

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry Of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrou University, Khenchela
Faculty of Natural and Life Sciences
Department of cell and molecular biology



الديمقراطية الشعبية الجمهورية الجزائرية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة عباس لغرور خنشلة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

Touati Amel

Thème

***Exploration phytochimique et évaluation
in vitro des activités biologiques de la
plante médicinale Teucrium polium L.***

Devant le jury :

Président : Dr. AICHE Mohamed Amine

Promoteur : Dr. MAAMAR Hichem

Examinatrice : Dr. ARAB Yasmine

2023/2024

Remerciements

Mes remerciements s'adressent premièrement et avant tout à ***ALLAH***.

Tout puissant, qui m'a aidé à réaliser ce travail, et pour sa grâce tout au long de ma vie professionnelle et personnelle.

Mes sincères remerciements à ***Dr. MAAMAR Hichem***, qu'il a accepté de me guider et m'a accordé toute son attention et sa patience, pour sa présence, les précieux conseils et les encouragements qu'il m'a prodigués tout au long de ce travail. Je le remercie encore plus pour sa confiance en moi pour réaliser ce travail.

Vous trouverez ici un témoignage de profonde gratitude.

J'adresse mes profonds remerciements au ***Dr. AICHE Mohamed Amine*** pour cet honneur

D'avoir accepté de présider ce jury.

J'adresse aussi mes plus vifs remerciements à ***Dr. ARAB Yasmine*** d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et d'accepter de l'examiner, Je suis très honorée de sa présence dans ce jury.

D'ici, j'adresse mes sincères remerciements à l'ingénieur du laboratoire, ***M. Abdel Nour***, de m'avoir aidé, et je lui adresse mes sincères remerciements.

Merci à tous les professeurs du département de Biologie moléculaire et cellulaire et à tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à ce travail.



Dédicace

Avec l'aide de Dieu Tout-Puissant, j'ai tracé le cours de ma vie et pu réaliser cette œuvre que je dédie à ma chère et bien-aimée mère, ***LAKHZUM Mufidiya***. Vous représentez pour moi un symbole de bonté, une source de tendresse, et un exemple de dévouement qui ne cesse de m'encourager.

À mon cher père, ***TOUOUATI Kamal***, je ne peux pas exprimer combien je t'aime et te respecte. À mes chères sœurs, ***Maryam*** et ***Munira***, les mots ne suffisent pas pour exprimer mon amour pour vous.

A mes frères ***Ibrahim, Imad et Karim***, je vous souhaite le meilleur, réussite, bonheur et santé. A ma chère amie et sœur ***Wissam***.

Liste des tableaux

Tableau 1	Les différentes principes actifs	8
Tableau 2	Position systématique de <i>Teucrium polium</i>	14
Tableau 3	Composition phytochimique de <i>Teucrium Polium L</i>	18
Tableau 4	Principales actions pharmacologiques des parties aériennes de <i>T. Polium</i>	25
Tableau 5	Souches bactériennes utilisées dans l'activité antibactérienne	28
Tableau 6	Réactifs chimiques et instrumentations utilisés	29
Tableau 7	Le rendement de deux extraits de la partie aérienne de <i>Teucrium Polium L</i>	48
Tableau 8	Résultats des tests phytochimiques sur les deux extraits (EMTP et EATP)	50
Tableau 9	Teneur en polyphénols dans les deux extraits (EMTP et EATP)	54
Tableau 10	Teneur en flavonoïdes dans les deux extraits (EMTP et EATP)	56
Tableau 11	Résultats de diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne	61
Tableau 12	Les pourcentages d'inhibition de dénaturation de SBA	62

Liste des figures

		Page
Figure 1	Structure des alcaloïdes : céphéline et émétine	9
Figure 2	Structure de base des flavonoïdes	10
Figure 3	Formation d'une coumarine	11
Figure 4	Numérotation du squelette carboné des stérols	12
Figure 5	Représentation schématique et photo de <i>Teucrium polium</i> L	13
Figure 6	Aspect morphologique de <i>Teucrium polium</i> L	15
Figure 7	Les feuilles et les tiges de <i>Teucrium polium</i> L	16
Figure 8	Feuilles de <i>Teucrium polium</i> L	16
Figure 9	Les fleurs de <i>Teucrium polium</i> L	17
Figure 10	Les antioxydant endogènes et exogènes	22
Figure 11	La partie aérienne de <i>Teucrium polium</i> séchée et la poudre après broyage	27
Figure 12	Les étapes de la préparation des deux extraits méthanolique et aqueux	31
Figure 13	Mode opératoire de dosage des polyphénols	36
Figure 14	Photos de dosage des polyphénols	37
Figure 15	Protocole du dosage des flavonoïdes	38
Figure 16	Equation du radical DPPH transformé en DPPH	39
Figure 17	Protocole de piégeage du radical libre DPPH	40
Figure 18	Les tubes de test DPPH	41
Figure 19	Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé	42
Figure 20	Préparation de la suspension bactérienne	43
Figure 21	Photos du procédé de l'ensemencement	44
Figure 22	Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine	46
Figure 23	Rendements des extraits de <i>Teucrium polium</i> L	48
Figure 24	Teneur en polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/mg E}$) de l'extrait méthanolique.	54
Figure 25	Teneur en polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/mg E}$) de l'extrait aqueux	55
Figure 26	Teneur en flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg E}$) de l'extrait méthanolique	57
Figure 27	Teneur en flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg E}$) de l'extrait aqueux	57
Figure 28	Courbe présentant les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration	58
Figure 29	Représentation graphique de l'activité antibactérienne des différents extraits	61
Figure 30	Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de SBA par le diclofénac	63
Figure 31	Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de SBA de l'extrait méthanolique	63
Figure 32	Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de SBA de l'extrait aqueux	64

Liste des abréviations

AgNps: Silver nanoparticules

AİNS: Antiinflammatoire non stéroïdienne

AİS: Antiinflammatoire stéroïdienne

CAT: Catalase

CPG: chromatographie en phase gazeuse

DPPH: (2,2 diphenil -1- picrylhydrazyl)

EATP: Extrait aqueux de Teucrium polium

EMTP: Extrait méthanolique de Teucrium polium

ERO: espèce réactive d'oxygène

FRAp: Fluorescence recovery after photobleaching

HE: Huile essentielle

HSV-1/HSV-2: Virus Herpes simplex

MNK45: Concer gastrique humaine

PAM: Plantes aromatiques et médicinales

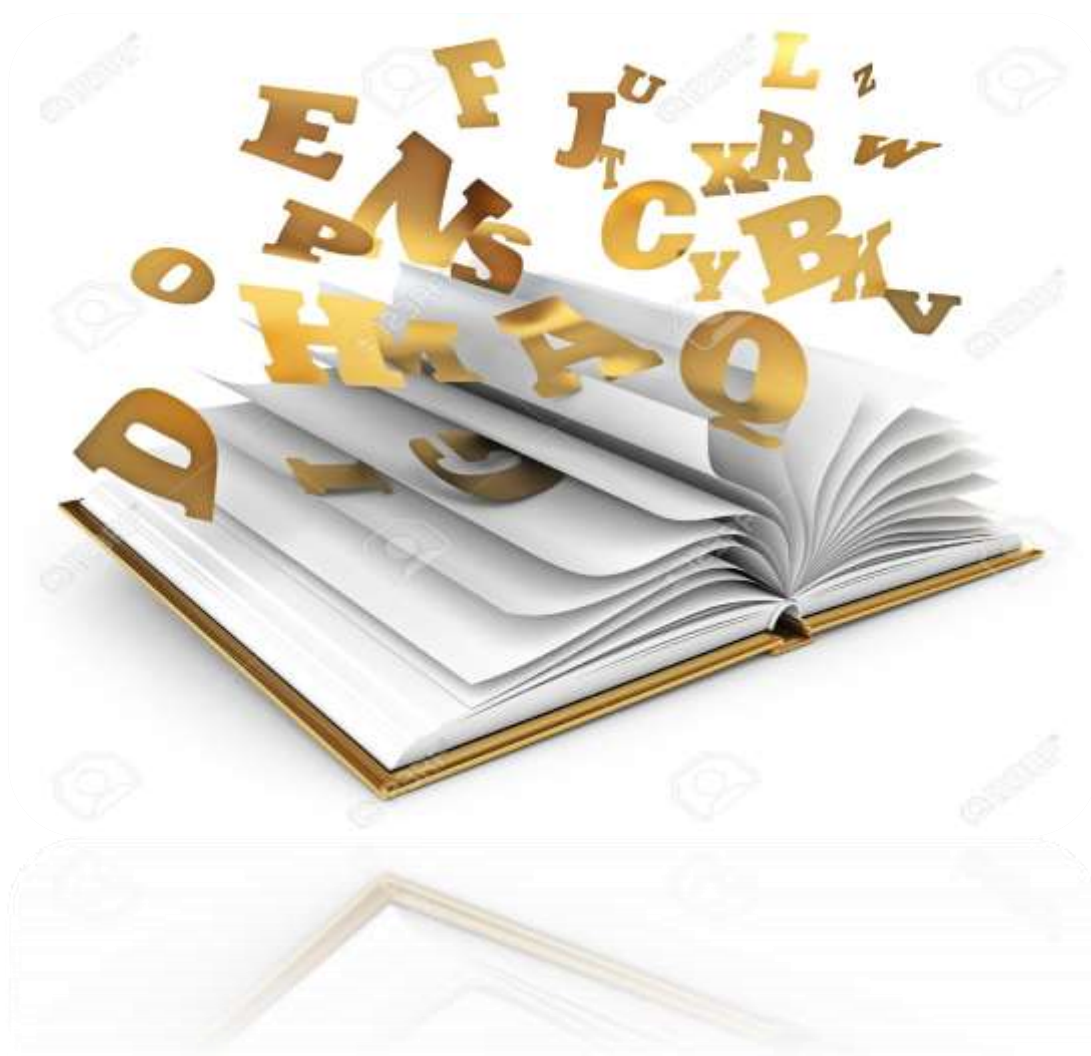
PMA: Procreation médicalement assisté

Q10: Coenzyme

SOD: super oxides dismutases

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances

Résumés



Résumé

La *Teucrium polium* appartient à la famille des Lamiaceae est largement utilisé dans la médecine traditionnelle algérienne comme antidiabétique, antihypertenseur et cicatrisant. Cette étude vise à étudier l'extrait méthanolique (EMTP) et l'extrait aqueux (EATP) de la partie aérienne de *Teucrium polium*. Les tests phytochimiques ont montré la présence des flavonoïdes, des tanins, des quinones libres, des saponines, des polyphénols, des stérols et des triterpènes, des terpénoïdes et des composés réducteurs dans tous les extraits. Les tests quantitatifs des polyphénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteau et des flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ ont révélé que les concentrations les plus élevées de flavonoïdes ont été trouvées dans l'extrait aqueux ($5,041 \pm 0,93 \mu\text{g}/\text{mg}$ EAG), et les polyphénols dans l'extrait méthanolique avec une teneur de $12,89 \pm 1,44 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait. Les résultats de l'activité antioxydante effectuée en utilisant la méthode de réduction des radicaux DDPH, ont indiqué la supériorité de l'extrait EMTP avec le pourcentage le plus élevé. Dans l'activité antibactérienne, *Teucrium polium* a montré une activité faible sur les quatre souches bactériennes étudiées, qui sont *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Dans l'activité antiinflammatoire, les résultats montrent que l'extrait méthanolique a une activité antiinflammatoire avec le taux le plus élevé d'inhibition de la dénaturation du SBA estimé à $28,06 \pm 1,08$. L'extrait aqueux possède un pourcentage d'inhibition égale à $23,81 \% \pm 0,811$.

En conclusion, la partie aérienne de *Teucrium polium* est douée d'une activité antioxydante remarquable. De ce fait, elle peut constituer une ressource naturelle afin d'atténuer les complications du stress oxydant associé ou déclenchant d'autres maladies.

Mots-clés : *Teucrium polium* L, activité antibactérienne, activité antioxydante, activité antiinflammatoire, polyphénols, flavonoïdes.

Abstract

Teucrium polium L. belongs to the Lamiaceae family and is widely used in traditional Algerian medicine as an antidiabetic, antihypertensive and cicatrizant. The aim of this study was to investigate the methanolic extract (EMTP) and aqueous extract (EATP) of the aerial part of *Teucrium polium*. Phytochemical tests showed the presence of flavonoids, tannins, free quinones, saponins, polyphenols, sterols and triterpenes, terpenoids and reducing compounds in all extracts. Quantitative tests for total polyphenols by the Folin-ciocalteau method and flavonoids by the AlCl₃ method revealed that the highest concentrations of flavonoids were found in the aqueous extract ($5.041 \pm 0.93 \mu\text{g}/\text{mg}$ EAG), and polyphenols in the methanolic extract with a content of $12.89 \pm 1.44 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$ extract. The results of the antioxidant activity carried out using the DDPH radical reduction method indicated the superiority of the EMTP extract with the highest percentage. In terms of antibacterial activity, *Teucrium polium* showed weak activity against the four bacterial strains studied (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*). In terms of anti-inflammatory activity, the results show that the methanolic extract has anti-inflammatory activity, with the highest rate of inhibition of SBA denaturation estimated at 28.06 ± 1.08 . The aqueous extract had an inhibition percentage equal to $23.81\% \pm 0.811$. In conclusion, the aerial part of *Teucrium polium* has a remarkable antioxidant activity. It can therefore be used as a natural resource to alleviate the complications of oxidative stress associated with or triggering other diseases.

Key words: *Teucrium polium* L, antibacterial activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, polyphenols, flavonoids.

المخلص

ينتمي نبات التيوكريوم بوليوم إلى الفصيلة الشفوية ويستخدم على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي كمضاد لداء السكري وارتفاع ضغط الدم وعامل شفاء. تهدف هذه الدراسة الى دراسة المستخلص الميثانولي (EMTP) والمستخلص المائي (EATP) للجزء الهوائي من نبات التيوكريوم بوليوم. أظهرت الاختبارات الكيميائية-النباتية وجود مركبات الفلافونويد، والعفص، والكينونات الحرة، والصابونين، والبوليفينول، والستيرويدات، والترابنتيربين، والترابينويدات، والمركبات المرجعة في جميع المستخلصات. كشفت التحاليل الكمية للبوليفينول الكلي بطريقة فولين-سيوكالتو والفلافونويدات بطريقة ثلاثي كلوريد الكربون عن وجود أعلى تركيزات من الفلافونويدات في المستخلص المائي ($5.041 \pm$ 0.93 ميكروغرام مكافئ كمي/مغ من حمض القاليك)، والبوليفينول في المستخلص الميثانولي بمحتوى 12.89 ± 1.44 ميكروغرام مكافئ كمي/مغ من المستخلص. أشارت نتائج النشاط المضاد للأكسدة التي أجريت باستخدام طريقة الاختزال الجذري DDPH إلى تفوق مستخلص EMTP بأعلى نسبة. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، أظهر التيوكريوم بوليوم نشاطاً ضعيفاً ضد السلالات البكتيرية الأربعة التي خضعت للدراسة، وهي المكورات العنقودية الذهبية، والعصيات الرقيقة، والزائفة الزنجارية والإشريكية القولونية. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للالتهابات، أظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي له نشاط مضاد للالتهابات مع أعلى معدل لتثبيط تشوه SBA يقدر بـ 28.06 ± 1.08 . كان للمستخلص المائي نسبة تثبيط تساوي $23.81 \pm 0.811\%$ في الختام، فإن الجزء الهوائي من التيوكريوم بوليوم له نشاط ملحوظ مضاد للأكسدة. لذلك يمكن استخدامه كمصدر طبيعي للحد من مضاعفات الإجهاد التأكسدي المرتبط بأمراض أخرى أو المسبب لها.

الكلمات المفتاحية: تيوكريوم بوليوم ل، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، البوليفينول، الفلافونويد.

Résumé	
Abstract	
المخلص	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Table de matières	
Introduction	1
Chapitre 1 : Les plantes médicinales et Germandrée Tomenteuse	
I. Plantes médicinales et phytothérapie	3
I.1. Définition d'une plante médicinale	3
I.2. Domaine d'utilisation des plantes médicinales	3
I.3. Avantage des plantes médicinales	4
I.4. La phytothérapie	5
II.4.1. Types de phytothérapie	5
La phytothérapie traditionnelle (classique)	5
Phytothérapie clinique moderne	6
II.4.2. Les avantages de la phytothérapie	6
II.4.3. Les inconvénients de la phytothérapie	7
I.5. Les principaux actifs des plantes	8
I.5.1. Définition	8
I.5.2. Les principaux éléments actifs des plantes	8
A. Métabolites primaires	8
B. Métabolites secondaires	9
B.1. Les alcaloïdes	9
B.2. Les flavonoïdes	10
B.3. Les saponosides (saponines)	10
B.4. Les tanins	10
B.5. Les coumarines	10
B.6. Anthraquinone	10
B.7. Les stéroïdes et les stérols	10
B.8. Les quinones	11
B.9. Les terpénoides et les terpènes	11
B.10. Les huiles essentielles	12
II. Le Germandrée Tomenteuse (<i>Teucrium Polium</i>)	13
II.1. Définition	13
II.2. Classification botanique	13
II.3. Nomenclature	14
II.4. Description botanique	14
II.4.1. Appareil végétatif	15
II.5. répartition géographique	17
II.6. Composition chimique	18
II.6. Utilisation thérapeutique	18
Chapitre 2 : Les activités biologiques	
I. Généralités	20
II. Activité antioxydante	20
III. Activité antimicrobienne	22

IV. L'activité antiinflammatoire	23
V. Activité antidiabétique	23
VI. Activité anticancéreuse et antitumorale	24
VII. Activité antivirale	24
Chapitre 3 : Matériel et Méthodes	
I. Matériel	27
I. 1. Matériel biologique	27
I.1.1. Matériel végétal	27
I.1.1.1. Récolte et préparation	27
I.1.2. Souches bactériennes	28
I.1.3. Réactifs chimiques et équipements	28
II. Méthodes	30
II.1. Préparation des extraits	30
II.1.1. Préparation d'extrait méthanolique	30
II.1.2. Préparation d'extrait aqueux	30
II.2. Screening photochimique	33
II.3. Dosage des polyphénols totaux	35
A. Principe	35
B. Mode opératoire	35
C. Expression des résultats	36
II.4. Dosage des flavonoïdes	37
A. Principe	37
B. Mode opératoire	38
C. Expression des résultats	38
II.5. Evaluation de l'activité antioxydante (Test de piégeage du radical libre DPPH)	39
A. Principe	39
B. Mode opératoire	39
C. Expression des résultats	41
II.6. Evaluation de l'activité antibactérienne	41
II.6.1. Méthode d'évaluation (méthodes des disques)	42
A. Préparation pré culture	42
B. Repiquage des souches bactériennes	43
C. Préparation de la suspension bactérienne	43
C. Ensemencement	44
D. Application des disques	44
E. La lecture	45
II.7. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antiinflammatoire	45
II.7.1. Inhibition de la dénaturation protéique (Albumine humaine)	45
A. Principe	45
B. Mode opératoire	45
Coréalisation du test	45
Expression des résultats	46
II.8. Etude statistique	47
Chapitre 4 : Résultats et Discussions	
I. Etude phytochimique	48
I.1. Rendements des extraits	48

I.2. Tests phytochimiques	49
I.3. Dosage des polyphénols totaux	54
I.4. Dosage des flavonoïdes	56
II. Evaluation in vitro des activités biologiques	58
II.1. Evaluation de l'activité antioxydante	58
II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	60
III. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	62
Conclusion	65
Références bibliographiques	70

Introduction



Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter, prévenir, soulager et de soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique (**Nedjar, 2017**). La phytothérapie est l'utilisation des plantes ou formes galéniques dérivées de plantes excluant les principes d'extraction à des fins thérapeutiques. L'exploitation de ces ressources naturelles est encore capitale à l'heure actuelle. Les produits naturels et leurs dérivés représentent plus d'un tiers de toutes les nouvelles entités moléculaires (**Ouguirti, 2022**).

L'Algérie compte dans sa flore un grand nombre de plantes médicinales appartenant à différentes familles botaniques et poussant aussi bien dans les zones fertiles du sahel que dans les hauts plateaux et les zones arides et désertiques (**Guerana, 2023**).

Les plantes ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires posséder diverses propriétés biologiques (**Ouibrahim, 2015**). Des études *in vitro* et *in vivo* ont démontré comment ces substances agissent en tant qu'antioxydants, stimulants de la digestion et hypolipidémiantes et montré leurs activités antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires et anticancérigènes (**Benjabeur, 2019**).

Teucrium polium L. « Khayatta, Djaâda ou Gattaba » est une plante médicinale qui relève de la famille des lamiacées. Cette plante est connue en phytothérapie traditionnelle par sa richesse en produits du métabolisme secondaire et particulièrement en huiles essentielles et en polyphénols (**Medjdoub, 2022**). C'est une espèce euro-méditerranéenne, rencontrée dans les forêts, des broussailles et des plaines des montagnes sur substrats calcaires et siliceux. La germandrée est très commune en Algérie et vu son polymorphisme elle occupe différentes subdivisions biogéographiques à savoir : le sous-secteur de l'Atlas saharien oranais et algérois, des hauts-plateaux constantinois, algérois et oranais (**Chabane, 2021**).

