



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministre de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

N° d'ordre :.....

N° de série :.....

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Sciences biologiques

Option: Pharmacotoxicologie

Thème :

Evaluation in vitro des activités antimicrobiennes et antidiabétiques de l'huile essentielle et des extraits bruts de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* (Desf.) cultivée dans la région d'O.E.B

Présentée par : Amal REGAIA

Devant les membres du jury :

| | | |
|-------------------------------|-----|----------------------------------|
| Président : Dr.Salim GASMI | MCB | Université Larbi Tebessi-Tebessa |
| Promotrice: Dr.Nadia DJERMANE | MCB | Université Larbi Tebessi-Tebessa |
| Examineur: Dr.Ammar Belakhal | MCB | Université Larbi Tebessi-Tebessa |

Année universitaire 2020-2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Avant de présenter ce travail, je tiens à remercier Allah Le Tout Puissant qui m'a donné la force et la santé pour réaliser ce travail.

*J'adresse mes remerciements à mon encadreur de mémoire **Mme. Djarmane Nadia**, Maitre de conférence (B) au Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie Appliquée, Université Larbi Tbessi-Tebessa*

Pour avoir accepté de m'encadrer dans cette étude, pour sa patience, ses conseils et orientations durant toute la période de la réalisation de ce travail.

La gentillesse et la bienveillance avec lesquelles vous avez guidé mes pas dans ce travail ont suscité ma bonne volonté de donner de mon mieux. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma haute considération, ma profonde reconnaissance et ma sincère gratitude.

Je remercie sincèrement les membres de Jury d'avoir accepté de juger ce travail:

*Monsieur **Gasmi Salim**, Maitre de conférence (B) au Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie Appliquée, Université Larbi Tbessi-Tebessa et président de jury de mémoire*

Mes sincères remerciements pour bien vouloir présider notre jury de mémoire, vous nous offrez le grand honneur et le grand plaisir

Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de ma profonde estime et mon grand respect

*Monsieur **Benlakhel Ammar** Maitre de conférence (B) au Faculté
des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée, Université Larbi Tbessi-Tebessa et
Examineur de jury de mémoire*

*Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance pour l'honneur
que vous me faites de bien vouloir juger mon mémoire*

*Veillez trouver dans ce travail le témoignage de ma profonde
estime et mon grand respect*

*Merci beaucoup, mes chers parents, Pour tous leurs sacrifices, leur
amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes
études*

*Je remercie mes frères et mes sœurs, mes oncles et tantes maternels
et paternels, mon grand-mère paternelle, a mes cousins et cousines et
toute ma famille, mes amis et mes collègues pour leur soutien*

A mes chères amies

*En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux
sincères de réussite, bonheur, santé et de prospérité*

*Je ne voudrais pas oublier tous mes professeurs du niveau primaire,
intermédiaire, secondaire, et universitaire, que Dieu vous a donné le
paradis comme vous nous avez donné la connaissance*

*Enfin je remercie tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin à la
réalisation de ce travail*

Dédicace

Je dédie ce travail

Aux êtres les plus chers : Mes parents

Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études

A mon père

Toute l'encre, du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père. J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.

A ma mère

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A mes chers frères : Bilal, Zakaria, Taha

A mes sœurs : Wafa, Naffisa ,Khawla

Pour leur appui et leur encouragement

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection et de mon attachement indéfectible. Que Dieu vous accorde santé et succès a votre vies.

A mon chère frère Mondher (Mon gazelle)

Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je te porte. A bonté, ton précieux soutien, ton encouragement tout au long de mes années d'étude, ton amour et ton affection, ont été pour moi l'exemple de persévérance. Je trouve en toi le conseil du frère et le soutien de l'ami.

A mon fiancé Aymen

Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu.

A ma grande famille, mes amis et collègues

Amal

Résumé

Résumé

Cette étude a pour but l'étude de la composition chimique et les activités biologiques in vitro (activité antimicrobienne et antidiabétique) des huiles essentielles et des extraits bruts (aqueux, méthanolique, acétone et dichlorométhane) de *Thymus ciliatus* subsp. *eu-ciliatus* Maire provenant de Djebel taraf (Oum el bouaghi). L'analyse des huiles essentielles a été déterminée par la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion de disques en milieu gélosé et la méthode des puits, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) ont été également déterminées. En outre, l'activité antidiabétique a été réalisée, en déterminant l'effet inhibiteur vis-à-vis de l'enzyme alpha-glucoside par la méthode colorimétrique sur microplaque.

L'analyse chimique des huiles essentielles a révélé la prédominance de l'alpha-Terpinenyl acetate (18,74%); Camphor (10.62%) ; Caryophyllene oxide (9.58%) ; trans-nerolidyl acetate (6.63%) ; Eucalyptol (6.55%) ; Epiglobulol (5.59%), Bornyl acetate (5.56%) et Borneol (5.15%).

L'huile essentielle de *T. ciliatus* a révélé une bonne activité antimicrobienne vis-à-vis toutes les souches ciblées et essentiellement *Staphylococcus aureus* ($\text{Ø}=12,00\pm 1,00$ à $19,5\pm 0,57$ mm), *Bacillus cereus* ($\text{Ø}=12,00\pm 0,00$; $12,33 \pm 0,58$ mm) et *candida albicans* ($\text{Ø} =12,00\pm 0,00$; $14,5\pm 0,70$ mm), cependant, les extraits bruts ont révélés une activité considérables contre toutes les souches testées excepté la souche *E.coli*. Les valeurs de la CMI et de la CMB ont été enregistrées essentiellement avec les huiles essentielles. L'activité inhibitrice la plus importante vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum* a été enregistré avec les huiles essentielles avec un taux d'inhibition de 67,16%.

L'activité antidiabétique la plus intéressante de *T. ciliatus* vis-à-vis l'enzyme alpha-glucosidase a été enregistré avec l'extrait aqueux ($\text{IC}_{50}=2,56\pm 0,06$ µg/ml), suivi par les huiles essentielles ($\text{IC}_{50}=57,11\pm 4,39$ µg/ml).

Ces résultats montrent que *Thymus ciliatus* peut être un candidat intéressant pour des applications thérapeutiques dans le diabète et quelques maladies infectieuses.

Mots clés : Huiles essentielles-Extrait bruts-*Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*-Activité antimicrobienne, Activité antidiabétique.

Abstract

This study aims to study the chemical composition and biological activities in vitro (antimicrobial and antidiabetic activity) of essential oils and crude extracts (aqueous, methanolic, acetone and dichloromethane) of *Thymus ciliatus* subsp. *eu-ciliatus* Mayor from Djebel taraf (Oum el bouaghi). The analysis of essential oils was determined by the technique of gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC / MS). Antimicrobial activity was assessed by the agar disk diffusion method and the well method, minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) were also determined. In addition, the antidiabetic activity was performed, determining the inhibitory effect against the alpha-glucoside enzyme by the colorimetric microplate method.

Chemical analysis of essential oils revealed the predominance of alpha-Terpinenyl acetate (18.74%); Camphor (10.62%); Caryophyllene oxide (9.58%); trans-nerolidyl acetate (6.63%); Eucalyptol (6.55%); Epiglobulol (5.59%), Bornyl acetate (5.56%) and Borneol (5.15%).

The essential oil of *T. ciliatus* showed good antimicrobial activity against all target strains and essentially *Staphylococcus aureus* ($\text{Ø} = 12.00 \pm 1.00$ to 19.5 ± 0.57 mm), *Bacillus cereus* ($\text{Ø} = 12.00 \pm 0.00$; 12.33 ± 0.58 mm) and *Candida albicans* ($\text{Ø} = 12.00 \pm 0.00$; 14.5 ± 0.70 mm), however, the crude extracts have showed considerable activity against all strains tested except the *E. coli* strain. The MIC and CMB values were recorded mainly with essential oils. The strongest inhibitory activity against the fungus *Fusarium oxysporum* was recorded with essential oils with an inhibition rate of 67.16%.

The most interesting antidiabetic activity of *T. ciliatus* vis-à-vis the alpha-glucosidase enzyme was recorded with the aqueous extract ($\text{IC}_{50} = 2.56 \pm 0.06 \mu\text{g} / \text{ml}$), followed by essential oils. ($\text{IC}_{50} = 57.11 \pm 4.39 \mu\text{g} / \text{ml}$). These results show that *Thymus ciliatus* may be an interesting candidate for therapeutic applications in diabetes and some infectious diseases.

Keywords: Essential oils-Crude extract-*Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*-Activity antimicrobial, Antidiabetic activity.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة التركيب الكيميائي والأنشطة البيولوجية في المختبر (النشاط المضاد للميكروبات ومضادات السكر) للزيوت الأساسية والمستخلصات الخام (المائية والميثانولية والأسيتون وثنائي كلورو ميثان) من *Thymus ciliatus*. من جبل طارف (أم البواقي) تم تحديد تحليل الزيوت العطرية من خلال تقنية كروماتوغرافيا الغاز المقترنة بمطياف الكتلة / GC (MS). تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات من خلال طريقة نشر قرص الأجار وطريقة البئر ، كما تم تحديد الحد الأدنى من التركيزات المثبطة (MIC) والحد الأدنى من تركيزات مبيد الجراثيم (MBC) بالإضافة إلى ذلك ، تم إجراء النشاط المضاد لمرض السكر ، وتحديد التأثير المثبط ضد إنزيم ألفا جلوكوزيد بطريقة اللونية الدقيقة. كشف التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية عن غلبة أسيتات ألفا تيربينيل (18.74%) ؛ كافور (10.62%) أكسيد كاريوفيلين (9.58%) ؛ أسيتات ترانس نيروليديل (6.63%) ؛ يوكالبيتول (6.55%) ؛ إبيجلوبولول (5.59%) ، بورنيل أسيتات (5.56%) ، بورنيول (5.15%).

أظهر الزيت العطري لـ *T. ciliatus* نشاطاً جيداً مضاداً للميكروبات ضد جميع السلالات المستهدفة وبشكل خاص :

Staphylococcus aureus ($\text{Ø}=12,00\pm 1,00$ à $19,5\pm 0,57$ mm)

Bacillus cereus ($\text{Ø}=12,00\pm 0,00$; $12,33 \pm 0,58$ mm) et

candida albicans ($\text{Ø}=12,00\pm 0,00$; $14,5\pm 0,70$ mm)

ومع ذلك ، فقد أظهرت المستخلصات الخام نشاطاً كبيراً ضد جميع السلالات المختبرة باستثناء سلالة *Ecoli* تم تسجيل قيم MIC و CMB بشكل رئيسي مع الزيوت الأساسية. تم تسجيل أقوى نشاط مثبط ضد الفطر *Fusarium oxysporum* مع الزيوت الأساسية بنسبة تثبيط 67.16%.

تم تسجيل النشاط المضاد لمرض الاكثر فعالية لـ *T. ciliatus* مقابل إنزيم α -glucosidase باستخدام المستخلص المائي ($\text{IC}_{50} = 2.56 \pm 0.06$ ميكروغرام / مل) ، متبوعاً بالزيوت الأساسية ($\text{IC}_{50} = 57.11 \pm 4.39$ ميكروغرام / مل). تظهر هذه النتائج أن *Thymus ciliatus* قد يكون مرشحاً فعال في للتطبيقات العلاجية لمرض السكري وبعض الأمراض المعدية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية - مستخلص خام - *Thymus ciliatus* ssp. - eu-ciliatus-

نشاط مضاد للميكروبات- نشاط مضاد لمرض السكر.

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|-----------------|--|
| ADN | Acides désoxyribonucléique |
| ARN | Acides ribonucléique |
| ATP | Adénosine-triphosphate |
| Al (NO3) | Nitrate d'aluminium |
| CMI | Concentration minimale inhibitrice |
| CMB | Concentration Minimale Bactéricide |
| CH3COOK | Potassium acétate |
| CCM | Chromatographie sur couche mince |
| CPG | Chromatographie en phase gazeuse |
| DMSO | Diméthylsulfoxyde |
| D.O | Densité Optique |
| DP | Degré de polymérisation |
| DT2 | Diabète de type 2 |
| DT1 | Diabète de type 1 |
| DZI | Diamètre des zones d'inhibition |
| EH20 | Extrait aqueux |
| EMeOH | Extrait méthanolique |
| EACT | Extrait acéthonique |
| EDCM | Extrait déchlorométhanolique |
| GM | Gentamicine |
| GPC/SM | Chromatographie en phase gazeuse/la spectrométrie de masse |
| g | Gramme |
| H2O | Eau |
| HE | Huile essentielle |
| h | Heure |
| IC50 | Concentration inhibitrice de 50% |
| l | Litre |
| MH | Muller – Hinton |

| | |
|--------------------|-------------------------------------|
| ml | Millilitre |
| mm | Millimètre |
| min | Minute |
| NA | Non actif |
| PDA | Potato Dextrose Agar |
| pNPG | Paranitrophenylglucopyranose |
| QE | Quercétine |
| SM | Solution mère |
| <i>T. ciliatus</i> | <i>Thymus ciliatus</i> |
| µg | Microgramme |
| µl | Microlitre |
| % | Pourcentage |

LISTES DES FIGURES

| Numéro | Titre | Page |
|-------------------|---|-------------|
| Figure1 : | Carte de répartition de la famille des <i>Lamiaceae</i> dans le monde | 02 |
| Figure2 : | Photo de l'espèce <i>Thymus ciliatus</i> Desf. (djbal tarif, 20.04.2020) | 07 |
| Figure3 : | Squelette de base de flavonoïdes | 10 |
| Figure4 : | Squelette de base de tanins hydrolysables | 11 |
| Figure5 : | Squelette de base de tanins condensés | 12 |
| Figure6 : | Squelette de base des terpènes | 15 |
| Figure7 : | Structure chimique de quelques composés des HEs | 16 |
| Figure8 : | Montage d'extraction par l'hydro distillation | 17 |
| Figure9 : | Montage d'extraction des HE par entraînement à la vapeur d'eau | 17 |
| Figure10 : | Montage d'extraction assistée par micro-onde | 18 |
| Figure11 : | Matériel végétal utilisé | 24 |
| Figure12 : | Protocole de préparation de différents extraits bruts par macération | 26 |
| Figure13 : | Dispositif de Clevenger | 27 |
| Figure14 : | Appareil de GC/MS | 29 |
| Figure15 : | Principe de la méthode des disques | 30 |
| Figure16 : | Protocole d'évaluation de l'activité anti-alpha glucosidase | 32 |
| Figure17 : | Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Thymus ciliatus</i> subsp. <i>Euciliatus</i> Maire | 33 |
| Figure18 : | Les composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>T.ciliatus</i> | 34 |
| Figure19 : | Effet de différents extraits de <i>Thymus ciliatus</i> sur la croissance des souches microbiennes testées | 37 |
| Figure20 : | Effet de différents extraits de <i>T.ciliatus</i> sur la croissance du champignon <i>Fusarium oxysporum</i> | 40 |

LISTE DES TABLEAUX

| Numéro | Titre | Page |
|--------------------|--|-------------|
| Tableau1 : | Classification taxonomique de la famille des <i>Lamiaceae</i> | 02 |
| Tableau2 : | Utilisations thérapeutiques de certaines espèces de la famille des <i>Lamiaceae</i> | 03 |
| Tableau3 : | Quelques exemples de substances bioactives isolés de quelques espèces de <i>Thymus</i> | 05 |
| Tableau4 : | Utilisation médicinale de certaines espèces du genre <i>Thymus</i> | 06 |
| Tableau5 : | Classification botanique de l'espèce <i>Thymus cilatus Desf</i> | 07 |
| Tableau6 : | Quelques exemples de composés identifiés dans l'espèce <i>T.cilatus</i> | 08 |
| Tableau7 : | Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce <i>T.cilliatus</i> | 33 |
| Tableau8 : | Teneurs en poly phénols et flavonoïdes totaux des extraits de <i>T.cilatus</i> | 36 |
| Tableau9 : | Diamètre des zones d'inhibition de différents extraits de la plante <i>T.cilatus</i> | 38 |
| Tableau10 : | CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante <i>T.cilatus</i> | 38 |
| Tableau11 : | Résultats de l'activité inhibitrice des extraits de <i>T.cilliatus</i> vis-à-vis le champignon <i>Fusarium oxysporum</i> | 41 |
| Tableau12 : | Effet de l'huile essentielle et des extraits bruts de <i>T.cilliatus</i> vis-à-vis l'enzyme α -glucosidase | 42 |

Sommaire

| | |
|-------------------|---|
| Introduction..... | 1 |
|-------------------|---|

Synthèse bibliographique

Chapitre.1

Etude de la plante sélectionnée (Thymus Cilliatus)

| | |
|---|---|
| 1. La famille des lamiacées..... | 2 |
| 1.1 Description et distribution..... | 2 |
| 1.2 Classification taxonomique..... | 2 |
| 1.3 Utilisations et intérêts économiques..... | 3 |
| 2. Le genre thymus..... | 4 |
| 2.1 Origine du nom..... | 4 |
| 2.2 Répartition géographique..... | 4 |
| 2.3 Richesse en Métabolites secondaires et usages médicinale..... | 4 |
| 3. L'espèce Thymus ciliatus Desf..... | 6 |
| 3.1 Description botanique..... | 6 |
| 3.2 Classification taxonomique..... | 7 |
| 3.3 Habitat et répartition géographique..... | 7 |
| 3.4 Propriétés et Utilisations..... | 7 |
| 3.5 Composition chimique..... | 8 |

Chapitre.2

Généralité sur les substances naturelles d'origine végétale

| | |
|---|----|
| 1. Introduction..... | 9 |
| 2. Les composés phénoliques..... | 9 |
| 2.1 Les acides phénoliques..... | 9 |
| 2.2 Les flavonoïdes..... | 10 |
| 2.3 Les tannins..... | 11 |
| 3. Propriétés biologiques..... | 12 |
| 4. Les huiles essentielles..... | 13 |
| 4.1 Définition..... | 13 |
| 4.2 Localisation et lieu de synthèse..... | 14 |
| 4.3 Composition chimique..... | 14 |
| 4.3.1 Les composées terpéniques..... | 15 |

| | |
|---|----|
| 4.3.2 Les composées aromatiques..... | 16 |
| 4.4 Méthodes d'extractions des huiles essentielles..... | 16 |
| a. Méthode d'hydrodistillation..... | 16 |
| b. Entraînement à la vapeur d'eau..... | 17 |
| c. Extraction assistée par micro-ondes..... | 17 |
| 4.5 Techniques d'analyse des huiles essentielles..... | 18 |
| a. Chromatographie sur couche mince (CCM)..... | 19 |
| b. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)..... | 19 |
| c. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)..... | 19 |
| 4.6 Propriétés biologiques..... | 20 |
| 5. Les alcaloïdes..... | 21 |
| 5.1 Définition..... | 21 |
| 5.2 Structure..... | 21 |
| 5.3 Classification..... | 22 |
| 5.4 Propriétés biologiques..... | 22 |

Partie expérimentale

Chapitre 1.

