

Phytochemical composition and antioxidant activity of *Lavandula dentata* extracts

Etude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des différents extraits de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*)

I. BETTAIEB REBEY^{12*}, S. BOURGOU¹, M. SAIDANI TOUNSI¹, M.L. FAUCONNIER², R. KSOURI¹

¹ Laboratory of Medicinal and Aromatics Plant, Biotechnology Center of Borj-Cedria, BP 901, Hammam-Lif 2050, Tunisia.

² General and Organic Chemistry-Volatilomics, Gembloux Agro-Bio Tech, University of Liège, Passage des Déportés, 2- 5030 Gembloux - Belgique

*Corresponding author: rosainess@yahoo.fr

Abstract - In this study, *Lavandula dentata* organs (roots, stems and leaves) were investigated for their essential oils, total phenolics, flavonoids contents and antioxidant activities. Essential oil yields were 0.22% in roots, 0.68 % in stems and 0.89 % in flowers. Major components of the oils were β -ocimene, limonene and 1,8 cineol in roots, stems and leaves and flowers, respectively. In all organs, total phenolics content ranged from 42.57 to 16.17 mg gallic acid equivalents per gram of dry weight (mg GAE/g DW). The antioxidant activities of *Lavandula dentata* extracts obtained from the three organs were assessed using two tests (DPPH and reducing power). The root extract was strongly effective as DPPH radical scavenger and reducing agent. Thus, the identification of individual target polyphenolic compounds of roots was performed by RP-HPLC. The major phenolic compound detected in roots was rosmarinic acid. This activity was high enough for the plant to be a new and natural source of strongly antioxidant substances for use as natural additives in food and pharmaceutical industry.

Keywords: *Lavandula dentata*, organs, essential oil; phenolics; antioxidant activity

Résumé - Le but de ce travail consiste à étudier la composition des huiles essentielles et des polyphénols des racines, des tiges et des feuilles de la Lavande dentée et d'évaluer leurs potentialités antioxydantes. L'analyse et la quantification des huiles essentielles a montré que les feuilles sont les plus riches en huiles essentielles (0.89 mg/g MS) suivies par les tiges (0.68 mg/g MS) et enfin les racines (0,23 mg/g MS). Le constituant majeur de l'HE des racines est: le β -ocimène. D'autre part, le limonène représente le composé majeur de l'HE des tiges. Quant à l'HE des feuilles, elle est dominée par le camphre. D'autre part, nos résultats ont montré que les organes de la lavande montrent des teneurs en polyphénols totaux élevées et variables selon l'organe étudié. En effet, les extraits des racines sont caractérisés par le contenu le plus élevé en polyphénols. D'autre part, l'étude de l'activité antioxydante des extraits des différents organes a indiqué que les extraits de la racine sont particulièrement les plus actifs et que leur analyse par RP-HPLC a montré que ces derniers sont riches essentiellement en acide rosmarinique. Finalement, les extraits de la Lavande dentée et particulièrement ceux de la racine peuvent être considérés comme des sources alternatives d'antioxydants naturels puissants qui peuvent être utilisés en industrie agroalimentaire et pharmaceutique.

Mots clés: *Lavandula dentata*, organes, huile essentielle, polyphénols, activité antioxydante

1. Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont toujours fait partie du savoir de base de toutes les sociétés humaines (Aquaron, 2005). Aujourd'hui, en cette ère de progrès rapide de la technologie médicale, les préparations à base de plantes appelées aussi « médecine alternative ou complémentaire » gagnent beaucoup de popularité (Qidwai et al. 2013), et l'intérêt accru pour leur utilisation a encouragé des études plus détaillées sur les ressources végétales (Vasile Bagiu et al. 2012).

Ces dernières années, les substances naturelles connaissent un intérêt croissant dans de nombreux domaines. En effet, avec un public de plus en plus réticent à consommer des produits contenant des molécules issues de la synthèse chimique, un certain nombre de secteurs industriels (cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire) se tournent de nouveau vers l'incorporation de ces molécules d'origine naturelle. Parmi ces biomolécules, les composés phénoliques qui sont utilisés dans diverses applications (Maisuthisakul et al. 2007). D'autre part, ces composés possèdent différentes propriétés biologiques incluant principalement les pouvoirs anti-inflammatoire, antimicrobien, anticancéreux, antiviral, ainsi que la prévention des maladies cardiovasculaires et dégénératives (Balasundram et al. 2006). La lavande dentée (*Lavandula dentata*), est un arbrisseau de la famille des Lamiacées. Elle est originaire des canaris et des régions montagneuses bordant la méditerranée, a climat tempéré et doux, dont les sols est pauvre et rocheux. Elle est considérablement cultivée pour ses fleurs aromatiques dans différentes régions de France Italie, Angleterre, et même à l'extrême nord de la Norvège (Msaada et al. 2012). Elle pousse à l'état indigène dans certaines îles de l'Atlantique et depuis le bassin méditerranéen jusqu'au nord de l'Afrique tropicale, au Moyen Orient, à l'Arabie et à l'Inde (Mesaaoud et al. 2012). Certaines se plaisent dans les collines incultes, d'autres préfèrent les bordures de forêts de chênes verts ou les lisiers de bois d'oliviers. Leurs stations naturelles s'étendent du bord de mer jusqu'à des altitudes de 2500 m, mais toutes aiment les terrains secs, légers, sablonneux et pierreux, bien drainés. La lavande dentée est utilisée dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie. La lavande est également employée en herboristerie, en aromathérapie et est considérée comme une plante médicinale pour l'action de son huile. Des études pharmacologiques récentes se rapportant à *Lavandula dentata* ont révélé un large spectre d'activités biologiques principalement les propriétés sédatifs, antibactériens, antifongiques, antidépresseurs, antioxydante et anti-inflammatoire (Zuzarte et al. 2013). Dans ce contexte, cette étude a été menée afin d'exploiter et de comparer le rendement et la composition en huiles essentielles ainsi que le contenu en polyphénols et la capacité antioxydante des différents organes de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*) (feuilles, tiges et racines) et ceci dans le but de sélectionner les organes les plus prometteurs chez cette espèce.