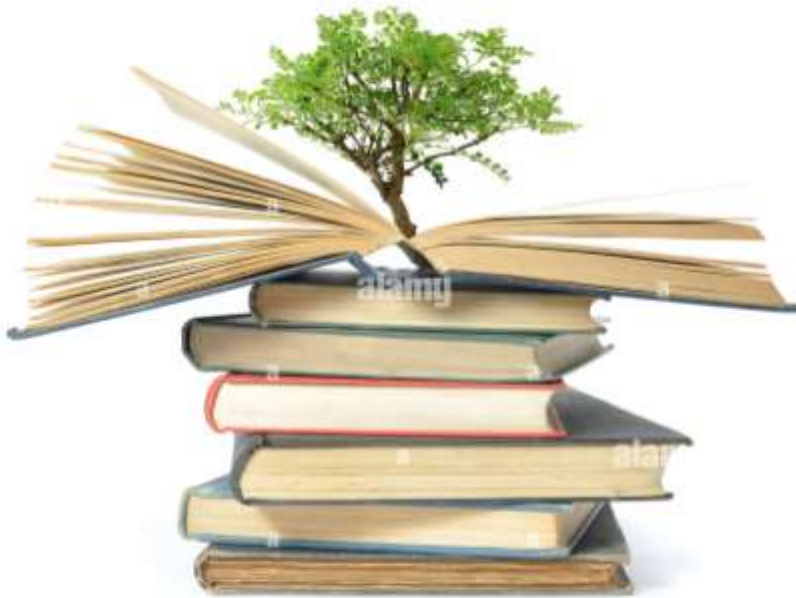
Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques.

Dans la présente étude nous avons essayé d'évaluer l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne de deux extraits aqueux et méthanolique préparés à partir de la partie aérienne de *Teucrium polium*.

Notre travail est divisé en deux parties :

- La première partie est une étude bibliographique qui se divise en deux chapitres. Dans le premier nous ferons un survol sur la phytothérapie, les plantes médicinales, leur efficacité et leurs effets négatifs dans le domaine médical ainsi que leurs principaux éléments actifs, et nous aborderons la plante *Teucrium polium*, sa classification, sa répartition géographique, aussi, sa composition chimique. Le second chapitre traitera de diverses activités biologiques telles que l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne et l'activité antiinflammatoire.
- La deuxième partie est l'étude expérimentale qui contient deux chapitres. Le premier chapitre est matériel et méthodes, le second comportera les résultats de la réalisation du screening phytochimique de la poudre de *Teucrium polium*, un dosage par spectrophotométrie UV des polyphénols et flavonoïdes et enfin une évaluation des activités antioxydante, antibactérienne et antiinflammatoire de cette espèce ainsi que leur discussion.

Etude bibliographique



*Chapitre I: les plantes médicinales
et Teucrium polium*



I. Plantes médicinale et phytothérapie

I.1. Définition d'une plante médicinale

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Schauenberg et Paris, 1977**). D'après la définition donnée par l'OMS, les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou des substances chimiques qui sont destinées à produire une activité pharmacologique. Elles représentent la forme la plus ancienne et la plus répandue de médication (**Lehout et Laib, 2015**). Cette définition permet de distinguer entre les plantes médicinales déjà connues dont les propriétés thérapeutiques ou comme un précurseur de certaines molécules ont été scientifiquement établis, et d'autres plantes utilisées en médecine traditionnelle (**Bouziyani et al. 2018**). Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (**Amroune, 2018**). L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une flore de 3510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays (**Cheikh et Mokrane, 2021**).

I.2. Domaine d'utilisation des plantes médicinales

- ❖ Les PAM sont utilisées comme tous les végétaux en alimentaires, épices, additifs, ornementaux, toxiques, pastoraux et fourragers, artisanaux (vannerie, tannerie, menuiserie), boissons, condimentaires, cosmétiques, hygiéniques, industriels, vétérinaires, sorcellerie, magie et encens (**Dahmani et al., 2021**).
- ❖ Selon Sofowora (2010), les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (médicaments) (**Bendif, 2017**).
- ❖ De nombreuses plantes médicinales sont appliquées par automédication ou sur la recommandation d'un médecin ou d'un pharmacien. Elles sont utilisées indépendamment ou en combinaison avec des médicaments synthétiques pour une thérapie adéquate et appliquée avec succès (**Petrovska, 2012**).
- ❖ En Algérie, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées principalement dans les zones rurales par les personnes âgées et qui ont encore l'expérience de certaines recettes à base de plantes (**Bendif, 2017**).

La plante médicinale est rarement utilisée dans son entier. On utilise une ou plusieurs parties de plantes pouvant chacune avoir une utilisation différente et qui sont décrites dans la monographie de la plante médicinale (**Limonier, 2018**).

I.3. Avantage des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis près de 7 000 ans et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (**Adouane, 2016**). Malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important (**Elqaj et al. 2007**).

➤ **L'avantage curatif et alimentaire** : Les végétaux sont notre source nourricière. Ils sont omniprésents dans notre alimentation. En outre, l'homme est habitué à consommer différentes espèces de plantes ; qui sont bien souvent appréciées par leurs qualités aussi bien médicinale que nutritive, on cite alors que le citron (*Citrus limon*) et l'oignon (*Allium cepa*) sont des aliments et des plantes médicinales les deux à la fois : le citron prévient les infections, l'oignon celles des bronches (**Boughrara, 2016**).

➤ **L'avantage économique et industriel** : D'un point de vue économique, les plantes médicinales fournissent des matières premières et des drogues végétales qui sont utilisées sous diverses formes, généralement en tisanes, extraits et teintures.

L'industrie veut exploiter des extraits de substances tirées des plantes qui puissent être synthétisées. Les composants actifs sont d'abord isolés, puis utilisés dans la fabrication des médicaments (**Volak et Stodola, 1984**).

➤ **Importance cosmétologique** : L'utilisation des plantes, dans le domaine des soins de beauté remonte à plusieurs millénaires. A l'origine, ces soins de beauté ont presque été synonymes de soins d'hygiène (**Frely et Roque, 2001**). Les parfums utilisés pour dissimuler les odeurs corporelles désagréables possédant aussi fréquemment un puissant pouvoir antiseptique, de même les huiles grasses répandues sur le corps ou la chevelure se révèlent être des agents de protection contre des parasites, des piqûres d'insectes et autres agressions, telles celles qui résultent de divers facteurs climatiques « vent, froid, humidité...etc. » (**Boughrara, 2016**).

Les avantages par rapport aux drogues de synthèse sont :

- Un large spectre d'action.
- Un coût relativement faible.
- Une biodisponibilité élevée.
- Une faible toxicité lorsqu'elles sont utilisées de manière rationnelle.
- Une probabilité moindre d'effets secondaires.
- La possibilité d'une utilisation à long terme.

À l'heure actuelle, l'intérêt pour l'étude des herbes médicinales continue d'augmenter (**Courric et al. 2023**).

I.4. La phytothérapie

Du point de vue étymologique, le terme « phytothérapie » provient de deux mots grecs : Phytos (végétal) et Therapeia (soigner), qui désigne donc l'art de soigner par les plantes, mais pas n'importe quelles plantes, les plantes aromatiques et médicinales (**Dahmani et al. 2021**). La phytothérapie c'est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de végétaux, de parties de végétaux ou de préparations à base de végétaux, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Bensalek, 2018**). C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la « phytothérapie traditionnelle », qui est toujours grandement utilisée dans certains pays qui perpétuent les usages de leurs ancêtres (**Limonier, 2018**). La phytothérapie se présente sous plusieurs formes selon la façon d'extraction de la drogue végétale :

- ✓ Tisane
- ✓ Forme sèche : Gélules et comprimés à avaler.
- ✓ Formes liquides : sirops, macérâts, teintures, extraits liquides.
- ✓ Pommades, crèmes, onguents.

II.4.1. Types de phytothérapie

➤ **La phytothérapie traditionnelle (classique)**

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement (**Radjah, 2020**). La pratique traditionnelle de la phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement

employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique (**Dahmani et al. 2021**).

➤ **Phytothérapie clinique moderne**

C'est une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif (**Amroune, 2018**).

Cette approche de l'utilisation de la plante médicinale repense la prise en charge thérapeutique de façon originale :

- Elle tient compte de l'état général du patient et d'un examen clinique approfondi et non pas uniquement de la symptomatologie du patient.
- Elle conçoit la plante médicinale selon les données de la tradition et un usage validé par les connaissances scientifiques actuelles.
- Elle utilise l'outil phytothérapeutique en exploitant l'ensemble de ses potentialités connues (synergie, utilisation de doses pondérées) afin de rétablir l'équilibre physiologique du patient (**Jorite, 2015**).

II.4.2. Les avantages de la phytothérapie

En général, le corps humain est bien mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapeutique exclusivement chimique. Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages (**Radjah, 2020**).

- Elle présente essentiellement un avantage de multiplicité des principes actifs complémentaires permettant une utilisation à doses pharmacologiquement faibles voire physiologiques (**Dahmani et al. 2021**).
- La phytothérapie est moins chère que la médecine orthodoxe. Le coût de cette dernière est augmenté par la technologie de santé moderne, qui dans beaucoup de cas est inappropriée, inapplicable aux besoins immédiats des habitants des pays en voie de développement (**Adjanohoun, 2006**).
- En phytothérapie on utilise la plante entière ou seulement une partie de la plante (La feuille, la fleur, ...etc.). Chaque organe peut contenir de principes actifs, spécifiques et Donc avoir un effet particulier (**Bouziyani et al. 2018**).
- La plus grande partie des plantes, utilisée au niveau mondiale, est destinée à la phytothérapie, à la production de molécules pour la médecine allopathique, à l'élaboration des arômes (**El Meskaouiga et al., 2008**).

- Les médicaments de phytothérapie sont dérivés de matières végétales relativement inoffensives que le corps humain peut facilement digérer (**Mudasir et al. 2019**).
- Utilisées fraîches ou séchées, les herbes peuvent être utilisées pour ajouter de la saveur et de la couleur aux aliments et aux boissons (**Site Web 1**).
- La recherche montre que les herbes ont des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antitumorales qui aident à réduire la tension artérielle et le cholestérol, à combattre les maladies respiratoires et à réduire le risque de cancer (**Site Web 1**).

II.4.3. Les inconvénients de la phytothérapie

Le manque de preuves scientifiques n'est pas en faveur de l'efficacité de phytothérapie, la plupart des déclarations concernant les effets thérapeutiques sont faits par des praticiens eux-mêmes. Beaucoup d'entre eux n'ont pas été vérifiés scientifiquement (**Adouane, 2016**).

- La phytothérapie est une thérapeutique souvent peu toxique mais qui exige un certain nombre de précautions, telle qu'une bonne connaissance des plantes car certaines peuvent être toxiques ou manifester des réactions allergiques à certains sujets (**Benouattas et Benzina, 2021**).
- Certaines plantes sont dangereuses, une forte posologie peut nuire à la santé, voire mortelle (**Harhouz et Korichi, 2021**).
- La prise d'extraits de plantes en association avec les médicaments modernes ou avec d'autres plantes, peut engendrer des interactions (diminuer l'efficacité du traitement ex : le millepertuis et les contraceptifs oraux, ou dépasser le seuil désiré ex : la pholcodine et les curares) (**Terniche et Tahanout, 2018**).
- Il ne faut pas utiliser des plantes d'origine douteuse, puisque les facteurs de pollution, la cueillette et les méthodes de conservation, de stockage... peuvent altérer les propriétés des plantes (**Harrag, 2021**).
- Les personnes qui recherchent des herbes sauvages courent le risque de mal identifier une plante. Certaines plantes vénéneuses peuvent ressembler beaucoup à des herbes sûres poussant dans la nature. La consommation de plantes vénéneuses peut entraîner des troubles gastro-intestinaux, voire la mort (**Site Web 1**).
- Les plantes médicinales ne sont pas efficaces pour traiter les urgences et les maladies aiguës. Comme la plupart des médicaments sont conçus pour fonctionner au niveau moléculaire de la physiologie, le médicament prend son temps pour produire des résultats. Cependant, il existe peu de médicaments à base de plantes qui fonctionnent instantanément dans des conditions aiguës comme la diarrhée... etc. (**Mudasir et al. 2019**).

I.5. Les principaux actifs des plantes

I.5.1. Définition

Le principe actif c'est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (Radjah, 2020). Il possède un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal (Pelt, 1980).

I.5.2. Les principaux éléments actifs des plantes

Parmi les originalités majeures des végétaux leurs capacités à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, ils accumulent fréquemment des métabolites secondaires (Tableau 1). Ces derniers, représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Adouane, 2016).

Tableau 1. Les différentes principes actifs (Bouziani et al., 2018 ; Dahmani et al., 2021).

Les différents principes actifs	Métabolites primaires	Les glucides
		Les protides
		Les lipides
		Les acides nucléiques
	Métabolites secondaires	Les alcaloïdes
		Les flavonoïdes
		Les saponines
		Les tanins
		Les coumarines
		Les stéroïdes et les stérols
		Anthraquinone
		Les quinones libres
		Les terpénoïdes et les terpènes
		Les huiles essentielles

A. Métabolites primaires

Les métabolites primaires dits indispensables sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ce sont des

molécules composées de macronutriments tels que le carbone « C », l'hydrogène « H », l'oxygène « O » et l'azote « N » (Dahmani et al., 2021).

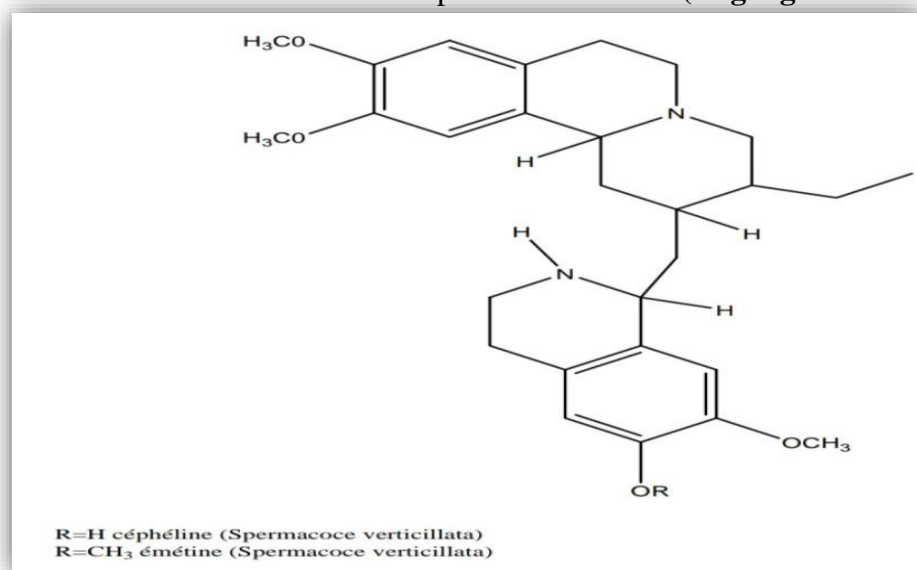
B. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules complexes à l'origine de l'activité thérapeutique des plantes médicinales, et dont les précurseurs sont des métabolites primaires ou des produits intermédiaires (Yarnell, 2007).

B.1. Les alcaloïdes

Ce sont des composés azotés complexes, de nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. Ils sont des hétérocycliques à caractère alcalin contenus essentiellement dans les plantes (Cheikh et Mokrane, 2021). Les alcaloïdes sont des substances jouant un rôle de défense chez les plantes. En effet ils sont responsables de la toxicité de certaines plantes pouvant provoquer des contractions cardiaques et, à plus forte dose, un arrêt cardiaque (Peler, 2018). Les alcaloïdes sont considérés comme des bases de Lewis. On trouve des alcaloïdes, en tant que métabolites secondaires, principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux (Engonga et Clement, 2014).

Figure 1. Structure des alcaloïdes : céphéline et émétine (Engonga et Clement, 2014).



B.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, fruits et parfois des feuilles (**Adouane, 2016**). Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation et le contrôle du processus de croissance. Certains flavonoïdes ont également des effets anti-inflammatoires, antioxydants, antiviraux, antifongiques, antispasmodiques et protecteurs du foie, comme le chardon-Marie (**Ouled et Trikib, 2021**). Ces composés ont une structure de base formé de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique (Figure 2) (**Lobstein, 2010**).

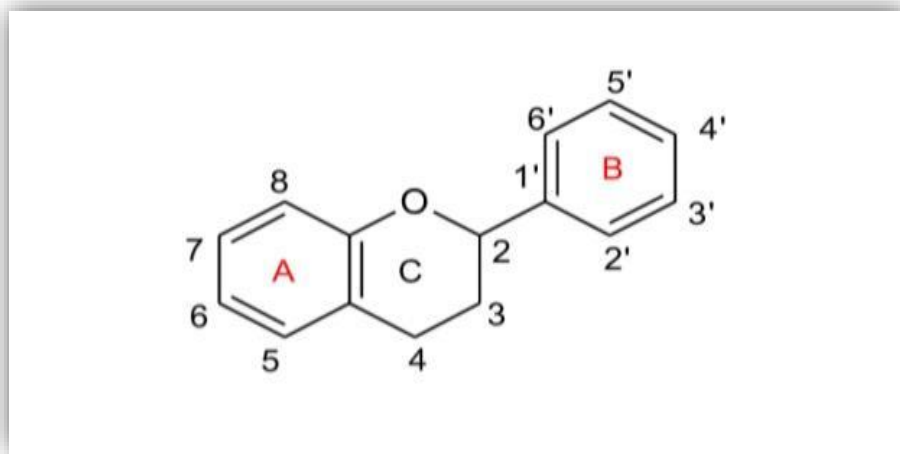


Figure 2. Structure de base des flavonoïdes (**Fettah, 2019**).

B.3. Les saponosides (saponines)

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes. Ils sont présents dans tous les organes mais surtout les racines et sont localisés dans les vacuoles émétine (**Engonga et Clement, 2014**). Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes, ils sont caractérisés par leur action tensioactive (**Amari, 2015**). Les saponosides sont exploités pour leurs vertus anti-inflammatoires, anti-œdémateuses et analgésiques (**Peler, 2018**).

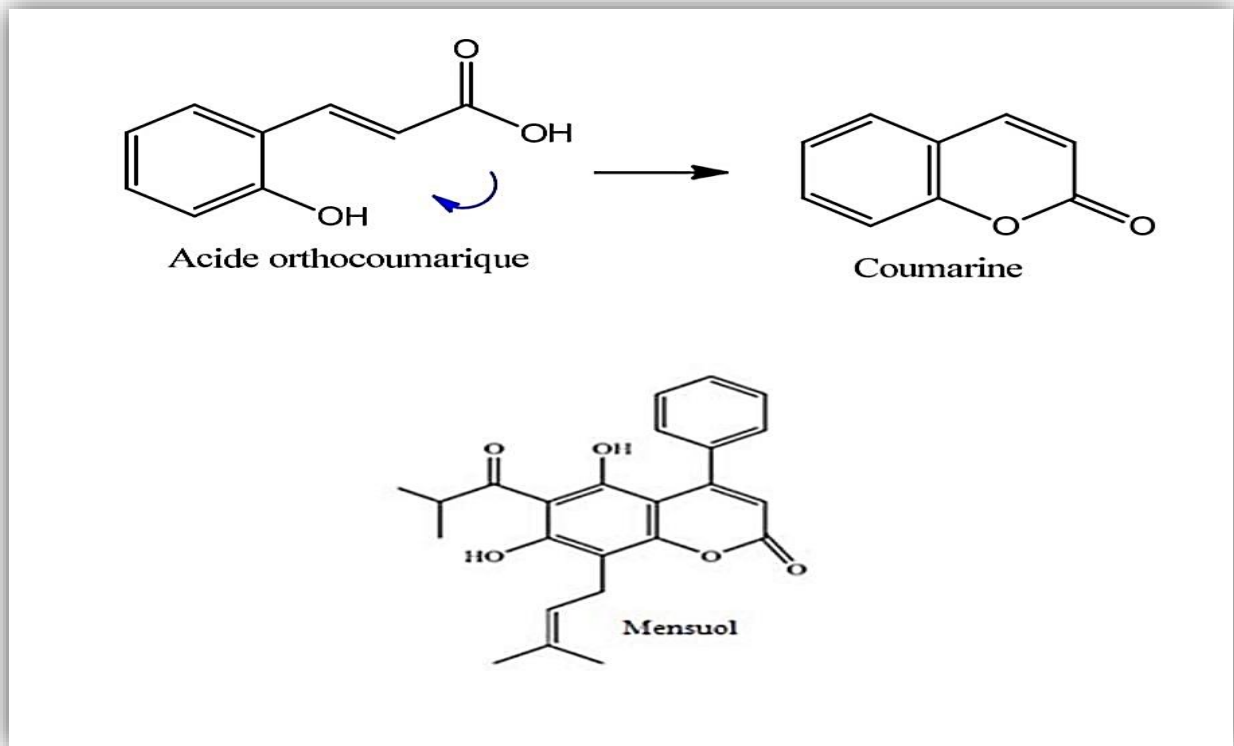
B.4. Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (**Amina, 2019**). Ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits (Propriétés biologiques). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs

centres asymétriques (Bendif, 2017). En général, ils sont divisés en deux groupes les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Formica et Regeson, 1995).

B.5. Les coumarines

Les coumarines sont des esters internes des acides composés. Ce sont des lactones phénoliques, qu'on trouve dans de nombreuses espèces végétales (Ouled et Trikib, 2021).



Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexine (Bendif, 2017). Ces composés possèdent une structure de base pyrone (Ghnimi, 2015).

Figure 3. Formation d'une coumarine (Ghnimi, 2015).

B.6. Anthraquinone

Sont les principaux constituants dans quelques plantes, comme le séné. Elles possèdent un rôle principalement laxatif et ont un effet irritant sur le gros intestin (Radjah, 2020). Elles sont des composés qui régénèrent des radicaux libres, et par conséquent se complexent irréversiblement aux acides aminés nucléophiles des protéines (Hammiche, 1988).

B.7. Les stéroïdes et les stérols

Abondant dans les végétaux et les animaux, ils ont en commun une structure chimique comportant un squelette perhydrocyclopentanophénantrène. Ils comportent généralement des méthyles en C-10 et C-13 et souvent une chaîne alkylée en C-17 (Figure 4) (Engonga et Clement, 2014).