Matériels et Méthodes

| | |
|---|----|
| 1.1. Matériels..... | 24 |
| 1.1.1. Matériel végétal..... | 24 |
| 1.1.2. Appareillage et produits utilisés..... | 24 |
| 1.1.3. Les souches ciblées..... | 25 |
| 1.2. Méthodes..... | 25 |
| 1.2.1. Préparation des extraits bruts..... | 25 |
| 1.2.2. Extraction des huiles essentielles..... | 27 |
| 1.2.3. Préparation des concentrations des extraits..... | 27 |
| 1.2.4. Dosage des poly phénols totaux..... | 27 |
| 1.2.5. Dosage des flavonoïdes totaux..... | 27 |
| 1.2.6. Analyse des huiles essentielles par GC/MS..... | 28 |

| | |
|--|----|
| 1.2.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne..... | 29 |
| a. Méthode de disque..... | 29 |
| b. Méthode de puit..... | 30 |
| c. Détermination de la CMI et la CMB..... | 30 |
| d. Méthode par contact direct..... | 30 |
| 1.2.8. Evaluation de l'activité antidiabétique..... | 31 |

Chapitre 2. Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| 2.1 Composition chimique des huiles essentielles..... | 32 |
| 2.2 Teneurs en Poly phénols totaux et Flavonoïdes totaux..... | 35 |
| 2.3 Activité antimicrobienne..... | 36 |
| 2.4 Activité antidiabétique..... | 41 |

Conclusion

Références bibliographiques

Introduction générale

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Elles constituent une source importante de molécules bioactives qui font généralement partie des métabolites secondaires (**Haddouchi et al., 2016**).

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème extrêmement déterminant dans la santé publique. Elle cause une crise dans beaucoup d'hôpitaux autour du monde. La recherche de nouvelles molécules actives et à large spectre d'action est devenue une nécessité (**Bouyahya et al., 2017 ; Haddouchi et al., 2016**).

Le diabète est caractérisé par un taux de mortalité très élevé. Ceci est dû à ses complications qui peuvent être diminuées par l'utilisation de l'insuline et/ou des hypoglycémifiants oraux, mais malheureusement des effets secondaires peuvent se manifester après quelques mois de traitement rendant ces médicaments inefficaces et insuffisants pour traiter cette maladie (**Telli, 2017**).

La phytothérapie antidiabétique connaît à ce jour un essor important du fait des découvertes de plus en plus croissantes d'extraits de plantes efficaces dans le traitement du diabète (**Ambodj, 2013**).

L'utilisation d'extraits de plantes et des composés naturels d'origine végétale sont des sources précieuses pour la médecine traditionnelle dans le traitement et la prévention d'un large éventail de maladies impliquées dans le stress oxydatif ; notamment le diabète sucré et les maladies infectieuses (**Beddou, 2016**).

Ainsi, ce travail a pour objectif l'étude de l'activité antimicrobienne et antidiabétique des extraits végétaux et des huiles essentielles d'une plante médicinale, *T. ciliatus* (Desf). Provenant de l'Est algérien (Djbel Taref, wilaya d'Oum El Bouaghi).

La première partie de ce travail est consacrée à la synthèse bibliographique sur la plante médicinale sélectionnée et à un aperçu général sur les substances naturelles d'origine végétale.

La deuxième partie est consacrée à la méthodologie qui traite les principes généraux du matériel et méthodes utilisées, les résultats obtenus et la discussion, suivi par une conclusion générale.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

*Chapitre 1 : Etude de la
plante sélectionnée*

Chapitre 1 : Etude de la plante sélectionnée

1. La famille des *Lamiaceae*

1.1. Description et distribution

La famille des Lamiacées ou encore labiées est l'une des familles les plus répandues dans le règne végétal (Naghibi ., 2005). Elle comprend plus de 6900 espèces regroupées dans environ 258 genres (*Thymus*, *Origanum*...), rependus dans tout le monde, mais principalement dans le bassin méditerranéen (Fig.1) (Miller., 2006).

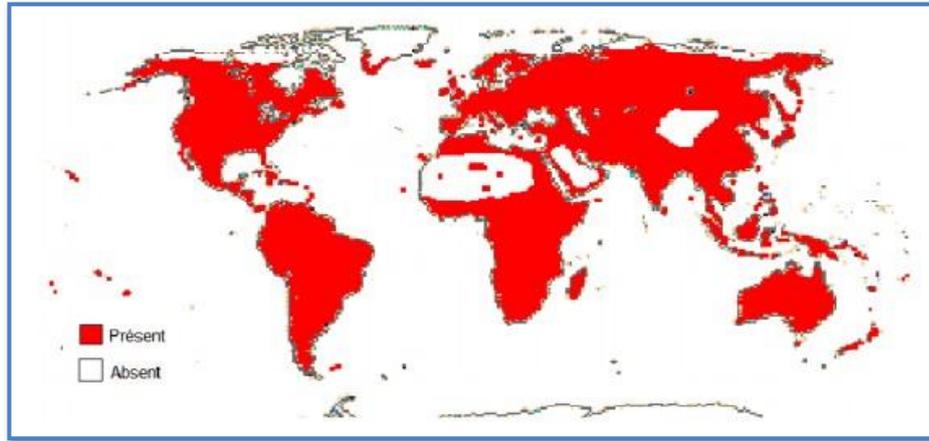


Figure 1 : Carte de répartition de la famille des *Lamiaceae* dans le monde (Tabti, 2017)

Les plantes de cette famille sont herbacées ou arbustives généralement aromatiques, elles sont caractérisées généralement par des tiges en carrées, feuilles opposées souvent simples, et fleurs irrégulières (Zygomorphe) (Blamey et wilson, 1991).

1.2. Classification taxonomique

Les plantes de la famille des *Lamiaceae* sont classées comme suit (Tab.1).

Tableau 1: Classification taxonomique de la famille des *Lamiaceae*(Quézel et Santa, 1962-1963).

| Règne | Plante |
|--------------------|------------------------|
| Embranchement | <i>Magnoliophyta</i> |
| Sous-embranchement | <i>Magnoliophytina</i> |
| Classe | <i>Magnoliopsida</i> |
| Sous-classe | <i>Asteridae</i> |
| Ordre | <i>Lamiales</i> |
| Famille | <i>Lamiaceae</i> |

1.3. Utilisations et intérêts économiques

Selon la bibliographie, les plantes de la famille des lamiacées sont connues pour leurs plusieurs utilisations thérapeutiques et intérêts économiques. Le tableau suivant (**Tab.2**) représente quelques usages des espèces de cette famille :

Tableau 2: Utilisations thérapeutiques de certaines espèces de la famille des *Lamiaceae*

| Espèces | Utilisations | Références |
|------------------------------------|---|-----------------------------------|
| <i>Mentha rotundifolia.</i> | -Utilisée dans les préparations culinaires (comme condiment) et en médecine traditionnelle pour un large éventail d'actions: tonique, stimulante, stomachique, carminative, analgésique, antispasmodique, anti-inflammatoire... -Utilisé comme une tisane mais elle ne doit pas être utilisée au cours de la grossesse... | (Ladjel et al., 2011) |
| <i>Rosmarinus officinalis</i> L | -Utilisés par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs, pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive. -Utilisé en cas de rhume et de nez bouché et en bain de bouche pour l'hygiène buccale ... | (Bruneton, 2009) |
| <i>Lavande officinale</i> | -L'HE de lavande officinale est très connu pour son efficacité contre les poux. -Activités antibactériennes, anti-inflammatoires et antalgiques -Action cicatrisante et documentées sur le système nerveux... | (HOHMANN et al., 1999) |
| <i>Thymus numidicus</i> | -Utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats -Recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires... -Utilisée pour la confection de savons et d'autres produits | (Haddouche, 2011) (Hans, 2007) |
| <i>Salvia officinalis</i> | -Utilisée pour ses propriétés oestrogéniques, antigalactogènes, hypoglycémiantes et inhibant le rancissement des corps gras, et pour ses propriétés antiseptiques. -Son huile essentielle est effectivement bactéricide et aussi antifongique. -Les feuilles fraîches ou la poudre des feuilles séchées en friction préservent les dents de la carie... | (Beloued, 2009) |

2. Le genre *Thymus*

2.1. Origine du nom

Le nom « thym » vient probablement du latin et du grec à deux significations (**Saez, 2002**). Il s'agit de

-Thymus: «parfumer» (latin)

-Thymus: «courage» (grec)

2.2. Répartition géographique

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille de Lamiacée (**Naghbi ., 2005**). Il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Afrique, l'Asie de l'ouest, mais ce genre est principalement répandu dans la Méditerranée (**Dob, 2006**). C'est un genre très répandu dans le nord ouest Africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye). Elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte (**Mebarki, 2010**). On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par **Nickavar** et ses assistants, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans la région méditerranéenne on peut considérer que le bassin méditerranéen est le centre de thymus (**Nickavar et al.,2005**)

Le genre *Thymus* a colonisé le territoire de l'Algérie avec 12 espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement (**Mebarki, 2010**).

2.3. Richesse en Métabolites secondaires et usages médicinale

Le genre *Thymus* est connu dans la médecine traditionnelle pour un large éventail d'actions : antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires et antibactérienne, antidiabétique, antioxydants, antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures. Les parties aériennes sont utilisées en décoction ou en infusion dans le traitement de la dyspepsie et autres troubles gastro-intestinaux, de la toux, des irritations de l'appareil respiratoire et des rhumes mais aussi, des infections des voies urinaires, les infections de la gorge, l est employé aussi en décoction contre la bronchite et le rhumatisme (**Rassoli et al ., 2006**).

Un grand nombre d'espèces de *Thymus* ont fait, à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés, les travaux phytochimiques effectués sur le genre *Thymus* ont permis l'isolement, de flavonoïdes et de terpènes...etc.

En général, Les plantes médicinales constituent une source riche et diversifiée de métabolites secondaires, qui ont une application commerciale dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux (**Haddouchi et al ., 2016**).

Les tableaux ci-dessous (**Tab.3**) rassemble quelques exemples de substances bioactives isolées de quelques espèces de *Thymus* et (**Tab.4**) représente l'utilisation médicinale de certaines espèces du genre *Thymus*.

Tableau 3 : Quelques exemples de substances bioactives isolés de quelques espèces de *Thymus*

| Substances Bioactives | Espèces | Références |
|-------------------------|--|--|
| Les huiles essentielles | <i>T.serpyllum L.</i> , <i>T.algeriensis Boiss. and Reut</i> <i>T.vulgaris L.</i> <i>T.daenensis Celak</i> | (Nikolić, 2014) (Pirbalouti, 2013) |
| Les flavonoïdes | <i>Thymus serpyllum</i> <i>Thymus hirtus</i> <i>Thymus herba barona</i> <i>Thymus capitatus</i> | (Regnault-RogerC, 2004) (Merghem R, 1995) (CorticchiatoM, 1995) (Barberán F.A.T., 1986) |
| Les Tanins | <i>Thymus capitatus</i> <i>Thymus cilliatus</i> <i>Thymus mastichina</i> <i>Thymus piperella</i> | (Remaci, 2017) (HENNI, 2015) |
| Les terpènes | <i>Thymus vulgaris L</i> <i>Thymus cilliaus spp</i> <i>coloratus</i> <i>Thymus cilliaus</i> <i>Thymus numidicus</i> <i>Thymus ciliatus sp</i> <i>.euciliatus</i> | (Takeuchi H., 2004) (Bruneton, 2009) (Quézel et Santa, 1962-1963) |

Tableau 4 : Utilisation médicinale de certaines espèces du genre *Thymus*.

| Espèces | Utilisations | Références |
|---------------------------|--|-----------------------------------|
| <i>Thymus vulgaris</i> | -Traiter les rhumatismes, le gonflement musculaire, les piqûres d'insectes, les douleurs... -Anti-inflammatoire, antioxydant, antibactérienne et antifongique. | (Hosseinzadeh, 2015) |
| <i>Thymus numidicus</i> | -Recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), et les accidents articulaires. - Traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux | (Haddouche, 2011) (Hans, 2007) |
| <i>Thymus algeriensis</i> | -Ces tisanes réveillent les fonctions digestives, surtout chez les affaiblis et évitent les fermentations de l'estomac et de l'intestin -Utile contre toutes les maladies infectieuses, comme la grippe, la pneumonie et les affections de l'appareil respiratoire... | (Beloued, 2009) |

3. L'espèce *Thymus cilatus* Desf.

3.1. Description botanique

La Plante est caractérisée par un calice à dents de la lèvre supérieure lancéolées, 2-3 fois plus longues que larges. Feuilles florales différentes des feuilles caulinaires en général fortement dilatées à leur portion inférieure, epis florifères larges de 16-20 mm, fleurs plus grandes à corolle plus longuement exserte. Plante des Pelouses et broussailles. Elle est endémique Nord Africaine (Quézel et Santa, 1962-1963).



Figure 2 : Photo de l'espèce *Thymus ciliatus* Desf. (Djbel Taraf, 20.04.2020)

3.2. Classification taxonomique

Selon (Quézel et Santa, 1962-1963), la plante *Thymus ciliatus* est classée comme suit :

Tableau 5 : Classification botanique de l'espèce *Thymus ciliatus* Desf.

| | |
|---------------------------|------------------------------|
| Règne | <i>Plantae</i> |
| Sous-règne | <i>Tracheobionta</i> |
| Embranchement | <i>Magnoliophyta</i> |
| Sous-embranchement | <i>Magnoliophytina</i> |
| Classe | <i>Magnoliopsida</i> |
| Sous-classe | <i>Asteridae</i> |
| Ordre | <i>Lamiales</i> |
| Genre | <i>Thymus</i> |
| Espèce | <i>Thymus ciliatus</i> Desf. |

3.3. Habitat et répartition géographique

Thymus ciliatus (Desf.) est une espèce aromatique endémique de l'Algérie, localisée au niveau du bassin méditerranéen et dans le Nord de l'Algérie.

3.4. Propriétés et Utilisations

Le *Thymus ciliatus* est utilisé fréquemment par les populations autochtones grâce à ses diverses propriétés importantes. C'est une plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats ; recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires

(Haddouche, 2011), traitement des affections respiratoires ; rhume, gripes, et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux et couramment utilisée pour la confection de savons et d'autres produits et en parfumerie.