2. Matériels et methods

2.1. Origine du matériel végétal

Les plants de la *Lavande dentée* (*Lavandula dentata*), provenant de la pépinière Laraiiedh à Mornag et âgés de 1 mois, ont été collectés pendant la période végétative. Par la suite, les organes sont mis dans des sachets en aluminium préalablement tarés puis pesés, à l'aide d'une balance de précision de type Mettler AE 200, avant et après dessiccation à l'étuve à 60°C pendant 72 heures. Les échantillons, une fois séchés, sont broyés en poudre fine au moyen d'un broyeur à billes (type Danguomeau).

2.2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

Le principe de cette méthode consiste à exploiter la volatilité des constituants de l'huile essentielle (HE). Pour cela, 25 g de matière végétale (feuille, tige, racine) est placé dans un ballon de 1 litre contenant des billes en verre pour homogénéiser l'ébullition assurée par un chauffe-ballon. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau dégagée sont condensés au niveau d'un réfrigérant et récupérés dans un erlenmeyer de 250 ml. Pour éviter toute surpression dans le ballon, un tube immergé dans le mélange liquide/solide assure la mise à l'air.

2.2.1. Extraction liquide-liquide et concentration

La séparation de la fraction dissoute ou en émulsion à partir de l'hydrodistillat se fait à l'aide d'un solvant organique ayant un faible point d'ébullition: l'éther éthylique (34.7°C). Dans un bécher, on prélève 10 ml de l'hydrodistillat auxquels on ajoute 10 ml d'éther éthylique. Après une agitation magnétique pendant 10 mn, on prélève la phase supérieure où sont dissous les composés volatils. A cette même phase, on ajoute à chaque fois 10 ml d'hydrodistillat puis on procède à une nouvelle agitation

jusqu'à l'épuisement total de l'hydrodistillat. La phase organique finale obtenue est placée dans un ballon piriforme rodé, muni d'une colonne de Vigreux, en présence de quelques fragments de pierre ponce pour entretenir l'ébullition. L'ensemble est placé dans un bain marie et porté à une température légèrement supérieure à la température d'ébullition du solvant jusqu'à un volume final de 50 à 100 µl.

2.2.2. Analyse et identification des composés volatils

L'huile essentielle est analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (couplage CPG/ spectrométrie de masse). Un spectromètre de masse du type quadripolaire (AGILENT MSD 5975C) a pour cela été utilisé.

Les conditions d'analyse sont les suivantes:

- Colonne HP-5 SM (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm),
- Gaz vecteur : Hélium,
- Débit: 1,2 ml/min, température de l'injecteur: 250°C,
- Programmation de la température du four: isotherme à 80 °C pendant 1 min puis de 80 à 120 °C à raison de 3 °C/min, puis de 120 à 150 °C à raison de 10 °C/min et enfin de 150 °C à 250 °C à raison de 15 °C/min.
- Scan time: 1 s,
- Mass-range: 40-300 m/z.

2.3. Extraction des polyphénols par macération

Cette extraction a été faite en mélangeant 2.5 g de matière végétale sèche (feuille, tige, racine) avec 25 ml d'éthanol 80%. Le mélange est agité pendant 30 min et gardé au repos pendant 24 heures à 4°C en obscurité. Enfin, ce mélange est filtré sur du papier Watman N°4 sans cendre. Les extraits ainsi obtenus sont conservés à 4°C pour les différentes analyses.

2.4. Dosage des Polyphénols totaux

Une prise de 125µl de l'extrait (feuille, tige, racine) dilué 10 fois est mélangée avec 500µl d'eau distillée et 125µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 min, une prise de 1250 µl de CO₃(Na)₂ à 7 % est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 min à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm. La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variant de 50 à 500 mg.l⁻¹. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG.g-1 MS).

2.5. Dosage des Flavonoïdes totaux

Une prise de 0.25 ml de chaque extrait (feuille, tige, racine) dilué 5 fois a été additionnée de 0.075 ml de NaNO₂ (5 %). Le mélange est laissé pendant 6 min avant d'ajouter 0.15 ml de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 6H₂O, 10%) fraîchement préparé. Une seconde incubation de 5 min à une température ambiante est effectuée, suivie de l'ajout de 0.5 ml de NaOH (1M). Le mélange est par la suite ajusté avec de l'eau distillée à un volume final de 2,5 ml. La lecture de l'absorbance a été faite à 510 nm. La gamme étalon est préparée avec de la catéchine à des concentrations croissantes allant de 50 à 500 mg.l⁻¹. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC.g-1 MS).

