préliminaires	52
II.3	Flavonoïdes de <i>Teucrium polium geyrii</i>	54
II.3.1	Extraction des flavonoïdes	54

II.3.2	Quantification des composées phénoliques	57
II.3.3	Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)	58
II.3.4	Analyse par chromatographie liquide (HPLC)	60
II.3.5	Analyse des extraits par Spectrophotométrie UV/Visible	61
II.3.6	Analyse des extraits par Spectrométrie Infrarouge (IR)	62
II.4	Huiles essentielles de <i>Teucrium polium gyrri</i>	62
II.4.1	Extraction des huiles essentielles	62
II.4.1.1	Extraction par entraînement à la vapeur	62
II.4.1.2	Extraction par l'hydrodistillation	63
II.4.2	Analyse des huiles essentielles par GC/FID et GC/MS	64
II.4.3	Conditions expérimentales utilisés en GC/FID et GC/MS	68
II.5	Activité antibactérienne des extraits	71
<b>III</b>	<b>Résultats et discussions</b>	72
III.1	Tests chimiques préliminaires	72
III.2	Flavonoïdes de <i>Teucrium polium gyrri</i>	73
III.2.1	Extraction des flavonoïdes	73
III.2.2	Quantification des composées phénoliques	74
III.2.3	Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)	76
III.2.4	Analyse par chromatographie liquide (HPLC)	81
III.2.5	Analyse par Spectrophotométrie UV/Visible	84
III.2.6	Analyse par Spectrométrie Infrarouge (IR)	85
III.3	Huiles essentielles de <i>Teucrium polium gyrri</i>	88
III.3.1	Extraction des huiles essentielles	88
III.3.2	Analyse des huiles essentielles par GC/FID et GC/MS	88
III.4	Activité antibactérienne	105
	<b>Conclusion</b>	110
	<b>Références bibliographiques</b>	112

## LISTE DES FIGURES

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
Fig. 1	Structure de base des flavonoïdes.	4
Fig. 2	Les diverses classes de flavonoïdes d'après BRUNETON	5
Fig. 3	Rôle des anthocyanes dans la coloration des fleurs et des fruits	7
Fig. 4	Schéma de la biosynthèse des flavonoïdes illustrant les enzymes impliquent	12
Fig. 5	Relation entre la fleur de l'orchidée <i>Ophrys sphegodes</i> et son pollinisateur, un mâle de l'espèce solitaire d'abeille <i>Andrena nigroaenea</i>	17
Fig. 6	Interactions entre les plantes, les herbivores et les ennemis des herbivores, sous le contrôle des terpènes volatils	18
Fig. 7	Structure de l'isoprène	23
Fig. 8	Exemple des composants monoterpéniques	23
Fig. 9	Exemple des composants sesquiterpéniques : $\beta$ -Cadinène	23
Fig. 10	Exemple des composants diterpéniques : Vitamine A	24
Fig. 11	Exemple des composants triterpéniques : Le squalène	24
Fig. 12	Exemple des polyterpènes	24
Fig. 13	Distribution des parties de plantes utilisées dans Labiatae	29
Fig. 14	des composés de 3,4-ihydroxyphenylethanoïde dans la famille de lamiaceae	32
Fig. 15	Fruticulin A et Demethylfruticulin A de l'espèce <i>Salvia arizonica</i>	32
Fig. 16	les composés de l'extrait éther diéthylique de la partie aérienne de <i>Becium gretiflorum</i>	33
Fig.17	<i>Teucrium polium geyrii</i>	38
Fig. 18	l'activité antioxydante de <i>Teucrium polium</i> par le test a) DPPH, b) TAP, et c) TBARS comparé à ce de $\alpha$ - tocophérol dans sang de rat.	41
Fig. 19	Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de Pétri	45
Fig. 20	Les étapes d'extraction des flavonoïdes par soxhlet et par macération.	55
Fig. 21	Montage expérimental de l'extracteur soxhlet	56
Fig. 22	Représentation des différents éléments composant la chaîne HPLC	60
Fig. 23	Appareillage utilisé au cours du procédé de l'hydrodistillation	63
Fig. 24	Représentation des différents éléments composant la CPG	65
Fig. 25	schéma du principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse	67
Fig. 26	Identification des composés d'une huile essentielle par CPG et CPG/SM.	70
Fig. 27	courbe d'étalonnage de l'acide gallique	74
Fig. 28	courbe d'étalonnage de la vitexine	74
Fig. 29	chromatogramme de T <sub>4</sub> obtenu par CCM sur cellulose	78
Fig. 30	Chromatogrammes des extraits obtenus par CCM.	79
Fig. 31	Chromatogrammes des extraits obtenus par CCM sur plaque de silice.	80
Fig. 32	chromatogramme de T <sub>5</sub> obtenu par CCM sur plaque de silice	81
Fig. 33	chromatogramme de l'extrait T <sub>3</sub> obtenu par HPLC	83
Fig. 34	spectre UV de l'extrait T <sub>5</sub>	84
Fig. 35	spectre UV de l'extrait T <sub>6</sub>	84
Fig. 36	spectre UV de l'extrait T <sub>4</sub>	85
Fig. 37	spectre UV de l'extrait T <sub>2</sub>	85

Fig. 38	spectre UV de l'extrait T <sub>3</sub>	86
Fig. 39	spectre IR de l'extrait T <sub>3</sub>	87
Fig. 40	Chromatogramme d'huile essentielle de <i>Teucrium polium geyrii</i> obtenu par entraînement à la vapeur	89
Fig. 41	Chromatogramme d'huile essentielle de <i>Teucrium polium geyrii</i> obtenu par l'hydrodistillation	89
Fig. 42	Chromatogramme de l'huile essentielle extrait par entraînement à la vapeur de la plante <i>Teucrium polium geyrii</i> obtenu par CPG	101
Fig. 43	Spectres de masses de quelques composés majoritaires d'huile essentielle de la plante	104
Fig. 44	Activité des extraits de <i>Teucrium polium geyrii</i> sur les différentes souches bactériennes	106
Fig. 45	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Streptococcus cremoris</i>	107
Fig. 46	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Coliformes fécaux</i>	107
Fig. 47	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	108
Fig. 48	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Klebsilla pneumoniae</i>	108
Fig. 49	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Staphye blanc</i>	108
Fig. 50	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Actinobactere sp</i>	108
Fig. 51	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Enterobactere sp</i>	109
Fig. 52	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Escherichia coli</i>	109
Fig. 53	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	109
Fig. 54	Activité des extraits du <i>Teucrium polium geyrii</i> sur <i>Proteus mirabilis</i>	109

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
Tableau I	Activités antioxydantes relatives de phénylpropanoïdes présents dans les aliments comparées à celles des vitamines C et E	9
Tableau II	Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique	20
Tableau III	Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille Labiatea	31
Tableau IV	Quelques métabolites isolés du genre <i>Teucrium</i>	36
Tableau V	les Flavonoïdes des espèces de <i>Teucrium</i> d'après HARBORNE J B. et al, (1986)	37
Tableau VI	Quelques exemples de composés isolés des <i>Teucrium polium</i>	43
Tableau VII	Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés de 10 µl d'huiles essentielles (BELAICHE, 1979).	46
Tableau VIII	Les résultats de l'enquête ethnobotanique	51
Tableau IX	Condition opératoire en HPLC	61
Tableau X	Conditions expérimentales utilisés en l'extraction par l'entraînement à la vapeur	63
Tableau XI	Conditions expérimentales utilisés en l'extraction par L'hydrodistillation	63
Tableau XII	Matériel et logiciels utilisés en GC/MS	68
Tableau XIII	Conditions expérimentales en GC/MS	68
Tableau XIV	Matériel et logiciels utilisés en GC/FID	69
Tableau XV	Conditions expérimentales en GC/FID	69
Tableau XVI	Résultats des tests chimiques de La plante <i>Teucrium polium gyrif</i>	72
Tableau XVII	Caractéristiques des extraits phénoliques obtenus par macération et au Soxhlet à partir de la plante <i>Teucrium polium gyrif</i>	73
Tableau XVIII	Résultat de Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes	75
Tableau XIX	Résultats de CCM de <i>Teucrium polium gyrif</i> sur polyamide	76
Tableau XX	Résultats de CCM de <i>Teucrium polium gyrif</i> sur gel de silice.	77
Tableau XXI	Résultats de CCM de <i>Teucrium polium gyrif</i> sur RP <sub>18</sub>	78
Tableau XXII	Fluorescence des composés phénoliques d'après RIBEREAU-GAYON P, (1968)	82
Tableau XXIII	Constituants identifiés dans l'huile essentielle de <i>Teucrium polium gyrif</i> obtenu par entraînement à la vapeur	90
Tableau XXIV	Constituants identifiés dans l'huile essentielle de <i>Teucrium polium gyrif</i> obtenu par l'hydrodistillation	94
Tableau XXV	Comparaison des pourcentages en composés majoritaires	102
Tableau XXVI	les résultats des tests d'activité antimicrobienne des extraits	105

## Liste des abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle

AcOH : acide acétique

AMDIS: Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System

BAW : Butanol / Acide acétique/Eau (Water)

CC : Chromatographie sur Colonne

CCM : Chromatographie sur couche mince

CPG-SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EtOH : Ethanol

GC : Gas Chromatography (Chromatographie en phase gazeuse)

GC/FID : Chromatographe en phase gazeuse avec un FID comme détecteur

GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HPLC : chromatographie liquide haute performance

IK: Indice de rétention (selon Kovats)

IR : Infrarouge

MeOH : Méthanol

n-BuOH : n-Butanol

R<sub>f</sub>: Facteur de rétention

RMN <sup>1</sup>H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton

RMN <sup>13</sup>C : Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13

RP <sub>18</sub> : Phase stationnaire de silice greffée en octadécyle (Reverse Phase C-18)

Tol. : toluène

t<sub>R</sub> : Temps de rétention

UV/Vis Ultraviolet / visible



Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (GURIB-FAKIM, 2006).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves).décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (ISERIN, 2001).

De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques (ISERIN, 2001; ABDOLLAHI, 2003)

La majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. Affichant un taux de croissance annuel de 25 %, les plantes médicinales forment un créneau en plein essor du secteur des médecines douces. Aux États-Unis, 250 entreprises produisent des produits à base de plantes médicinales ou d'herbes, ce qui a mené à des ventes de 2,5 milliards de dollars en 1996 (LAQUATRA, 1999). Les plante médicinales représentant la seule source de médicaments pour près de 90% de la population de certains pays d'Afrique (ISERIN, 2001).

L'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400'000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimiques, biologiques et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents (HOSTETTMANN, 1982 ; ABDOLLAHI, 2003).

C'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés à la contribution d'une plante issue de la région de Tamanrasset, en l'occurrence *Teucrium polium geyrii*. Tamanrasset représente une région montagneuse du Sahara central algérien, où les plantes médicinales suscitent un intérêt aussi bien par les habitants que par les scientifiques (BENCHELAH, et al. 2004).

La plante choisie dans notre travail est de la famille Lamiaceae, nommée Takmazzut par les Touareg, est très appréciée pour parfumer le thé. Comme l'armoise, elle fait l'objet d'un commerce avec l'Afrique noire. En médecine traditionnelle, elle a une place importante en raison de ses indications thérapeutiques. Mais elle semble n'avoir jamais été étudiée chimiquement contrairement à d'autres sous espèces du même genre.

La présente étude portera sur l'extraction et l'analyse (qualitative et semi-quantitative) de certains métabolites secondaires : les flavonoïdes et les huiles essentielles, et une contribution à la mise en évidence de leurs activités biologiques.

Ce mémoire comprend 3 grands chapitres : le premier est divisé en quatre parties. La première est consacrée à une étude bibliographique sur les composés phénoliques des plantes plus particulièrement les flavonoïdes. La deuxième partie traite sur les huiles essentielles suivi par une bibliographie exhaustive de la plante sélectionnée pour cette étude. La dernière partie sera consacrée à l'activité antibactérienne.

Le deuxième chapitre illustre les matériels et méthodes utilisés dans les différentes manipulations. Nous aborderons les conditions opératoires des procédés employés à l'échelle de laboratoire, avec une présentation des techniques d'extractions, de séparation et d'analyse utilisées. Nous traiterons enfin des protocoles utilisés au cours des tests biologiques ainsi que dans la détermination des composés isolés.

Enfin, le troisième et dernier chapitre est consacré aux résultats obtenus accompagnés d'une discussion et ponctués d'une conclusion générale.

## **Résumé :**

Afin de contribuer à la valorisation des plantes médicinales locales réputées pour leurs vertus thérapeutiques, nous avons effectué une étude d'activité biologique de certains métabolites secondaires : les flavonoïdes et les constituants des huiles essentielles extraites à partir de la plante *Teucrium polium geyrii* qui appartient à la famille de Lamiacées issue de la région de Tamanrasset.

La plante a été soumise à deux types d'extraction des composés phénoliques, la macération, et Soxhlet. L'analyse semi-quantitative réalisée par colorimétrie, a montré que notre plante est très riche en composés phénoliques.

L'extraction des huiles essentielles, à partir de la partie aérienne de la plante, a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau et à l'hydrodistillation et a conduit à des rendements d'extractions différentes. L'étude de la composition chimique de ces huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse seule et couplée à la spectrométrie de masse a permis d'identifier 75 constituants pour le premier mode d'extraction et 97 composés dans le deuxième cas avec comme produits majoritaires le  $\delta$ -Cadinène (8.17 %) et le Limonène (11.18%) respectivement. Les sesquiterpènes sont les constituants dominants dans les deux types d'extraction.

L'activité antibactérienne réalisée sur treize souches bactériennes pathogènes et d'altération a montré que les extraits testés sont doués d'activité antibactérienne intéressante.

**Mots clés:** Plante médicinale, *Teucrium polium geyrii*, activité antibactérienne, Tamanrasset, flavonoïdes, huiles essentielles.

## **Abstract:**

In order to contribute to the well-known local medicinal plant valorization for their therapeutic virtues, we did a survey of biological activity of some secondary metabolites: flavonoids and essential oils extracted from the plant *Teucrium Polium geyrii* that belongs to the family of the Lamiacées topic in the region of Tamanrasset.

The plant has been subject to two types of phenolic compounds extraction, the first was made by macerating, and the second by Soxhlet. The semi-quantitative analysis carried out by colorimetry showed that our plant is very rich in phenolic compounds.

The essential oils, of the aerial parts of *Teucrium Polium geyrii* was obtained by steam distillation and also by hydrodistillation and drove to outputs of different extraction.

The Analysis of the chemical composition of these essential oils by gas chromatography GC-FID and GC-MS technique permitted to identify Seventy-five constituent for the first fashion of extraction and 97 composed in the second case with as majority products the Cadinène (8.17%) and the Limonène (11.18%) respectively. Let's note that sesquiterpènes are the constituent dominant in the two types of extraction.

The antibacterial activity carried out on thirteen pathogens and alteration bacterial shows that the tested extracts are endowed with interesting antibacterial activity.

**Key words:** medicinal plant, *Teucrium Polium geyrii*, antibacterial activity, flavonoids, essential oil. Tamanrasset,



## I.1. Les composés phénoliques des plantes

La biosynthèse du noyau aromatique est un processus fondamental de la biochimie végétale. Par conséquent, la définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside (BRUNETON, 1999). Leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les tissus et les stades physiologiques. (RIBEREU-GAYON, 1968) Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et un bon témoin de l'extraordinaire capacité de biosynthèse des plantes. Capacité qui permet à l'homme de les utiliser dans des domaines aussi variés (SARNI- MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'année un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des épidémiologistes, des industriels, de l'agro-alimentaire et des consommateurs (PROESTOS et al., 2006). Une des raisons principales est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans les aliments puisque l'homme en consomme environ un gramme par jour. Les aliments riches en polyphénols représentent ainsi un atout potentiel considérable pour le maintien de la santé (SARNI- MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

Ces composés jouent un rôle important dans la croissance et la reproduction, offrant une protection contre prédateurs et agents pathogènes (BRAVO, 1998), en plus de contribuer vers la couleur et de caractéristiques sensorielles fruits et légumes. Le bénéficiaire effets dérivés de composés phénoliques a été attribué à leur activité antioxydante (BOULANGER et POLONVSKI, 1969 ; BALASUNDRAM et al., 2006).

Ces composés ont été signalés de posséder non seulement une activité anti-oxydante, mais aussi des propriétés antiviraux et antibactériens (KAN Y. et al; 2007).

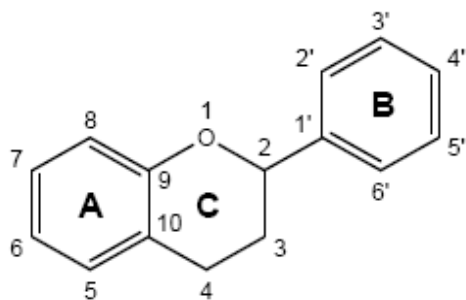
Les noyaux aromatiques de polyphénols peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates intervient chez les végétaux supérieurs pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes) (BOULANGER et POLONVSKI, 1969).

### I.1.1. Généralités sur les flavonoïdes

Occupant une place prépondérante dans le groupe de produits naturels phénoliques, Les flavonoïdes sont une classe de composés ubiquitaires dans les plantes vasculaires. (WARIDEL P., 2003) A ce jour, plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été décrits. On estime que 2 % environ du carbone organique photosynthétisé par les plantes, soit quelques  $10^9$  tonnes par an, sont converties en flavonoïdes (AGRAWAL, 1989 ; HARBOON et al, 1999).

### I.1.2 Chimie des flavonoïdes

Flavonoïdes (de *flavus*, « jaune » en latin) est le terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 carbones, qui à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles phényles, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C. (GROTEWOLD, 2006) Fig. 1.

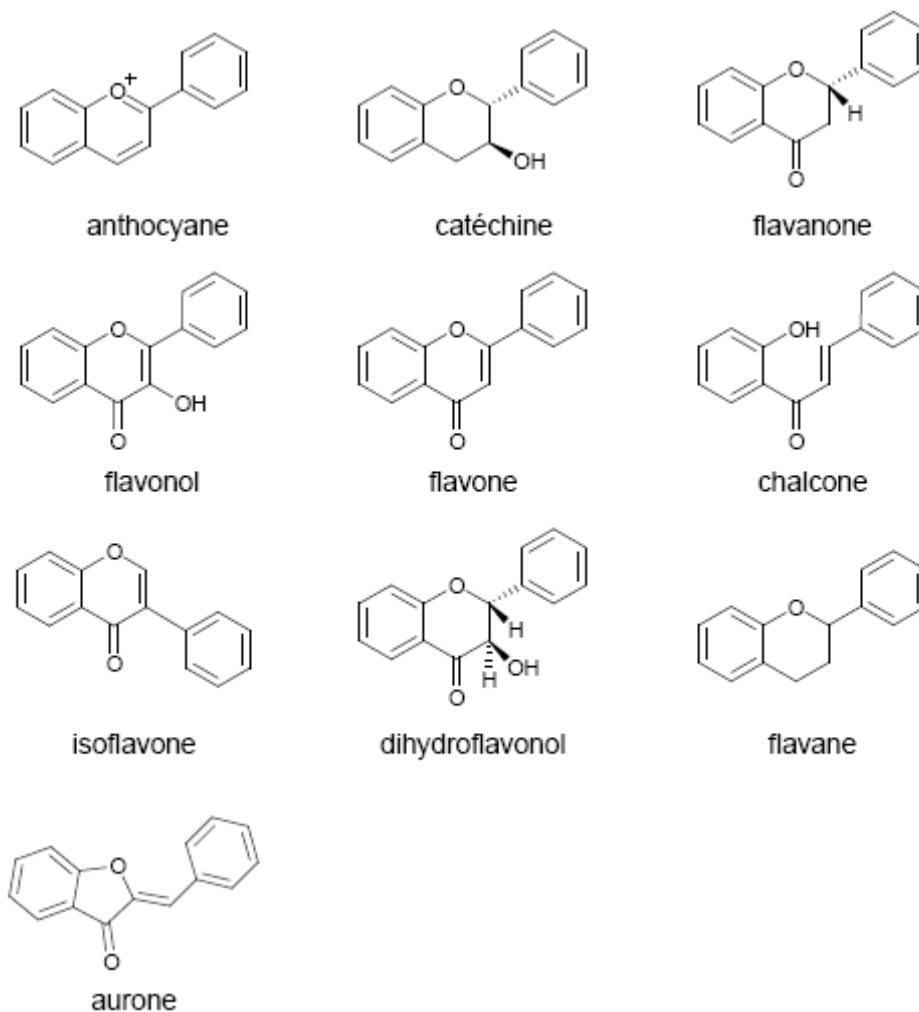


**Fig. 1-** Structure de base des flavonoïdes.

Les diverses classes de flavonoïdes diffèrent en fonction de la cyclisation et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C alors que les composés individuels au sein d'une classe diffèrent par la substitution des cycles A et B. Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes présentées Fig. 2, nous citerons les principales : anthocyanes, flavanols, flavones, flavanones, isoflavones et proanthocyanidols. (HARBORNE, 1988 ; BALASUNDRAM, 2006)

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4' et/ou 5'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés. Dans les plantes, les flavonoïdes sont souvent présents sous forme C- ou O-

glycosylés ; les formes libres, sans sucres attachés, sont appelées génines. Les *O*-glycosides, de loin les plus fréquents, portent leurs substituants sur les groupements hydroxyles de la génine, alors que pour les *C*-glycosides, la liaison se fait directement avec un carbone de la génine, les C-6 et/ou C-8. En effet, la formation de la (ou des) liaison(s) hétérosidique(s) est sous la dépendance de transférases très spécifiques quant au substrat et à la position d'osylation (BRUNETON, 1999 ; A. CATHERINE et al 1995 ; ALEMAN, 2000)



**Fig. 2-** Les diverses classes de flavonoïdes d'après BRUNETON (BRUNETON, 1999).

Plus de 80 sucres différents ont été trouvés liés aux flavonoïdes des plantes. Parmi eux, le D-glucose est de loin le monosaccharide le plus courant, d'autres hexoses, le D-galactose et le D-mannose, ainsi que des pentoses, le D-xylose, le L-arabinose et le D-apiose sont fréquents avec le L-rhamnose (seul désoxyhexose) et des acides uroniques (le plus souvent l'acide D-glucuronique). On trouve également des disaccharides (une quarantaine dont les plus courants : le rutinose et le néohespéridose), des trisaccharides (environ 30



espèces) et quelques rares tétrasaccharides. Les sucres peuvent à leur tour être substitués par des groupements acyles tels que le malonate ou l'acétate (PARIS et HURABELLE, 1980 ; HOLLMAN et ARTS, 2000).

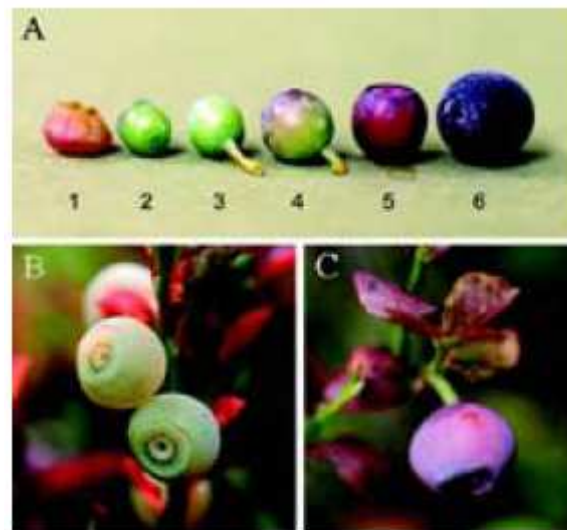
### I.1.3 Distribution dans les plantes et le règne végétal.

A de rares exceptions près, Quelques flavonoïdes ont été isolés d'un corail marin et d'un petit nombre de champignons, seules les plantes ont la capacité de biosynthétiser des flavonoïdes. (LHUILIER et al., 2007). Les flavonoïdes peuvent être présents dans toutes les parties des plantes. Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophylle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines (BRUNETON, 1999). Les génines seules sont présentes dans les exsudats farineux de certaines plantes, dans les cuticules des feuilles, écorces et bourgeons ou sous forme de cristaux dans les cellules de certaines *Cactaceae* et plantes de régions arides (LHUILIER, 2007) .Il est à noter que flavanones et flavones sont souvent présentes dans la même plante. Flavones et flavanols ne se trouvent généralement pas ensemble, pas plus que flavanols et anthocyanes (CATHERINE, 1996 ; MERKEN et BEECHER, 2000). La présence de composés flavonoïdiques a été rapportée chez les Bryophytes, les Ptéridophytes, les Gymnospermes et chez les Angiospermes (JUDD et CAMPBELL, 2002). Cette distribution *quasi* ubiquitaire dans les plantes, alliée à leur relative stabilité, leur relative facilité d'identification et la forte tendance des plantes taxonomiquement proches à produire les mêmes types de flavonoïdes, ont fait des flavonoïdes des marqueurs chimiotaxonomiques de choix pour la classification végétale surtout utilisés pour estimer les relations entre espèces étroitement apparentées, dans les recherches sur la variation infraspécifique et aussi pour estimer les relations phylogéniques aux niveaux supérieurs ( EL OUALIDI et al 1996; JUDD et CAMPBELL, 2002).

## I.1.4 Propriétés et activité biologiques des flavonoïdes :

### I.4.1 Rôle dans les plantes

Une des propriétés majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs. tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, aures, flavonols jaunes), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets. (JAAKOLA *et al.*, 2002) (**Fig. 3**) Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigments tel que le cas des flavones et des flavonols incolores. (BRUNETON, 1999 ; (SARNI- MANCHADO et CHEYNIER, 2006) Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. (JUDD et CAMPBELL, 2002)



**Fig. 3- Rôle des anthocyanes dans la coloration des fleurs et des fruits.**

**A :** Pigmentation de la fleur (1) et du fruit (2 à 6) de la myrtille au cours du développement.

**B et C :** coloration du fruit mature de deux mutants naturels affectés dans la voie de biosynthèse des anthocyanes. (JAAKOLA *et al.*, 2002).

Des flavonoïdes comme l'hespéridine et la rutine présente dans plusieurs plantes, dont le sarrasin (*Fagopyrum exulentum*) et le citronnier (*Citrus limon*) renforcent les parois des capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins.

Ils sont impliqués dans les interactions plantes-microorganismes : dans la formation des nodules chez les espèces qui sont en symbiose avec *Rhizobium*. (KAN Y. et al 2007) Des composés du groupe des isoflavonoïdes tel que la glycéolline, la pisatine et la phaséoline fonctionnent comme phytoalexines. Ils agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales principalement chez pathogènes comme dans les légumineuses, en réponse à certains stress tels que les radiations ultraviolettes. (GROTEWOLD, 2006).

Ce sont également des inhibiteurs d'enzymes, des agents chélatants des métaux nocifs aux plantes. De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation et les transferts d'énergie, la morphogenèse et la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes. (RKHETER, 1993).

#### **1.4.2 Importance dans l'alimentation**

La contribution au régime alimentaire humain des flavonoïdes est très importante : de 50 à 800 mg/jour en fonction de la consommation de fruits et légumes mais aussi de boissons comme le thé ou le vin rouge (environ 200 mg par verre ou tasse) (LHUILIER, 2007) les flavonoïdes sont en effet des éléments importants des qualités sensorielles (couleur, astringences...) et nutritionnelles des végétaux que consomme l'homme (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006). On trouve également des flavonoïdes dans de nombreuses plantes médicinales et des préparations à base de plantes contenant de flavonoïdes sont utilisées en médecine traditionnelle partout dans le monde.

#### **1.4.3 Importance biologique des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes ont une bonne activité antioxydante, Tableau I (KROON et WILLIAMSON, 1999) due principalement à la configuration catéchol du noyau B. cette activité s'exerce surtout dans les milieux émulsionnés car ils sont peu solubles dans les phases lipidiques.

**Tableau I-** Activités antioxydants relatives de phénylpropanoïdes présents dans les aliments comparées à celles des vitamines C et E (RICE-EVANS *et al.*, 1997).

<i>Antioxydants</i>	<i>Sources</i>	<i>Activité Antioxydant (mM)</i>
<b>Vitamines</b>		
Vitamines C	Fruits et légumes.	1.0
Vitamines E	Grains, noix et huiles	1.0
<b>Flavonoïdes</b>		
Anthocyanidines		
Oenine	Le vin de la grappe	1.8
Cyanidine	Raisins, framboises et fraises	4.4
Delphinidine	La peau de l'aubergine	4.0
<b>Flavonoles</b>		
Quercetine	Oignon, peau de la pomme, baies, raisins noirs, thé et Endive du brocoli.	4.7
Kaempferole	Poireau, brocoli, pamplemousse et thé	1.3
<b>Flavones</b>		
Rutine	Oignon, peau de la pomme, baies, raisins noirs, thé et brocoli	2.4
Luteoline	Citron, olive, céleri et poivre rouge	2.1
Chrysine	La peau du fruit	1.4
Apigénine	Céleri et persil	1.5
<b>Hydroxycinnamates</b>		
Acide caffieque	Raisins blancs, olive, chou et asperge	1.3
Acide chlorogénique	Apple, poire, cerise, tomate et pêche	1.3
Acide ferulique	Grains, tomate, chou et asperge	1.9
Acide $\rho$ - coumarique	Raisins blancs, tomate, chou et asperge	2.2

*L'activité antioxydante est exprimée en concentration d'une solution de Trolox possédant la même activité antioxydante qu'une solution à 1 mM de la substance étudiée*

En raison de leur faible potentiel redox, les flavonoïdes peuvent réduire les radicaux libres très oxydés comme les superoxydes, les radicaux peroxydes ou les radicaux hydroxyles par transfert d'hydrogène. L'oxyde nitrique qui forme, en se combinant avec le radical superoxyde, le très délétère peroxyde nitrique est également piégé par les flavonoïdes. Le radical flavonoïde ainsi formé est stable et interrompt les événements de dégradation cellulaire initiés par l'attaque radicalaire. (HENNEBELLE *et al.*, 2004)

Les radicaux seraient responsables d'altérations des acides nucléiques et des processus d'altérations d'initiations et de cancérisation ainsi que contribuent à vieillissement cellulaire

et de dégradations cellulaires liées à leur réactivité avec les phospholipides membranaires (phénomènes de peroxydation). Ces dommages oxydatifs peuvent être impliqués dans de nombreuses affections : cancers, inflammations chroniques, athéroscléroses... (ALEMAN, 2000)

Ainsi, leur propriété de piègeurs de radicaux implique les flavonoïdes dans la prévention des dommages oxydatifs causés par les ROS, L'espèce de l'oxygène réactive qui est formé *in vivo* pendant le métabolisme aérobie comme l'ion superoxydes, le radical OH<sup>•</sup> ou l'oxygène singulet, ou encore chélater les métaux cette dernière action est surtout observée dans le cas des flavones où le groupe 4-céto forme avec OH en 3 ou en 5 un site idéal pour cette complexation. Un deuxième site peut être présent au niveau des hydroxyles 3' et 4' du noyau B (SARNI- MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

De nombreuses études *in vitro* ont montré des activités des flavonoïdes contre les processus inflammatoires et, de ce fait, contre les maladies inflammatoires chroniques et l'arthrose. En empêchant les ROS d'altérer l'ADN, les flavonoïdes limitent les mutations et les processus de carcinogénèses (HARTONEN, 2007 ; WALLE T., 2007).

De ce fait, ils sembleraient également intervenir dans la prévention de cancers, démences, athérosclérose, hypertension et maladies cardio-vasculaires. Outre leur pouvoir antioxydant, certaines classes possèdent des potentialités oestrogéniques (isoflavones) et, plus généralement, les flavonoïdes sont utilisés pour toute une gamme d'activités pharmacologiques : pour préserver l'intégrité vasculaire, pour leurs propriétés immunomodulatrices, anti-hépatotoxiques, anti-ostéoporotiques, pour leur actions antimicrobiennes et contre les allergies.

Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur action sur le tractus gastro-intestinal en tant qu'agents antiulcéreux, antispasmodiques, anti-sécréteurs et antidiarrhéiques. Des articles de synthèse concernant leur mécanisme d'action (la relation structure-activité liée à la fonction antioxydante, notamment, a été établie et leurs utilisations thérapeutiques potentielles ont été publiées ces dernières années (HENNEBELLE et al. 2004 ; LHUILLIER, 2007).

De nombreuses preuves ont été apportées sur l'importance des effets *in vitro* des flavonoïdes sur différents modèles biologiques et, en particulier, enzymatiques : inhibition de l'histidine-decarboxylase par le quercétol ou la naringénine ; inhibition de l'élastase ; inhibition de la hyaluronidase, par les flavones et surtout par les proanthocyanidols ce qui permettrait de conserver l'intégrité de la substance fondamentale de la gaine vasculaire ; inhibition de la phosphodiesterase de l'AMPc ce qui pourrait expliquer leur activité

antiagrégant plaquettaire ; inhibition de l'aldose-réductase, qui impliquée dans la pathogénie de la cataracte, par le quercitroside et méthoxyflavones ; inhibition de la protéine-kinase, notamment par le lutéolol (BRUNETON, 1999 ; HAVSTEEN, 2002).

Cependant, le potentiel thérapeutique des flavonoïdes n'est pas encore établi à cause de la connaissance limitée de leur absorption chez l'homme. La biodisponibilité des flavonoïdes étant en général assez faible chez l'homme (BRUNETON, 1999), il est nécessaire d'être prudent quant à l'extrapolation des données *in vitro*.

A l'heure actuelle, le lien entre consommation de flavonoïdes et prévention de cancer est encore faible. Aucune étude épidémiologique n'a encore apporté la preuve que ce sont les flavonoïdes contenus dans les fruits, les légumes et les boissons comme le thé ou le vin rouge qui sont responsables de l'effet protecteur de ces aliments. A l'inverse, plusieurs études ont démontré que la consommation d'aliments riches en flavonoïdes est inversement corrélée au risque de développer des maladies cardio-vasculaires (BALASUNDRAM, 2006 ; HOLLMAN, 2001)

La découverte que les flavonoïdes ont aussi des effets hormonaux dans les systèmes animaux était une surprise (MITCHER et al., 1982). L'origine était l'observation du mouton qui avait mangé le trèfle fermenté a été éveillé sexuellement. Une analyse a montré que la substance active était silybin (HAVSTEEN, 2002).

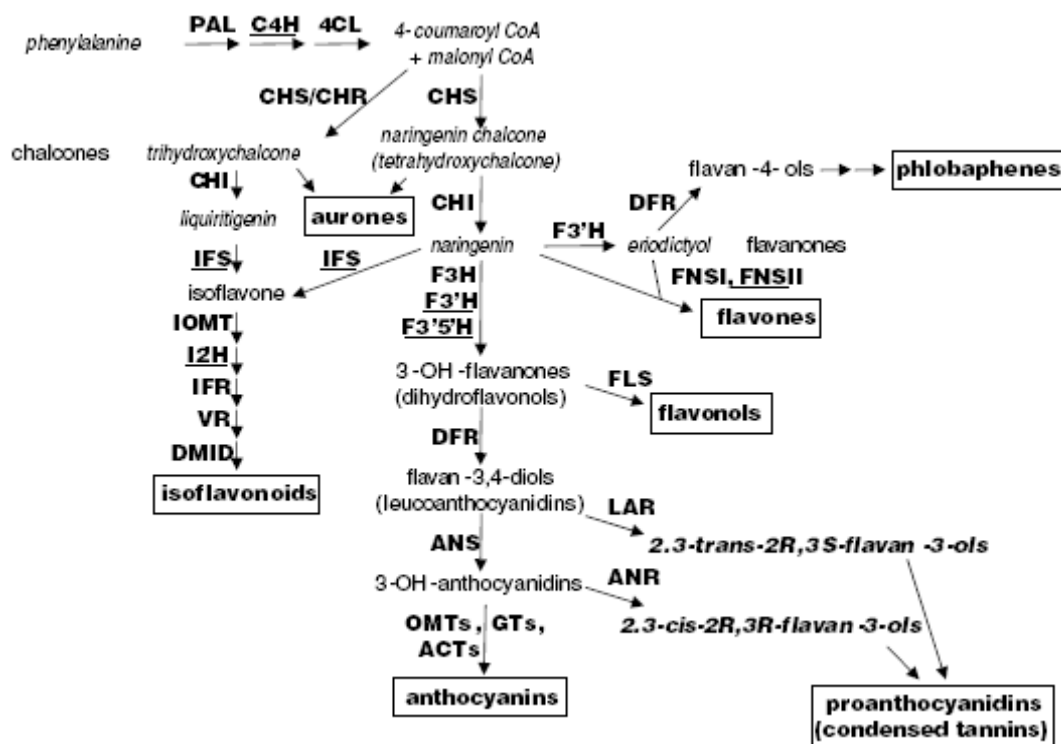
Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse, leur action se situe au niveau des petites veines ou des capillaires. On a diminution de la perméabilité et augmentation de la résistance des capillaires. Les flavonoïdes sont des toniques veineux et des protecteurs capillaires, se sont des molécules pratiquement atoxiques et bien tolérées chez l'homme mais leur action est lente (PARIS et HURABELLE, 1980).

Les flavonoïdes sont des bons antiappétants voire toxique pour les insectes, à faible concentration, la quercétine et ces dérivés glycosylés inhibent l'alimentation d'*Heliothis zea*, *H.virescens* et *Pectinophora gossypol*. A partir de concentration de 0.2 % ces composés tuent les larves de ces espèces ; roténoïdes est un phytoalexine peu toxique vers les mammifères mais très toxique pour les poissons et les insectes leur toxicité est liée à l'inhibition de l'oxydation mitochondrial. (LOUIS, 2004).

### **I.1.5 Biosynthèse des flavonoïdes**

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de

malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose (STAFFORD, 2000). Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en *p*-coumarate puis en *p*-coumaroyl- Le *p*-coumaroyl-CoA et les 3 malonyls-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalconeisomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(*S*)-flavanone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (GROTEWOLD, 2006).



**Fig. 4-** Schéma de la biosynthèse des flavonoïdes illustrant les enzymes impliquées. (GROTEWOLD, 2006).

Les enzymes sont indiquées avec les abréviations standards dans gras; noms de cytochrome que le monooxygénases P450 qui peut fonctionner comme membrane ancre pour les autres enzymes du flavonoïde sont soulignés. Les abréviations: ACTs, acetyl transferases; ANR, anthocyanidin reductase; ANS, anthocyanidin synthase (also known as leucoanthocyanidin dioxygenase); C4H, cinnamate-4-hydroxylase; CHI, chalcone isomerase; CHR, chalcone reductase; CHS, chalcone synthase; 4CL, 4-coumaroyl:CoA-ligase; DFR, dihydroflavonol 4-reductase; DMID, 7,2'-dihydroxy, 4'-methoxyisoflavanol hydratase; F3H, flavanone 3-hydroxylase; FNSI and FNSII, flavone synthase I and II; F3'H and F3'5'H, flavonoïde 3' and 3'5' hydroxylase; IOMT, isoflavone O-méthyltransferase; IFR, isoflavone reductase; I2'H, isoflavone 2'-hydroxylase; IFS, isoflavone synthase; LAR, leucoanthocyanidin reductase; OMTs, O-méthyltransferase; PAL, phénylalanine ammonia-lyase; GTs, glucosyl transferases; VR, vestitone reductase

### I.1.6 Propriétés physicochimiques et extraction :

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif. Les hétérosides sont solubles dans l'eau (surtout à chaud), l'alcool, les autres solvants organiques polaires, bon nombre entre eux ont une hydrosolubilité plutôt faible (rutinoside, hespéridoside), insoluble dans les solvants organiques apolaires.

Les génines sont peu soluble dans les solutions alcalines (ammoniacque ou potasse) en donnant une coloration jaune qui disparaît par addition d'acide. Les flavonoïdes possèdent un spectre d'absorption dans l'ultraviolet avec généralement deux maximums caractéristiques variant avec type flavonique et permettant leur identification. (BRUNETON, 1999 ; RIBEREU-GAYON, 1968).

La séparation de flavonoïdes est difficile pour deux raisons principales: en premier, ces composés est extrêmement différent par rapport à leur structure et forme du stockage libre ou conjuguée. La seconde, les polyphénols sont susceptibles à l'oxydation, en outre haute température et cause de l'environnement alcalin leur déchéance, donc le processus de l'extraction et étapes supplémentaires de la préparation d'un essai spécifier le contenu de polyphénols est soumise de grande prudence (DRUYNSKA et al, 2007).

Un autre problème au cours de l'extraction concerne les modifications éventuelles, des substances présentes dans la plante, les cellules végétales contiennent différents types d'enzyme, susceptibles de provoquer des modifications en particulier des polyphénol-oxydases et des glycosidases. En général, on peut éliminer cet inconvénient par un séchage rapide de matériel végétal, aussitôt après sa collecte ; le matériel séché peut être conservé pendant un certain temps sans modification importante. (RIBEREU-GAYON, 1968).