Actuellement, l'huile essentielle de Thym est utilisée pour ses vertus carminatives, antimicrobiennes, antibactériennes et antifongiques. Connue depuis toujours comme un antiseptique puissant (Hans, 2007).

3.5. Composition chimique

Des études phytochimiques antérieures ont montré la richesse de *T.cilatus* en substances bioactives bénéfiques tels que: les flavonoïdes, les tanins, les stérols, les huiles essentielles... etc. le tableau suivant ressemble quelques exemples de ces composés identifiés

Tableau 6 : Quelques exemples de composés identifiés dans l'espèce *T.cilatus*

| Espèce /Origine | Les composés identifiés | Références |
|--|--|--------------------------------------|
| <i>Thymus ciliatus ssp coloratus</i> <i>Thymus ciliatus ssp euciliatus</i> (provenant de Tlemcen, Algérie) | Les flavonoïdes Les tanins Les stérols Les stéroïdes Les huiles essentielles | Kholkhal, 2014 |
| <i>Thymus ciliatus ssp. eu-ciliatus.</i> (provenant de Tlemcen, Algérie) | Les huiles essentielles | Tefiani, 2014 |
| <i>Thymus ciliatus (Desf.) Benth</i> (provenant d'Azrou, Maroc) | Les huiles essentielles | El Ajjouri 2010 |
| <i>Thymus ciliatus (Desf.)</i> (Provenant de M'sila, Algérie) | Les huiles essentielles | Achoub et al., 2019 |
| <i>Thymus ciliatus (spp non spécifiée)</i> (Provenant de Batan, Algérie) | Les huiles essentielles | Kabouche et al., 2009 |
| <i>Thymus ciliatus(spp non spécifiée)</i> (Provenant de Souk Ahras, Algérie) | Les huiles essentielles | Heni et al., 2015 |
| <i>Thymus ciliatus (Desf.) Benth.</i> <i>ssp. eu-ciliatus Maire</i> (Provenant de Tlemcen, Algérie) | Les huiles essentielles | Bousmaha-Marroki et al., 2007 |

***Chapitre 2 : Généralité sur
les substances naturelles
d'origine végétale***

Chapitre 2 : Généralité sur les substances naturelles d'origine végétale

1. Introduction

Les substances naturelles issues des végétaux sont des molécules bioactives ayant des plusieurs intérêts mis a profit dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques, alimentairesetc (**Bahorun, 1997**).

Ces molécules regroupent des dizaines de milliers de molécules différentes, elles sont caractérisés généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux ainsi que par leur stockage souvent réalisé dans des cellules ou organes spécialisés. Aussi ces composés ne participent pas aux fonctions directes au niveau des activités, fondamentales de la plante (**Newman et Gragg, 2012; Guignard, 1996**).

On distingue trois grandes catégories de ces molécules

- ✓ Les composés phénoliques
- ✓ Les huiles essentielles
- ✓ Les alcaloïdes

2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal (plus de 8000 structures connues) (**Beta et al., 2005**). Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les rayons ultraviolets, les agents pathogènes et les herbivores (**Alvarez-Jubete et al., 2010**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Les polyphénols comprennent une grande variété de molécules avec plusieurs groupements hydroxyles sur leurs cycles aromatiques. Ils comportent également des molécules avec un seul cycle phénolique, tels que les acides phénoliques et les alcools phénoliques. Ils sont divisés en plusieurs classes, en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et les fonctions chimiques liées à ces cycles à savoir: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (**Luthria et al., 2006**).

2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont un groupe de métabolites secondaires largement distribués dans les plantes essentiellement dans les tiges et les feuilles des légumes, les fruits, les céréales et les plantes médicinales (**Holle et al., 2012**). Ils sont nécessaires pour les fonctions normales des plantes, où ils jouent un rôle important dans la résistance des plantes

aux agents pathogènes et les herbivores, la croissance des plantes, la couleur et les caractéristiques organoleptiques des plantes et la prévention du stress oxydatif (Kawsar et al., 2008; Challacombe et al., 2012). Ils sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires. Les acides phénoliques sont divisés en trois classes: les acides phénoliques simples, les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque et les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique (Bruneton, 1993).

2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bruneton, 1999). Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux surtout dérivés de benzo- γ -pyrone (Hendrich, 2006). Les flavonoïdes sont des composés phénoliques, très abondants dans la nature, trouvés partout dans les plantes développées et ils ont été identifiés dans toutes les parties de la plante y compris les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, le pollen, le nectar, les graines et l'écorce (Cermak et al., 1998; Tim Cushnie et Lamb, 2005). Ils diffèrent les uns des autres par le degré d'insaturation, le mode d'hydroxylation ou de méthylation et par le type du sucre attaché, ils peuvent être sous forme aglycone ou hétéroside (Markham, 1982).

Les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet. Les formes hétérosides des flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles et dans les cellules épidermiques (Bruneton, 1993). Les sources communes de flavonoïdes sont : les oignons, les pommes, les tomates, le vin rouge (quercétine, rutine), le pamplemousse, le thé noir (kaempferol), les graines de soja (genisteine, daidzeine), le persil, le céleri (apigénin) et le thé (catechins) (Hendrich, 2006).

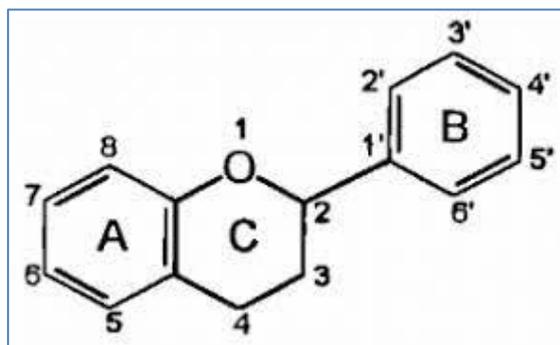


Figure 3: Squelette de base de flavonoïdes (Tim Cushnie et Lamb, 2005)

2.3. Les tannins

Les tannins sont des molécules polyphénoliques, le plus souvent hydrosolubles, de structures variées et de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines des plantes (**Watterson et Butler, 1983**). Ils possèdent la capacité de précipiter les protéines, alcaloïdes et polysaccharides, à partir de leur solution aqueuse. La plupart des propriétés biologiques des tannins sont liées au pouvoir qu'ils ont de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines. Les liaisons non covalentes, hydrogènes et hydrophobes participent à la formation du complexe tannins-protéine (**Hagerman et Butler, 1978; McManus et al., 1981**). Ils sont du grand intérêt pour la nutrition et la médecine à cause de leur capacité antioxydante puissante et leur effet protecteur possible sur la santé humaine (**Santos-Buelga et Scalbert, 2000; Oszmianski et al., 2007**).

Les tannins sont subdivisés en deux classes différentes, largement distribuées chez les végétaux supérieurs, qui sont les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

- ✓ **Les tannins hydrolysables** : sont des hétéropolymères dont l'hydrolyse chimique ou enzymatique libère un sucre, généralement le glucose, et un acide phénolique. L'acide phénolique libéré peut être l'acide gallique dans le cas des tannins galliques, l'acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés comme l'acide éllagique dans le cas des tannins éllagique (**Mehansho et al., 1987**).

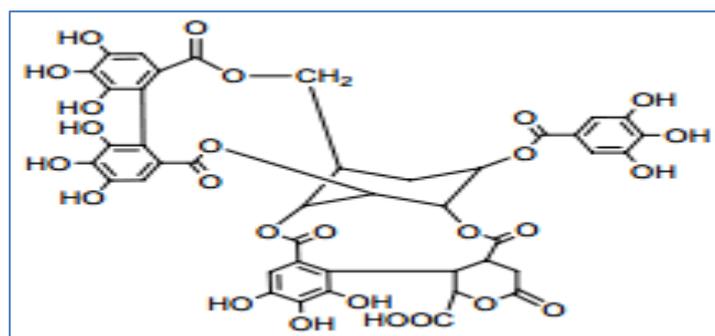


Figure 4 : Squelette de base de tanins hydrolysables (**Sereme et al., 2010**)

- ✓ **Les tannins condensés (pro anthocyanidines) :** sont des oligomères ou polymères de flavonoïdes, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, le plus souvent entre C4et C8ou C4et C6 (**Mehansho et al., 1987; Haslam et Lilley, 1988**). La taille de molécule de PA peut être décrite par leur degré de polymérisation (DP)(**Oszmianski et al., 2007**).

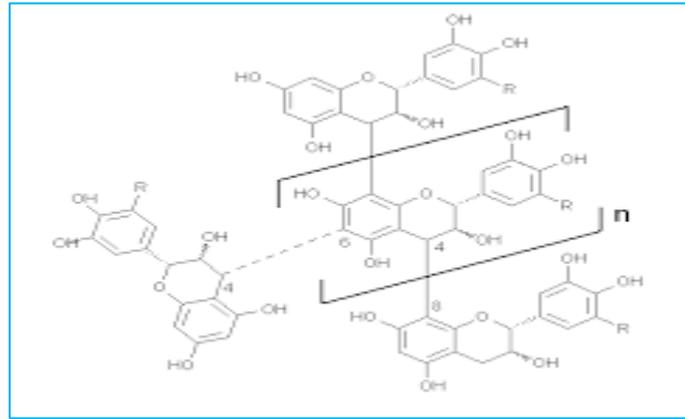


Figure 5 : Squelette de base de tanins condensés (**Muanda, 2010**)

3. Propriétés biologiques

Les composés phénoliques sont des molécules naturelles très intéressantes dans le règne végétal. Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature, soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux, dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...), et des produits qui en dérivent par la transformation, dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...), pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini.

De plus en plus d'études indiquant que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénérative) (**Fleuriet et al., 2005**).

- ✓ **Les flavonoïdes** : sont utilisés afin de traiter de nombreuses maladies en utilisant leur capacité à inhiber spécifiquement certaines enzymes, pour stimuler certaines hormones ou neurotransmetteurs, Leur principale propriété est d'être « veino-actifs » c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leurs résistances (**Havsteen, 2002**). On peut également noter que les flavonoïdes, contribuent à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs, ils peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (**Chaudhry, 1983**).

- ✓ **Les tanins**

Les tanins étaient anciennement utilisés dans l'industrie du cuir (tannage) car en se liant aux protéines constitutives des peaux d'animaux, les tanins rendent le cuir solide, imputrescible et résistant aux microorganismes. Ils sont généralement non cristallisables, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone et peu ou pas soluble dans l'éther. Ils précipitent en présence de protéines (gélatine et albumine), d'alcaloïdes et de certains colorants.

Les tanins forment avec les métaux lourds, et notamment les sels de fer, des précipités de couleur très foncée : noirs, bruns, bleus sombres, utilisés pour cette raison dans la fabrication de certaines encres. Ils sont également utilisés comme coagulants dans le caoutchouc.

Les propriétés biologiques des tanins sont principalement liées à leur capacité à former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines. C'est pourquoi ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits. Ils font également partie des formulations des agents de conservation du bois. En solutions alcooliques, ils donnent avec le chlorure ferrique, très dilué, une coloration bleue (tanins galliques) ou verte (tanins catéchiques). Certains tanins, comme ceux de la noix de galle, sont hydrolysables par les acides ou par la tannase.

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités anti allergique, anti-atherogénique, antivirale, hépatoprotective, antimicrobienne, anti-thrombotique, , antioxydant, antifongique, cardioprotective et vasodilatatoire (**Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007**).

4. Les huiles essentielles

4.1. Définition

Il existe plusieurs expressions pour définir l'huile essentielle. Peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou encore la quintessence ou

l'esprit d'un végétal pour un l'alchimiste (**MoroBurtonzo, 2008**). Les huiles essentielles (HEs) sont des substances pures et naturelles, huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, donc de nature hydrophobe (**Belaiche, 1979 ; Wichtel et Anton, 1999**). Largement répandues dans le règne végétal, une huile essentielle est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement de finie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique appropriée sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (Pharmacopée européenne, 2008).

Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes ; fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines (**Hernandez Ochoa, 2005**).

4.2. Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal, donc sont synthétisées par les végétaux supérieurs, il y aurait environ 17 500 espèces aromatiques réparties dans une cinquantaine de familles des plantes telles que : les lamiacées, les conifères, les myrtacées, les rutacées et les ombellifères les Poacées. La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle dans les végétaux sont généralement liées à l'existence de structures histologiques spécialisées (**Fig.1**) : cellules sécrétrices, localisées dans certains points des tissus, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Bruneton, 1999**). Ces structures peuvent être :

- Des cellules sécrétrices isolées (Lauraceae, Zingibaceae); épidermiques ou internes.
- Des poils sécréteurs externes (Lamiaceae, Graniaceas) ou internes (Myrtateae).
- Des canaux sécréteurs (Ombellifères, Conifères). Cependant, on les trouve aussi bien dans les organes végétatifs que dans les organes reproducteurs (**Bhar et Balouk, 2011**).

4.3. Composition chimique

Comme toute substance, Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants, se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable, qui peuvent contenir environ (20 à 60) composants avec des concentrations différentes et sont caractérisées, généralement, par deux ou trois composants majoritaires représentant (20 /70%) de l'huile essentielle totale, alors que les autres composés se trouvent sous forme de traces. Les constituants des huiles essentielles appartiennent de façon quasi exclusive à

deux principaux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: les terpènes et les composés aromatiques (Bakkali *et al.*, 2008).

4.3.1 Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$, Suivant les valeurs de (n) on a les hémiterpènes (n =1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes(n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. (Bruneton, 1999).

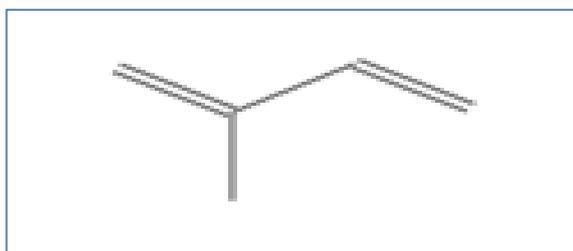


Figure 6 : Squelette de base des terpènes (Bakkali *et al.*, 2008)

a. Les monoterpènes

Sont les plus simples constituants de terpènes, Ils constituent parfois plus de 90 % d'HE (Bakkali *et al.*, 2008). Chez l'homme, les monoterpènes sont principalement métabolisés par le cytochrome P450, monooxygénases, les époxydes hydrolases et les déshydrogénases en des composés mono et dihydroxylés, ces derniers sont plus oxydés et sont conjugués essentiellement avec l'acide glucuronique (Schmidt *et al.*, 2013). Selon Bruneton (1999), la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

b. Les sesquiterpènes

C'est la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans les monoterpènes, elles comprennent des carbures mono ou polycycliques, alcools, cétones, aldéhydes, esters (Bruneton, 1999).

4.3.2 Les composés aromatiques (phénylpropanoïdes)

Contrairement aux dérivés terpéniques, Les composés aromatiques sont des dérivés de phénylpropane (C₆- C₃) et sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ces composés sont très souvent, d'allyle et de propenylphenol, parfois des aldéhydes. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (**Chouiteh, 2012**).

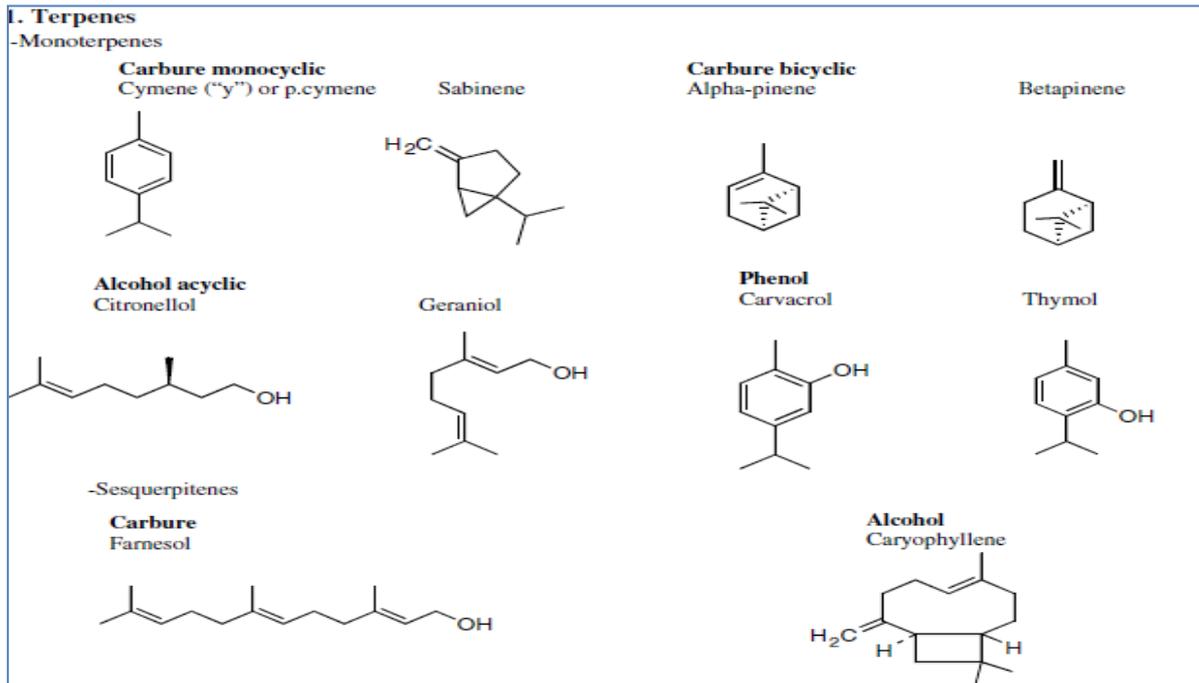


Figure 7 : Structure chimique de quelques composés des HEs (**Bakkali et al., 2008**).