2.6. Mesure des activités antioxydantes

2.6.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)

Une prise d'essai de 1 ml de l'extrait (feuille, tige, racine) à différentes concentrations (1, 10, 50, 100, 200, 300 µg.ml⁻¹) est mise en présence de 250 µl d'une solution de DPPH. (0.2mM dans le méthanol). Le mélange demeure pendant 30 min au repos et à l'obscurité pour incubation, ensuite l'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible contre un témoin (sans extrait). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange selon l'équation (1):

$$PI = (DO \text{ témoin} - DO \text{ extrait} / DO \text{ témoin}) * 100 \quad (1)$$

PI: pourcentage d'inhibition (ou CI50)

DO témoin: absorbance du témoin

DO extrait: absorbance de l'extrait

La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI₅₀), la valeur de CI₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.

2.6.2. Mesure du pouvoir réducteur du fer

Le pouvoir réducteur est déterminé en mélangeant 1 ml de l'extrait à différentes concentrations (0.1 à 1.5 mg.ml⁻¹) avec 2.5 ml de tampon phosphate (0.2 mol.l⁻¹, pH 6.6) et 2.5 ml de K₃Fe(CN)₆ (1%). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 min à 50°C. Après cette incubation, 2.5 ml de TCA (10%) sont additionnés pour arrêter la réaction, suivie d'une centrifugation à 650xg pendant 10 min à la température ambiante. Enfin, 2.5 ml d'eau distillée et 0.5ml FeCl₃ (0.1%) sont additionnés au surnageant (2.5 ml). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm (le blanc est le tampon d'extraction). Le témoin positif est l'acide ascorbique ou le BHA (0.01-1 mg.ml⁻¹). Les résultats sont exprimés en concentration efficace (CE₅₀, µg. ml⁻¹), qui est la concentration de l'extrait correspondant à une absorbance égale à 0,5.

2.7. Identification de composés phénoliques par RP-HPLC

Les échantillons des graines sont hydrolysés selon la méthode de Proestos et al., (2006). Pour cela, à 0,5 g de matière sèche on ajoute 40 ml d'acétone et 10 ml d'une solution de HCl 6M. Après agitation vigoureuse, on procède à une sonication pendant 15 min. La solution obtenue est ensuite chauffée à reflux pendant 2 h à 90°C, puis concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif. On procède ensuite à une filtration à l'aide d'une membrane filtrante de 0,45µm avant l'analyse par CLHP-PR. L'analyse et la séparation des composés phénoliques a été faite par chromatographie liquide à haute performance et en phase inverse à l'aide d'un appareil (CLHP-RP) du type Agilent Technologies 1100, muni d'un détecteur UV visible à longueur d'onde variable et équipé d'une colonne du type C18 Hypersil ODS (250 x 4,6 mm, 4 µm), à la température ambiante. La phase mobile est composée comme suit: solvant A: acetonitrile et solvant B: H₂O à 0,2% acide sulfurique. Le gradient d'élution choisi est comme suit:15% A/ 85% B 0-12 min, 40% A/ 60% B 12-14min, 60% A/ 40% B 14-18min, 80% A/ 20% B 18-20min, 90% A/ 10% B 20-24min, 100% A 24-28 min. Le débit est maintenu à 0,5 ml/min et le volume d'injection est de 20 µl. L'identification des pics a été réalisée par Co-injection de témoins purs d'acides phénoliques et de flavonoïdes dans les mêmes conditions analytiques. La quantification des composés phénoliques a été faite en utilisant la rutine comme étalon interne.

2.8. Analyses statistiques

Toutes les analyses sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par Analyse de la Variance (ANOVA) utilisant le logiciel STATISTICA (Statsoft, 1998). Le test multirange de Duncan est utilisé au seuil de significativité de 0,05.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement en huile essentielle

L'hydrodistillation des organes de la lavande dentée (LD) a donné des huiles essentielles (HE) différentes aussi bien de couleurs que d'odeurs. En effet, les feuilles fournissent une huile jaune vert pâle à odeur fraîche et herbacée. Toutefois, les huiles issues des tiges sont de couleur jaune claire à odeur boisée. Celles des racines sont blafardes, presque transparentes à odeur terreuse. L'examen des rendements en huiles essentielles de (LD) divulgue une grande variabilité intra-organes, illustrée par la différence spectaculaire au niveau des teneurs en huiles essentielles (Figure 1). Le rendement en huile essentielle est déterminé en % par rapport à la masse de la matière végétale sèche. En effet, les feuilles de (LD) fournissent un rendement en huile essentielle estimé à 0.89 %. Viennent en deuxième lieu les tiges qui enclavent 0.68 % d'huile essentielle. Enfin, la racine est l'organe possédant la teneur la plus faible en ces métabolites (0.22%). Les variations observées sont dues à des différenciations morphologiques qui apparaissent au cours du cycle phénologique. En effet, selon l'hypothèse «transport source puits», Kramer et Kozlowski (1979) ont montré que les photosynthétats et les métabolites sont convertis au cours du métabolisme secondaire vers les fleurs et les fruits après l'ontogenèse. D'autre part, l'augmentation de l'accumulation des huiles essentielles au niveau des fleurs et des feuilles supérieures avait des significations biologiques et écologiques (Kramer et Kozlowski, 1979).