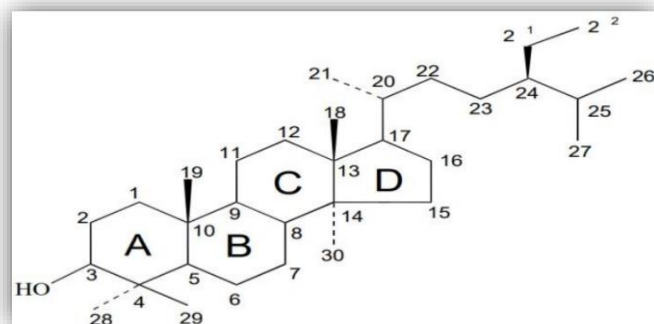


Figure 4. Numérotation du squelette carboné des stérols (Noiriel, 2004).

B.8. Les quinones

Les quinones sont des composés oxygénés qui résultent de l'oxydation de dérivés aromatiques caractérisés par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5 diénique ou par un motif 1,2-dicétocyclohexa-3,5 diénique (Bruneton, 1993). Elles sont des composés qui régénèrent des radicaux libres, et par conséquent se complexent irréversiblement aux acides aminés nucléophiles des protéines (Hammiche, 1988).

B.9. Les terpénoïdes et les terpènes

Les composés terpénoïdes constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organiques végétaux (Hopkinset *al.* 2003). Ce sont des hydrocarbures ayant respectivement dix et quinze atomes de carbone. Ils peuvent être saturés ou insaturés, acycliques, monocycliques, bicycliques ou polycycliques. Ils peuvent également être accompagnés de leurs dérivés oxygénés : alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones...etc. (Cheikh et Mokrane, 2021).

B.10. Les huiles essentielles

Sont des substances odorantes, volatiles, huileuses donc de nature hydrophobe, totalement solubles dans les alcools, l'éther et dans les huiles végétales et minérales. Les plantes aromatiques synthétisent naturellement les huiles sous forme de métabolites secondaires par

des cellules sécrétrices qui contiennent de la chlorophylle (Amari, 2015). Ce sont des mélanges complexes, contenant de très nombreuses espèces chimiques, identifiables par chromatographie gazeuse (Ghedadba, 2018). Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques (Mohammedi, 2013).

II. Le Germandrée Tometeuse (*Teucrium polium*)

II.1. Définition

Teucrium polium L. « famille des Lamiacées » est une herbe à fleurs à croissance sauvage, que l'on trouve en abondance dans diverses régions telles que l'Europe, l'Afrique du nord et l'Asie du Sud-Ouest (Asma et Guendouz, 2023).

Elle est connue sous le nom de Germandrée tomenteuse en français ou Djaïda en arabe, c'est une petite plante blanchâtre, cotonneuse, assez commune dans l'espace méditerranéano-saharienne, très polymorphe, elle croît dans les lieux rocaillieux et secs. Cette espèce est représentée par de nombreuses sous-espèces dont la détermination reste assez délicate.

En Algérie, pas moins de douze sous-espèces parmi lesquelles la ssp. *polium* qui est la plus répandue, sont recensées (Djabou, 2012).



Figure 5. Représentation schématique et photo de *Teucrium polium* L (Djabou, 2012 ; Latmane et al., 2022).

II.2. Classification botanique

Le genre *Teucrium* fait partir des genres les plus importants de la famille des Lamiaceae. Ce genre est réparti en 340 espèces. D'un point de vue taxonomique, elles sont identifiables grâce à la forme du calice et des inflorescences (Touaibia, 2021).

Selon Quezel et Santa (1963), la classification botanique de *Teucrium polium* est présentée dans le tableau 2.

Tableau 2. Position systématique de *Teucrium polium*

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Phanérogames</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Eudicotylédones</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Teucrium</i>
Espèce	<i>Teucrium polium L</i>

II.3. Nomenclature

✓ Nom commun

Mountain germander (Anglais), pouliot de montagne, germandrée tomenteuse, germandrée blanc-grisâtre (Français) ; poliot, camendrio di montagna, timo bianco, polio primo (Italien), j'ada, khayata, Katabet ledjrah (Arabe) (Mellouk et Tatar, 2021).

✓ Nom scientifique

Teucrium polium L, synonyms: *Teucrium tomentosum*, *Teucrium gnaphalodes*, *Teucrium chamaedrys* et *Teucrium capitatum* (Autore et al., 1984).

II.4. Description botanique

T. polium est une plante arbustive vivace, de 20 à 50 cm de haut, très parfumée et très polymorphes (Ladghem et Mezaache, 2020). Une 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 (Hammoudi, 2015).



Figure 6. Aspect morphologique de *Teucrium polium* L. (Boulard, 2003)

II.4.1. Appareil végétatif

❖ Les racines

Teucrium polium présente un système racinaire pivotant avec des racines secondaires latérales (Baba Aissa, 2011), de type pivotant, non ramifié et d'environ de 20 cm de long (Dliouah, 2022).

❖ Les tiges

La tige est ramifiée à la base, ronde, couverte de poils serrés et entrelacés, donnant un aspect cotonneux sur toute sa longueur (Rraber et Abdelali, 2017). Elle est nombreuse, ligneuse à la base révoluée, en général à marge, grêle, dressée ascendante (Mellouk et Tatar, 2021)



Figure 7. Les feuilles et les tiges de *Teucrium polium* L (Rraber et Abdelali, 2017).

❖ **Les Feuilles**

Les feuilles sont linéaires, crénelées, dentées, à bord enroulés, opposées, lancéolées, sessiles, totalement poilues (Baba Aissa, 2011), cunéiformes et entières à la base, globules au-dessus, sillonnées sur les bords, blanchâtre-tomenteux de chaque côté, parties supérieures détachées des verticilles dans les verticilles latéraux (Asma et Guendouz, 2023).



Figure 8. Feuilles de *Teucrium polium* L (Mohammed, 2022).

❖ **Les fleurs**

L'appareil reproducteur de cette plante est représenté par des inflorescences en grappes, sous forme de capitules terminaux à bractées foliacées, réduites ; le périanthe comporte un calice composée de 5 divisions anguleuses courtes et une corolle bilabée blanchâtre à lèvre supérieure renflée ; chaque fleur comporte 4 étamines apparentes (Rraber et Abdelali, 2017).



Figure 9. Les fleurs de *Teucrium polium* L (Ait, 2018).

❖ **Les fruits**

Les fruits murs et sec d'un couleur noir, légèrement creusés, de rocailleur et sèche (Fourment et Roques, 1942). Il est constitué de 4 parties brunes et orné en réseau à sa surface (Latmane et al., 2022).

II.5. Répartition géographique

• **Dans le monde**

Teucrium polium pousse en abondance dans le Sud-ouest de l'Asie, Europe et l'Afrique de Nord (Hammoudi, 2015). Elle est très répandue en méditerranée (Algérie, Tunisie, Espagne, France, Italie), mais on la trouve également en Iran et en Turquie à l'est, en Scandinavie au nord et même au Canada à l'ouest (Abdollahi et al., 2003).

Elle pousse dans les pelouses arides, les rocailles de basse altitude, les collines et les déserts arides (Abdollahi et al., 2003).

- **En Algérie**

Le genre *Teucrium* est présent en Algérie avec 22 espèces et 12 sous espèces (Rraber et Abdelali, 2017). C'est une plante méditerranéenne, commune 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 Tassili des Ajjer, au Tedemait...etc.) (Hammoudi, 2015).

II.6. Composition chimique

Plusieurs chercheurs ont évalué la composition chimique de *T. polium* développée dans différents secteurs géographiques. La plupart de ces études, basées sur l'analyse des extraits par les méthodes CPG, ont indiqué la présence de plusieurs composés incluant principalement les flavonoïdes, les polyphénols, les tannins, les huiles essentielles et les alcaloïdes (Tableau 3) (Nabeti et Chekkati, 2013).

Tableau 3. Composition phytochimique de *Teucrium Polium* L (Mellouk et Tatar, 2021)

Classe	Composés majeurs
Flavonoïdes	Lutéoline, apigénine, diosmetine, cirsimaritrine, cirsilole, cirsilineol, 5-hydroxy-6, 7,3',4' tétraméthoxyflavone, salvigenine, apigénine 5- galloylglucoside, apigénine-7- glucoside, vicénine, lutéoline-7-glucoside, catéchine, epicatéchine.
Huiles essentielles	apinène, pinène, myrténal, terpinol, a humulène, spathulenol, β- myrcène, germacrène B, germacrène D. bicyclogermacrène, linalool, Carvacrol, a-thujène, camphène.
Diterpénoïdes Néoclérodanés	Sept néo-clérodanes (teupolins VI-XII) et onze autres ont été isolés.
Glycosides	Verbascoside et poliumoside (phénylethanoïde).

II.6. Utilisation thérapeutique

- ❖ Teucrium polium L. possède un large spectre d'effet thérapeutique, en médecine traditionnelle, le Teucrium est employée comme analgésique, antispasmodique et hypolipidémique (**Dliouah, 2022**).
- ❖ Teucrium polium L. possède un large spectre d'effet thérapeutique, en médecine traditionnelle, le Teucrium est employée comme analgésique, antispasmodique et hypolipidémique. Cette plante peut avoir quelques intérêts d'ordre clinique : cas de désordres stomacaux et gastro-intestinaux tels que la colite (**Ladghem et Mezaache, 2020**).
- ❖ 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 (**Hammoudi, 2015**).
- ❖ 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 preuve d'un soulagement dans le cas de la douleur viscérale. Bien qu'il soit souvent utilisé pour traiter les troubles de sucre dans le sang (comme le diabète) (**Ashnagar et al., 2007**).
- ❖ Il est considéré comme un agent antibactérien, antiulcéreux, hypotenseur, antispasmodique, anorexique et antipyrétique (**Asma et Guendouz, 2023**).
- ❖ L'huile essentielle de Teucrium polium possède l'activité antispasmodique puissante, l'extrait éthanolique du polium de Teucrium possède des activités anti-inflammatoires, antipyrétiques et antibactériennes (**Bouchareb, 2020**).
- ❖ Depuis longtemps, on utilise la germandrée, en infusion, pour combattre la goutte, les rhumatismes, la fièvre, la bronchite chronique et les mucosités abondantes. En bain de bouche, elle soigne les gingivites, et, en lotion, elle accélère la cicatrisation des blessures (**Mellouk et Tatar, 2021**).

Chapitre II : Les activités Biologiques



I. Généralités

Les substances naturelles connaissent un intérêt croissant dans les domaines cosmétique, pharmaceutique et agroalimentaire qui s'orientent vers l'incorporation des molécules d'origine naturelle dans leurs produits. Sachant que dans le domaine pharmaceutique, 60% à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle, et près de 25% des prescriptions sont à base de plantes (**Kada, 2018**). *T. polium* L., ou la germandrée tomenteuse « Kayatta, Djaâda ou bien Gattaba » est une plante méditerranéenne (**Bendif, 2017**). Ces plantes peuvent contenir des centaines voire des milliers de métabolites secondaires ou de principes actifs qui peuvent produire différentes actions physiologiques sur le corps humain (**Edeoga et al., 2005**). Parmi ces métabolites, on retrouve, les polyphénols, les alcaloïdes, les tannins, les lignanes, les terpènes et les flavonoïdes...etc. Ces métabolites possèdent diverses activités biologiques telles que les propriétés antiinflammatoires, anticancérogènes, antimicrobiennes et antioxydantes (**Merdji et Zemmit, 2020**).

II. Activité antioxydante

L'oxygène est essentiel à notre survie, cependant, son utilisation par les cellules de notre corps n'est pas sans danger. Une partie significative (1 à 2 %) de l'oxygène que nous respirons est transformée en dérivés toxiques appelés radicaux libres, qui sont des dérivés du fonctionnement normal du corps, mais qui sont aussi produits en plus grand nombre lorsque le corps est agressé (cigarette, pollution, infections...etc.) (**Houas, 2022**). La capacité antioxydante peut être évaluée *in vitro* aussi bien par piégeage des radicaux libres que par chélation des métaux largement connus pour être impliqués dans les réactions radicalaires. Le resvératrol permet de piéger l'anion superoxyde qui est une espèce souvent à l'origine des dégâts oxydatifs. Aussi, il permet, à des concentrations micromolaires, d'inhiber l'oxydation des vésicules lipidiques ou des lipoprotéines de faible densité (**Benayahoum, 2013**).

Le stress oxydatif est un processus chimique qui peut entraîner des radicaux libres et des événements en cascade qui pourraient endommager les cellules d'un organisme. Ces radicaux sont combattus par des substances appelées antioxydants (**Ángel et Carbonell, 2017**). Il se produit lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires (ROS) et la capacité de défense antioxydante de l'organisme. Ce mécanisme favorise la survenue de certaines pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré (**Krache, 2015**).

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder, prévenir, neutraliser ou de réduire les dommages de l'oxydation de ces substrats et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO (**Nedjar, 2019**).

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (SOD, Catalase, Hème oxygénase, peroxyrédoxine...etc.), de molécules antioxydantes de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone...etc.), et de protéines (transferrine, ferritine...etc.). Enfin, un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxyprotéinases empêchent l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (**Belmokhtar, 2015 ; Athamena, 2021**).

Les études phytochimiques sur les espèces de *T. polium* ont montré la présence de divers composés bioactifs qui sont principalement les flavonoïdes et les diterpénoïdes néoclérodanés, particulièrement les furano néoclérodanés (**Maizi, 2021**). Ljubuncic *et al.* (2006) ont montré que l'HE de germandrée avait une meilleure activité que le BHT, un antioxydant habituellement utilisé dans l'industrie alimentaire. Cette activité peut être attribuée à la présence de polyphénols qui agissent comme des réducteurs (**Ljubuncic et al. 2006**).

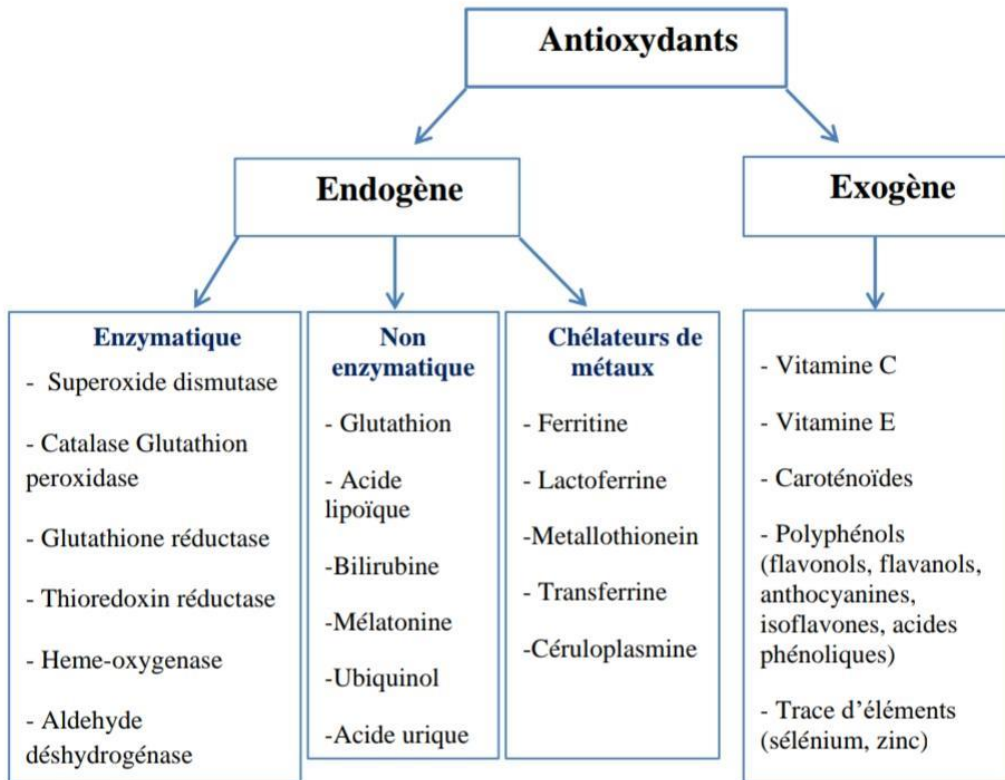


Figure 10. Les antioxydant endogènes et exogènes (El Atki ,2020).

III. Activité antimicrobienne

Un agent antimicrobien désigne une substance chimique comme un médicament, utilisé pour le traitement d'une maladie causée par un microorganisme, qui détruit l'agent pathogène sans endommager les tissus de l'organisme. Le plus souvent l'agent antimicrobien est un antibiotique (Nedjar, 2019). L'activité antimicrobienne des extraits des plantes a formé la base de beaucoup d'application y compris la thérapie naturelle, la pharmacologie et la conservation des aliments (Sagdiç et al., 2002). Le mécanisme de l'effet antimicrobien est sans doute très complexe, et peut impliquer de multiples modes d'actions tels que l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer, l'inhibition du métabolisme microbien, la dégradation de la paroi cellulaire, la perturbation de la membrane cytoplasmique (ce qui cause une fuite des composants cellulaires), l'influence sur la synthèse de l'ADN et de l'ARN, des protéines et des lipides (Aissani, 2022). Il apparaît un effet antibactérien de la plante *Teucrium polium* sur différentes souches bactériennes Gram positif ou négatif. Cette efficacité est due à la présence des flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires réputés pour leurs effets antibactériens (Hammoudi et al., 2018).

Le profil chimique obtenu de HE des feuilles de *T. polium* est dominé par les hydrocarbures mono et ses quiterpéniques et les alcools monoterpéniques. Ces composés pourraient être directement responsables de cet intéressant pouvoir antimicrobien. La synergie de ces composés actifs, y compris les constituants minoritaires, peut également limiter le risque de résistance des souches (Touaibia, 2021).

IV. L'activité antiinflammatoire

L'inflammation est considérée comme le phénomène prédominant dans toutes les pathologies. C'est une réaction normale du corps qui se protège en cas de lésions (Boungou-Tsona, 2023). Leur traitement est souvent basé sur l'apport des antiinflammatoires, non stéroïdiens (AINS) et des glucocorticoïdes (AIS : antiinflammatoires stéroïdiens). Ces molécules présentent des effets secondaires néfastes à l'organisme surtout en cas d'utilisation à longue durée, particulièrement dans le traitement des inflammations chroniques (Aissani, 2022). L'effet antiinflammatoire de l'extrait méthanolique de *T. polium* a été évalué en se basant sur la mesure de l'œdème de l'oreille induit par le PMA chez les souris comme modèle d'inflammation aiguë. L'application locale du PMA a induit une réponse inflammatoire de longue durée, résultant probablement de l'activation de la protéine kinase C (Krache, 2015). Tariq *et al* (1989) ont induit une inflammation aiguë sur les rats par le carraghénine et le traité par l'extrait éthanoïque de *T. polium*. Selon Muhammed (2011), L'infusé de la partie aérienne de *Teucrium polium* (*L.*) est utilisé pour son effets: antiinflammatoire; contre la jaunisse, l'anorexie, mais aussi contre les coliques spasmodique et gastrique.

V. Activité antidiabétique

Le diabète est une maladie fréquente, connue depuis XXI^{ème} siècle. C'est une pathologie métabolique, caractérisée par une hyperglycémie chronique. Les plantes médicinales ou leurs extraits utilisés dans le traitement du diabète peuvent agir par différents mécanismes en raison de la présence d'une grande variété de classes chimiques et de constituants hypoglycémiant (Mbodj, 2009 ; El Kabbaoui, 2019). L'extrait aqueux de *T. polium* a montré un effet hypoglycémiant chez les rats. La propriété insulinothropique de cet extrait a été encore évaluée, *in vitro*, en utilisant des îlots pancréatiques de rat. Les données ont indiqué que l'extrait brut aqueux est capable de réduire le taux du glucose sérique principalement en augmentant la sécrétion d'insuline par le pancréas par comparaison aux

îlots témoins. Cependant, les composés responsables de l'activité hypoglycémique ne sont pas encore élucidés (Mellouk, 2021).

VI. Activité anticancéreuse et antitumorale

Le terme « cancer » désigne la prolifération des cellules de façon incontrôlée et qui envahissent le tissu sain. Il existe plus de deux cents types de cancers différents. On distingue les tumeurs solides, qui se développent à partir des cellules d'un organe et qui forment une masse ou un nodule (le cancer du sein), et les cancers qui prennent naissance dans le système sanguin ou lymphatique (les leucémies, par exemple) (Bendif, 2017).

Récemment, l'identification, la caractérisation et le développement de molécules chimiothérapeutiques naturelles possédant des propriétés anticancéreuses est devenu un domaine majeur de la recherche sur le cancer (Johnson et Mukhtar, 2007). Donc, l'attention a été déplacée vers les composés naturels qui sont capables d'arrêter le développement des tumeurs (Bendif, 2017). Il a été montré que l'extrait décocté des feuilles de *T. polium* a un effet sur le cancer du foie. *Teucrium polium* peut également inhiber l'invasion cellulaire et les capacités de métastase des cellules cancéreuses de la prostate humaine grâce à la restauration du complexe E-Cadhérine/ Caténine. En outre, elle peut provoquer une apoptose massive dans deux lignées de cellules cancéreuses des poumons humains (Mellouk, 2021). Par ailleurs, cette plante peut inhiber le cancer gastrique. En effet, les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont l'un des nanomatériaux les plus fréquemment utilisés dans les domaines industriels et biomédicaux en raison de leur stabilité chimique, de leur bonne biocompatibilité, de leurs propriétés antimicrobiennes et anticancéreuses, de leur conductivité électrique élevée et de leurs excellentes propriétés optiques ; en utilisant l'extrait de feuille de *Teucrium polium* pour produire ces nanoparticules d'argent stables. Ces dernières présentent une activité anticancéreuse significative contre la lignée cellulaire de cancer gastrique humain MNK45 (Holmström et Finkel, 2014).