En raison de leur abondance dans les plantes consommées par l'homme et de leurs bénéfices potentiels pour la santé humaine, les flavonoïdes sont l'objet d'une attention croissante. Que ce soit pour l'étude des relations structure-activité, le contrôle de la qualité alimentaire ou le suivi de l'absorption et de la métabolisation de ces composés phénoliques naturels, il est nécessaire de disposer d'une méthode rapide et fiable d'analyse et d'identification de ces molécules dans les plantes et les systèmes biologiques.



L'extraction des flavonoïdes est basée sur leur solubilité dans l'eau ou l'alcool à chaud. On obtient parfois la cristallisation des hétérosides par simple refroidissement des solutions extractives. Le plus souvent, l'extraction est effectuée par l'alcool, les solutions alcooliques obtenues sont évaporées, le résidu est repris par l'eau chaude et épuisé par l'acétate d'éthyle puis le butanole. Les flavonoïdes lipophiles des tissus superficiels des feuilles sont directement extraits par des solvants moyennement polaires (dichlorométhane.ect.)

La séparation et la purification des différents flavonoïdes sont fondées sur les techniques chromatographiques (CP, CCM, CC, HPLC, CPG) (BRUNETON, 1999 ; GROTEWOLD, 2006). L'identification se fait par différentes méthodes telles que la chromatographie couplées aux techniques spectroscopiques, la spectrophotométrie UV/Visible, la spectrométrie de masse et la spectroscopie RMN.

## I.2. Huiles essentielles

### I.2.1 Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des végétaux. Elles sont très concentrées, volatiles et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur.

Actuellement, leur utilisation, en parfumerie et en alimentation est considérable ; c'est pour quoi certains organismes de normalisation AFNOR NF et ISO ont donné une définition beaucoup plus précise des huiles essentielles ; l'huile essentielle est : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. Cette définition est restrictive : elle exclut d'une part les produits odorants d'origine animale, et d'autre part les essences obtenues selon d'autres procédés d'extraction (PARIS et HURABELLE, 1980 ; BRUNETON, 1999).

Senteurs, effluves, fragrances, essences, parfums autant de mots délicats pour nommer les substantifiques substances aromatiques qui nous sont offertes par les plantes. De tout temps, le règne végétal a offert à l'Homme des ressources essentielles à son alimentation, à son hygiène et sa santé (LUCCHESI, 2005).

### I.2.2 Répartition et rôle écologique

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes) 10 % seulement sont dites « aromatiques ». Les genres capables d'élaborer les constituants des huiles essentielles sont répartis dans un nombre de familles limité ; *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zingiberaceae*, *Piperaceae* (BRUNETON, 1999). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane) ou graines (carvi). Cependant la quantité d'huile produite est très variable selon les espèces (SOSA ET TONN, 2006).

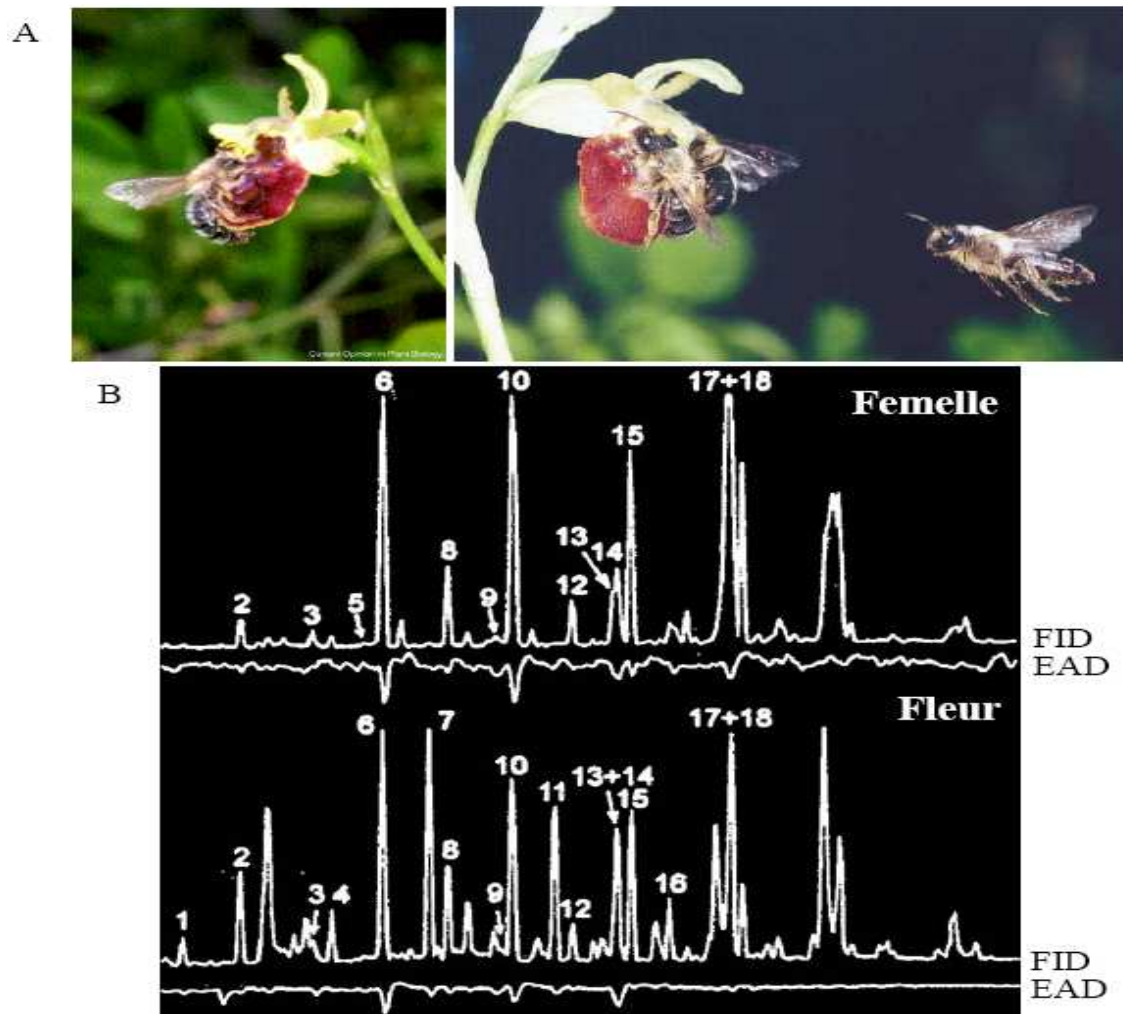
Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en générale dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors soit stockées dans une cellule transformée en cellule à essence, ou par exemple, pour la famille des *Lamiaceae*, elle se situe

dans les poils sécréteurs, chez les *Myrtaceae* au niveau des poches sécrétrices ou encore des canaux sécréteurs pour les *Asteraceae* ; (JUDD, 2002) elles peuvent être transportées dans l'espace intercellulaire lorsque les poches à essence sont localisées dans les tissus internes : c'est le cas des rhizomes de fougère mâle par exemple .sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membrane spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur lipophilie et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (PARIS et HURABELLE, 1980 ; ISERIN, 2001 ; BERGOUGNOUX., 2005).

Dans certains cas, les composés volatils émis sont spécifiques d'un insecte pollinisateur ou d'un groupe de pollinisateurs. Il a été montré, notamment chez l'orchidée *Ophrys sphegodes* (SCHIESTL *et al.*, 1999), que la nature des composés volatils émis évolue au cours de la pollinisation. Les fleurs d'*O. sphegodes* sont visitées par des abeilles mâles solitaires (*Andrena nigroaenea*) qui confondent la fleur avec la forme du corps de l'abeille femelle. Les abeilles mâles présentent alors un comportement pseudocopulatoire (Fig. 5).

Des analyses des composés volatils associées à la détection électroantennographique ont révélé que la fleur émet des alcanes et des alcènes (C<sub>21</sub>- C<sub>29</sub>), responsables de ce comportement. Ces composés sont normalement émis par les abeilles femelles réceptives à l'accouplement. Il est étonnant de noter que les fleurs d'*O. sphegodes* produisent et émettent ces composés dans des proportions identiques à celles des abeilles femelles réceptives. Une fois pollinisées, les fleurs émettent du farnésyl hexanoate, composé normalement émis par les abeilles femelles non réceptives. Ceci a pour conséquence de repousser les insectes mâles qui se dirigent vers les fleurs adjacentes non pollinisées et cela limite les dommages sur les graines en développement.

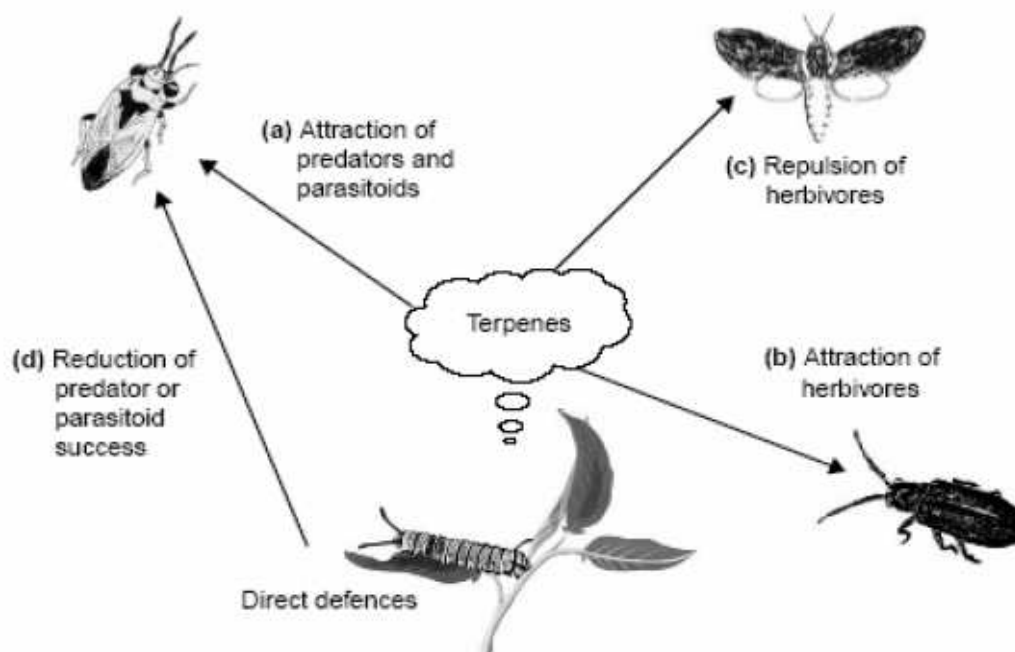
Certains composés volatils floraux, comme le linalol, sont produits également par les trichomes présents à la surface des sépales et des feuilles. Le linalol émis par les fleurs a un rôle hypothétique dans l'attraction des insectes pollinisateurs alors que celui qui est produit par les feuilles interviendrait dans les mécanismes de défense en empêchant l'oviposition des insectes ou la prédation des feuilles. Au niveau des fleurs, ces molécules volatiles produites par les sépales pourraient empêcher la prédation du bouton floral ou le vol de nectar, obligeant l'insecte à passer par l'intérieur de la corolle.



**Fig. 5-** Relation entre la fleur de l'orchidée *Ophrys sphegodes* et son pollinisateur, un mâle de l'espèce solitaire d'abeille *Andrena nigroaenea* (SCHIESTL *et al.*, 1999).

**A**, la fleur mime l'apparence et les odeurs d'une femelle réceptive, induisant chez le mâle un comportement pseudocopulatoire. **B**, Chromatogrammes obtenus après analyse des composés volatils par CPG (FID) émis par une femelle réceptive et la fleur et détection électroantennographique (EAD). La majorité des composés sont émis par la femelle réceptive et par la fleur prête à être pollinisée.

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, ( SOSA ET TONN, 2006) comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal- animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes (DEGENHARDT *et al.*, 2003). Fig. 6.



**Fig. 6-** Interactions entre les plantes, les herbivores et les ennemis des herbivores, sous le contrôle des terpènes volatils (d'après DEGENHARDT *et al.*, 2003).

(a) une attaque d'herbivores induit une libération de terpènes, qui attirent les prédateurs et les parasites qui pondent sur l'herbivore et l'utilisent pour leur larve. Les mêmes terpènes peuvent également affecter d'autres herbivores, aussi bien en les attirant pour de la nourriture (b) qu'en les repoussant pour la nourriture ou l'oviposition (c). De plus, les caractères impliqués dans la défense indirecte peuvent affecter négativement le succès des prédateurs ou des parasites (d). Les tentatives d'améliorer l'émission des terpènes chez les plantes cultivées doivent favoriser les avantages (a et c) et défavoriser les désavantages (b et d).

### I.2.3 Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires ou au niveau de la microflore vaginale et d'origine fongique contre les dermatophytes.

Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. L'effet des terpénoïdes sur des membranes bactériennes isolées suggère que leur activité est fonction

des propriétés lipophiles des constituants terpéniques (CHAVES et al., 2008), la nature des groupes fonctionnels, leur solubilité en phase aqueuse et la stéréochimie de la molécule.

Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingéré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées. Dans les domaines phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. (SERI-KOUASSI et al., 2004)

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... (SOSA et TONN, 2006) L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles les plus actives, son composé majoritaire, le carvacrol, possède également une forte activité antimicrobienne. (VOKOU et al., 1998 ; L'ÓPEZ, 2004) Plusieurs études au sujet de l'effet bactériostatique, spasmolytique et l'anti-inflammatoire de *Teucrium*, probablement dû à la présence de plusieurs monoterpènes du cyclopentanoid dans l'huile essentielle, est rapporté dans la littérature (RICCI D et al., 2005)

Etant donné la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. CHAUMONT et LEGER ont testé 12 composés aromatiques vis-à-vis de huit souches pathogènes pour l'homme *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Microsporum canis* et 5 *Trichophyton spp.* Ils ont classé les composés purs selon leur activité antifongique vis-à-vis de sept champignons. Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonctions chimiques:

**Phénols >Alcools> Aldéhydes> Cétones> Ethers> Hydrocarbures**

En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 1 supérieure à 5 g/kg. En ce qui concerne la Sarriette et l'Origan la toxicité est un plus élevée autour des 1.4 g/kg (données observée chez l'animal). Chez l'homme des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, le plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante

d'huiles essentielles : Girofle (eugénol), Eucalyptus, Gaulthérie (salicylate de méthyle). (BRUNETON, 1999).

**Tableau II-** Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique (PIBIRI, 2006).

<b>Composés aromatiques</b>	<b>Exemples</b>	<b>Propriétés</b>
<i>Phénols</i>	<i>Eugénol</i>	Stimulantes, Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides, Anti-virale, Antiparasitaires Irritantes
<i>Alcools Terpéniques</i>	<i>Citronellol -terpineol, terpinen-4-ol, linalol</i>	Anti-inflammatoires, Antiseptiques, Bactéricides, Fongicides, Anti-virale, Neurotoniques Ils agissent en dénaturant les protéines, comme agents de déshydratation
<i>Aldéhydes Terpéniques</i>	<i>Citronellal</i>	Antifongiques, Sporicidas, Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde Insecticide
<i>Ether-oxides, péroxyde</i>	<i>Cinéole, Ascaridole</i>	Antibactériens, Antifongiques, Insecticides L'ascaridole est fortement réactif et toxique (par la liaison -O-O-)
<i>Cétones</i>	<i>Carvone</i>	Calmantes, Antivirales, Antifongiques Neurotoxiques Anti-épileptique
<i>Hydrocarbures aliphatiques, sesquiterpènes</i>	<i>Limonene</i>	Fongistatique, Bactériostatique, Insecticides, Nematicide, Herbicide

Les huiles essentielles sont très utilisées dans l'industrie des cosmétiques, de la parfumerie où elles sont considérées comme étant des éléments de base ainsi que dans le domaine de l'aromathérapie (technique thérapeutique par le massage, les inhalations ou les bains). Elles sont aussi utilisées pour apporter de la saveur, des arômes (au café, aux vins, aux liqueurs distillées). Enfin, elles ont des applications importantes en médecine, soit par leurs qualités odorantes, soit pour soulager la douleur ou pour leur efficacité physiologique. Elles ont une Pouvoir de cicatrisation et anti-brûlure.

Pouvoir analgésique, antalgique et anesthésique : De nombreuses huiles essentielles présentes une activité contre tous types de douleurs : douleurs gastriques, douleurs menstruelles, douleurs musculaires, céphalées, rhumatismes.

-Huiles essentielles calmantes et facilitant le sommeil :

La prise de certaines huiles essentielles agit sur le moral et sur le bien être physique et psychique. Elles calment les anxieux et insomniaques, tonifient les déprimés, détendent les nerveux, émotifs, hypertendus et irrités.

Certaines huiles essentielles ont des propriétés vasculaires, elles renforcent les parois des vaisseaux et stimulent le flux sanguin central et capillaire d'où meilleure nutrition, oxygénation et élimination. D'autres huiles essentielles permettent la régulation de l'activité cardiaque, de l'hypotension et de l'hypertension (SOSA et TONN, 2006).

Elles peuvent aussi avoir des effets sur les rhumatismes, les lombagos, sciatiques, entorses, foulures. Elles permettent d'éviter ou de résorber les hématomes, peuvent avoir un effet anticoagulant, peuvent être hémostatiques (arrêtent les hémorragies).

Les huiles essentielles exercent une action régulatrice sur l'ensemble des glandes endocriniennes de l'organisme. Elles peuvent rééquilibrer le système endocrinien (stimuler ou modérer l'activité d'une glande), favorise l'équilibre de la production hormonale.

Elles ont aussi un pouvoir désintoxiquant, antitoxique notamment par la stimulation des organes d'évacuation des déchets et toxines, la peau, les reins, les poumons, l'intestin.

Les huiles essentielles favorisent la motricité intestinale, stimulent les fonctions hépato-biliaires ; ont un pouvoir anti-fermentaire (NAGHIBI, 2005).

#### **I.2.4 Caractéristiques économiques :**

Si de nos jours quelques centaines de plantes aromatiques, parmi d'innombrables espèces recensées dans la nature, sont exploitées à l'échelle commerciale, c'est en partie parce que les facteurs agronomiques, climatiques, botaniques et olfactifs sont limitatifs mais d'autres critères sont aussi à prendre en compte.

La production mondiale des huiles végétales à utilisation nutritionnelle et alimentaire a augmenté considérablement au cours des 10 dernières années. L'Union Européenne est le plus grand consommateur mondial. La production mondiale d'huile végétale est de l'ordre de 80Mt/an, dont 30% pour utilisation alimentaire. Publié par DGEMP, le 29/05/2006

#### **I.2.5 Caractéristiques physiques et organoleptiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des substances odorantes, volatiles, huileuses donc de nature hydrophobe, liquides à température ambiante, entraînable à la vapeur d'eau elles sont très peu soluble dans l'eau, totalement solubles dans les alcools, l'éther et dans les huiles végétales et minérales. Lorsqu'elles sont pures et naturelles, elles ne contiennent aucun corps gras : elles sont uniquement constituées de molécules aromatiques volatiles. (BRUNETON, 1999).



Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas). Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux. Elles sont donc de conservation limitée. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (PARIS et HURABELLE, 1980).

Elles sont souvent colorées : du jaune pâle au rouge foncé voire brun, en passant par le vert émeraude.

Les huiles essentielles sont à différencier des huiles fixes ou des huiles obtenues par l'hydrolyse des glucosides, comme la chamazulène de la camomille allemande (*chamomilla recutita*), formée lors de la distillation mais absente de la plante à l'origine (ISERIN, 2001)

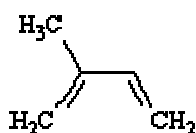
### **I.2.6 Composition chimique des huiles essentielles**

La composition chimique des huiles essentielles dépend largement de l'influence des conditions d'hydrodistillation sur l'essence contenue dans la plante. Elle est en générale très complexe. Les méthodes analytiques modernes rendent possibles, la détection, l'identification et la quantification de plus de centaine de constituants pour une même huile essentielle. Cependant, seuls certains d'entre eux sont responsables des caractères olfactifs de cette plante aromatique. Les composants quantitativement les plus importants sont souvent peu ou pas significatifs de l'odeur (ISERIN, 2001).

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques unes. Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques. Ces essences peuvent être regroupées en cinq classes : les alcools, les esters, les aldéhydes, les cétones et les lactones (CHAVES et al., 2008).

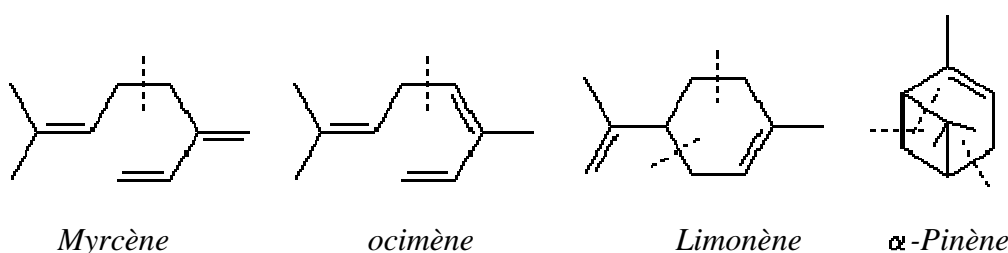
Les **composés terpéniques** sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique.

Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés ( $C_5$ ) n ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (isoprène), nous pouvons réaliser la classification suivante :



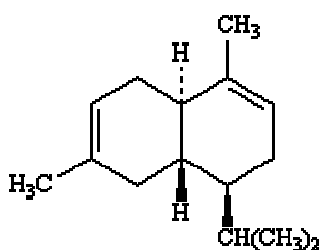
*Fig. 7 : Structure de l'isoprène.*

Pour  $n = 2$ : les *monoterpènes*. Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures en  $C_{10}$ . Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.



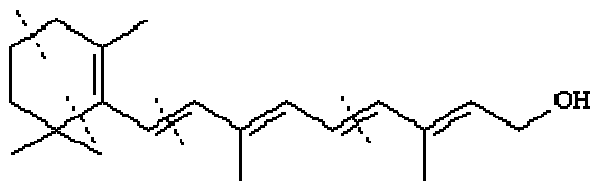
*Fig. 8 : Exemple des composants monoterpéniques.*

Pour  $n = 3$ : les *sesquiterpènes*. Ce sont des hydrocarbures de formule  $C_{15}$ , soit une fois et demie (sesqui-) la molécule des terpènes (en  $C_{10}H_{16}$ ). Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes, composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ces composés, non saturés, sont constitués par deux cycles penta et hepta carbonés.



*Fig. 9. Exemple des composants sesquiterpéniques : β-Cadinène*

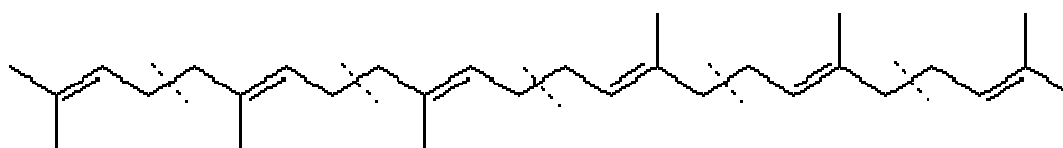
Pour  $n = 4$ : les *diterpènes* qui sont des dérivés d'hydrocarbures en  $C_{20}$ . Ces composés, à point d'ébullition élevée, se rencontrent surtout dans les résines.



**Fig. 10.** Exemple des composants diterpéniques : Vitamine A

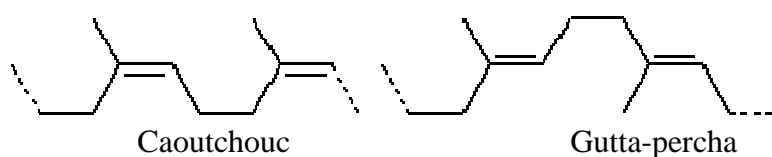
Pour  $n = 5$ : les *sesterpènes*. Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en  $C_{25}$ .

Pour  $n = 6$ : les *triterpènes*. Ces composés en  $C_{30}$  sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifiés, ou sous forme hétérosidique.



**Fig. 11.** Exemple des composants triterpéniques : Le squalène

Pour  $n = 8$  et les polyterpènes le caoutchouc naturel est l'exemple plus nommé. Le caoutchouc naturel est un polymère de l'isoprène. Il est produit par la coagulation par la chaleur de la sève de l'hévéa.



**Fig. 12.** Exemple des polyterpènes.

Dans une huile essentielle, nous retrouvons presque exclusivement des mono- et sesquiterpènes.

Les *dérivés du phénylpropane* ( $C_6-C_3$ ) sont moins abondants que les terpénoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane.

Les composés sont néanmoins importants sur le plan qualitatif et quantitatif chez certaines espèces. Ce sont souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés comme en  $C_6-C_1$  comme la vanilline. Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle (PARIS et HURABELLE., 1980 ; JUDD, 2002 ; NAGHIBI, 2005).

## **I.2.7 Techniques d'extraction des huiles essentielles**

« La distillation n'est autre chose que la séparation de la matière subtile de la matière brute et de celle-ci de la matière subtile ; elle distrait ce qui est fragile et destructible de ce qui est indestructible, ce qui est matériel de l'immatériel ; elle rend spirituel ce qui est corporel et substitue la beauté à la laideur ».

*Jérôme Brunschwig, médecin strasbourgeois (1450-1534)*

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, mais toujours précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisant une forte demande toujours plus exigeante. Basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées, et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu : une huile essentielle ou un extrait aromatique. (ISERIN, 2001 ; BRUNETON, 1999 ; AGGELIS, et KOMAITIS, 1999)

### **I.2.7.1. Entraînement à la vapeur d'eau**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles, de la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale,

l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

### **I.2.7.2. Hydrodistillation**

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » distille à une température égale 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

Si nécessaire, l'huile essentielle est séchée de l'eau par traitement avec du sulfate de sodium anhydre, pour éviter l'hydrolyse des esters, et d'autres constituants hydrosolubles, l'huile essentielle est alors prélevée et mise dans des flacons sombres et conservée à basse température.

### **I.2.7.3 Extraction par solvant**

Ce procédé permet de tripler la quantité d'huile essentielle récupérée. Ou pour extraire des produits qu'on ne peut pas obtenir par d'autres méthodes. La plante est immergée dans un solvant approprié, et la séparation est effectuée par distillation à une température qui

condense l'huile essentielle et non pas le solvant, les produits obtenus sont appelés : Concrètes. Cette méthode est aussi utilisée en parfumerie.

#### **2.7.4 Autres méthodes**

##### **a) Expression**

Cette technique est utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement les zestes à essence (souvent au niveau de l'écorce ou péricarpe du fruit) pour recueillir un mélange d'essences odorantes et d'eau.

##### **b) Enfleurage**

Cette méthode se rapproche quelque peu de l'extraction par solvants volatils par son principe mais dans ce cas on utilise des graisses comme solvant, ces dernières ayant elles aussi une forte affinité avec les composés odorants. On distingue deux types d'enfleurage : à froid ou à chaud. L'enfleurage à froid consiste à piquer des fleurs fraîches dans de la graisse, cette dernière absorbant ainsi les molécules odorantes. Le produit obtenu est une pommade florale.

##### **c) Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique :**

La matière végétale est chargée dans l'extracteur où est ensuite introduit le CO<sub>2</sub> supercritique sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO<sub>2</sub> s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle.

Cette toute nouvelle méthode est très prometteuse car le produit obtenu est proche du naturel et sans trace de solvant. De plus le CO<sub>2</sub> est non toxique, incolore, inodore ininflammable, ce qui permet des conditions de sécurité supérieures.

### **I.3. Présentation de la plante *Teucrium polium geyrii* (Lamiaceae)**

#### **I.3.1. Famille des Lamiaceae :**

##### **I.3.1.1. Présentation**

La famille labiées (Lamiaceae) du Latin (Labia), lèvre c'est-à-dire les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (NAGIBI et al., 2005 ; COUPLAN, 2000). Lamiaceae comprennent environ 6970 espèces (MEYER et al., 2004), réparties en 240 genres tels que *Hyssopum*, *Lavetula*, *Majorana*, *Melissa*, *Mentha*, *Ocimum*, *Origanum*, *Rosmarinus*, ... (MULAS M. 2006) *Micromeria*, *Nepeta*, *Phlomis*, *Prunella*, *Satureja*, *Scutellaria*, ... (BOULILA et BOUSSAID, 2006) ou encore *Hlomis*, *Eremostachy.* , *Cyclotrichium*, *Hymenocrater*, *Hyssopus*, *Lavetula*, *Lallemantia*, *Micromeria*, .... (CAN BAŞER, et KIRIMER, 2006)

La famille des labiées est l'une des premières à être distinguées par les botanistes (PISTRICK, 2002) et ceci par la particularité de ses caractères : Ce sont généralement des plantes herbacées odorantes, à tiges quadrangulaires, feuilles en générale opposées sans stipules. Le plus souvent hermaphrodites, fleurs pentamères (MEYER et al., 2004) sont généralement réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des épis fruit constitué par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne (MESSAILI, 1995).

Elles sont largement réparties dans le bassin méditerranéen (CARRUBBA et al., 2006).

##### **I.3.1.2. Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique**

Cette famille est l'une des principales sources de culinaire, légumes et de plantes médicinales du monde entier.

Les espèces de *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisées comme arômes alimentaires, des légumes et dans l'industrie Bois (*Tecton*).

En culture ornementale d'intérieur, on retrouve quelques espèces du genre savory (*Satureja hortensis*), crosne de stachys Tubifera *Salvia*, *Coleus* (MEYER, et al 2004 ; MESSAILI, 1995).

Également plusieurs espèces de la famille sont utilisées dans la Médecine traditionnelle et moderne grâce aux huiles essentielles communs à de nombreux

membres de la famille comme *Lavondula*, *Teucrium*, *Thymus*, *Salvia* (NAGIBI et al., 2005).

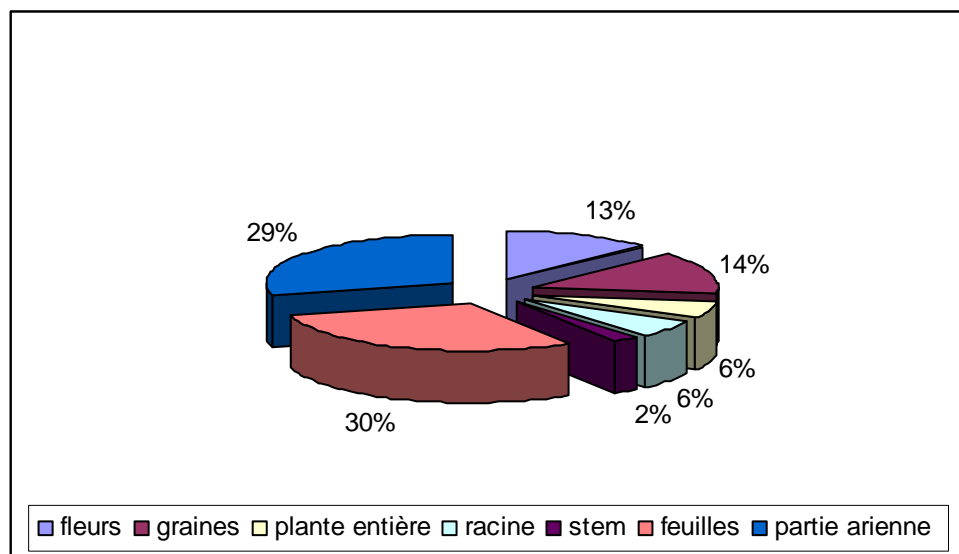


Fig. 13- Distribution des parties de plantes utilisées dans la familles des Lamiaceae (NAGIBI et al., 2005).

Plusieurs travaux, réalisés *in vitro* et *in vivo*, rapportent des résultats intéressants pour certaines molécules antioxydantes d'origine végétale telle que les dicatéchols, la curcumine, les triterpènes pentacycliques et les flavonoïdes.

Dans la pharmacopée traditionnelle africaine, les *labiées* (Lamiaceae) sont utilisées dans le traitement de nombreuses affections telles que les problèmes intestinaux, le météorisme (ballonnement du ventre, dû à des gaz). On note également l'utilisation comme diurétique ou antisiphilitique. Antidiarrhéique cicatrisante, antiseptique.

Plusieurs études scientifiques ont confirmé l'intérêt pharmacologique d'un grand nombre d'espèces de la famille des Lamiacées. Entre autres :

- *Thymus numidicus* : Activités antimicrobiennes (GIORDANI et al., 2007) anti-inflammatoires, en plus de leur utilisation en cosmétique et en agroalimentaire
- *Marrubium vulgare* : la décoction de cette plante est employée comme anti-typhoïdique. (BELLAKHDAR, 1997)

- Une odeur fine de citronnelle, caractérise la *mélisse*, *melissa officinalis*, elle contient une huile essentielle qui lui confère des propriétés bactériostatiques,



stomachiques, antispasmodiques et sédatives utilisées pour traiter les digestions difficiles, les crampes d'estomac d'origine nerveuses, les vomissements et l'insomnie. Elle attire les abeilles (melissa en grec), ce qui étymologiquement lui valut son nom qui fit plus tard la réputation de l'eau préparée par les Carmes de la rue de Vaugirard dès 1611.

- *Lamium album*, Cette ortie blanche dégage une odeur désagréable qui va disparaître à la dessiccation. Elle contient une saponine, une huile essentielle, des tanins, des substances mucilagineuses et un alcaloïde appelé lamiine. Très utilisée aujourd'hui dans les soins capillaires, cette plante est recommandée aussi pour traiter les leucorrhées ou pertes blanches. La théorie des signatures ne serait pas étrangère à cette réputation. (DIDIER, 2004 ; ISERIN, 2001)

- *Mentha spicata*, On connue depuis longtemps ses vertus digestives mais c'est aussi un antiseptique bronchique, un traitement des troubles hépatiques et un remède contre la diarrhée on lui prête même des propriétés aphrodisiaques.

Egalement : Dyspepsie, aérophagie, gaz intestinaux, diarrhée, entérite, troubles hépatiques, lithiase, ictère, sinusite, laryngite, bronchite, toux, règles, insuffisantes, ulcère (KAMEL et SANDRA, 1994).

- *Orthosiphon stamineus Benth.* ( thé de java) Ces drogues sont diurétiques très important stimulant l'accroissement du volume urinaire et favorisant l'élimination des chlorures de l'urée et de l'acide urique, elles sont utiles dans les cystites, possèdent un effet cholagogue qui peut les faire utiliser dans l'affection hépatorénales (GIRRE, 2001).

D'autres espèces d'intérêt pharmacologique sont regroupées dans le tableau III :

**Tableau III-** Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille Labiatea (NAGHIBI F. et al., 2005)

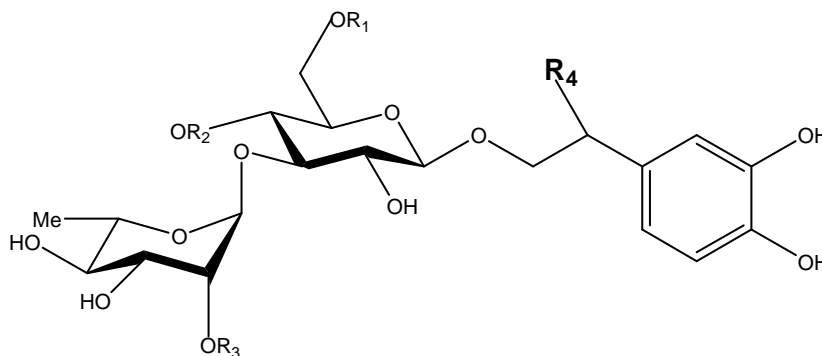
Nom scientifique	Nom vernaculaire	Activité pharmacologique
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin / Encensier / Herbe aux couronnes	Prévenant foie Endommagez, Insecticide Antinociceptive, Diurétique Antioxydant Trypanocidal
<i>Lavetula stoechas</i>	Lavete à toupet	Anticonvulsant, calmant Antispasmodic
<i>Thymus vulgaris</i>	Thym commun / Farigoule	Anti-inflammatoire Fongicide, humain agrégation de la plaquette inhibiteurs Spasmolytic .inhibiteur sur H
<i>Satureja khuzistanica</i> Jamzad	Marzeh khuzestani	Antihyperlipidémique (dans le rat) Antidiabétique, antioxydant
<i>Melissa officinalis</i> L.	Barangbo Badranjbuyeh yerbabuena	Relaxant, Fongicide. activités, Antimicrobiennes Cholinergique CNS humain agglutination du récepteur, Antioxydant, Anti-inflammatoire Cytotoxique (MTT), Antiviral; HSV Neurotropique, périphérique ,analgésique. induisez sommeil Anti-HIV
<i>Nepeta cataria</i> L.	Alaf-egorbehdashti	activités Antimicrobiennes Activité répulsive
<i>Ocimum basilicum</i> L. Reyhan Se.	Reyhan . albacar	activités Antimicrobiennes Antioxydant, Anti-inflammatoire
<i>Zhumeria majdae</i> Rech. et Wen.		Antinociceptive, Anti-inflammatoryire

### I.3.1.3. Chimie des labiées:

Divers groupes de composés sont étudiés du point de vue chimique ce qui permet d'isoler un grand nombre de substances connus pour leur diverses activités biologiques, à titre d'exemple : les alcaloïdes, les terpenoïdes, les iridiodes et les composés phénoliques et flavonoïdes (NAGHIBI et al., 2005)

Certains terpénoïdes, de courte chaîne, d'huiles essentielles sont responsables de l'odeur et Goût dans ces plantes. (HARBORNE et al., 1986)

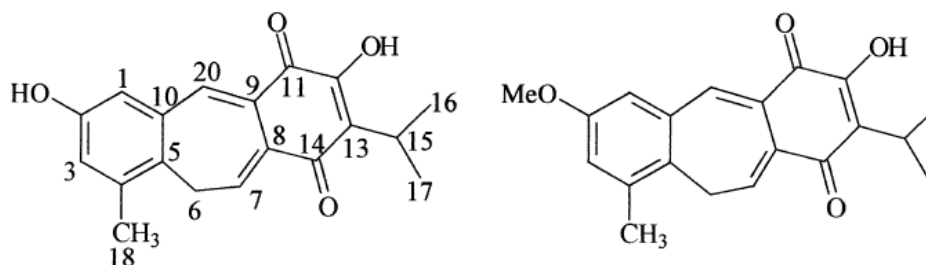
Une étude chimique réalisée par JENS et collaborateurs (2000) a mis en évidence plusieurs composés de type (3,4-dihydroxyphenyl)ethanoïde glycosyles dans la familles de Lamiaceae. La structure de ce type de composés est illustrée par Fig. 14



**Fig. 14:** des composés de (3,4-dihydroxyphenyl)ethanoïde dans la famille de lamiaceae (JENS et al., 2000)

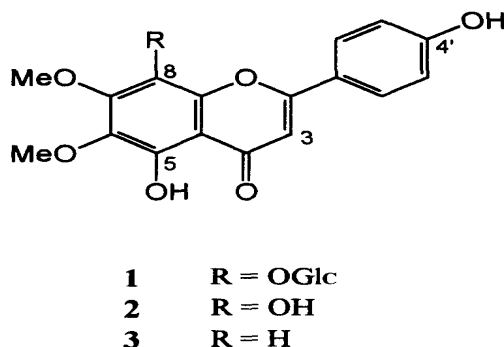
Une étude menée sur l'extrait n-butanol de l'espèce *Sideritis raeseri* a permis d'obtenir 9 composés de la famille des flavonoïdes tels que : hypolaetin, isoscutellarein, ...etc. (GABRIELI et al., 2005)

Fruticulin A et Demethylfruticulin A sont deux diterpene quinone isolés de l'espèce *Salvia arizonica*, ces structures ont été déterminées par RMN (VALANT-VETSHERA, et al., 2003)



**Fig. 15:** Fruticulin A et Demethylfruticulin A de l'espèce *Salvia arizonica*

Une étude menée sur l'extrait éther diéthylique de la partie aérienne de *Becium gretiflorum* a permis d'obtenir 8-O-glucoside de isothymusin, cirsimaritin et la thymusin (GRAYNER R et VEITCH, 1998)



**Fig. 16:** les composés de l'extrait éther diéthylique de la partie aérienne de *Becium gretiflorum*

Les huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds obtenues par entraînement à la vapeur d'eau, à l'échelle semi pilote, sont analysées par GC-MS et GC-FID. Les résultats ont montré l'existence des composés majoritaires suivants : L'oxyde de pipéritone et l'oxyde de piperiténone (BRADA et al 2007).

### I.3.2. Genre *Teucrium*

#### I.3.2.1. Présentation

Nom générique des germandrées (labiées) désignant en Latin (teucrion) en grec τευκρῖον troie, ou de teucros, prince troyen qui aurait découvert les propriétés médicinales de la plante (COUPLAN, 2000).