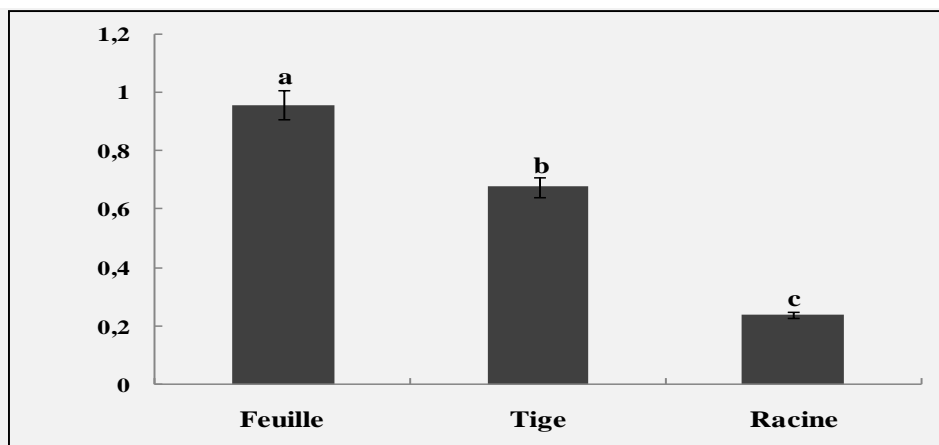


Figure 1. Rendement en huile essentielle (%) des différents organes de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*)
Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

3.2. Composition chimique de l'huile essentielle

Le tableau 1 représente les résultats de l'analyse chromatographique des HE des différents organes de la Lavande dentée. Au niveau de tous les organes, quarante et un (41) composés ont été identifiés, dont huit (8) composés communs. Les HE isolées sont des mélanges complexes d'hydrocarbures monoterpéniques, alcools, aldéhydes, cétones, époxydes, phénols et esters et sont caractérisées par la prédominance des hydrocarbures monoterpéniques. Nous avons également noté que les organes aériens (feuilles et tiges) sont significativement plus riches en hydrocarbures terpéniques et en alcools alors que les racines contiennent plus de cétones. Le constituant majeur de l'HE des racines est le β -ocimène (39.17%). D'autre part, le limonène (14.91%), le β -pinène (14.02%) et le camphène (9.59%) représentent les composés majeurs de l'HE des tiges. Le limonène qui est d'un usage important comme insecticide à cause de sa faible toxicité envers les Mammifères et de leur biodégradabilité élevée (Aidi Wannes, 2011) et comme traitement efficace contre les cancers via leurs activités chémo-préventives des cancers mammaire et hépatique. D'autres part, les pinènes ont montré des propriétés contre certains micro-organismes (Aidi Wannes, 2011). Quant à la composition des HE des feuilles, elle est dominée par le camphre (26.52%) et le 1,8 cinéole (22.90%). Ce dernier est reconnu pour ses actions anti-inflammatoires; il est utilisé en Allemagne comme médicament à part entière pour le traitement des bronchites aiguës et modérées, les sinusites et les infections pulmonaires (Aidi Wannes, 2011). D'un autre côté, nous avons noté que certains composés comme le β -phellandrène, le cryptone, le carvone et le germacrène-D sont sequestrés uniquement dans l'HE des feuilles alors que l'acétate de bornyle et le β -citral sont détectés seulement dans les tiges. Le nerol, le β -ocimène et l'acide hexadécanoïque caractérise seulement l'HE issue des racines. Le bornéol, le β -eudésémol et le camphène ont été détectés uniquement dans les organes aériens (feuilles et tiges). Ces résultats montrent que la répartition des composés de l'HE est organe-dépendante.

L'étude du rendement et de la composition chimique des HE des organes de la lavande dentée témoigne d'une variabilité intra spécifique très importante de ces biomolécules. En effet la feuille est l'organe le plus pourvue en ces métabolites secondaires avec un pourcentage allant jusqu'à quatre fois plus que la racine.