VII. Activité antiviral

Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques des HEs telles que les monoterpénols et les monoterpénals. L'effet antiviral de l'HE de *Mentha piperita* a été étudié « *in vitro* » contre les virus de Herpès Simplex (HSV-1 et HSV-2), une inhibition de 50% est obtenue avec des concentrations entre 0.002 % et 0.008 % (Oukaour et Oukala.,

2018). Les antiviraux semblent être intéressants pour stopper une des étapes du cycle viral, notamment au cours de la phase précoce de la maladie (Matusik et al., 2020).

Tableau 4: Principales actions pharmacologiques des parties aériennes de *T. Polium* (Krache, 2015).

Activité	Mécanisme	Principes actifs
Antioxydante	Inhibition des processus oxydatifs <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> (DPPH, FRAP, TAP et TBARS).	Polyphénols et flavonoïdes
Antibactérienne et antifongique	Contre les bactéries Gram positive (<i>B. cereus</i> , <i>L. monocytogens</i> , <i>S. aureus</i>) et Gram négative (<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. hydrophila</i> , <i>S. typhimurium</i>)	Huiles essentielles
Antinociceptive et antispasmodique	Propriétés antiscérols contre la douleur comparable à ceux de l'hyoscine et de l'indométhacine.	Flavonoïdes et stérols
Anti-inflammatoire		Sesquiterpènes et huiles essentielles
Antipyrétique	Inhibition de la synthèse des huiles essentielles, prostaglandines au niveau périphérique et la formation d'œdème	Huiles essentielles
Hypoglycémiant et hypolipidémique	Réduction du taux du glucose sérique en Ne sont pas encore élucidés augmentant la sécrétion d'insuline par le pancréas	Ne sont pas encore élucidés

Antitumorale	Inhibition de la génération de colonies, de quelques lignées cellulaires, réduction des index mitotiques et suppression leurs croissance sur des cultures primaires des hépatocytes des rats .	Furano-diterpenoides
---------------------	--	----------------------

Etude expérimentale



Chapitre I : *Matériel et Méthodes*



L'étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de Biologie de l'université Abbès Laghrour - Khenchela - durant la période du 21 avril 2024 au 15 mai 2023. Elle a été faite en deux parties :

❖ **Partie phytochimique**

✓ Préparation de trois extraits : méthanolique (EMPG), aqueux de la poudre de partie aérienne de *Teucrium polium*.

✓ Réalisation des tests photochimiques sur les différentes préparations.

✓ Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

❖ **Partie biologique** : Consacrée à :

✓ Etude de certaines activités biologiques des trois extraits : activité antioxydante, activité anti-inflammatoire et activité antibactérienne.

I. Matériel

I. 1. Matériel biologique

I.1. 1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante *Teucrium polium L* qui a été récolté de la région Ain Mimoune (Khenchela) en mars 2024.

I.1.1.1. Récolte et préparation

Les feuilles sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré et à température ambiante pendant quelques jours, puis le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur et pesé. Le poids de la poudre obtenue était de 80 g. La poudre est stockée dans des récipients en verre jusqu'à son utilisation en laboratoire.

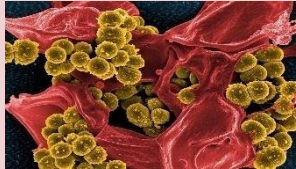





Figure 11. La partie aérienne de *Teucrium polium* séchée et la poudre après broyage (Photo personnelle).

I.1.2. Souches bactériennes

Afin de tester le potentiel antibactérien *in vitro* de l'extrait méthanolique et de l'extrait aqueux de la plante *Teucrium polium*, quatre souches bactériennes ont été utilisées. Les souches ont été obtenues auprès du laboratoire pédagogique de l'université Abbès Laghrour -Khenchela-.

Tableau 6 : Souches bactériennes utilisées dans l'activité antibactérienne.

Microorganismes	Gram	Code	Photo
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Positif	ATCC 25923	
<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	ATCC 23857	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	
<i>Escherichia coli</i>	Négatif		

I.1.3. Réactifs chimiques et équipements

Le tableau 6 représente les réactifs chimiques et les instrumentations utilisés.

Tableau 06 : Réactifs chimiques et instrumentations utilisés.

Réactifs chimiques et solvants	Matériel	Appareillage utilisé
Méthanol CH ₃ OH	Bécher	Balance (KERN PCB)
Acide chlorhydrique HCL	-Eprouvette graduée	-Agitateur magnétique
-Hydroxyde d'ammonium NH ₄ OH	-Pissette d'eau	(SCIOLOGEX)
-chlorure de fer (FeCl ₃)	-Spatule	-Evaporateur rotatif (ou rotavap, ou rotavapor)
-hydroxyde de sodium (NaOH)	-Erlenmeyer	-Etuve universelle de 5 à 220°C avec ventilation
- Anhydride acétique C ₄ H ₆ O ₃	-Ballon à fond rond	(MEMMERT)
- Acide sulfurique H ₂ SO ₄	-Cristalliseur	-Réfrigérateurs (Liebherr)
-Solution de Fehling (solution A et solution B)	-Boîte de Pétri en verre	-Bain Marie (nive bath, MEMMERT)
- Chloroforme CCl ₄	-Fiole jaugée	-Balance analytique (OHAUS)
-Réactif Mayer	-Flacons	-Chambre d'observation UV « 264/365 nm »
-Réactif Wagner	-Verre de montre	(VILBER LOURMAT)
- Acétate d'éthyle C ₄ H ₈ O ₂	-Tubes à essai + Support	-Plaque chauffante (LabTech)
- Acide formique (ou l'acide méthanoïque) CH ₂ O ₂	-Papier filtre	-Vortex (VELP)
-Acide acétique glacial (ou L'acide éthanoïque) C ₂ H ₄ O ₂	-Montier et pilon	-Autoclave (Raypa)
-réactif de Folin-Ciocalteu	-Pipette graduée	
-Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)	-Micropipette	
-Trichlorure d'aluminium AlCl ₃	- Les embouts en plastique, blanc, jaune, bleu	
-tampan	-Tube Eppendorf	
- 2'-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH)	-Boites de pétri	
	-Anse d'inoculation	
	-Parafilm	
	-Bec bunsen	

- La gélose nutritive
- La gélose Mueller Hinton
- BSA
- Eau physiologie
- Diméthylsulfoxyde (DMSO)

II. Méthodes

De différentes méthodes ont été utilisées pour la réalisation de ce travail, de la préparation des extraits aqueux et méthanolique, passant par l'étude qualitative qui a été réalisée par un screening photochimique, l'étude quantitative qui a été effectuée par le dosage des flavonoïdes et des polyphénols, jusqu'à l'évaluation *in vitro* des activités antioxydante, antibactérienne et antiinflammatoire des différents extraits.

II.1. Préparation des extraits

II.1.1. Préparation de l'extrait méthanolique

La préparation de l'EMPG est réalisée par macération à froid de 40 g de poudre végétale (la poudre de *Teucrium polium*) qui est mélangée avec 200 ml d'une solution hydroalcoolique (8 : 2 V/V), c'est-à-dire (méthanol 160 ml /eau distillée 40 ml) dans un bécher, puis un barreau magnétique est ajouté.

La préparation a été couverte par un parafilm et le bécher entier par un papier d'aluminium, le tout est placé sur un agitateur magnétique pendant 24 heures à température ambiante. Après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre, l'extrait a été évaporé à sec sous pression réduite à 40°C grâce à un évaporateur rotatif, puis séché dans l'étuve à 50°C pour obtenir un extrait assez dense. L'extrait est ensuite conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

II.1.2. Préparation de l'extrait aqueux

Une quantité de 40 g de poudre de la plante a été mélangée dans 200 ml d'eau distillée. La solution a été ensuite chauffée à ébullition et maintenue sous agitation pendant 15 min. Après refroidissement, la solution a été filtrée sur papier wattman.

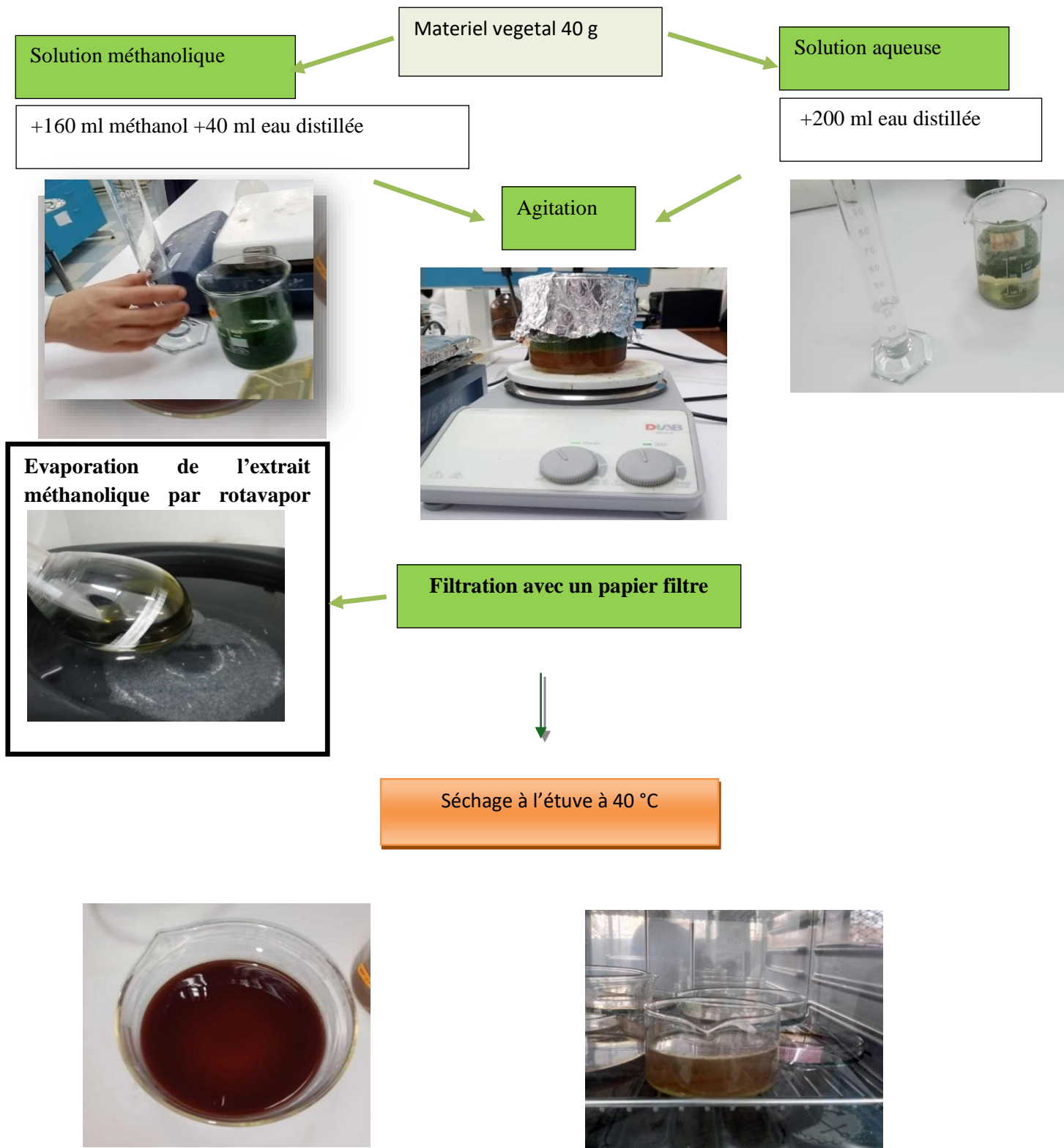
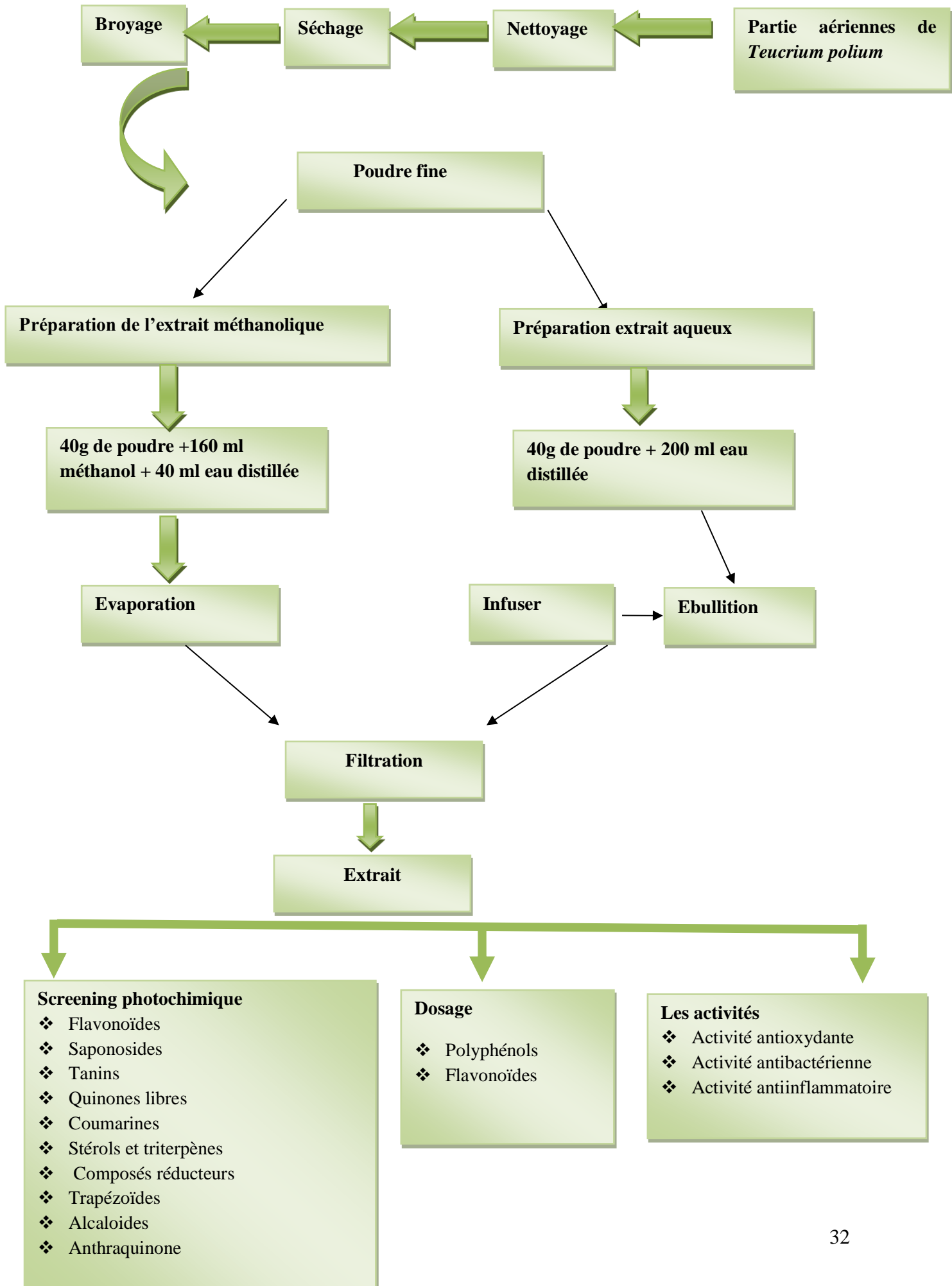


Figure 12: Les étapes de la préparation des deux extraits méthanolique et aqueux.



➤ Le rendement

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = m_0/m_1 \times 100$$

m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé (g).

m_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche (g).

II.2. Screening photochimique

Le screening photochimique est un ensemble de tests effectués soit sur la poudre, soit sur l'infusé à 5 %. Ces tests nous permettent d'avoir une idée sur la présence ou l'absence de certains métabolites primaires et secondaires chez les deux plantes. Les molécules mises en évidence sont les polyphénols totaux (Tanins totaux, galliques et catéchiques, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les flavonoïdes, les coumarines), les composés terpéniques (Saponosides, caroténoïdes), les composés azotés (Alcaloïdes), les composés glucosides (Irridoïdes), les composés réductifs (Mucilages), les quinones, les protéines, les stérols et polyterpènes, les sucres réducteurs, les glucides, l'amidon et les lipides (Bouchenak et al., 2020).

Chacun des tests a été appliqué aux deux extraits méthanolique et aqueux a été répété trois fois pour vérifier l'exactitude des résultats.

❖ Flavonoïdes : test de Shinoda

Dans un bécher, nous avons macéré 10 g de poudre sèche dans 150 ml de HCL dilué (1 %), recouvert le bécher du parafilm, l'avons enveloppé dans du papier d'aluminium et laissé sur un agitateur magnétique pendant 24 heures. Ensuite, on filtre le mélange et on continue avec le test suivant : on prend 10 ml du filtre et on ajoute des gouttes de NH_4OH à 10 % pour le rendre basique. L'apparition d'une couleur jaune en haut du tube indique un test positif.

❖ Saponosides : Test de mousse

Dans un tube à essai, nous avons mis 10 ml d'extrait méthanolique qui a été vigoureusement agité avec de l'eau distillée pendant 15 secondes. L'apparition de mousse qui persiste pendant 15 min confirme la présence de saponines. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence de saponines.

❖ **Tanins**

Pour la détermination des tanins, 2 ml d'extrait a été placé dans un tube à essai, du réactif de chlorure ferrique (FeCl_3 à 1 %) (0,5 ml) a été ajouté. Un précipité bleu-noir ou vert foncé confirme la présence des tanins.

❖ **Quinones libres**

Dans un tube à essai, nous ajoutons 0,5 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) dilué à 1 %, à 5 ml d'extrait. Le virage de la couleur de jaune au rouge ou violet témoigne de la présence des quinones.

❖ **Coumarines : Fluorescence UV**

On prépare deux tubes à essai, dans le premier on introduit 0,5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) dilué à 10 % avec 1 ml de l'extrait, et dans le deuxième on prépare un extrait non traité au NH_4OH pour servir de témoin. Après dépôt d'une goutte sur un papier filtre, l'apparition d'une fluorescence intense sous lumière ultraviolette (366 nm) indique la présence de coumarines.

❖ **Stérols et triterpènes : Test de Liebermann-Burchard**

Dans un tube à essai, nous mettons 5 ml d'extrait et y ajoutons 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés au mélange. Après agitation, l'apparition à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis à vert, indique une réaction positive.

❖ **Composés réducteurs**

Dans un tube à essai, 1 ml de l'extrait a été mélangé avec 2 ml de solution de Fehling (1 ml de solution A et 1 ml de solution B), suivi d'une incubation dans un bain d'eau bouillante pendant 8 minutes. Un précipité rouge brique indique un test positif.

❖ **Terpénoïdes : test de Salkowski**

Nous avons rajouté 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. La présence de la couleur brune rougeâtre à l'interface indique la présence des trapézoïdes.

❖ Alcaloïdes

Des tests de détermination des alcaloïdes par des réactions de précipitation en présence de réactifs alcaloïdes ont été réalisés (Meyer et Wagner). Dans un bécher, des gouttes d'acide chlorhydrique dilué à 1 % ont été ajoutées à 1 ml d'extrait, puis la solution a été divisée en deux parties égales dans deux tubes, en ajoutant 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube, et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le deuxième tube. Un précipité blanc/brun s'est formé, indiquant la présence d'alcaloïdes.

La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels.

❖ Anthraquinones

5 ml d'extrait a été mélangé avec 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH dilué à 10 %). Le mélange a été soumis à une agitation dans laquelle la présence des anthraquinones est confirmée par l'apparition d'une couleur violette.

II.3. Dosage des polyphénols totaux

A. Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (**Singleton et Ross, 1965**) en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 μl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 μl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 $\mu\text{g/ml}$) (**Ali-Rachedi et al., 2018**).

B. Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux dans les deux extraits (Extrait méthanolique et extrait aqueux) est effectué par la méthode de Folin Ciocalteu. Le protocole de dosage est présenté dans la figure 3.

C. Expression des résultats

La concentration de polyphénols totaux présents dans les deux extraits a été calculée à partir de l'équation de régression pour la gamme de titrage spécifiée dans l'étalon de référence, car il a été déterminé avec des concentrations précises d'acide gallique. Le résultat est exprimé en microgrammes, équivalent à l'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$).