Le genre *Teucrium* fait partie des genres les plus importants de la famille des Lamiacées, est réparti en 340 espèces et variétés environ. D'un point de vue taxonomique, elles sont identifiables grâce à la forme du calice et inflorescence (VELASCO-NEGUERUELA et PEREZ-ALONSO, 1990 ; GRUBESIC, et al.2007). Il s'agit d'un grand genre qui diffère des autres que dans ses Corolles formées d'une lèvre. Un grand nombre de travaux ont été publiés récemment sur la taxonomie de ce genre basé sur des études morphologiques (inflorescences et calice) (El OUALIDI, 1991), micromorphologiques (trichomes) (GRUBESIC, et al.2007), mais les relations au sein du groupe restent confuses (HARBORNE, 1986)

Nous pouvons citer quelques exemples de quelques espèces appartenant à ce genre. : *Teucrium chamaedrys* L *Teucrium cubense* Jacq, *Teucrium veronicoides* Maxim , *Teucrium scorodonia* L., *Teucrium flavum* L, *Teucrium fruticans*, *Teucrium scordium* L (*Germetrée d'eau*) *Teucrium marum.*, *Teucrium polium* L., et *Teucrium scordium* L. subsp, *Teucrium polium* subsp.bilion, *Teucrium polium* subsp *capitatum*, ...etc. (HARBORNE et al., 1986 ; PISTRICK, 2002)

### I .3.2.2. Propriétés pharmacologiques des *Teucrium* :

Le genre *Teucrium* est très utilisé en pharmacopée traditionnelle depuis plus de 2000 ans (ABDOLLAHI. et al., 2003) dans de nombreuses régions et les propriétés pharmacologiques de certaines espèces ont été démontrées dans des études scientifiques. Les maladies pour lesquelles ces espèces sont utilisées sont très diverses. On peut citer:

- Leurs utilisations traditionnelles dans le traitement symptomatique de troubles digestifs et dans celui des états neurotoniques des adultes et des enfants notamment en cas de trouble mineurs de sommeil. (BRUNETON, 1993).
- Ces espèces de *Teucrium* sont amères et astringentes (ÖZKAN et al., 2007 ; ABDOLLAHI et al., 2003), utilisées comme antirhumatismaux diurétique, diaphorétique, tonique, antipyrétique, antispasmodique.
- Beaucoup d'entre elles sont utilisées dans la médecine populaire comme anti-inflammatoires, antihypertenseurs et anorexiques (GRUBESIC et al., 2007), ainsi que antidiabétique, antiseptique, anthelminthique et carminative (GHRAIBEH et al. 1988).
- L'espèce *Teucrium montbretii* subsp. Pamphylicum est utilisée traditionnellement comme cicatrisant, anti-inflammatoire et dans le traitement du cancer. L'activité antioxydante a été également démontrée. (ÖZKAN et al 2007).
- Plusieurs études de type bactériostatiques, spasmolytiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires ont été menées sur *Teucrium Marum*. (RICCI, et al., 2005 ; EISNER et al., 2000). Plus récemment, EISNER et al. (2000) a montré que certains monoterpènes contenus dans *Teucrium Marum*, exercer une activité anti-insecte.

- De même certains travaux font état de traitement du paludisme, dans le passé. (CAMARDA, 1990; VOKOU et MARGARIS, 1986)

### I .3.2.3. Toxicité du *Teucrium* :

Certaines espèces sont toxiques dans le foie (STICKEL et al., 2001). On rapprochera de ces divers cas observés en 92 avec *teucrium chamaedrys* celui d'une femme de 37 ans traitée à 2 reprises à six mois d'intervalle traitée à chaque fois pendant une dizaine de jours par des infusions de germandrée tomenteuse *Teucrium polium* la dégradation rapide de la fonction hépatique a conduit les médecins à pratiquer une transplantation de foie. L'organe atteint présentait une nécrose massive les causes habituelles ayant été écartées, le rôle déclanchant de la seconde administration a mené à soupçonner fortement *Teucrium polium* (BRUNETON J 2001).

On a pu démontrer expérimentalement que la nécrose hépatique peut être provoquée par un extrait de germandrée enrichi en diterpènes et que l'administration préalable d'activateurs ou d'inhibiteurs du cytochrome P 450 augment ou diminué la toxicité : l'activation des furano-néoclérodanes semble donc le préalable indispensable à l'action toxique .

La teucriine A est hépatotoxique mais le mélange des tétrahydroteucriine est dépourvu de toxicité .Les diterpènes provoquent la mort rapide et massive des cellules par apoptose en augment le calcium intracellulaire et en stimulant diverse enzyme calcium dépendantes cette implication du noyau furanique n'est pas surprenante (BRUNETON, 1999).

Nous n'avons pas fait mention de sa toxicité parce que la plante en question est localement (en Tamanrasset) très couramment utilisée aussi bien en usage pastoral que médicinal. La plupart du temps, aucune toxicité n'est signalée (BENCHELAH et al., 2004).

### I .3.2.3. Quelques métabolites secondaires d'intérêt isolés du genre *Teucrium*

Le Tableau ci-après donne quelques exemples de composés isolés du genre *Teucrium*:

**Tableau IV** : Quelques métabolites isolés du genre *Teucrium*

Espèce	Principes actifs isolés	Références
<i>Teucrium polium</i> L	Polyphénols, flavonoïdes	ABDOLLAHI M. et al., 2003
<i>Teucrium hyrcanicum</i> L.	5, 6, 4'-trihydroxy-7-methoxyflavone (7-methylscutellarein). cirsiliol (6-hydroxyluteolin derivatives)	OGANESYAN G. B., 2005
<i>Teucrium polium</i> subsp. <i>Pilosum</i>	19-acetylteupoline	LA TORRE M et al, 1986
<i>Teucrium podium</i> var. <i>polium</i> .	Teupoline	MALAKOV P Y. et al, 1982
<i>Teucrium orientale</i>	Flavone : cirsilineol (5,4'-dihydroxy-6,7,3'-trimethoxyflavone).	OGANESYAN G. B., 2007
<i>Teucrium tomentosum</i>	3_-acetoxy-4_,18:15,16-diepoxy-6_,12-dihydroxyneocleroda-13(16),14-dien-19,20-olide,	SOUNDARYA DEVI S. et al ,2003
<i>Teucrium frutican</i>	Diterpènes, flavonoïdes	SOSA M E. et TONN C E., 2006 ; COLL J., et TANDRO Y., 2004
<i>Teucrium lusitanicum</i> et <i>T. algarbiensis</i>	$\alpha$ -pinene, sabinene, $\beta$ -pinene, limonene, germacrene D et elemol.	CAVALEIRO C. et al., 2004
<i>Teucrium divaricatum</i> subsp. <i>villosum</i> ;	villosine B, villosine A, teuvincenone D	ULUBELEN A et al, 1994
<i>Teucrium chamaedrys</i>	Steroides	ULUBELEN A. et al,1993 ; LOPEZ V et al., 2007
<i>Teucrium</i>	neoclerodane diterpènes	OLGUIN J L et al, 1998
<i>Teucrium marum</i> subsp Sardinia islet,	Isocaryophyllene, $\beta$ -bisabolen, $\beta$ -sesquiphelletrene, $\alpha$ -santalene dolichodial et, $\alpha$ -caryophyllene.	RICCI D et al., 2005
<i>Teucrium Iberian</i> Peninsula et Balearic islets	Terpènes	VELASCO- EGUERUELA A. et PEREZ-ALONSO M. J., 1989

**Tableau V:** les Flavonoïdes des espèces de *Teucrium* d'après HARBORNE J B. et al, (1986)

N	structures	Noms Communs
1	5,3',4'-Trihydroxy-6,7dimethoxyflavon	Cirsiliol
2	5,4'-Dihydroxy-6,7dimethoxyflavone	Cirsimaritin
3	5,4'-Dihydroxy-6,7,3'-trimethoxyflavone	Cirsilineol
4	5-Hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavone	-
5	5-Hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone	Salvigenin
6	5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavone	luteoline
7	5,7,4'-Trihydroxyflavone	Apigenin
8	5,7,3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavone	Diosmetin
9	5,6,7,3',4'-Pentahydroxyflavone	6Hydroxyluteolln
10	5,6,7,4'-Tetrahydroxyflavone	scutellarein
11	3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavone	Quercetin
12	3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxyflavone	Isorhamnetin
13	5,7,4'-Trihydroxyflavone 6,8-di-C-glucoside	vicenin-2
14	5,7,4'-Trihydroxyflavone 7-O-glucoside	Cosmosiin
15	5,7,4'-Trihydroxyflavone 7-O-rutinoside	-
16	5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavone 7-O-glucoside	cynaroside
17	5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavone 7-O-rutinoside	-
18	5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavone 7-O-sambubioside	-
19	5,7,3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavone 7-O-rutinoside	Diosmin
20	5,6,7,3',4'-Pentahydroxyflavone 7-O-glycoside	-
21	5,6,7,3',4'-Pentahydroxyflavone 7-O-rhamnoside	-
22	5,7,8,4'-Tetrahydroxyflavone 7-O-(6''-O-acetyl-2''-O-allosylglucoside)	-
23	5,7,8,3',4'-Pentahydroxyflavone 7-O-(6''-O-acetyl-2''-O-allosylglucoside)	-
24	5,4'-Dihydroxy-6,7dihydroxyflavone 4'-Oglucoside	-
25	3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavone 3-O-glucoside	Isoquercitrin
26	3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavone 3-O-rutinoside	Rutin
27	3,5,7,4'-Tetrahydroxy-4'-methoxyflavone 3-O-glucoside	-
28	3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxyflavone 3-O-rutinoside	-



### I .3.3. Espèce *Teucrium polium geyrii*



**Fig.17-** *Teucrium polium geyrii*

#### I .3.3.1 Classification

**Embranchement :** Spermatophytes (plantes à graine)

**Sous embranchement :** Angiospermes (*Magnoliophyta* : plantes à fleur)

**Classe :** Dicotylédones (*Magnoliopsida*)

**Sous classe :** Asteridae

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiacées

**Genre :** *Teucrium*

**Espèce :** *Teucrium polium geyrii*

### I .3.3.2. Reconnaissance botanique

Les *Teucrium* sec *polium* constituent un groupe d'espèces très peu différenciées dont beaucoup de taxons et l'on pense qu'elle contient 125 taxa (BRUNO M et al., 2003), notamment de la sous-sect. *Polium*, sont encore en cours de spéciation. Les espèces offrent, de ce fait, très peu de caractères diagnostiques fixes étudié la variation morphologique, chimique, cytologique et biographique au sein de certains groupes d'espèces très affines. La forme du calice, marqueur morphologique commun à certains du sous- sec *Teucrium polium* (El OUALIDI, 1991).

**Nom scientifique :** *Teucrium polium geyrii*

**Nom Tamahaq :** Takmazzut

**Nom vernaculaire (arabe) :** Chand goura

**Nom vernaculaire (Français):** germandrée tomenteuse

Les sous-espèces *Teucrium polium geyrii* Maire et *Teucrium polium helichrysoïdes* Maire, seraient peut-être une seule et même espèce. Pour les Touaregs, il s'agit de *Takmazzut* et de *Akmazzu*, *Takmazzut* étant le féminin de *Akmazzu*. Les deux plantes sont souvent désignées sous le nom *Takmazzuten*, qui est le pluriel de *Takmazzut*. (OZENDA, 1983).

### I .3.3.3. Description botanique

Plante vivace souvent pérenne, velue, recouverte de poils laineux qui lui donnent une couleur grise bleutée. De taille 20 à 30 cm, L'aspect de la plante est très variable, en général on la rencontre en touffe dense, à tiges nombreuses et ramifiées porte de petites feuilles allongées, aux bords dentelés un peu enroulés sur eux-mêmes. D'autres pieds sont beaucoup plus velus et les feuilles plus développées (BENCHELAH et al., 2004) Feuilles laineuses oblongues au bord dentelé, le bord des feuilles est souvent enroulé en dessous. Fleurs laineuses, blanches ou jaunâtres en grappes à l'extrémité des rameaux (ABDALLAH et SAHKI, 2004 ; ASHNAGAR et al., 2007).

Plantes extrêmement variables, suivant le degré de ramifications, la couleur des fleurs, celle des poils laineux qui recouvrent toute la plante ; on a décrit de très nombreux sous-espèces, reliés d'ailleurs par tous les intermédiaires (OZENDA, 1979).

#### **I .3.3.4. Situation :**

*Teucrium polium* pousse en abondance dans le sud-ouest de l'Asie, Europe et dans l'Afrique de Nord (HASANI et al., 2007).

C'est une Plante méditerranéenne, Commun dans l'Atlas saharien, le Tefedest et les montagnes du Hoggar, moins fréquent ailleurs (plus rare dans le piémont plus rare au Sahara septentrional, au Tass, des Ajjer, au Tedemait, etc. ), Elle pousse surtout dans les lits pierreux des oueds et dans les roches, en altitude entre 1200 et 2600 mètres. (ABDALLAH et SAHKI, .2004 ; OZENDA, 1979).

#### **I .3.3.4. Utilisation dans la médecine traditionnelle**

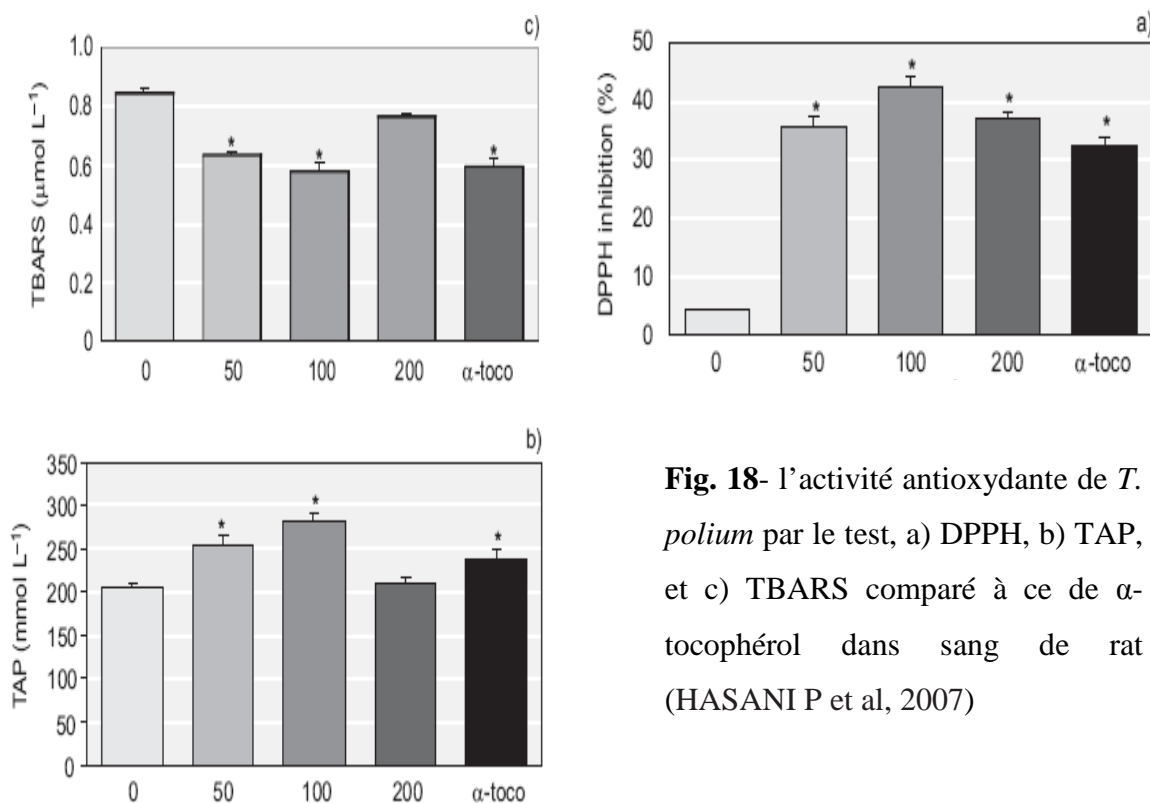
En médecine traditionnelle africaine, cette espèce est utilisée dans les périodes de stress, car il permet de se relaxer, de se détendre, d'être serein et plein d'énergie. Elle permet la relaxation des muscles en augmentant leur force, la diminution de l'anxiété et la lutte contre la fatigue et l'agressivité. De plus, elle favorise le sommeil et permet également de stimuler la mémoire, d'augmenter sa concentration et sa lucidité. Elle possède également une action bénéfique sur la digestion. Ses propriétés anti-stress et anti-oxydant permettent de lutter contre le vieillissement de la peau. Elle est aussi bien conseillée pour les personnes stressées, que les personnes de plus de 50 ans et les sportifs (LAGNIKA, 2005).

Ses feuilles sont utilisées en cuisine et à des fins médicinales, en particulier pour le traitement des troubles intestinaux et gastriques. Il a également fait montre d'une certaine promesse dans le traitement de la douleur viscérale. Bien qu'il soit souvent utilisé pour traiter les troubles de sucre dans le sang (comme le diabète), les études n'ont pas réussi à trouver aucun avantage de l'utilisation de *Teucrium polium* pour les diabétiques (ASHNAGAR et al., 2007).

Comme les armoises, les germandrées ont autrefois fait l'objet d'un commerce. Elles font partie, avec le *Cymbopogon*, des plantes les plus prisées au

Tassili car c'est une plante parfumée très appréciée et recherchée des touaregs, c'est l'aspirine des touaregs (Parfume agréablement le thé), indiquée pour régulariser les battements du coeur. Elle est broutée par les herbivores (BEBCHELAH et al., 2004).

*Teucrium polium L.* a été reconnu depuis longtemps en médecine populaire dans le traitement de Physiopathologiques de nombreuses conditions (PANOVSKA et al., 2007), telles que les inflammations, les rhumatismes. Son extrait a été montré à induire hypotenseurs (KAMEL et SANDRA, 1994), antispasmodique, antibactériens et antipyrétique diaphorétique, tonifiant, et des effets analgésiques (KAWASHTY et al, 1997). La plupart de ces effets ont été liés à l'anti-radical libre comme les études réalisées en 2007 par P HASANI et collaborateurs sur le potentiel antioxydant de *Teucrium polium*. Fig18.



**Fig. 18-** l'activité antioxydante de *T. polium* par le test, a) DPPH, b) TAP, et c) TBARS comparé à ce de  $\alpha$ -tocophérol dans sang de rat (HASANI P et al, 2007)

L'extrait aqueux de *Teucrium polium* a longtemps été utilisé En Iran pour le traitement du diabète. Récemment, la haute insulinothèque et anti-hyperglycémique activité de son Extrait brut en utilisant à la fois des animaux et / ou pancréatiques isola de rat Îlots a été évalué (ESMAEILI et YAZDANPARAST, 2004; ARDESTANI et YAZDANPARAST, 2007).

Et effets hypolipidémie ont été signalés par RASEKH et al. (2001), Il a été rapporté que l'extrait de *Teucrium polium* réduit NADPH-initié peroxydation lipidique Microsomes de foie de rat in vitro (RICCI et al., 2005 ; HASANI et al., 2007).

#### **I .3.3.5. Travaux antérieurs sur *Teucrium polium* :**

*Teucrium .Polium* L. (Lamiaceae) a fait l'objet de plusieurs enquêtes dans le dernier 30 ans, (HASANI P et al., 2007) A été démontré qu'ils contiennent différentes classes de composés tels que les esters d'acides gras, diterpènes (VELASCO-NEGUERUELA et PEREZ-ALONSO, 1990), les monoterpènes, sesquiterpènes, des flavonoïdes et polyphenol.. Les Flavonoïdes qui ont été isolées de *Teucrium polium* comprennent cirsimaritin, cirsilol, Cirsilinol, le 5-hydroxy-6, 7,3 ', 4'-tetramethoxyflavone, salvigenin, apigenin 5-galloylglucoside, Apigenin-7-glucoside, vicenin-2-et luteolin-7-glucoside (6, 12, 14). Les antioxydants Potentiel de cirsimaritin et apigenin-7-glucoside a été indiqué.

Contrairement à d'autres espèces de genre *Teucrium* qui ont fait l'objet de nombreuses études, une recherche bibliographique poussée a démontré d'une façon univoque l'absence d'études phytochimiques antérieures de la sous-espèce *Teucrium polium geyrii*.

Le tableau suivant donne quelques exemples de composés isolés des *Teucrium polium*:

**Tableau VI** : quelques exemples de composés isolés des *Teucrium polium*

<b>Espèce</b>	<b>Principe active isolée</b>	<b>Références</b>
<i>Teucrium polium</i>	Tyrosol, acide Ferulic, Luteolin acide o-Hydroxybenzoic Hydroxytyrosol Acide p-Hydroxybenzoic, Quercetin Acide Vanillic, Gentisic, Ferulic, et Acide Caffeic.	PROESTOS. et KOMAITIS, 2006 PROESTOS et KOMAITIS, 2006
<i>Teucrium polium</i> (Majorca )	Ajugapitin, 15 - Ethoxy - 14 – hydroajugapitin , 14 - Hydro - I5 – hydroxyajugapitin, 14, 15 – Dihydroajugspitin, Chamaepitin, 19- acetylgnaphalin, Auropoïln, Teucrin A, Teuflin, 20 - Acetyhuopolin auropolin	CAMPS.et al, 1986
<i>Teucrium polium</i> var. <i>album</i> ; (Qatar); <i>Teucrium</i> <i>polium</i> var. <i>pilosum</i> (Egypt)	sesquiterpene alcohols : 10-cadinol (8.98%), 13-eudesmol (19.1%), spathulenol (11.59%) .monoterpenes major : $\alpha$ et $\beta$ - pinene (4.09% et 4.90%)	KAMEL et SANDRA, 1993
<i>Teucrium polium</i> L.	teupolioside III	OGANESYAN et al, 1991
<i>Teucrium</i> <i>polium</i> subsp <i>polium</i>	Auropolin , Capitatin, 20-epi- auropolin, acetyl-auropolin , lactone	BRUNO et al., 2003
<i>Teucrium podium</i> subsp. <i>uinentinum</i>	diterpenoids, Eriocéphalin, teuvincentins A, B et C, 7,8-dehydroeriocephalin, 7- acetylteuvincentin A, 7,8- dehydroeriocephalin, 7-Acetyl derivative, 6,7-diacetylteuvincentin B, 6-Acetylteuuinentin B .	CARREIRAS .et al, 1988
<i>Teucrium polium</i> (Egypt)	Apigenin 7-glucoside, vicenin-2, luteolin 7-glucoside et apigenin 5-galloylglucoside	KAWASHTY .et al, 1997
<i>Teucrium polium</i> (turkey)	teulolin A, teulolin B	BEDIR et al, 1999
<i>Teucrium polium</i> uropean (spain)	flavonoids: cirsioliol, cirsimaritin, cirsilincol, salvigenin et 5-hydroxy- 6,7,3',4'-tetramethoxyllavone.	HARBORN et al, 1986
<i>Teucrium polium</i>	teupolin IV et teupolin	MALAKOV et PAPANOV, 1983.

## I.4. Activité antibactérienne

### Introduction

Affichant un taux de croissance annuel de 25 %, les plantes médicinales forment un créneau en plein essor du secteur des médecines douces (LAQUATRA, 1999).

L'activité antimicrobienne des extraits à base des plantes médicinales se trouve à la base des médecines dites alternatives, de nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires crus ou cuits, de substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques. De ce fait, la découverte de nouvelles molécules possédant une activité anti-infectieuse, sans toutefois, être compétitives avec les antibiotiques déjà existants, serait plus appréciable.

Une des stratégies possibles adoptées pour la découverte d'un nouveau remède anti-infectieux, consiste en la recherche à partir des plantes supérieures, des composés ayant une activité chimiothérapeutique supplémentaire, et avec une structure largement différente de ceux en cours d'utilisation (VANDENBERGHE, et VLIETICK, 1991).

### I.4.1 Méthodes de détermination de l'activité

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité anti-microbienne des extraits.

Selon la souche microbienne, l'huile essentielle et l'application choisie, divers milieux de culture peuvent être mis en oeuvre. (PIBIRI, 2005)

Les différents protocoles peuvent ainsi être classés :

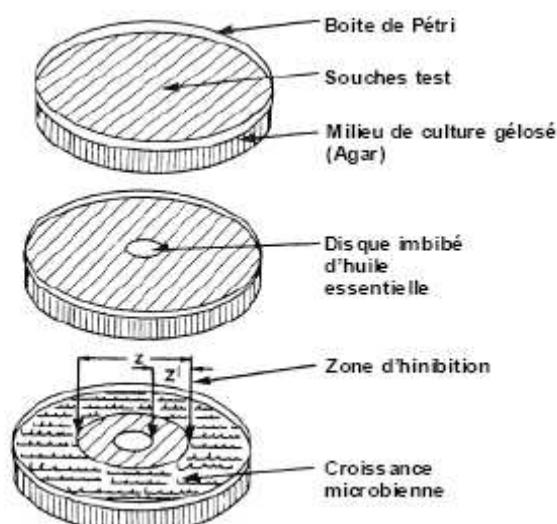
1. selon le **milieu** dans lequel se fait la **diffusion** de l'huile essentielle, soit liquide, Solide.
2. selon la nature du **contact** de l'huile essentielle avec le germe : diffusion sur disque, solution alcoolique ou dispersion dans un émulsionnant.

#### I.4.1.1 Aromatogramme

«L'aromatogramme est à la Phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la Pharmacopée française des antibiotiques est à la médecine ». Cette transposition due au Dr M. GIRAULT dès 1971, est décrite dans le tome III du Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie (BELAICHE, 1979). L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces

bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (PIBIRI, 2005).

Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée d'extrait (Fig.19)



**Fig. 19-** Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de Pétri (ZAIKA, 1988)

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Deux techniques d'ensemencement : Technique par inondation et une autre par écouvillonnage. (JOFFIN et LEYRAL, 2001) Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition.

Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique, plus il est petit, plus la bactérie est résistante.

Cette méthode utilisée par certains auteurs (BELAICHE, 1979 ; GARBONNELLE et al, 1987; JOFFIN et LEYRAL, 2001; KOBAL et al, 2004 ; IQBAL et FARRUKH, 2007) est la technique que nous avons utilisée pour évaluer dans un premier temps les huiles essentielles sélectionnées dans la littérature pour leur activité antimicrobienne.



### I.4.1.2 Microatmosphères

Dérivé de la méthode précédente le protocole des microatmosphères est techniquement proche de celle des aromagrammes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Cette technique permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatils des huiles essentielles à l'intérieur d'une boîte de Pétri.

Dans la littérature relative aux huiles essentielles, les résultats des aromagrammes et des microatmosphères sont exprimés exclusivement à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions, en cm ou mm (BELAICHE, 1979 ; KOBAYASHI et al, 2004 ; IQBAL et FARRUKH, 2007). Cette mesure est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité 0, ±, +, ++, +++ (Tableau VII).

**Tableau. VII-** Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés de 10 µl d'huiles essentielles (BELAICHE, 1979).

<i>sensibilité</i>	<i>transcription</i>	<i>Inhibition</i>
Résistant	0	0
Peu sensible	+/-	0.5 cm
Sensible	+	1 cm
Assez sensible	++	2 à 3 cm
Très sensible	+++	3 cm>

### I.4.1.3 Bioautographie

La bioautographie, en tant que méthode de localisation de l'activité antibactérienne dans un chromatogramme, est largement appliquée dans la recherche de nouveaux antibiotiques à partir des micro-organismes. Cette méthode a été mise en œuvre pour pallier les problèmes dus à la diffusion différentielle des composés à partir du chromatogramme vers les boîtes d'agars, par la détection autobiographique directe sur couche chromatographique. Cependant, cette méthode requiert un équipement microbiologique plus complexe. Malgré la facilité avec laquelle cette méthode permet de tester des antibiotiques hautement actifs (la valeur de la CMI est de 10 µg/ml), elle n'est pas prometteuse pour le test des extraits de

plantes, qui contiennent généralement des agents antimicrobiens beaucoup moins actifs par rapport aux antibiotiques disponibles (VANDENBERGHE et VLIETICK, 1991).

#### **I.4.2 Facteurs impliqués dans la détermination de l'activité antimicrobienne :**

La sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car un antibiotique peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet. Par exemple : Les bactéries à Gram positif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram- (ZAIKA, 1988). Cette affirmation n'a cependant pas été confirmée par d'autres travaux. La susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram, ou dépend des huiles essentielles utilisées.

Les effets antimicrobiens des associations des produits à tester, comme pour les associations d'antibiotiques, sont définies selon quatre interactions possibles :

**Indifférence** : l'activité d'un composé n'est pas affectée par l'autre.

**Addition** : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque huile essentielle ou composé étudiée isolément, à la même concentration que dans l'association.

**Synergie** : l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque huile essentielle ou composé étudiée isolément, à la même concentration.

**Antagonisme** : l'association diminue l'activité elle est inférieure à la somme des effets de chaque composé prise séparément. Par exemple dans le cas des bactéries à **Gram positif** : des associations d'huiles essentielles Cannelle et de Thym sont synergiques ou indifférentes sur *Staphylocoque aureus*. En revanche elles sont indifférentes sur le genre *Bacillus*. et dans le cas des bactéries à **Gram négatif** : *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* : des associations ne sont pas plus efficaces que les huiles essentielles pures et sont souvent indifférentes. En revanche une prédominance de Cannelle est plus efficace que celle de Thym, contrairement aux bactéries à Gram positif (PIBIRI, 2005)

### I.4.3 Quelques microorganismes incriminés :

*Clostridium perfringens* : Bacilles à gram positifs, anaérobies stricts, non mobiles et sporules productrice de toxines et comprennent les agent de la gangrène gazeuse, d'intoxications alimentaires, du tétanos du botulisme et de colites et d'autre. Sensibles à la vancomycine et au métronidazole (HART .et SHEARS, 2002 ; PERRY, 2004).

*Klebsilla pneumoniae* : Est un germe très répondu dans la nature, et un commensale du tube digestif, isolés principalement dans les infections urinaires ou respiratoires parfois compliquées de septicémies, surtout en milieu hospitalier où elles seraient responsables de 10% des infections nosocomiales. Elles sont des germes non mobiles, capsulés avec des colonies a aspect de muqueuses sensibles à la Gentamicine, Kanomycine, Céphalosporine et Polymyxine B mais pas sensibles à la pénicilline. Elles ont caractères biochimiques suivantes : Lactose +, ONPG +, VP+, Indole -/+, Urée + (GARBONNELLE et al, 1987 ; GIRARD, 2001).

*Escherichia coli* : Bacilles très répondu à gram négatifs asporules, qui appartiennent à la famille des entérobactéries, ils fermentent le lactose et le glucose, uréase -, H<sub>2</sub>S -, ONPG +, mannitol +, Indole +, VP-. Les colibacilles sont responsables des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites.

*Lactobacillus bulgaricus*: Bâtonnets à gram+, asporules, immobiles, longs, minces, produisant de l'acide lactique à partir des glucides, thermophiles et microaérophiles. Lactobacillus font partie de la flore normale du tube digestif. (LAMBIN et GERMAN, 1969; HART et SHEARS, 2002)

*Staphylococcus aureus* : Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille de *Micrococcaceæ* qui regroupe des espèces bactériennes constituées de cellules arrondies (cocci à Gram positif) immobiles et disposées en amas. *Staphylococcus aureus* ou Staphylocoque doré est une espèce saprophyte présente sur le corps et les muqueuses, et souvent responsable d'infections graves communautaires et nosocomiales (20 % des cas). Cette bactérie est responsable d'infections des plaies, de la peau et du sang. Elle peut entraîne aussi des abcès, ostéites, otites, infections urinaires, endocardites, gastro-entérites et infection pulmonaires. Staphylocoque doré acquiert facilement des résistances aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline, à la méthicilline<sup>1</sup> (MRSA), et aux fluoroquinolones mais sensible au B-lactamines (HART et SHEARS, 2002; PERRY et al, 2004).

***Pseudomonas aeruginosa*** : Ou bacille pyocyanique est une bactérie à Gram négatif.

Agent pathogène opportuniste actif, (LAMBIN et GERMAN, 1969), il contamine particulièrement tous les milieux aqueux. On le retrouve sur les mains du personnel soignant, mais surtout dans les canalisations d'eau, les réservoirs, les siphons et surtout dans les aérosols issus de l'utilisation des chasses d'eau dans les sanitaires. Une bactérie mobile aérobie, non capsulé.

Une antibiothérapie prophylactique favorise les surinfections à *Pseudomonas aeruginosa*, dont le taux de mortalité est élevé. Les difficultés de traitement et la grande résistance sont connues à l'ampicilline, céphalothine, triméthoprine et acide nalidixique. Elle représente 11 % des infections nosocomiales, sous forme d'infections urinaires, d'infections du sang, des plaies et de l'appareil respiratoire (PERRY et al., 2004).

***Proteus mirabilis*** : Bacilles pathogènes à gram -, mobiles, trouvant dans le sol, l'eau d'égouts et font partie de la flore fécale normale, provoquent des infections urinaires, plaies, méningites, septicémies. *Proteus mirabilis* ne fermentent pas le lactose et ne produisent pas l'uréase, Indole -, H<sub>2</sub>S+, mannitol -, inositol -. Ces bactéries sensibles à la pénicilline, carbénicilline, kanamycine, gentamicine et résistantes à la sulfamides et triméthoprine (BEERNESH et al., 1996).

***Streptococcus cremoris*** : Sont une composante essentielle de la flore humaine normale, mais aussi pathogène, sous forme cocci à gram + en amas produisant l'enzyme ADNase, est un pathogène responsable d'infections cutanées, ostéomyélites, septicémies et pneumopathies. Ils sont sensibles aux pénicillines et résistant au chloramphénicol (HART et SHEARS, 2002).

***Actinobactere sp*** : Le genre *Actinobactere* appartient à la famille de Actinobactériales qui regroupe des espèces bactériennes constituées des bâtonnets filamenteux ayant tendance à donner des ramifications et une apparence de mycélium, produisant de nombreux formes renflées et sphéroïdes libres ou sessiles. Ils ne forment pas d'endospores, mais leurs extrémités peuvent se segmenter en conidies résistantes aux agents extérieurs. Les *Actinobactere* sont non acido-résistantes aux gram + ou gram- et sont immobiles

***Coliformes fécaux*** : Le genre *Coliformes* appartient à la famille de *Entérobactéricaceæ* qui regroupe des bacilles à Gram négatif immobiles asporules anaérobies facultatifs. Les *Coliformes fécaux* sont thermotolérants (LARPENT, 1997).

## II. Introduction

Afin d'isoler des substances nouvelles de plantes et de trouver de ce fait de nouvelles voies d'applications tant dans les domaines de la pharmacie que de la cosmétique et afin de rendre la stratégie d'isolement le plus efficace, il convient de sélectionner avec soin la plante à étudier.

Dans cette optique, un certain nombre de critères ont été pris en compte pour sélectionner la plante de cette étude.

-Une origine géographique: Tamanrasset.

Tamanrasset se trouve dans le grand sud algérien à plus de 2000 Km d'Alger ses coordonnées sont N22°40 E5°10 le topique du cancer, en rouge sur la carte passe à 40 km au nord avec une Superficie (km<sup>2</sup>) : 556.000 Latitude : 22° 46' 59 N. Longitude : 5° 31' 0 E et une Altitude de 1319 mètres

Relief : nord, couvert de sable et climat rude ; au sud, massif montagneux ; pluviométrie 32 mm/an en moyenne ; on y rencontre les températures les plus élevées du monde (In Salah et In-Guezzam), comme le pic le plus élevé d'Algérie, le Tahat 3003 m.

D'après BELGHOUL Mohamed, Chef du département des études et du développement du patrimoine naturel en 24/7/2006 Ils en ont recensé 560 dont 371 espèces à fleurs et une trentaine d'arbres et d'arbustes. Parmi elles, 69 sont endémiques, c'est-à-dire qu'elles n'existent que dans l'Ahaggar, avec un degré de rareté plus ou moins important selon les régions. Le ficus ou le pistachier de l'Atlas sont par exemple rarissimes. Mais il reste encore des zones inexploitées. La désertification est souvent mise en avant pour expliquer la disparition des espèces, mais la pression humaine n'est-elle pas aussi très importante ? Donc Tamanrasset est une zone de choix pour la mise en lumière de nouvelles molécules.

- Utilisation des plantes en médecine traditionnelle :

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité (GURIB-FAKIM, 2006).

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie mettent en relation les savoirs ancestraux des médecins traditionnels et les connaissances scientifiques actuelles. Ce sont avant tout des domaines de recherche interdisciplinaire à l'interface des sciences de l'Homme, comme

l'ethnologie, l'histoire, la linguistique, et des sciences de la nature, comme la botanique, la pharmacologie, la pharmacognosie, la médecine.

Les informations de terrain recueillies auprès des populations (les véritables tradipraticiens ne subsistent plus que dans des zones reculées) sont le reflet d'une approche culturelle de la maladie. Le traitement varie selon le comportement du malade, ses dires, le rang social avec la prise en compte de son histoire familiale.

L'ethnopharmacologie et l'ethnobotanique ont donc pour finalité la compréhension des pratiques et des représentations relatives à la santé, à la maladie, et la description, l'évaluation thérapeutique des plantes utilisées dans les pharmacopées traditionnelles.

L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne ont été découverts par l'intermédiaire d'investigations ethnobotaniques (GURIB-FAKIM, 2006).

Les enquêtes ethnobotaniques, menées de Novembre 2007 à Juin 2007 sur 63 d'enquêtés permis le recueil de nombreuses informations quant à l'emploi des ressources végétales environnantes. Les résultats de l'enquête sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau VIII-** Les résultats de l'enquête ethnobotanique :

<b>Espèce végétale</b>	<b>Affections</b>	<b>Parties utilisées</b>	<b>Préparations</b>
<i>Teucrium polium</i> <i>geyrii</i> Takmazut (nom tamahaq)	Antiseptique, aromatique, dépuratif, troubles gastriques et intestinaux, vermifuge, vulnérable.	Branches, feuilles	Infusion, décoction Réduit en poudre Emplâtre Frictions

### II.1. La récolte du matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante *Teucrium polium geyrii*, récoltée à Tamanrasset (Hoggar centre) en Novembre 2007.

Les échantillons séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante. Après séchage, la plante a été broyée et stockée soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses.

La plante est été identifiée par une botaniste M<sup>ème</sup> BENHOUHOU Salima INA (Institut National d'Agronomie El-Harrach Algie).

## **II.2. Test chimique préliminaire :**

La poudre végétale, issue de la partie aérienne de la plante *Teucrium polium geyrii*, a subie différentes réactions chimiques, afin de confirmer la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires.

**II.2.1 Saponosides :** On utilise la propriété qu'ont les solutions aqueuses de saponosides de donner par agitation une mousse persistante.

### **II.2.2 Détection des polyphénols**

**II.2.2.1 Les flavonoïdes :** Réaction dite à la cyanidine (réaction de SHIBATA) dans un tube à essai, 2 ml d'extrait aqueux à 10% est placé, on ajoute 5 ml d'alcool chlorhydrique (4 ml EtOH + 1 ml HCl concentré) et 2 ou 3 copeaux de magnésium. Une coloration rose orangé ou violacée apparaissant lorsqu'il y a des flavonoïdes.

**II.2.2.2 Les tanins :** La réaction effectuée est l'action de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) 5% sur l'extrait aqueux à 10%, l'apparition d'une coloration bleu noire ou verte dénotant la présence de tanins. (HARBORNE, 1968 ; RIBEREAU- GAYON, 1968)

**II.2. 3 Anthraquinones libres :**(réaction de BORNTRAEGER) On met un peu de poudre de drogue sur un papier filtre, mouiller la poudre avec quelques gouttes d'ammoniaque. Après quelques minutes on observe une coloration rouge du papier filtre est due aux anthraquinones libres.

**II.2.4 Les alcaloïdes :** 2 ml d'une solution d'extrait à 10% dans l'eau additionnée d'une goutte de HCl concentré et 3 gouttes de réactif de BOUCHARDAT (Iode 2.5 g, KI 5 g et H<sub>2</sub>O 100 ml). Une précipitation brun rougeâtre signifie la présence d'alcaloïdes.

**II.2.5 Huiles essentielles :** On effectue extraction liquide- liquide par éther d'éthyle au solution d'extrait aqueux puis on ajoute  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , on dissout le résidu dans l'eau. L'apparition de couche jaune indique la présence des huiles essentielles.

**II.2.6 Cardénolides :** 5 g de poudre végétale est macéré avec 20 ml d'eau distillée, 10 ml de filtrats est mélangé avec 10 ml de ( $\text{CHCl}_3$ , et éthanol). La phase organique est évaporée, et l'irréfléchi est dissous dans 3 ml d'acide acétique, simultanément alors a déplacé à une éprouvette. Quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  est ajouté, et a suivi en ajoutant 1 ml d'acide sulfurique concentré. La coloration verte bleu indique la présence de Cardénolide

**II.2.7 Stéroïde :** 5 g de poudre végétale est extrait avec 70% d'Et.OH, l'extrait de l'alcool s'est évaporé et l'irréfléchi est dissous dans  $\text{CHCl}_3$ . Le filtrat est divisé en deux tubes dans la première, 1 ml de solution acétique est ajouté et a suivi par 1 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré. Si la solution ne donne aucune couleur verte qui prouve la présence de stéroïdes non saturés et. Au deuxième tube, le même volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  est ajouté. La couleur jaune n'est pas transformée dans couleur rouge, donc absence de dérivés des stéroïdes.

**II.2.9 Stérols :** On ajoute 0.5 ml à 1 ml d'acide sulfurique concentré à une solution chloroformique à 10%, la phase inférieure acide prend une coloration d'abord jaune ensuite rouge foncé.