4.4. Méthodes d'extractions des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des huiles essentielles, parmi elles on peut citer :

a. Méthode d'hydrodistillation

La méthode par hydrodistillation est traditionnellement la plus simple, et la plus anciennement utilisée. Le principe de cette technique consiste à immerger le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur qui est ensuite portée à ébullition à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement des cellules et la libération des molécules odorantes, ensuite les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 1999**).

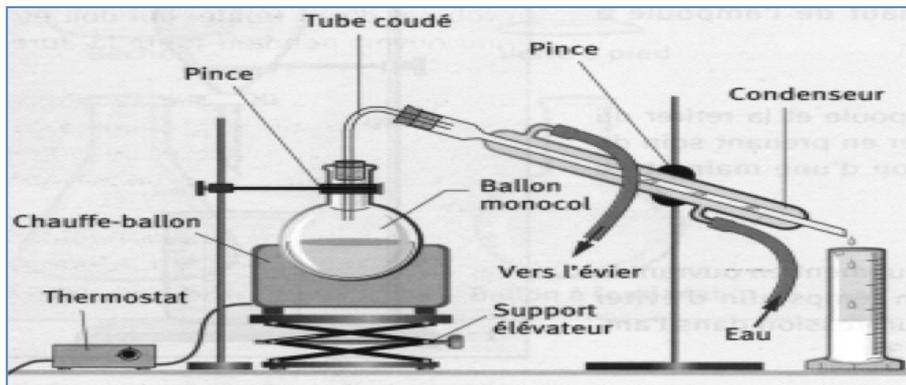


Figure 8 : Montage d'extraction par l'hydro distillation

(<http://parfums-lumiere.skyrock.com/3072086205-II Hydrodistillation.htm>)

b. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est une méthode affirmée pour l'obtention des huiles essentielles. Dans cette technique le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Durant le passage de la vapeur d'eau à travers la plante, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action des vapeurs pour former un mélange eau et huile en deux phase, une phase organique et une phase aqueuse. Cette méthode permet d'éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant affecter la qualité des huiles essentielles (Bruneton, 1999).

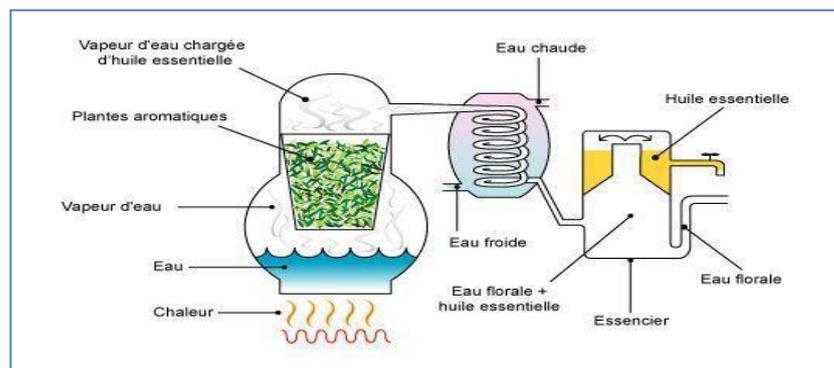


Figure 9 : Montage d'extraction des HE par entraînement à la vapeur d'eau (Boutamani, 2013)

c. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la

pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques à savoir condensation, refroidissement, et décantation (**Bruneton, 1999**). Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, l'utilisation de petites quantités de solvant et l'obtention d'un rendement d'extraction élevé (**Hemwimon et al., 2007**).

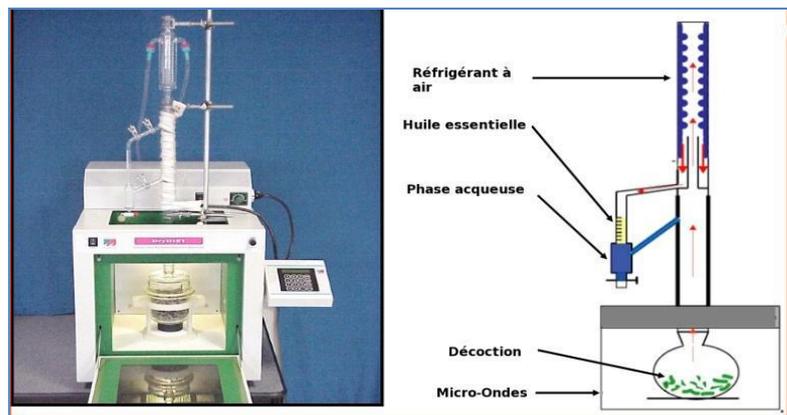


Figure 10 : Montage d'extraction assistée par micro-onde (**Boutamani, 2013**)

4.5. Techniques d'analyse des huiles essentielles

Quelque soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles (pharmaceutique, industrie et parfumerie, cosmétique, agroalimentaire), une parfaite connaissance de leur composition chimique est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité en vue de leur valorisation. Ainsi l'analyse des huiles essentielles, qui consiste en des méthodes de séparation et d'identification des composants, reste une étape importante. Cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques, la plus couramment employée est l'utilisation du couplage d'une technique chromatographique (**Joulain , 1994**).

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. La séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et désorptions successives sur la phase fixe, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase (**Schwedt, 1993**). Plusieurs méthodes existent.

a. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant migre à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse au-dessous de front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Généralement, en CCM les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires (**Benayad, 2013**).

b. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

C'est la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption (**Audigie et al., 1995**).

c. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique (**Maack et Sablier, 1994**). Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse (**Desjobert et al., 1997**). L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les

caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres (Paolini, 2005).

4.6. Propriétés biologiques

Les huiles essentielles constituent un groupe de substances bioactives très importants qui présentent un grand intérêt dans plusieurs secteurs. Elles ont des propriétés antioxydantes, antifongiques, antibactériennes, antivirales, antiseptiques et comme des insecticides, nématocides...etc ; les prédestinées à des divers usages industriels thérapeutiques, cosmétiques, agroalimentaires...etc (kim et al., 2013; Ekren et al., 2013).

✓ Intérêt thérapeutique

Les huiles essentielles présentent différentes propriétés pharmacologiques sur nombreuses cibles de l'organisme. Elles sont de plus en plus utilisées en pharmacie pures ou au sein spécialités que ce soit a des fins d'aromatization (excipient) ou comme principe actif .

✓ Intérêt des HE en cosmétologie

Les huiles essentielles sont utilisées depuis longtemps en cosmétologie. En raison de leurs propriétés diverses, elles prennent soin de la peau et de ses désordres (acné, rides..), les cheveux (pellicules, cheveux cassants, ternes, sec..), la silhouette (vergetures, cellulite...) (évidence box, 2018).

Les huiles essentielles à l'état dilué, sont utilisées dans les parfums et les eaux de toilettes. L'industrie de parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de Rose, de Jasmin, de violettes, de verveine... (Kaloustian et Hadji-Minaglo, 2012).

✓ Intérêt agroalimentaire

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisantes, les HE sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, thym, laurier..). Elles sont également très prisées en liquoristeries (boissons anisés, kummel..) et en confiserie (bonbons, chocolat..). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation du *smen* par exemple par le thym et le romarin (Ouis, 2015).

5. Les alcaloïdes

5.1. Définition

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga, 2011**). Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est diméthylée.

Dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre les herbivores et les pathogènes car ces composés sont toxiques. Ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme comme Anti tumoraux ; Antalgiques ; Spasmolytiques et Antitussifs (**Macheix, 2006**).

5.2. Structure

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés (**Cyril, 2001**).

On divise les alcaloïdes en trois genres :

a- Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (**Badiaga, 2011**).

b- Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Badiaga, 2011**).

Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (**Rakotonanahary, 2012**).

c- Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un

hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (**Badiaga, 2011**). En pratique, il est admis que ne sont pas des alcaloïdes : les amines simples, les bétalaïnes, les peptides, les acides aminés, les amino-sucres, les porphyrines, les alkylamines et les arylalkylamines (**Rakotonanahar, 2012**).

5.3. Classification

a. Selon l'origine biosynthétique on distingue :

✓ **Alcaloïdes vrais:** d'après certains auteurs, ils sont issus seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé (**Bruneton, 1999**).

✓ **Pseudo-alcaloïdes:** ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés (**Bruneton, 1999**).

✓ **Proto-alcaloïdes:** Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés (**Bruneton, 1999**).

b. Selon leur composition chimique et structure moléculaire on rencontre :

✓ **Phénylalanines:** capsaïcine chez piment, colchicine chez colchique.

✓ **Alcaloïdes isoquinoléiques:** morphine, éthylmorphine, codéine et Papavérine continues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine et ergotoxine de l'ergot des céréales (**Gonzalez et al., 1984**).

✓ **Alcaloïdes quinoléiques:** se trouvent dans les écorces de Cinchona (**Donatien, 2008**).

✓ **Alcaloïdes pyridiques et pipéridiques:** par exemple: ricinine chez ricin.

✓ **Alcaloïdes dérivés du tropane:** comme scopolamine et atropine chez la belladone.

✓ **Alcaloïdes stéroïdes:** racine de vératre, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple (**Gonzalez et al., 1984**).

5.4. Propriétés biologiques

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaine sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes (**Hess, 2002**).

Chapitre 2 : Généralité sur les substances naturelles d'origine végétale

Les alcaloïdes ne constituent pas un groupe homogène de corps comparables à celui des protéines, glucides, lipides; ce sont des composés complexes, aux formules compliquées.

Tous les alcaloïdes renferment de l'azote N, de l'hydrogène H₂ et du Carbone C. La plupart contiennent de l'O₂, comme la morphine: C₁₇H₁₉NO₃, la codéine C₁₈H₂₁NO₃, l'atropine C₁₇H₂₃NO₃, la cocaïne C₁₇H₂₁NO₄, la quinine C₂₀H₂₄N₂O₂.

Ce sont généralement des solides cristallisables, insolubles ou fort peu solubles dans l'eau; ils solubles dans le chloroforme, l'éther, l'alcool, le toluène, et l'éther de pétrole.

La présence d'azote les rapproche des amines, et leur réaction générale plus ou moins accusée est une réaction alcaline, c'est justement ce qui rappelle leur nom "alcaloïde" (Cowan, 1999).

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel végétal

L'espèce *T.cilliatus* a été récoltée pendant la période de floraison, le 15 mars 2020, dans la région de djebel taraf (wilaya d'Oum El-Bouaghi). La partie aérienne a été séchée à température ambiante et à l'abri de la lumière, puis broyée en poudre fine et conservée jusqu'à son utilisation dans la préparation des différents extraits.



Figure 11: Matériel végétal utilisé

1.2. Appareillage et produits utilisés

- Hydrodistillateur de type Clevenger
- Rotavapeur de type BUCHI
- Lyophilisateur de type CHRIST alpha 1-4 LD PLUS
- Lecteur de microplaque (Perkin Elmer, Enspire)
- Etuve
- Balance de précision
- Vortex
- Méthanol
- Dichlorométhane
- Acétone
- L'eau distillée
- DMSO
- Bouillon nutritif
- L'eau physiologique stérile
- Bouillon Mueller-Hinton
- Gélose nutritive, Mueller-Hinton et PDA
- Alpha-glucosidase

1.3. Les souches ciblées

Les souches microbiennes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne ont été fournies de laboratoire de microbiologie du Centre de Recherche en BioTechnologie (CRBT) de Constantine.

Il s'agit de 6 souches :

Quatre espèces bactériennes :

- ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- ✓ *Bacillus cereus* ATCC 10876
- ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Deux espèces fongiques :

- ✓ *Candida albicans* ATCC 10231
- ✓ *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits bruts

La préparation des extraits bruts a été effectuée par macération, 20 g de la matière végétale sèche de la partie aérienne sont mis en contact avec 200 ml du solvant sélectionné (Méthanol (70%) ; Eau ; Acétone et Dichlorométhane) pendant 3 jours à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Après filtration sous vide, les filtrats sont concentrés à sec par évaporation pour l'obtention, des extraits organiques et par lyophilisation pour l'obtention des extraits aqueux

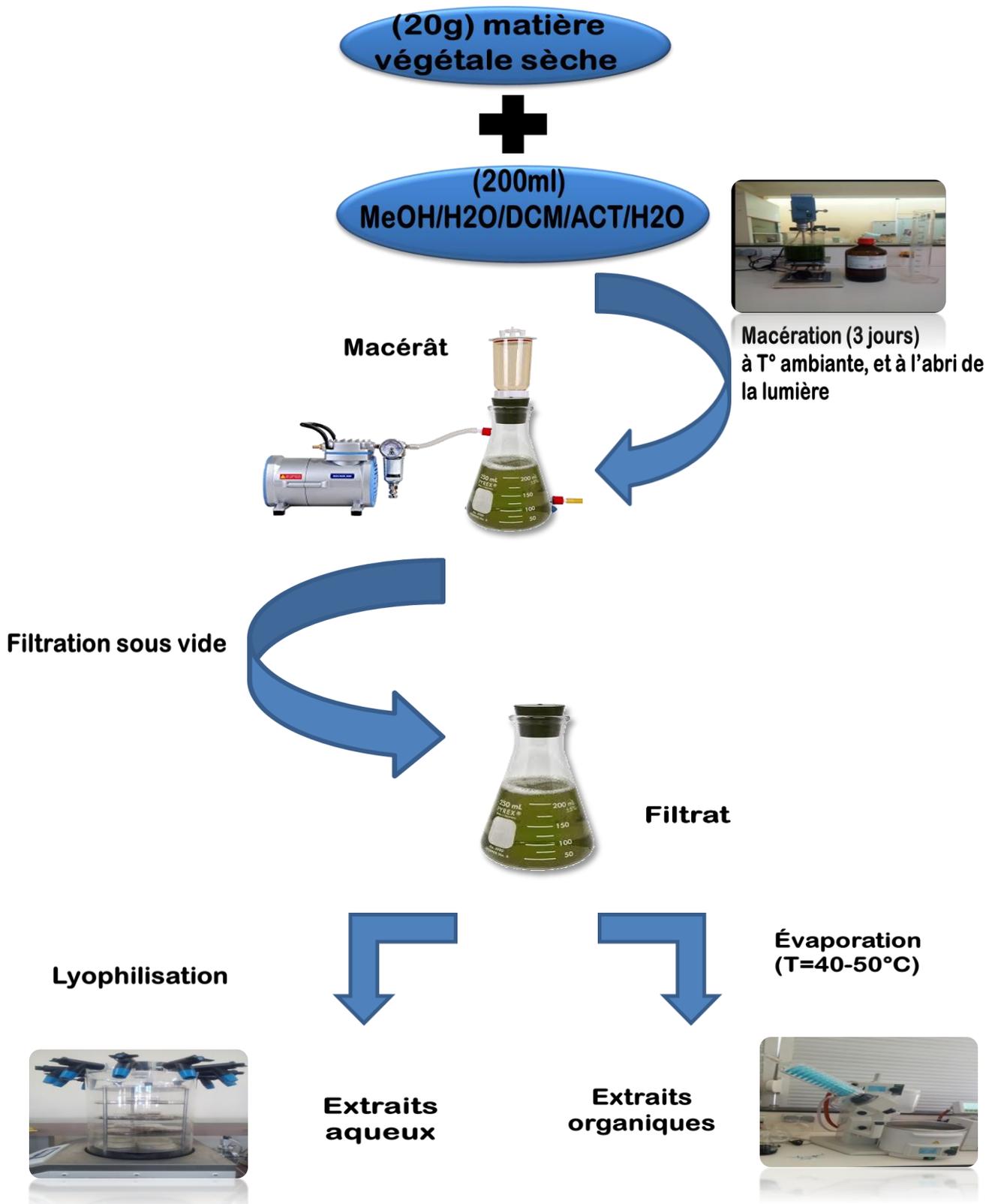


Figure 12: Protocole de préparation de différents extraits bruts par macération.