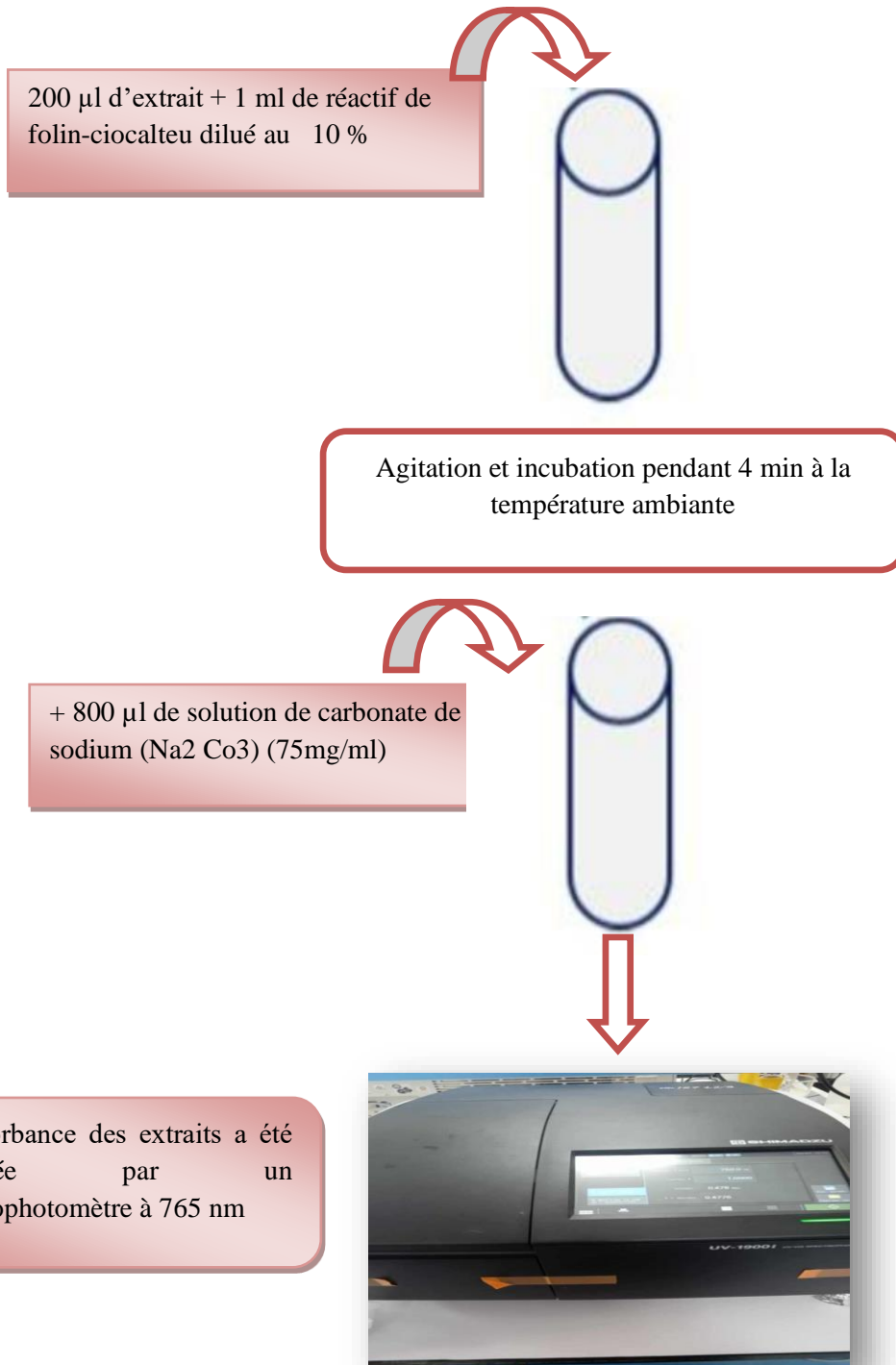


Figure 13 : Mode opératoire de dosage des polyphénols

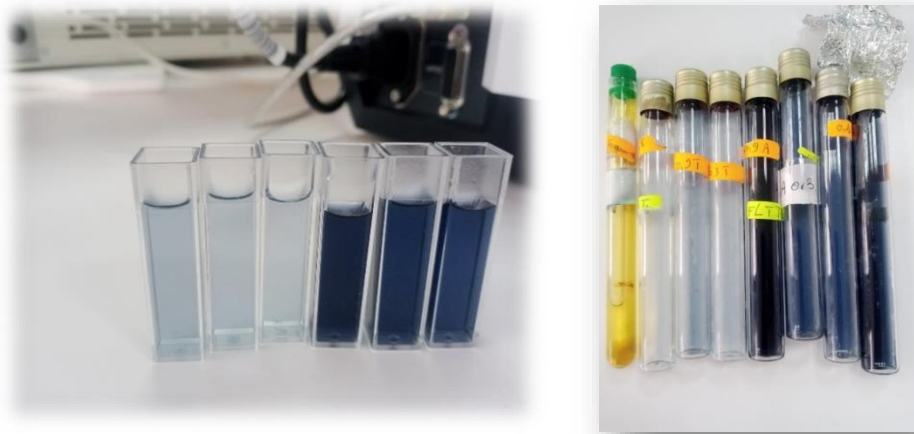


Figure 14. Photos de dosage des polyphénols (Photo personnelle).

II.4. Dosage des flavonoïdes

Cette technique spectrophotométrique basée sur la formation de complexes d'aluminium est l'une des techniques les plus utilisées pour la détermination des flavonoïdes totaux. Ceci est dû à la simplicité, rapidité, la reproductibilité et la rentabilité de la technique.

La quantification des flavonoïdes a été évaluée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$), en utilisant la loi de Beer-Lambert (Messast, 2021). Soit : $A = \epsilon lc$

A : Absorbance.

E : Coefficient d'absorption molaire en $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

L : Largeur de cuve en cm.

C : Concentration de la solution en mol/L.

A. Principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm. Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5, qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Medjoub et Ouasali, 2022).

B. Mode opératoire

La solution d' AlCl_3 est préparée en dissolvant 1 mg de poudre d' AlCl_3 dans 50 ml de méthanol, en suivant la méthode consistant à verser le méthanol progressivement et en diagonale, pas en une seule fois, là où il touche la paroi du bécher, afin de réduire les collisions chimiques. Le protocole de dosage est présenté dans la figure 15 :

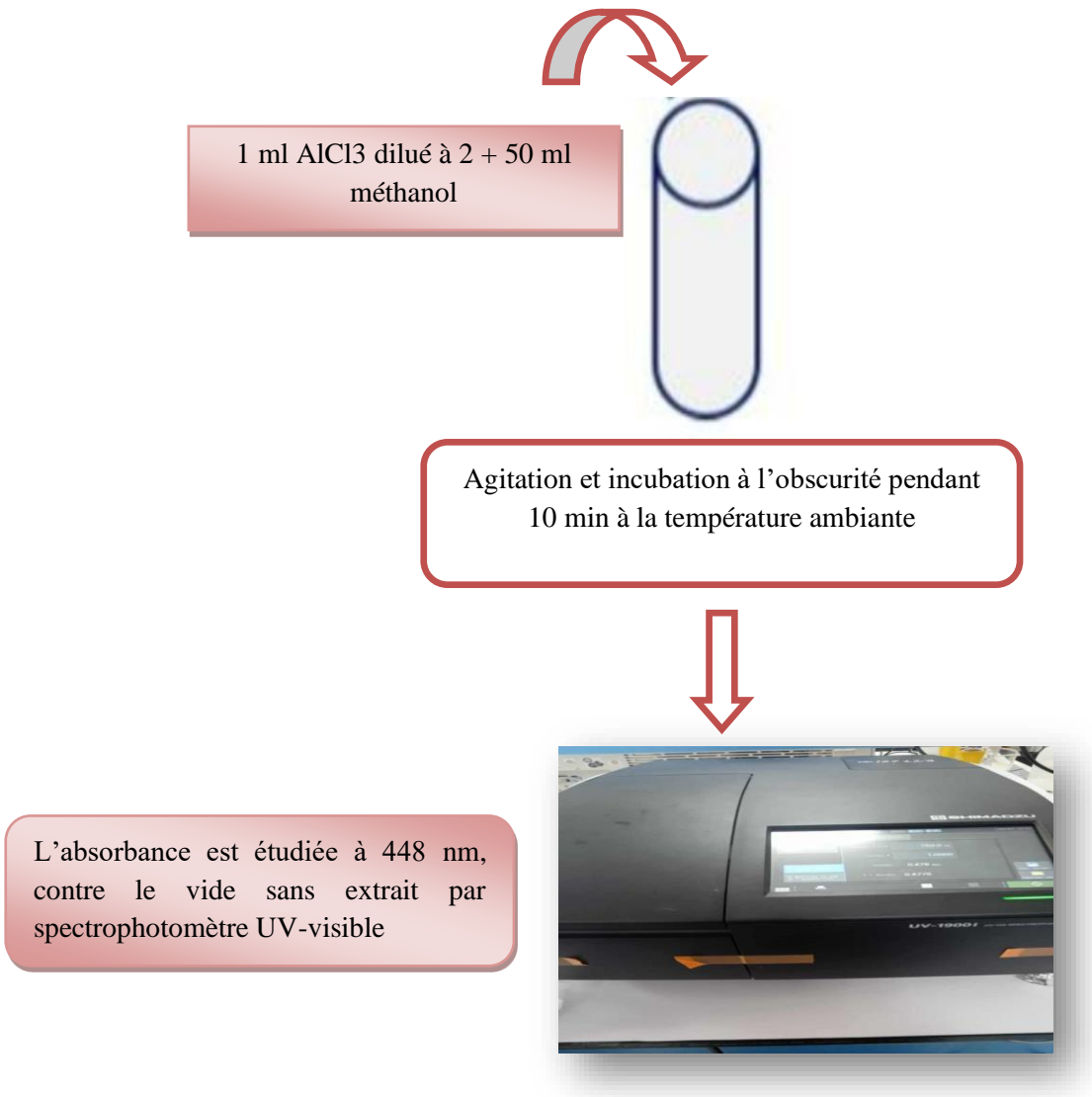


Figure 15 : Protocole du dosage des flavonoïdes.

C. Expression des résultats

Selon une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = ax + b$) qui a été produite par un étalon de référence « quercitrine » avec différentes concentrations, la quantité de flavonoïdes a été déterminée. Les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).

II.6. Evaluation de l'activité antioxydante (Test de piégeage du radical libre DPPH)

Le principe de ce test se résume à la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (Merouane et al., 2014).

En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables.

Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule (Laraba et al., 2016).

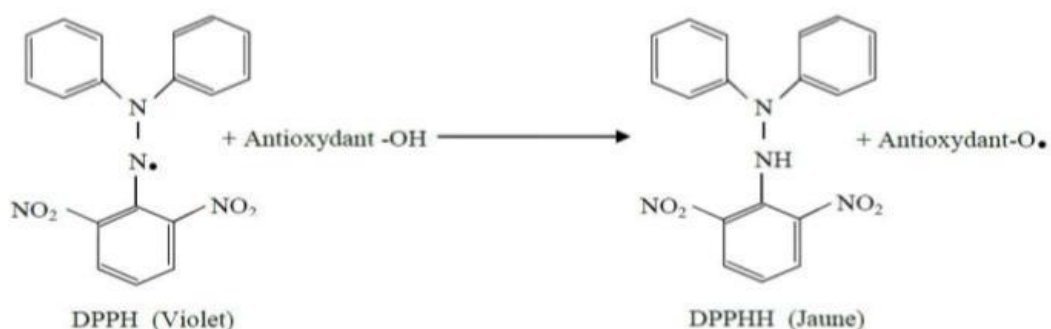


Figure 16: Equation du radical DPPH transformé en DPPH (Laraba et al., 2016).

B. Mode opératoire

Le DPPH• 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (C₁₈H₁₂N₅O₆) a été solubilisé dans du méthanol absolu pour avoir une solution de 100 ml. A partir d'une solution mère méthanolique et aqueuse de C₁ = 1 mg/ml de l'extrait, les dilutions suivantes ont été préparées : C₂ = 0,7 mg/ml, C₃ = 0,5 mg/ml, C₄ = 0,3 mg/ml, C₅ = 0,1 mg/ml. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. 100 µl de chacune des différentes concentrations des extraits ont été incubés avec 900 µl d'une solution méthanolique de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes, les densités optiques des mélanges réactionnels ont été mesurées par le spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par le méthanol. Le Protocole de piégeage du radical libre DPPH est présenté dans les figures 17.

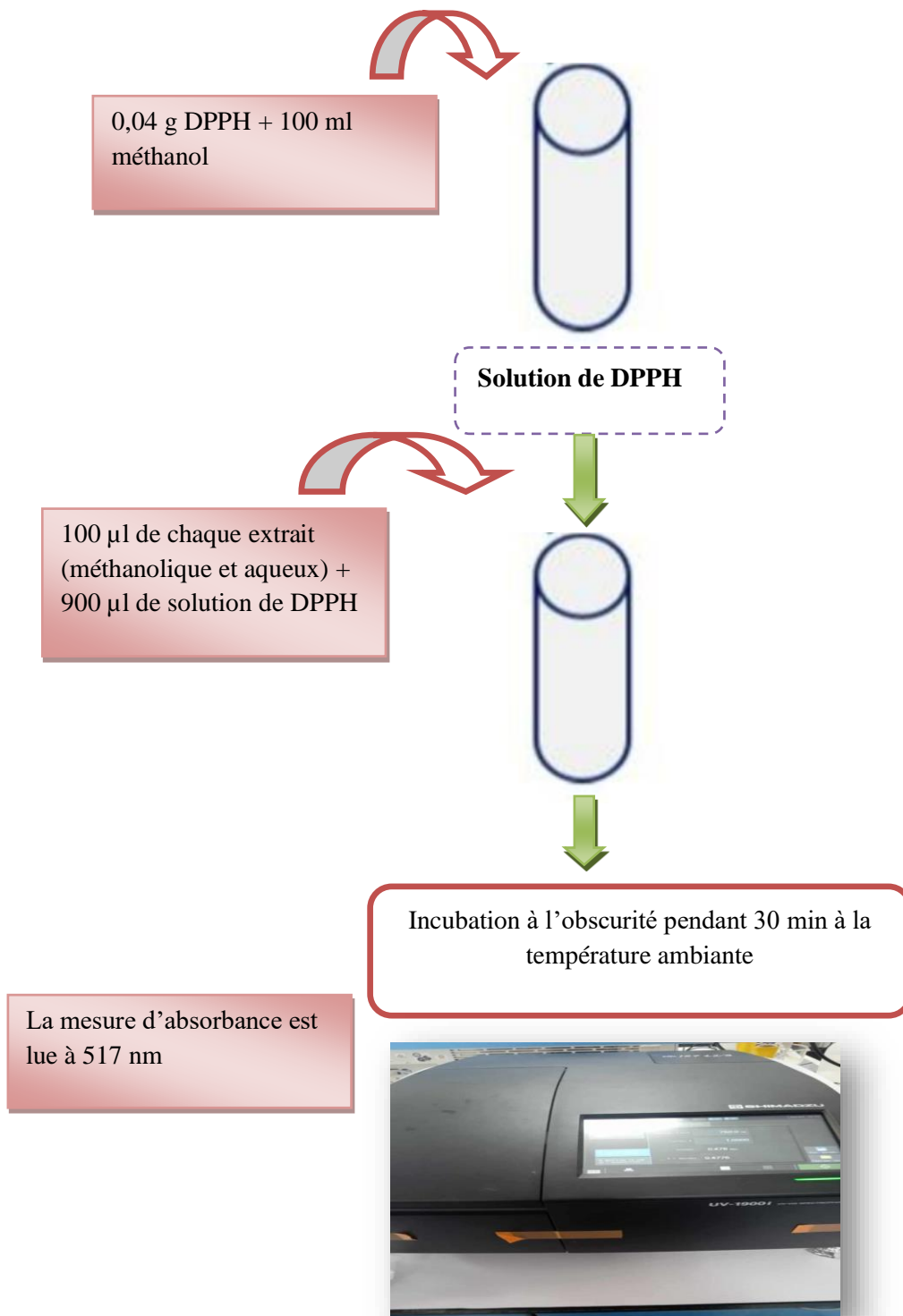


Figure 17: Protocole de piégeage du radical libre DPPH.



Figure 18. Les tubes de test DPPH.

C. Expression des résultats

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (% PI). Le % PI du DPPH• a été calculé selon la formule suivante :

$$\%PI \text{ du DPPH} = ((\text{Abs blanc} - \text{Abs test}) / \text{Abs blanc}) \times 100$$

- ❖ Abs Blanc : Absorbance du contrôle négatif lue à 517 nm.
- ❖ Abs test : Absorbance de l'échantillon lue à 517 nm.

II.6. Evaluation de l'activité antibactérienne

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition, et en fonction du diamètre. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (**Bouyahya et al., 2017**).

II.6.1. Méthode d'évaluation (méthodes des disques)

L'étude du pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique et aqueux par cette méthode est identique à celui de l'antibiogramme.

L'antibiogramme bactérien est réalisé par diffusion en milieu gélosé, aussi appelée méthode du disque (Figure 19), son principe est d'inspiration antibiotique dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne par diffusion de l'extrait dans le milieu solide (création d'un gradient de concentration entre le composé et le micro-organisme cible dans une boîte de pétri stérile).

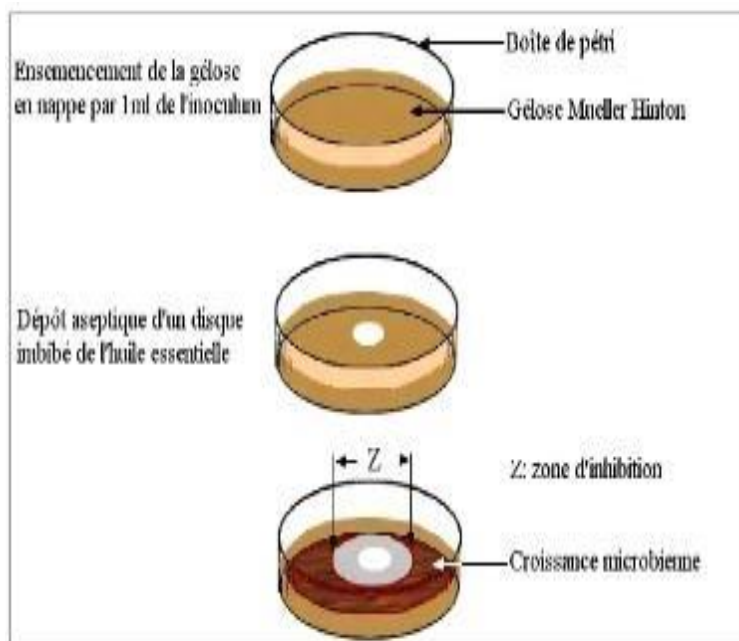


Figure 19. Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé.

A. Préparation pré culture

➤ Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antibactériens sont les suivants :

- ❖ La gélose nutritive pour l'isolement des souches bactériennes.
- ❖ La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux huiles essentielles par la méthode de diffusion sur disque.

➤ Stérilisation des matériels

Dans un autoclave à 121°C pendant 30 minutes, nous avons stérilisé l'eau physiologique et les tubes à essai qui sont utilisés pour préparer les solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium, les flacons contenant des milieux de culture (GN et MH).

B. Repiquage des souches bactériennes

L'activité antibactérienne a été réalisée sur des cultures jeunes en phase de croissance exponentielle, alors le repiquage des 4 souches bactériennes « *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* » est effectué en prenant un volume couvrant la boucle de l'anse de platine de chaque culture que l'on a ensemencé par la méthode des stries sur des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive (GN), tout en travaillant dans des conditions aseptiques. Puis incubées à 37 °C pendant 24h.

C. Préparation de la suspension bactérienne

Après une incubation à une température de 37°C pendant 24h.

- ❖ A l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies de souches cibles, bien isolées ont été prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 h sur milieu gélosé Mueller Hinton (MH).
- ❖ Puis déchargées dans de l'eau physiologique et homogénéisées à l'aide d'un vortex ; la suspension bactérienne est standardisée à 10⁸ UFC/mL.



Figure 20. Préparation de la suspension bactérienne.

C. Ensemencement

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé Mueller Hinton en surfusion a été coulé aseptiquement à raison de 20 à 25 ml par boîte. Après solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et étalé à la surface de la gélose à deux reprises, en tournant la boîte à environ 60 °C après chaque application dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum.

Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de pétri à 60 °C à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



Figure 21. Photos du procédé de l'ensemencement (**Photo personnelle**).

D. Application des disques

L'opération d'application des disques au niveau de boîtes de Pétri est résumée dans les étapes suivantes :

- Des disques de papier filtre de diamètre 6 mm sont imprégnés de l'ordre de 15 μ l d'extraits (méthanolique et aqueux) à deux différentes concentrations (200 mg et 300 mg) repris dans 1 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO).
- Préparer les disques de contrôle négatif imprégnés de diméthylsulfoxyde (DMSO).
- Les disques imprégnés de nos extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose à l'aide de pinces stériles. Il en est de même pour les disques du contrôle.

E. La lecture

Après 24 heures d'incubation, mesure à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

La sensibilité des souches aux différents agents antimicrobiens a été classifiée par le diamètre de la zone d'inhibition comme suit :

1. Souche résistante : (-, $D < 8$ mm).
2. Souche sensible : (+, $9 \text{ mm} \leq D \leq 14$ mm).
3. Souche très sensible : (++, $15 \text{ mm} \leq D < 19$ mm).
4. Souche extrêmement sensible : (+++, $D \geq 20$ mm).

II.7. Evaluation *in vitro* de l'activité antiinflammatoire

II.7.1. Inhibition de la dénaturation protéique (Albumine humaine)

A. Principe

La dénaturation affecte presque toutes les propriétés physico-chimiques des molécules ; elle varie considérablement avec les divers agents physiques et chimiques qui l'entraînent et aussi selon le caractère et la concentration des solutions protéiniques. Cette dénaturation est souvent associée à une inflammation ; par conséquent, l'inhibition de la dénaturation des protéines a été largement utilisée comme modèle de dépistage *in vitro* pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire (Lanseur, 2017).

B. Mode opératoire

L'effet inhibiteur *in vitro* des huiles essentielles de *Teucrium polium* a été déterminé en utilisant la méthode décrite par (Habibur et al., 2012) avec certaines modifications.

➤ Coréalisation du test

On prépare des solutions de 0.5 ml qui consistent en 0,45 ml de solution d'albumine humaine à 2 % et 0.05 ml des différentes concentrations croissantes des huiles essentielles et du standard : le diclofénac, qui est un médicament anti-inflammatoire. Les échantillons ont été incubés à 37 °C dans le bain marie pendant 20 min, puis à 57 °C pendant 30 min. Après

refroidissement des échantillons ; 2.5 ml du tampon phosphate (pH =6.3) a été ajouté à chaque tube. Pour le contrôle, on utilise 0.05 ml de l'eau distillée à la place de l'HE et du standard (Figure 12). La turbidité de la solution d'albumine est suivie par la lecture de l'absorbance à 660 nm.