Tableau 1. Composition de l'huile essentielle des différents organes de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*)

Composés	Identification	%		
		Feuille	Tige	Racine
α -Pinène	TR, GC/MS	0.39±0.02	1.01±	-
β -Phellandène	TR, GC/MS	0.35±0.03	-	-
β -Pinène	TR, GC/MS	2.99±0.01	1.88±0.05	-
Limonène	TR, GC/MS	-	14.91±0.03	1.49±0.03
1,8-Cinéole	TR, GC/MS	22.90±1.25	7.44±0.05	3.22±0.03
<i>p</i> -Menth-8-en-1-ol	TR, GC/MS	0.29±0.01	-	-
Oxyde de linalool	TR, GC/MS	0.60±0.01	-	-
γ -Terpinène	TR, GC/MS	-	1.98±0.01	-
α -Thujone	TR, GC/MS	2.06±0.05	-	-
Linalool	GC/MS	5.25±0.03	1.17±0.05	-
Fenchone	GC/MS	0.42±0.01	0.72±0.05	-
α -Campholénal	TR, GC/MS	0.48±0.05	-	-
Heptane-2-one	TR, GC/MS	1.22±0.01	0.67±0.01	-
<i>Trans</i> -pinocarveol	TR, GC/MS	4.51±0.01	2.13±0.01	1.31±0.01
Camphre	TR, GC/MS	26.52±0.06	9.59±1.69	4.44±0.05
Pinocarvone	GC/MS	3.29±0.01	1.35±0.02	1.01±
Bornéol	TR, GC/MS	2.97±0.01	1.38±0.01	-
Terpinène-4-ol	TR, GC/MS	0.30±0.02	-	-
Cryptone	GC/MS	0.84±0.01	-	-
3-Cyclohexane-1-methanol	GC/MS	1.04±0.01	-	-
Myrténol	TR, GC/MS	5.65±0.22	2.09±	1.92±0.05
Acétate de Bornyle	GC/MS	-	1.69±0.01	-
Hept-3-en-2-one	TR, GC/MS	0.57±0.01	-	-
<i>Trans</i> -Carvéol	GC/MS	0.30±0.01	-	-
Carvone	TR, GC/MS	1.14±0.01	-	-
Germacrène-D	TR, GC/MS	0.28±0.01	-	-
β -Selinène	GC/MS	0.36±0.01	-	1.55±0.02
1,1-Diméthyléthyl-phénol	TR, GC/MS	0.18±0.01	2.89±0.85	2.26±0.05
Cis-Calamenène	GC/MS	0.14±0.00	-	1.06±0.01
α -Bisabolène	GC/MS	0.57±0.00	-	1.33±0.01
Oxyde de caryophyllène	TR, GC/MS	0.24±0.01	0.52±0.03	0.92±0.05
α -Copaène	GC/MS	0.18±0.00	-	0.88±0.01
β -Bisabolène	GC/MS	0.24±0.02	-	-
β -Eudésémol	GC/MS	1.65±0.01	3.12±0.02	-
4-Méthylthioquinone	GC/MS	-	0.43±0.02	-
Pyrimidine	GC/MS	0.46±0.01	-	1.43±0.05
α -Bisabolol	GC/MS	0.55±0.03	1.20±0.03	3.43±0.01
Cis-Lancéol	GC/MS	0.25±0.01	-	-
β -Citral	GC/MS	-	0.46±0.04	-
Nérol	TR, GC/MS	-	-	1.45±0.02
β-Ocimène	TR, GC/MS	-	-	39.17±0.08
α -époxyde de bisabolène	TR, GC/MS	-	-	1.92±0.03
β-Pinène	TR, GC/MS	-	14.02±0.01	1.62±0.05
Vulgarol	GC/MS	0.12±0.01	-	-
Camphène	GC/MS	9.55±0.33	0.51±0.01	-
Acide hexadécanoïque	GC/MS	-	-	1.85±0.02
Acide octadécanoïque	GC/MS	0.14±0.04	-	1.61±0.06

Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

Contrairement à nos résultats, Gamez et al. (1990) ont montré que le composé majeur de l'huile essentielle foliaire de (LD) est le 1-8 cinéol, représentant à lui seul 75 % de la composition totale. D'autres travaux portant sur (LD) d'origine algérienne ont montré que les composés majeurs de l'HE extraite des feuilles sont: le 1,8-cinéole (38.4%), cis-verbénol (4.3%), *p*-cymène-8-ol (3.8%), et le fenchone (2.3%). Quand à la (LD) marocaine, l'huile essentielle des feuilles est dominée par l'acétate de linalyle (43.5 %) et le linalool (28.9 %). Par ailleurs Msaada et al. (2012) ont trouvé que l'HE isolée de la partie aérienne de (LD) est dominée par le linalool (47.30 %) et l'acétate de linalyle (28.65 %). Ceci montre que le chimiotype de l'HE de la (LD) est origine et organe dépendant.

Néanmoins cette espèce a reçu peu d'attention et les études précédentes ont été concentrées principalement sur l'HE isolée des feuilles et de la partie aérienne, tandis qu'à notre connaissance aucune n'est disponible sur la composition de l'huile des tiges et des racines.