2.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par la technique d'hydro distillation en utilisant un appareil de type Clevenger. Cette technique consiste à immerger 200 g de la partie aérienne du matériel végétal dans l'eau distillée, le mélange ensuite est porté à l'ébullition pendant 3 heures. Le dispositif utilisé est constitué d'un ballon en verre, placé au dessus d'un chauffe ballon, contenant de l'eau et le matériel végétal à traiter, et surmonté d'une colonne à distiller en verre. Cette colonne est elle même reliée à un réfrigérant qui condense les vapeurs d'eau que l'on recueille sous forme de distillat dans une ampoule à décantée. L'huile essentielle obtenue a été recueillie et séchée en utilisant le sulfate de magnésium ($MgSO_4$) et maintenue ensuite à 4 ° C dans des flacons bruns jusqu'à l'analyse.



Figure 13: Dispositif de Clevenger

2.3. Préparation des concentrations des extraits

Une série de 7 dilutions des extraits ont été préparés à partir d'une solution mère de 4mg/ml en utilisant le Méthanol, l'eau distillée et le DMSO comme solvants.

2.4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des poly phénols totaux est basé sur la formation d'un complexe bleu entre le réactif de Folin-Ciocalteu et les composés phénoliques. La méthode utilisée est décrite par (Müller *et al.*, 2010). Cette méthode consiste à ajouter un volume de 20 μ l d'extrait de plante (dissolution de 1mg d'extrait dans le 1ml de MeOH) à 100 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu (0.1N) et 75 μ l d'une solution de Na_2CO_3 (7.5%) respectivement dans une microplaque à 96 puits. Le mélange est laissé au repos pendant 2h à l'obscurité. L'absorbance est ensuite mesurée à une longueur d'ondes de 765 nm dans un lecteur des microplaques. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). Une

courbe d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique dans les mêmes conditions que les extraits à tester.

2.5. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur la formation d'un complexe entre les flavonoïdes et les ions d' Al^{+3} . La méthode utilisée est décrite par (Topçu et al., 2007) avec quelques modifications. Cette méthode consiste à déposer 50 μ l d'extrait (préparé dans le méthanol), 130 μ l de Méthanol (MeOH), 10 μ l d'acétate de potassium (CH_3COOK), et 10 μ l de nitrate d'aluminium à 10 % ($Al(NO_3)_3 \cdot 9 H_2O$) respectivement dans une microplaque à 96 puits, l'ensemble est incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 40 minutes. L'absorbance est ensuite lue à 415 nm dans un lecteur microplaque. Un blanc a été préparé en parallèle en remplaçant les réactifs par du méthanol (50 μ l extrait + 150 μ l méthanol). Une courbe standard a été tracée avec la quercétine et les résultats sont exprimés en μ g de quercétine équivalent par milligramme d'extrait (μ gQE/mg).

2.6. Analyse des huiles essentielles par GC/MS

La caractérisation chimique de l'huile essentielle a été effectuée par la méthode d'analyse (GC/MS) au niveau de laboratoire de recherche sur les plantes, (Département de Chimie, Université Tokat Gaziosmanpasa, Turquie).

Les conditions d'analyse sont les suivants :

- Le Gaz vecteur utilisé est l'Hélium dont le débit est réglé à 1ml/min
- La température de l'injecteur est de 250 °C.
- Injection en mode split (1/100) de 10 μ L d'huile essentielle.
- La température du détecteur est de 250°C et
- La température du four est fixée à 50 ° C pendant 10 min, puis progressivement augmentée à 260 ° C avec un gradient de 5 ° C / min

Les indices de rétention pour tous les composés ont été déterminés selon Van den Dool (Van den Dool et andKratz, 1963), en utilisant des n-alcanes comme standards. L'identification des composants a été basée sur une comparaison de leurs spectres de masse avec ceux de bases de données Wiley et NBS (Massada, 1976) et ceux décrits par Adams (2017), ainsi que par comparaison de leurs indices de rétention avec les données de la littérature.



Figure 14: Appareil de GC/MS

2.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Le pouvoir antimicrobien in vitro des différents extraits a été évalué en utilisant trois méthodes à savoir : la méthode des disques, la méthode des puits et la méthode de contact direct.

a. La méthode des disques

La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour évaluer la sensibilité des souches testées aux extraits étudiés selon la méthode décrite par (**Berghe et Vlietinck, 1991**) avec quelques modifications. Dans les 15 minutes qui suivent l'ajustement de la densité de la suspension bactérienne ou fongique (l'inoculum), on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé toute la surface de la gélose (Mueller Hinton pour les bactéries ou Sabouraud pour la levure) à trois répétitions en tournant la boîte à chaque fois avec 60°, et enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose. Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de six millimètres de diamètre de papier wattman numéro 4 stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage) sont déposés sur la gélose précédemment inoculée avec la souche choisie, puis les imbibés par 10µl des différents extraits à tester avec une concentration de 8mg/ml.

Des disques imprégnés par le DMSO sont utilisés comme témoins négatifs. La gentamicine (GM=10mg) est utilisée comme témoin positif pour les souches bactériennes, alors que la Nystatine est utilisée comme témoin positif pour la levure. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 30°C pendant 48 heures pour la levure. L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque, 6mm). Le test est effectué en triple pour minimiser les erreurs expérimentales.

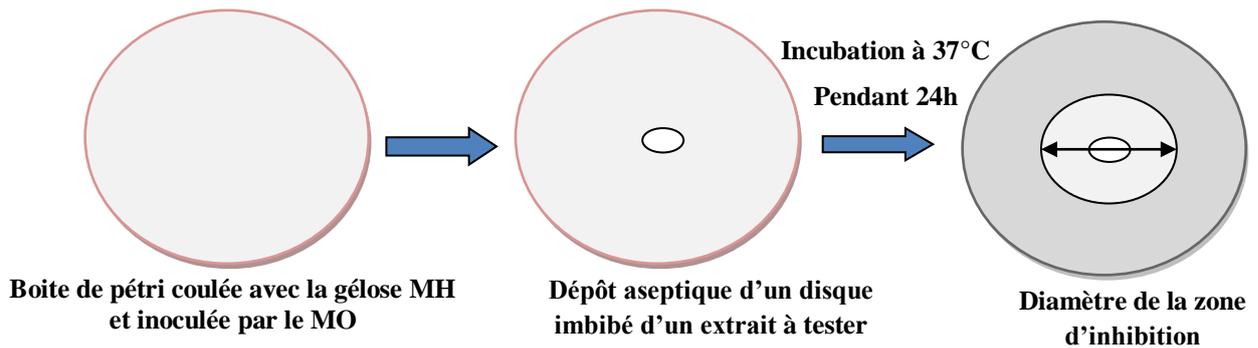


Figure 15: Principe de la méthode des disques

b. La méthode des puits

Le principe et le mode opératoire de cette méthode sont les mêmes que ceux de la méthode précédente mais on substitue les disques par des puits. Tout d'abord, des boîtes de Pétri coulées avec la gélose Muller Hinton ont étéensemencées par inondation en utilisant un volume de 1000 μl de la suspension microbienne (10^6 UFC/ml). Puis, des puits de 6 mm de diamètre et 4mm de profondeur ont été réalisés dans la gélose en utilisant la pipette Pasteur stérile. Ensuite, un volume de 50 μl de l'extrait à tester (8mg/ml) diluée dans le DMSO est déposé dans un puits (un extrait pour chaque puit). Un puit contient le DMSO a été utilisé comme control négatif.

Enfin, Les boîtes de pétri sont laissées à une température ambiante pendant 15 min afin que le volume soit diffuser dans la gélose, puis incubées dans une étuve dont la température et la durée d'incubation varient selon le microorganisme ciblé.

L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition en millimètre. Le test a été effectué trois fois et les valeurs sont les moyennes de trois répétitions.

c. Détermination de la CMI et la CMB

Pour la détermination de la CMI, la méthode consiste à ajouter 50 μl de la suspension microbienne dans chaque puits de microplaque contenant 50 μl de chaque dilution de chaque extrait à tester. La microplaque est ensuite incubée dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. La CMI est définie par la plus faible concentration de l'extrait dont le microorganisme ne présente pas une croissance visible.

Pour la détermination de la CMB, La méthode consiste à déposer des spots à partir des puits positives de la CMI dans des boîtes de pétri contenant la gélose de Muller Hinton. Les

boîtes sont ensuite incubées dans à 37°C pendant 24 heures. La CMB est définie par la plus faible concentration de l'extrait qui entraîne la mort du microorganisme considéré après 24 heures d'incubation.

d. Méthode par contact direct

Cette méthode est utilisé pour évaluer le pouvoir antimicrobien de nos extraits vis-à-vis le champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum*. Tout d'abord des boîtes de pétri sont coulées aseptiquement par le milieu de culture PDA et l'extrait à tester (5mg d'extrait dans 1ml de DMSO). Ensuite, un disque de 5mm de diamètre pris d'une culture jeune de champignon est déposé aseptiquement au centre de la boîte de pétri contenant le PDA et l'extrait à tester. Enfin les boîtes de pétri sont incubées dans une étuve à 28° C pendant 7 jours. Après l'incubation, la croissance mycélienne du champignon est mesurée à l'échelle millimétrique à l'aide d'une règle. Le témoin est préparé en remplaçant l'extrait par le DMSO, et l'expérience est répétée 4 fois pour chaque extrait (Dennis et al., 1971).

L'activité inhibitrice est exprimée en pourcentage et calculée selon la formule suivante:

$$I=(C-T/C) \times 100$$

I= taux d'inhibition en %

C= Croissance radiale du champignon en mm sur le PDA avec DMSO (témoin)

T= Croissance radiale du champignon en mm sur le PDA contenant l'extrait

2.8. Activité antidiabétique

L'activité antidiabétique de différentes concentrations de nos extraits à été réalisé vis-à-vis l'enzyme α -glucosidase selon la méthode de Kee et al., (2013) avec quelques modifications. L'expérience consiste à déposer 50 μ l d'extrait de plante à différentes concentrations et 50 μ l de solution de substrat de p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside dans une microplaque. Le mélange obtenu est incubé dans une étuve à 37°C pendant 10 min. Puis un volume de 100 μ l de solution de l'enzyme alpha-glucosidase est ajouté. L'absorbance est ensuite mesurée à 405 nm dans un lecteur de microplaques.

L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase a été exprimée en pourcentage d'inhibition, et les valeurs IC50 ont été déterminées. L'acarbose a été utilisé comme témoin positif.

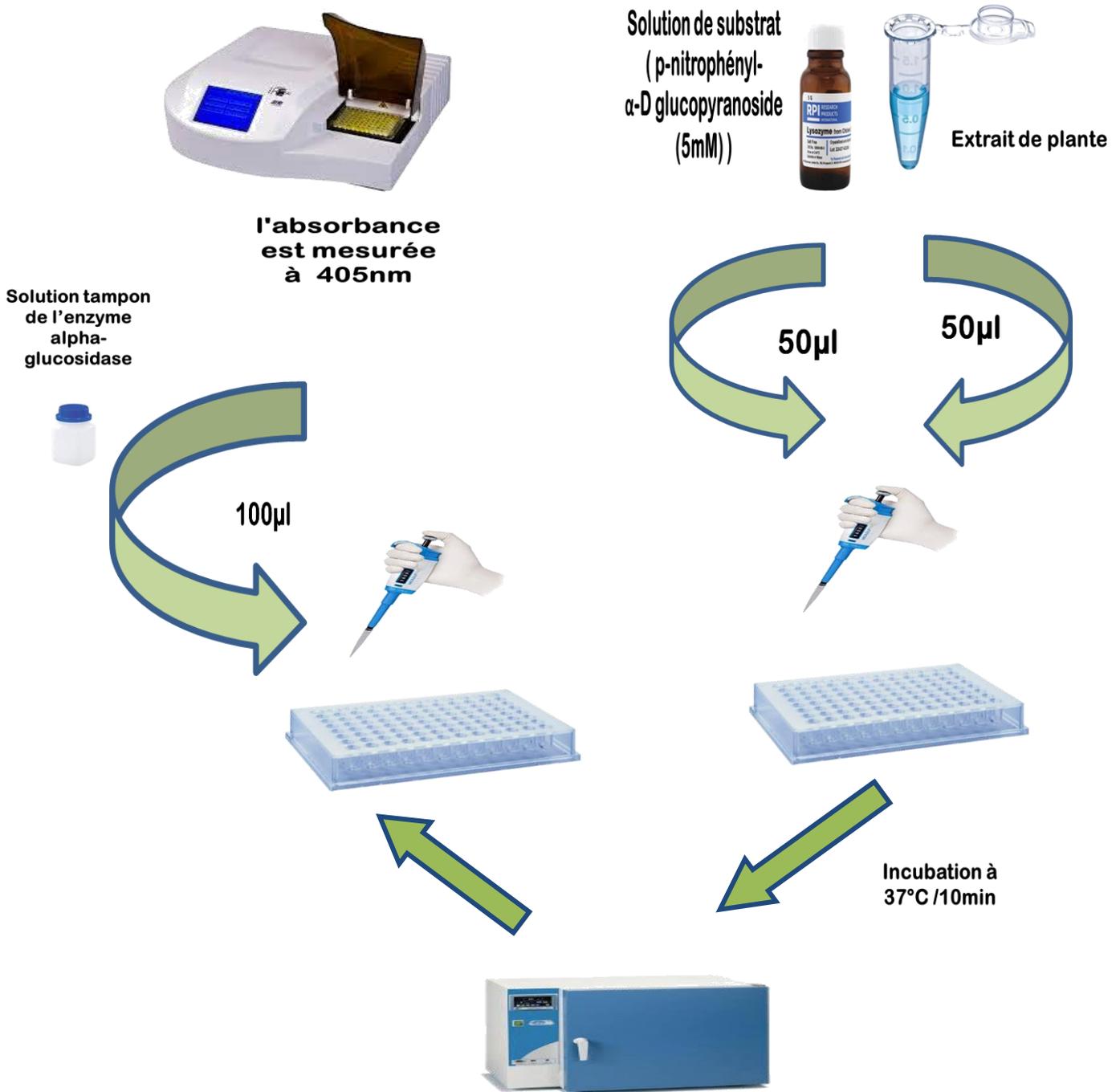


Figure 16 : Protocole d'évaluation de l'activité anti-alpha glucosidase.

Chapitre 2 : Résultats & Discussion

Chapitre 2 : Résultats & Discussion

1-Composition chimique des huiles essentielles

Les résultats de la composition chimique de notre huile essentielle obtenue par GC/MS sont consignés dans le tableau (Tab. 07) et figure (Fig. 17) ci-dessous.