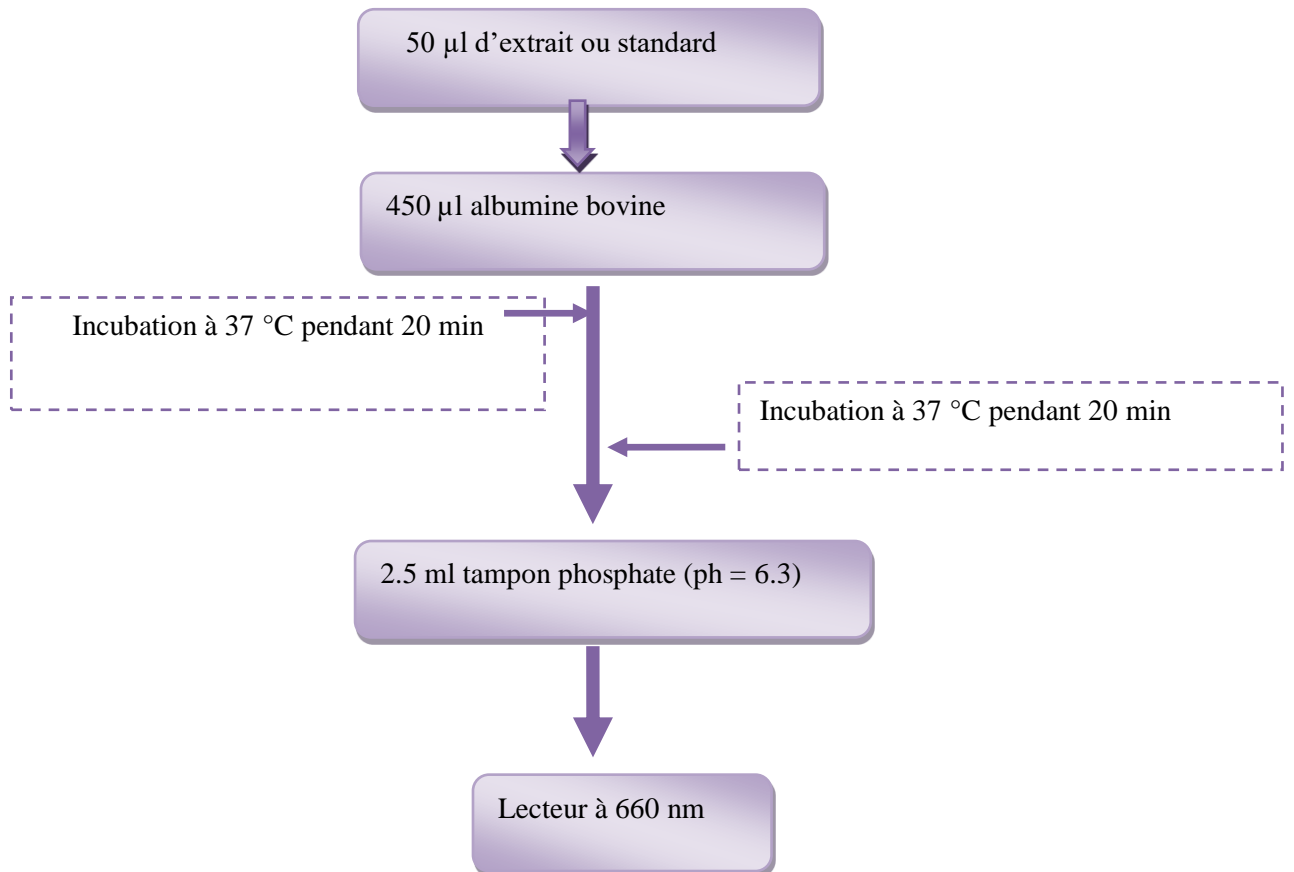


Figure 22 : Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (Habibur *et al.*, 2012).

C. Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule suivante:

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs T}}{\text{Abs C}} \times 100$$

Où :

Abs C : Absorbance de contrôle.

Abs T : Absorbance de test

II.8. Etude statistique

Toutes les expériences ont été faites en triple. Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm Ecart-type, où une analyse des données a été menée à travers le test t de Student, le principe consistant à comparer les différents extraits par rapport à l'EMPG selon le logiciel MINITAB (Version 13.31). Les différences s'expriment comme suit :

- ✓ Significatives : lorsque ($P \leq 0,05$).
- ✓ Hautement significative : lorsque ($P \leq 0,01$).
- ✓ Très hautement significative : lorsque ($P \leq 0,001$).

Chapitre II : Résultats et Discussion



I. Etude phytochimique

I.1. Rendements des extraits

Deux extraits, méthanolique et aqueux ont été préparés à partir de la plante *Teucrium polium* L. La macération pendant 24 heures de la partie aérienne a donné les rendements montrés dans le tableau 08.

Tableau 8: Le rendement de deux extraits de la partie aérienne de *Teucrium Polium* L.

Les extraits	Le poids du matériel végétal en (g)	Le poids des extraits en (g)	Le rendement en (%)
Extrait méthanolique	40	3.51	8.55
Extrait aqueux	30	5.6	17.33

Les rendements représentés dans le tableau ci-dessus sont illustrés sous forme d'un histogramme permettant de faire une comparaison entre les rendements des deux extraits de la partie aérienne de *Teucrium polium* (**Figure 23**) :

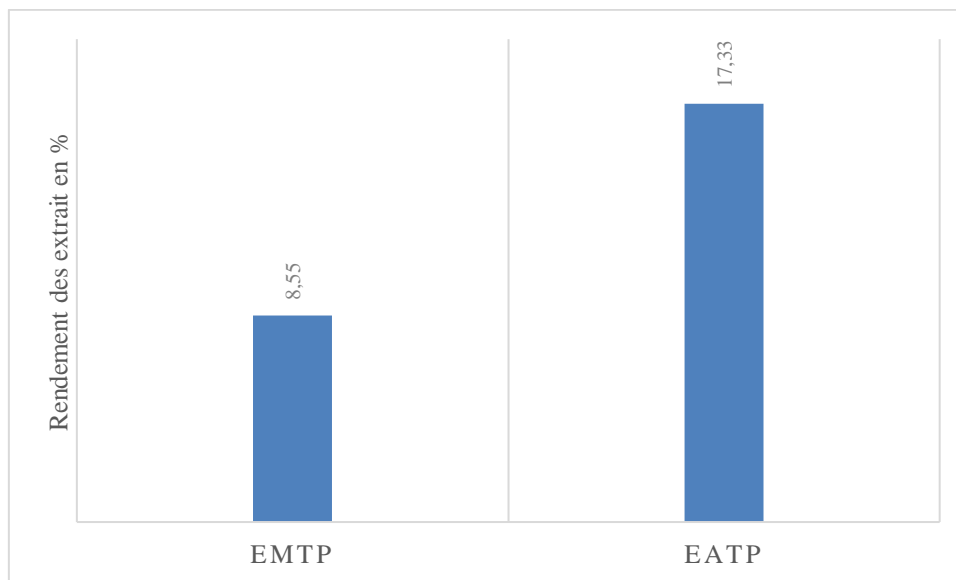


Figure 23. Rendements des extraits de *Teucrium polium*

La méthode d'extraction doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique. Les solutions hydroalcooliques sont généralement utilisées pour l'extraction (**Bouchiba et al., 2020**). L'utilisation de solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction.

Nos échantillons de *Teucrium polium L* ont été récoltés le mois de mars 2024 dans la région de Ain Mimoune (wilaya de Khenchela), ont fourni à partir de la préparation des EMTP et EATP, un taux de rendement de 8.55 % pour l'EMTP et de 17.33 % pour l'EATP.

Le résultat du rendement de l'extrait méthanolique obtenu est largement inférieur par rapport aux résultats obtenus par **Chibani et al., (2022)** qui montrent un rendement d'extraction de 18.95 %, et ceux obtenus par **Hadjeba et Kadour, (2019)** qui ont trouvé un taux de rendement égal à 15,85 %. En revanche, nos résultats concordent avec ceux de **Krache et al., (2017)** qui ont montré que le rendement d'extrait méthanolique est de 8,24 %.

Pour l'extrait aqueux, nos résultats sont cohérents avec les résultats de **Merdji et Zemmit, (2020)**, qui montrent que l'extrait aqueux possède un rendement de $(17.44 \pm 1.1 \text{ mg/g})$.

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal, dont la variation du rendement est en fonction de la technique d'extraction utilisée (**Chibani et al., 2022**).

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

I.2. Tests phytochimiques

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires (alcaloïdes, anthraquinones libres, triterpènes, flavonoïdes, tanins, composés réducteurs, stérols et saponines), qui peuvent être responsables des activités biologiques.

La détection de ces composés chimiques est basée sur des tests de solubilité des composants, des réactions de couleur ou un examen sous la lumière ultraviolette et une précipitation. Le criblage phytochimique a été réalisé sur l'extrait méthanolique et aqueux.

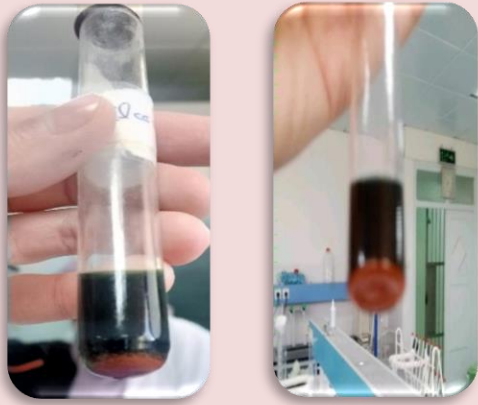
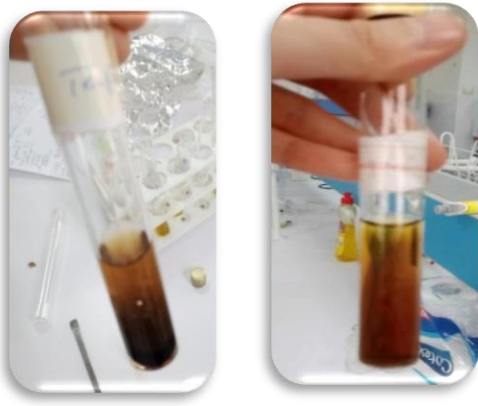
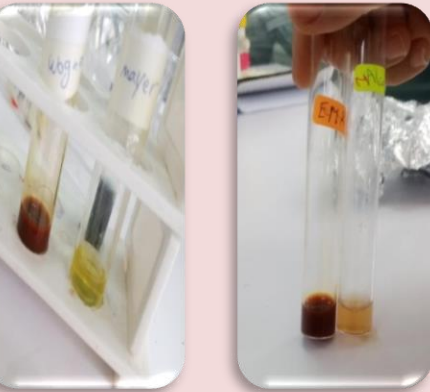
Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits des parties aériennes de *Teucrium polium* ont donné les résultats illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 9: Résultats des tests phytochimiques sur les deux extraits (EMTP et EATP).

Métabolites secondaires	Extrait méthanolique et aqueux		Observations
	EMTP	EATP	
Flavonoïdes	+++		L'apparition d'une couleur : EMPG : jaune claire Extrait aqueux :jaune foncé
Saponosides	+++	+++	Formation d'une mousse 5cm pour extrait méthanolique et 4cm pour extrait aqueux, persistante après 15 min
Tanins	+	+	Les extraits apparaisse en verdâtre



<p>Quinones libres</p>	<p>+++</p>	<p>+++</p>	<p>Les extraits apparaissent en jaune foncé</p>	
<p>Coumarines</p>	<p>+++</p>	<p>+++</p>	<p>Présence d'une fluorescence intense</p>	
<p>Stérols et Triterpènes</p>	<p>+++</p>	<p>+++</p>	<p>Présence d'une couleur mauve, verte ou violette</p>	

Composés réducteurs	+++	+++	L'apparition d'un précipité rouge-brique	
Terpénoïdes	+	+	L'apparition de couleur brune dans l'interphase d'extraits	
Alcaloïdes	+++	+++	l'apparition d'un précipité blanc ou brun	

Anthraquino ne	-	-	Absence de la couleur violette.	
---------------------------	---	---	------------------------------------	--

Les résultats sont classés comme suit :

(+++): Indique relativement une forte présence.

(++): Indique relativement une présence moyenne.

(+): indique relativement une faible présence.

(-): indique relativement une absence

Ces tests phytochimiques facilitent l'estimation quantitative des composés chimiques pharmacologiquement actifs. Le dépistage dans cette présente étude a révélé la présence de la majorité des métabolites secondaires. Donc nos résultats de screening phytochimique de *T. polium* nous permettent de noter la richesse de leurs extraits en polyphénols, flavonoïdes, tannins, alcaloïdes, et composés réducteurs, Stéroïls et Triterpènes, Coumarines et Saponosides En revanche, Anthraquinone: leurs réactions sont notées négatives.

Ces résultats sont opposés avec les résultats trouvés pour des espèces provenant de la région algérienne L'Est de Algérie (**Malki, 2017**) et El hamel-M'sila- (**El bidi, 2016**). Pour la région de Messila, ont constaté que tous les tests étaient positifs sauf, les résultats des composés réducteurs étaient négatifs. Pour la région de Batna, ils ont trouvé que tous résultats sont négatifs sauf les anthraquinones libres et les triterpènes étaient positifs.

Benalioua et Bendjeddou, (2021) montrent que la richesse des extraits de *Teucrium polium* en polyphénols, flavonoïdes, tannins, tanins hydrolysables et terpénoïdes. En revanche, les alcaloïdes, les quinones libres, les anthraquinones, les saponines et les anthocyanes, leurs réactions sont notées négatives.

De plus, **Hammoudi (2015)** montre que la plante *Teucrium polium geyrii* de la région de Tamanrasset est riche en divers métabolites secondaires. Ceci explique l'intérêt et l'attention particulière portée par les chercheurs à travers les études scientifiques sur cette plante.

Donc la composition chimique d'un végétal varie selon les espèces et au sein même d'une espèce. Elle dépend des conditions de culture (qualité du sol, climat, irrigation, traitements phytosanitaires), et de la période de récolte (précoce ou tardive).

Les analyses phytochimiques des extraits de plantes sont également une étape préliminaire, d'une grande importance, puisqu'elles révèlent la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques (Wang et al., 2018).

Les différences dans les quantités en PPT, flavonoïdes, flavonols et tannins condensés peuvent être dues à plusieurs facteurs climatiques et environnementaux (la situation géographique), le patrimoine génétique et le stade de développement de la plante, la saison de récolte, le séchage, la durée du stockage de la plante et le traitement auquel elle est soumise (Guerroumi et Habtiche, 2023).

I.3. Dosage des polyphénols totaux

Les extraits (EMTP et EATP) ont été analysés Quantitativement par spectrophotométrie en utilisant la méthode Folin-ciocaliteu.

La raison principale pour le choix des polyphénols totaux réside dans leurs propriétés antioxydantes plus importantes (Bakhtaoui, 2007), ainsi qu'à leur large utilisation en phytothérapie (Hennebelle et al., 2004).

Tableau 10 : Teneur en polyphénols dans les deux extraits (EMTP et EATP).

Concentration en (mg/ml)	Polyphénols totaux ($\mu\text{g EQ/mg d'extract}$)	
	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
0,1 (mg/ml)	0,868 \pm 0,2	2,101 \pm 0,73
0,3 (mg/ml)	1,889 \pm 0,302	2,658 \pm 0,5
0,5 (mg/ml)	2,08 \pm 0,2	2,843 \pm 0,52
0,7 (mg/ml)	2,39 \pm 0,3	3,963 \pm 0,9
0,9 (mg/ml)	3,296 \pm 0,4	5,041 \pm 0,93

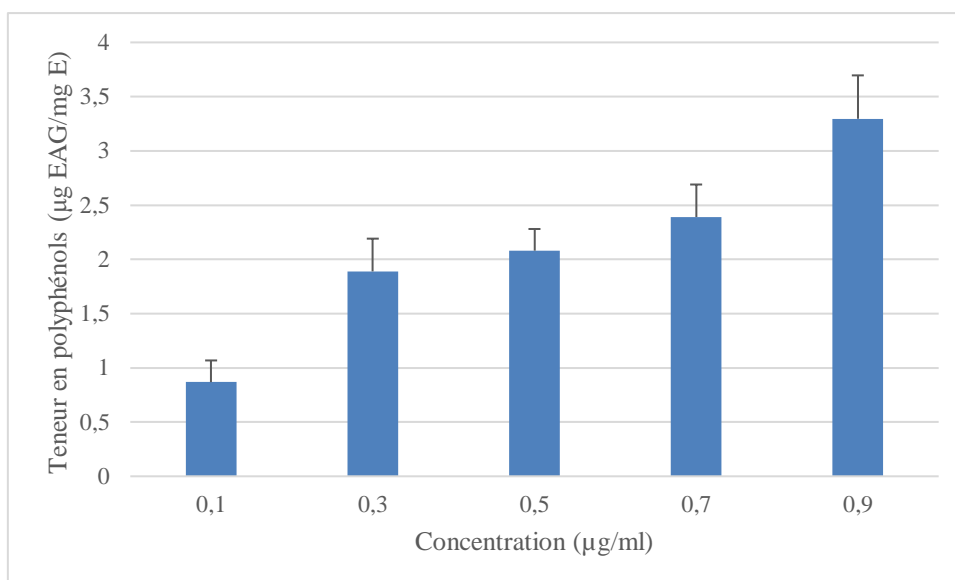


Figure 24. Teneur en polyphénols totaux (µg EAG/mg E) de l'extrait méthanolique.

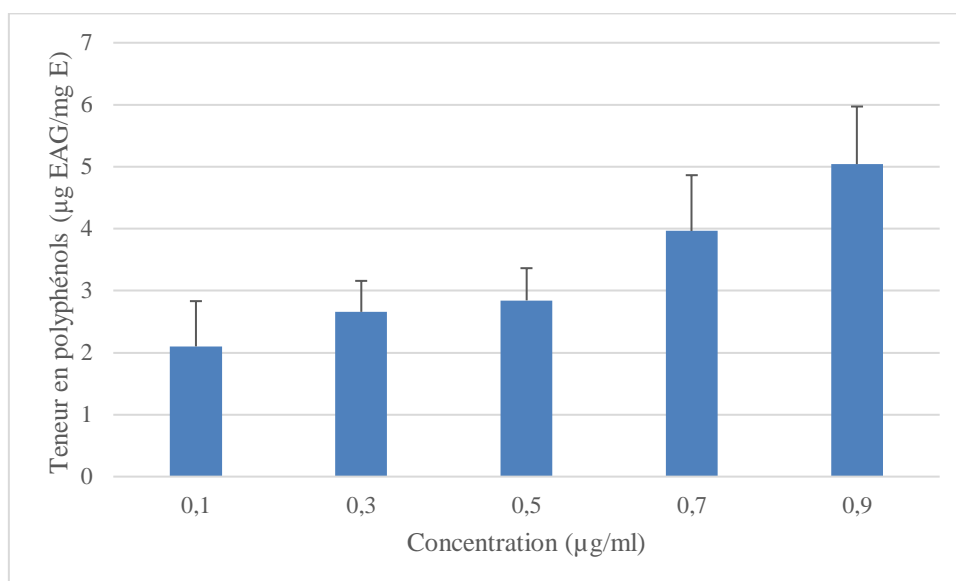


Figure 25. Teneur en polyphénols totaux (µg EAG/mg E) de l'extrait aqueux.

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique EMTP est de 3,29 mg EAC/g de matière sèche, relativement faibles par rapport à l'extrait aqueux qui est de 5,04 mg EAC/g de matière sèche. Il paraît clairement que l'eau chaude est le solvant qui permet d'avoir un rendement en polyphénols totaux plus élevé par rapport au méthanol, ce qui peut être expliqué par la lyse des cellules dans l'eau chaude et la libération d'un maximum de molécules polyphénoliques.

La diversité structurale des composés phénoliques est responsable de la grande variabilité des propriétés physicochimiques influençant l'extraction des polyphénols (**Koffi et al., 2010**). **Merdji et Zemmit, (2020)** montrent que les teneurs en polyphénols varient entre

15,46 ± 0,18 mg EAG/g ES et 246,36 ± 0,48 mg EAG/g ES. La teneur la plus élevée a été détectée dans l'extrait méthanolique (246,36 ± 0,48 EAG/g ES). **Nabeti et Chekkati (2013)** montrent que l'extrait de *Teucrium polium* représente une concentration de polyphénols avec 29,33 mg Eq AG/g d'extrait.

De plus, **Hadjeba et Kadour, 2019** montrent que la présence de ces composés avec des teneurs varient entre 12,16 ± 0,4 et 105,21 ± 2,5 mg/g, ainsi, le taux le plus élevé a été détecté dans l'extrait aqueux de T. Polium (105,21 ± 2,5 mg/g).

La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles, non seulement ceux des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines...etc. (**Bechami, 2015**).

Le rendement et le taux d'extraction polyphénolique sont liés aux caractéristiques du solvant. Il a été observé que le méthanol est plus efficace dans l'extraction des polyphénols de faible poids moléculaire, tandis que l'acétone aqueux est un solvant approprié pour l'extraction des flavanols de poids moléculaire plus élevé (**Brglez Mojzer et al., 2016**).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, l'exposition solaire, la sécheresse, la salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols.

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008**).

I.4. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de faible masse moléculaire produits par les plantes. Ils appartiennent à la classe des composés phénoliques et présentent une activité antioxydante élevée (**Meziane, 2018**).

L'EMTP et l'EATP ont été étudiés quantitativement par spectrophotométrie, et la teneur totale en flavonoïdes a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium.

Tableau 11. Teneur en flavonoïdes dans les deux extraits (EMTP et EATP).