3.3. Quantification des composés phénoliques

La plupart des activités antioxydantes des plantes sont dues à la présence de composés phénoliques (Mansouri et al, 2005). L'examen des résultats du dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits des organes de (LD) divulgue une forte hétérogénéité des teneurs en polyphénols totaux en fonction de l'organe (Tableau 2). Les résultats obtenus montrent que les teneurs en ces composés varient considérablement entre les trois organes. La racine de la lavande est très riche en polyphénols totaux (42.57 mg EAG. g⁻¹MS) par rapport aux extraits des autres organes. Par ailleurs, les extraits des feuilles viennent en deuxième position avec une teneur en polyphénols de l'ordre de 39.58 mg EAG. g⁻¹MS. Quant aux tiges, ils comprennent les plus faibles teneurs en ces molécules (16.17 mg EAG. g⁻¹MS). Concernant la teneur en flavonoïdes totaux de la lavande dentée, les différents extraits des organes analysés obéissent au même ordre de classement entre les organes que celui décrit pour les polyphénols totaux, mais avec des teneurs inférieures à ces derniers. Il est bien repérable à partir du tableau 2 que la racine est la plus riche en ces molécules (30.06 mg EC. g⁻¹ MS), suivie par la feuille (17.36 mg EC. g⁻¹ MS) puis celle de la tige 10.74 mg EC. g⁻¹ MS). Ces teneurs sont beaucoup plus meilleures que celles observés dans l'extrait méthanolique de *Lavandula angustifolia* de la Lituanie (Messaoud et al. 2012), l'extrait aqueux de la Lavande officinale de l'Iran et l'extrait méthanolique de *Lavandula stoechas* de la Turquie.

Tableau 2. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des différents organes de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*).

	Feuille	Tige	Racine
Polyphénols (mg EAG. g⁻¹MS)	39.58±0.15 ^b	16.17± 0.22 ^c	42.57±0.3 ^a
Flavonoïdes (mg EC. g⁻¹ MS)	17.36±0.1 ^b	10.74±0.03 ^c	30.06±0.15 ^a

3.4. Estimation des activités antioxydantes

3.4.1. Capacité antioxydante totale

L'examen des résultats de cette activité (Tableau 3) témoigne de la variabilité intraspécifique très élevée chez la lavande dentée ainsi que sa dépendance de la richesse en composés phénoliques. En effet, l'activité antioxydante totale des différents extraits des organes de (LD) varie entre 66.87 et 190.52 mg EAG.g⁻¹ MS. En outre l'ordre de supériorité des différents organes décrit pour cette activité suit strictement la même allure que celui des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux. Les racines sont au premier rang avec une activité antioxydante totale statistiquement la plus importante (190.52 mg EAG.g⁻¹ MS) par rapport aux autres organes. Les feuilles viennent en deuxième position (66.87 mg EAG.g⁻¹ MS) suivies par les tiges (47.26 mg EAG.g⁻¹ MS). En général, l'activité antioxydante totale de cette espèce est très intéressante puisque l'activité minimale exprimée est de l'ordre de 47.26 mg EAG.g⁻¹ MS et varie en fonction des organes jusqu'à atteindre 190.52 mg EAG.g⁻¹ MS.

Tableau 3. Activités antioxydante totale (AAT), antiradicalaire et pouvoir chélateur des extraits des différents organes de la lavande dentée (*Lavandula dentata* L.). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

	AAT (mg EAG.g⁻¹ MS)	DPPH CI50 (µg/ml)	Pouvoir réducteur CE50 (µg/ml)
Feuille	66.87±0.01 ^b	200.8±5.6 ^c	26.45±1.2 ^b
Tige	47.26±0.03 ^c	178.70 ±1.65 ^b	32.7± 0.2 ^c
Racine	190.52±0.01 ^a	50.36±2.25 ^a	16.31±0.95 ^a
Acide gallique	-	-	-
Hydroxytoluène (BHT)	Butylé -	13.86±0.14	1.46±0.25

3.4.2. Activité antiradicalaire.

Les résultats du test d'activité antiradicalaire montrent des variations statistiquement significatives en fonction de l'organe étudié. En effet, les extraits des racines sont par excellence les plus intéressants avec des CI_{50} ne dépassant pas 50.36 $\mu\text{g/ml}$. De l'autre côté, les extraits de tiges sont classés deuxième et les extraits des feuilles sont classés les derniers en ce qui concerne cette activité (Table 3).

3.4.3. Pouvoir réducteur du fer.

Comme pour le test DPPH, les résultats de l'activité réductrice du fer des extraits des différents organes de la lavande sont hétérogènes et témoignent d'une grande variabilité intra-organes. Cette activité est importante avec des CE_{50} variant entre 16 et 32 $\mu\text{g/ml}$ (Tableau 3). L'ordre de classement des organes en fonction de leur potentiel antioxydant est comme suit: racine > feuille > tige. Conformément à l'activité antiradicalaire, les racines présentent une meilleure potentialité réductrice du fer. Nos résultats sont différents de ceux rapportés par Messaoud et al. (2012). Ces derniers ont rapporté que les extraits méthanoliques de *Lavandula coronopifolia* ($IC_{50}=15\text{mg/ml}$) et *Lavandula multifida* (19.3 mg/ml) se sont avérés plus efficaces que l'antioxydant synthétique BHT ($IC_{50}=26.5\text{ mg/ml}$) mais moins actif que le Trolox ($IC_{50}=12.8\text{ mg/ml}$). D'autre part, l'ordre de classement des trois organes de cette espèce décrit la même allure que celle de leurs activités antioxydantes. Cette corrélation positive suggère que les composés phénoliques de cette espèce sont les responsables majeurs de ses potentialités antioxydantes. Une hypothèse qui a été confirmée par plusieurs travaux (Ksouri et al. 2009, Karray Bouraoui et al, 2011) qui ont montré l'existence d'une étroite relation entre les contenus en composés phénoliques d'une matrice végétale et le pouvoir biologique qu'ils exercent en tant qu'antioxydants majeurs des plantes. Cette importante différence entre ces deux organes sur la base de cette activité antioxydante et de leurs contenus en polyphénols, indiquent que cette activité ne dépend pas seulement de la concentration en composés phénoliques mais aussi de la structure et de l'interaction entre les différents composés antioxydants. En effet, Le mécanisme de la réaction entre les antioxydants et le DPPH dépend de la conformation structurale des antioxydants (Sharififar et al. 2009). En effet, certains composés réagissent très rapidement avec le DPPH, réduisant le nombre de molécules de DPPH en égal nombre de groupements hydroxyles. Cette activité antioxydante des différentes parties de la plante est principalement apportée par les composés actifs y présents. En effet, de nombreuses études ont montré l'existence d'antioxydants naturels dans toutes les parties de plantes et que les composés typiques responsables de cette activité sont principalement les polyphénols (Zainol et al. 2003; Skandrani et al. 2010).