Tableau 07 : Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *T.ciliatus*

| No | TR | Composés | Formules | ^a IR | ^b IR | % |
|--------------|-------|--------------------------|--|-----------------|-----------------|--------------|
| 1 | 17.2 | Eucalyptol | C ₁₀ H ₁₈ O | 1061 | 1059 | 6.55 |
| 2 | 28.52 | Linalool | C ₁₀ H ₁₈ O | 1083 | 1082 | 2.64 |
| 3 | 28.82 | alpha-Fenchyl alcohol | C ₁₀ H ₁₈ O | 1123 | 1121 | 2.15 |
| 4 | 30.31 | trans-Pinocarveol | C ₁₀ H ₁₆ O | 1140 | 1138 | 2.09 |
| 5 | 30.89 | cis-Verbenol | C ₁₀ H ₁₆ O | 1144 | 1142 | 2.97 |
| 6 | 32.46 | Camphor | C ₁₀ H ₁₆ O | 1153 | 1151 | 10.62 |
| 7 | 32.59 | Borneol | C ₁₀ H ₁₈ O | 1167 | 1165 | 5.15 |
| 8 | 33.17 | Terpinen-4-ol | C ₁₀ H ₁₈ O | 1182 | 1179 | 2.45 |
| 9 | 33.66 | trans-Carveol | C ₁₀ H ₁₆ O | 1219 | 1217 | 1.91 |
| 10 | 33.76 | Bornyl acetate | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | 1255 | 1252 | 5.56 |
| 11 | 33.9 | alpha-Terpinenyl acetate | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | 1349 | 1346 | 18.74 |
| 12 | 37.54 | Aromadendrene | C ₁₅ H ₂₄ | 1441 | 1439 | 2.1 |
| 13 | 42.01 | Epiglobulol | C ₁₅ H ₂₆ O | 1536 | 1532 | 5.59 |
| 14 | 42.97 | Caryophyllene oxide | C ₁₅ H ₂₄ O | 1574 | 1573 | 9.58 |
| 15 | 44.24 | Spathulenol | C ₁₅ H ₂₄ O | 1577 | 1575 | 2.45 |
| 16 | 45.12 | Viridiflorol | C ₁₅ H ₂₆ O | 1592 | 1590 | 2.36 |
| 17 | 46.17 | alpha-Cadinol | C ₁₅ H ₂₆ O | 1653 | 1652 | 3.26 |
| 18 | 46.78 | beta-Eudesmol | C ₁₅ H ₂₄ O | 1655 | 1654 | 2.46 |
| 20 | 47.7 | trans-nerolidyl acetate | C ₁₇ H ₂₈ O ₂ | 1683 | 1680 | 6.63 |
| Total | | | | | | 95.26 |

TR : Temp de retention

^aIR : Indice de retention

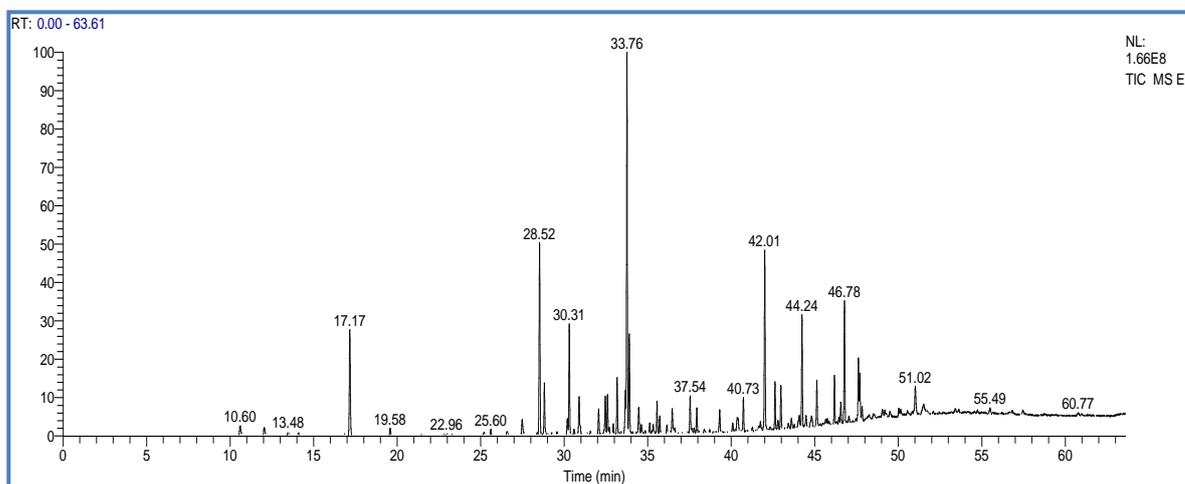


Figure 17: Chromatogramme de l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* subsp. *Euciliatus* Maire

Les huiles essentielles de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* sont obtenues par hydro distillation (rendement : 2,65 %), et caractérisées par la méthode de GC-MS. L'analyse a révélée l'identification de 20 composés représentant 95,26% de la composition chimique totale. Les composés majoritaires sont (alpha-Terpinenyl acetate (18,74%); Camphor (10.62%); Caryophyllene oxide (9.58%); trans-nerolidyl acetate (6.63%); Eucalyptol (6.55%) ; Epiglobulol (5.59%), Bornyl acetate (5.56%) et Borneol (5.15%) (**Fig. 19**)

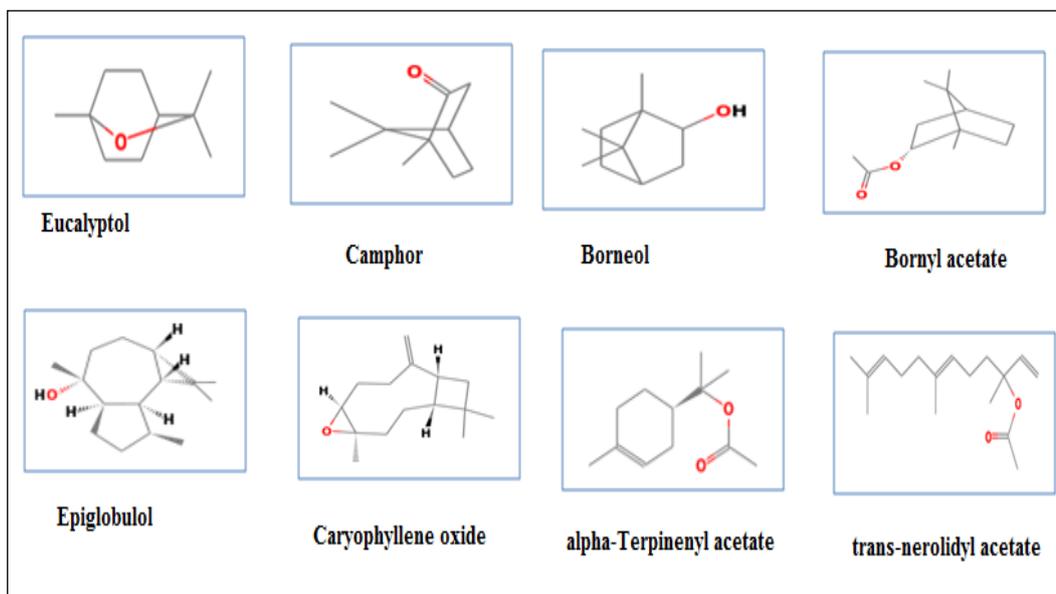


Figure 18: Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *T.ciliatus*

Des études antérieures au présent travail ont porté sur la variation de la composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *T.ciliatus* provenant de différentes régions de l'Algérie. En effet, 28 composants ont été identifiés pour l'huile essentielle des fleurs de *T.ciliatus* (sous espèce non spécifiée) provenant de la région d'Ain M'Lilan (Est d'Algérie), dont les molécules majoritaires sont : Thymol (54.98%), γ -terpinene (11.33%), *p*-cymène (6.66%) et carvacrol (4.96%) (**Ghorab et al., 2013**). La composition chimique de huit échantillons de l'huile essentielle de la partie aérienne de *T.ciliatus* ssp. *eu-ciliatus* de différentes régions de Tlemcen (Ouest d'Algérie) ont été décrites par **Bousmaha et al., (2007)**.

La quantité et la nature des constituants dominants varient considérablement d'un échantillon à l'autre en fonction de la région de récolte de la plante : carvacrol (72.4-80.3%), *p*-cymène (4.2-7.2%), γ -terpinène (1.6-7.8%). β -caryophyllène (1.7-2.2%) accompagnés par l'oxide (0.2-0.8%). Dihydroabietane (tr-0.3%). En revanche, l'huile essentielle de *T. ciliatus* de Djebel Ansel (Est d'Algérie) est dominée par le thymol (60,52%) (**Giordani et al., 2008**). La composition chimique des huiles essentielles de *T. ciliatus* provenant de différentes régions de l'Algérie présente donc une grande diversité en ce qui concerne les composés majoritaires de cette huile. C'est le cas aussi pour *T. ciliatus* provenant du Maroc, pour lequel **Amarti et al. (2010)** ont montré que l'huile essentielle de la partie aérienne de *T. ciliatus* récoltée dans la région d'Azrou est caractérisée par la présence de thymol (44,2 %), \square -E-ocimène (25,8 %) et alpha-terpinène (12,3 %) comme principaux constituants chimiques.

Dans un autre côté, une étude réalisée par **Benjlali et al. (1987)** sur 14 échantillons d'huiles essentielles de *T. ciliatus* récoltés dans différentes régions du Maroc ont montrés une variation dans le pourcentage et la nature des composés majoritaires des échantillons analysés en fonction de l'origine géographique de cette plante: le thymol (0.3-29.3%), le carvacrol (0.4- 21.7%), l'acétate d' α -terpenyl (0-42.9%), l'acétate de geranyl (0-21.7%), le butyrate de geranyl (0-26.7%), le camphre (0.4- 28.4%) et le bornéol (0.1- 31.6%).

Plusieurs études montrent une grande diversité dans la composition chimique des huiles essentielles des espèces appartenant au genre de *Thymus*, parmi ces dernières un travail réalisé par **Giordani et al. (2008)** sur les huiles essentielles de *T. numidicus* et *T. algeriensis* de la région de souk Ahras (Est d'Algérie), les composés dominants de l'huile essentielle de *T. numidicus* étaient le Thymol (66.31-57.20%) suivi par le Linalool (8.62 – 9.26%), le γ -terpinène (6.12 – 9.19%) et le ρ -Cymène (6.20 – 7.55%), alors que ceux de *T. algeriensis* étaient le α -Pinène (27.14 – 25.52%) suivi par le Camphore (8.77 – 8.45%) le 1,8 Cinéole (7.69 – 7.68%) et le Sbinène (5.25 – 5.61%).

Le travail conduit par **Imelouane et al. (2009)** a révélé que les composés majoritaires de l'huile essentielle de *T. vulgaris* provenant du Maroc étaient le Camphore (38.54%), le Camphene (17.19%), le α -Pinene (9.35%), le 1, 8-Cineole (5.44%), le Borneol (4.91%) et le β -Pinene (3.90%).

Selon la bibliographie, la différence de la composition en huiles essentielles peut être due à plusieurs facteurs tels que : les facteurs climatiques spécifiques des régions de la récolte, les facteurs géographiques comme l'altitude et la nature du sol, la période de récolte, les conditions de l'analyse chromatographique, la technique d'extraction utilisée, et même le

type de l'espèce (Moussa Brada et al.2007, Amarti et al., 2010 ; Karousou et al., 2005 ; Djermane et al., 2020).

2-Teneurs en Poly phénols totaux et Flavonoïdes totaux

Les résultats de teneurs en poly phénols et flavonoïdes totaux de nos extraits sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau 08: Teneurs en poly phénols et flavonoïdes totaux des extraits de *T.ciliatus*

| Extraits | Polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/mg}$ extrait) | Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg}$ extrait) |
|--------------|---|--|
| EH20 | 286,5 \pm 0,62 | 29,11 \pm 1,69 |
| EMeOH | 326,27 \pm 2,80 | 54,68 \pm 3,97 |
| EACT | 163,11 \pm 0,41 | 24,14 \pm 1,14 |
| DCM | 25,69 \pm 3,84 | 6,25 \pm 0,00 |

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD

La teneur en poly phénols totaux et en flavonoïdes des extraits bruts (**EH20**, **EMeOH**, **EACT**, **DCM**), des parties aériennes de *T.cilliatus* est déterminée en utilisant les méthodes de Folin-Ciocalteu pour les polyphénols et de trichlorure d'aluminium pour les flavonoïdes.

Les résultats obtenus à partir du tableau (**Tab 08**), montrent que l'extrait méthanolique et aqueux sont plus riches en polyphénols et flavonoïdes que les extraits acétoniques et dichlorométhanolique.

3-Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de nos extrais a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur milieu gélosé et la méthode des disques. Ces méthodes sont inspirées de la méthode d'antibiogramme, l'activité antimicrobienne est donc exprimée en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition autour d'un disque ou d'un puit contenant les extraits à tester. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure (**Fig.19**) et le tableau (**Tab.09**) ci- dessous.

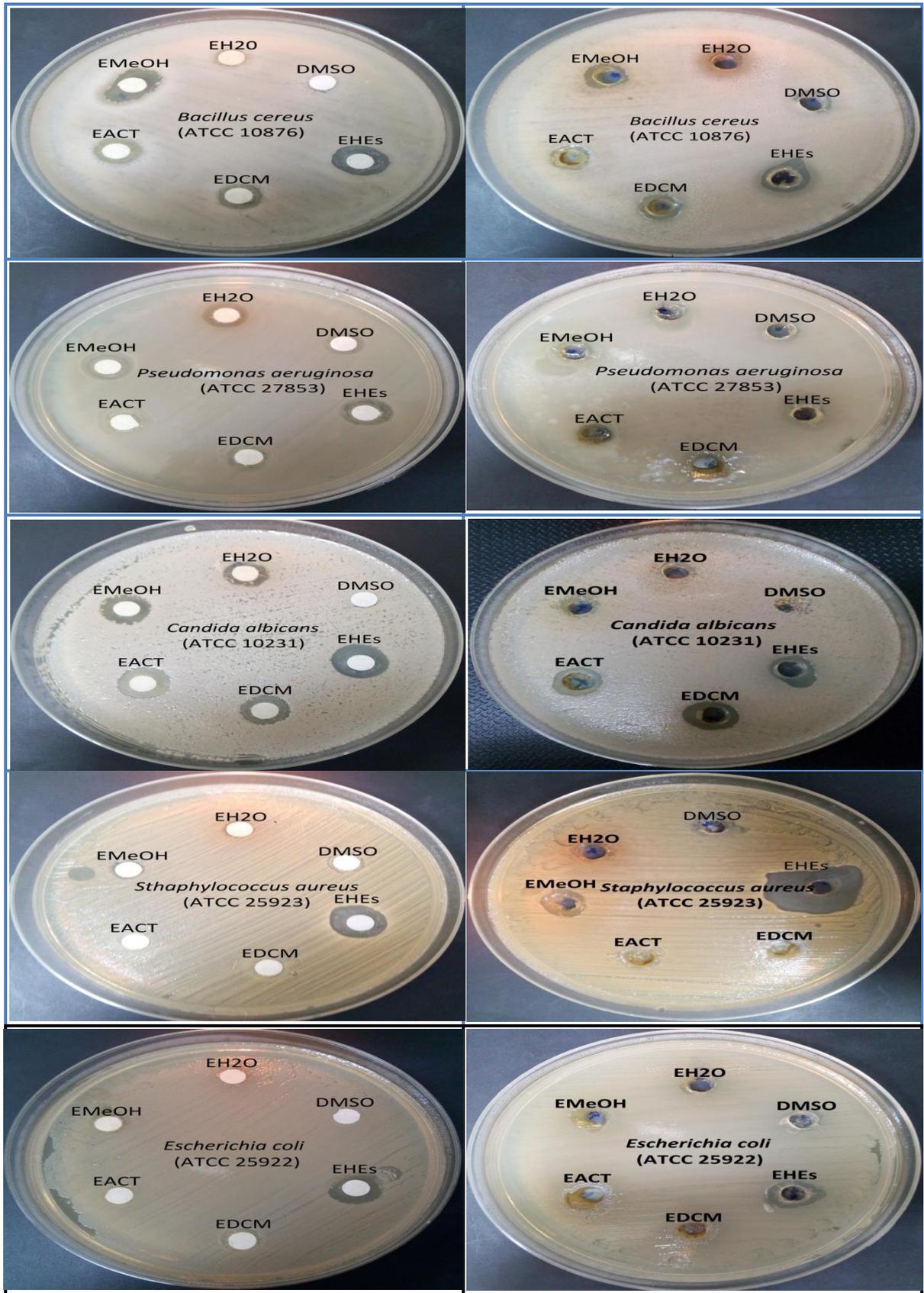


Figure 19: Effet de différents extraits de *Thymus ciliatus* sur la croissance des souches microbiennes testées

Tableau 09 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induite par les différents extraits de *T.ciliatus*

| Souches microbiennes | Diamètre de la zone d'inhibition en mm | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|--|------|----------------------|------------|-------------------|------------|----------------------------|------------|-----------------------------|------------|-----------|
| | Extrait aqueux | | Extrait méthanolique | | Extrait d'Acétone | | Extrait de dichlorométhane | | Extrait d'huile essentielle | | |
| | Disque | Puit | Disque | Puit | Disque | Puit | Disque | Puit | Disque | Puit | |
| <i>E.coli</i> ATCC 25922 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | 10,00±0,00 | 9,00±0,00 |
| <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 | 10,00±0,00 | NA | 10,00±1,00 | NA | 9,00±0,50 | NA | 8,00±1,00 | NA | 10,00±0,25 | NA | NA |
| <i>B.cereus</i> ATCC 10876 | NA | NA | 13,00±1,00 | 10,00±0,50 | 10,00±1,00 | 8,00±0,50 | 9,00±1,00 | 10,00±0,00 | 12,33±0,58 | 12,00±0,00 | NA |
| <i>S.aureus</i> ATCC 25923 | NA | NA | 7,00±0,00 | 10,00±0,00 | NA | NA | NA | NA | 12,00±1,00 | 19,5±0,57 | NA |
| <i>C.albicans</i> ATCC 10231 | 9,00±0,00 | NA | 10,00±0,00 | 12,00±0,00 | 11,50±0,70 | 10,00±0,00 | 10,00±0,00 | 11,00±0,25 | 14,5±0,70 | 12,00±0,00 | NA |

(NA) : Non actif, chaque valeur représente la moyenne de trois essais±écart-type(SD)

Tableau 10:CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits de *T.ciliatus*

| Souches microbiennes | CMI (mg/ml) | | | | | CMB (mg/ml) | | | | |
|--------------------------------|-------------|--------|------|------|------|-------------|--------|------|------|-----|
| | EH2O | EM/H2O | EACT | EDCM | HEs | EH2O | EM/H2O | EACT | EDCM | HEs |
| <i>E.coli</i> ATCC 25922 | NA | NA | NA | NA | C/4 | NA | NA | NA | NA | C/2 |
| <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 | C/2 | C/16 | C/2 | C/2 | C/16 | NA | NA | NA | NA | C |
| <i>B.cereus</i> ATCC 10876 | NA | C/2 | C/2 | C/2 | C/8 | NA | NA | NA | NA | NA |
| <i>S.aureus</i> ATCC 25923 | NA | C | NA | NA | C/4 | NA | NA | NA | NA | C/2 |
| <i>C.albicans</i> ATCC 10231 | C/4 | C/4 | C/8 | C/4 | C/4 | NA | NA | NA | NA | NA |

D'après les résultats mentionnés dans le tableau (Tab. 10) on suggère que tous les extraits bruts ont révélé une activité inhibitrice considérable vis-à-vis tous les souches ciblées à l'exception de la souche *E. coli*. L'extrait méthanolique représente l'extrait le plus actif.