**II.2.9 Sucres réducteurs :** On fait agir à chaud la solution à étudier sur de la liqueur de Fehling préalablement portée à l'ébullition. La présence d'un sucre réducteur se manifeste par l'apparition d'un précipité rouge (HARBORNE, 1968 ; CIULEI, 1983).



## II.3 Les flavonoïdes de *Teucrium polium geyrii*

### II.3.1 Extraction des flavonoïdes :

La procédure suivie est celle appliquée dans le laboratoire Biogéochimie des milieux désertiques, selon les données de la littérature.

#### II.3.1.1 Extraction des flavonoïdes par macération :

La masse choisie est de 5 g de poudre de plante, elle est macérée dans un mélange hydro alcoolique (méthanol (CH<sub>3</sub>OH)/eau 80/20: V/V) pendant 36 h à température ambiante et a l'obscurité avec renouvellement du solvant toute les 24 h, les divers extraits sont réunis. Après filtration des extraits hydro alcooliques, ils subissent une évaporation sous vide dans un rota vapeur à une température de 40°.

La phase aqueuse de l'extrait est extrait un ou plusieurs fois jusqu'a l'épuisement total avec un demi volume de l'éther de pétrole dans une ampoule a décanter afin d'éliminer toutes traces de composés apolaires (pigments, lipides, etc.) (TORCK et MADELEINE PINKAS, 1992).

La phase aqueuse ainsi obtenue est ensuite extraite un ou plusieurs fois avec un volume d'acétate d'éthyle. L'addition d'un mélange de deux solutions aqueuses (4ml): sulfate d'ammonium (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20 % (m/v) et l'acide orthophosphorique H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 2% (m/v) facilite le passage des composés phénoliques de la phase aqueuse vers le solvant « l'acétate d'éthyle».

La phase organique obtenue est séchée sur sulfate de sodium anhydride Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour éliminer toutes traces d'eau. Après filtration le solvant est évaporé sous pression réduite a 40°C. (STOCKER et al., 2004 ; DJERIDANE et al., 2007). Les extraits phénoliques obtenus sont sous forme d'une poudre, de couleur jaune vert .l'extrait est pesé pour calculer le rendement.

Le résidu est repris dans des ml de méthanol pur et conserve a -4°C dormant l'extrait phénolique purifié.

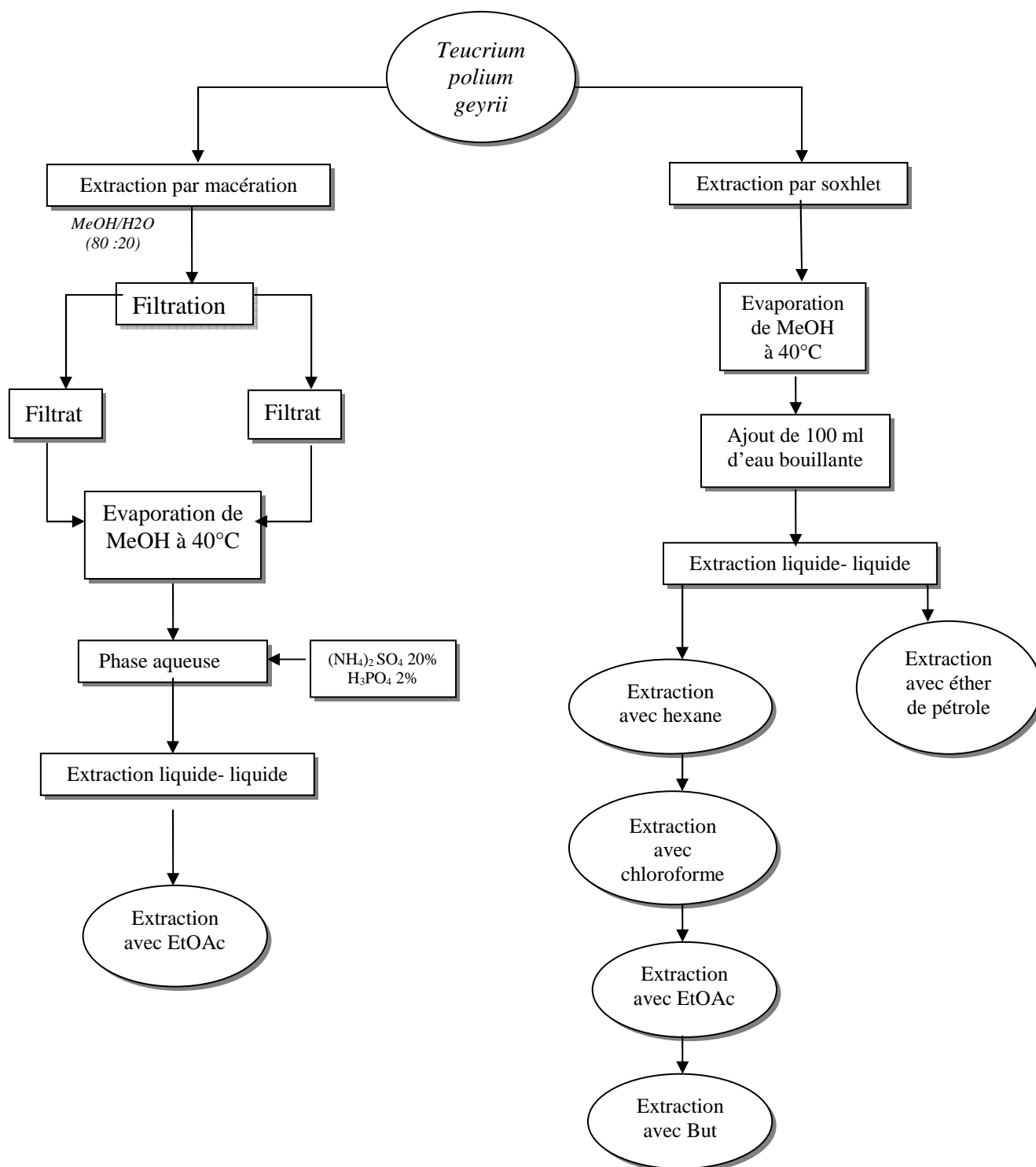


Fig. 20- Les étapes d'extraction des flavonoïdes par soxhlet et par macération.

### II.3.1.2. Extraction des flavonoïdes par soxhlet :

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle

50 g de la partie arienne de *Teucrium polium geyrii* a été extrait dans un Appareil Soxhlet pendant 7 h, en utilisant le méthanol pur comme solvant d'extraction. Après évaporation totale du solvant on ajoute 100 ml d'eau chaude au résidu sec on laisse refroidir durant une nuit. Le liquide est filtré puis transvasé dans une ampoule à décanter. On effectue l'extraction liquide-liquide on utilisant système de solvants de polarité croissante : éther du pétrole (pour éliminer les pigments et la chlorophylle), l'hexane, chloroforme (polarités faibles, utilisés pour l'extraction des composés apolaires), acétate de l'éthyle (EtOAc ; de polarité moyenne, utilisé pour l'extraction des aglycones flavonoïdiques et les monosides) et n-butanol (n-BuOH ; de polarité forte, utilisé pour l'extraction des flavonoïdes hétérosidiques) (DASTMALCHI, 2007). Les extraits organiques étaient séchés sur sulfate de magnésium anhydre. Les extraits ont été dissous dans DMSO (pour l'activité biologique) et dans le MeOH.

Le montage expérimental est illustré en Fig.-21.

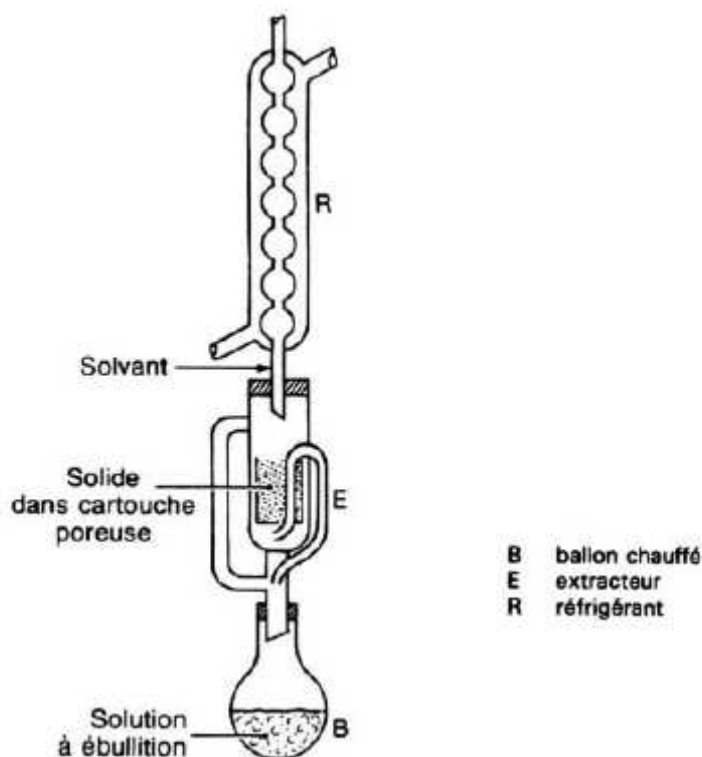


Fig. 21- Montage expérimental de l'extracteur soxhlet

### II.3.2 Quantification des composées phénoliques

Cette analyse permet d'avoir une notion de la teneur en polyphénols de la plante. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de SINGLETON et ROSS (en 1965) avec le réactif de Folin – Ciocalteu (ÖZKAN, 2007), tandis que les flavonoïdes ont été quantifiés par dosage direct par le tri- chlorure d'aluminium

#### II.3.2.1. Dosage des phénols totaux

Le principe de ce dosage est adapté par SINGLETON et ROSS (en 1965) avec le réactif de Folin – Ciocalteu.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué de polyhétérocycles acides contenant l'acide phosphotungstique  $H_3PM_{12}O_{40}$  et l'acide phosphomolybdique  $H_3PW_{12}O_{40}$  dont la réaction est :

Oxydation des phénolates --> réduction des polyhétérocycles --> formation d'un complexe molybdène( $Mo_8O_{23}$ )-tungstène ( $W_8O_{23}$ ) stable bleu qui absorbe fortement à une longueur d'onde de l'ordre 765 nm. Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique

##### II.3.2.1.a. La courbe d'étalonnage

A partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 10m mol/l, des solutions filles sont ainsi préparées de concentration allant de 0.2 m mol/l jusqu'à 1.2 m mol/l

A l'aide d'une micropipette, 50  $\mu$ l de chaque solution est introduite dans des tubes à essais, suivi de l'addition de 100  $\mu$ l du réactif de Folin-Ciocalteu et 1 ml d'eau bidistillée), après 10 minutes 500  $\mu$ l de carbonate de sodium  $Na_2CO_3$  à 20% (m/v) ont été ajoutés (favoriser un milieu alcalin pour déclencher la réaction d'oxydoréduction), par la suite ces solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 2 h à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV Vis de LNICAM-DISCPD2000-1 à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc (même solution sans la solution d'acide gallique) ce qui nous permet de tracer la courbe d'étalonnage (Fig.27).

### **II.3.2.1.b Traitement des échantillons**

Une quantité de 25 µl de chaque solution d'extraits dilués est introduite dans des tubes à essais, on ajoute les mêmes solutions sans la solution d'acide gallique. La lecture de l'absorbance de chaque solution d'extraits est effectuée.

### **II.3.2.2. Dosage des flavonoïdes**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par VENSKUTONIS et collaborateurs, (2003) avec le trichlorure d'aluminium. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 415 nm. Le flavonoïde utilisé dans cette méthode est la vitexine.

#### **II.3.2.2.1. La courbe d'étalonnage :**

A partir de la solution mère de la vitexine (utilisée comme étalon pour tracer la courbe d'étalonnage) préparée dans le méthanol de concentration 1 mmol/l, on prépare des solutions filles de concentrations allant de 0.01 à 0.06 mmol/l.

Dans une fiole, on met 1 ml de chaque dilution de solution fille de la vitexine ou de l'extrait lors de la quantification des flavonoïdes, on ajoute 1 ml de trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  à 20 % (m/v) dans l'eau. Après incubation à l'obscurité pendant 40 minutes à température ambiante, l'absorbance du mélange a été mesurée à 415 nm contre un blanc d'eau distillé en employant le même spectrophotomètre ultraviolet. A partir des valeurs des absorbances obtenues, nous avons tracé la courbe d'étalonnage de la vitexine.

### **II.3.3 Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)**

La chromatographie est une méthode physique de séparation dans laquelle les composés à séparer, sont distribués entre deux phases, l'une stationnaire (la phase stationnaire) tandis que l'autre (la phase mobile) se déplace dans une direction définie.

La chromatographie sur couche mince est une technique considérée comme technique très pratique vu l'économie de solvant et d'échantillons réalisés en même temps que l'obtention de plusieurs informations sur la composition chimique des extraits et les conditions opératoires optimisées (GRIFFITHS, 1958).

Des chromatographies sur couche mince (CCM) ont été menées sur les fractions **T<sub>2</sub>** à **T<sub>6</sub>** de la plante pour avoir un aperçu de la nature des constituants que l'on peut rencontrer chez cette espèce. Pour cela, une partie des extraits ont été solubilisés dans le méthanol et déposés sur plaques de CCM qui ont ensuite été éluées dans les systèmes de solvants et révélés avec divers réactifs pour permettre une première orientation sur les classes de composés présentes dans les échantillons à analyser. Les informations recueillies ont ensuite été confrontées aux données bibliographiques collectées sur la famille et le genre de cette plante.

Nous disposons de cinq extraits nommés **T<sub>2</sub>** à **T<sub>6</sub>**. **T<sub>2</sub>** est l'extrait acétate d'éthyle de la plante obtenu par macération et les quatre autres fractions sont des extraits liquide/liquide successifs de la fraction aqueuse obtenue par soxhlet, respectivement, de l'hexane (**T<sub>6</sub>**) et de chloroforme (**T<sub>5</sub>**), de n-butanol (**T<sub>4</sub>**) et de l'acétate d'éthyle (**T<sub>3</sub>**).

Les chromatogrammes sur couche mince sont réalisés en phase normale sur des plaques d'aluminium Silicagel 60 F254 (Merck), des plaques de polyamides, des plaques de cellulose et en phase inverse sur des plaques RP<sub>18</sub>. Le développement des plaques s'effectue dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié.

Cette phase mobile est constituée d'un mélange binaire, tertiaire ou quaternaire de solvants selon le type de séparation souhaitée. (RIBEREAU- GAYON, 1968 ; BUDZIANOWSKI, 1991)

Dans notre cas, les systèmes de solvants pour les différentes classes de composés sont les suivants (les proportions sont données en volume et ils sont classés par polarité croissante) :

- Pour gel de silice :

Tol. / AcOH / EtOH (18: 5: 1)

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (95: 5)

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (80: 20)

C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (60: 15)

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH / AcOEt (85: 5: 9)

AcOEt / Acide formique / Acide acétique / H<sub>2</sub>O (100 : 11 : 11 : 25)

- Pour polyamide :

MeOH / H<sub>2</sub>O / AcOH (18: 1: 1)

H<sub>2</sub>O / EtOH /n-ButOH /AcOH (60: 20: 25 :2)

Tol. / EtOH /Acetone /Ether de pétrole (60: 10: 10:10)

- Pour RP<sub>18</sub> :

H<sub>2</sub>O / CH<sub>3</sub>CN (50: 25)

AcOH / HCl / H<sub>2</sub>O (15: 5: 15)

- Pour la cellulose, on effectue la CCM par le solvant suivant :

n-ButOH / AcOH / H<sub>2</sub>O (4: 1: 5) (BAW)

L'observation des CCM s'effectue en lumière visible et sous UV (254 et 356 nm), avant et, dans certains cas, après révélation par les réactifs de AlCl<sub>3</sub> ou de vanilline sulfurique.

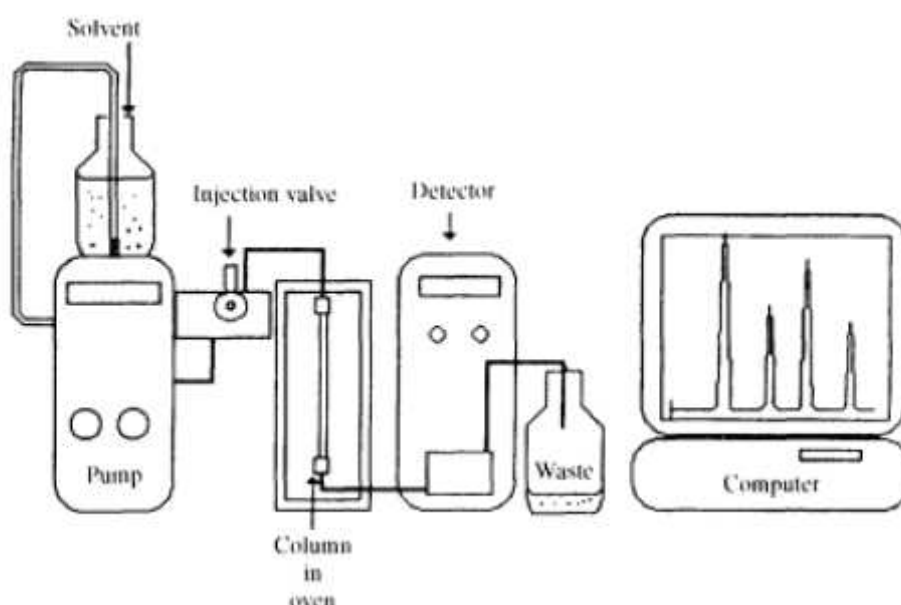
### II.3.4 Analyse par chromatographie liquide (HPLC)

#### II.3.4.1 Principe

La Chromatographie en Phase Liquide Haute Performance ou HPLC est une technique analytique qui permet la séparation d'un ou de plusieurs composés, contenus dans un mélange, en vue appelé système de phases et est composé de la phase stationnaire et de la phase mobile. La méthode de chromatographie HPLC utilisée pour la séparation et la caractérisation des échantillons est la chromatographie d'adsorption en phase inverse. La phase stationnaire utilisée est constituée de groupements C18 greffés sur un support de silice.

#### II.3.4.2 Description du système

La chaîne HPLC est constituée de divers éléments schématisés ci-après.



**Fig. 22-** Représentation des différents éléments composant la chaîne HPLC.

La phase mobile alimente le chromatographe en permanence : elle est délivrée dans le système par une pompe dont le débit est modulable. Les composés à séparer, en suspension

dans un solvant, sont prélevés grâce à une seringue puis chargés dans le chromatographe par l'injecteur au niveau de la boucle d'injection. Les molécules sont entraînées par la phase mobile vers la colonne chromatographique contenant la phase stationnaire. L'affinité des composés pour la phase stationnaire déterminera leur rétention. Un détecteur fluorimétrique suit en permanence l'élution du composé et le signal obtenu est enregistré au niveau de l'ordinateur. Une bonne séparation des composés d'intérêt, grâce à l'utilisation de phases mobiles et stationnaires adaptées à ceux-ci, permettra d'observer au niveau de l'intégrateur un pic isolé, fin et symétrique dont la surface est fonction de la concentration de la solution analysée en ce composé.

### II.3.4.3 condition opératoire

**Tableau IX - Condition opératoire en HPLC**

<b>Appareil HPLC</b>	<b>Chromatographe</b>	HPLC WATERS
	<b>Détecteur UV</b>	2485
	<b>La pompe</b>	1525
<b>Colonne apolaire RP<sub>18</sub></b>	Longueur	25 cm
	porosité	5 µm
<b>Précolonne apolaire RP<sub>18</sub></b>	Longueur	5 cm
	porosité	5 µm
<b>La phase mobile</b>	60% MeOH 40% (H <sub>2</sub> O 98% + acide acétique 2%)	
<b>Débit</b>	1 ml/min	
<b>Longueur d'onde</b>	288 nm	

### II.3.5 Analyse des extraits par Spectrophotométrie UV/Visible

La spectrophotométrie UV visible se présente comme une technique d'analyse structurale très importante dans le cas des composés aromatiques. Les flavonoïdes comportent au moins d'un cycle aromatique par conséquence Ils possèdent un spectre d'absorption dans l'ultraviolet avec généralement deux maximums caractéristiques, Le premier maximum qui est trouvé dans la région 240-285 nm est dû à cycle A, et le deuxième maximum qui sont dans la 300-550 nm est dû à la substitution et la conjugaison du cycle C, variant avec type flavonique et permettant leur identification (FIELD et al., 2008 ; RIJKE et al., 2006).

N'ayant pas pu faire une chromatographie préparatif, nous avons analysés les extraits par spectrophotométrie.



### II.3.6 Analyse des extraits par Spectrométrie Infrarouge (IR)

Pour l'étude des flavonoïdes, la spectroscopie dans l'infrarouge n'a certainement pas eu le développement de la spectroscopie dans le visible et l'ultraviolet. Cependant, cette méthode est a priori intéressante pour l'identifier des substances dont les structures sont à la fois complexes et voisines, puisque, à chaque substance, correspond un spectre caractéristique. On sait d'autre part que chacune des bandes d'absorption du spectre est liée à la présence, dans la molécule, d'un groupement chimique caractéristique ; par conséquent à côté des possibilités d'identification, par comparaison avec le spectre d'un produit de référence, le spectre infrarouge doit permettre d'aider à déterminer, une structure inconnue (RIBEREAU- GAYON, 1968).

## II.4 Les Huiles essentielles de *Teucrium polium geyrii*

### II.4.1 Extraction des huiles essentielles

Une extraction de l'huile essentielle à l'échelle de laboratoire a été effectuée principalement sur la partie aérienne de la plante.

#### II.4.1.1 Extraction par entraînement à la vapeur

Les huiles essentielles sont connues par leur grande thermodégradabilité. Pour cela on procède à l'extraction par une méthode douce qui est l'entraînement à la vapeur. Cette méthode consiste à injecter la vapeur d'eau dans un récipient fermé contenant l'échantillon de la plante. Les huiles volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau et condensées par refroidissement.

### Conditions expérimentales

**Tableau X-** Conditions expérimentales utilisés en l'extraction par l'entraînement à la vapeur

Quantité de matière végétale	100 g
Quantité d'eau	500 ml
Température	60°C
Temps d'hydrodistillation	4 h
Pression du système	Atmosphérique

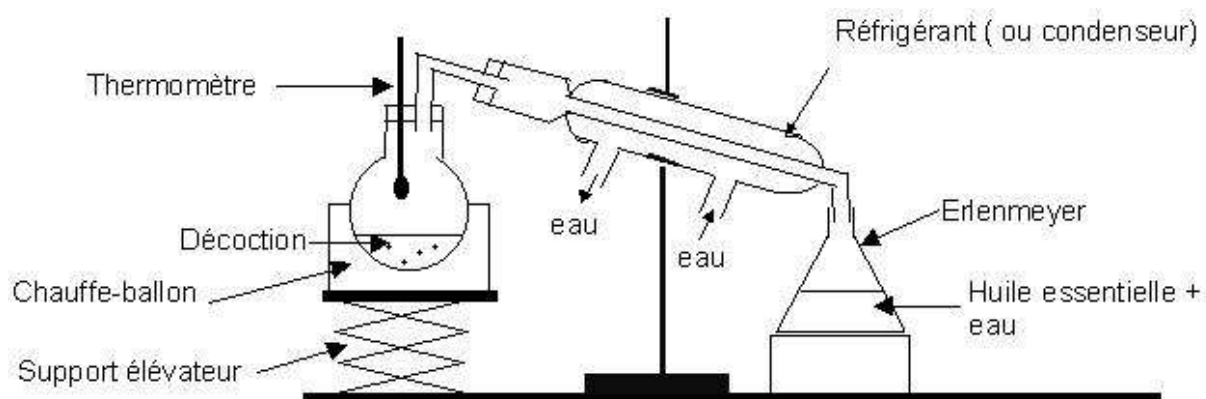
#### II.4.1.2 Extraction par l'hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un ballon de capacité nominal de 500ml contenant de l'eau. L'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique.

### Conditions expérimentales

**Tableau XI-** Conditions expérimentales utilisés en l'extraction par L'hydrodistillation

Quantité de matière végétale	100 g
Quantité d'eau	200 ml
Température	60°C
Temps d'hydrodistillation	4 h
Pression du système	Atmosphérique



**Fig. 23-** Appareillage utilisé au cours du procédé de l'hydrodistillation

L'extraction, une fois terminée, nous avons effectués les opérations suivantes :

Récupération de l'huile essentielle en utilisant une ampoule à décanter.

Le stockage de l'huile essentielle fait dans des flacons codés et au préalable pesés, à basse température dans un réfrigérateur, dans l'attente de son analyse.

Le calcul du rendement de chaque essence s'est effectué selon la relation suivante :

$$R = 100 \times (m/M) ;$$

Où m et M représentent respectivement la masse de l'huile essentielle et la masse de la charge végétale

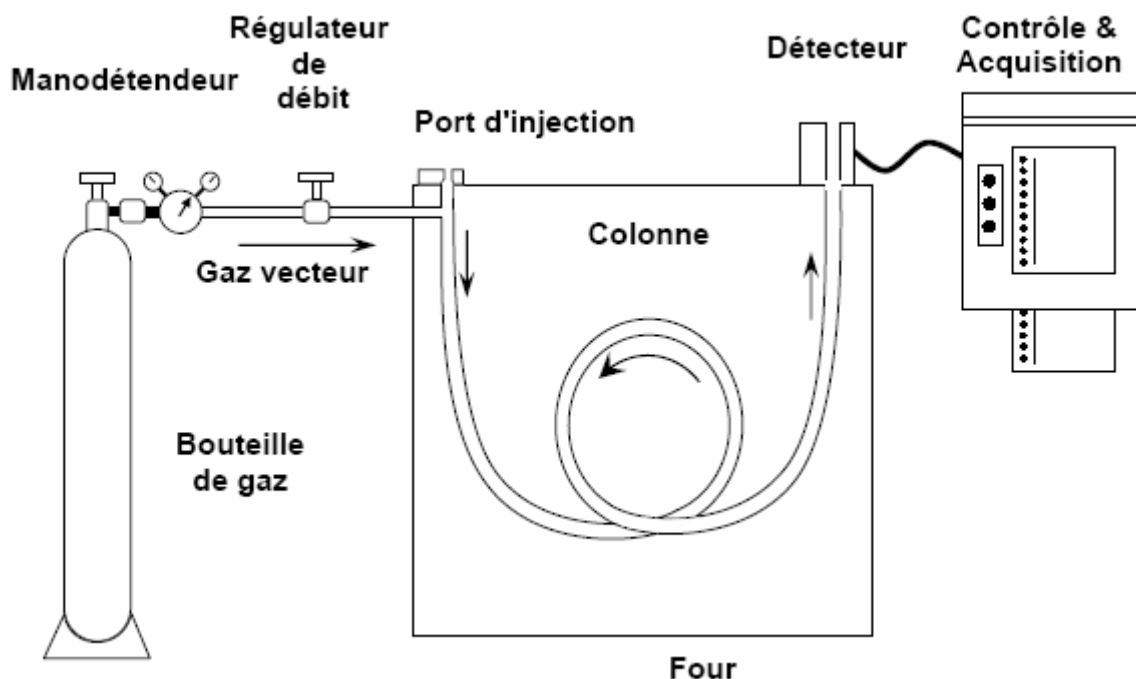
## II.4.2 L'analyse des huiles essentielles par GC/FID et GC/MS

### II.4.2. a. La chromatographie en phase gazeuse (CPG).

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit.

Un système GC, Fig.24, est donc constitué essentiellement :

- d'un système d'approvisionnement et de contrôle de gaz.
- d'un système d'injection/introduction de l'échantillon.
- d'une colonne chromatographique.
- du four de la colonne.
- d'un système de détection.
- d'un système de contrôle et d'acquisition des données.



**Fig. 24-** Représentation des différents éléments composant la CPG

Pour chacun des composés, un indice de rétention peut être obtenu. Il est calculé à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane et peut être calculé à partir de l'équation suivante :

$$RI_x = 100 \times \left[ N + \frac{(t_{R,x} - t_{R,N})}{(t_{R,N+1} - t_{R,N})} \right]$$

Où  $t_{R,x}$ ,  $t_{R,N}$  et  $t_{R,N+1}$  représentent respectivement les temps de rétention ajustés du composé x et des n- alcanes de référence, ayant N et (N+1) atomes de carbones et élués juste avant et juste après le composé x.

Ils sont ensuite comparés avec ceux de produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Toutefois, il est fréquent d'observer des variations, parfois importantes, lorsque l'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire et ceux de la littérature ceci ne peut suffire à une bonne identification, sans l'apport du couplage entre la CPG et une technique d'identification spectroscopique : en général la spectrométrie de masse (CPG/SM). La combinaison de ces deux techniques complémentaires, est applicable à l'analyse d'un grand nombre de substances organiques, aussi bien gazeuses que liquides.

#### II.4.2. b. Le couplage CPG/SM.

Ainsi le couplage CPG/SM est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Le couplage GC/MS réunit le meilleur de ces deux techniques. Ce couplage répond aux exigences de base de toute analyse et qui sont :

- La séparation.
- L'identification.
- La mesure quantitative.

Il permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation. Dans la source d'ionisation (Fig25) les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus utilisés pour l'analyse des huiles essentielles sont le « quadripôle » et le « piège à ion » ou « ion trap ».

Le quadripôle ainsi que l'« ion trap » utilise la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon le rapport masse sur charge ( $m/z$ ).

Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, est ensuite détecté et transformé en un signal utilisable. Pour ce faire, il existe différents types de détecteurs capables de transformer un courant ionique faible en un signal mesurable. Toutefois, les détecteurs les plus courants sont les multiplicateurs d'électrons ou de photons, permettant l'augmentation de l'intensité du signal détecté (Fig.25). (CAVALLI, 2002)

Finalement, l'ordinateur enregistre les données provenant du spectromètre de masse et les convertit en valeurs des masses et des intensités des pics et en courant ionique total. Il permet l'examen des données enregistrées et leur manipulation : spectres de masse, chromatogrammes reconstitués, soustraction d'un spectre par rapport à un autre, calcul d'une moyenne sur plusieurs spectres, etc...

Les spectres de masse ainsi obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles, commerciales (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Wiley Registry of Mass Spectral Data et ceux de base de données spectrales Adams (VELASCO-NEGUERUEL et PEREZ-ALONSO, 1990), contenant plusieurs milliers de spectres.

En général, les résultats sont meilleurs avec des références enregistrées au laboratoire avec des conditions expérimentales rigoureusement identiques. Ainsi, divers auteurs ont développé des logiciels de traitement des données facilitant l'identification de composés

présents dans une huile essentielle à partir de leur spectre de masse et des valeurs de leurs indices de rétention sur colonnes polaire et apolaire.

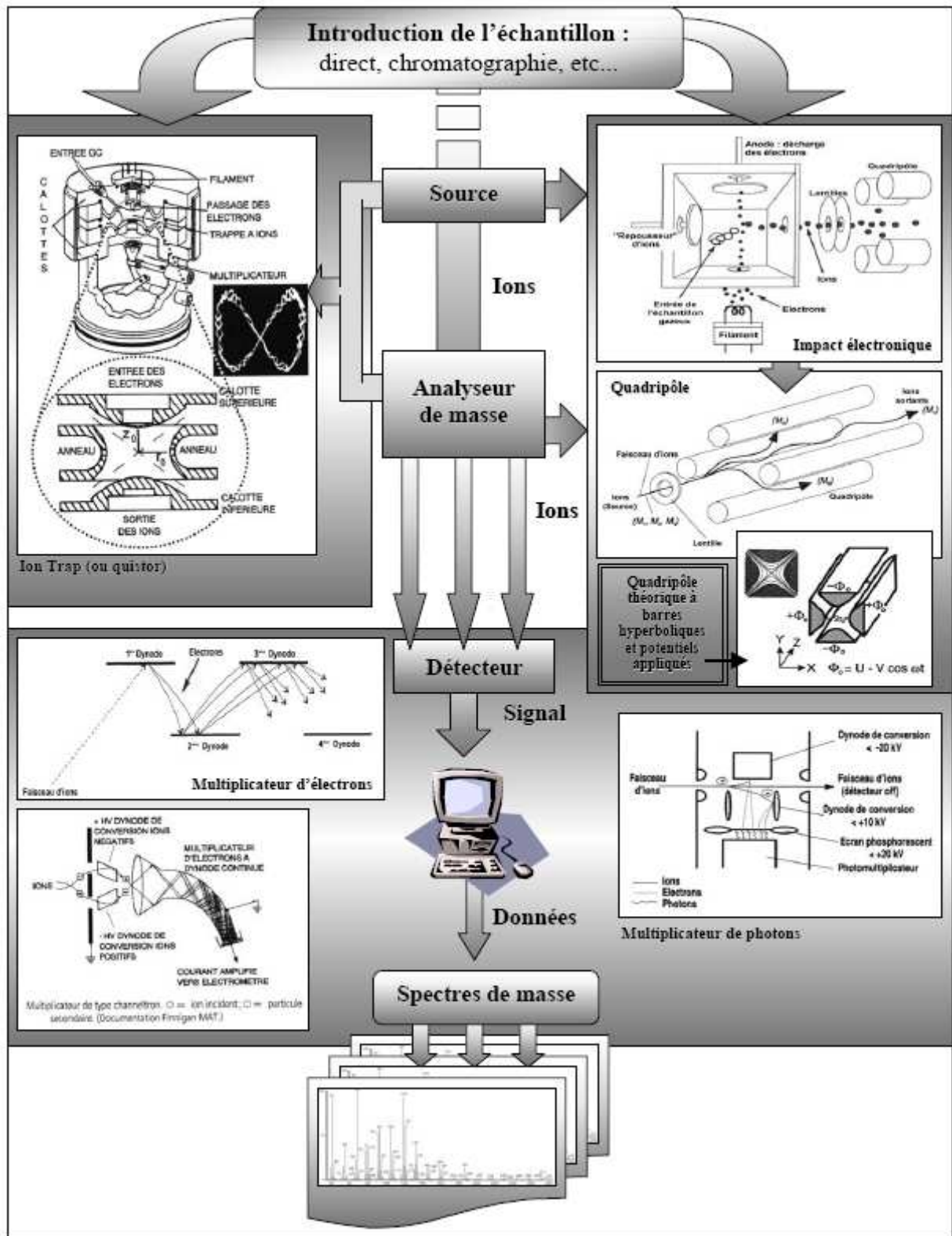


Fig. 25- schéma du principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse. (CAVALLI, 2002)

**II.4.3 Conditions expérimentales utilisés en GC/FID et GC/MS :****II.4.3.1 Matériel et conditions expérimentales utilisés en GC/MS :**

Le matériel et les logiciels utilisés dans l'acquisition et le traitement des données sont consignés dans le tableau.

**Tableau XII - Matériel et logiciels utilisés en GC/MS**

<b>Appareil GC/MS</b>		<b>Chromatographe</b>		HP 6890
		<b>Interface</b>		Directe
		<b>Détecteur MSD</b>		HP 5973
<b>Type de colonne</b>	Colonne apolaire	<b>Caractéristiques :</b>	Code	HP5MS
			Molécule	95% ms, 5% biphenylés
			Longueur	30 m
			Diamètre	0.25 mm
			Épaisseur du film	0.25 µm
<b>Logiciels :</b>		Chemstation, AMDIS, NIST MS search 2002		
<b>Bibliothèques de spectres</b>		NIST 2002, WILEY 7		

**Les conditions expérimentales en GC/MS**

Les conditions expérimentales en GC/MS sont regroupées au sein du tableau XIII

**Tableau XIII- Conditions expérimentales en GC/MS**

Type de colonne	Colonne HP 5ms (apolaire)
Débit du gaz vecteur	0,7 ml/mn
Nature du gaz vecteur	Hélium (He)
Volume injecté	1 ul
Mode d'injection	Split less
Programmation en température	45°C pendant 6 mn puis élévation à raison de 2°C/mn jusqu'à 250°C pendant 6,5 mn
Température d'injecteur	250°C
Température de l'auxiliaire	250°C
Température de source	230°C
Tension d'ionisation	70 V
Température de quadripôle	150°C
Vitesse de balayage	2,83 Scan/s
Domaine de la masse (m/z)	27-550 Th

**II.4.3.2 Matériel et conditions expérimentales utilisés en GC/FID :**

Le matériel et le logiciel utilisés dans l'acquisition et le traitement des données sont consignés dans le tableau XIV.

**Tableau XIV - Matériel et logiciels utilisés en GC/FID**

<b>Chromatographe GC</b>		HP 6890		
<b>Type de colonne</b>	Colonne apolaire	<b>Caractéristiques :</b>	Code	HPWAX
			Molécule	PEG 20 M
			Longueur	60 m
			Diamètre	0.32 mm
			Epaisseur du film	0.15 µm
<b>Logiciel</b>		chemstation		

**Les conditions expérimentales en GC/FID**

Les conditions expérimentales en GC/FID sont mentionnées au tableau XV

**Tableau XV - Conditions expérimentales en GC/FID**

Type de colonne	Colonne HP 5ms (apolaire)
Débit du gaz vecteur	0,5 ml/mn
Nature du gaz vecteur	Azote (N <sub>2</sub> )
Volume injecté	1 ul
Mode d'injection	Split less
Programmation en température	45°C pendant 8.5 mn puis élévation à raison de 2°C/mn jusqu'à 250°C pendant 14 mn
Température d'injecteur	240°C
Température de détecteur	250°C
Débit de fuite	58,2 ml/mn
Make up	16,3
Septum purge	2,43
Sériee d'alcanes injectées	C <sub>8</sub> -C <sub>28</sub>



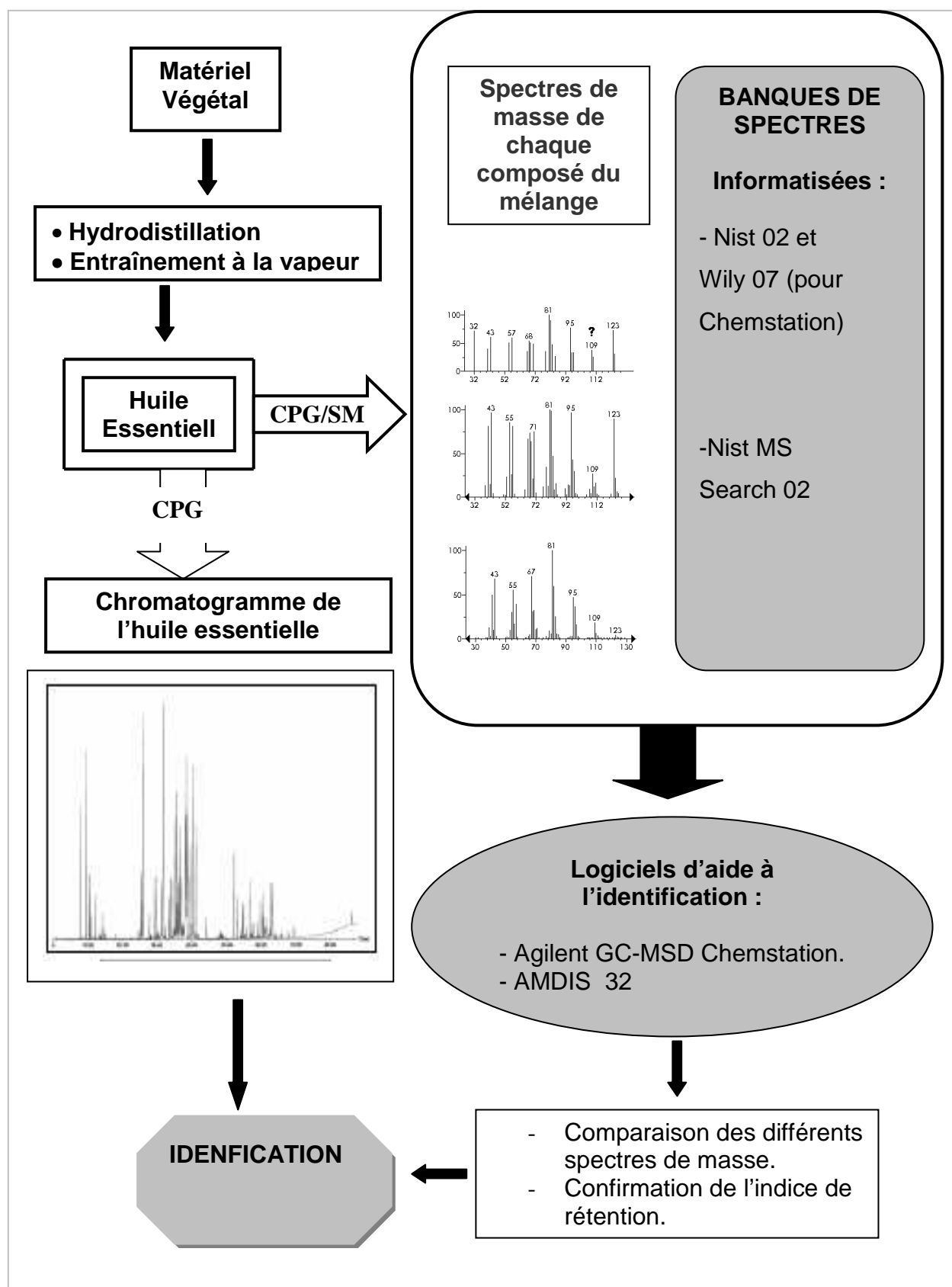


Fig. 26: Identification des composés d'une huile essentielle par CPG et CPG/SM.