En conclusion, la racine de *Lavandula dentata* est l'organe le plus riche en composés phénoliques, ce qui lui a conféré la meilleure capacité antioxydante. Pour cela, dans la partie suivante, une attention particulière sera accordée à cet organe afin d'explorer d'identifier les principaux composés phénoliques de cet organe.

3.5. Identification des composés phénoliques de la racine

La composante phénolique des végétaux est constituée d'une variété de structures représentant la majorité des classes phénoliques (Balasundram et al. 2006). La combinaison des différentes structures, leurs proportions relatives ainsi que leurs interactions (synergisme ou antagonisme) sont à l'origine de la diversité de leurs activités biologiques (Balasundram et al. 2006). En effet, la racine de la lavande a exprimé les meilleures potentialités antioxydantes. Ce fait justifie son choix pour le reste du travail qui cible l'identification qualitative, par RP-HPLC. Cette identification de la composition phénolique est une originalité de ce travail puisqu' aucune étude antérieure ne l'a rapportée chez cette espèce.

Les pics majeurs identifiés dans le profil chromatographique de l'extrait de racine montrent que cet organe est riche essentiellement en acides rosmarinique et trans hydrocinnamique ainsi que de nouvelles molécules telles que la catéchine et l'épicatéchine-3-O-gallate (Figure 2). Outre ces composés majeurs, d'autres composés existants à des faibles proportions sont identifiés à partir de ce profil. Nos résultats corroborent avec ceux de Wichtl et Anton (1999), ont rapporté que la Lavande dentée renferme des dérivés coumariniques, flavonoïdes et dérivés de l'acide rosmarinique

En effet, nos résultats ont montré la richesse des racines en flavonoïdes tels que l'épicatéchine et la catéchine et en acides phénoliques, ce qui leur attribue des capacités antioxydantes très importantes. En plus de ces composés, les racines renferment également l'acide caféique qui présentent également des

activités antibactérienne et antifongique, soit dans leur état normal, soit oxydé en quinones par les enzymes de la plante ou des micro-organismes (Bennett et Wallsgrove, 1994).

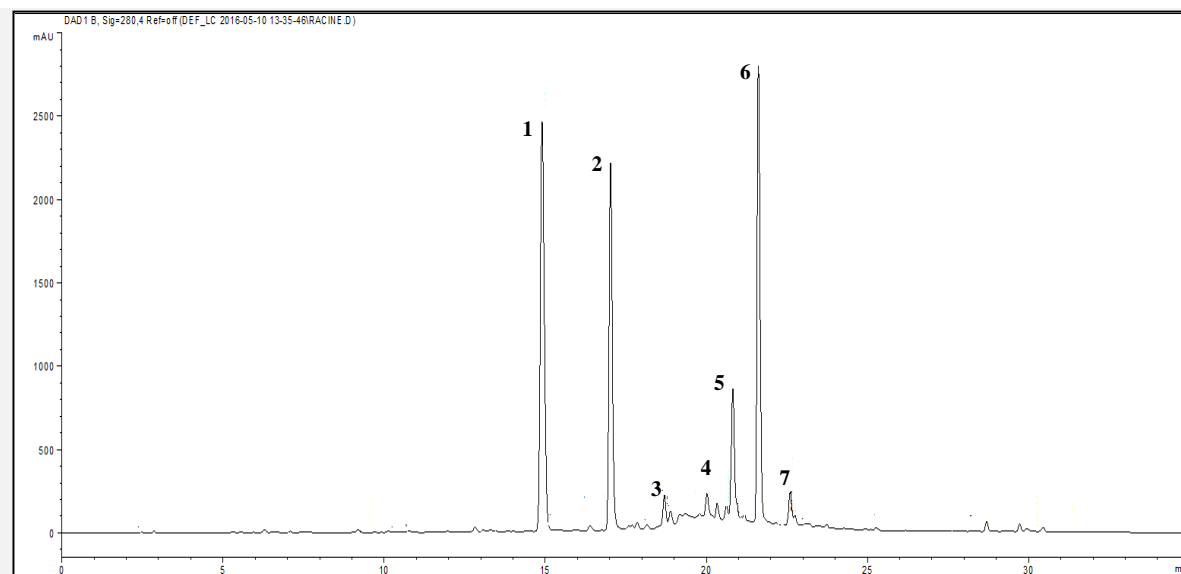


Figure 2. Profil chromatographique de l'hydrolyse acide de racine de *Lavandula dentata* analysés à 280 nm. Les pics correspondent à : 1, catéchine ; 2, Epicatechine-3- Θ -gallate; 3, acide caféique; 4, acide sinapique; 5, acide *trans* hydrocinnamique; 6, acide rosmarinique; 7, camphérol-3- Θ -rutinoside.