L'huile essentielle a montré une activité importante envers tous les microorganismes testés soit par la méthode des puits soit par la méthode des puits, en particulier avec les bactéries à gram positif enregistrant des zones d'inhibitions de l'ordre de ($\emptyset = 12,00 \pm 1,00$ et $19,5 \pm 0,57$ mm), ($\emptyset = 12,00 \pm 0,00$; $12,33 \pm 0,58$ mm) pour *S.aureus* et *Bacillus cereus*

respectivement et ($\emptyset = 12,00 \pm 0,00 ; 14,5 \pm 0,70 \text{mm}$) pour la levure *Candida albicans*. Ce qui signifie que la sensibilité des bactéries est en effet dépendante du type du Gram de la bactérie.

En général, l'activité antimicrobienne est principalement expliquée par la présence de mono et sesquiterpènes avec des cycles aromatiques et des groupes hydroxyles phénoliques capables de former des liaisons d'hydrogène avec les sites actifs des enzymes cibles (**Rojas et al., 2007**).

Les mécanismes par lesquels les huiles essentielles peuvent inhiber les micro-organismes impliquent différents modes d'action et en partie peut-être en raison de leur caractère hydrophobe. En conséquence, elles sont imbriquées dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, les rendant plus perméable, ce qui conduit à la fuite du contenu des cellules vitales, la dépréciation des systèmes enzymatiques bactériens peut aussi être un mécanisme d'action potentiel (**Edris, 2007**). De même, pour les champignons un nombre d'effets et d'hypothèses ont été rapportés: il s'agit notamment de l'inhibition de: la sporulation, la germination, allongement des hyphes et la perturbation des parois et les membranes cellulaires (**Cavanagh et al., 2007**).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des différents extraits bruts a été déterminée également en estimant les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricides (CMB) pour déterminer les niveaux d'efficacité de ces extraits contre les différentes souches ciblées.

D'après les résultats obtenus (**Tab. 10**), les valeurs de la CMI ont été enregistrées avec tous les extraits testés et essentiellement avec les huiles essentielles avec des dilutions différentes, dont la bactérie *P.aeruginosa* représente le germe le plus sensible avec une valeur de CMI de C/16 mg/ml. Par contre les valeurs de la CMB ont été enregistrées seulement avec les huiles essentielles.

Les résultats de l'activité inhibitrice des extraits (eau, méthanol, acétone et dichlorométhane) et des huiles essentielles de *T.ciliatus* vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum* sont résumés dans la figure et le tableau suivant :

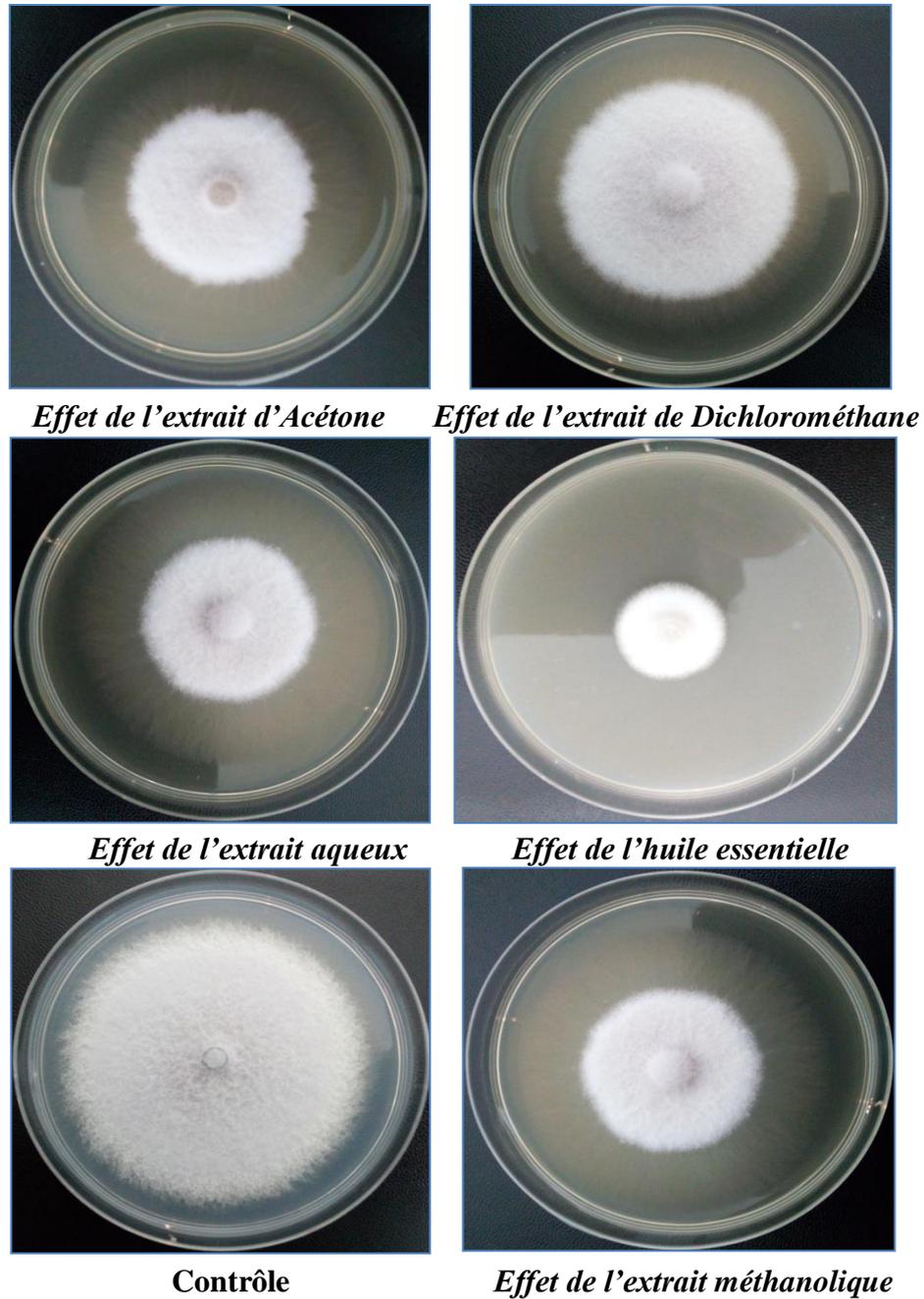


Figure 21 : Effet de différents extraits de *T.ciliatus* sur la croissance du champignon *Fusarium oxysporum*

Tableau 11: Résultats de l'activité inhibitrice des extraits de *T.cilliatus* vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum*

| Extrait | Extrait aqueux | Extrait méthanolique | Extrait d'acétone | Extrait de dichlorométhane | Extrait d'huile Essentielle |
|---------------|----------------|----------------------|-------------------|----------------------------|-----------------------------|
| %d'inhibition | 46,26 % | 49,25% | 38,80% | 23,88% | 67,16% |

Les résultats du tableau dessus révèlent que l'activité inhibitrice vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum* est plus intéressante avec les huiles essentielles que les extraits bruts avec un taux d'inhibition de 67,16%. Pour les extraits bruts, l'extrait méthanolique est l'extrait le plus efficace avec un taux d'inhibition de 49,25%, suivi par l'extrait aqueux avec un pourcentage de 46,26 % et en dernier l'extrait d'acétone et l'extrait de dichlorométhane avec un pourcentage de 38,80% et 23,88% respectivement.

A notre connaissance et selon la bibliographie disponible, aucune étude n'a été réalisée sur l'activité antifongique contre le champignon de pourriture de tomate *Fusarium oxysporum* par des extraits de la plante *T.cilliatus*, par contre une étude précédente qui a été effectuée par (El Ajjouri et al., 2010) , a montrée que l'huile essentielle de *T. cilliatus* présente une forte activité inhibitrice vis-à-vis de quatre champignons de pourriture du bois (*Gloeophyllum trabeum*, *Poria placenta*, *Coniophora puteana* et *Coriolus versicolor*). De plus, il est a noter dans une autre étude que les huiles essentielles de *T.vulgaris* ont un pouvoir antifongique particulièrement contre le champignon *Fusarium oxysporum* (Lee et al., 2007)..

4-Activité antidiabétique

Les différents extraits ont été également examinés *in vitro* pour leur activité inhibitrice vis-à-vis l'enzyme α -Glucosidase, en utilisant la méthode colorimétrique sur microplaques à 96 puits. Les résultats obtenus sont exprimés en termes d'IC₅₀ comme il illustre le tableau suivant.

Tableau12 : Effet de l'huile essentielle et des extraits bruts de *T.ciliatus* vis-à-vis l'enzyme α -glucosidase.

| Extraits | % d'inhibition | | | | | | | |
|-----------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------------------------|
| | 15,625 μ g/ml | 31,25 μ g/ml | 62,5 μ g/ml | 125 μ g/ml | 250 μ g/ml | 500 μ g/ml | 1000 μ g/ml | IC ₅₀ (μ g/ml) |
| EH20 | 50,00 \pm 0,00 | 83,28 \pm 3,04 | 86,47 \pm 1,89 | 89,25 \pm 0,63 | 90,71 \pm 0,83 | 91,82 \pm 1,90 | 93,06 \pm 2,28 | 2,56\pm0,06 |
| EMeOH | 12,03 \pm 2,72 | 18,64 \pm 0,86 | 21,31 \pm 1,94 | 27,95 \pm 1,43 | 28,67 \pm 1,68 | 37,25 \pm 3,05 | 54,18 \pm 2,72 | 718,62\pm4,13 |
| EACT | 6,69 \pm 1,40 | 9,46 \pm 0,45 | 16,37 \pm 4,95 | 20,06 \pm 0,43 | 36,41 \pm 0,39 | 47,92 \pm 1,92 | 66,15 \pm 3,64 | 452,19\pm0,40 |
| EDCM | 6,69 \pm 1,40 | 11,21 \pm 1,41 | 18,94 \pm 5,06 | 20,04 \pm 4,51 | 37,12 \pm 1,65 | 48,09 \pm 0,00 | 62,94 \pm 0,08 | 493,54\pm0,81 |
| HEs | 38,77 \pm 6,08 | 47,52 \pm 0,64 | 50,38 \pm 2,91 | 54,69 \pm 1,26 | 58,01 \pm 2,49 | 74,07 \pm 1,36 | 86,24 \pm 0,81 | 57,11\pm4,39 |
| Acarbose | 27,43 \pm 2,18 | 38,91 \pm 3,20 | 54,86 \pm 1,79 | 67,29 \pm 2,63 | 80,19 \pm 1,66 | 85,54 \pm 0,45 | 91,05 \pm 0,72 | 275,43\pm1,59 |

Le diabète sucré est un groupe de troubles métaboliques caractérisé par une maladie hypoglycémique chronique résultant de défauts dans la sécrétion d'insuline, l'action de l'insuline ou les deux (**Ozougwu et al., 2014**). Il est défini par l'élévation chronique de la concentration de glucose dans le sang (hyperglycémie) (**Rodier, 2001**). L'hyperglycémie chronique est associée avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (**Drouin et al., 1999**).

Les plantes possèdent plusieurs principes actifs qui leurs permettent d'avoir une action sur l'organisme. Dans le cas du diabète, elles ont une action hypoglycémiant, dont le mécanisme diffère ainsi que le principe actif responsable. Parmi les constituants des plantes ayant une activité hypoglycémiant, on trouve les polysaccharides, les peptides, les alcaloïdes, les glycopeptides, les triterpenoïdes, les acides aminés, les stéroïdes, les flavonoïdes, les phénols, les coumarines, les ions inorganiques et les guanidines (**Jarald et al., 2008**).

Dans ce contexte, l'activité antidiabétique de différentes extraits de plusieurs plantes a été largement étudiée (**Selles, 2012 ; Bouchkara, et al., 2013, Eddouks et al., 2017 ; Karima , 2020 ; Djermane et al., 2020...**). Des huiles essentielles et des extraits bruts de *Thymus ciliatus* s'inscrivent dans cet objectif.

Les résultats obtenus ont montré que la forte capacité d'inhibition de l'alpha glucosidase a été remarquée avec l'extrait aqueux, et en enregistrant une IC₅₀ de l'ordre de 2,56 \pm 0,06 μ g/ml, suivie par les huiles essentielles avec une valeur d'IC₅₀ de 57,11 \pm 4,39 μ g/ml. Les extraits de méthanol, de l'acétone et de diclorométhane ont montré une faible capacité d'inhibition de l'enzyme alpha-glucosidase par rapport au standard l'Acarbose, dont l'effet inhibiteur le plus faible est enregistré avec l'extrait méthanolique avec une IC₅₀ de l'ordre de 718,62 \pm 4,13 μ g/ml.

Dans une étude réalisée par **Tefiani (2015)** a constaté que l'huile essentielle extraite de *T.ciliatus* ssp. *eucilatus* provenant de Tlemcen a exercée une bonne activité antidiabétique (anti alpha-amylase) (5.198µg EA.g-1 HE). De plus, des travaux antérieurs ont décrit l'activité antidiabétique par d'autres extraits d'espèces du genre Thymus, notamment une étude réalisée par **Hyun et al. (2014)** a montré que l'extrait méthanolique de l'espèce *Thymus quinquecostatus* a exercé une activité antidiabétique importante en enregistrant une valeur d'IC₅₀ de 4.39µg/mL. .

Conclusion générale

Conclusion

Ces dernières années, l'utilisation des substances naturelles d'origine végétale comme alternatives aux médicaments reste une solution de premier choix dans le traitement de diverses maladies. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés dans notre étude à valoriser une plante médicinale provenant du nord-est de l'Algérie.

Dans un premier volet, nous avons déterminé la composition chimique des huiles essentielles par le couplage CPG/spectrométrie de masse (SM). La composition chimique en polyphénols totaux, et flavonoïdes totaux a été également déterminée. Nos résultats ont montré que l'huile essentielle extraite de *T.cilatus* présente 20 composés dont les composés majoritaires sont (alpha-Terpinenyl acetate (18,74%); Camphor (10.62%); Caryophyllene oxide (9.58%); trans-nerolidyl acetate (6.63%); Eucalyptol (6.55%); Epiglobulol (5.59%), Bornyl acetate (5.56%) et Borneol (5.15%)). Des teneurs importantes en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux ont été enregistrées avec nos extraits, en particulier les extraits (EMeOH, EH20 et EACT).

Dans un deuxième volet, nous avons évalué *in vitro* des activités biologiques des extraits bruts et des huiles essentielles (Activité antimicrobienne et activité antidiabétique). L'activité antimicrobienne de nos extraits a été déterminée contre quatre bactéries, et deux champignons. Nos résultats ont montré un effet inhibiteur remarquable sur toutes les souches testées excepté la souche *Escherichia coli*. L'activité inhibitrice vis-à-vis de l'enzyme α -glucosidase a été également mesurée. Nos résultats ont montré une forte activité inhibitrice par l'extrait aqueux, suivi par les huiles essentielles.