Concentration en **Flavonoïdestotaux ($\mu\text{g EQ/mg d'extract}$)**
(mg/ml)

	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
0,1 (mg/ml)	5,52± 0,83	1,718 ± 1,14
0,3 (mg/ml)	8,008 ± 0,45	4,607 ± 1,05
0,5 (mg/ml)	8,803 ± 1,87	7,195 ± 1,3
0,7 (mg/ml)	10,013 ± 1,62	8,228± 1,32
0,9 (mg/ml)	12,89 ± 1,44	11,36 ± 1,4

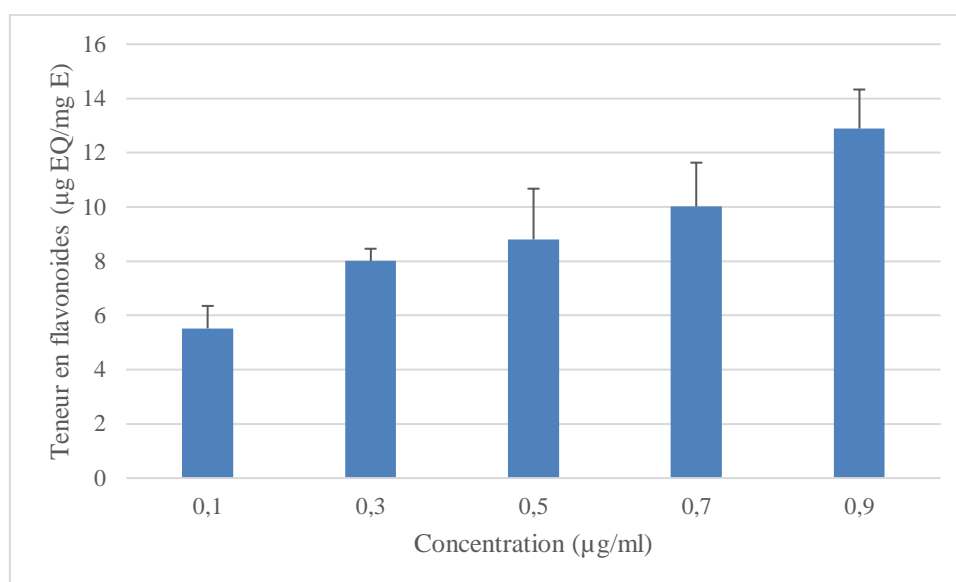


Figure 26. Teneur en flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg E}$) de l'extrait méthanolique

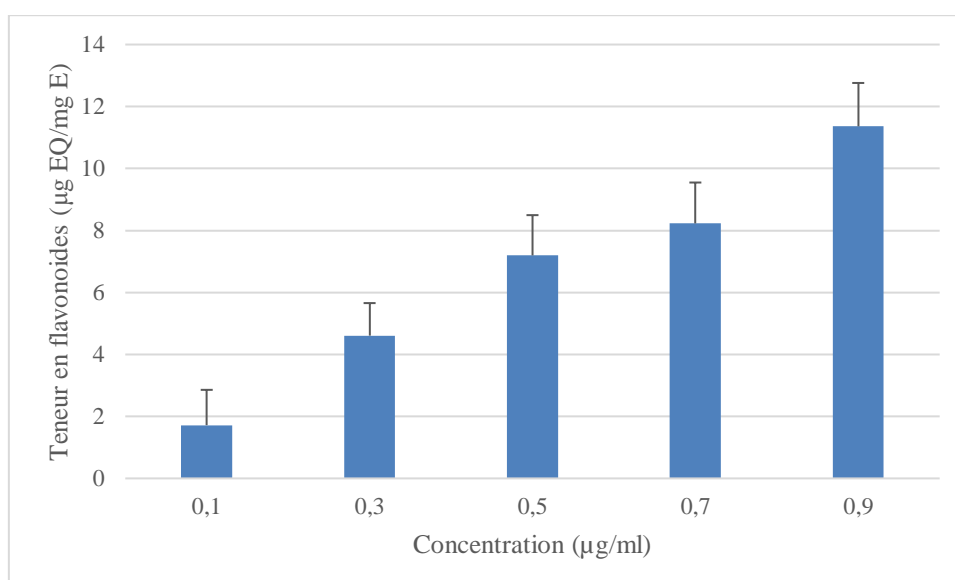


Figure 27. Teneur en flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg E}$) de l'extrait aqueux

Les concentrations des flavonoïdes sont relativement importantes dans les extraits dans leur majorité, les teneurs en flavonoïdes sont de 12,89 mg EQ /g de matière sèche dans l'extrait EMTP suivie de celle de l'extrait EATP avec 11,36 mg EQ /g de matière sèche (Figure 27).

Ces résultats que nous avons obtenus sont bien inférieurs au résultat trouvé par **Merdji et Zemmit (2020)** qui montrent que l'extrait méthanolique possède une teneur variable dans les alentours de $18,15 \pm 0,38$ mg EQ/g DE, et pour l'extrait aqueux $13,72 \pm 0,06$ mg EQ/g DE. **Nabeti et Chekkati (2013)** indiquent que le *Thymus polium* présente la teneur en flavonoïdes qui est de 22,36 mg EqQ/g d'extrait.

En effet, ces différences en composés phénoliques et flavonoïdiques peuvent être dues, en plus du solvant utilisé, au temps d'extraction à la température d'extraction (**Brglez Mojzer et al., 2016**).

II. Evaluation in vitro des activités biologiques

II.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antiradicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée (**Bortolomeazzi et al., 2007**).

L'activité antioxydante de l'EMTP et EATP vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. Les résultats sont illustrés dans les figures 9.

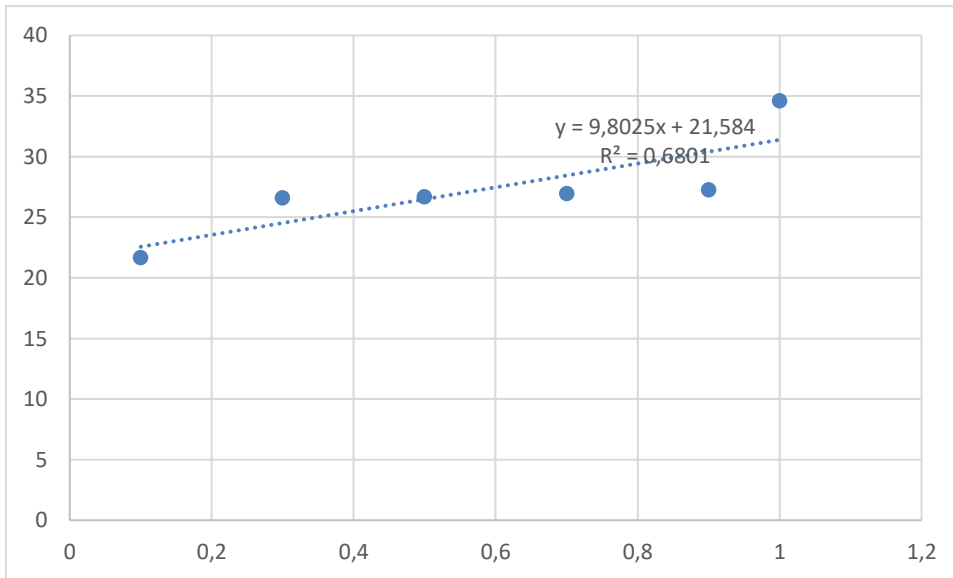


Figure 28. Courbe présentant les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration .

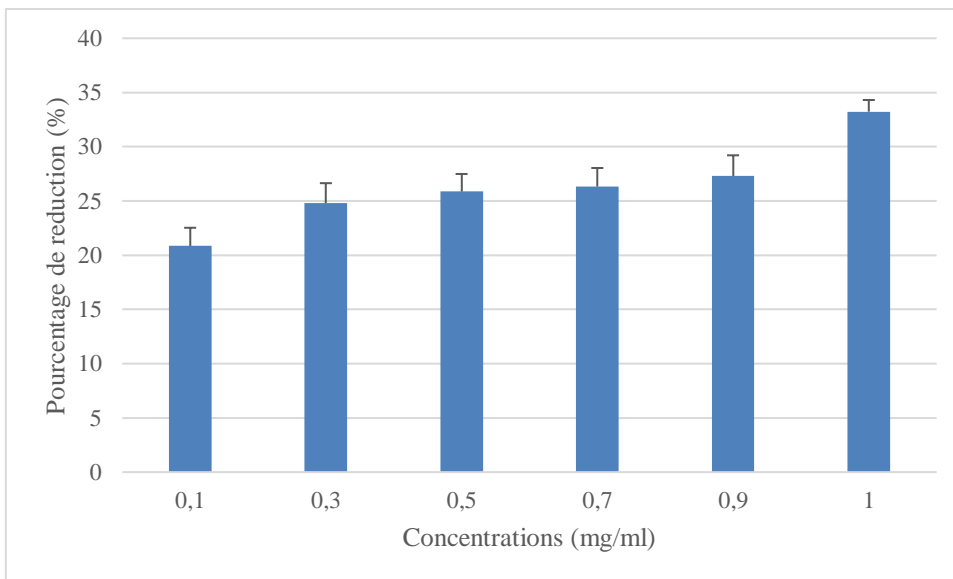


Figure 29. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait aqueux.

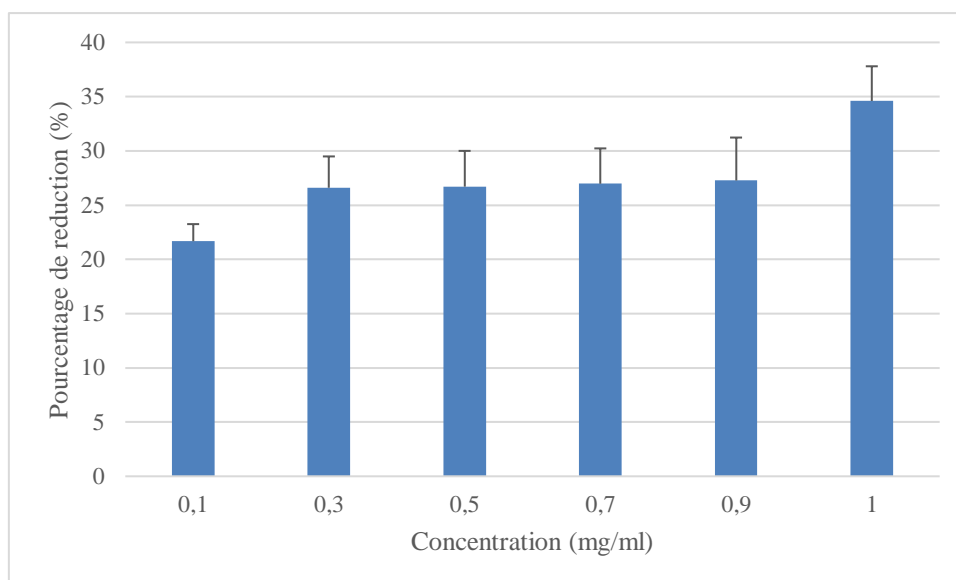


Figure 30. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait méthanolique.

Benalioua et Bendjeddou (2021) montrent que l'extrait décocté est plus actif ($IC_{50}=8,43$ mg / ml) que l'extrait hydrométhanolique et l'acide ascorbique. L'efficacité peut se résumer comme suit : l'extrait décocté > extrait hydrométhanolique > acide ascorbique. **Merdji et Zemmit (2020)** montrent que plusieurs antioxydants standards ont été utilisés à des fins comparatives. La quercétine, la vit c et le BHT ont montré une activité antiradicalaire très puissante avec des IC_{50} de 0,142 mg/ml, 0,103 mg/ml et 0,65 mg/ml, respectivement.

De plus, **Tajana et al (2005)** ont évalué l'activité antioxydante de l'extrait alcoolique des feuilles de *T. polium* par le test de DPPH qui trouve que l'extrait de feuilles possède une activité de piégeage des radicaux libres et des radicaux hydroxyles ainsi qu'une activité antioxydante *in vitro* (**Tajana et al., 2005**).

Un autre test d'évaluation de la même activité précédente, **Aouadhi et al (2013)** ont utilisé l'extrait méthanolique de *T.polium* par les méthodes de folin-ciocalteau et la méthode detrichlorure d'aluminium pour l'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes, ils ont montré que cette plante est plus riche en polyphénols et en flavonoïdes, ce qui signifie que ces derniers sont très recherchés en phytothérapie vu les effets secondaires des médicaments (**Aouadhi et al., 2013**).

Le test de réduction du radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation des activités antioxydantes en raison de sa stabilité, de sa rapidité et de sa simplicité. Il a été montré que le mécanisme d'action d'un antioxydant sur le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (**Merdji et Zemmit, 2020**).

En effet, cette activité dépend non seulement de la structure, mais aussi de la concentration. Selon **Krache (2005)**, il existe une corrélation entre la teneur en composés phénoliques et la capacité antioxydante des extraits de plantes.

Toutefois, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature, du moment que les résultats ne sont pas exprimés de la même manière. En outre, l'efficacité antioxydante est relative, elle dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Lee et al., 2003**).

L'indométacine, déclenche la formation d'ulcères en inhibant la production de prostaglandines et en provoquant une production excessive de radicaux libres d'oxygène. Le lien entre le stress oxydatif et l'ulcère gastrique étant bien établi, *T. polium*, en raison de ses propriétés antioxydantes, est un candidat thérapeutique probable (**El Atki, 2020**).

II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien des extraits isolés de *T. Polium* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, Mueller-Hinton pour les bactéries. L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis quatre (4) germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*) après 18 à 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37 °C. Les valeurs indiquées sont les moyennes des trois mesures des diamètres du même essai.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans le tableau 12 et la Figure 31. Les résultats du test de diffusion sur disque ont indiqué que les deux extraits EMTP et EATP présentaient différents degrés d'inhibition de la croissance, selon les souches bactériennes.

Tableau 12: Résultats de diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne.

Diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne (mm)

Souches bactériennes	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,6 ± 1,1	10,09 ± 0,627
<i>Bacillus subtilis</i>	9,18 ± 1,47	9,63 ± 0,231
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,51 ± 1,27	9,547 ± 0,409
<i>Escherichia coli</i>	8,417 ± 0,491	9,05 ± 0,474

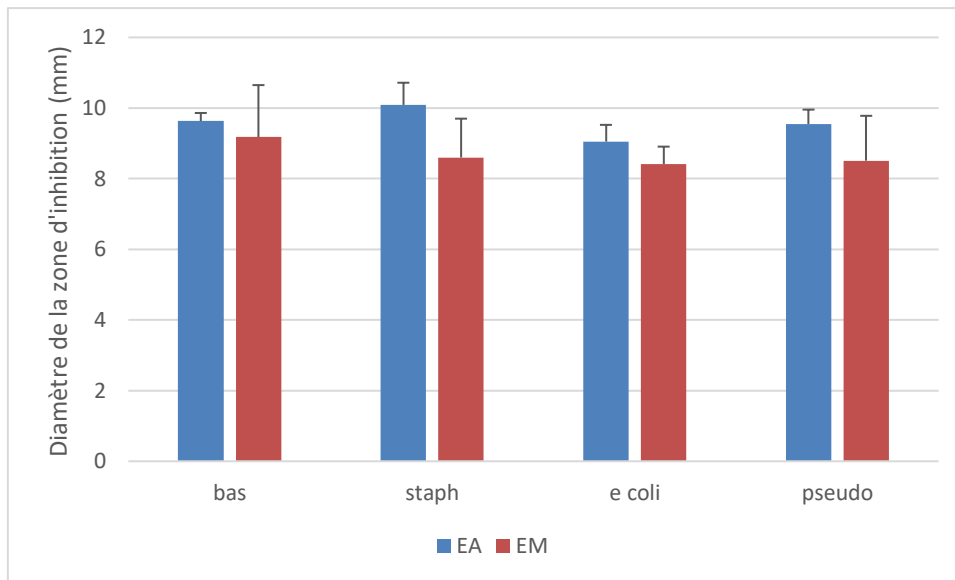


Figure 31. Représentation graphique de l'activité antibactérienne des différents extraits.

Les résultats de l'étude montrent que *Teucrium polium* L. possède une activité antibactérienne fiable contre les bactéries Gram-positif et Gram-négatif.

L'augmentation du diamètre de la zone d'inhibition est directement liée au type de solvant utilisé pour chaque extrait. Il a été mentionné par **Naziri et al (2012)**, que l'utilisation de différents solvants pour l'extraction peut modifier les degrés d'effet antibactérien des extraits, car les substances antimicrobiennes actives peuvent avoir une solubilité différente dans différents solvants.

Une étude similaire faite par (**Oumeddi et Benkessirat, 2019**) sur la plante *Teucrium polium* montre l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique sur les souches suivantes : *Pseudomonas aeruginosa* de diamètres de 10 mm et *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* avec des zones d'inhibition de 11 ± 1.73 mm, 12.3 ± 0.5 mm, 14.3 ± 1.1 mm, 11.3 ± 1.1 mm respectivement. **Kerbouche et al., (2015)** montrent que l'HE de *T. polium* avait une efficacité similaire contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* avec un diamètre d'inhibition de 22.0 ± 1.0 , 35.3 ± 0.6 et 14.7 ± 0.6 respectivement.

De plus, l'étude d'**Oganesyan et al., (1992)** note aussi l'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* sur *E. coli*.

Nabeti et Chekkati (2013) opposent nos résultats qui indiquent que le *Thymus polium* ne possède aucun effet sur *Staphylococcus aureus*.

L'activité antimicrobienne des extraits de plante est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, y compris les huiles essentielles, les triterpénoïdes ainsi que

d'autres composés de nature phénolique, qui sont classifiés comme composés antimicrobiens très actifs (Bechami, 2015).

Cette différence d'activité pourrait s'expliquer par la différence de la composition pariétale des deux types de bactéries. Aussi, la variation de l'activité des extraits trouverait une justification dans la partie de la plante utilisée et la méthode d'extraction. De plus, l'effectivité de l'activité d'un extrait est fonction du pouvoir polarisant du solvant utilisé, et particulièrement de la nature et de la structure moléculaire des molécules bioactives des métabolites secondaires (Guerroumi et Habtiche, 2023).

III. Evaluation de l'activité antiinflammatoire

L'activité antiinflammatoire de *T. polium* a été évaluée *in vitro* par une méthode basée sur l'inhibition de la dénaturation du sérum bovin albumine (SBA) en présence de différentes concentrations de l'extrait hydroalcoolique, ainsi que l'utilisation du diclofénac comme une référence (témoin positif). Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation du SBA sont enregistrés dans le tableau 13 et les figures 32.

Tableau 13: Les pourcentages d'inhibition de dénaturation de SBA.

Concentration en (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition (PI%)	
	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
5 (mg/ml)	17,36 ± 2.57	16,23 ± 0.703
15 (mg/ml)	19.89 ± 2.68	17,68 ± 1,5
25 (mg/ml)	22.04 ± 1.87	19,18 ± 1,99
35 (mg/ml)	22,36 ± 2,11	19,19 ± 2,62
45 (mg/ml)	24,8 ± 2,33	22,2 ± 1.48
50 (mg/ml)	28.06 ± 1,08	23,81 ± 0.811

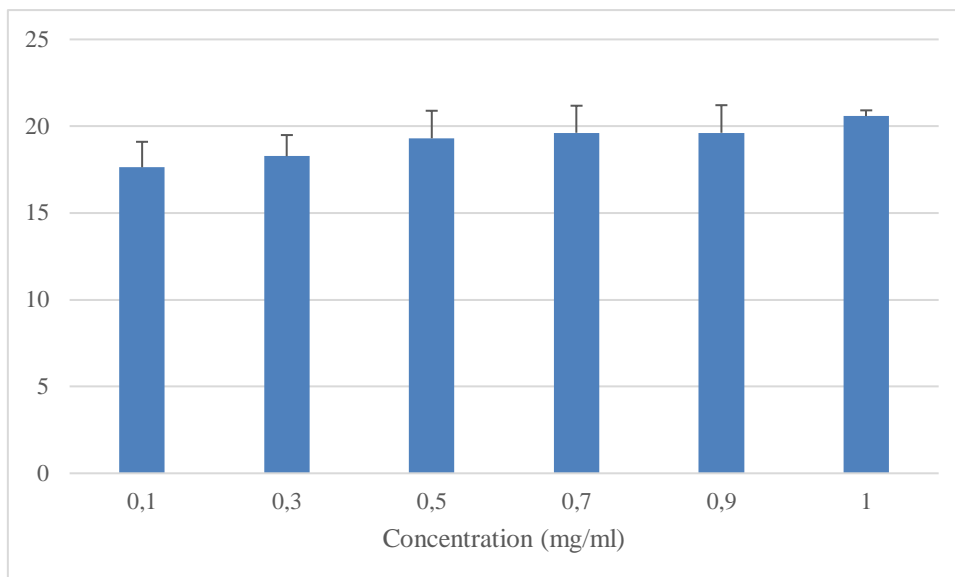


Figure 32. Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de SBA par le diclofénac.

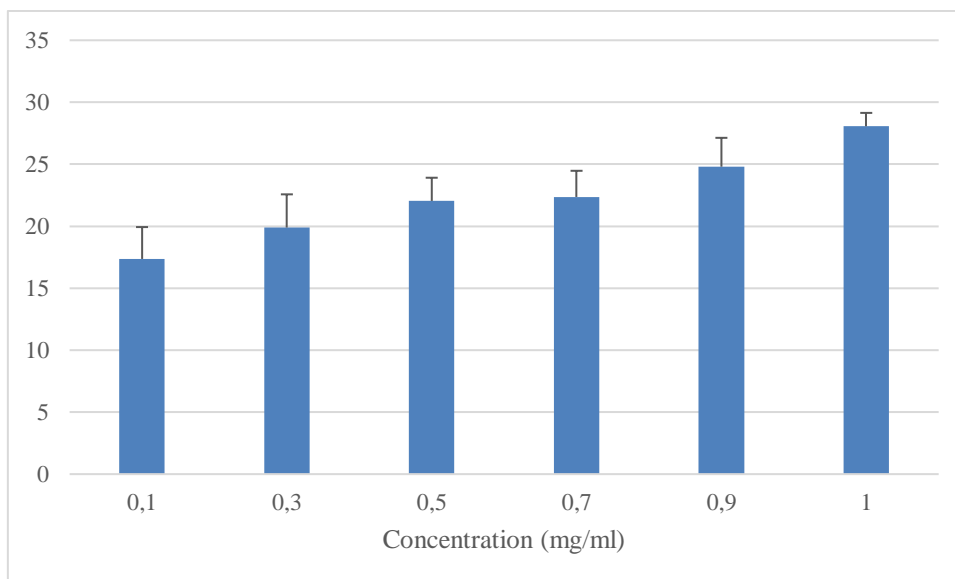


Figure 33. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA de l'extrait méthanolique.