4. Conclusion

Les différents résultats présentés dans ce travail indiquent que *Lavandula dentata* montre une variabilité des activités antioxydantes de ses extraits en fonction de l'organe. En effet, l'extrait racinaire a montré un contenu en composés phénolique intéressant corrélé à une bonne capacité antioxydante. D'où, la recherche d'un rapport quantité/qualité satisfaisant et la détermination de la spécificité de l'activité ou du mode d'action d'une molécule pure sont également nécessaires afin de les utiliser comme substances d'intérêts éventuellement utiles comme additifs dans les aliments pour remplacer ceux synthétiques et/ou comme conservateurs dans les formulations cosmétiques et pharmaceutiques.

5. Références

- Aidi Wannes W (2011).** Caractérisation biochimique des différents organes de deux variétés de myrte: *Myrtus communis* var. *baetica* & *Myrtus communis* var. *italica* et évaluation de leur activité antioxydante. Thèse de Doctorat en Biologie, Université de Sfax, Faculté des Sciences de Sfax, 212 p.
- Aquaron, M (2005)** Les causeries en Montagne, Sabenca de la Valéa, Barcelonnette. Conférence du 18/08/05.
- Balasundram, N, Sundram K., Samman S (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 99: 199-203.
- Bennett, RN., and Wallsgrove, RM. (1994).** Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytol* 127: 617-633.
- Gamez, MJ., Jimenez, JC., Zarzuelo, A (1990).** Study of the essential oil of *Lavandula dentata* L. *Pharmazie* 45: 69-70.
- Karray-Bouraoui, N., Harbaoui, F., Rabhi, M., Jallali I., Ksouri, R., Attia, H., Msilini, N., Lachaâl, M (2010).** Different antioxidant responses to salt stress in two different provenances of *Carthamus tinctorius* L. *Acta Physiol Plant* 33: 1435-1444.
- Kramer, PJ, Kozlowski, TT (1979).** Physiology of woody plants, Academic Press, New York, 811 pp.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. *Plant Physiol Biochem* 45: 244-249.
- Maisuthisakul, P., Suttajit M., Pongsawatmanit, R (2007).** Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem* 100 (4): 1409-1418.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem* 89: 411-420.

- Messaoud, C., Chograni, H., Boussaid M (2012).** Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula L.* species. *Natural Prod Res* 26: 1976-1984.
- Msaada, K., Salem, N., Tammar, S., Hammami, M., Saharkhiz, M.J., Debiche, N., Limam, F., Marzouk B (2012).** Essential oil composition of *Lavandula dentata*, *L. stoechas* and *L. multifida* cultivated in Tunisia. *J Essent Oil Bearing Pl* 15: 1030-1039.
- Qidwai, W and Ashfaq T (2013).** Role of Garlic Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence-Based Approach. *Evid Based Complement Alternat Med*, Article ID 125649, 9.
- Sharififar, F., Nudeh-Dehghan, G., Mirtajaldini M (2008).** Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium L.* *Food Chem* 112: 885–888.
- Skandrani, I., Limem, I., Neffati, A., Boubaker, J., Ben, SM., Bhourri, W., Bouhlel I, Kilani, S., Ghedira, K., Chekir, GL (2010).** Assessment of phenolic content, free-radical-scavenging capacity genotoxic and anti-genotoxic effect of aqueous extract prepared from *Moricandia arvensis* leaves. *Food Chem Toxicol* 48: 710-715.
- Vasile Bagiu, R., Vlaicu, B., Butnariu M (2012).** Chemical Composition and *in Vitro* Antifungal Activity Screening of the *Allium ursinum L.* (Liliaceae) *Int J Mol Sci* 13(2): 1426–1436.
- Wichtl, M., Anton, R (1999).** *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinales, sciences et thérapeutique*, 2ème édition, Ed. Tec et Doc, ISBN: 2743006315, 692p.
- Zainol, MK., Abdul-Hamid, A., Yusof, S. Muse, R (2003).** Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica (L.) urban.* *Food Chem* 49: 5165-5170.
- Zainol, MK., Abdul-Hamid, A., Yusof, S., Muse, R (2003).** Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica (L.) urban.* *Food Chem* 49: 5165-5170.
- Zuzarte, M., Vale-Silva, L., Goncalves, M.J., Cavaleiro, C., Vaz, S., Canhoto, J., Pinto, E., Salgueiro, L (2012).** Antifungal activity of phenolic-rich *Lavandula multifida L.* essential oil. *Eur J Clin Microbiol* 31: 1359–1366.