D'après ces résultats, il serait intéressant de compléter cette étude *in vitro* par une étude *in vivo*, et également d'évaluer d'autres propriétés biologiques de cette plante.

Références Bibliographique

Références bibliographiques

Adams, R.P. (2017). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4.1 ed. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL.

Achoub, H., Zaiter, L., Benayache, F., Benayache, S., Chalchat, J. C., Chalard, P., ... & Akkal, S. (2019). Chemical Composition of the Essential Oil of Aerial Parts of *Thymus ciliatus* (Desf.). *Acta Scientifica Naturalis*, 6(2), 62-70.

Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K. and Gallagher E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry* **119**: 770-778.

Amarti F. Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. & Chaouch A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus Algeriensis* Boiss. Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf) Benth. du Maroc. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*. 14(1): 141-148.

Alia Telli. (2017). Activités Anti-oxydante, Antimicrobienne et Antidiabétique de deux Espèces Spontanées utilisées dans le Traitement du Diabète dans la région de Ouargla : *Amodaucus leucotrichus* et *Anvillearadiata*. Thèse de Doctorat. Université KASDI Merbah-Ouargla

Audigie C.L., Dupon G. and Zongain F. (1995). Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris. 44.

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako. 10 p.

Bahorun, T. (1998, March). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (Vol. 83).

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils—A review. *Food and Chemical Toxicology* **46**: 446–475.

Beloued, A. (2009) Plantes médicinales d'Algérie. Alger: Office des Publications Universitaires., p, 134.

Benjlali B., Hammouni M. & Richard H. (1987). Chemical polymorphism of Moroccan

Thyme essential oils: compounds characterization. *Sciences. Aliments*. 7 : 77-91.

Beddou Setti. (2016). Étude de l'activité Antibactérienne d'extraits de Plantes Médicinales sur des Espèces Bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques. *mémoire de master*. Université Aboubekr Belkaïd – Tlemcen.

- Barberán F.A.T., H. L. (1986).** *Phytochemistry*.25. 561-562
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). *Tec & Doc/Lavoisier, Paris*, 279-281.
- Bruneton, J. (1993).** Composés phénoliques: Shikimate-acétates. In: «Pharmacognosie: phytochimie, Plantes médicinales». Technique et Documentation-Lavoisier(Paris);Chap. 3: 199–383.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris: 309–353.
- Bhar H ., Balouk A.(2011).** Les plantes aromatiques et médicinales. p7-p28.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., & Sapirstein, H. D. (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82(4), 390–393. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0390>
- Belaiche P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd.Maloine. Paris.
- Benayad N(2013).** Evaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. [Thèse]. UNIVERSITÉ MOHAMMED V. FACULTÉ DES SCIENCES. RABAT.
- Bouchkara, S., Laalam, F. Z., & Kebeiche, M. E. (2013).** *Contribution à l'étude de l'activité antidiabétique de l'extrait méthanolique des feuilles de pistacia lentiscus L. chez le rat diabétique* (Doctoral dissertation, université de Jijel).
- Bousmaha-Marroki L., Atik B.F., Tomi F. & Casanova J. (2007).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. ssp. eu-ciliatus Maire from Algeria. *Journal of Essential oil Research*. 19(5): 490-493.
- Bouyahya A. Abrini J· Y. Bakri. N. Dakka.(2017).**Phytochemical Screening and Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of *Origanum compactum* Extracts, *Phytothérapie* DOI 10.1007/s10298-017-1101-8
- Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier Technique de l'Inra*, 79–82.
- Boutamani.M,(2013).** Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du Curcuma longa et Myristica fragrans en fonction du temps et de la technique utilisée. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger. [En ligne]. [Consulté en Juin 2018]. Disponible sur: www.memoireonline.com
- Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Carlier, A., & Lognay, G. (2007).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*. 11(1) : 3-7.

Références bibliographiques

Cermak, R., Follmer, U., Wolfram, S. (1998). Dietary flavonol quercetin induces chloride secretion in rat colon. *Am J Physiol.* 275: G1166–G1172

Choukri Tefiani. (2014). Les Propriétés Biologiques des Huiles Essentielles de *Curcuma longa*, *Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*. These de Doctorat.université. Mostaganem

Chaudhry, P.S., Cabrera, J., Juliani, H.R., Varma, S.D., 1983. Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochem Pharmacol.* (32),995

Challacombe C. A., Abdel-Aal E. M., Seetharaman K. and Duizer L. M. (2012). Influence of phenolic acid content on sensory perception of bread and crackers made from red or white wheat. *Journal of Cereal Science* 56: 181-188.

Chouiteh O,(2012). composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra* [thèse] Oran : Université d’Oran.

Cowan N. M., 1999- Plant products as anti microbial agents. *Clinicalmicrobiology Reviews.* Vol. 12(4): 564-582.

Cyril T.(2001).étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d’un modèle cinétique, université de Montréal. 28p.

CorticchiatoM, B. C. (1995). Phytochemistry. 115-120.

Djermame, N., Gali, L., Arhab, R., Gherraf, N., Bensouici, C., Erenler, R., ... & Abdessamed, A. (2020). Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibitory activities of *Erucaria uncata* and *Thymeleae hirsuta*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* 29 : 101-834.

Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., & Chelghoum, C. (2006). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*. *Pharmaceutical biology,* 44(8), 607-612.

Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F (1997). Etude d’huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse.Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis;* 25 (6) : 13-16.

Donatien K., 2008. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, Identification d’alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de Doctorat mention chimie organiques. Université Paul Verlaine de METZ –UPV- M. France. 150 p.

Références bibliographiques

Eddouks, M., Hebi, M., Ajebli, M., El Hidani, A., Sulpice, T., & Burcelin, R. (2017). Étude de l'activité antidiabétique de *Capparis spinosa* L. et de *Calamintha officinalis* Moench chez la souris diabétique. *Phytothérapie*. 1-9.

Ekren S., Yerlikaya O., Tokul H. E., Ash Akpınar A. and Açu M. (2013). Chemical composition, antimicrobial activity and antioxidant capacity of some medicinal and aromatic plant extracts. *African Journal of Microbiology Research* **7(5)**: 383-388.

Evidence box. Les huiles essentielles dans les cosmétiques [en ligne]. [Consulté le 27 janvier 2018]. Disponible sur <http://box-evidence.com>.

Fleuriet A; Jay-Allemand C; Macheix JJ.(2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216

Ghorab, H., Kabouche, A., Semra, Z., Ghannadi, A., Sajjadi, E. B., Touzani, R., & Kabouche, Z. (2013). Biological activities and compositions of the essential oil of *Thymus ciliatus* from Algeria. *Der Pharm Letters*. 5: 28-31.

Giordani R., Hadeif Y. & Kaloustian J. (2008). Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*. 79: 199-203.

Guignard JL., 1996- Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.

González A.G., Barrera J.B., García T.Z., Rosas F.E., 1984-Sesquiterpene lactones from *Centaurea* species. *Phytochemistry*. Vol. 23(9):2071–2072.

Heni, S., Bennadja, S., & Djahoudi, A. (2015). Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus ciliatus* growing wild in North Eastern Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(12), 056-060

Hendrich, B. A. (2006). Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*. 27(1):27–40

Hagerman, A. E., Butler, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *J Agr Food Chem*. 26: 809–812.

Hernandez Ochoa, L. R, (2005). “Substitution de solvants et matière active de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale.” Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques.

Haddouchi F , Zerhouni K , Sidi-Yekhelef A et Chaouche T.M. (2016). Évaluation de l'Activité Antimicrobienne de Différents Extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, 152 – 159

Hans, W. K. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. *Terre édition*, 6-7.

Havsteen B-H., 2002. The biochemistry and medical significance of flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*. 96, 67-202

Références bibliographiques

HADDOUCHE, K. (2011). *Étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles de Thymus ciliatus ssp coloratus* (Doctoral dissertation).

Haslam, E., Lilley, T. H. (1988). Natural astringency in foodstuffs: a molecular interpretation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 27(1): 1–40.

Hohmann, J., Zupkó, I., Rédei, D., Csányi, M., Falkay, G., Máthé, I., & Janicsák, G. (1999). Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation. *Planta Medica: Natural Products and Medicinal Plant Research*, 65(6), 576-578.

Hemwimon S., Pavasant P. & Shotiprux A.. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology.*54: 44-50.

Hess M., 2002- Alkaloids, Nature's Curse or Blessing 1ère édition. Ed. Wiley-VCH, New York. USA. 297 p.

Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R. (2015). The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, 6(09), 635.

Hyun T. K., Kim H. C. & Kim J. S. (2014). Antioxidant and antidiabetic activity of *Thymus quinquecostatus* Celak. *Industrial Crops and Products.* 52: 611– 616.

[Http://parfums-lumiere.skyrock.com/3072086205-II Hydrodistillation.htm](http://parfums-lumiere.skyrock.com/3072086205-II Hydrodistillation.htm)

Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J. P., Ankit, M., Khedid, K., & El Bachiri, A.(2009).Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International. Journal. Agricultural. Biology.* 11(2) : 205-208.

Joulain D, (1994). Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture: use and abuse, *Perfumer & Flavorist*; 19: 5-17.

Kabouche, A., Ghannadi, A., & Kabouche, Z. (2009). *Thymus ciliatus*–The Highest Thymol Containing Essential Oil of the Genus. *Natural product communications*, 4(9), 1934578X0900400918.

Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). *La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée.* Springer.

karima, O. (2020). Activité Antidiabétique de *solenostemma argel* (del.) hayene. *algerian journal of natural products.* 8(1) :740-752.

Karousou R., Koureas D.N. & Kokkini S., 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Photochemistry.* 66: 2668-2673.

Kawsar S. M. A., Hug E., Nahar N. and Ozeki Y. (2008). Identification and quantification of phenolic acids in *Macrotyloma uniflorum* by reversed phase – HPLC. *American journal of plant physiology* **3(4)**: 165-172.

Kim, H., Bae, S., Kim, Y., Cho, C. H., Kim, S. J., Kim, Y. J., ... & Kim, H. R. (2013). Hwang YI, Kang JS, Lee WJ: Vitamin C prevents stress-induced damage on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α , and ROS production in Gulo (-/-) Vit C-insufficient mice. *Free Radic Biol Med*, **65**, 573-583.

Kholkhal Fatima. (2014). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des Extraits des Composés Phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de Doctorat .université .Tlemcen.

Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh H., Grignon C. and Abdelly C., 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*.**45**, 244-249.

Ladjel, S., Gherraf, N., & Hamada, D.(2011).Antimicrobial effect of essential oils from the Algerian medicinal plant *Mentha rotundifolia* L. *Journal of Applied Sciences Research*, **7(11)**, 1665-1667.

Lee, S. O., Choi, G. J., Jang, K. S., Lim, H. K., Cho, K. Y., & Kim, J. C. (2007). Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. *The Plant Pathology Journal*. **23(2)** : 97-102.

Luthria D. L., Mukhopadhyay S. and Krizek D. T. (2006). Content of total phenolics and phenolic acids in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of Food Composition and Analysis* **19**: 771-777.

Massada, Y. (1976). Analysis of Essential oil by GC/MS. J.Wiley&Sons, N.York.

Markham, K. R. (1982). Techniques of flavonoid identification. Academic Press (London) Chap 1 et 2: 1–113.

Maack F. et Sablier M. (1994). Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Bases documentaires, Techniques d'analyse. Référence: P2614.

Merghem R., .. J.-R. (1995). *Phytochemistry***38**,. 637-640.

Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P., 2006- Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp:1-28.

Mbodj Ndeya Awa. (2003). Etude de l'Activité Antidiabétique des Extraits Acétoniques, Méthanoliques et Héxaniques de *Vernonia colorata* (WILLD/DRAKE) Composés chez des Rats wistar. Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop De'dakar).

Références bibliographiques

Mc Manus, J. P., Davis, K. G., Lilley, T., Haslam, E. (1981). The association of proteins with polyphenols. *J Chem Soc Chem Co*: 309–311

Middleton, E.J.R., Kandaswami, C., Theoharidesi, T.C., 2000. The Effects of plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease and Cancer. *Pharmacol. Rev.* 52,673–751

Miller, R. E., McConville, M.J., & Woodrow, I. E.(2006). Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae). *Phytochemistry*, 67(1), 43-51.

Mebarki, N. (2010). *Extraction de l'huile essentielle de Thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne* (Doctoral dissertation, Boumerdès).

Mehansho, H., Butler, L. G., Carlson, D. M. (1987). Dietary tannins and salivary proline-rich proteins: interaction, induction and defense mechanisms. *Annu Rev Nutr.* 7: 423

Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activitéantioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, 55-86

MoroBuronzo.A. (2008). *Le Grand Guide des Huiles Essentielles: Santé, Beauté, Bien être; Ed : HACHETTE PRATIQUE.*

Naghibi, F., Mosadegh, M., Mohammadi, M. S., & Ghorbani, A. B.(2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology.

Newman D.J., CRAGG G.M., 2012 – Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335. of *Food Microbiology*, 56(1): 3-12.

Nickavar, B., Mojab, F., & Dolat-Abadi, R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food chemistry*, 90(4), 609-611.

Nikolić, M., Glamočlija, J., Ferreira, I. C., Calhelha, R. C., Fernandes, Â., Marković, T., ... & Soković, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and *Reut* and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 183-190.

Oszmianski, J., Wojdylo, A., Lamer-Zarawska, E., Swiader, K. (2007). Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chemistry*.100:579–583.

Ouis, N. (2015). ETUDE CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE CORIANDRE, DE FENOUIL ET DE PERSIL [thèse]. *Oran: Université d'Oran, 1.*

Références bibliographiques

Pirbalouti, A. G., Hashemi, M., & Ghahfarokhi, F. T. (2013). Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 48, 43-48.

Paolini J (2005). Caractérisation des huiles essentielles par cpg/ir, cpg/sm-(ie et ic) et rmn du carbone-13 de *cistus albidus* et de deux asteraceae endemiques de corse : *eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *doronicum corsicum*. Thèse de doctorat.

Quézel P. & Santa S., 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S. Ed., Paris, 1170 p. (2 vol.).

Rasooli, I., Rezaei, M. B., & Allameh, A. (2006). Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International journal of infectious diseases*, 10(3), 236-241.

Remaci, D.,(2017). Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de *Thymus vulgaris* (Thym) récolté dans la région de Naama sur la croissance des germes lactiques: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. mémoire de master , université de mostaganem

Rakotonanahary, M. (2012). thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.

Rojas J., Velasco J., Rojas L. B., Díaz T., Carmonac J. and Morales A. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Baccharis latifolia* pers. and *B. prunifolia* H. B. &K. (Asteraceae). *Natural product communications*. 2(12): 1245 -1248.

Regnault-RogerC, .. R.-M.-I.-B. (2004). *Journal of Stored Products Research* , 395-408.

Santos-Buelga, C., Scalbert, A. (2000). Proantocyanidins and tanninlike compounds-nature, occurrence dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1094–1117.

Sereme A., Millogo-Rasolodimby J., Guinko S. and Nacro M. (2010). Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. *Journal des Sciences*. 10 (2): 24-32

Selles, C. (2012). Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5 M (Doctoral dissertation).

Stahl-Biskup, E.(2002).Essential oil chemistry of the genus *Thymus*—a global view. *Thyme: the genus Thymus*, 75-124.

Schmidt L., Belov V. N. and Goen T. (2013). Sensitive monitoring of monoterpene metabolites in human urine using two-step derivatesation and positive chemical ionisation–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2013.07.046>

Schwedt G(1993). Méthodes d'analyse., Ed. Flammarion.

Tabti, M.-E., tahdjerit, O. (2017).étude taxonomique de quelques populations de *Salvia verbenaca* ssp. *Euverbenaca* et ssp. *clandestina* (Lamiaceae) du golfe de Bejaia et de la vallée de la soummam. mémoire de l'obtention du diplôme master on taxo-génétique végétale et évolution. univ. Bejaia.

Takeuchi H., Lu Z.G. et Fujita T. (2004). *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 68(5): 1113-1134.

Tim Cushnie, T. P., Lamb, J. A. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26:343–356.

Van den Dool, H. and Kratz, P.D. (1963). A generalization of the Retention Index System including linear temperature programmed Gas-Liquid partition Chromatography. *Journal. Chromatogr.* 11: 463-471.

Watterson, J. J., Butler, L. G. (1983). Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *J Agr Food Chem*; 31: 41–45.

Wichtel M. and Anton R. (1999). *Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques.* Ed. Tec et Doc.