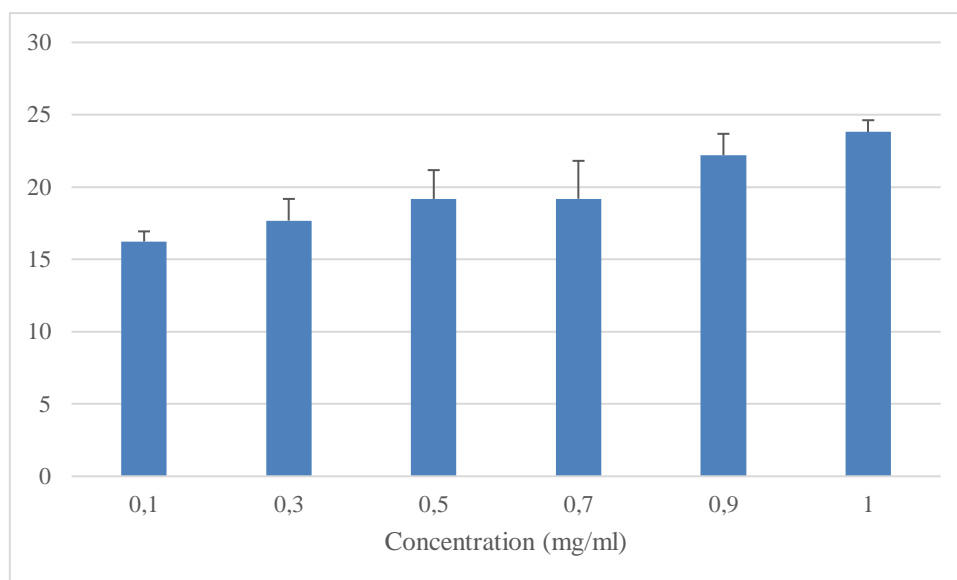


Figure 34. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA de l'extrait aqueux

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique a une activité anti-inflammatoire, où le taux le plus élevé d'inhibition de la dénaturation du SBA a été estimé à 28.06 % \pm 9.33, et l'extrait aqueux possède une activité de 23.81 % \pm 0.811.

Selon **Benslilih et Hammine (2023)**, les résultats obtenus montrent que l'extrait hydroalcoolique et l'huile essentielle ont une activité antiinflammatoire, où le taux le plus élevé d'inhibition de la dénaturation du SBA a été estimé à 22 % et 21 %, respectivement, à une concentration correspondant à 10 mg/ml. En revanche, la valeur d'inhibition correspondant à 18% a été enregistrée par le diclofénac.

Boudrouh et Degdoug (2023) montrent que le pourcentage d'inhibition est significativement important ($p < 0,01$) chez les rats traités avec l'extrait de *Teucrium polium* durant les 120 min et 180 min comparé aux rats traités avec le médicament commercial (Diclofénac).

La dénaturation des protéines est un indicateur majeur de l'inflammation, qui a été prouvée par de nombreuses expériences scientifiques (**Brooks, 2006**).

Les travaux de différents auteurs montrent que la propriété anti-dénaturation des protéines est due à la présence de deux sites de liaison dans la thréonine riche en tyrosine aromatique et aliphatique et les régions de résidu lysine des protéines (**Kirkeskor et al, 2011**).

Les molécules thérapeutiques du diclofénac activent les récepteurs riches en tyrosine ainsi que la thréonine qui régulent les voies biologiques pour transmettre des signaux pour leur action biologique complète dans l'élimination de l'inflammation (**Benslilih et Hammine, 2023**).

Conclusion et Perspectives



La plante *Teucrium polium* est l'une des plantes connues depuis l'Antiquité dans le domaine de la médecine traditionnelle dans diverses parties du monde, qui se caractérise par ses propriétés thérapeutiques car elle contient des composés chimiques (flavonoïdes, saponines alcaloïdes) qui possèdent des propriétés biologiques efficaces pour la prévention et l'élimination de nombreuses maladies qui ont été prouvées par de nombreux chercheurs et scientifiques.

Des rapports scientifiques et des recherches antérieures ont prouvé que cette plante est efficace dans le traitement du diabète, en tant qu'antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobien et antifongique, ainsi que pour cicatriser les plaies et éviter les infections bactériennes.

Le présent travail avait pour but de faire une étude comparative entre les Deux extraits, méthanolique, aqueux de *Teucrium polium* L. de la région Ain Mimoune, Wilaya de Khenchela, qui a été testée pour ses tests biochimiques et ses activités biologiques *in vitro* (antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire).

L'EATP ayant un meilleur rendement par rapport à l'EMTP, Les tests phytochimiques ont montré la présence de flavonoïdes, de tanins, de quinones libres, de saponines, de les composés réducteurs, Stérols et triterpènes, Coumarines, alcaloïdes, et de terpénoïdes et dans tous les extraits. Nos résultats ont également montré des résultats négatifs à la fois pour l'antraquinone. Les dosages quantitatifs des polyphénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteau ont révélé que les concentrations les plus élevées de polyphénols ont été trouvées dans l'EATP, et les dosages quantitatifs des flavonoïdes totaux par la méthode de d'AlCl₃ ont révélé que les concentrations les plus élevées de flavonoïdes ont été trouvées dans l'EMTP. Les résultats de l'activité antioxydante effectuée en utilisant la méthode de réduction des radicaux DDPH, ont indiqué que l'espèce *Teucrium polium* L. possède un très grand potentiel antioxydant, avec la supériorité de l'EMTP par le pourcentage le plus élevé. Dans l'activité antibactérienne, *Teucrium polium* a montré une activité faible sur quatre souches bactériennes étudiées, qui sont *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia*.

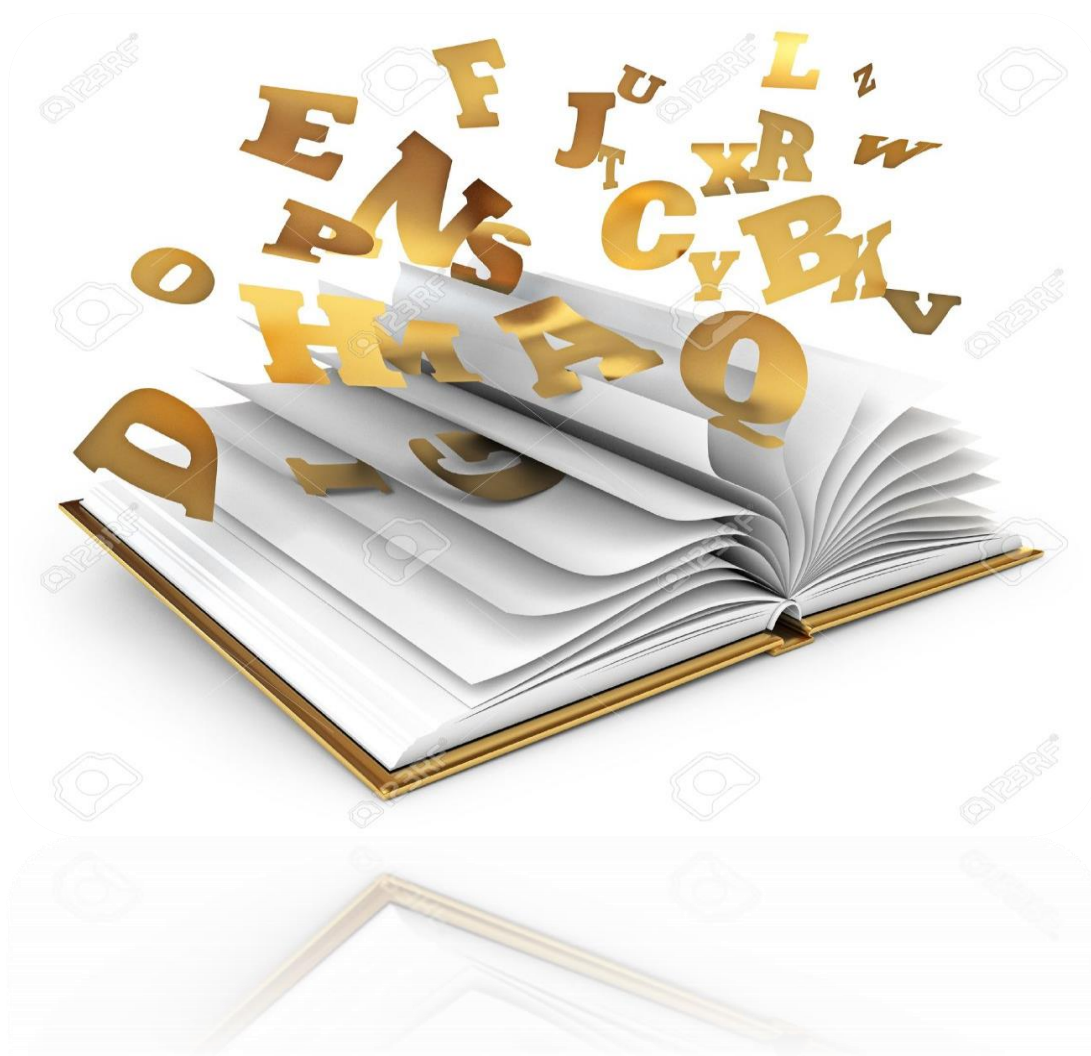
Pour l'activité anti-inflammatoire, il a été constaté que le taux d'inhibition de la dénaturation des protéines a été enregistré en présence de l'extrait aqueux et méthanolique avec la supériorité de l'EMTP par le pourcentage le plus élevé.

En perspectives plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux entamés :

- Déterminer les molécules responsables des activités biologiques, et d'approfondir l'étude phytochimique en utilisant des techniques plus performantes pour la détermination de la structure chimique de ces composés après leur purification.
- Utiliser des huiles essentielles au lieu d'extraits, en utilisant la méthode d'extraction développée.
- D'élargir le spectre des activités biologiques ciblées, en incluant les activités antifongique, anti-enzymatiques, insecticides ou autre.

- L'isolement et la caractérisation des composés actifs dans nos fractions par l'HPLC et la RMN en vue d'identifier les principes actifs responsables des différentes activités biologiques de cette plante.

Références bibliographiques



Aghrab A., (2005). Une méthodologie pour caractériser le climat et la sécheresse dans unerégion. Ed. Le Munuscrit. p : 14-24.

Aminot A., Kérouel R., (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Ed. Ifremer. p : 41-64.

Anctil F., Rousselle J., Lauzon N., (2012). Hydrogéologie. 2^{ème} Ed. Presses internationalespolytechnique. p : 1-24.

Atkins P., Loretta J., (1998). Chimie : molécules, matières, métamorphoses. 3^{ème} Ed. Boeck.998 p.

Atteia O., (2015). Chimie et pollution des eaux souterraines. Ed. Lavoisier. 421 p.

Auby. J.F., (1997). Les eaux minérales : collection que-sais-je Ed. Presse universitaire deFrance. 127 p.

Auzias D., Labourdette J.P., Costaz A., Brutinot L., (2011). Remise en forme 2011 (santémagazine). Ed. Imprimerie Chirat. p : 3-29.

Auzias D., Tognarelli I., Raymond M., Labourdette J.P., (2012). France–bio. 311 p.

Avenard J.M., Eldin M., Guyot G., Sircoulon J., Touchebeuf P., Guillaunt J. L., AdjanoloundE., Perrand A., (1971). Le milieu naturel de la cote d'ivoire. Ed. ORSTOM. p : 88-94.

Ayers R.S., Westcot D.W., (1976). La qualité de l'eau en agriculture. Rapport F.A.O N° 29Rome. 81 p.

B.R.G.M., (1997). Les eaux minérales et le gaz carbonique. Note technique N° 10 France. 19 P.

Bauer W.J., Badound R., Loliger J., Etournand A., (2010). Sciences et technologies des aliments. 1^{ère} Ed. Presses polytechniques et universitaires Romandes. P : 1 - 44.

Bessemoulin P., Carrega P., Dubreuil V., Joly D., Laborde J.P., Roussel I., (2008). Informationgéographique et climatologie. Ed. Lavoisier. 239 p.

Bistillo V., (2005). Biogéochimie et hydroclimatologie appliquées à l'aménagement des bassinsfluviaux modèles de mélange diagnostique et prévision, thèse de doctorat N° d'ordre 2229 Université de Toulouse. 232 p.

Boubelli S., (2009). Identification et mise en évidence les formations hydrogéologique de la wilaya de kenchela (nord-est algérien). Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. p : 4 - 24.

Boulicot M.C., Desloges S., Leroux L., Moise B., Rambant M., (2006). Les services en milieu rurale et les besoins des usages. Ed. Educagri. p : 160-167.

C.F., (2016). Presentation general de la wilaya de kenchela. 2 p.

- Cano N., Barnound D., Scheidre S., Vasson M.P., Hasselmann M., Leverve X.,** (2006). Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Ed. Springer shop. 1189 p.
- Cissé O.,** (2012). Les décharges d'ordures en Afrique. Ed. Karthala. 373 p.
- D.E.,** (2016)., Présentation de la zone d'accueil. 15 p.
- Degrémont,** (2005). Mémento technique de l'eau 10^{ème} Ed. Tome 1. Degrémont SUEZ, 2503 p.
- Delarras C., Trébaol B., Durand J.,** (2010). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 2^{ème} Ed. Lavoisier. p : 14 -19.
- D.P.A.T.,** (2012). Situation administrative de la wilaya de Khenchela. 10 p. **D.P.A.T.,** (2016). Situation administrative de la wilaya de Khenchela. 10 p. **D.S.P.,** (2016). Les cartes de la wilaya de Khenchela. 18 p.
- Druon E.,** (2012). Ecolonomies entreprendre et produire autrement. Ed. Pearson. 211 p.
- Enckell M., Badertscher E., Chenal R., Corthay A., Cottier J.M., Kolb G., Lehmann P., Marthaler F., Morel N., Nissim C., Rosselet A., Claude A., Steiner M., Van singer C.,** (1997). L'énergie au futur. Ed. Bas. p : 157- 227.
- F.A.O.,** (1971). Les eaux souterraines le séminaire de grenade. Ed. Rome. 290 p. **F.A.O.,** (1988). Culture protégées en climat méditerranéen. Ed. Rome. p : 106-145.
- Figuié L.,** (1873). Les merveilles de l'industrie. Ed. Paris. 693 p.
- Flammarion C.,** (1872). L'atmosphère description des grands phénomènes de la nature. p : 610- 624.
- Gaussen C., Rognon P.,** (1995). Désertification et aménagement au Maghreb. Ed. L'Harmattan.p : 21-38.
- Gautier C., Fellous J.L.,** (2008). Eau, Pétrole, Climat ; un monde en panne sèche. Ed. OdileJacob. 323 p.
- Gicquel R., Gicquel M.,** (2013). Introduction aux problèmes énergétiques globaux. 2^{ème} Ed. Presses des mines. 40 p.
- Gilli E., Mangan C., Mudry J.,** (2012). Hydrogéologie. 3^{ème} Ed. Lavoisier. p : 84- 88. **Guérit G.,** (2007). Magazine faire faire. p : 8-15.
- Guyot G.,** (1999). Climatologie de l'environnement. 2^{ème} Ed. Dunod. pp : 106-165, 287-340, 345-459.
- Gwenaëlle D.P., Bertin J., De Gérando B., Hannedouche B., Deveza Barrau A.H.,** (2011), Bâtiments et performance énergétique. Ed. Lamy. 276 p.
- Hermann C.J.J.,** (2004). Les eaux souterraines. Ed. Des sciences et des arts, pp : 8, 31, 37.

- Hours D.**, (2012). Société française de médecine thermale.
- Hufty A.**, (2001). Introduction à la climatologie. Ed. Padié. pp : 113-125, 353-385.
- Hugh S.**, (2005). Répercussion environnementales de l'utilisation d'azote en agriculture. (Disponible sur : (<http://www.omafra.gov.on.ca/french/engineer/facts/05-074.htm>.)
- Kergreis A., Clande J.**, (1991). Utilisation rationnelle de l'eau des petits bassins versants en zone aride. Ed. Jhon Libbey eurotext. 345 p.
- Lambert R.**, (1996). Géographie du cycle de l'eau. Ed. Presses universitaires du mirail. pp : 32- 36, 50-60.
- Lalaounna M., Merdaci I.**, (2012). Etude comparative des eaux naturelles de deux sources. Ain Sfa et Ain Karma. Mémoire master. Université de Khenchela. 80 p.
- Le pimpec D., Liénard A., Bonnard R., Lafont M., Cazin B., Boussard P., Hubert B., Bray M.**, (2002). Guide pratique de l'agent préleveur chargé de la police des milieux aquatiques. Ed. Maurice Merlin. p : 75-86.
- Lecoq H.**, (1839). Recherche sur les eaux thermales. Ed. Imprimerie de Perol. p : 3 - 29.
- Legros J.P.**, (2007). Les grands sols du monde. Ed. Romandes. p : 95-131.
- Luyckx E.**, (2004). L'énergie expliquée aux enfats. Ed. Edipro. p : 35-43.
- Lydie S.**, (2015). Les végétations : les relations avec leur environnement. Ed. Quae. p : 12-26.
- M'hirit O., Benzyeme M.B., Benchakroun F., Elyousfi S.M., Bendaanoun M.**, (1998). L'Arganier. Ed. Mardaga. p : 25-43.
- Main P.**, (2001). Eaux thermales. Magazine H₂O.
- Malgoire P., Héteu T.**, (2004). Les certificats verts et l'électricité renouvelable. Ed. Pressesuniversitaires de Louvain. p : 9-12.
- Mathis P.**, (2014). L'énergie, moteur de progrès. Ed. Quae. p : 53-106.
- Mccarty L.B., Rodriguez B., Todd Bunnelle B., Clint Waltz F.**, (2003). Fundamentals of turfgrass and agriculture chemistry. Ed. Jhon Wiley fnd sons. p : 72-125.
- Mercier D.**, (2001). Le ruissellement au Spitsberg. Ed. Presses universitaires Blaise Pascal. p :43-89.
- Moret L.**, (1946). Les sources thermominérales Hydrologie géochimie biologie. Ed. Abe books.146 p.

- Nifenecker H.**, (2012). Elément pour une politique raisonnée de l'énergie. Ed. Save the climate. 172 p.
- O. N .M. S. K.**, (2016). Données climatiques de la wilaya de Khenchela. 50 p.
- O.E.C.D.**, (2007). Etude de l'OCDE commerciale produits énergétiques et écologique. Ed.OCDE. p : 81-125.
- Olivier A.**, (2015). Chimie et pollutions des eaux souterraines. Ed. Lavoisier. p : 3-15.
- Olivier W., Dufraisse A., Pétrequim P.**, (2008). Sel, eau et foret d'hier à aujourd'hui. Ed.Presses universitaires de franche-comté. 573p.
- Ouali S.**, (2008). Division Energie Solaire thermique et géothermie. Bulletin 013-10. p : 16-18.
- Ouli S., Khellaf A., Baddari K.**, (2006). Etude géothermique du sud de l'Algérie. Article. Revue des énergies renouvelables vol 9 N° (2006) 297-306. 306 p.
- Péguy C.P.**, (1970). Précis de climatologie. 2^{ème} Ed. Masson & C^{ie}. 468 p.
- Penez J.**, (1994). Dans la fièvre thermique. Ed. Institut d'étude du massif central. 365 p.
- Quevauviller P.**, (2010). Protection des eaux souterraines « législation européenne et avancéesscientifique ». Ed. Lavoisier. p : 1-8.
- Ramade F.**, (2002).Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences del'environnement. 2^{ème} Ed. Dunod. 534 p.
- Rodier J., Bazin C., Broutin J.P., Chambon P., Champsaur H., Rodi L.**, (2005). L'analyse del'eau. 8^{ème} Ed. Dunod. 1383 p.
- Rodier J., Logude B., Ecoll M.**, (2009). Analyse de l'eau. 9^{ème} Ed. Dunod. 1511 p.
- Santé pratique**, (2010). Prévention des maladies et des accidents (Santé magazine). 1^{ère} Ed.Chemins de traverse. Section 4.
- Sallot J.M., De pery P., Lachat B., Grangirard V.**, (2006). Etudes d'impact sur l'environnement.2^{ème} Ed. Revie augmentée. p : 191-240.
- Sarlos G., Haldi P.A., Verstraete P.**, (2003). Système énergétiques : offre et demande d'énergie.Ed. Presses polytechniques et universitaires Romandes. 875 p.
- Sterry Hunt M.T.**, (1867). Compte rendue des hebdomadaires des séances de l'académie de l'ascience Paris. Volume 4. 1363 p.
- Tron G., Isbérie C., Chol P.**, (2013). La tensiométrie pour piloter les irrigations. 2^{ème} Ed.Educagri. 248 p.
- Urban L., Urban I.**, (2010). La production sous serre tom 1. 2^{ème} Ed. Lavoisier. p : 181-248.

Van Haasteren J.A., (1993). Pesticides et eau souterraine. Ed. Conseil de l'Europe. p : 5-14. (www.socmedthermale.org/app/.../B_2_CrenobalneoForestier.pdf. Consulté le 15/02/2016).

Wehner R., Gehring W., (1995). Biologie et physiologie animales. 23^{ème} Ed. Allmande p : 514-545.