## II.6 Activité antibactérienne des extraits :

La méthode des **aromatogrammes** est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne. Elle a été réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital M<sup>ed</sup> Boudiaf Ouargla et au niveau de laboratoire de contrôle de qualité (CAQE) Ouargla. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide.

Le milieu de culture utilisé est la gélose **Mueller-Hinton** (4mm d'épaisseur) en surfusion est coulé dans des boîtes de Pétri.

Les souches bactériennes choisies sont : *Clostridium perfringens*, *Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Coliformes fécaux*, *Enterobactere sp*, *Proteus mirabilis*, *Lactobacillus bulgaricus*., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus blanc*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus cremoris*, *Streptocoque sp* *Actinobactere sp*.

L'ensemencement de l'inoculum de 1 ml est réalisé en surface (ensemencement en nappe) après solidification du milieu. Le surplus d'eau est évaporé dans la hotte jusqu'à ce que la gélose soit sèche. Les disques pour aromatogrammes des extraits (Ø 0.5 centimètre), **T<sub>2</sub>** à **T<sub>6</sub>** dissous dans DMSO et **T<sub>H</sub>** dissous dans l'hexane pour l'huile essentielle, sont déposés à la surface du boîte en appuyant légèrement à l'aide de la pince stérilisée, un disque appliqué ne peut être déplacé ainsi que les disques doivent être distants d'environ 30 mm. Chaque disque est imprégné d'une quantité variable (entre 1 et 10 µl) de l'extrait sélectionné. La boîte est ensuite fermée et mise à l'étuve à 37° pendant 12 à 18 heures. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à de la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré et exprimé soit en cm, soit en mm.

La boîte de contrôle, réalisée pour chaque expérience, est une boîte ensemencée dont le disque déposé au centre de la gélose n'est pas imbibé d'extraits

Le témoin est une boîte de Pétri ensemencée dans les conditions de l'expérience, sans disque. Elle nous renseigne sur l'homogénéité du tapis bactérien.

Tous les essais ont été répétés trois fois.

Tableau XXIII- constituants identifiés dans l'huile essentielle de *Teucrium polium geyrri* obtenu par entraînement à la vapeur.

N° pic	T <sub>R</sub> Ent (min)	IK <sub>exp</sub>	IK <sub>lit</sub>	COMPOSANTS	Aire (%)	Caractéristiques spectrales expérimentales	Caractéristiques spectrales de références
1	16.82	969.71		2, 2, 4, 6, 6-Pentamethyl heptane	0.24	57 (99,9), 32(43,9), 56(37,2), 41 (27,8), 43 (241), 55 (12,8), 39 (10,1), 71(90), 85(69), 99 (60),	57 (99,9), 56 (49,7), 41 (31,5), 43 (12,3), 29 (11,2), 55 (12), 71 (77), 39 (68), 85 (58), 99(53)
3	19.73	1009.66	1031	dl-Limonene	6.77	68 (99,9), 93 (81,6), 67 (793), 79 (403), 94 (302), 91 (298), 92 (27), 39 (26,9), 121 (26,8), 53 (26,4),	68 (99,9), 93 (59), 67 (44,6), 79 (22,7), 94 (22,5), 136 (22,5), 121 (19,4), 41 (19,2), 92 (18,7), 107 (17)
5	24.38	1069.18	1140	Cis-Verbenol	0.61	68 (99,9), 93 (59), 67 (44,6), 79 (22,7), 94 (22,5), 136 (22,5), 121 (19,4), 41 (19,2), 92 (18,7), 107 (17)	94 (99,9), 109 (87,7), 41 (62,2), 79 (59,2), 81(56,9), 59 (55,2), 91 (52,3), 69 (45,9), 95 (42,4), 43 (40,1),
6	25.53	1083.90	1098	Linalool	0.46	43 (99,9), 71 (88,5), 41 (78,5), 32(61,3), 57 (55,8), 93 (55,3), 55 (54,4), 69 (44,2), 39 (32,2), 80 (29,8)	93 (99,9), 71 (95,5), 41 (57,6), 55 (56,1), 43 (53), 69 (50), 80 (36,4), 67 (27,5), 121 (24,2), 68 (24,2),
7	26.36	1094.45	1102	Alpha-Thujone	0.33	81 (99,9), 110 (89,5), 41 (75,4), 67 (67,3), 32 (67,2), 95 (65,8), 69 (59,7), 109 (58,8), 55 (51,2), 68 (51,1),	110 (99,9), 81 (88,2), 95 (69,9), 67 (67,5), 68(57,9), 41 (57,5), 69 (53,4), 109 (43,4), 55 (32,4), 70 (24,8)
8	26.57	1097.19	1114	Octen-1-ol), acetate	0.85	43 (99,9), 99 (33,1), 41 (19,9), 54 (17,6), 67 (14,1), 81 (13,9), 55 (13,9), 72 (11,4), 32 (11,4), 39 (11,1),	43 (99,9), 99 (23,8), 54 (17,2), 41 (11,1), 72(91), 55(86), 67(77), 128(76), 81(75), 68(68),
10	27.09	1104.06	1125	Alpha-Campholenal	0.57	108(99,9), 93(75,6), 95(33,2), 91(31,7), 109(29,7), 32(29,1), 67 (28,8), 41 (28,3), 43 (25,5), 81 (22),	108 (99,9), 93 540), 95 (32,4), 67 252), 109 245), 91 162), 39 162), 81 (15,5), 55 (15,2), 43 (13,9),
12	27.73	1112.57	1132	4-Acetyl-1-methylcyclohexene	0.50	83 (99,9), 95 (76,4), 55 (69), 43 (64,2), 32 (56,2), 41 (52,9), 67 (50,2), 81 (44,2), 39 (43,3), 138 (40,7),	43 (99,9), 95 (76,3), 67 (48,7), 138(46,3), 123(29,9), 55 (27), 79 (26,8), 41 (22,4), 39 (21,3), 93 (19,6),
13	27.90	1114.88	1119	Pinocarveol	1.62	92 (99,9), 55 (90,2), 91 (82), 41 (80,9), 70 (64,1), 83 (62,1), 43 (52,5), 39 (49,4), 79 (45,4), 109 (44,6)	70 (99,9), 92 (98,1), 41 (96,8), 55 (92,4), 83 (89), 91 (60,5), 69 (54), 39 (42,3), 27 (35,6), 81 (34,6)
16	28.78	1126.73		3,8-Carvomenthenediol	0.74	94 (99,9), 79 (94,5), 59 (91,9), 91 (57,9), 43 (44,6), 93(40,9), 77 (37,3), 32(35,3), 41 (26,4), 39 (21,8),	67 (99,9), 55 (47,3), 41 (43,5), 29(30,8), 83(30,4), 113 (29,9), 68 (29,7), 39 (29,5), 27 (26,8), 84 (21,7)
17	29.61	1137.80	1137	Pinocarvone	0.98	81 (99,9), 53 (82,7), 41 (67), 108 (62,9), 79 (56,4), 39 (44,5), 32 (43,8), 107 (39,6), 109 (38), 110 (36)	81 (99,9), 53 (97), 108 (75,9), 41 (67,3), 69 (42,4), 107 (39,8), 79 (33,5), 39 (31,9), 27 (30,7), 150(29,9)
19	30.29	1147.03	1031	Beta.-Phellandren-8-ol	1.13	59 (99,9), 94 (92), 79 (76), 91 (42,8), 93 (35,5), 43 (34,2), 77 (30,6), 32 (19,6), 41 (17,8), 95 (17,5)	59 (99,9), 94 (45,7), 79 (44,2), 43(40), 93(37), 91(24), 95(21), 77(21), 80(15), 71 (9),
21	30.85	1154.51	1144	4-Terpineol	1.31	71 (99,9), 111 (58,8), 93 (57,2), 43 (49,2), 41 (33,3), 69 (27,1), 55 (25,3), 91 (23), 86 (23), 67 (23)	71 (99,9), 43 (54,4), 93 (50,5), 111 (49,4), 41 35,6), 55 (26,5), 86 (24,7), 69 (22,6), 67 (18,4), 27 (17,5),
23	32.07	1170.90	1172	Myrtenal	1.46	79 (99,9), 107 (71,8), 91 (65,4), 77 (48,4), 43 (39,7), 41 (35,3), 108 (34,6), 105 (34), 39 (33,7), 106 (31,6),	79 (99,9), 107 (82,5), 108 422), 106 (37,8), 77377), 91 334), 41 (32,8), 105 (28), 39 (27,5), 27 (19,9)
24	32.35	1174.56	1177	Myrtenol	0.96	79 (99,9), 91 (64,5), 41 (38,9), 119 (37,4), 67 (36,4), 43 (34,7), 32 (30,8), 108 (30,5), 39 (30), 77 (27,4),	79 (99,9), 91 (42,1), 41 (27,4), 108 (26,7), 77 (19,3), 93 (18,5), 39 (18,5), 43 (16,3), 119 (14,1), 67 (13,4),
27	33.06	1184.11	1204	verbenone	1.82	107 (99,9), 91 (78,3), 135 (73,4), 79 (45), 80 (43,2), 39 (41,1), 150 (37,9), 77 (33,2), 41 (33), 108 (28,5)	107 (99,9), 135 (65), 91 (62,9), 80 (41,6), 79 40,4), 150 (34,8), 39 (32,3), 41(27,2), 108 (26,8), 77 (23,1)
28	33.90	1195.49	1128	Chrysanthenone	0.21	79 (99,9), 32 (96,1), 91 (86,7), 107 (84,5), 43 (57,2), 77 (55,0), 41 (52,4), 39 (50,3), 81 (49,1), 135 (47,9)	107 (99,9), 91(79,6), 150(59,4), 80(57,3), 79(49,2), 39 (40,8), 41 (38,4), 135 (38,3), 82 (32,7), 77 (31,5)

Tableau XXIII (suite)

29	34.10	1198.12	1205	Cis-Carveol	2.32	109 (99,9), 84 (60,5), 32 (51,8), 41 (50,9), 43 (47,8), 91 (45), 79 (43,5), 55 (43,2), 39 (37,7), 83 (36,9)	109 (99,9), 84 (54,1), 55 (36,2), 41 (32,6), 83 (30), 91 (24,6), 39 (23,5), 69 (22,6), 43 (19,3), 56 (18,9)
30	35.00	1210.77	1217	Trans-p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	0.49	32 (99,9), 43 (91,8), 91 (76,1), 109 (67,8), 79 (57,3), 41 (52,1), 84 (50,2), 39 (46,6), 55 (42,7), 135 (41,4)	84 (99,9), 109 (68,8), 134 (54,7), 55 (54,6), 41 (47,6), 83 (45,8), 69 (41,5), 39 (34,9), 119 (33,3), 91 (33,1),
31	35.66	1220.07	1226	L(-)-Carvone	5.33	82 (99,9), 54 (39,0), 93 (35,5), 108 (35,0), 39 (28,4), 107 (22,5), 41 (17,3), 79 (16,4), 106 (16,3), 53 (16,2)	82 (99,9), 54 (45,7), 39 (31,8), 93 (31,2), 108 (25,8), 53 (20,3), 107 (19,0), 41 (17,5), 79 (16,6), 91 (14,8),
32	36.82	1236.51	1238	Chrysanthenyl Acetate	0.80	43 (99,9), 119 (98,2), 109 (40,2), 91 (37,2), 81 (29), 134 (28,4), 41 (27,8), 93 (24,9), 32 (21,9), 121 (21,2)	119 (99,9), 43 (63,4), 91 (35), 134 (34,8), 109 (23,6), 41 (23,2), 77 (19,6), 81 (18,6), 93 (15,2), 121 (13,9),
34	38.05	1253.87	1250	Carvone Oxyde	0.61	43 (99,9), 67 (62,4), 39 (47,3), 85 (44,6), 123 (44), 32 (43,8), 82 (43,2), 41 (41,5), 95 (39,5), 79 (34)	43 (99,9), 67 (40), 41 (32,5), 85 (27,7), 123 (22,8), 53 (20,8), 55 (20,8), 95 (20,4), 68 (16,3), 81 (13,1)
35	38.39	1258.73	1281	L-bornyl acetate	0.82	95 (99,9), 43 (64,2), 93 (48,5), 121 (44,3), 136 (37,7), 41 (27,3), 108 (19,6), 55 (17,8), 32 (17,2), 67 (16,8)	95 (99,9), 43 (56,5), 93 (47,9), 121 (43), 136 (42,2), 41 (23,3), 108 (18,4), 80 (17,8), 137 (16), 55 (14,5)
36	39.44	1273.49	1285	Alpha-Terpinolene	0.24	43 (99,9), 32 (90,1), 93 (82,1), 1 (62,2), 121 (52,9), 136 (42,5), 92 (40,3), 41 (38,1), 135 (28,6), 77 (28,2)	93 (99,9), 121 (78,3), 91 (61,7), 136 (61,4), 79 (57), 77 (42,8), 105 (26,0), 39 (25,3), 41 (24), 107 (16,5),
37	41.10	1297.06	1235	(-)-Myrtenyl acetate	1.05	91 (99,9), 43 (41,8), 119 (40,6), 92 (32,2), 79 (15,0), 108 (15,0), 41 (14,8), 77 (13,4), 93 (13,3), 105 (12,3)	91 (99,9), 43 (64,4), 119 (34,3), 92 (34), 41 (23,3), 134 (15,2), 79 (15,0), 108 (14,6), 93 (13,2), 39 (13)
38	42.52	1316.72	1351	Alpha-Cubebene	0.73	105 (99,9), 119 (98), 161 (94,4), 91 (47,2), 120 (27,1), 93 (26,7), 81 (25,9), 41 (25,0), 32 (22,2), 92 (19,6)	161 (99,9), 105 (97,6), 119 (93,3), 41 (33,6), 81 (32), 91 (29,2), 120 (28,6), 93 (25,9), 55 (23,4), 204 (20,4)
39	42.69	1319.10	1350	Alpha-Terpinyl acetate	0.47	121 (99,9), 93 (75,1), 43 (74,4), 136 (57,3), 32 (35,1), 79 (23,3), 41 (23), 91 (22,6), 81 (19,4), 67 (18)	121 (99,9), 136 (78,9), 93 (67,1), 57 (43,5), 81 (19,2), 137 (18,9), 41 (18,9), 29 (18), 79 (17,9), 107 (17,8),
40	44.12	1338.86	1370	Alpha-Copaene	0.46	119 (99,9), 105 (90,9), 161 (90,4), 91 (51,6), 93 (46,9), 32 (45,7), 41 (31,8), 92 (26,6), 81 (25,5), 120 (25)	119 (99,9), 105 (96,5), 161 (93,9), 93 (65,2), 41 (60,5), 91 (49,9), 92 (29,7), 81 (26,2), 55 (24,9), 77 (23,1),
41	45.10	1352.39	1382	Beta-Cubebene	0.47	161 (99,9), 91 (44,3), 105 (44,2), 120 (25,6), 119 (25,1), 32 (23,4), 41 (22,7), 79 (20,6), 81 (17,7), 93 (17,3)	161 (99,9), 105 (34,3), 91 (30,4), 120 (25,8), 41 (24,4), 119 (21,0), 81 (18,9), 79 (17,5), 93 (16,5), 55 (16)
42	45.26	1354.69	1391	Beta-elemene	0.37	93 (99,9), 81 (87), 32 (80,8), 67 (69,4), 79 (67,2), 41 (63,4), 10 (61,8), 68 (60,2), 91 (58,6), 105 (48,2)	81 (99,9), 93 (94,8), 68 (71,9), 41 (69,6), 67 (61,3), 79 (58,5), 107 (57,4), 105 (48,8), 55 (44,7), 91 (43,7)
43	45.84	1362.64	1404	Isocaryophyllene	0.35	41 (99,9), 93 (98,8), 91 (95,2), 32 (92,2), 133 (89,9), 79 (83,7), 69 (80,7), 105 (69,5), 77 (54,2), 107 (52,6)	93 (99,9), 69 (76,2), 41 (73,7), 133 (67,1), 161 (55,8), 79 (52,7), 91 (52,6), 105 (46,9), 81 (41), 107 (38,3)
45	46.86	1376.75	1428	Beta-Caryophyllene	8.02	93 (99,9), 133 (94,3), 91 (90,9), 41 (80,1), 79 (78), 69 (75,9), 1 (61,5), 77 (45,9), 120 (45,3), 107 (45,1)	93 (99,9), 133 (92,1), 91 (85,8), 41 (76,9), 79 (76,3), 69 (75,4), 105 (62,3), 107 (48,3), 120 (44,7), 77 (43,9),
47	47.88	1390.93	1390	Gamma-Elemene	3.29	121 (99,9), 93 (65,2), 107 (44,4), 91 (40,2), 105 (37,4), 41 (33,3), 67 (32,2), 119 (32,2), 79 (30,8), 77 (25,2)	121 (99,9), 93 (69,3), 41 (63,5), 107 (45,3), 67 (34,3), 55 (33,9), 105 (30,2), 53 (30,1), 91 (28,7), 81 (28,4),
48	48.12	1394.21	1439	Alpha-Guaiene	0.50	93 (99,9), 105 (86,4), 91 (74,4), 107 (73,6), 147 (69,2), 32 (62,8), 79 (55,1), 41 (53,2), 133 (47,6), 121 (46,6)	105 (99,9), 107 (89,5), 147 (80,6), 93 (78,6), 41 (68), 79 (61,7), 91 (61), 81 (59,6), 133 (53,2), 95 (49)
49	48.77	1404.22	1388	Isoledene	0.46	161 (99,9), 105 (70,1), 119 (50,5), 91 (28,3), 204 (22,8), 81 (22,5), 32 (22,1), 41 (18,3), 93 (17,4), 162 (14,2)	161 (99,9), 91 (63,2), 41 (57,9), 105 (55,7), 119 (32,9), 79 (31,3), 120 (27,9), 77 (26,4), 39 (25,4), 81 (24,5),
50	48.90	1406.65	1454	Alpha-Humulene	1.75	93 (99,9), 80 (32,3), 121 (29,3), 91 (21,8), 147 (19,5), 79 (19,4), 41 (19,3), 92 (18,3), 107 (16,4), 77 (16,1)	93 (99,9), 80 (35,1), 121 (26,5), 41 (22,6), 92 (16,8), 147 (14,1), 107 (14,1), 79 (13,5), 94 (13,5), 91 (11,9),

Tableau XXIII (suite)							
51	49.33	1414.56	1461	Allo-Aromadendrene	0.19	32(99.9),91(76.4),41(68.7),93(64.3),69(54.8),79(52.5),105(51.4),161(46.2),107(41.9),119(41),	91(99.9),41(98.3),105(85.7),93(78.7),79(68.6),161(67.7),107(65.7),133(60.9),67(56.8),119(56.7)
53	50.23	1431.39	1513	(-)-Alpha-Cadinene	1.31	161(99.9),105(42.4),204(29.4),119(28.2),81(27),91(25.2),162(18.4),134(17.7),41(17.2),32(14.7),	161(99.9),89(75.9),204(68.1),41(55.7),105(52.7),91(47.9),119(31.6),133(28.7),27(27.6),55(25.4),
54	50.62	1438.54	1480	Germacrene D	0.18	161(99.9),32(86.1),105(67),91(62.1),119(42.2),79(40.5),41(39.7),81(39.3),93(35.0),43(30.5)	161(99.9),105(77.5),91(68.5),41(61.9),119(60.4),79(41.5),81(41.4),93(35.9),77(34.6),27(31.5)
55	50.88	1443.49	1483	Beta-Selinene	0.18	32(99.9),105(61.4),91(53.2),107(50.5),93(50.3),43(49.9),79(48),41(46.9),81(39),161(38.2)	41(99.9),105(90.1),107(88.7),204(88.5),93(86.1),81(78.3),121(69),79(68.2),67(63.4),55(61.7)
56	51.23	1449.87	1487	(+)-Epi-bicyclosesquipellandrene	0.62	161(99.9),105(33.2),91(32.1),119(21.8),204(17.1),162(15.3),41(15.1),81(13.6),79(13),32(12.6)	161(99.9),105(28.6),119(18.4),204(17.5),91(17.2),81(15.4),162(15.2),41(12.4),93(10.8),55(9.7)
57	51.33	1451.85	1497	Epizonaren	1.05	161(99.9),105(88.4),204(61.1),91(60.7),119(60.6),133(37.3),41(36.1),107(34),93(32.9),79(29.7)	161(99.9),204(62.2),81(46.9),189(34.7),105(29.7),119(25.7),162(15.2),133(13.3),205(11.4),93(10.7)
58	51.53	1455.48	1494	Valencene	0.44	93(99.9),91(80.7),32(79.3),79(78.3),121(77.5),43(73.3),161(67.8),105(66.1),41(64.6),107(63.6),	161(99.9),204(57.6),105(56.9),93(53.5),107(50.6),119(48),91(46.1),79(46.1),133(40.9),135(36.6),
59	51.90	1462.30	1497	Alpha-Muutrolene	0.47	105(99.9),161(50),91(39.7),93(37.4),32(32.1),119(31.7),94(29.8),79(26),41(25.9),204(22.7)	105(99.9),50(6),161(50.2),91(37),93(36),94(28.4),204(28.3),81(27),119(26.2),79(24.8)
60	52.27	1469.23	1413	Alpha-Gurjunene	1.52	161(99.9),105(95.4),204(94.5),119(83.2),91(82.6),189(69.6),93(55.8),133(50.4),41(48.3),107(47),	204(99.9),161(94.7),105(87.5),189(78.8),41(71.8),119(68.3),91(67.8),133(47.3),55(47.3),93(40.3)
61	52.65	1476.16	1484	Alpha-Amorphene	0.77	161(99.9),91(45.7),105(43.9),93(37.4),119(36.8),79(32),41(30.8),133(25.4),32(25.4),77(22.1)	161(99.9),105(71.5),91(67.8),41(67.5),79(63.3),119(58.6),93(57.8),77(40.7),81(33.2),133(32.3)
62	52.89	1480.67	(15.2)6	Beta-Cadinene	0.51	161(99.9),119(65.3),105(58.4),134(50.9),91(49.8),32(46.9),204(41.4),41(36.1),81(32.2),93(27.1),	161(99.9),204(51.8),134(45.6),119(44.5),105(43.8),81(29.9),41(25.2),91(24.1),189(21.9),162(19)
63	53.35	1489.25	1513	Delta-Cadinene	8.17	161(99.9),119(66.7),134(60.2),105(54.4),204(39.7),91(38.2),81(22.9),162(21.9),41(19.2),133(17.2)	161(99.9),119(89.9),105(76.2),41(75.4),91(70.9),134(61.7),204(39.9),81(37),77(35.2),93(32.4)
64	53.75	1496.73		Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-		119(99.9),105(71.6),161(52.6),91(31.9),41(22.9),204(1.6),121(19.8),120(19.4),32(19),93(18.1)	119(99.9),105(68),161(51.2),204(25.6),121(21.8),91(21.7),41(21.6),120(19.2),92(17.6),93(15.3)
65	54.19	1503.74	1491	Gamma-Selinene	0.19	32(99.9),161(82.3),41(56.8),91(53.2),107(49.3),105(46.9),93(43.3),122(40.2),69(39.7),43(37.9)	189(99.9),133(57.3),204(53.6),161(42.3),105(41.4),93(39.3),91(32.8),81(30.5),107(28.2),147(27.4)
66	54.34	1505.98	1548	Alpha-calacorene	0.78	157(99.9),142(50.1),141(29.8),156(18.9),200(15),158(14.4),32(12.2),115(11),93(9.7),143(9.4)	157(99.9),142(57.8),156(23.7),29(19.7),200(18.1),158(14.6),115(13.9),128(9.5),143(8.7),155(8.0)
67	54.57	1509.34	1509	Cis-alpha-bisabolene	3.58	93(99.9),119(31.1),121(28.7),91(26.2),80(25.3),79(24.4),41(22.6),109(21.9),107(20),92(19)	93(99.9),41(74.7),91(34.8),67(34.4),79(34.4),39(34.2),77(30.3),27(29.0),53(27.2),29(24.1),
68	54.79	1512.45	1498	(E,Z)-Alpha-farnesene	0.43	93(99.9),32(79.9),41(72.3),79(72.2),91(67.8),43(51.7),121(50.1),107(46.1),119(44.6),77(41.5)	93(99.9),41(74.7),91(34.8),67(34.4),79(34.4),39(34.2),77(30.3),27(29),53(27.2),29(24.1)
69	55.01	1515.73	1552	Germacrene B	0.75	121(99.9),93(81.2),105(63),91(58.4),107(56.5),67(54.4),41(50.5),119(48.5),79(43),81(41.3)	121(99.9),93(69.2),41(66.7),107(43.8),67(35.8),79(32.8),81(31.2),105(29.7),91(29.7)

70	55.54	(15,2)3. 50	(15,2)8	9-Methoxy Calamenene	0.21	157(99,9),32(74,4),142(45,7),43(30,7),141(27,4),41(23,2),93(22,7),91(22,3),200(20,2),105(17,8)	28,9),119(28,8) 157(99,9),200(59,6),217(41,1),142(40,4),158(23,2),143(20,6),141(18,8),201(16,9),145(14,7),159(14,5),
<b>Tableau XXIII (suite)</b>							
72	56.34	1535.06	1578	(+) Spathulenol	0.70	43(99,9),32(67,6),91(67,4),161(65,2),93(54,5),119(53,7),105(51,7),99(48,3),107(42,9),205(40,3),	43(99,9),41(70,9),91(64,7),105(55,5),119(52,4),93(44,9),205(44),79(37,9),159(36,5),55(34,3),
73	56.53	1537.82	1581	Caryophyllene oxide	2.34	79(99,9),43(97,5),41(96,9),93(81,3),91(76),69(61,8),95(56,5),109(48,6),77(48,4),55(48,2),	43(99,9),41(92,7),79(88,5),93(66,1),91(57,3),95(42),69(40,7),55(39,3),67(37,7),81(37,3)
75	57.38	1550.25	1499	Bicyclogermacrene	0.24	43(99,9),32(89,3),93(57,9),121(50,6),91(42,9),107(38,2),41(38,1),81(37,8),105(34),79(33,8)	93(99,9),121(92,6),41(91,1),92(57,2),107(57),79(56,7),39(45,7),77(45,3),67(40),105(38,9)
77	57.86	1557.24		6-Amino-2,3-dimethyl-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine	0.21	161(99,9),32(38,8),43(32),146(28,3),232(16,8),41(15),162(14,8),71(13,4),91(13,3),105(10,8)	161(99,9),160(92),146(25),162(12),143(58),80(50),159(50),119(38),133(38),65(35),
78	58.00	1559.23	1530	Alpha-Bisabolene epoxyde -	0.16	32(99,9),43(89,9),67(58,8),109(57,6),41(55,5),96(52,7),138(44,6),93(43,2),161(38,6),55(35,7)	43(99,9),41(90,1),55(43,1),109(32),57(31),67(29,5),93(29,1),107(26,3),91(24,7),79(23,4)
79	58.18	1561.90	1395	Curdione	0.15	32(99,9),43(51,8),79(42,4),91(40,3),41(39,9),93(35,5),121(32,3),77(30,2),107(29,4),122(28,5)	41(99,9),69(91,5),55(76,9),109(75,1),180(70,3),167(58,7),67(56),68(56),39(41,3),53(39,2)
82	59.20	1576.66	1614	Cubanol	2.09	119(99,9),161(65,1),105(48,2),43(39,4),41(34),95(29,8),55(28,3),93(28,1),91(27,1),204(25,1)	119(99,9),41(93,7),43(91,9),161(90,9),93(63,4),59(61,4),105(58,6),55(52,8),81(48,5),79(42)
86	59.97	1587.97	1633	Tau.-Cadinol	3.27	161(99,9),43(29,8),105(29,7),204(29,1),119(25),81(22,3),95(19,3),162(18,9),79(17,9),91(17,3)	161(99,9),43(94,4),41(47,2),204(46,5),105(39,2),95(37,2),81(35,8),79(28,6),119(26,3),121(25,6),
87	60.31	1592.88		Cyclohexanecarboxaldehyde, 6-methyl-3-(1-methylethyl)-2-oxo-1-(3-oxobutyl)-	1.90	43(99,9),41(439),55(382),95(36,4),69(33,6),161(29),71(23,8),111(22,2),93(20,6),139(20,3)	43(99,9),41(51,2),55(32),224(28,6),123(26),71(25,8),95(24,5),69(24),27(20,4),209(20,4)
88	60.47	1595.13	1688	Cedr-8-en-13-ol	0.78	132(99,9),43(42,7),32(29,2),119(28,7),91(26,2),59(25,1),105(21,6),41(21,5),81(19,3),55(17,8)	119(99,9),41(63,9),91(59,1),105(54,8),93(48,3),43(45,2),55(44,6),132(36,8),77(34,9),79(29,4)
89	60.73	1598.92	1643	Alpha.-Cadinol	1.77	95(99,9),43(98,2),121(85,9),105(56,9),161(51,7),81(51,5),79(44,7),93(44,5),41(43,2),143(38,8)	43(99,9),95(62,7),121(46,8),41(44),204(28,5),79(27,7),81(25,6),161(24,1),93(23,3),105(23,1)
90	61.08	1605.20	1655	Alpha-Bisabolol oxyde B	1.99	143(99,9),43(71,9),71(48,1),91(41,1),125(37,1),85(31,4),93(26,7),41(25,4),77(23,6),59(22,2)	43(99,9),143(83,3),85(67,3),105(62),81(60),59(53,1),134(49,3),71(48,1),93(45,5),41(41,2)
91	61.79	1618.22	1659	Cadalene	0.56	183(99,9),198(40,1),32(33,9),68(32,6),153(21,6),165(17,4),152(16,7),43(16,2),184(16),167(14,7),	183(99,9),198(41,7),168(23,7),153(16,3),184(15,8),165(15,6),152(13,7),167(12,4),28(10,2),155(7,9)
92	61.92	1620.62		Murolan-3,9(11)-diene-10-peroxy	0.47	32(99,9),91(76,3),147(66,9),105(66,7),41(66,2),43(64,2),183(54,4),93(53,1),122(49),133(47,2)	43(99,9),41(69),159(69),157(58,9),91(57,9),69(56,6),55(50,7),109(49,7),81(48,8),93(48,7)



93	62.06	1623.25	1623	Isoaromadrene epoxyde	0.47	32 (99,9),43 (87,3),41 (71,4),96 (64,3),55 (55,5),81 (50,9),91 (46,5),93 (44,3), 107 (44,1),95 (42,1)	41 (99,9),43 (66,7),55 (50,5),93 (42,8),27 (42,5),81 (39,6),107 (38,3),29 (36,7),39 (35,7),67 (34,4)
94	62.40	1629.59	1675	Anymol	1.04	43 (99,9), 109 (96,1), 119 (87,7),69 (83,8),41 (64,4),93 (52,6),32 (48,6),95 (44,6),55 (37,1),67 (34)	43 (99,9),41 (89,3),69 (80,3), 109 (50), 119 (39,7),93 (38,5),55 (35,3),67 (28,1),95 (27,6),39 (26,1)
96	64.16	1662.08	1683	Isospathulenol	0.16	32 (99,9),43 (60,9),41 (43,8),93 (41),91 (34,4),107 (32,1), 119 (32), 105 (28,8),69 (27,9),55 (27,8)	43 (99,9),41 (68,8),91 (42,2), 119 (42,1),93 (39,7),69 (34,9), 105 (34,1), 159 (33,5), 205 (33,2),79 (31,6)
98	66.01	1696.10		Corymbolone	0.46	137 (99,9),82 (99,4),41 (58,1),32 (53,2),43 (45,7),69 (41,4), 126 (41,1),55 (31,6),67 (29,5), 125 (29)	41 (99,9), 109 (85,2),55 (78,9),43 (72,4),69 (71,1),93 (55,7), 107 (47,2),67 (40,1), 135 (37),56 (36,5)
99	107.6 5	2702.93	1143	Tetratetracontane	0.17	57 (99,9),32 (99,6),71 (73,9),43 (67,8),85 (49),55 (27,5),41 (24,8),69 (21,3),99 (20,2),83 (17,6)	57 (99,9),43 (70,1),71 (59,6),85 (37,8),55 (21,2), 41 (16,4),69 (16,1),83 (14,5),56 (13,2),97 (11,6),
<b>Tableau XXIII (suite)</b>							
<b>Totale</b>						<b>90.18</b>	
<b>les monoterpènes</b>						<b>32.67</b>	
<b>les sesquiterpènes</b>						<b>58.07</b>	
<b>Autres composées</b>						<b>0.17</b>	

**IK<sub>exp</sub>** : Indice de rétention expérimentale de ce travail

**IK<sub>lit</sub>** : Indice de rétention d'après les littérateurs.

**T<sub>R</sub>Ent** : temps de rétention d'huile essentielle extrait par entraînement à la vapeur

**Tableau XXIV** - Constituants identifiés dans l'huile essentielle de *Teucrium polium geyrii* obtenu par l'hydrodistillation

N° pic	T <sub>R</sub> Hyd (min)	IK <sub>exp</sub>	IK <sub>lit</sub>	COMPOSANTS	Aire (%)	Caractéristiques spectrales expérimentales	Caractéristiques spectrales de références
1	12.55	909.68	930	Alpha-pinene	0.21	93 (99,9),91 (46,7),92 (37,4),77 (30,4),32 (28,3),79 (22,7),41 (18,1),39 (15), 121 (11,7),94 (10,2)	93 (99,9),91 (45,4),92 (44,0),77 (35,8),41 (32,5), 79 (27),53 (13,5), 105 (11,8), 121 (11,5),80 (11,1)
2	15.64	953.07	970	Beta-pinene	0.25	93 (99,9),91 (33,9),41 (33,8),77 (27,5),79 (25), 69 (23,7), 32 (18,6),39 (16,3),94 (12,6), 121 (11,3)	93 (99,9),41 (40),91 (31,4),69 (30,6),79 (27), 77 (26),39 (20,4),92 (15),94 (14,2),67 (13,3),
3	17.32	976.71	980	Beta.-Myrcene	0.11	93 (99,9),41 (93),69 (72,9),32 (49,3),39 (27,6),91 (27,2),79 (19,5),77 (18,7),67 (15,4),53 (14,4)	41 (99,9),93 (85,5),69 (79,6),39 (29,9),27 (28),53 (14,1),79 (13,8),77 (11),67 (11),91 (9,5),
4	18.09	987.46	1005	Alpha.-Phellandrene	0.08	93 (99,9),32 (83,9),91 (81,3),41 (54,4),77 (42,9), 43 (34,1),92 (32,3),119 (31,9),57 (30,8),39 (27),	93 (99,9),91 (59,9),77 (44,4),92 (34,9),39 (16,9), 136 (16),41 (13,3),27 (12,8),65 (10,3),51 (9,2),
5	20.06	1013.84	1030	<b>dl-Limonene</b>	<b>11.18</b>	<b>68 (99,9),93 (85),67 (75,7),79 (41,3),94 (33,1), 121 (32,6), 136 (31),92 (28,7),</b>	<b>68 (99,9),93 (50),67 (48,5),41 (21,7),79 (21,2), 39 (20,9),94 (20,5),136 (19,9),53 (19,2),121 (16,2)</b>

6	22.20	1041.17	1062	Gamma.-Terpinene	0.15	93 (99.9),91 (56.3),77 (36.7),136 (34.6),121 (30.3), 79 (26.4),92 (25),32 (25.4),120,43 (19.6)	93 (99.9),91 (33.1),77 (31.8),136 (29),121 (26.9), 39 (23.4),43 (22.8),27 (22.7),41 (21.3),92 (20.6)
7	24.45	1070.02	1060	Alpha.-terpinolene	0.08	93 (99.9),32 (92.2),121 (86),136 (77.8),91 (64),41 (54.6),43 (53.3),79 (52.1),77 (41.3),39 (39)	93 (99.9),121 (78.3),91 (61.7),136 (61.4),79 (57),77 (42.8),105 (26), 39 (25.3),41 (24),107 (16.5),
8	24.67	1072.90	1026	Dehydro-p-cymene	0.14	132 (99.9),117 (96.6),91 (59.6),115 (57.7),32 (56.1), 93 (35.7),43 (33.8),39 (25.5),41 (24.1),92 (23.4),	117 (99.9),132 (80.7),115 (63.4),91 (54.3),92 (230), 65 (22.8),39 (20.9),116 (19),131 (18),63 (17.2),
9	25.65	1085.35	1146	Isopulegol	0.03	32 (99.9),43 (61.4),41 (59.1),71 (39.4),117 (37), 55 (33),69 (32.8),132 (32.7),93 (32.7),91 (32.2)	41 (99.9),69 (84.6),55 (80.8),71 (73.9),67 (73.7), 81 (72.8),68 (69.9),43 (56.8),56 (54.6),84 (50.6)
10	26.39	1094.92	1114	Beta.-thujone	0.20	81 (99.9),110 (84.5),41 (76.5),95 (70.1),67 (65.7), 69 (61.5),109 (61),68 (54.8),39 (45.4),55 (43.3)	110 (99.9),81 (88.2),95 (69.9),67 (67.5),68 (57.9), 41 (57.5),69 (53.4),109 (43.4),55 (32.4),70 (24.8)
<b>Tableau XXIV (suite)</b>							
11	26.63	1097.96	1102	Octen-1-ol, acetate	1.08	43 (99.9),99 (35.9),54 (19.3),41 (16.5),55 (12.6), 67 (12.4),81 (12.2),72 (11.8),128 (10.1),68 (9.9)	43 (99.9),99 (238),54 (17.2),41 (11.1),72 (9.1), 55 (8.6),67 (7.7),128 (7.6),81 (7.5),68 (6.8),
12	27.17	1105.10	1105	Campholenal	0.10	108 (99.9),93 (79),43 (47),41 (36.4),67 (36.2), 32 (35),95 (33.8),91 (30.4),109 (25.9),39 (23.6),	108 (99.9),93 (42.4),95 (25.2),41 (23.6),109 (19.3), 67 (19),91 (12.7),39 (12.1),81 (12.1),55 (11.3)
16	30.90	1155.15	1153	4-Terpineol	0.08	71 (99.9),93 (62),43 (61.4),32 (55.4),111 (53.1), 41 (43.8),55 (31.9),69 (30.5),67 (28.3),79 (27.5)	71 (99.9),43 (54.4),93 (50.5),111 (49.4),41 (35.6), 55 (26.5),86 (24.7),69 (22.6),67 (18.4),27 (17.5)
17	32.10	1171.31	1191	Myrtenal	0.21	79 (99.9),107 (70.7),91 (47.1),77 (46.7),43 (36.8), 41 (36.3),39 (32.8),108 (32.7),105 (31.6),106,30,5),	79 (99.9),107 (73.1),41 (46.4),77 (44.7),39 (38.6), 108 (32.9),105 (32.7),106 (32.7),91 (31.5),43 (23.3)
19	33.10	1184.68	1205	Verbenone	0.03	32 (99.9),91 (70.3),107 (66.6),79 (52.9),135 (50.8), 41 (50.4),39 (47.6),43 (45.1),67 (39.4),80 (32.7)	107 (99.9),91 (87.4),39 (73.1),135 (69.4),41 (65.2), 80 (57.7),150 (55.9),27 (52.3),79 (48.6),55 (32.1)
22	34.14	1198.61	1217	Cis-Carveol	0.17	109 (99.9),84 (60.5),32 (51.8),41 (50.9),43 (47.8), 91 (45),79 (43.5),55 (43.2),39 (37.7),83 (36.9),	109 (99.9),84 (54),55 (36.2),41 (32.6),83 (30), 91 (24.6),39 (23.5),69 (22.6),43 (19.3),56 (18.9),
24	35.66	1220.08	1242	(+)-Carvone	0.75	82 (99.9),54 (39.6),93 (35.6),108 (34.6),39 (29.9),107 (22.4),41 (19.6),91 (19),79 (18.3),53 (16.9)	82 (99.9),54 (45.7),39 (31.8),93 (31.2),108 (25.8), 53 (20.3),107 (19),41 (17.5),79 (16.6),91 (14.8)
26	36.71	1234.93	1234	Linalool Acetate	0.05	93 (99.9),43 (68.4),41 (51),32 (39.8),91 (35.4), 80 (33.3),69 (29.3),121 (29),55 (25.9),82 (25.9)	93 (99.9),43 (60.7),41 (56.4),69 (44.8),80 (32.8),121 (22.6),68 (66),55 (16.1),71 (15.9),79 (15.1)
27	36.85	1236.94	1238	Chrysanthenyl Acetate	0.35	119 (99.9),43 (96.1),109 (36.8),91 (34.1),134 (28.9), 81 (26.9),93 (26.6),41 (26.5),121 (21.2),107 (20.1)	119 (99.9),43 (63.4),91 (35),134 (34.8),109 (23.6), 41 (23.2),77 (19.6),81 (18.6),93 (15.2),121 (13.9)
28	37.34	1243.81	1285	4a-Methyl-1,2,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-2-naphthalenamine	0.03	119 (99.9),43 (63.4),91 (35),134 (34.8),109 (23.6), 41 (23.2),77 (19.6),81 (18.6),93 (15.2),121 (13.9)	109 (99.9),67 (64),81 (47),41 (43),79 (39), 96 (38),135 (38),93 (36),55 (29),121 (27),
29	37.77	1249.94	1329	Ionone	0.24	93 (99.9),192 (86),91 (66.1),121 (64.7),41 (64.4),177 (59.8),43 (51.9),136 (51),77 (50.3),79 (47.6)	121 (99.9),43 (95.8),93 (88.3),177 (71.6),136 (69.7),41 (31.2),109 (31.1),91 (29.7),77 (26.3),107 (20.1)
30	38.17	1255.55		1,2-Epoxy-5,9-cyclododecadiene	0.04	32 (99.9),43 (67),67 (49.2),41 (45.1),39 (40.7), 79 (39.3),109 (33.5),82 (33.2),55 (31.2),91 (29.6)	41 (99.9),67 (86.5),54 (76.2),79 (73.2),39 (56.9), 81 (51.5),27 (49.8),55 (47),68 (38.1),80 (34)
31	38.43	1259.33	1285	L-Borneyl Acetate	0.69	95 (99.9),43 (57.4),93 (49.6),121 (44.2),136 (38),	95 (99.9),43 (75.8),93 (44.7),136 (38.9),121 (33.7),



34	39.46	1273.84				41 (27.2),80 (17.55 (14.8),108 (13.4),69 (13.1) 93 (99.9),121 (64.8),136 (45.5),91 (36.2),77 (26.2), 79 (21.7),92 (19.3),43 (18.6),41 (13.4),105 (13.1), 135 (99.9),150 (31.4),91 (13.1),136 (10.2),77 (68),10 7 (67),117 (64),115 (50),79 (44),105 (39)	
36	40.63	1290.44	1298	Antioxine(Carvacrol)	0.04	(31.9),150 (29.3),55 (22),39 (20.4),79 (19.6) 91 (99.9),43 (42.9),119 (41.1),92 (32.3),108 (14.8), 41 (14.5),79 (14.4),93 (13.4),77 (13.3),134 (11.8)	
37	41.14	1297.57	1235	(-)-Myrtenyl acetate	0.40	121 (99.9),93 (69.7),91 (47.8),107 (41.4),32 (39.3), 41 (37.1),79 (34.5),136 (32.1),77 (29.1),105 (25.4)	
38	41.74	1305.90	1313	Elixene	0.12	105 (99.9),119 (95.2),161 (92.9),91 (44.2),120 (26.4),93 (25.8),81 (25.1),41 (20.9),77 (18),92 (17.9)	
40	42.59	1317.71	1351	Alpha.-Cubebene	0.91	121 (99.9),93 (73.3),43 (66.5),136 (57), 79 (19),41 (18.3),91 (17),81 (16.2), 67 (15.9),92 (15.6)	
41	42.73	1319.68	1259	Alpha-Terpineol acetate	0.60		
<b>Tableau XXIV (suite)</b>							
42	43.36	1328.37	1362	Ledene	0.03	32 (99.9),105 (77.5),91 (76.4),119 (65.5),161 (65.2),93 (57.4),43 (54.1),41 (49.6),121 (40.3),107 (39.1)	
43	43.53	1330.75		(+)-Cycloisositavene	0.07	105 (99.9),91 (79.1),32 (73.4),94 (70.1),119 (68.3),161 (62.7),93 (57.5),41 (51.2),107 (47.4),120 (46.2)	
44	44.18	1339.69	1376	Alpha.-Copaene	0.46	119 (99.9),105 (93.5),161 (88.9),93 (48),91 (46.9),41 (27.4),92 (27.3),81 (24),120 (23.3),77 (22.7)	
45	44.69	1346.74	1383	Beta. Bourbonene	0.13	81 (99.9),123 (71.4),80 (70.4),79 (41.4),161 (34.2), 41 (26.3),91 (25.4),32 (23.2),105 (20.6),43 (19.9)	
46	44.93	1350.10	1359	Beta.-Damascenone	0.08	69 (99.9),121 (68.5),32 (44),41 (40.1),105 (36.6),91 (35),79 (22.6),93 (21.9),77 (20.1),39 (20.1)	
47	45.16	1353.22	1389	Beta.-Cubebene	0.46	161 (99.9),105 (43.4),91 (41.8),119 (26),120 (24.7), 41 (19.9),79 (19.3),81 (17.5),93 (17.1),77 (16.2)	
48	45.34	1355.68	1391	Beta. Elemene	0.40	93 (99.9),81 (92),67 (73.5),79 (62.9),107 (62.6), 68 (62.5),41 (59.5),91 (56.8),105 (46.5),121 (45.3)	
49	46.09	1366.18	1407	Isocaryophyllen	0.24	91 (99.9),41 (80.7),105 (79),93 (75.3),117 (67.9), 79 (61.7),69 (58.8),32 (55.8),118 (55),119 (54.8) (38.3)	
50	46.27	1368.55	1409	Alpha-Gurjunene	0.15	105 (99.9),91 (92.3),41 (90.2),119 (82.1),161 (79), 43 (75.4),32 (74.6),204 (68),189 (60.3),57 (58.7)	
51	47.16	1380.85	1418	Trans-(Beta.)-Caryophyllene	9.15	133 (99.9),93 (96.8),91 (83.8),79 (71),69 (69.9),105 (60.3),93 (99.9),133 (92.1),91 (85.8),41 (76.9),79 (76.3),	

							(59.8), 41 (58.8), 120 (47.5), 107 (46.1), 119 (42.5)	69 (75.4), 105 (62.3), 107 (48.3), 120 (44.7), 77 (43.9)
52	47.43	1384.71	1433	Gamma.-Elemene	0.15		121 (99.9), 93 (94.3), 91 (77.1), 41 (74.1), 32 (67.9), 79 (62.8), 105 (62.7), 107 (57.7), 119 (25), 67 (50.8)	41 (99.9), 121 (95.1), 93 (82.5), 39 (59.4), 67 (57.8), 91 (53), 107 (48.7), 53 (48.4), 105 (45.9), 79 (42.3)
54	48.06	1393.32	1556	Germacrene B	3.07		121 (99.9), 93 (64.6), 107 (44.5), 91 (38), 105 (36.9), 119 (31.3), 79 (29.2), 67 (28.9), 41 (27.2), 77 (22.9)	121 (99.9), 93 (61.9), 41 (66.7), 107 (43.8), 67 (35.8), 79 (32.8), 81 (31.2), 105 (29.7), 91 (28.9), 119 (28.8)
55	48.24	1395.86	1439	Alpha.-Guaiene	0.53		105 (99.9), 147 (77.6), 107 (77.4), 93 (72.2), 91 (69), 133 (55.8), 79 (55.2), 41 (44.9), 119 (42.4), 81 (42.1)	105 (99.9), 107 (89.5), 147 (80.6), 93 (78.6), 41 (68), 79 (61.7), 91 (61), 81 (59.6), 133 (53.2), 95 (49)
56	49.09	1410.29	1454	Alpha.-Humulene	3.20		93 (99.9), 80 (32.8), 121 (31), 91 (210), 147 (20.8), 92 (18.5), 79 (18.3), 107 (16.1), 41 (15.9), 77 (15.1)	93 (99.9), 80 (35.1), 121 (26.5), 41 (22.6), 92 (16.8), 147 (14.1), 107 (14.1), 79 (13.5), 94 (13.5), 91 (11.9)
57	49.41	1416.23	1449	Aromadendrene	0.36		91 (99.9), 93 (83.9), 41 (81.8), 105 (76.6), 161 (70.5), 79 (67.5), 69 (65.8), 107 (63.5), 133 (60.5), 119 (56.1)	161 (99.9), 41 (94), 91 (83.5), 93 (80), 105 (75.2), 107 (71.6), 69 (71), 79 (64), 133 (61.2), 81 (61.1)
58	49.62	1420.08	1443	Trans-Beta.-Farnesene	0.16		69 (99.9), 41 (8.95), 93 (70.7), 43 (53.5), 161 (48.7), 91 (45.2), 32 (44.4), 79 (36.1), 67 (34.2), 105 (33.5)	41 (99.9), 69 (80.1), 93 (46.4), 67 (23.6), 133 (22.8), 81 (21.1), 79 (20.1), 53 (18.7), 120 (17.7), 91 (17.5)
59	50.22	1431.19	1504	Cis-Z-alpha-Bisabolene epoxyde	1.02		109 (99.9), 94 (649), 43 (51.6), 79 (47.5), 93 (41.6), 41 (28.8), 69 (28.5), 77 (19.8), 91 (17.9), 161 (17.7)	43 (99.9), 41 (85.7), 109 (46.2), 55 (44.1), 93 (42.5), 67 (40.1), 81 (33.9), 79 (30.2), 91 (29.5), 57 (26.1)
60	50.35	1433.61	1524	Beta-Cadinene	1.51		161 (99.9), 105 (42.8), 119 (29.1), 204 (27.7), 81 (27), 91 (25.4), 162 (18), 134 (17.9), 41 (13.9), 189 (13.6)	161 (99.9), 204 (51.8), 134 (45.6), 119 (44.5), 105 (43.8), 81 (29.9), 41 (25.2), 91 (24.1), 189 (21.9), 162 (19)
61	50.70	1440.10	1480	Germacrene D	0.30		161 (99.9), 105 (73.2), 91 (61.4), 119 (41.7), 79 (38.3), 81 (38.1), 41 (37.9), 93 (34.6), 77 (31.9), 133 (23.8)	161 (99.9), 105 (77.5), 91 (68.5), 41 (61.9), 119 (60.4), 79 (41.5), 81 (41.4), 93 (35.9), 77 (34.6), 27 (31.5)
<b>Tableau XXIV (suite)</b>								
62	50.98	1445.27	1485	Beta.-Selinene	0.26		105 (99.9), 93 (94), 79 (85.3), 107 (83.1), 91 (82.7), 41 (79.6), 81 (69.4), 121 (66.7), 67 (65.8), 161 (59.6)	41 (99.9), 105 (90.1), 107 (88.7), 204 (88.5), 93 (86.1), 81 (78.3), 121 (69), 79 (68.2), 67 (63.4), 55 (61.7)
63	51.35	1452.09	1389	Beta-Cubebene	1.29		161 (99.9), 105 (39.2), 91 (33.1), 119 (26.1), 204 (19.7), 162 (15.3), 93 (13.8), 41 (13.4), 81 (13.3), 133 (13.2)	161 (99.9), 105 (34.3), 91 (30.4), 120 (25.8), 41 (24.4), 19 (21), 81 (18.9), 79 (17.5), 93 (16.5), 55 (16)
64	51.47	1454.29	1497	Epizonaren	1.22		161 (99.9), 105 (93.7), 119 (65.8), 91 (62.6), 204 (61), 133 (40.6), 107 (37.1), 93 (35), 189 (31.9), 41 (30.9)	161 (99.9), 204 (62.2), 81 (46.9), 189 (34.7), 105 (29.7), 119 (25.7), 162 (15.2), 133 (13.3), 205 (11.4), 93 (10.7)
65	51.63	1457.37	1437	Calarene	0.61		161 (99.9), 121 (96.6), 93 (94.7), 105 (89.2), 91 (82.4), 119 (74.4), 107 (73.3), 79 (64.1), 41 (63.8), 43 (63.6)	161 (99.9), 41 (31.7), 105 (30.5), 91 (27.9), 119 (24.6), 93 (22.4), 162 (21.2), 107 (21.2), 189 (18.8), 133 (16.6)
66	52.02	1464.52	1499	Alpha-Muurolene	0.88		105 (99.9), 161 (49.3), 93 (34.5), 91 (33.8), 94 (28.4), 119 (28.2), 41 (21.9), 79 (21.7), 81 (21.2), 204 (21)	105 (99.9), 41 (50.6), 161 (50.2), 91 (37), 93 (36), 94 (28.4), 204 (28.3), 81 (27), 119 (26.2), 79 (24.8)
67	52.16	1467.16		Acetic acid, 3-(6,6-dimethyl-	0.10		173 (99.9), 188 (40.3), 105 (31), 132 (27.1), 91	173 (99.9), 43 (52.2), 131 (30.4), 188 (26.5), 174

68	52.41	1471.78	1409	Beta-Maaliene	2.11	161 (99,9), 105 (95,9), 204 (91,2), 119 (81), 91 (81), 91 (81), 93 (17,8), 131 (16,8)	(24,5), 43 (20,8), 119 (20), 32 (17,9), 93 (17,8), 131 (16,8)	(14,2), 145 (13,4), 91 (12,2), 41 (12,1), 105 (12,1), 119 (11,1)	
69	52.78	1478.71	1507	Gamma Cadinene	1.42	189 (68,7), 133 (51,1), 93 (46,4), 107 (43,8), 147 (42,8)	161 (99,9), 105 (45), 91 (40,6), 119 (36,5), 93 (34,9), 79 (29,3), 41 (25,1), 133 (24,8), 81 (20,5), 77 (20,2)	161 (99,9), 105 (26,4), 204 (26,2), 91 (21,2), 119 (20,9), 93 (19,4), 162 (16,4), 79 (15,7), 41 (13,3), 133 (12,6)	
70	52.99	1482.55	1569	Germacrene D-4-ol	0.41	123 (99,9), 161 (90,1), 43 (71,8), 41 (68,6), 105 (68,2), 91 (64,6), 93 (64), 119 (55,7), 81 (52,2), 79 (48,8)	123 (99,9), 161 (90,1), 43 (71,8), 41 (68,6), 105 (68,2), 91 (64,6), 93 (64), 119 (55,7), 81 (52,2), 79 (48,8)	81 (99,9), 43 (76,6), 41 (39,4), 123 (20,7), 80 (19,6), 55 (19,4), 161 (18,9), 105 (17,2), 79 (16,8), 67 (16,6)	
71	53.67	1495.09	1524	Delta-Cadinene	10.02	161 (99,9), 119 (63,9), 134 (59,7), 105 (50,2), 204 (38,8), 91 (34,6), 81 (21,7), 162 (21,2), 133 (18,3), 189 (17,2)	161 (99,9), 119 (63,9), 134 (59,7), 105 (50,2), 204 (38,8), 91 (34,6), 81 (21,7), 162 (21,2), 133 (18,3), 189 (17,2)	161 (99,9), 134 (57,8), 119 (45,9), 105 (44,7), 204 (41,2), 41 (34,5), 81 (27,5), 91 (24,9), 162 (18,5), 55 (17)	
72	53.97	1500.55		Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	1.25	119 (99,9), 105 (72,2), 161 (53,9), 91 (32,4), 121 (20,2), 204 (19,8), 41 (19,6), 120 (19,4), 93 (17,7), 92 (15,8)	119 (99,9), 105 (72,2), 161 (53,9), 91 (32,4), 121 (20,2), 204 (19,8), 41 (19,6), 120 (19,4), 93 (17,7), 92 (15,8)	119 (99,9), 105 (68), 161 (51,2), 204 (25,6), 121 (21,8), 91 (21,7), 41 (21,6), 120 (19,2), 92 (17,6), 93 (15,3)	
73	54.19	1503.83	1439	Alpha-Guaiene	0.19	105 (99,9), 161 (78,9), 91 (68,4), 119 (55,2), 41 (49,4), 204 (47,3), 189 (42,5), 93 (40,7), 133 (40,2), 79 (35,6)	105 (99,9), 161 (78,9), 91 (68,4), 119 (55,2), 41 (49,4), 204 (47,3), 189 (42,5), 93 (40,7), 133 (40,2), 79 (35,6)	161 (99,9), 105 (94,9), 204 (76,7), 119 (59,8), 91 (58,6), 41 (56,2), 107 (46,2), 93 (44,1), 189 (41,1), 133 (39,9)	
74	54.35	1506.08	1484	Eudesma-3,7(11)-diene	0.30	161 (99,9), 107 (58,5), 122 (57,2), 91 (54,2), 105 (52,7), 41 (45,6), 93 (42), 204 (39,6), 119 (38,6), 81 (38)	161 (99,9), 107 (58,5), 122 (57,2), 91 (54,2), 105 (52,7), 41 (45,6), 93 (42), 204 (39,6), 119 (38,6), 81 (38)	161 (99,9), 122 (61,8), 107 (61,3), 204 (44,7), 105 (44,2), 91 (41), 93 (36,4), 133 (29,7), 119 (29,3), 189 (28,9)	
75	54.52	1508.58	1542	Alpha-Calacorene	1.45	157 (99,9), 142 (51,5), 141 (30,1), 156 (18,5), 200 (14,6), 158 (13,4), 115 (10,7), 143 (80), 128 (76), 155 (59)	157 (99,9), 142 (51,5), 141 (30,1), 156 (18,5), 200 (14,6), 158 (13,4), 115 (10,7), 143 (80), 128 (76), 155 (59)	157 (99,9), 142 (57,8), 156 (23,7), 29 (19,7), 200 (18,1), 158 (14,6), 115 (13,9), 128 (9,5), 143 (8,7), 155 (8,0)	
76	54.79	1512.46	1504	Cis-alpha-Bisabolene	3.43	93 (99,9), 119 (31,9), 121 (29,9), 91 (25,5), 80 (24,9), 79 (23,6), 109 (23,2), 107 (19,5), 92 (19,4), 94 (18,4)	93 (99,9), 119 (31,9), 121 (29,9), 91 (25,5), 80 (24,9), 79 (23,6), 109 (23,2), 107 (19,5), 92 (19,4), 94 (18,4)	93 (99,9), 41 (74,7), 91 (34,8), 67 (34,4), 79 (34,4), 39 (34,2), 77 (30,3), 27 (29), 53 (27,2), 29 (24,1)	
78	55.21	1518.59	1556	gamma-Gurjunene	1.28	121 (99,9), 93 (72,9), 105 (62,6), 91 (55,8), 107 (54,1), 67 (49,2), 119 (47,2), 41 (42,2), 79 (41,2), 81 (39,3)	121 (99,9), 93 (72,9), 105 (62,6), 91 (55,8), 107 (54,1), 67 (49,2), 119 (47,2), 41 (42,2), 79 (41,2), 81 (39,3)	41 (99,9), 91 (76,2), 105 (75,4), 81 (68), 107 (67,7), 161 (60,5), 79 (59,6), 93 (53,2), 55 (50), 119 (46)	
79	55.65	1524.98	1524	9-Methoxy calamenene	0.52	157 (99,9), 142 (42,5), 141 (27,1), 200 (16,1), 158 (14,2), 115 (12,2), 91 (10), 41 (9,5), 43 (9,2), 128 (9,1)	157 (99,9), 142 (42,5), 141 (27,1), 200 (16,1), 158 (14,2), 115 (12,2), 91 (10), 41 (9,5), 43 (9,2), 128 (9,1)	157 (99,9), 200 (59,6), 217 (41,1), 142 (40,4), 158 (23,2), 143 (20,6), 141 (18,8), 201 (16,9), 145 (14,7), 159 (14,5)	
80	56.00	1530.15	1568	Caryophyllenyl Alcohol	1.08	111 (99,9), 41 (48,4), 69 (47), 55 (40), 81 (36), 123 (35,7), 93 (35), 43 (30,5), 95 (28,6), 161 (27,6)	111 (99,9), 41 (48,4), 69 (47), 55 (40), 81 (36), 123 (35,7), 93 (35), 43 (30,5), 95 (28,6), 161 (27,6)	111 (99,9), 55 (36,3), 41 (34,1), 123 (32), 81 (26,7), 95 (25,2), 161 (23,7), 69 (21,7), 43 (20,2), 204 (17,9)	
Tableau XXIV (suite)									
81	56.30	1534.47	1491	Ledene oxyde-(II)	0.33	43 (99,9), 91 (85,2), 131 (83,8), 41 (72,9), 105 (67,3), 119 (60,7), 93 (58,5), 79 (52,8), 32 (49,5), 107 (48,6)	43 (99,9), 91 (85,2), 131 (83,8), 41 (72,9), 105 (67,3), 119 (60,7), 93 (58,5), 79 (52,8), 32 (49,5), 107 (48,6)	43 (99,9), 41 (96,3), 27 (52,3), 29 (46,7), 39 (40,1), 55 (34,1), 91 (31,6), 159 (29), 69 (27,7), 93 (27,5)	

82	56.80	1541.72	1581	Caryophyllene oxyde	4.75	79 (99.9), 93 (87.6), 43 (81.3), 41 (80.8), 91 (79.5), 69 (61.5), 95 (59.8), 109 (52.6), 107 (49.3), 77 (48)	43 (99.9), 41 (92.7), 79 (88.5), 93 (66.1), 91 (57.3), 95 (42), 69 (40.7), 55 (39.3), 67 (37.7), 81 (37.3)
84	57.23	1548.02	1489	Eremophilene	0.23	43 (99.9), 121 (78.7), 81 (71.9), 93 (70), 41 (67.3), 95 (59.6), 91 (58.4), 109 (56.0), 79 (54.9), 105 (52.9)	107 (99.9), 93 (95.5), 161 (95.5), 79 (95.5), 91 (91), 41 (86.5), 119 (86.5), 105 (82), 108 (57.8), 133 (56.5)
85	57.51	1552.16	1463	Alloaromadendrene	0.61	43 (99.9), 93 (78.9), 81 (54.5), 121 (53.7), 41 (52.5), 91 (48.1), 107 (44.9), 161 (41.6), 105 (40.4), 79 (40.1)	80 (105), 75 (2), 107 (71.6), 69 (71), 79 (64), 133 (61.2), 81 (61.1),
86	57.80	1556.30	1583	Globulol	0.34	43 (99.9), 41 (65.9), 81 (55.4), 93 (54.6), 82 (54.1), 69 (53.3), 109 (51.8), 67 (49.6), 71 (48.9), 107 (48.8)	43 (99.9), 41 (62.3), 69 (45.2), 81 (43.5), 109 (41.2), 55 (35.4), 95 (34.2), 67 (33.3), 107 (30.6), 93 (30)
88	58.17	1561.65		1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxa bicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	1.13	109 (99.9), 96 (87.5), 67 (83.2), 43 (82.2), 138 (79.4), 41 (54.2), 93 (46.5), 95 (43.4), 55 (43.2), 81 (39.6)	43 (99.9), 109 (43.6), 41 (43.1), 138 (33.2), 67 (30.2), 96 (28.7), 93 (25.7), 68 (22.9), 55 (22.9), 69 (20.7)
92	59.36	1579.00	1635	Torreyol	2.18	119 (99.9), 161 (65.8), 105 (46.9), 43 (29.4), 95 (28.8), 41 (26.7), 93 (26.4), 91 (24.4), 204 (23.9), 55 (23.4)	161 (99.9), 43 (91), 119 (55.8), 41 (44.9), 105 (43.6), 95 (40.8), 81 (30.7), 93 (30.4), 121 (29.3), 204 (29.2)
96	60.19	1591.17	1633	Tau.-Cadinol	4.30	161 (99.9), 204 (27.2), 105 (27), 43 (26.3), 119 (20.5), 81 (20.5), 162 (19.4), 95 (18.1), 134 (18), 121 (16.6)	161 (99.9), 43 (94.4), 41 (47.2), 204 (46.5), 105 (39.2), 95 (37.2), 81 (35.8), 79 (28.6), 119 (26.3), 121 (25.6)
97	60.47	1595.14	1430	Aglaïene : Copaene	0.80	161 (99.9), 43 (91.7), 119 (61.4), 105 (51.3), 95 (47.4), 41 (41), 93 (34.9), 79 (33.7), 121 (32.4), 55 (31.9),	161 (99.9), 119 (93.8), 105 (90), 93 (50.7), 41 (30.8), 91 (30.8), 92 (25.6), 81 (25.4), 120 (23.2), 204 (19.9),
98	60.57	1596.69	1632	Beta.-Eudesmol	0.56	59 (99.9), 43 (68), 121 (66), 149 (59.9), 91 (49.8), 41 (47.9), 93 (46.3), 105 (45.3), 79 (43.5), 81 (43.2)	59 (99.9), 149 (42), 43 (38.2), 41 (37.4), 108 (23.9), 93 (23.6), 79 (23), 81 (22.3), 67 (21.8), 164 (20.2)
99	60.92	1602.26	1643	Alpha.-Cadinol	2.02	95 (99.9), 121 (87.2), 43 (67.1), 161 (48.7), 105 (41), 81 (40.1), 79 (38), 109 (37), 93 (35.2), 204 (33.3)	43 (99.9), 95 (62.7), 121 (46.8), 41 (44), 204 (28.5), 79 (27.7), 81 (25.6), 161 (24.1), 93 (23.3), 105 (23.1)
100	61.08	1605.10	1681	Isoaromadendrene epoxyde	0.35	41 (99.9), 43 (94.8), 91 (90.5), 93 (86.6), 79 (78.6), 105 (76), 95 (74.5), 55 (71.3), 107 (71), 109 (69.4)	41 (99.9), 43 (66.7), 55 (50.5), 93 (42.8), 27 (42.5), 81 (39.6), 107 (38.3), 29 (36.7), 39 (35.7), 67 (34.4)
101	61.25	1608.39	1675	Bisabolol oxyde A (pyran oxyde)	1.13	143 (99.9), 43 (92.5), 91 (54.4), 71 (50.8), 93 (40.6), 41 (40.4), 125 (37.9), 69 (34.3), 77 (34.2), 94 (32.7)	43 (99.9), 41 (85.7), 109 (46.2), 55 (44.1), 93 (42.5), 67 (40.1), 81 (33.9), 79 (30.2), 91 (29.5), 57 (26.1)
103	61.91	1620.53	1659	Cadalene	1.31	183 (99.9), 198 (39.5), 168 (34), 153 (21.5), 165 (18.9), 152 (17.4), 184 (15.5), 167 (13.8), 155 (90), 141 (88)	183 (99.9), 198 (41.7), 168 (23.7), 153 (16.3), 184 (15.8), 165 (15.6), 152 (13.7), 167 (12.4), 28 (10.2), 15 (57.9)
104	62.05	1623.15	1734	Uroazulen: Guaiazulene	0.68	147 (99.9), 91 (92.2), 105 (91.2), 41 (75.5), 183 (71.2), 122 (69.7), 43 (67.2), 93 (60.4), 119 (59.6), 133 (59.5)	183 (99.9), 198 (66.7), 153 (18.3), 168 (15.8), 184 (15.7), 155 (12.8), 167 (12.2), 152 (11.9), 165 (11.5), 128 (11.3),
105	62.52	1631.79	1675	Anymol	1.06	109 (99.9), 119 (95.8), 69 (92.2),	43 (99.9), 41 (89.3), 69 (80.3), 109 (50), 119 (39.7),

107	62.96	1639.89	1767	Valencen	0.27	43 (91.5), 41 (59.7), 93 (51.3), 95 (41.4), 67 (33.4), 55 (32.2), 121 (31.8), 119 (99.9), 161 (95.3), 43 (94.6), 9 (63.7), 41 (63.4), 109 (61.6), 105 (60), 93 (46.6), 91 (44.5), 145 (42.2)	93 (385), 55 (35.3), 67 (28.1), 95 (27.6), 39 (26.1), 161 (99.9), 204 (57.6), 105 (56.9), 93 (53.5), 107 (50.6), 119 (48), 91 (46.1), 79 (46.1), 133 (40.9), 135 (36.6), 41 (99.9), 134 (74.3), 55 (60.9), 39 (53.5), 175 (52.3), 79 (50.8), 91 (46), 27 (44.2), 77 (41.9), 67 (40.9)
110	63.69	1653.34		Longipinocarvone	0.21	43 (99.9), 41 (87.6), 32 (79.1), 91 (74.1), 57 (63.1), 55 (61.5), 105 (58.6), 119 (57.1), 93 (56.7), 71 (51.5)	41 (99.9), 134 (74.3), 55 (60.9), 39 (53.5), 175 (52.3), 79 (50.8), 91 (46), 27 (44.2), 77 (41.9), 67 (40.9)
112	64.21	1662.86	1638	Spathulenol	0.30	43 (99.9), 93 (94.3), 41 (79.7), 107 (68), 69 (67.6), 91 (62.1), 119 (59.3), 105 (54.6), 55 (51.6), 121 (47.4)	43 (99.9), 41 (68.8), 91 (42.2), 119 (42.1), 93 (39.7), 69 (34.9), 105 (34.1), 159 (33.5), 205 (33.2), 79 (31.6)
<b>Tableau XXIV (suite)</b>							
121	67.18	1718.31	1614	Cubanol	0.18	43 (99.9), 161 (79), 105 (58.7), 41 (49.7), 119 (47.7), 81 (45), 32 (44.3), 93 (43), 55 (40.2), 91 (37.9)	119 (99.9), 41 (93.7), 43 (91.9), 161 (90.9), 93 (63.4), 59 (61.4), 105 (58.6), 55 (52.8), 81 (48.5), 79 (42)
124	68.59	1745.03	1792	n-Octadecane	0.13	57 (99.9), 43 (98.3), 71 (75.5), 41 (52.5), 85 (51), 32 (45.8), 55 (35.8), 93 (24.5), 69 (22.5), 56 (17.9)	57 (99.9), 43 (89.8), 71 (58), 41 (44.4), 85 (39.7), 29 (31.1), 55 (25.3), 56 (18.2), 27 (16.3), 42 (15)
125	70.02	1772.19	1700	Isopropyl myristate	0.03	43 (99.9), 32 (94.4), 41 (59.6), 55 (51.3), 57 (47.3), 60 (44), 102 (44), 69 (36), 71 (34.5), 228 (26.4)	43 (99.9), 60 (72.7), 41 (44.9), 102 (43.6), 57 (42.5), 55 (41.4), 71 (30.3), 73 (28.7), 228 (28.7), 29 (26.8)
127	71.94	1809.67		Diisobutyl phthalate	0.07	149 (99.9), 32 (17.8), 57 (17.7), 41 (12), 150 (10.1), 43 (9.2), 104 (7.3), 91 (5.4), 76 (5.3), 223 (4.8)	149 (99.9), 57 (13.2), 29 (12.1), 41 (10.5), 223 (9.6), 150 (9.2), 56 (5.5), 104 (4.9), 20 (5.4), 6, 76 (4.3)
128	73.54	1843.56	1900	Nonadecane	0.04	57 (99.9), 43 (85), 71 (70), 32 (56.8), 85 (50.5), 41 (43), 55 (33.9), 69 (23.8), 99 (16.9), 56 (16.9)	57 (99.9), 43 (76.2), 71 (72), 85 (53), 41 (44.7), 55 (34.5), 56 (20.1), 69 (17.4), 70 (15.5), 29 (13.9)
129	76.50	1906.50	1555	Dibutyl phthalate	0.05	149 (99.9), 32 (23.3), 41 (10.7), 150 (9.5), 57 (7.7), 43 (7.4), 55 (7.2), 83 (5.2), 56 (4.8), 69 (4.5)	149 (99.9), 150 (9.2), 29 (9.0), 41 (7.8), 57 (5.8), 56 (5.2), 223 (4.7), 205 (4.3), 104 (3.6), 76 (3.5)
133	91.33	2253.21	2100	Heneicosane	0.03	57 (99.9), 32 (7.92), 43 (7.6), 71 (7.4), 85 (5.2), 7, 41 (3.4), 55 (3.1), 69 (2.3), 83 (1.6), 7, 99 (1.6), 5	57 (99.9), 71 (6.9), 43 (5.8), 85 (4.7), 41 (1.9), 6, 99 (1.6), 55 (1.5), 29 (1.1), 113 (10.9), 56 (10.4)
134	99.20	2461.81	3200	Dotriacontane	0.02	32 (99.9), 57 (99.5), 71 (69.7), 43 (68.4), 85 (48.7), 41 (30.5), 55 (29.4), 69 (19.7), 99 (15.4), 83 (15.2)	57 (99.9), 71 (70.3), 43 (61), 85 (51.3), 55 (23.5), 99 (18.1), 69 (17.9), 83 (16.3), 41 (16.1), 113 (13.7)
135	100.91	2513.70		Diisooctyl phthalate	0.10	149 (99.9), 167 (31.1), 57 (24.5), 32 (15.7), 71 (15.7), 43 (14.3), 41 (13.9), 70 (13.3), 150 (11.4), 55 (10.1)	149 (99.9), 167 (35), 57 (34.1), 70 (26.4), 41 (22.5), 71 (22.4), 55 (21.8), 43 (20), 150 (10.7), 83 (10)
136	106.52	2670.03		Tetraetracontan	0.03	57 (99.9), 32 (8.1), 43 (7.5), 71 (7.2), 85 (4.6), 9, 55 (3.1), 41 (2.8), 69 (1.9), 7, 83 (1.8), 5, 99 (1.8), 2	57 (99.9), 43 (70.1), 71 (59.6), 85 (37.8), 55 (21.2), 41 (16.4), 69 (16.1), 83 (14.5), 56 (13.2), 97 (11.6)
<b>Totale</b>							<b>91.03</b>

<i>les monoterpènes</i>	<b>17.85</b>
<i>les sesquiterpènes</i>	<b>73.38</b>
<i>Autres composées</i>	<b>0.19</b>

**T<sub>R</sub>Hyd** : Temps de rétention d'huile essentielle extrait par hydrodistillation.

**IK<sub>exp</sub>** : Indice de rétention expérimentale de ce travail

**IK<sub>lit</sub>** : Indice de rétention d'après les littérateurs.

### **III.3 Huiles essentielles de *Teucrium polium geyrii* :**

#### **III.3.1 Extraction des huiles essentielles :**

##### **III.3.1.1 Extraction par entraînement à la vapeur :**

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau en utilisant des conditions opératoires décrites dans le Tableau X. L'huile essentielle obtenue de couleur jaunâtre avec une très forte et persistante odeur et un rendement de 0.4%. Les huiles essentielles ainsi obtenues sont conservées à 4°C dans des tubes sous abri de la lumière jusqu'à leur usage.

##### **III.3.1.2 Extraction par l'hydrodistillation :**

L'hydrodistillation est conduite pendant quatre heures, durée nécessaire à l'épuisement de la matière première (environ 90%) en huile essentielle (HERNANDEZ OCHOA, 2005) dans les conditions opératoires décrites dans le Tableau XI.

L'huile essentielle obtenue possède une couleur jaune clair. Son odeur est agréable. Un rendement de 0.1% est obtenu lors de l'extraction de l'huile essentielle de *Teucrium polium geyrii* à partir de la partie arienne récoltée.

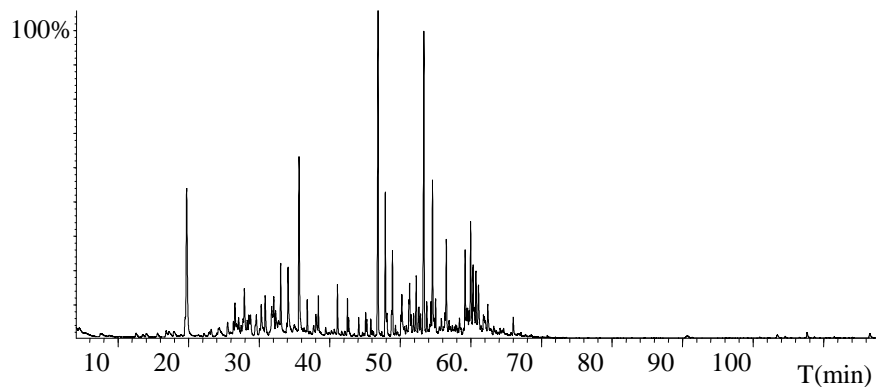
Nous pouvons observer des rendements d'extraction variant considérablement entre les essais. Ces variations dans la concentration de l'huile essentielle produite par la plante sont le résultat de différents facteurs intervenant lors de la culture de la plante notamment les facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique...)

#### **III.3.2 Analyse des huiles essentielles par GC/FID et GC/MS :**

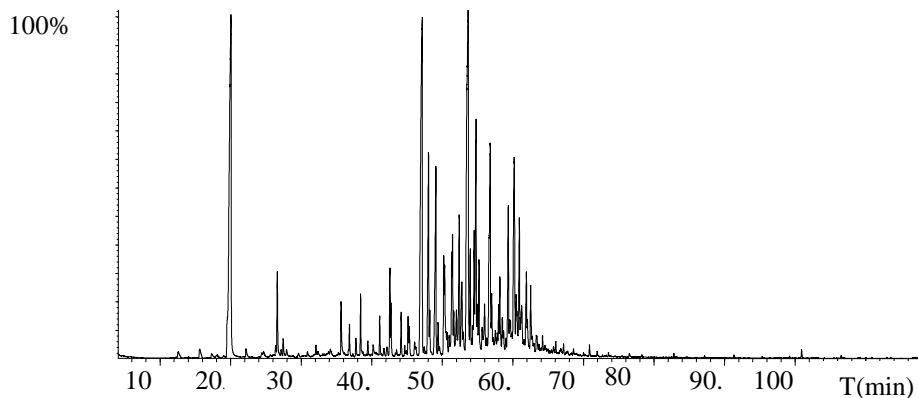
L'analyse de l'huile essentielle de *Teucrium polium geyrii* a été conduite dans un premier temps à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (GC/FID) afin d'étudier les chromatogrammes par corrélation des indices de KOVATS et de la bibliographie.

Dans un deuxième temps, nous avons injecté les huiles essentielles en chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC/MS), afin d'identifier les constituants de notre huile, aussi bien les composés majoritaires que minoritaires.

Les résultats, pour les huiles essentielles obtenus par entraînement à la vapeur et par l'hydrodistillation, sont reportés dans les Tableaux **XXIII** et **XXIV**.



**Fig. 40-** Chromatogramme de GC/MS d'huile essentielle de *Teucrium polium geyrii* obtenu par entraînement à la vapeur.



**Fig. 41-** Chromatogramme de GC/MS d'huile essentielle de *Teucrium polium geyrii* obtenu par l'hydrodistillation.



### III. Résultats et discussion:

La plante *Teucrium polium geyrii*, qui a été sélectionnée pour ses propriétés biologiques, est récoltée à Tamanrasset (Hoggar centre) en Novembre 2007.

Les échantillons sont séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante. Après séchage, la plante est broyée et stockée dans un endroit sec.

#### III.1. Tests chimiques préliminaires :

Une investigation phytochimique préliminaire a été entreprise et a permis de mettre en évidence divers métabolites secondaires.

Le Tableau XVI, regroupe les Résultats des tests chimiques réalisés sur la plante *Teucrium* broyée.

**Tableau XVI-** Résultats des tests chimiques de La plante *Teucrium polium geyrii*

Test chimique	Présence
Tanins	+
Saponosides	+
Les huiles essentielles	+
Cardénolides	+
Alcaloïdes	+
Anthraquinones libres	+
Stéroïdes et dérivés de stéroïdes	+
Stérols	+
Flavonoïdes	+
Polyphénols	+
Sucres réducteurs	+

Au vu de ces résultats, nous déduisons que la plante *Teucrium polium geyrii* de la région Tamanrasset, comme d'autres espèces de la famille Lamiacée, est riche en divers métabolites secondaires, ce qui explique l'intérêt et l'attention particulière portée par les chercheurs à travers les études scientifiques sur cette plante. (NAGHIBI et al., 2005)

### III.2. Les flavonoïdes de *Teucrium polium geyrii*

#### III.2.1 Extraction des flavonoïdes :

La plante *Teucrium polium geyrii* a été soumise à deux type d'extraction des composés phénoliques, la première s'est faite par macération à froid avec un mélange méthanol/eau 80/20: V/V, et la seconde a été réalisé au Soxhlet.

Le Tableau XVII donne l'aspect, la couleur et la masse de chaque extrait phénolique obtenus par les deux méthodes précitées. Les cinq extraits sont notés de **T<sub>2</sub>** à **T<sub>6</sub>**. **T<sub>2</sub>** est l'extrait à l'acétate d'éthyle obtenu par macération et les quatre autres sont des extraits liquide/liquide successifs de la fraction aqueuse obtenue par Soxhlet, respectivement, à l'hexane (**T<sub>6</sub>**), au chloroforme (**T<sub>5</sub>**), au n-butanol (**T<sub>4</sub>**) et à l'acétate d'éthyle (**T<sub>3</sub>**).

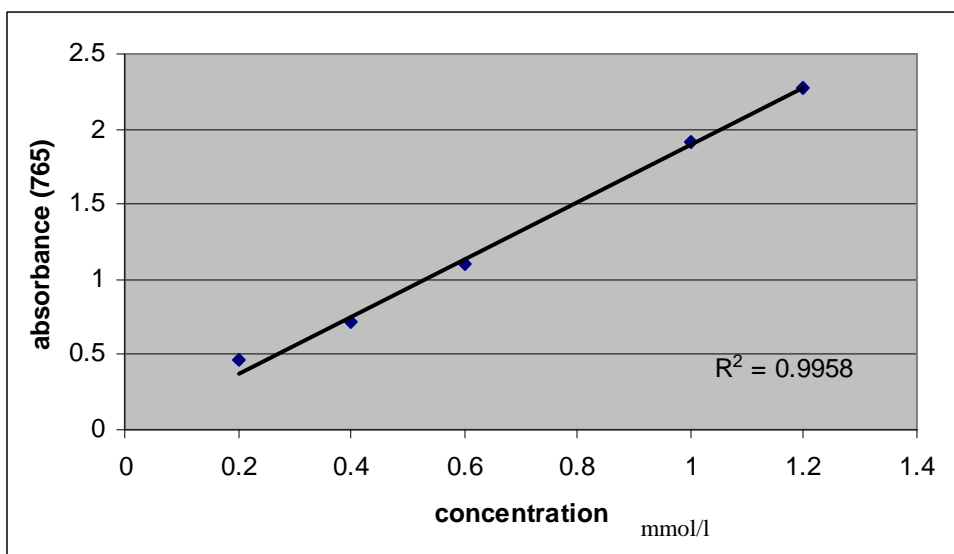
**Tableau XVII-** Caractéristiques des extraits phénoliques obtenus par macération et au Soxhlet à partir de la plante *Teucrium polium geyrii*

Extrait	Couleur/Aspects	Rendements (%)
Hexane soxhlet ( <b>T<sub>6</sub></b> )	Vert foncé/visqueux	7.50
Chloroforme soxhlet ( <b>T<sub>5</sub></b> )	Vert Jaune /poudre	2.66
Acétate d'éthyle soxhlet ( <b>T<sub>3</sub></b> )	Jaune/poudre	5.31
n-butanol soxhlet ( <b>T<sub>4</sub></b> )	Jaune à marron/poudre	5.58
Acétate d'éthyle macération <b>T<sub>2</sub></b>	Jaune vert/poudre	3.70
Aqueuse macération	Marron/visqueux	5.58

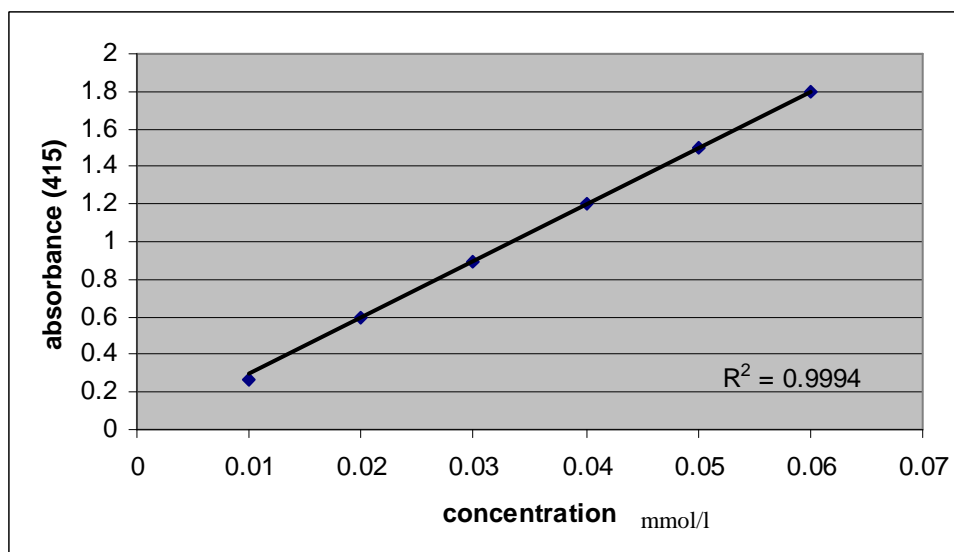
Les résultats montrent un rendement plus élevé dans le cas de l'extraction réalisée par l'hexane au Soxhlet et le moins important pour le chloroforme. Cette différence peut être attribuée à la présence de composés lipophiles (acides gras, caroténoïdes, chlorophylles) de Poids Moléculaire élevé plus soluble dans le premier solvant que dans le second. Toutefois, ces extractions peuvent être considérées comme complémentaires dans la mesure où les produits naturels présentent des polarités assez différentes. Il s'agira donc de comparer les compositions respectives en ces produits dans ces extraits en combinant des techniques de séparations et celles permettant l'identification structurale.

### III.2.2 Quantification des composés phénoliques :

L'analyse semi-quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des extraits phénoliques a été réalisée par la procédure décrite précédemment, en se référant à des étalons tels que l'acide gallique (Phénols totaux) et la vitexine (flavonoïdes). La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage (Fig. 27 et 28) et exprimée en milligrammes par grammes de la matière sèche par équivalence à l'acide gallique et à la vitexine respectivement.



**Fig. 27-** courbe d'étalonnage de l'acide gallique



**Fig. 28-** courbe d'étalonnage de la vitexine.

Les résultats calculés obtenus sont regroupés dans le Tableau XVIII.

**Tableau XVIII** - Résultat de dosage des phénols totaux et des flavonoïdes

Les extraits	phénols totaux (mg/g)	Flavonoïdes (mg/g)
Acétate d'éthyle macération (T <sub>2</sub> )	89.05	0.45
Acétate d'éthyle soxhlet (T <sub>3</sub> )	1.81	0.06
n-butanol soxhlet (T <sub>4</sub> )	49.87	0.16
Chloroforme soxhlet (T <sub>5</sub> )	8.48	0.16
Hexane soxhlet (T <sub>6</sub> )	7.52	0.12

La teneur en polyphénols dans la plante *Teucrium polium geyrii* étudiée varie d'un extrait à un autre. L'extrait à l'acétate d'éthyle obtenu par macération renferme la plus grande quantité de phénols totaux au même titre que le taux des flavonoïdes, et la plus faible teneur est observée dans le cas du même solvant au Soxhlet. Le taux des flavonoïdes qui est compris entre 0.059 et 0.446 (mg/g) et inférieur au taux le plus faible obtenu dans le cas des phénols totaux.

Toutefois, la comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature : DJERIDANE *et al.*, (2006) et l'étude de PROESTOS et KOMAITIS, (2006), montre que notre plante est très riche en composés phénoliques. Les teneurs en phénols totaux déterminées par colorimétrie (Tableau XVIII) sont toujours très faibles par rapport aux rendements des extraits bruts (Tableau XVII), ce résultat indique que l'extrait brut obtenu par extraction liquide- liquide avec de l'acétate d'éthyle et les extraits obtenus par Soxhlet contiennent des composés autres que les polyphénols.

### III.2.3 Analyse par Chromatographie sur couche mince (CCM):

D'après les chromatogrammes des extraits aux solvants polaires et apolaires, on peut illustrer la carte phénolique de notre plante. Les Tableaux **XIX**, **XX** et **XXI** représentent les différentes valeurs des facteurs de rétention  $R_f$  et les couleurs caractéristiques des composés séparés de la plante *Teucrium polium* sous les différentes conditions opératoires.

**Tableau XIX** - Résultats de CCM de *Teucrium polium geyrii* sur polyamide.

Phase stationnaire : polyamide												
Phase mobile H <sub>2</sub> O / EtOH / n-BuOH / AcOH (60: 20: 25 :2)												
T <sub>6</sub>		T <sub>5</sub>		T <sub>4</sub>			T <sub>3</sub>			T <sub>2</sub>		
R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>
0.07	Rose	0.04	Orange	0.05	Vfoncé	Orange	0.03	Orange	Jaune	0.11	Orange	Orange
0.14	B-mauve	0.11	Mauve	0.11	Mauve	J.foncé	0.06	Mauve	-	0.16	Mauve	Marron
0.2	Mauve	0.16	Rose	0.14	Rose	Marron	0.13	Rose	-	0.22	J. pal	J.orang
0.27	J- vert	0.22	Bleu-mauve	0.21	J.flo	-	0.24	Orange	J.orang	0.37	jaune	Jaune
0.36	V- claire			0.24	Orange	-	0.28	noire	J.foncé	0.53	brune-noire	Marron
0.4	N.marron	0.27	Mauve	0.32	Bleu - mauve	Marron	0.35	Mauve	marron			
0.52	Marron	0.33	marron		jaune	-	0.83	Bleu - mauve	B.foncé	0.85	Jaune-vert	J.orang
0.55	J- claire	0.4	Orange	0.4	jaune	-	0.86	jaune	Jaune	0.9	Jaune	Jaune.
0.83	Jaune	0.45	Verte	0.83	Jaune-vert	J.orang	0.9	Jaune-vert	J.orang		.florissa	florissa
0.88	Jaune florissan	0.53	Jaune-vert	0.88	Jaune flor	J.floriss	0.92	J. floriss	B.jaune			

Tableau XX - Résultats de CCM de *Teucrium polium geyrii* sur gel de silice.

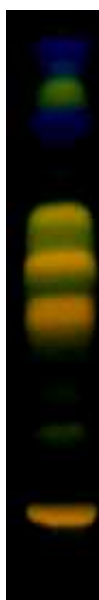
Phase stationnaire : gel de silice												
Phase mobile : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / MeOH (80: 20)									Phase mobile : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / MeOH (95: 05)			
T <sub>3</sub>			T <sub>4</sub>			T <sub>5</sub>			T <sub>3</sub>		T <sub>2</sub>	
R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV
0.03	Mauve	Orange	0.16	Vert	J. flo	0.24	Florissant	Vert	0.12	Gris	0.12	Orange
0.08	J.vert	Jaune	0.23	-	Vert	0.28	-	Jaune	0.81	J.vert	0.33	Mauve
0.19	Bleu	J. flo	0.29	Jaune	Jaune	0.54	-	Mauve	0.92	Jaune	0.65	J. bleu
0.28	Florissant	Orange	0.36	-	Orange	0.6	-	Orange			0.81	Orange
0.67	J- vert	Bleu	0.41	Bleu	Mauve	0.65	Bleu	B.flo			0.92	Rose
0.83	J. org	J. flo	0.48	-	J- pal	0.72	Jaune	Bleu				
0.91	Jaune	Orange	0.54	J. vert	B.flo	0.91	J- vert	Jaune				
0.97	Mauve.	Rose	0.69	Bleu.	Mauve	1	orange	Rose				
	Florissant		0.93	Florissant	Jaune							
			0.99	Rose	Rose							

Phase stationnaire : gel de silice										
Phase mobile : C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> / MeOH (60:15)										
T <sub>5</sub>		T <sub>4</sub>			T <sub>3</sub>			T <sub>2</sub>		
R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>
0.26	Orange	Orange	0.03	B. flo	0.03	Orange	Jaune	0.03	Orange	Orange
0.28	Mauve	Rose	0.07	J. flo	0.07	J. flo	Bleu	0.07	J. flo	J. flo
0.39	Rose	Marron	0.10	Bleu	0.10	Bleu	Jaune	0.10	vert	J.vert
0.45	Marron	Mauve	0.14	J- pal	0.14	Mauve.flo	Mauve	0.16	B.mauve	J- pal
0.71	Orange	J. flo	0.18	Jaune	0.19	J- flo	V..foncé	0.20	J- pal	Jaune
0.75	Marron	B. flo	0.21	Orange	0.22	B.flo	Bleu	0.24	Orange	Orange
0.80	Rose	Rose	0.25	J. flo	0.25	Mauve	J. flo	0.26	J. Orang	J. org
0.95	Rose	Orange	0.28	Rose	0.28	B.flo	Jaune	0.32	Rose	Rose
			0.34	Marron	0.48	J. flo	J. flo	0.41	Marron	Marron
			0.37	Rose	0.71	Florissant	Jaune	0.48	Mauve	orange
			0.44	Marron				0.75	Rose	Rose
			0.99	Rose						

**Tableau XXI-** Résultats de CCM de *Teucrium polium geyrii* sur RP<sub>18</sub>.

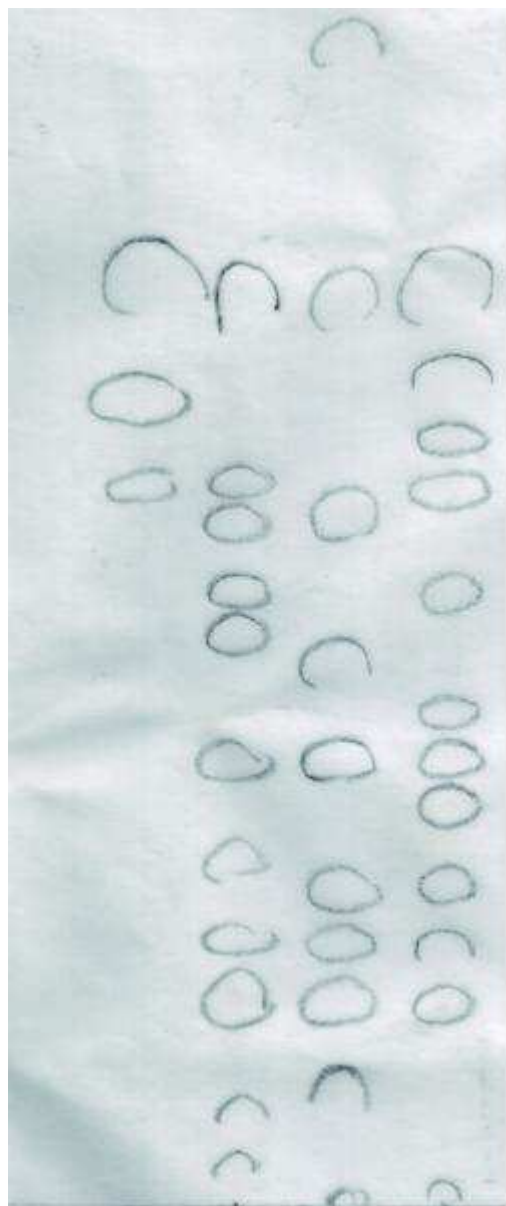
Phase stationnaire : RP <sub>18</sub>									
phase mobile : H <sub>2</sub> O / CH <sub>3</sub> CN (50: 25)						phase mobile : AcOH / HCl /H <sub>2</sub> O (15: 5: 15)			
T <sub>3</sub>			T <sub>4</sub>			T <sub>3</sub>		T <sub>4</sub>	
R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	AlCl <sub>3</sub>	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV	R <sub>f</sub>	Couleur sous UV
0	Rose	Rose	0.04	J. vert	J. claire	0.03	Vert	0.28	Mauve-
0.04	Jaune	B. Vert	0.09	Vert	J. vert	0.07	Brun. noire		Florissant
0.13	Vert	V. foncée	0.13	V.foncée	Vert	0.27	Mauve-	0.36	Vert
0.18	J.vert	J. vert	0.17	Orange	J. vert		Florissant	0.39	B- Mauve
0.31	Bleu	Bleu	0.22	J. vert	J. vert	0.36	Mauve	0.44	B- Mauve
0.41	Marron	Marron				0.38	Bleu	0.56	Brun
0.47	Bleu	J. vert				0.46	B- Mauve	0.72	-
0.57	Mauve	M. foncée				0.55	J.vert	0.86	Orange
0.63	B. flu	Marron				0.70	J. orange		
0.72	J.vert	J.vert							

En complément des analyses précédentes, nous avons effectué une CCM sur une phase stationnaire polaire qui est la cellulose avec comme phase mobile le mélange : n-ButOH / AcOH /H<sub>2</sub>O (4: 1: 5) (BAW). Le chromatogramme de la fig. 29 donne l'illustration de la séparation ainsi obtenue.

**Fig. 29** - chromatogramme de T<sub>4</sub> obtenu par CCM sur cellulose

**Phase mobile:** n-ButOH / AcOH /H<sub>2</sub>O (4: 1: 5) (BAW)

**Révélation :** Réactif à la vanilline sulfurique



T5 T2 T3 T4

**Phase stationnaire:** gel de silice  
**Phase mobile:** CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (60:15)  
**Révélation :** AlCl<sub>3</sub>



T3 T4 T5 T2

**Phase stationnaire:** polyamide  
**Phase mobile:** H<sub>2</sub>O / EtOH / n-ButOH / AcOH  
 (60: 20: 25: 2).

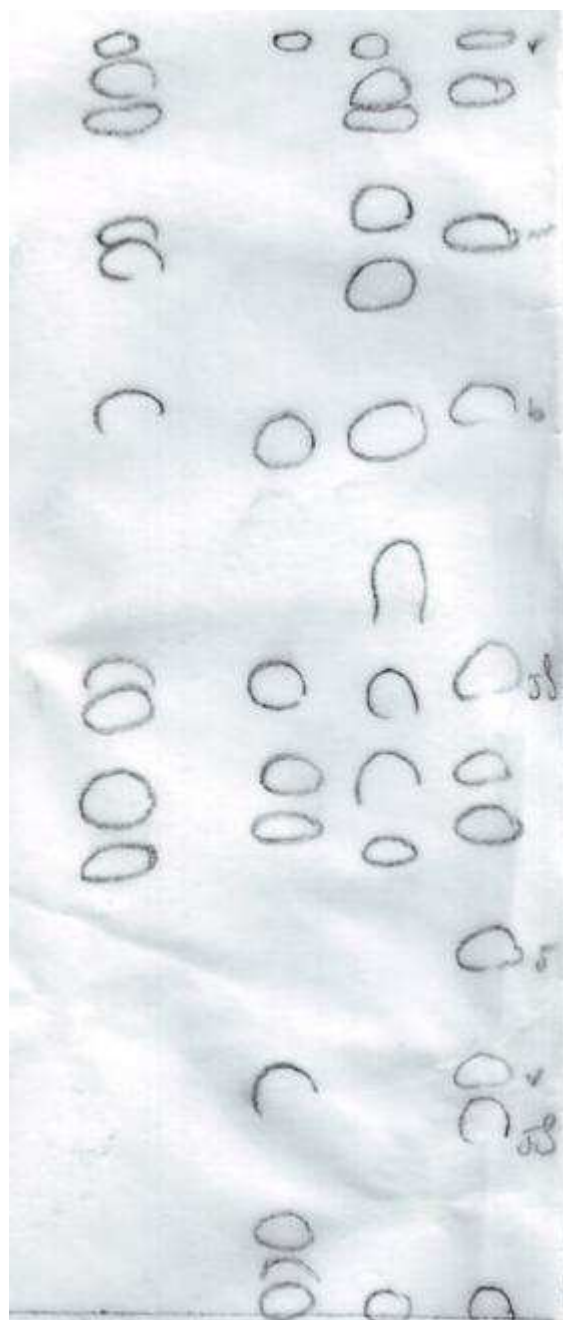
**Fig. 30-** Chromatogrammes des extraits obtenus par CCM.





T4 T5 T3 T6

Phase mobile: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH/ H<sub>2</sub>O  
(100:15: 10)



T3 T5 T4 T6

Phase mobile: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH (80:20)

**Fig. 31-** Chromatogrammes des extraits obtenus par CCM sur plaque de silice.



**Phase mobile:** MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (95: 5)

**Révélation :** AlCl<sub>3</sub>

**Fig. 32-** chromatogramme de T<sub>5</sub> obtenu par CCM sur plaque de silice

Les résultats de l'analyse chromatographique ont permis de mettre en évidence la présence de flavonoïdes. Les extraits **T<sub>2</sub>**, **T<sub>3</sub>** et **T<sub>4</sub>** semblent avoir des composés en commun avec des profils, en partie, similaires, mais différents par la concentration en flavonoïdes (Intensité des taches). On note cependant, une nette différence de ces extraits par rapport à **T<sub>5</sub>** et **T<sub>6</sub>** et qui ne semblent pas présenter les mêmes composés.

L'étude des différentes CCM de nous a montré que, à l'instar des extraits de semble contenir des tanins (révélés en rouge à la vanilline sulfurique) (LHUILIER, 2007)

Les extraits polaires de *Teucrium polium geyrii* semblent également contenir quelques flavonoïdes assez polaires et dans des conditions les plus adéquates pour la séparation sont : La phase stationnaire : polyamide, et la phase mobile H<sub>2</sub>O / EtOH / n-BuOH / AcOH (60: 20: 25: 2).

Les composés apolaires, présentant dans **T<sub>5</sub>** et **T<sub>6</sub>**, présentent des colorations violettes après révélation à la vanilline sulfurique et une coloration rouge- rose en UV avec des valeurs des R<sub>f</sub> plus levés.

Il n'est pas possible de comparer un R<sub>f</sub> obtenu avec les valeurs signalées dans la littérature car les valeurs de R<sub>f</sub> observées sont difficilement reproductibles, elles sont influencées par de nombreux facteurs (température, humidité, La phase stationnaire, et la phase mobile...) difficiles à contrôler. (RIBEREAU-GAYON, 1968)

**Tableau XXII** - Fluorescence des composés phénoliques d'après RIBEREAU-GAYON, (1968)

	fluorescence			
	UV	UV + NH <sub>3</sub>	vanilline	AlCl <sub>3</sub>
Coumarine	Bleu	Bleu	rouge	Fluorescence jaune Fluorescence verte
Flavane				
Flavone	Brun- noir	Jaune brillant		
Flavonol	Jaune brillant	Jaune brillant		
Isoflavone	Pourpre pâle	Pourpre pâle		
Flavanone	Violet pâle	Bleu clair		
Aurone	Jaune brillant	rouge brillant		
Chalcone	Jaune	rouge foncé		
Acide férulique	Bleu	bleu- vert		
Acide sinapique	Bleu	bleu- vert		

### III.2. 4 Analyse par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

L'optimisation des conditions chromatographiques, en particulier celles de la CCM en mode de polarité inversées, nous a donné une approche pour les conditions à utiliser dans des analyses plus performantes telles que la chromatographie liquide à haute performance HPLC.

Notons que le non disponibilité du méthanol ne nous a pas permis de réaliser plusieurs essais afin de conclure au sujet de la séparation et l'identification d'un telle ou telle composés existant dans nos extraits.

La Fig. 33 représente un exemple de chromatogramme de l'extrait T<sub>3</sub> obtenu par HPLC. On voit clairement que la séparation est médiocre et nécessite un travail plus long pour l'améliorer et donc plus de solvants. Ceci ne peut être réalisé dans l'immédiat et fera donc l'objet d'un travail ultérieur.

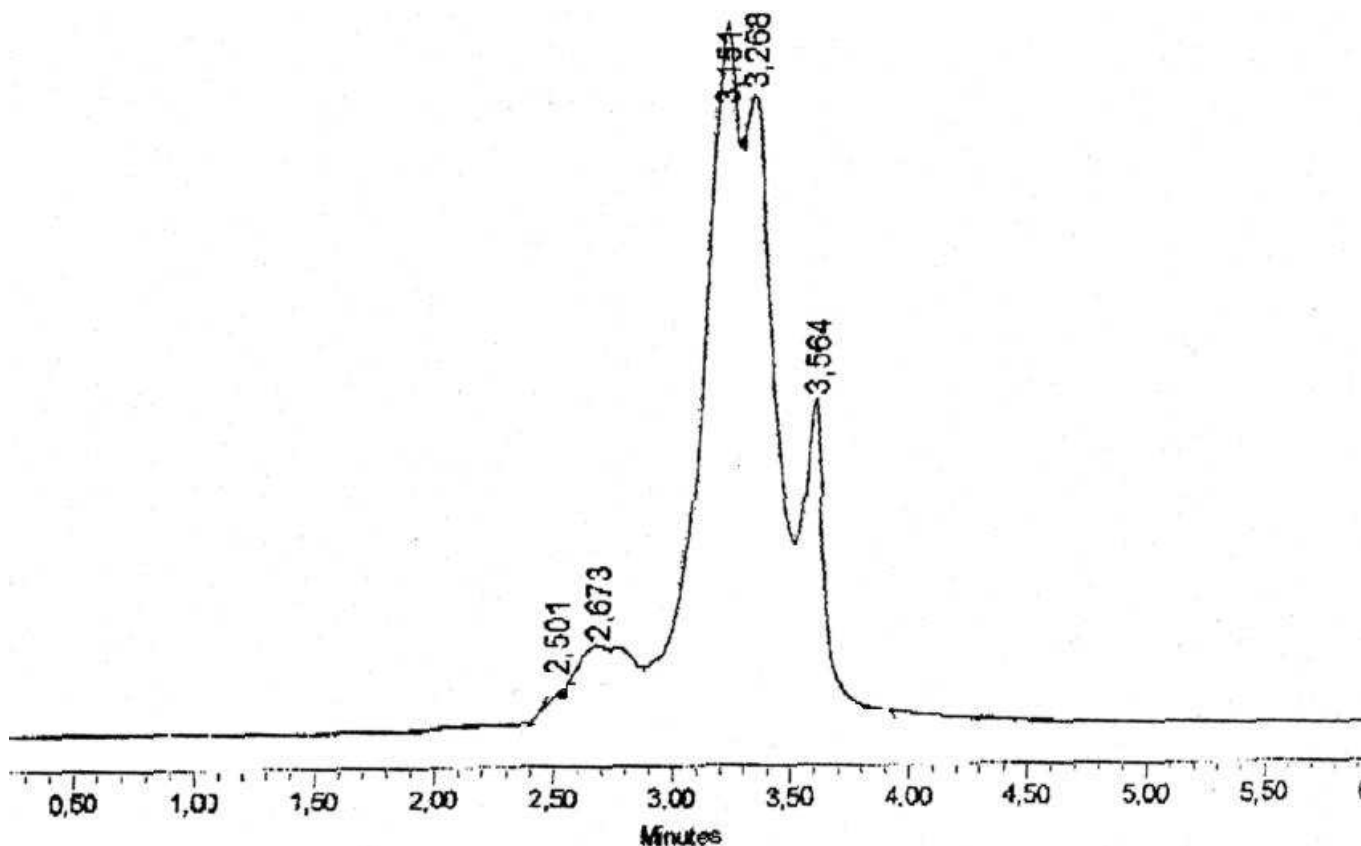


Fig. 33- chromatogramme de l'extrait T<sub>3</sub> obtenu par HPLC. Phase mobile 60% MeOH 40% (H<sub>2</sub>O 98% +acide acétique 2%) sur colonne RP<sub>18</sub>.

### III.5 Activité antibactérienne des extraits

La détermination de la zone d'inhibition permet une estimation du caractère de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne contre les extraits testés. Si aucune colonie n'est observée dans la zone d'inhibition l'extrait est considéré comme bactéricide ; si, par contre, quelques colonies sont présentes (en densité faible), l'extrait est défini comme bactériostatique.

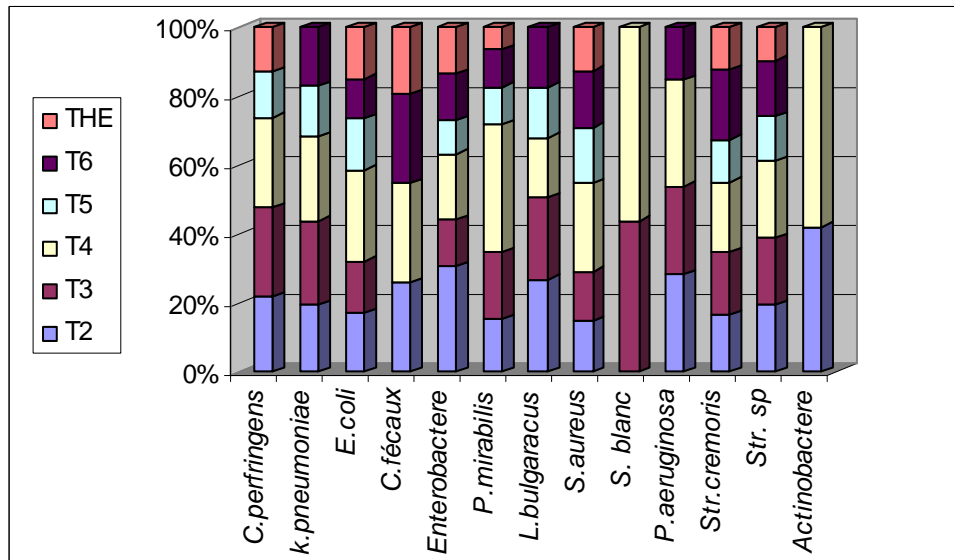
La détermination d'une valeur de concentration minimale bactéricide et concentration minimale inhibitrice est la prochaine étape du travail.

Le Tableau XXVI indique les résultats des tests d'activité antimicrobienne des extraits issus de la plante *Teucrium polium geyrii* sur les souches bactériennes suivantes : *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Coliformes fécaux*, *Proteus mirabilis*, *Actinobactere sp*.

**Le Tableau XXVI-** Les résultats des tests d'activité antimicrobienne des extraits.

Les bactéries	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>HEnt</sub>
<i>C.perfringens</i>	1	1.2	1.2	0.6	-	0.6
<i>k.pneumoniae</i>	0.8	1	1	0.6	0.7	-
<i>E.coli</i>	0.9	0.8	1.4	0.8	0.6	0.8
<i>C.fécaux</i>	0.8	-	0.9	-	0.8	0.6
<i>Enterobactere sp</i>	2.25	1	1.4	0.7	1	1
<i>P.mirabilis</i>	1.4	1.8	3.4	1	1	0.6
<i>L.bulgaracus</i>	2	1.8	1.3	1.1	1.3	-
<i>S.aureus</i>	0.8	0.8	1.4	0.9	0.9	0.7
<i>S. blanc</i>	-	0.7	0.9	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	1.1	1	1.2	-	0.6	-
<i>Str.cremoris</i>	0.8	0.9	1	0.6	1	0.6
<i>Str. sp</i>	1.2	1.2	1.4	0.8	1	0.6
<i>Actinobactere sp</i>	0.8	-	1.1	-	-	-

Les zones d'inhibitions mesurées en cm



**Fig. 44-** Effet des extraits de *Teucrium polium geyrii* sur les différentes souches bactériennes

D'après le Tableau et l'histogramme de la Fig.44 on peut montrer l'effet antibactérien de la plante *Teucrium polium geyrii* sur différentes souches bactériennes de gram positif et négatif. Cette efficacité est due à la présence des flavonoïdes et les huiles essentielles qui sont des métabolites secondaires réputés pour effets antibactériens. (HAVSTEEN, 2002; SOSA et TONN, 2006)

Les résultats montrent clairement l'effet significatif de l'extrait butanolique ( $T_4$ ) du *Teucrium polium* sur les treize souches étudiées, représente l'effet le plus grand de tous les extraits testés, avec un maximum d'inhibition 3.4 cm de diamètre sur *Proteus mirabilis*. L'extrait  $T_2$  possède un large spectre d'action couvrent les gram positif et les gram négatif, exception sur les *Staphye blanc*, avec des zones d'inhibitions comprises entre 0.8 cm et 2.25cm. L'extrait  $T_3$  exerce des effets antibactériens sur les souches étudiées, exception sur les *Actinobactere sp* et sur *Coliformes fécaux*, avec des zones d'inhibitions comprises entre 0.7cm et 1.8cm. Les extraits  $T_5$ ,  $T_6$  exercent des effets similaires mais avec des zones d'inhibitions différentes. En ce qui concerne les huiles essentielles, la sensibilité est aussi détectée mais les zones d'inhibitions comprises entre 0.6cm et 1cm malgré que l'huile utilisé est diluer dans l'hexane, puisque la quantité d'huile collecté est faible.

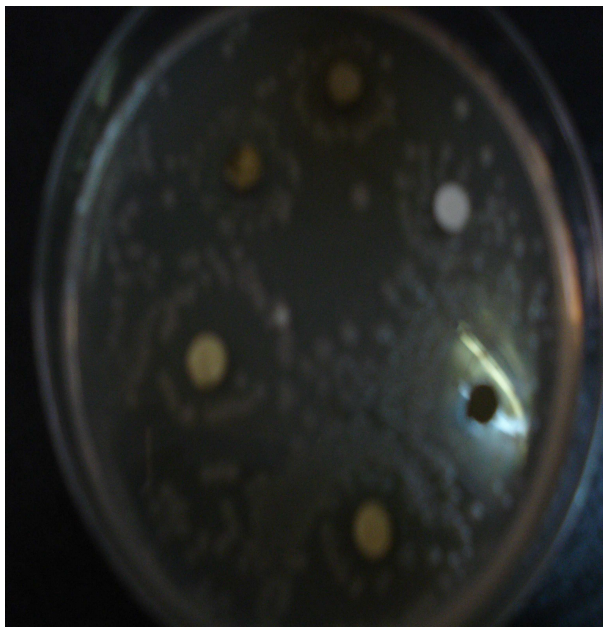
Les essais sur *Lactobacillus bulgaracus* et sur *Proteus mirabilis* montrent que les extraits ont présenté des diamètres d'inhibition supérieurs à 10 mm, à l'exception pour

l'extrait d'huile. Seulement  $T_2$  et  $T_4$  exercent un effet inhibiteur contre *Actinobactere sp* avec des zones d'inhibitions de l'ordre de 0.8 cm et 1.1 cm respectivement.

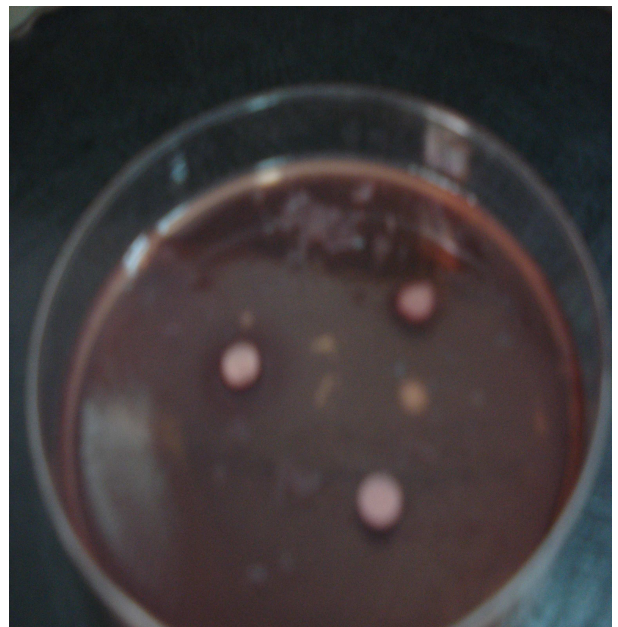
Touts les extraits étudiés inhibant la croissance des souches de *S. aureus* en milieu gélosé. Une étude similaire faite par OGANESYAN et al, (1992) montre l'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* sur les souches suivantes : *Klebsilla pneumoniae*, *Enterobactere*, *Escherichia coli*.

*Pseudomonas aeruginosa* a la réputation d'être très résistante à toutes sortes d'agents antimicrobiens et antibiotiques en général. Cela est probablement dû à la capacité qu'a la bactérie à de former un biofilm. Un biofilm est une organisation complexe, composée de différentes strates dans lesquelles les bactéries se trouvent dans des états physiologiques spécifiques à leur situation. (PIBIRI, 2006).

Ainsi toute la population bactérienne n'est pas exposée simultanément et identiquement au produit. Il est établi que le traitement de telles bactéries nécessite des concentrations considérables d'agents antimicrobiens. Cela est le but d'une autre étude sur la toxicité de cette plante.

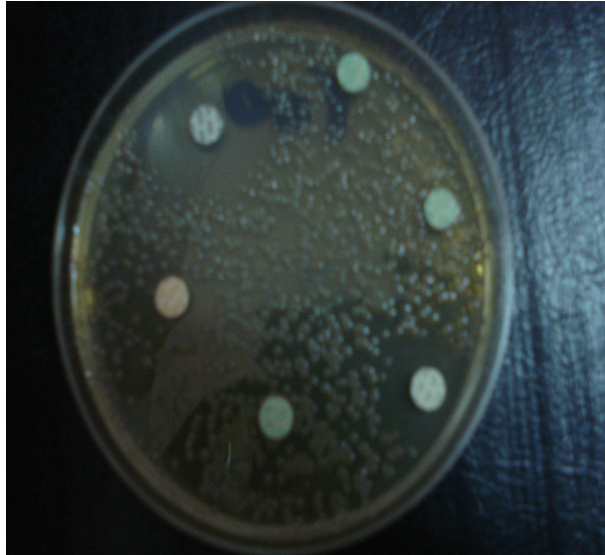


**Fig. 45** - Activité des extraits du *T. polium geyrii* sur *Streptococcus cremoris*

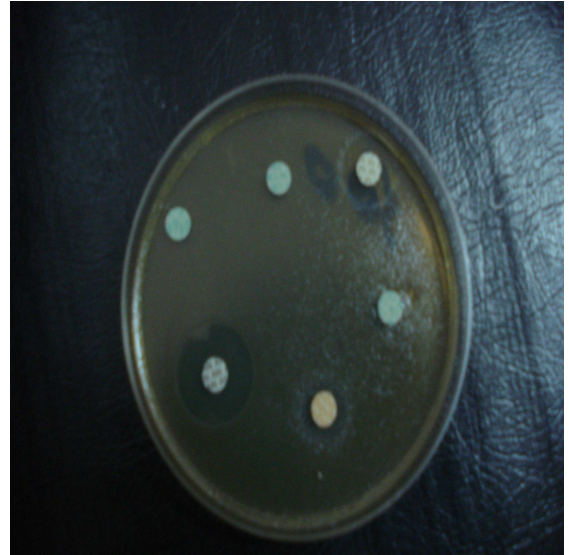


**Fig. 46** - Activité des extraits du *T. polium geyrii* sur *Coliformes fécaux*





**Fig.47** - Activité des extraits du *T. polium geyrii* sur *Pseudomonas aeruginosa*



**Fig. 48** - Activité des extraits du *T. polium geyrii* sur *Klebsilla pneumoniae*

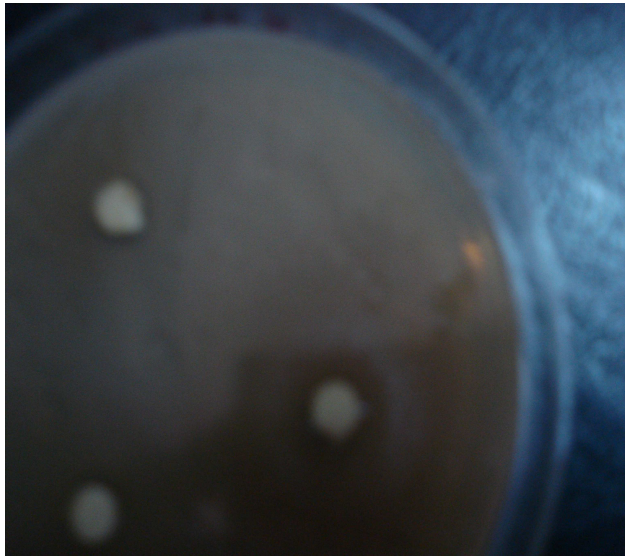


**Fig.49** - Activité des extraits du *Teucrium polium geyrii* sur *Staphylococcus aureus*



**Fig. 50** - Activité des extraits du *T. polium geyrii* sur *Actinobacter sp*





**Fig. 51** - Activité des extraits du *T. polium geyrii* sur *Enterobactere*



**Fig. 52** - Activité des extraits du *T. polium geyrii* sur *Escherichia coli*



**Fig.53** - Activité des extraits du *Teucrium polium geyrii* sur *Lactobacillus bulgaricus*



**Fig. 54**-Activité des extraits du *Teucrium polium geyrii* sur *Proteus mirabilis*

D'après les résultats regroupés dans les tableaux **XXIII** et **XXIV**, rassemblent les données expérimentales à savoir le temps de rétention, les pourcentages des différentes molécules, ainsi que le nom de la molécule identifiée et les données bibliographiques qui ont contribué à identifier ces molécules. 75 produits ont pu être identifiés, ce qui représente 90.18 % de l'huile essentielle extrait par entraînement à la vapeur. Les composés majoritaires sont : Delta.-Cadinene(8.17 %), Beta-Caryophyllene(8.02 %), dl-Limonene (6.77%). Dans le cas des extraits obtenus par hydrodistillation, 97 composés ont été identifiés, ce qui représente 91.03 % de l'extrait. Les composés majoritaires sont: dl-Limonene (11.18%), Delta-Cadinene (10.02%), Trans (beta)-caryophyllene (9.15%).

La composition de l'huile essentielle de *Teucrium polium* est marquée par la présence surtout d'un très grand nombre de composés à l'état de traces. Notons que les principaux composants observés dans cette essence sont des sesquiterpènes. Des résultats similaires ont été obtenus par différents auteurs (KAMEL et SANDRA, 1994 ; ABDOLLAHI et al., 2003 ; SOSA et TONN, 2006). Dans tous les cas, les sesquiterpènes sont majoritaires et semblent être à l'origine de l'activité biologique observée.

L'huile essentielle obtenue est colorée en jaune. La couleur est fortement influencée par le mélange complexe de composés volatils (entre 75 et 350 composés). La composition de l'huile essentielle de *Teucrium polium* est caractérisée par le chemotype de la plante, (ASHNAGAR et al, 2007) dépendant de la partie de la plante utilisée, de son état de croissance ainsi que de la nature du sol et des conditions de culture. (BOULILA et BOUSSAID, 2006). A titre d'exemple, d'après BOULILA et BOUSSAID, (2006) la composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *Teucrium polium* ssp. *Polium* en Tunisie, donne des teneurs en composés majoritaires qui sont le 1,8 Cinéol (17.66 %), l' $\alpha$ -Pinène (8.05 %) et le Cis Verbénol (7.49 %).

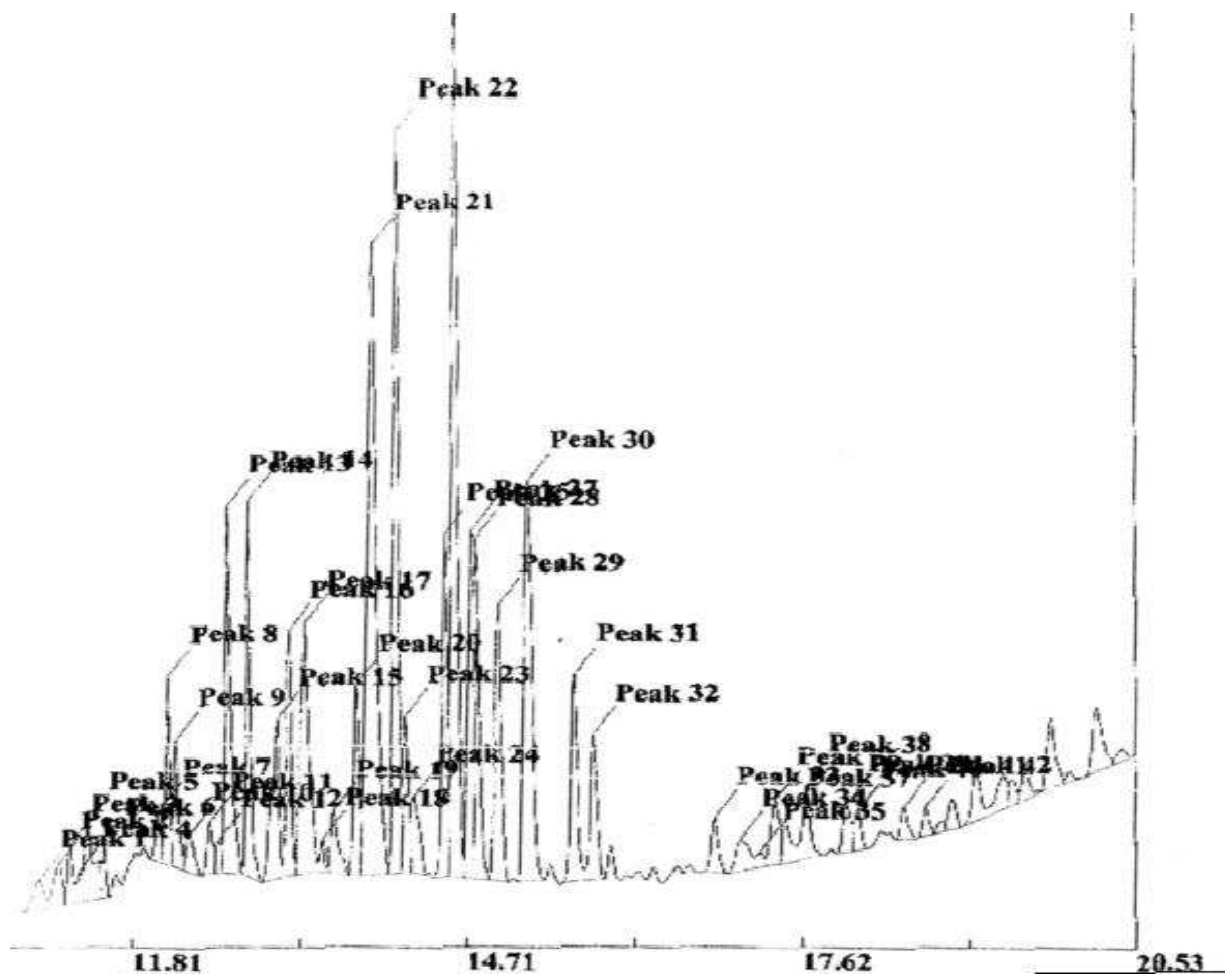


Fig. 42- Chromatogramme de l'huile essentielle extrait par entraînement à la vapeur de la plante *Teucrium polium geyrii* obtenu par CPG.

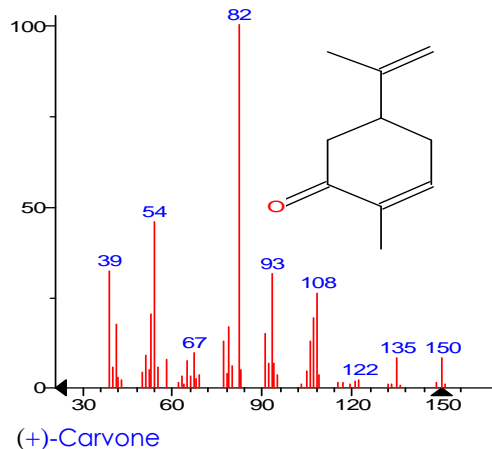
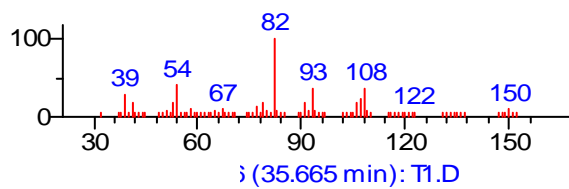
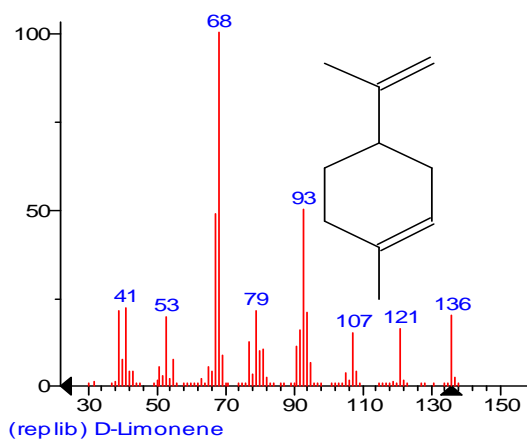
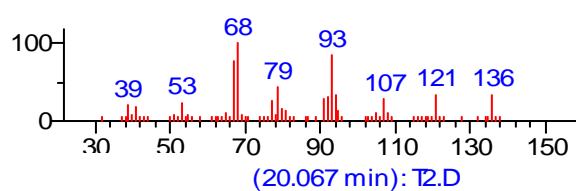
**Tableau XXV-** Comparaison des pourcentages en composés majoritaires dans les deux modes d'extraction (entraînement à la vapeur et Hydrodistillation)

COMPOSANTS	Ent (%)	Hyd(%)
dl-Limonene	6.77	11.18
Myrtenal	1.46	0.21
Verbenone	1.82	0.03
Cis-Carveol	2.32	0.17
L(-)-Carvone	5.33	0.75
Beta.-Caryophyllene	8.02	9.15
Gamma.-Elemene	3.29	0.15
Alpha.-Humulene	1.75	3.20
Delta.-Cadinene	8.17	10.02
Cis-.alpha.-Bisabolene	3.58	3.43
Caryophyllene oxyde	2.34	4.75
Cubenol	2.09	0.18
Tau.-Cadinol	3.27	4.30
Alpha.-Cadinol	1.77	2.02
Alpha-Bisabolol oxyde B	1.99	
Pinocarveol	1.62	
Germacrene B	0.75	3.07
Alpha.-Gurjunene		2.11
Gamma-Cadinene		1.42
Alpha.-Calacorene		1.45
Torreyol		2.18
Bisabolol oxyde A (pyran oxyde)		1.13
<i>les monoterpènes</i>	<b>32.67</b>	<b>17.85</b>
<i>les sesquiterpènes</i>	<b>58.07</b>	<b>73.38</b>
<i>Autres composées</i>	<b>0.17</b>	<b>0.19</b>

Les valeurs présentées dans le tableau **XXV** montrent que dans la composition chimique de l'huile essentielle, les sesquiterpènes représentent la fraction majoritaire (plus de 73.38 %) pour l'huile essentielle extrait par hydrodistillation. Cependant, ce taux est réduit à 58.07% dans la composition l'huile essentielle extrait par entraînement à la vapeur.

Le pourcentage d'extraction des composants majoritaires est dans tous les cas proche de ceux obtenu par les deux méthodes d'extraction utilisées. Mais on remarque l'absence de certains composés identifiés dans l'extrait obtenu par l'entraînement à la vapeur, et présente dans l'extrait obtenu par hydrodistillation et inversement. Par exemple le Torreyol présent avec un pourcentage de 2,18 % dans l'extrait obtenu par hydrodistillation et son absence totale dans l'huile essentielle extrait par entraînement à la vapeur

Les résultats obtenus ont montré que le type du procédé choisi a une influence considérablement aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif.



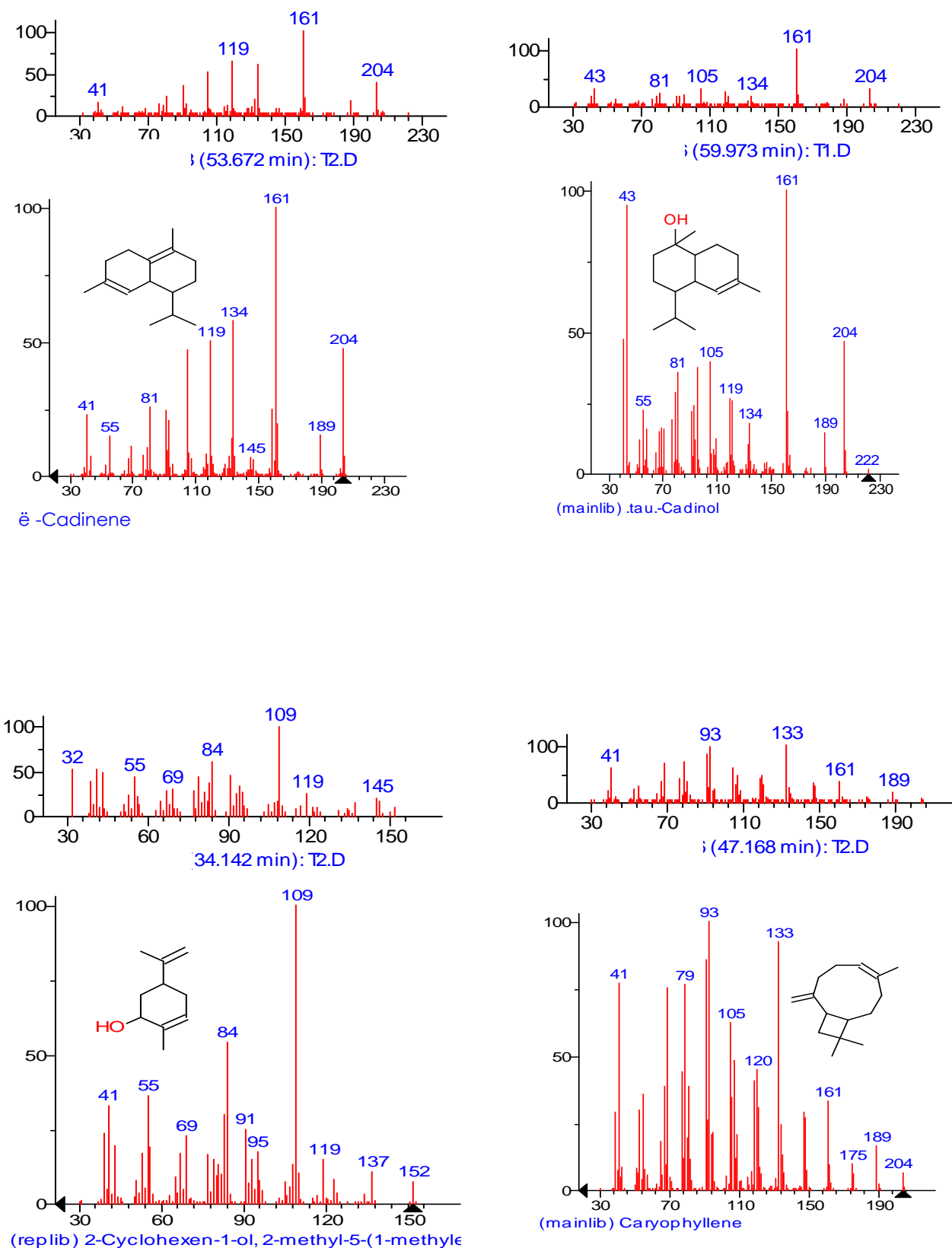


Fig. 43- Spectres de masses de quelques composés majoritaires d'huile essentielle de la plante

Dans le but de la valorisation d'une des plantes de la famille Lamiacées issue de la région de Tamanrasset, en l'occurrence *Teucrium polium geyrii*, nous avons effectué un travail permettant pour contribuer à la mise en évidence de l'activité biologique de certains métabolites secondaires.

L'étude bibliographique et ethnobotanique a montré que *Teucrium polium geyrii* a été reconnue depuis longtemps en médecine populaire dans le traitement de physiopathologies de nombreuses conditions, telles que les inflammations et les rhumatismes. Il serait donc très intéressant de l'exploiter pour la recherche de ses principes actifs, responsables de ces propriétés pharmacologiques.

Le screening phytochimique avait mis en évidence divers métabolites secondaires : Tanins, Saponosides, terpènes et sesquiterpènes, alcaloïdes, anthraquinones, matière grasse, sucres, stérols, flavonoïdes et polyphénols.

La plante *Teucrium polium geyrii* a été soumise à deux types d'extraction des composés phénoliques, la première s'est faite par macération à froid avec un mélange méthanol/eau 80/20: v/v, et la seconde a été réalisée au Soxhlet. Chaque extrait a été caractérisé par sa couleur et son rendement par rapport à la drogue sèche. L'analyse semi-quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des extraits phénoliques a été réalisée par colorimétrie. Celle-ci nous a permis de confirmer que notre plante est très riche en composés phénoliques.

D'après les chromatogrammes des extraits polaires et apolaires, nous avons ainsi contribué à la réalisation de la carte phénolique de notre plante.

De même, les analyses effectuées par spectroscopies UV/Visible et IR avaient montré la présence de polyphénols dans nos extraits. Néanmoins, un fractionnement des constituants des extraits devrait être réalisé afin de caractériser ces composés polyphénoliques, chose qui n'était pas possible dans notre cas en raison de l'indisponibilité suffisante de solvants adéquats.

L'extraction des huiles essentielles, à partir de la partie aérienne de la plante, a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation. L'huile essentielle de couleur jaunâtre, d'une très forte et persistante odeur, a été obtenue avec des rendements

d'extraction variant considérablement entre les différents essais. Ces variations dans la concentration de l'huile essentielle produite par la plante sont le résultat de différents facteurs.

L'étude de la composition chimique de ces huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse seule et couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a permis d'identifier 75 constituants, ce qui représente 90.18 % de la composition de l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur. Les composés majoritaires étant le  $\delta$ -Cadinène (8.17 %), le  $\beta$ -Caryophyllène (8.02 %) et le dl-Limonene (6.77%). Dans le cas des extraits obtenus par hydrodistillation, 97 composés ont été identifiés, représentant 91.03 % de l'extrait. Les composés majoritaires sont: dl-Limonene (11.18%), le  $\delta$ -Cadinène (10.02%) et le  $\beta$ -Caryophyllène (9.15%).

Globalement, l'huile essentielle de l'espèce *Teucrium polium geyrii* est caractérisée par la prédominance des sesquiterpènes comme les autres espèces du même genre.

Par ailleurs, les résultats obtenus ont montré que le type du procédé choisi pour l'extraction a une influence considérable aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif

Les tests biologiques effectués dans ce travail ont montré que l'effet antibactérien de la plante *Teucrium polium geyrii* sur différentes souches bactériennes de gram positif et négatif est significatif. Cette efficacité est due à la présence des flavonoïdes et les constituants des huiles essentielles qui sont des métabolites secondaires réputés pour leurs effets antibactériens. La toxicité de cette plante n'a pu être évaluée dans ce travail, elle fera l'objet d'une étude ultérieure.

En conclusion, ce travail nous a permis de nous initier à un grand nombre de techniques expérimentales au même titre que la méthodologie à suivre pour mener à bien une étude phytochimique d'une plante. Ce travail constituera pour nous une base de départ pour des recherches plus approfondies dans l'axe que nous nous sommes fixé de suivre dans le cadre du projet sur les plantes médicinales du Sahara septentrional.



**ABDALLAH. et SAHKI R., 2004-** Le Hoggar promenade botanique. Espèces herbacées. Edition Ésope, p 311.

**ABDOLLAHI M., KARIMPOUR H. et MONSEF-ESFEHANI H R. 2003-**Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. Pharmacological Research, Vol. 48:31–35.

**AGGELIS G., et KOMAITIS M., 1999-** Enhancement of single cell oil production by *Yarrowia lipolytica* growing in the presence of *Teucrium polium* L. aqueous extract. Biotechnology Letters, Vol. 21: 747–749

**AGRAWAL P K., 1989-** Carbon-13 NMR of flavonoids. Elsevier. ISBN 0-444-8744-6. Amsterdam.

**ALEMAN C., 2000-** Acid/base properties of flavonoids hydroxylated at positions 2 and 3: a novel quantum mechanical study in gas-phase and solution. Journal of Molecular Structure (Theochem), Vol. 528: 65–73

**ARDESTANI A. et YAZDANPARAST R., 2007-** Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro protein glycoxydation. Food and Chemical Toxicology doi:10.1016/j.fct.2007.06.020.

**ASHNAGAR.A., GHARIB N., et FOROOZANFAR S., 2007-** Isolation and identification of the major chemical components found in the upper parts of *Teucrium polium* plants grown in Khuzestan province of Iran. Chinese Journal of Chemistry, Vol. 25:1171-1173.

**BALASUNDRAM N., SUNDRAM K., et SAMMAN S., 2006-** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, Vol. 99: 191–203.

**BEDIR E, TASDEMIR D, ÇALIS I, ZERBE O, et STICHER O., 1999-**Neo-clerodane diterpenoids from *Teucrium polium*. Phytochemistry Vol. 51: 921-925

**BEERNESH BUTTIAUX R. et TACQUET A., 1996-** Manuel de techniques bactériologiques. 2<sup>ème</sup> Ed. Paris : 572.

**BELAICHE, P. 1979-** "L'aromatogramme". Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. M. S. A. Editeur. Paris. Tome 1 : 204.

**BELLAKHDAR J., 1997-** Médecine Arbre Ancienne et savoirs populaires la pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibs Press, 341.

**BENCHELAH A C., BOUZIAN H., MAKI M., 2004-** Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. Phytothérapie, Vol. 6: 191-197.

**BERGOUGNOUX V., 2005-** Biosynthèse et sécrétion du parfum chez *Rosa x hybrida* L. Thèse de doctorat, Université de JEAN MONNET Lyon.

**BOULANGER P et POLONVSKI J., 1969-** Traité de biochimie. Tome III. Ed. Masson, Paris: 760-770.

**BOULILA A. et BOUSSAID M., 2006-** Variabilité de la composition terpénique des populations naturelles de *Teucrium polium* ssp. *polium* (Lamiacées) en Tunisie. International symposium on perfume, aromatic and medicinal plants: from production to valorization: SIPAM 2006. 2-4 November 2006 –Jerba, Tunisia.

**BRADA M., BEZZINA M., MARIEL M., CARLIER A. et LOGNAY G., 2007-** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, Vol 11 (1) : 3–7.

**BRAVO L., 1998-** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews, 56, 317–333.

**BRUNETON J., 1999-** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3<sup>e</sup> édition Tec et Doc, Paris.

**BRUNETON J., 2001-**Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2<sup>e</sup>m édition Tec et Doc, Paris.

**BRUNO M., MAGGIO A M., PIOZZI F., PUECH S, ROSSELLI S, SIMMONDS M S.J., 2003-** Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium polium* subsp. *polium* and their antifeedant activity. Biochemical Systematic and Ecology, Vol. 31:1051–1056.

**BUDZIANOWSKI J., 1991-** Separation of flavonoid glycosides from their galactosidic analogues by thin-layer chromatography. Journal of Chromatography, Vol. 540: 469-474

**CAMARDA, I., 1990.** Ricerche etnobotaniche nel comune di Dorgali, Sardegna centro orientale. Bollettino della Società Sarda di Scienze Naturali, Vol. 27: 147–204.

**CAMPS F., COLL J., DARGALLO., RIUS J. et MIRAVITLLES C, 1987-** clerudane diterpenozds from *Teucrium and Aguga* plants Photochemistry, Vol. 26, Na. 5, pp. 1475-1479.

**CAN BAŞER K. H., et KIRIMER N., 2006-** Research into *labiatae* essential oils of turkey onal symposium. The *Labiatae*: Advances in Production, Biotechnology and Utilization 22-25 February 2006 - Sanremo, Italy.

**CARREIRAS MC., RODRIGUEZ B, PIOZZI F, SAVONA G, TORRES M R. et PERALES A., 1989-** A chlorine-containing and two 17p-neo-clerodane diterpenoids from *teucrium polium* subsp. *Vzncentznum*. Phytochemistry, Vol. 28, No. 5: 1453-1461.

**CARRUBBA A., LA TORRE R., ZAFFUT G. 2006-** Exploitation of native *Labiatae* in sicily. The *Labiatae*: Advances in Production, Biotechnology and Utilization 22-25 February 2006 - Sanremo, Italy.

**CATHERINE A., RICE-EVANS., NICHOLAS J. M., et GEORGE P., 1996-** Structure-Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic. Review Article. Free Radical Biology et Medicine, Vol. 20, No. 7: 933-956.

**CAVALEIRO C., SALGUEIRO L.R., MIGUEL M.G. et DA CUNHA A. P., 2004-** Analysis by gas chromatography–mass spectrometry of the Volatile components of *Teucrium lusitanicum* and *Teucrium algarbiensis*. Journal of Chromatography A, Vol. 1033: 187–190.

**CAVALLI J-F., 2002-** Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du Carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli.

**CHAVES A.V., STANFORD K., DUGAN M.E.R., GIBSON L.L., MCALLISTER T.A., VAV HERK F. et BENCHAAR C., 2008-** Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livest. Sci*, doi:10.1016/j.livsci.2007.12.013.

**CIULEI I., 1983-** Methodology for analysis of vegetable drugs. *UNIDO*: 25-27.

**COLL J., et TANDRO Y., 2004-** Neo-clerodane diterpenes from *Teucrium fruticans* *Phytochemistry*, Vol. 65: 387–392.

**COUPLAN F., 2000-**Dictionnaire Etymologique de Botanique, De la chaux et Niestlé S.A. Lausanne, Paris : 238.

**DASTMALCHI K., DAMIEN DORMAN H.J., LAAKSO I., et HILTUNEN R., 2007-** Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) Extracts. *LWT*, Vol. 40: 1655-1663.

**DEGENHARDT J., GERSHENZON J., BALDWIN I.T. et KESSLER A., 2003 –** Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivores enemies. *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 14: 169-176

**DIDIER K., 2004 -** Les plantes médicinales. *ALS*: 57-64.

**DJERIDANE A., YOUSFI M., NADJEMI, VIDAL N., LESGARDS JF., STOCKER P., 2007-** Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Food Chemistry* 97: 654–660

**DRUYNSKA B, STEPNIEWSKA A, WOLOSIAK R., 2007-** The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, Vol. 6(1) : 27-36.

**EISNER, T., EISNER, M., ANESHANSLEY, D.J., Wu, C.L. et MEINWALD, J., 2000-** Chemical defense of the mint plant, *Teucrium marum*. *Chemoecology*, Vol.10: 211–216.

**EI OUALIDI J., 1991-** Biosystématique et taxinomie des *Teucrium* de la section *Polium* (Lamiaceae) dans le bassin méditerranéen occidental. Différents aspects de la variation au Maroc, en France et en Espagne. Thèse doctorat, Université de Montpellier, FRANCE.

**ESMAEILI, A.M., YAZDANPARAST, R., 2004-** Hypoglycaemic effects of *Teucrium Polium*: studies with rat pancreatic islets. *J. Ethnopharmacol* , Vol. 95 : 27–30.

**FIELD L D., STERNHELL S. et KALMAN J R., 2008-** Organic Structures from Spectra. John Wiley et Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England.

**GABRIELI C.N., KEFALAS P.G. et KOKKALOU E.L., 2005-** Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 96 : 423–428

**GARBONNELLE., DENS F., MARMONIER A., PINON G., et VARGUES R., 1987-** Bactériologie médicale Techniques usuelles. SIMEP, Paris. France.

**GHRAIBEH M.N., ELAYAN H.H. et SALHAB A.S., 1988-**Hypoglycaemic effects of *Teucrium polium*. J. Ethnopharmacol, Vol. 24: 93–99.

**GIORDANI R., HADEF Y, KALOUSTIAN J., 2007-**Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants *Fitoterapia*, doi: 10.1016/j.fitote.2007.11.004.

**GIRARD R., 2001-** Technique d'hygiène hospitalière. Ed. Lyon sud : 90

**GIRRE L., 2001-**les plantes et les médicaments. Delachaux et Niesle SA, Paris.

**GRAYER, R. J., et VEITCH, N. C., 1998-** An 8-hydroxylated external flavone and its 8-O-glucoside from *Becium grandiflorum*. Phytochemistry , Vol 47 : 779– 782.

**GRIFFITHS L. A., 1958-** Phenolic Acids and Flavonoids of *Theobroma cacao* L. Separation and Identification by Paper Chromatography. Vol.70:120-125.

**GROTEWOLD E., 2006-** The Science of Flavonoids. Springer Science\_Business Media, Inc Library of Congress Control Number: 2005934296.

**GRUBESIC R J., VLADIMIR-KNEZEVIC S., KREMER D., KALODERA Z et VUKOVIC J., 2007-** Trichome micromorphology in *Teucrium* (Lamiaceae) species growing in Croatia. Biologia, Bratislava, Vol. 62/2: 148-156.

**GURIB-FAKIM A., 2006-** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine, Vol. 27: 1-93.

**HARBORNE J B., TOME-BARBERAN F A., WILLIAMS C A. et GIL MI., 1986-** A chemotaxonomic study of flavonoids from European *Teucrium* species. Phytochemistry, Vol. 25, No. 12: 281 I-2816.

**HARBORNE J.B., 1968-** Biochemistry of phenolic compounds, Academic Press LTD London: 42-51.

**HART T. et SHEARS P., 2002-** Atlas de poche de Microbiologie Flammarion Médecine Sciences. Paris. P.213.

**HARTONEN K, PARSHINTESEV J, SANDBERG K, BERGELIN E, NISULA L, RIEKKOLA M-L., 2007-** Isolation of flavonoids from aspen knotwood by pressurized hot Water extraction and comparison with other extraction techniques *Talanta*, Vol. 74: 32–38.

**HASANI P., YASA N., VOSOUGH-GHANBARI S., MOHAMMADIRAD A., DEGHAN G. et ABDOLLAHI M., 2007-** In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to a-tocopherol. *Acta Pharm*, Vol.. 57 : 123–129.

**HAVSTEEN B H., 2002-**The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology et Therapeutics*, Vol. 96: 67–202

**HENNEBELLE T., SAHPAZ S., et BAILLEUL F., 2004-** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* Numéro 1:2-5.

**HERNANDEZ OCHOA L R., 2005-** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « Solvant/Actif » d'origine végétal. Thèse doctorat. L'institut National polytechnique de Toulouse.

**HOLLMAN P.C.H., et ARTS I.C.W., 2000-** Flavonols, flavones and flavanols - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 80(7):1081-1093.

**IQBAL A., FARRUKH A., 2007-**In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ESBL-producing multidrug-resistant enteric bacteria. *Microbiological Research* 162: 264—275

**ISERIN P., 2001-** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2<sup>ème</sup> Ed., Paris : 14,275.

**JAAKOLA L., MAATTA, K., PIRTTILA A. M., TORRONEN R., KARENLAMPI S. et HOHTOLA A., 2002-** Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. *Plant Physiol*, Vol. 130: 729-39.

**JENS A. P., 2000-** Distribution and taxonomic implications of pnyolics in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. *Biochemical systematic and Ecology*, Vol 28: 229-253.

**JOFFIN N. et LEYRAL G., 2001-** Microbiologie Technique, Dictionnaire des techniques. 3<sup>ème</sup> Ed, Bordeaux : 320.

**JUDD W.S. et C. CAMPBELL., 2002-** Botanique systématique une perspective physiologique. Boeck Université s. a. Paris. : 84-87.

**KAMEL A., et SANDRA P., 1994-** Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of the Volatile Oils of Two *Teucrium polium* Varieties. *Biochemical Systematic and Ecology*, Vol. 22, No. 5: 529-532.

**KAN Y., GOKBULUT A., KARTAL M., KONUKLUGIL B., et YILMAZ G., 2007-** Development and Validation of a LC Method for the Analysis of Phenolic Acids in Turkish *Salvia* Species. *Chromatographia Supplement* Vol. 66: S147–S152.

**KAWASHTY S.A., GAMAL EI-DIN E.M., N.A.M., et SALEH N.A.M., 1999-** The favonoid chemosystematics of two *teucrium* species from Southern Sinai, Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol 27 : 657-660.

**KOBA K., SANDA K. , RAYNAUD C., NENONENE Y. A., MILLET J. , CHAUMONT J.P., 2004-** Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. Africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Ann. Méd. Vét* , Vol. 148 : 202-206.

**KROON, P. A. et WILLIAMSON, G. 1999-** Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *Journal of the Science of Food and Agriculture* Vol. 79:355-361.

**L'OPEZL G., THEUMER M. G., ZYGADLO J. A. et RUBINSTEIN H. R., 2004-** Aromatic plants essential oils activity on *Fusarium verticillioides* Fumonisin B1 production in corn grain. *Mycopathologia*, Vol. 158: 343–349.

**LA TORRE M C., PIOZZI F., RIZK A-F., RODRIGUEZ B. et SAVON G., 1986-19-** acetylteupolin iv, a neo-clerodane diterpenoid from *teucrium polium* subsp. *pilosum*. *Phytochemistry*, Vol. 25, No. 9: 2239-2240.

**LAGNIKA L., 2005-** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat de l'université louis pasteur

**LAMBIN S., ET GERMAN A., 1969-** Précis de microbiologie. Tome 1.2<sup>ème</sup> Ed. Masson, Paris.

**LAQUATRA I. M., 1999-** Les plantes médicinales : traitements ou causes de maladies, Documentation. Vol. 16, N (1) : 1-6.

**LARPENT J-P., 1997-**Microbiologie alimentaire Techniques de laboratoire. LONDRES .TEC et DOC, Paris. P.1073.

**LHULLIER A., 2007-** Contribution à l'étude phytochimiques de quatre plantes Malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f Ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (*Ericaceae*), *Tambourissa Trichophylla* baker (*Monimiaceae*) et *Embella Concinna* baker (*Myrsinaceae*) Thèse doctorat, l'institut national polytechnique de toulouse.

**LHULLIER A., FABRE N., MOYANO F., MARTINS N., CLAPAROLS C., FOURASTE I. et MOULIS C., 2007-**Comparison of flavonoid profiles of *Agauria salicifolia* (*Ericaceae*) by liquid chromatography-UV diode array detection-electrospray ionisation masse spectrometry. *Journal of Chromatography A*. In Press, doi:10.1016/j.chroma.03.038.

**LOPEZ V., AKERRETA S., CASANOVA E., GARCIA-MINNA J M., YOLANDA CAVERO R et CALVO M. I., 2007-** In Vitro Antioxidant and Anti-rhizopus Activities of Lamiaceae Herbal Extracts. *Plant Foods Hum Nutr*, Vol.62:151–155

**LOUIS S., 2004-** Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1 b des graines de Légumineuse. Thèse doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon.

**LUCCHESI M E., 2005-** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat, Université de la Réunion, France.

**MALAKOV P Y., PAPANOV G Y. et ZIESCHE J., 1982-** Teupolin III, a furanoid diterpene from *teucrium polium*. *phytochemistry*, Vol.2 1, N<sup>o</sup>. 10 : 2597-2598.

**MERKEN H.M., et BEECHER G.R., 2000-** Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 48(3): 577-599.

**MESSAILI B., 1995-** Botanique Systématique des Spermaphytes. Office des publications universitaires (Alger).

**MEYER S., REEB C., BOSDEVEIX R., 2004-** Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris

**MITCHER, L. A., TEKKEPALLI, H., WANER, P. B. B., KUO, S., SHANHEL, D. M., et STEWART, G. 1982-** Naringenin, apigenin and genistein are weak estrogens, which bind to the estrogen receptor and elicit estrogen-induced responses. Antimutagenic and anticarcinogenic effects. *Mutat Res.* Vol. 267:229– 241.

**MULAS M., 2006-** Traditional uses of *labiatae* in the mediterranean area international symposium. The *Labiatae*: Advances in Production, Biotechnology and Utilization 22-25 February 2006 - Sanremo, Italy.

**NAGHIBI F., MOSADDEGH M., MOHAMMADI M S et GHORBANI A., 2005-** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology Iranian .*Journal of Pharmaceutical Research*, Vol 2: 63-79.

**OGANESYAN G. B., 2005-** Minor phenolic compounds from *Teucrium hyrcanicum*. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 41, No. 2:228-229.

**OGANESYAN G. B., 2007-** On a flavone from *Teucrium orientale*. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 43, No. 4: 474-475.

**OGANESYAN G. B., GALSTYAN A. M., MNATSAKANYAN V. A., SHASHKOV A. S., et GABABYAN P. V.1992-** Phenylpropanoid glycosides of *Teucrium polium*. UDC 581. 192-547 .918, Erevan: 556-559.

**OLGUIN L J., LA TORRE M. C., ORTEGO F., CASTANERA P. et RODRIGUEZ B., 1999-** Structure\_activity relationships of natural and synthetic neo!clerodane diterpenes from *Teucrium* against Colorado potato beetle larvae. *Phytochemistry*, Vol.50:759-753.

**OZENDA P., 1979-** Flore du Sahara. 2<sup>em</sup> ED. CNRS. Paris.

**OZENDA, P., 1983-** Flore du Sahara Ed. 2. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS.), Paris : 401.

**ÖZKAN G, KULEAOAN H, ÇELIK S, GOKTURK R. S. et ÜNAL O., 2007-** Screening of Turkish endemic *Teucrium montbretii* subsp. *pamphylicum* extracts for antioxidant and antibacterial activities. *Food Control*, Vol. 18: 509–512

**PANOVSKA T K., KULEVANOVA S., GJORGOSKI I., BOGDANOVA M., et PETRUSHEVSKA G., 2007-** Hepatoprotective effect of the ethyl acetate extract of *Teucrium polium* L. against carbontetrachloride-induced hepatic injury in rats. *Acta Pharm*, Vol. 57: 241–248

**PARIS R. et HURABELLE M., 1980-** Abrégé de matière médicale, pharmacognosie. Tom I, Ed. Masson, Paris.

**PERRY J.J., STALEY JT., et LORRY S., 2004-** Microbiologie. DUNOD. Paris : 891.

**PIBIRI M., 2006-** Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing

lambts thèse de doctorat, Institut des infrastructures, des ressources de l'environnement, Lausanne, Suisse.

**PISTRICK K., 2002-** Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the families Umbelliferae and Labiatae, Genetic Resources and Crop Evolution, Vol 49: 211–225.

**PROESTOS C., SERELI D., et KOMAITIS M., 2006-** Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. Food Chemistry, Vol. 95: 44–52.

**PROESTOS C., SERELI D., et KOMAITIS M., 2006-** Ultrasonically assisted extraction of phenolic compounds from aromatic plants: comparison with conventional extraction technics. Journal of Food Quality. Vol. 29: 567–582

**RASEKH, H.R., KHOSHNOOD-MANSOURKHANI, M.J. et KAMALINEJAD, M., 2001-** Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. Fitoterapia . Vol. 72 : 937–939.

**RIBEREU-GAYON P., 1968-** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. DUNOD Paris.

**RICCI D., FRATERNAL D., GIAMPERI L., BUCCHINI A., EPIFANO F, BURINI G. et CURINI M., 2005-** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae) Journal of Ethnopharmacology, Vol.98 : 195–200.

**RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J. et PAGANGA, G. 1997-** Antioxydant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* Vol. 2 : 152-159.

**RIJKE E., OUT P., NIESSEN W M.A., ARIESE F., GOOIJER C, et BRINKMAN U A.Th., 2006-** Analytical separation and detection methods for flavonoids. Review. Journal of Chromatography A, Vol. 1112: 31–63.

**RKHTER G., 1993-** Métabolismes des végétaux physiologie et biochimie. Presses polytechnique et universitaires Romande .France : 328-335.

**SARNI- MANCHADO P. et CHEYNIER V., 2006-**Les polyphénols en agroalimentaire. Tec et Doc. Paris.

**SCHIESTL F. P., AYASSE M., PAULUS H. F., LOFSTEDT C., HANSSON B. S., IBARRA F. et FRANCKE W., 1999 –** Orchid pollination by sexual swindle. *Nature*, Vol. 399 : 421-422

**SERI-KOUASSI B P,, KANKO C., NONDENOT ABOUA L R., BEKON K A, GLITHO A I, KOUKOUA G, N'GUESSAN Y T.,2004-** Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé . Chimie, Vol. 7 : 1043–1046.

**SOSA M. E. et TONN C. E., 2006-** Plant secondary metabolites from Argentinean semiarid lands: bioactivity against insects. *Phytochem Rev*, DOI 10.1007/s11101-006-9056-7.

**SOUNDARYA DEVI S., MALATHI R., RAJAN S. S, ARAVIND S., KRISHNAKUMARIB G. N et RAVIKUMAR K., 2003-** A new clerodane diterpene with antifeedant activity from *Teucrium tomentosum*. *Acta Cryst.* C59 : 530-532.



**STAFFORD H.A., 2000-** Flavonoid Metabolism. CRC Press, Inc, Florida: 15-63.

**STICKEL, F., SEITZ, H.K., HAHN, E.G., SCHUPPAN, D., 2001-**Liver toxicity of drugs of plant origin. *Zeitschrift fur Gastroentologie*, Vol. 39 : 225-232.

**STOCKER P., YOUSFI M., DJERRIDANE O., PERRIER J., AMZIANI R., EL BOUSTANI S., MOULIN A., 2004-** Effect of flavonoids from various Mediterranean plants on enzymatic activity of intestinal carboxylesterase. *Biochimie* 86 : 919–925.

**SULIMAN F E O., AI-KINDI S S., AI-KINDY S M.Z. et AI-LAWATI H A.J., 2006-**Analysis of phenols in water by high-performance liquid chromatography using coumarin-6-sulfonyl chloride as a fluorogenic precolumn label. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1101: 179–184.

**TORCK M. et PINKAS M., 1992-**Les Flavonoïdes du Genre *Vicia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 20, No. 5: 453-457.

**ULUBELEN A, TOPCUT W. et OLCAL S., 1994-** Rearranged abietane diterpenes from *teucrium dzvarzcatum* subsp. *vzllousum*. *Phymchmstry*, Vol. 37. N°. 5: 1371 1375.

**ULUBELEN A., TOPCU G. et KAYA U., 1993-** Steroidal compounds from *teucrium chamaedr ys* subsp. *chamaed ys*. *Phymhrmmry*. Vol.36. N°.1:171 -173.

**VALANT-VETSCHERA K M., ROITMAN J N. et WOLLENWEBER E., 2003-**Chemodiversity of exudate flavonoids in some members of the Lamiaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 31: 1279–1289.

**VANDENBERGHE D.A., et VLIETICK A.J., 1991-**Screening for antibacterial and antiviral agents from higher plants. In: P.M, HARBORNE, *Methods in biochemistry*. Academic Press. London. : 47-57.

**VELASCO-NEGUERUELA A. et PEREZ-ALONSO M. J., 1990-**The Volatiles of six *Teucrium* species from the Iberian Peninsula and the Balearic islands. *Phytochemisrry*, Vol. 29, No. 4, pp. 1165 -1169.

**VOKOU D. et MARGARIS N. S., 1986-** Variation of Volatile Oil Concentration of Mediterranean Aromatic Shrubs *Thymus capitatus* Hoffmag et Link, *Satureja thymbra* L., *Teucrium polium* L. and *Rosmarinus officinalis*. *Int. J. Biometeor*, Vol. 30, No. 2: 147-155

**VOKOU D., TZIOLAS M., et S. E. R. BAILEY S. E. R., 1998-**Essential-oil-mediated interactions between oregano plants and Helicidae grazers. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 24, No. 7: 1187-1202.

**WALLE T., 2007-** Methoxylated flavones, a superior cancer chemopreventive flavonoid subclass, Review. *Seminars in Cancer Biology*, Vol. 17: 354–362

**WARIDEL P., 2003-** Investigation phytochimiques des plantes aquatiques *Potamogeton pectinatus* L., *P. lucens* L., *P. perfoliatus* L. et *P. crispus* L. (*Potamogetonaceae*). . Thèse de doctorat, Université Laussane.

**ZAIKA, L. L. 1988-** "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its determination" *Journal of Food Safety* Vol. 9(2): 97-118.

Fiche d'enquête

Nom, prénom:                      Age:                      Sex:                      Residence:

Nom de la plante :                                                                      Nom tamahaq :

Parties utilisées :

Plante fraîche :                      plante sèche :

Période de cueillette :

Mode de préparation traditionnelle :

Pois de drogues :                      Quantité d'eau :

Plante ou produits ajouté :                                                              Récipient de préparation :

Technique de préparation :

Traitement :

Administration :

Doses (adulte, enfant) :

Durée du traitement :

Toxicité :

Prévention :